

PROTEÍNAS QUINASES E A AÇÃO HORMONAL*

Introdução

Nos processos metabólicos, grandes quantidades de energia são requeridas e a maior parte da energia livre é obtida pela oxidação de nutrientes e substratos disponíveis durante o catabolismo. Esta energia é conservada e transferida mediante reações acopladas à síntese de ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico - Pi (reação de fosforilação do ADP) tornando-se, portanto, sistemas de transmissão de energia e vínculos entre as reações produtoras e reações consumidoras de energia.² O ATP e o ADP são reagentes obrigatórios em quase todas as reações enzimáticas de transferência de grupos fosfato. O ADP serve como intermediário receptor do grupo fosfato proveniente de compostos fosfatados de alta energia e o ATP como doador do grupo fosfato para compostos de baixa energia.¹

As proteínas quinases (PK) são enzimas que catalisam a fosforilação de proteínas por meio da transferência de um grupo fosfato de ATP ou GTP (em raros casos), para resíduos de tirosina (Tyr), treonina (Thr) e serina (Ser) (Figura 1). As enzimas são proteínas com capacidade catalisadora e formadas por uma sequência de aminoácidos em que a interação entre as cadeias laterais vai determinar a sua forma e a sua função.⁴ As proteínas quinases compõem a maior família de proteínas nos seres eucariontes e é um componente fundamental da cascata de “comunicação” que ocorre no controle intracelular, na regulação e transdução de sinais. O mecanismo regulador inclui vários fenômenos que vão desde alterações químicas e estruturais das proteínas até ao controle transcricional. Portanto, um entendimento minucioso sobre o mecanismo de controle das proteínas quinases torna-se foco de interesse de muitos trabalhos e pesquisas para a descoberta de novos fármacos.^{2, 3}

Os primeiros relatos sobre as proteínas quinases foram realizados por Edwin Krebs e Edmond Fisher em 1959 e desde que começaram a ser descobertas, muitas pesquisas têm sido feitas evidenciando a presença de um grande número de proteínas quinases existente estimando-se, inclusive, que o genoma humano apresente em torno de duas mil quinases.^{1,3,4}

* Seminário apresentado pela aluna VIVIANE GUYOTI na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2009. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

Atividades e classificação das proteínas quinases (PK)

A atividade catalítica das proteínas quinases possui a propriedade de favorecer cineticamente uma reação. Isso porque a reação entre ATP produz quantidades muito pequenas de éster fosfato em água, ou seja, a hidrólise espontânea de monoéster fosfato, tem cinética lenta em condições fisiológicas normais, tornando necessária a ação de fosfatases para que a reação seja acelerada.² Assim, a fosforilação de proteínas é reversível e controlada por enzimas em ambas as direções (fosforilação e desfosforilação).⁹

A fosforilação dos aminoácidos é responsável por estímulos extracelulares e intracelulares, que fornecem mecanismo eficiente para o controle das atividades protéicas. A figura 1 mostra a composição estrutural dos três aminoácidos (Thr, Ser e Tyr) seguido do processo de fosforilação da tirosina. O processo de fosforilação ocorre justamente nestes aminoácidos pelo fato de que possuem o radical OH em suas cadeias laterais levando o radical hidroxí a condições ideais para a reação de hidrólise do ATP, para “soltar” o fosfato presente.¹⁰

