

Uma Nova Classe de Inibidores de Tubulina com Atividade Antitumoral: Determinação do Mecanismo de Ação e Modo de Interação Molecular

*Ricardo N. Santos¹ (PG), Daniara C. Fernandes² (PG), Wanessa F. Alteí¹ (PG), Marília S. Santos² (PG), Manoel T. Rodrigues Jr.² (PQ), Fernando Coelho² (PQ), Adriano D. Andricopulo¹ (PQ).

rnsantos@ursa.ifsc.usp.br

¹ Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 13560-970, São Carlos-SP. ² Laboratório de Síntese de Produtos Naturais e Fármacos, Instituto de Química, UNICAMP, 13084-970, Campinas-SP.

Palavras Chave: câncer, fármacos, microtúbulos, indol, tubulina.

Introdução

Microtúbulos desempenham papel essencial no desenvolvimento e manutenção da estrutura celular, no transporte, nas vias de sinalização e no processo de mitose.¹ Devido ao grande sucesso terapêutico dos fármacos anticâncer que interagem com este alvo molecular, considera-se que os microtúbulos representam um alvo molecular de grande interesse para o tratamento do câncer.^{1,2} Neste trabalho, estudos experimentais e computacionais permitiram identificar uma nova classe de moduladores da polimerização de tubulina. Além disso, foram determinados o mecanismo de ação e o modo de interação responsáveis pela pronunciada ação anticâncer dessa classe de compostos.

Resultados e Discussão

Um conjunto de 258 compostos sintéticos, incluindo β -cetoésteres, naftiridinas, ftalídeos, derivados indólicos e pirrolizidinonas, foi organizado para a realização de um estudo de modelagem molecular empregando os vários sítios da proteína tubulina (da colchicina, do taxol e da vimblastina). Desse trabalho, diversas moléculas promissoras foram selecionadas para avaliação bioquímica frente a proteína alvo. Dentre as classes avaliadas, uma série de derivados de ciclopenta[*b*]indol recebeu atenção especial devido a pronunciada modulação da polimerização de tubulina em ensaios padrões *in vitro* (fluorescência e absorbância, **Tabela 1**). Esses compostos foram avaliados para a determinação de parâmetros quantitativos (IC₅₀: concentração necessária para inibir metade da atividade biológica, **Tabela 1**). A partir desses resultados promissores, dois destes compostos (**5** e **7**, **Figura 1**) foram selecionados para estudos de mecanismo de ação, considerando o sítio da colchicina como alvo de interação, baseado nos estudos de modelagem molecular. Os ensaios de competição realizados permitiram caracterizar o sítio da colchicina como alvo molecular de interação desses compostos (**Figura 2 A**). Estudos de modelagem molecular levaram a geração de um modelo de ligação, baseado nos resultados experimentais, evidenciando as interações moleculares predominantes nesta cavidade de interação (**Figura 2 B**).

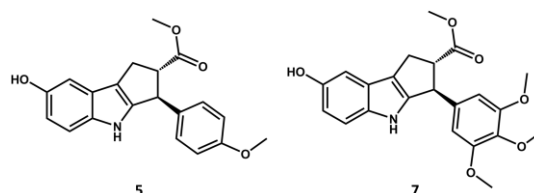


Figura 1. Inibidores da polimerização de microtúbulos com mecanismo molecular de inibição identificado através de ensaios competitivos frente ao sítio da colchicina.

Tabela 1. Atividade de modulação de microtúbulos.

Composto	Inibição de polimerização de microtúbulos (%)		
	Fluorescência	IC ₅₀ (μM)	Absorção
	1 μM		25 μM
1	33 ± 15	> 50 ^a	84 ± 10
2	26,1 ± 0,7	> 50 ^a	67 ± 7
3	25 ± 6	> 50 ^a	32 ± 6
4	6 ± 2	> 250 ^a	1 ± 11
5	5 ± 4	34 ± 2	38 ± 8
6	6 ± 2	> 250 ^a	9 ± 7
7	12 ± 1	24 ± 2	60 ± 2
8	43 ± 6	> 50 ^a	47 ± 6
Colchicina	34 ± 5	2,0 ± 0,1	100 ± 9 ^b

^aMáxima concentração solúvel. ^bTestado a 5 μM. Valores referentes à média ± desvio padrão de 3 ensaios independentes.

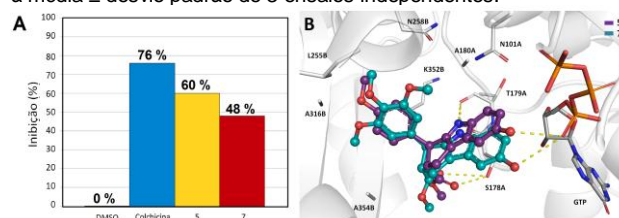


Figura 2. (A) Inibição da ligação de colchicina fluorescente à tubulina em ensaios competitivos. **(B)** Modos de ligação dos compostos **5** e **7**, capazes de interagir com o sítio da colchicina.

Conclusões

Uma abordagem moderna de química medicinal permitiu a identificação de uma série inédita de moduladores de tubulina com atividade anticâncer. Os estudos realizados levaram a elucidação do mecanismo de ação, revelando os principais aspectos moleculares envolvidos na interação destes compostos com a proteína alvo. Os resultados apresentados são extremamente promissores para o desenvolvimento de um novo candidato a fármaco para a terapia do câncer.

Agradecimentos

À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro.

¹ Jordan, M. A.; Wilson I. *Nat. Rev. Cancer*. **2004**, 4, 253-265.

² Salum, L. B.; Dias, L. C.; Andricopulo, A. D. *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, 20, 693-703.