

# DROGAS INIBIDORAS DA PROTEÍNA QUINASE DE ADESÃO FOCAL: UMA NOVA PERSPECTIVA NO COMBATE AO CÂNCER VIA PLANEJAMENTO RACIONAL

Daniel Augusto Barra de Oliveira<sup>1</sup>

Novas drogas estão sendo utilizadas no tratamento da metástase. O desenvolvimento destes fármacos está correlacionado com o princípio bioquímico da comunicação celular, conhecido cientificamente como transdução de sinais. Dentre as inúmeras proteínas participantes do mecanismo de transdução de sinais tem se destacado a proteína quinase de adesão focal, cujo conhecimento do sítio catalítico tem provido a síntese de drogas com diferentes aspectos terapêuticos. Nesse trabalho são apresentadas algumas particularidades dessas novas drogas, que estão no ápice da terapia contra o câncer. Nós queremos demonstrar ainda como a química pode ajudar na construção dessas novas drogas.

**Palavras-Chave:** Fármacos. Quinase de Adesão Focal. Transdução de Sinais.

New drugs has been used for metastasis medical treatment. The development of these drugs is correlated with biochemical knowledge involved in cell communication known scientifically as signal transduction. Among the numerous proteins engaged on mechanism of signal transduction, it is has been excelled the protein focal adhesion kinase, whose knowledge of the catalytic site has provided the synthesis of drugs with different therapeutic aspects. In this work are showed these new drugs, which are at the apex of cancer therapy. We would like yet to show how the chemistry may help to build these new drugs.

**Keywords:** Drugs. Focal Adhesion Kinase. Signal transduction.

---

<sup>1</sup> Doutor em Físico-Química pela Universidade de Brasília e Professor da Universidade Federal do Tocantins - UFT. Curso de Licenciatura em Química. Endereço: Rua Paraguai, s/n (esquina com Urixamas) - Setor Cimba - CEP: 77.838-824. E-mail danielaugustochem@yahoo.com.br

## 1. O PLANEJAMENTO RACIONAL DE FÁRMACOS

O planejamento racional de fármacos implica no conhecimento prévio do alvo protéico a ser trabalhado. Dentro dessa realidade parte-se inicialmente da determinação da estrutura molecular da enzima a ser estudada.

A determinação da estrutura enzimática a nível molecular pode ser realizada mediante a técnica de difração de raios-X (WESTBROOK, *et al*, 2009). Nessa técnica um feixe de radiação da ordem de 5 pm (picômetros) é incidido sobre os átomos da biomolécula em estudo, ocorrendo a dispersão desse feixe de radiação em direções específicas. Medindo o ângulo e a intensidade da difração, pode-se produzir um mapa de densidade eletrônica para a biomolécula em estudo. A partir da densidade eletrônica podem ser computadas outras propriedades químicas, como tipos de ligação e posição dos átomos na molécula. Após essa etapa, as biomoléculas são em geral, depositadas em um banco de dados na internet conhecido como “*protein data bank*”.

Em uma etapa ulterior a determinação da estrutura molecular, parte-se para a chamada química teórica. Nesse estudo molecular são averiguadas as interações entre a possível droga e o sítio catalítico da enzima. São construídos modelos de interação visando à complementaridade entre a geometria molecular do fármaco com a distribuição espacial do sítio catalítico da enzima alvo. Nesse sítio catalítico ocorrem as reações químicas que permeiam as respostas biológicas da célula. A esse ramo da ciência, conhecida como modelagem molecular, aplica-se a mecânica quântica e clássica para simular e modelar os sistemas a nível atômico/molecular. Após a etapa de planejamento racional de fármacos, segue-se a síntese orgânica das moléculas pré-selecionadas pela modelagem molecular. Pode-se partir de estruturas moleculares já existentes na natureza, bem como se pode iniciar a partir das moléculas orgânicas existentes nos laboratórios de síntese orgânica.

