

## Mecanismo de inibição e modelagem molecular de novos inibidores da proteína tirosina fosfatase A (PtpA) de *Mycobacterium tuberculosis*.

Alessandra Mascarello (PG)<sup>1\*</sup>, Louise D. Chiaradia (PG)<sup>1</sup>, Rafael V. C. Guido (PQ)<sup>3</sup>, Javier Vernal (PQ)<sup>2</sup>, Hernán Terenzi (PQ)<sup>2</sup>, Adriano D. Andricopulo (PQ)<sup>3</sup>, Rosendo A. Yunes (PQ)<sup>1</sup>, Ricardo J. Nunes (PQ)<sup>1</sup> <\*alekimica@yahoo.com.br>

<sup>1</sup>Depto Química, CFM-UFSC, 88040-900, Florianópolis - SC. <sup>2</sup>Depto Bioquímica, CCB-UFSC, 88040-900, Florianópolis - SC. <sup>3</sup>Laboratório de Química Medicinal e Computacional, LQMC-IFSC-USP, 13566-590, São Carlos – SP.

Palavras Chave: tuberculose, PtpA, naftilchalconas

### Introdução

A análise do genoma da *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) revelou a presença de duas proteínas: MPtpA e MPtpB, fosfotirosinas fosfatases de baixo peso molecular.<sup>1</sup> Um recente estudo provou que a inativação da MPtpA atenua o crescimento de Mtb em macrófagos humanos. Este estudo identificou VPS33B, um regulador de membrana de fusão do macrófago, como um substrato desta proteína.<sup>2</sup> Foi demonstrado que a PtpA consegue ultrapassar a membrana celular do hospedeiro, onde interage com o substrato inibindo fagossomos de fusão, um processo associado à infecções de Mtb. O presente trabalho descreve a determinação do mecanismo de inibição enzimático de uma série de 22 chalconas, identificadas como inibidores de MtpA.<sup>3</sup> Estudos de modelagem molecular também foram realizados para elucidar o modo de ligação dos inibidores e identificar as interações intermoleculares predominantes para essa série de compostos bioativos.

### Resultados e Discussão

O mecanismo de inibição, representativo desta série de chalconas estruturalmente relacionadas, foi determinado para os três compostos mais ativos: **14** (IC<sub>50</sub> = 39,5 µM); **22** (IC<sub>50</sub> = 8,4 µM) e **29** (IC<sub>50</sub> = 23,1 µM).<sup>3</sup> Os valores de velocidade inicial de reação foram expressos como atividade específica da proteína (µmol pNP min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup>) e a concentração de pNPP (substrato) em mM. Através dos gráficos obtidos, a taxa de saturação e liberação de fosfato sugere um mecanismo enzimático clássico de Michaelis-Menten para estes compostos. Isso é consistente com as propriedades cinéticas de outras PTPs para o substrato comumente usado, *p*-nitrofenilfosfato (pNPP).<sup>4</sup> Através dos gráficos de duplo-recíproco de Lineweaver-Burk, foi possível confirmar que estes inibidores atuam por mecanismo reversível do tipo competitivo. Os estudos de modelagem molecular foram realizados com o programa FlexX. A Figura 1 apresenta as três chalconas sobrepostas no sítio ativo da enzima alvo (**14**, rosa; **22**, azul; e **29**, amarelo), com destaque para os resíduos de aminoácidos que fazem ligação hidrogênio com os substituintes do anel A dos inibidores.

32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

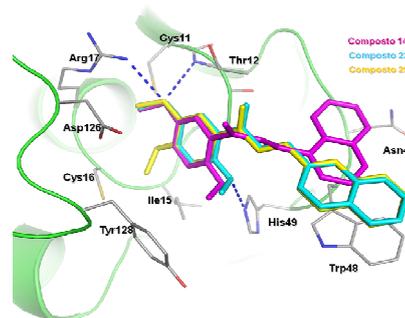


Figura 1. Modelo de interação das naftilchalconas bioativas no sítio ativo da MptpA.

Analisando os modelos de interações propostos na Figura 1, podemos observar que as metoxilas do anel A dos compostos **14** e **22** estabelecem três ligações hidrogênio com o sítio ativo da MptpA; já o composto **29** faz somente duas ligações de hidrogênio. Os substituintes 2-naftil das chalconas **22** e **29** interagem com a cadeia lateral do resíduo Trp48 através de interações do tipo empilhamento de elétrons- $\pi$  (do inglês  $\pi$ -stacking). Já o composto **14**, que apresenta o substituinte 1-naftil, não estabelece eficientemente este tipo de interação, sugerindo a menor potência relativa deste composto.

### Conclusões

Os resultados obtidos levaram a determinação do mecanismo de inibição enzimática desta série de chalconas. Os estudos de modelagem molecular revelaram interações essenciais responsáveis pelo processo de reconhecimento molecular e atividade biológica. O modelo de interação intermolecular baseado no mecanismo de inibição é uma ferramenta útil para o planejamento de novos inibidores mais potentes e seletivos da PtpA.

### Agradecimentos

CNPq, CAPES, DQ-UFSC, BQA-UFSC, IFSC-USP.

<sup>1</sup> Cole S. T. *et al. Nature*, **1998**, 393, 537–544.

<sup>2</sup> Bach, H. *et al., Cell Host & Microbe*, **2008**, 3, 316–322.

<sup>3</sup> Chiaradia, L. D.; Mascarello, A. *et al., Bioorg Med Chem Lett*. **2008**, 18, 6227–6230.

<sup>4</sup> Zhang *et al., J. Biol. Chem.*, **1992** 267, 23759–23766, 1992; Guo *et al., J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 41014–41022.