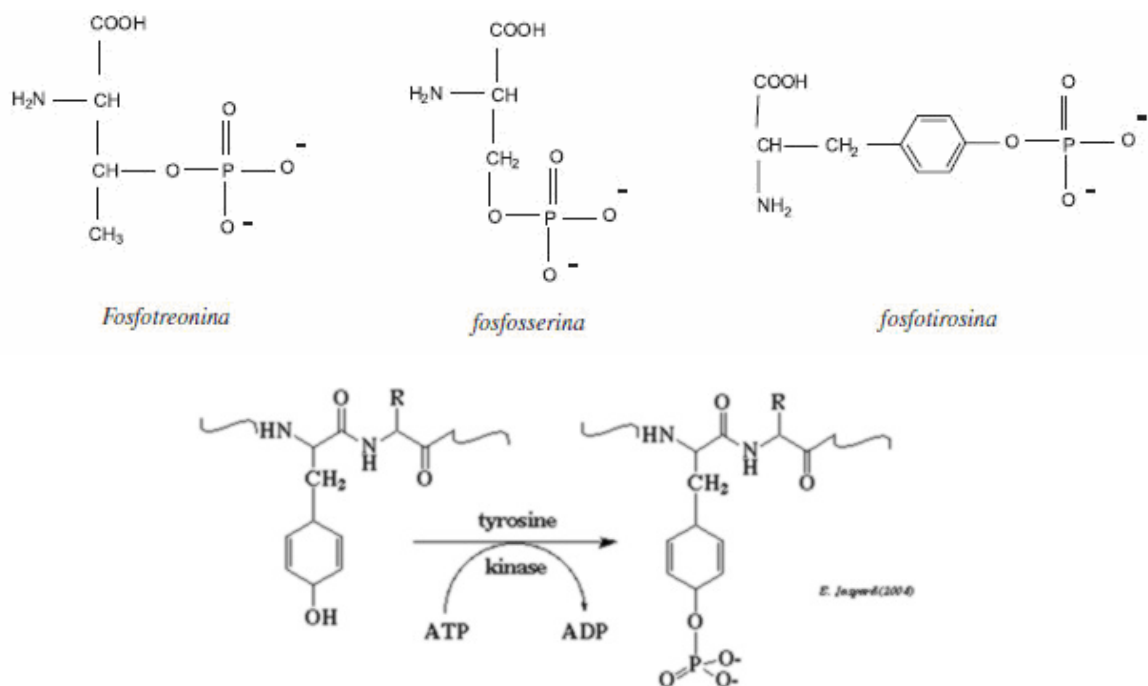


Figura 1. Organização estrutural da treonina, serina e tirosina e processo de fosforilação da tirosina.

Adicionar e remover grupos fosfato é um mecanismo fisiológico importante na regulação de proteínas intracelulares, as quais podem ser enzimas, receptores ou segundos mensageiros. Uma série de respostas celulares mediadas por receptores e vias metabólicas podem ser ativadas e desativadas pelas quinases (que adicionam grupos fosfato) ou fosfatases (enzimas que removem grupos fosfato) intracelulares. As quinases e as fosfatases, por sua vez, são reguladas por sinais

bioquímicos extrínsecos, tais como hormônios e fatores de crescimento. As quinases celulares são divididas naquelas que fosforilam proteínas em resíduos Tyr (tirosina-quinases) e aquelas que fosforilam proteínas em resíduos Ser e Thr (serina/treonina-quinases).^{4,11}

A fosforilação das proteínas Ser, Thr e Tyr, ocorre em proporções de 1000/100/1 respectivamente e introduz grupos carregados eletricamente em uma região moderadamente apolar e muda radicalmente sua natureza química provocando drásticas alterações em sua conformação (Figura 2) e, conseqüentemente, em sua atividade catalítica acarretando em uma drástica redução da capacidade de exercer sua função original.^{4,7} Como resultado desses eventos, os resíduos de Ser, Thr e Tyr passam a ter um sequenciamento protéico repetido que é conhecido, então, por uma proteína quinase específica.

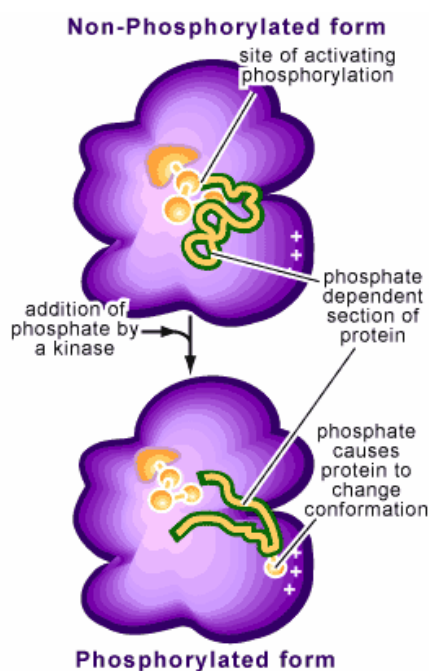


Figura 2. Mudança estrutural e funcional de uma proteína mediante a fosforilação.