Após a “criação” das moléculas via síntese orgânica, procede-se o teste *in-vitro*, com a enzima em seu estado isolado. Nesse estado de criação da droga são computadas variáveis como o  $IC_{50}$ , que

é o índice de inibição de 50% do alvo enzimático. Para esse fim constroem-se curvas de dose e resposta para a molécula sintetizada.

Por fim são feitos os testes *in vivo* em animais com metabolismo próximo ao humano a fim de verificar os efeitos colaterais da droga. A aplicabilidade comercial dependerá dessa etapa de testes.

Neste trabalho serão apresentados fármacos que partiram do conhecimento prévio da estrutura do sítio catalítico da enzima quinase de adesão focal. Na Figura 1 é visualizada a droga pirrolopirimidina ancorada ao sítio catalítico da proteína quinase de adesão focal. Essa estrutura foi obtida via difração de Raio X.

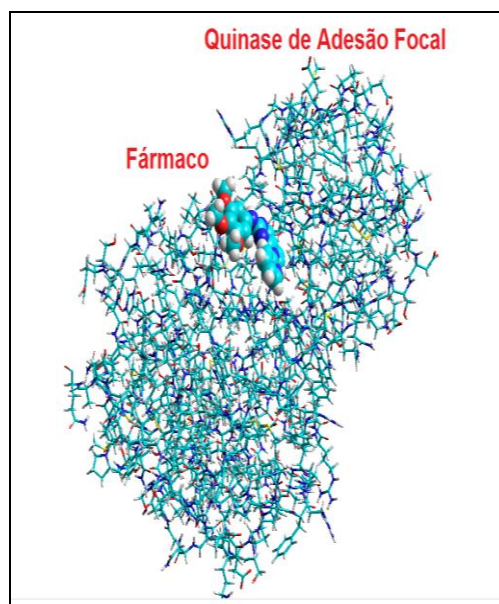


Figura 1. Fármaco pirrolopirimidina ancorado ao sítio catalítico da proteína quinase de adesão focal.

## 2. QUINASE DE ADESÃO FOCAL E O CÂNCER (O ALVO MOLECULAR)

O câncer é uma enfermidade que vem assolando a humanidade nos últimos anos. Dentro dessa perspectiva, vem se realizando estudos com o intuito de identificar a origem bioquímica dessa moléstia que vitima milhares de pessoas no mundo inteiro. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), câncer é o nome atribuído a doenças cujo cerne é a proliferação desordenada de células, podendo se espalhar e atingir tecidos diferentes daqueles originários da doença.

No âmbito bioquímico tem-se voltado o interesse por drogas que atuem na origem biomolecular do problema. Permeando reações bioquímicas, pode-se ter um entendimento mais detalhado da origem do câncer. Das inúmeras reações bioquímicas envolvidas no desencadeamento da metástase tem-se focado o interesse na transdução de sinais. Essa reação bioquímica está associada à propagação do sinal celular dentro da célula. Sinais químicos exteriores a membrana celular são interpretados pela célula, a qual desencadeia uma resposta física. Essas respostas vão desde o crescimento celular até a morte programada, conhecida como apoptose.

O mecanismo de transdução de sinal é mediado por proteínas e genes que desempenham um papel essencial no mecanismo de transdução de sinais. O gene P53, por exemplo, está associado ao controle da proliferação celular associado ao equilíbrio de ação das proteínas quinases. Dentre as proteínas envolvidas na regulação do mecanismo de transdução de sinais, tem-se destacado a proteína quinase de adesão focal (FAK- Focal Adhesion Kinase). A análise de amostras de tumor humano e linhas de células de tumores revelam elevada expressão da proteína FAK (SLACK, *et al*, 2001).

FAK é uma proteína tirosina quinase, que é recrutada no estágio inicial da adesão focal para propiciar desencadeamento dos sinais celulares. A ativação da FAK é melhorada pela fosforilação da tirosina 397 (KENNELLY, *et al*, 1991).

