

**PROJETO DE PESQUISA: Descoberta e desenvolvimento de fármacos contra câncer.**

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Dra. Daniela. B. B. Trivella**

**INSTITUIÇÃO SEDE: Laboratório Nacional de Biociências, LNBio, CNPEM**

Câncer é uma das principais causas de morte no mundo. Algumas terapias anticâncer estão disponíveis, porém muitos efeitos colaterais e ineficácia são recorrentes. Desta maneira, existe necessidade extrema do desenvolvimento de terapias mais eficazes e a redução dos efeitos colaterais é altamente desejada. Nas últimas décadas foram desenvolvidas terapias visando citotoxicidade como uma abordagem empírica para o tratamento de câncer. Avanços mais recentes, focados na compreensão das bases moleculares que levam ao crescimento e progressão do câncer, vêm abrindo campo para o desenvolvimento de fármaco-terapias mais específicas contra esta patologia<sup>1,2</sup>.

Nos últimos anos vem sendo demonstrado que inibidores de vias de resposta ao estresse apresentam propriedades anticâncer, com certa seletividade às células tumorais em relação às células normais<sup>3,4</sup>. Esta seletividade dá-se pela dependência das células tumorais aos sistemas de resposta ao estresse, dependência esta não observada em mesma intensidade em células sadias. Assim, intervenção em vias de resposta ao estresse celular é uma atrativa estratégia para o desenvolvimento de fármacos contra câncer<sup>5</sup>. Alguns dos alvos terapêuticos deste tipo de abordagem, como por exemplo, enzimas da família glutationa-S-transeferase (GSTs) e o sistema proteassomo, também participam direta ou indiretamente de vias de sinalização centrais para apoptose, diferenciação e divisão celular<sup>3,6,7</sup>, mostrando potencial adicional destas enzimas como alvos terapêuticos.

Glutationa-S-transeferases (GSTs) constituem uma família de enzimas envolvidas na fase II de detoxificação celular. GSTs são responsáveis pela catálise da conjugação de glutationa (GSH) com eletrófilos potencialmente citotóxicos, neutralizando-os e facilitando sua excreção. Toxinas naturais, agrotóxicos, metabólitos decorrentes de estresse oxidativo e agentes farmacológicos (como por exemplo medicamentos contra câncer) são os principais substratos de GSTs. Além dos processos de detoxificação celular, que muitas vezes leva a resistência a fármacos, as GSTs estão também envolvidas em vias de sinalização, sendo inibidoras de apoptose e indutoras de proliferação e sobrevivência celular<sup>6,7</sup>.

Um outro alvo bioquímico, já validado, porém com crescente interesse para a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos anticâncer é o sistema proteassomo<sup>8-10</sup>. O proteassomo é responsável pela proteólise intracelular, em sistema não lisossomal<sup>3</sup>. Por regular a homeostase proteica e resposta ao estresse proteico (acúmulo de proteínas mal enoveladas ou defeituosas), o proteassomo está envolvido no controle de processos celulares cruciais para a sobrevivência e desenvolvimento celular, como: divisão celular, transdução de sinal, transcrição, sinalização por estresse, diferenciação celular e apoptose<sup>11, 12</sup>. Alguns eletrófilos de origem natural e sintética já foram identificados como inibidores do proteassomo<sup>3</sup>. Em particular, os produtos naturais e derivados contendo epoxicetonas e  $\beta$ -lactonas mostram elevada potência e seletividade pelo proteassomo devido a reações secundárias no sítio catalítico<sup>3, 12</sup>. Destes, carfilzomib, um derivado sintético do produto natural epoxomicina, foi recentemente aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA, E.U.A.) para o tratamento de mieloma múltiplo. Salinosporamida A, uma  $\gamma$ -lactama,  $\beta$ -lactona produzida pela bactéria marinha *Salinispora tropica*, encontra-se em testes clínicos<sup>12, 13</sup>. No entanto, toxicidade<sup>14</sup> e resistência<sup>13</sup> são ainda processos que podem ser otimizados por novas gerações de inibidores do proteassomo.