Para que o mecanismo regulatório seja efetivo, a fosforilação causada pelas proteínas quinases deve ser reversível. Felizmente, a desfosforilação também é uma reação relativamente simples e as enzimas que exercem esta função de reversão são as fosfoproteínas-fosfatases cuja função é hidrolisar ésteres específicos de fosfoserina, fosfotreonina ou fosfotirosina em proteínas específicas (Figura 1).² Neste contexto, a fosforilação funciona como um interruptor para a atividade enzimática e as quinases são os responsáveis por ligar e/ou desligar este interruptor, de modo a permitir o retorno ao nível anterior de estimulação quando o sinal hormonal termina.⁷ Desta forma,

não é necessário sempre degradar proteínas e transcrever/traduzir novas proteínas toda vez que a célula precisar alterar seu metabolismo: basta apenas ativar ou inibir as proteínas de acordo com a necessidade não havendo nenhuma regra para qual estado é o ligado, ou seja, uma fosforilação pode tanto ativar quanto desativar uma proteína.¹⁰

A importância terapêutica das PK

As proteínas quinases estão associadas a algumas doenças como a asma, o câncer, enfermidades de ordem cardiovascular, diabetes e doenças do sistema nervoso central, dentre outras. Em função de seu papel essencial no processo de proliferação celular, metabolismo do glicogênio, apoptose, neurotransmissão, oncogênese, desregulação ou superexpressão de receptores em geral, elas são motivos de estudos e pesquisas.^{11,13}

No processo de desenvolvimento e manutenção de tumores malignos humanos, por exemplo, o envolvimento de proteínas quinases pode ocorrer por rearranjo genômico, incluindo translocação cromossomal dos genes *Bcr-Abl* em leucemia mielóide crônica (LMC); mutações que conduzem à atividade quinase; desregulação da atividade quinase por ativação de oncogenes ou perda da função de supressores tumorais.¹⁸ Isto ocorre, por exemplo, com o oncogene *Ras* (ativado em aproximadamente 30-50% dos cânceres humanos), desregulação da atividade da quinase Raf e quinases dependentes de ciclinas e desregulação da atividade quinase por superexpressão dos receptores do fator de crescimento epidérmico.^{17,18}

Proteínas quinases na ação hormonal

As vias metabólicas são reguladas em três níveis: pela ação das enzimas alostéricas, pelo controle da expressão gênica nas células e por meio dos hormônios, os quais são mensageiros químicos que regulam o metabolismo. A regulação hormonal sobre a atividade de uma proteína quinase, conforme figura 3, ocorre independentemente do tipo de sinal transducional da ação hormonal, se por meio de adenilciclase, cálcio/calmodulina, fosfolipase C, canais iônicos ou guanilciclase.²

A seguir serão abordados os principais grupos de proteínas quinases, suas características e principais respectivas atividades no metabolismo.