A fosforilação é a reação de transferência de um grupo fosfato do ATP, que vira ADP (Adenosina Difosfato). Nas proteínas, a fosforilação costuma acontecer nos aminoácidos Serina, Treonina e Tirosina, justamente pelo fato de os três possuírem o radical OH em suas cadeias laterais (o radical hidróxi é ideal para a reação de hidrólise que se dá no ATP, para soltar o fosfato). A fosforilação desses aminoácidos muda radicalmente sua natureza química e isso provoca alterações conformacionais da enzima que reduzem drasticamente a capacidade da enzima de exercer sua função original.

### 3. OS FÁRMACOS

Nos últimos anos a produção de fármacos para o tratamento do câncer tem focado no conhecimento molecular da interação fármaco/enzima mediante o mecanismo de transdução de sinais. O alvo desses fármacos é a molécula de ATP que é capaz de fosforilar os aminoácidos Serina e Tirosina dando prosseguimento à transdução de sinais. Há inúmeras drogas cujo enfoque é inibição bioquímica do ATP. O fármaco imatinibe por exemplo, cujo desenvolvimento se deu para o tratamento do câncer de mielóide, inaugurou a era das drogas do tipo tinibes (HUNTER, 2007).

O uso exagerado dessa droga ocasionou a resistência por parte dos tumores tratáveis, o que levou a necessidade da síntese de novas drogas no mercado. Desse modo foram sintetizadas drogas inibidoras de multiquinases, ou seja, drogas que atuam em diferentes proteínas quinases. Dentre essas podemos destacar o lapatinibe (RUSNACK *et al*, 2001), carnetinibe (THOMAS & GRANDIS, 2004), nilotinibe (EISBERG *et al*, 2006) e o dasatinibe conhecido como sprycel (SHAH, *et al*. 2004).

A observação das estruturas moleculares desses fármacos revela estruturas farmacofóricas comuns entre eles. O carnetinibe e o lapatinibe possuem núcleos quinazolínicos. Essas características farmacofóricas em comum foram inseridas, a fim de mimetizar o anel de adenina do substrato de ATP, facilitando assim a ligação na região de dobradura, conectando os domínios N e C terminal do sítio catalítico.

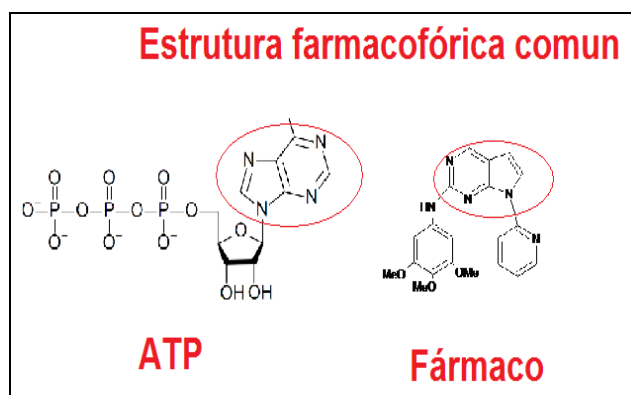


Figura 2. Estrutura química da molécula de ATP(Parte Superior) comparada com o fármaco 7-H-pirropirimidina na indústria Astrazeneca (CHOI, *et al*, 2006).

Geralmente os inibidores de proteína quinase competem pelo sítio da ligação da molécula de ATP, possuindo aspectos terapêuticos garantidos, podendo ser combinados com outros tipos de tratamento como aqueles provenientes de fontes radioativas e aqueles inerentes dos quimioterápicos (PAO, *et al.*, 2005).

