

## Derivados de piridin-2-onas como inibidores seletivos da enzima orotato fosforibosiltransferase de *Mycobacterium tuberculosis*

Ardala Breda<sup>1,3</sup> (PG), Pablo Machado<sup>3\*</sup> (PQ), Leonardo A. Rosado<sup>2,3</sup> (PG), Luiz A. Basso<sup>1,2,3</sup> (PQ), André A. Souto<sup>1,3</sup> (PQ), Diógenes S. Santos<sup>1,2,3</sup> (PQ). [pablomachado.mail@gmail.com](mailto:pablomachado.mail@gmail.com)

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose (INCT-TB), Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional (CPBMF). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

Palavras Chave: Pirimidin-2-onas, *Mycobacterium tuberculosis*, orotato fosforibosiltransferase, inibidores seletivos.

### Introdução

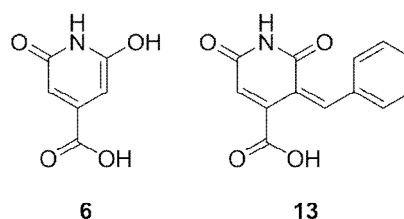
A tuberculose (TB) é uma doença crônica de impacto global, causada principalmente pelo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). <sup>(1)</sup> Considerada um problema de saúde pública, a doença requer o desenvolvimento de alternativas farmacológicas para o seu tratamento e profilaxia, uma vez que as drogas disponíveis não são consideradas completamente eficazes. <sup>(1), (2)</sup> Novos fármacos devem ser capazes de reduzir o tempo de tratamento, apresentar menos efeitos colaterais e menores interações medicamentosas, aumentando a adesão dos pacientes ao tratamento. <sup>(3), (4)</sup> As vias de metabolismo de nucleotídeos são consideradas fontes promissoras de potenciais alvos moleculares para o desenvolvimento de compostos de ação específica, que podem idealmente ter ação sobre a forma ativa e a forma latente da TB.

A enzima orotato fosforibosiltransferase (OPRT, EC 2.4.2.10) catalisa a conversão de orotato (OA) e 5'-fosfo- $\alpha$ -D-ribose 1'-difosfato (PRPP) em orotidina 5'-monofosfato (OMP) e pirofosfato (PP<sub>i</sub>), em presença de Mg<sup>2+</sup>, <sup>(5)</sup> sendo os demais nucleotídeos de pirimidina derivados de OMP. Assim, após caracterização da OPRT de MTB, <sup>(6)</sup> nosso objetivo é demonstrar a seleção, síntese e caracterização de inibidores específicos com atividade *in vitro*.

### Resultados e Discussão

Os compostos testados foram obtidos comercialmente e a partir de metodologias sintéticas. A síntese envolveu reações de Mannich e condensações de benzaldeídos com piridin-2-onas. Os ensaios de inibição da atividade enzimática indicaram os compostos **6** e **13** como inibidores mais promissores da OPRT de MTB (**Figura 1**). Dados cinéticos demonstraram uma inibição competitiva contra o substrato OA (valores de  $K_i$  em 10<sup>-9</sup> M); e incompetitivos contra o substrato PRPP ( $K_i$  em 10<sup>-6</sup> M). O mecanismo cinético de reação catalisada pela OPRT de MTB foi caracterizado como Mono-Iso Ordenado Bi Bi demonstrando haver uma competição dos inibidores pelo sítio de ligação do OA ao complexo OPRT · PRPP. <sup>(6)</sup>

34<sup>o</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química



**Figura 1.** Estrutura das pirimidin-2-onas mais promissoras para inibição da OPRT de MTB.

O perfil de inibição incompetitiva para o PRPP indica que os compostos **6** e **13** apresentam maior afinidade de ligação com o aumento da formação de complexos binários OPRT · PRPP, com a subsequente competição pelo sítio de ligação do OA ao complexo binário formado. As constantes termodinâmicas e perfil termodinâmico da ligação dos compostos **6** e **13** ao sítio ativo da OPRT indicam estequiometria de ligação 1:1, com  $\Delta G$  e  $\Delta H$  favoráveis, um indicativo da boa complementaridade entre o sítio ativo da enzima e cada composto. O composto **13** apresenta valores de  $-\Delta\Delta S$  com sinal oposto à sua molécula precursora, composto **6**, relacionado ao aumento do seu perfil hidrofóbico.

### Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram que compostos derivados de pirimidin-2-onas são inibidores potentes da OPRT de MTB. Além disso, o aumento do seu carácter hidrofóbico conduzem a derivados entropicamente otimizados com maior atividade inibitória sobre a enzima.

### Agradecimentos

INCT-TB, MCT-CNPq, Ministério da Saúde – Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT), FAPERGS-CNPq-PRONEX-2009, BNDES.

<sup>1</sup> Ma, Z., et al. *Lancet*. **2010**, 375, 2100-2109. <sup>2</sup> Russell, D.G.; Barry 3rd, C.E. e Flynn, J.L. *Science*. **2010**, 328, 852-856. <sup>3</sup> Spiegelman, M.; Woosley, R. e Gheuens, J. *Int J Tuberc Lung Dis*. **2010**, 14, 663-664. <sup>4</sup> Donald, P.R. *SAMJ*. **2007**, 97, 992-994. <sup>5</sup> Bhatia, M.B.; Vinitzky, A. e Grubmeyer, C. *Biochemistry*. **1990**, 29, 10480-10487. <sup>6</sup> Breda, A., et al. Manuscrito em preparação.