Assim, o presente projeto de pesquisa visa identificar novos inibidores de alvos bioquímicos estratégicos contra câncer: GSTs e proteassomo, buscando diversidade química em biblioteca de produtos naturais.

Vale comentar que produtos naturais são excelentes fontes para busca de moléculas bioativas, servindo de excelentes protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos. Em decorrência disto, cerca de metade dos fármacos desenvolvidos e 60% dos medicamentos anticâncer disponíveis são produtos naturais ou derivados<sup>15, 16</sup>. Uma biblioteca de produtos naturais encontra-se em fase de organização para a triagem de inibidores frente a modulação da atividade dos alvos bioquímicos selecionados.

Espera-se também, caracterizar a interação dos inibidores identificados com os alvos enzimáticos utilizando ferramentas de bioquímica clássica e biologia estrutural (cristalografia de proteínas). Estes objetivos serão cumpridos através do uso de técnicas modernas para a produção dos alvos bioquímicos – a maioria deles utilizando DNA recombinante – e diversas técnicas cromatográficas para purificação das proteínas. Os compostos identificados nas triagens serão analisados em maiores detalhes, visando a determinação do mecanismo e outros parâmetros bioquímicos da inibição. A interação dos inibidores identificados com os alvos terapêuticos será

caracterizada estruturalmente através da obtenção de complexos cristalográficos alvo:inibidor.

Estes resultados permitirão a compreensão dos elementos químicos e estruturais da interação, dando suporte, além da descoberta de novas classes de inibidores dos alvos bioquímicos, ao desenho racional de novos fármacos contra câncer. O desenvolvimento deste projeto permitirá ao aluno aprender técnicas de biologia molecular, expressão e purificação de proteínas, enzimologia, cristalografia de proteínas, além do envolvimento com química de produtos naturais e química medicinal. Vale comentar que os objetivos a serem atingidos são de alto impacto científico, garantindo boas publicações em revistas de circulação internacional, além de apresentarem potencial direto de aplicação à indústria farmacêutica.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sawyers, C. *Nature* **2004**, 432 (7015), 294-7.
2. Stratton, M. R., et al. *Nature* **2009**, 458 (7239), 719-24.
3. Kisselev, A. F., et al. *Chem Biol* **2012**, 19 (1), 99-115.
4. Raj, L., et al. *Nature* **2011**, 475 (7355), 231-4.
5. Tew, K. D.; Townsend, D. M. *Curr Opin Chem Biol* **2011**, 15 (1), 156-61.
6. Tew, K. D., et al. *Free Radic Biol Med* **2011**, 51 (2), 299-313.
7. Tew, K. D.; Townsend, D. M. *Drug Metab Rev* **2011**, 43 (2), 179-93.
8. Bedford, L., et al. *Nat Rev Drug Discov* 10 (1), 29-46.
9. Moore, B. S., et al. *Curr Opin Chem Biol* **2008**, 12 (4), 434-40.
10. Rajkumar, S. V., et al. *J Clin Oncol* **2005**, 23 (3), 630-9.
11. Goldberg, A. L. *Biochem Soc Trans* **2007**, 35 (Pt 1), 12-7.
12. Gulder, T. A.; Moore, B. S. *Angew Chem Int Ed Engl* **2010**, 49 (49), 9346-67.
13. Kale, A. J.; Moore, B. S. *J Med Chem* **2012**, 55 (23), 10317-10327.
14. Beck, P., et al. *Biol Chem* **2012**, 393 (10), 1101-20.
15. Newman, D. J.; Cragg, G. M. *Future Med Chem* **2009**, 1 (8), 1415-27.
16. Cragg, G. M., et al. *Chem Rev* **2009**, 109 (7), 3012-43.