Existem mais de noventa proteínas quinases, cujo modo de ativação se dá pela transferência de grupos fosfato, provenientes do seu sítio catalítico. Observa-se desse modo que a topologia do sítio catalítico nessas enzimas é bastante similar, porém altamente seletiva, constituindo desse modo, um desafio a construção de moléculas que inibam a atividade dessas enzimas (HUSE *et al.*, 2002), (KNIGHT *et al.*, 2005), (KUFAREVA *et al.*, 2008). Para a molécula de ATP são observadas ligações com o sítio através dos aminoácidos Aspartato381, Fenilalanina382 e Glicina383.

#### 4. ALGUNS INIBIDORES DA PROTEÍNA QUINASE DE ADESÃO FOCAL

Nos tópicos de 5 a 9 são descritos alguns inibidores da proteína quinase de adesão focal (FAK) enfatizando o seu modo de atuação, bem como seu estado de desenvolvimento clínico. Todos foram construídos utilizando o planejamento racional de fármacos e a modelagem molecular. Os nomes de alguns estão listados de acordo com a nomenclatura química da IUPAC pelo simples fato de ainda não serem comercialmente avaliados.

#### 5. FÁRMACO 7-H-PIRROLOPIRIMIDINA

A molécula 7-h-pirrolopirimidina, produzida pela indústria Astrazeneca, tem sido correlacionada com a inibição da proteína FAK. Estudos em ratos, utilizando células de melanoma humano, mostraram que o bloqueio da atividade da enzima FAK propicia a inibição do crescimento de tumores primários e virtualmente eliminam a metástase (ZELLWEGER, *et al.*, 2001). Por conseguinte, o fármaco da classe 7-h-

pirrolopirimidina atua como uma importante regra no tratamento desses tipos de cânceres.

Para esse caso particular, tem-se demonstrado, através da modelagem molecular, que uma modificação na substituição do anel pirimidínico do inibidor 7-pirrolo-pirimidina implica no aumento da atividade dessa droga. Conforme visto na Figura 3.

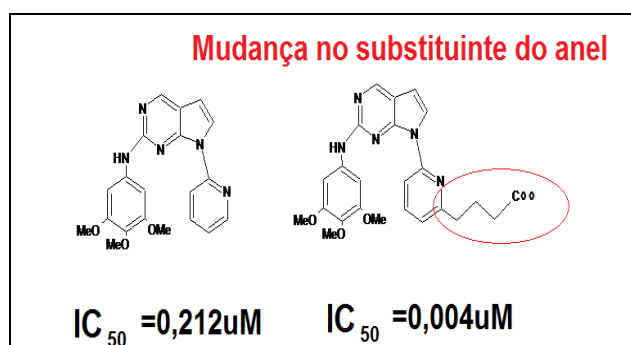


Figura 3. Mudança de atividade propiciada pela mudança de substituinte no anel pirimidina.

O estado da arte da modelagem molecular permite ainda, determinar quais aminoácidos são essenciais na inibição da atividade biológica de uma enzima. Na enzima quinase de adesão focal, por exemplo, tem-se mostrado que os aminoácidos cistina de número 502, lisina 454 e arginina 412 jogam em uma importante regra na construção de novos fármacos, em especial os da classe pirrolopirimidina (BARRA DE OLIVEIRA, *et al.*, 2012)

#### 6. O FÁRMACO DASATINIBE

Dasatinibe é uma droga produzida pela indústria farmacêutica Bristol-Myers Squibb®, a qual é utilizada para o tratamento do câncer de mielóide e próstata. A venda dessa droga se dá sobre o nome de Sprycel. Essa molécula tem conhecida atividade inibitória de receptores tirosina quinase. De modo específico, está correlacionada com inibição das enzimas BCR/ABL, Src e c-Kit.

O fármaco Dasatinibe também apresenta atividade inibitória para a proteína FAK (Faye *et al.*, 2005). Portanto, o uso dessa droga poderia se estender ao tratamento de outros tipos de cânceres

tais quais os relacionados ao pulmão, esôfago, tireóide mama entre outros (BOHM *et al.*, 1994)

## 7. O FÁRMACO BIS-ANILINO-PIRIMIDINA

O fármaco da classe bis anilino pirimidina inibe a autofosforilação da matriz celular induzida pela proteína quinase de adesão focal. Essa droga retarda o crescimento de células tumorais, atenua a progressão do ciclo celular e ainda inibe a invasão da célula tumoral em pelo menos 50%. Pode ser utilizado no tratamento de tumores de mama e de pulmão.

## 8. O FÁRMACO METANOSULFONAMIDA DIAMINOPIRIMIDINA

A molécula da classe metanosulfonamida diaminopirimidina é um potente inibidor competitivo da molécula de ATP, apresentando inibição robusta da proteína quinase de adesão focal em ensaios celulares. Tem aplicações no tratamento de câncer de cólon e pulmão (ROBERTS, *et al.*, 2008).

## 9. O FÁRMACO PIRROLO 2,3 D-TIAZOLE

O composto 2,3 d-tiazole é capaz de induzir a morte programada (apoptose) das células em diferentes linhas de células antitumorais (BHAT, *et al.*, 2008).

## 10 O FÁRMACO DIARILAMINA-1,3,5-TRIAZINA

O composto diarilamina-1,3,5-triazina é um inibidor competitivo da molécula de ATP na proteína quinase de adesão focal. Tem potencial para inibir células endoteliais, a adesão e formação de tubos, com conseqüente indução do apoptose. Retarda ainda o crescimento de células tumorais (DAO, *et al.*, 2014).

## 11. CONCLUSÃO

Foram reportados os passos para o planejamento racional de fármacos, enfatizando-se a proteína quinase de adesão focal como alvo molecular. Foi mostrado também que a estrutura química de uma droga é essencial na determinação da atividade da mesma. Diferentes estruturas químicas apresentam diferentes respostas biológicas no tratamento do câncer para o mesmo alvo enzimático. Isso mostra que um olhar microscópico sobre a origem bioquímica do câncer pode propiciar tratamentos alternativos àqueles convencionais, apresentando a vantagem de serem essencialmente seletivos.

## 12. REFERÊNCIAS

- BARRA DE OLIVEIRA, D. A.; DE OLIVEIRA NETO, M.; MARTINS, J. B. L. Theoretical study of disubstituted pyrrolopyrimidines as focal adhesion kinase inhibitors. *International Journal of Quantum Chemistry*, vol. 112, p. 2324, 2012.
- BHAT, U. G.; ZIPFEL, P. A.; TYLER, D. S.; GARTEL, A. L. Novel anticancer compounds induce apoptosis in melanoma cells. *Cell Cycle*, vol.7, p. 1851, 2008
- BOHM, H. J. The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, vol.8, p. 243, 1994
- CHOI, H. S.; WANG, Z. C.; RICHMOND, W.; HE, X. H.; YANG, K. Y.; JIANG, T.; SIM, T. B.; KARANEWSKY, D.; GU, X. J.; ZHOU, V.; LIU, Y.; OHMORI, O.; CALDWELL, J.; GRAY, N.; HE, Y. Design and synthesis of 7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidines as focal adhesion kinase inhibitors. Part 1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 16, p. 2173, 2006
- DAO P, JARRAY R, SMITH N1, LEPELLETIER Y, LE COQ J, LIETHA D, HADJ-SLIMANE R, HERBEUVAL JP, GARBAY C, RAYNAUD F, CHEN H. .Inhibition of Both Focal Adhesion Kinase and Fibroblast Growth Factor Receptor 2 Pathways Induces Anti-Tumor and Anti-Angiogenic Activities. *Cancer Lett.er*, vol. 348, p. 88, 2014.

- EISBERG, E.; MANLEY, P.; MESTAN, J.; COWAN-JACOB, S.; RAY, A.; GRIFFIN, J. D. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL British Journal of Cancer, vol.94, p. 1765, 2006.
- HUSE, M.; KURIYAN. The Conformational Plasticity of Protein Kinases J. Cell, vol. 109, p. 275, 2002.
- HUNTER, T. Treatment for chronic myelogenous leukemia: the long road to imatinib," Journal of Clinical Investigation Journal of Clinical Investigation, vol.117, p. 2036, 2007.
- Instituto Nacional do Câncer acessado em 14 de maio de 2010 (INCA). Disponível em [http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=322](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322) acessado em 3 de janeiro de 2014.
- KENNELLY, P.J., KREBS, E.G CONSENSUS. Sequences as Substrate Specificity Determinants for Protein Kinases and Protein Phosphatases. J.Biol. Chem, vol.266, p. 1555-1558., 1991.
- KNIGHT, Z. A.; SHOKAT, K. M. Features of Selective Kinase Inhibitors Chemistry & Biology, vol. 12, p. 621, 2005.
- KUFAREVA, I.; ABAGYAN, R. *Type-II Kinase Inhibitor Docking, Screening, and Profiling Using Modified Structures of Active Kinase States. Journal of Medicinal Chemistry, vol.51, p. 7921, 2008.*
- PAO, W.; MILLER, V. A.; POLITI, K. A.; RIELY, G. J.; SOMWAR, R.; ZAKOWSKI, M. F.; KRIS, M. G.; VARMUS, H. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. Plos Medicine, vol.2, p. 225. 2005.
- ROBERTS WG1, UNG E, WHALEN P, COOPER B, HULFORD C, AUTRY C, RICHTER D, EMERSON E, LIN J, KATH J, COLEMAN K, YAO L, MARTINEZ-ALSINA L, LORENZEN M, BERLINER M, LUZZIO M, PATEL N, SCHMITT E, LAGRECA S, JANI J, WESSEL M, MARR E, GRIFFOR M, VAJDOS F. Antitumor activity and pharmacology of a selective focal adhesion kinase inhibitor, PF-562,271. Cancer Research vol.68, p. 1935-1944, 2008.
- RUSNAK, D. W.; LACKEY, K.; AFFLECK, K.; WOOD, E. R.; ALLIGOOD, K. J.; RHODES, N.; KEITH, B. R.; MURRAY, D. M.; KNIGHT, W. B.; MULLIN, R. J.; GILMER, T. M. The effects of the novel, reversible epidermal growth factor receptor/ErbB-2 tyrosine kinase inhibitor, GW2016, on the growth of human normal and tumor-derived cell lines in vitro and in vivo. Molecular Cancer Therapeutics 2005, 1, 85.
- SHAH, N. P.; TRAN, C.; LEE, F. Y.; CHEN, P.; NORRIS, D.; SAWYERS, C. L. Science, vol.305, p. 399, 2004.
- SLACK, J. K., ADAMS, R. B., ROVIN, J. D., BISSONETS TE, E. A., STOKER, C. E. AND PARSONS, J. T. Alterations in the focal adhesion kinase/Src signal transduction pathway correlate with increased migratory capacity of prostate carcinoma cells. Oncogene, vol.20, p. 1152 -1163, 2001.
- THOMAS, S. M.; GRANDIS, J. R. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of EGFR inhibitors under clinical investigation. Cancer Treatment Reviews, vol.30, p. 255, 2004
- WESTBROOK JD, FITZGERALD PMD. The PDBformat, mmCIF formats, and other data formats. Bioinformatics. 2nd ed. vol. 1, p. 271-291. 2009
- ZELLWEGER, T.; MIYAKE, H.; COOPER, S.; CHI, K.; CONKLIN, B. S.; MONIA, B. P.; GLEAVE, M. E. Antitumor Activity of Antisense Clusterin Oligonucleotides Is Improved in Vitro and in Vivo by Incorporation of 2-O-(2-Methoxy)Ethyl Chemistr Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, vol. 298, p. 934, 2001.