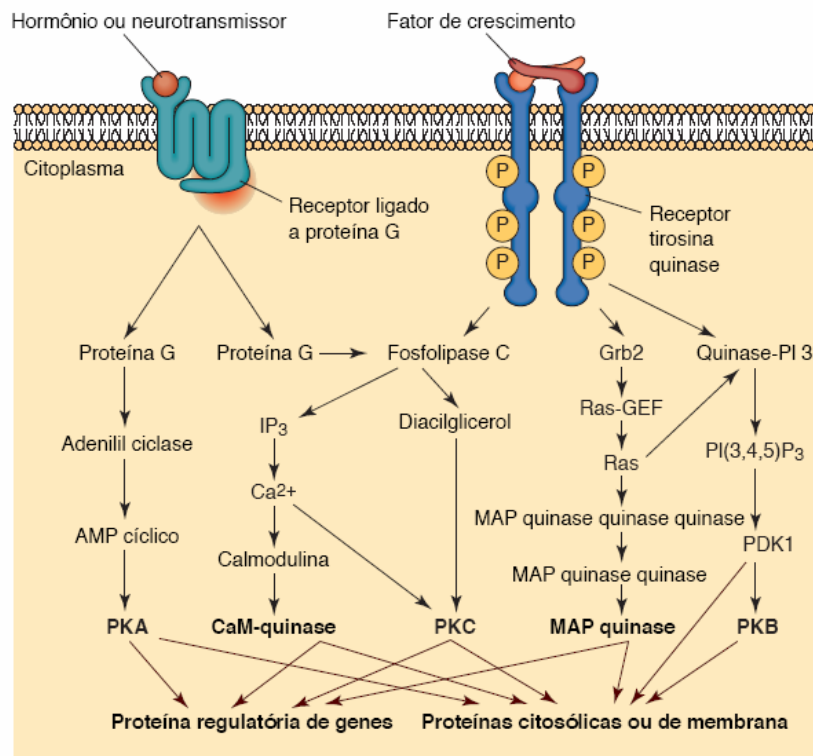


Figura 3. Processos que envolvem a ação hormonal: integração das principais cascatas de sinalização intracelular reguladas por diferentes receptores de superfície celular.

Proteína quinase A (PKA)

Com sua estrutura catalítica bem conservada, a PKA foi primeira estrutura de uma proteína quinase ativa que foi completamente determinada. Ela altera as atividades das proteínas-alvo, fosforilando grupos específicos de serina e, em menor quantidade, a treonina e é ativada por concentrações de AMP cíclico (AMPc) e, por isso, ela também é conhecida como proteína quinase dependente do AMP cíclico (PKAc) (Figura 4^a). Esta enzima é formada por duas subunidades: uma reguladora (R), com alta afinidade pelo AMPc, e uma catalítica (C). Na ausência de AMPc, a subunidade C torna-se inativa pela formação de um complexo tetramérico R_2C_2 . A ligação do AMPc à subunidade R induz mudanças conformacionais que resultam na dissociação da haloenzima inibida.⁴

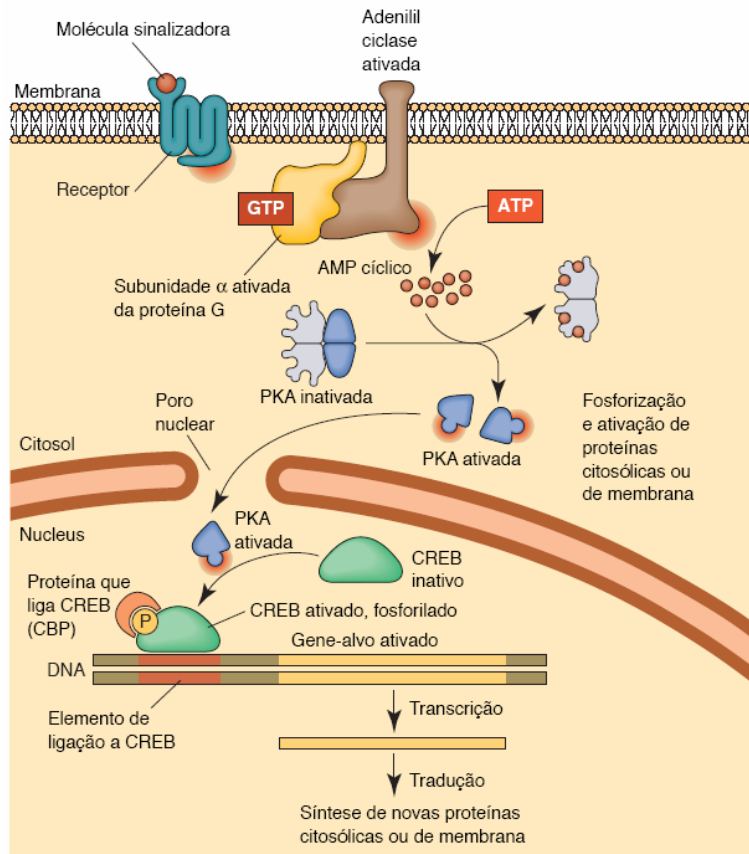


Figura 4a. Papel da proteína quinase A nas cascatas de sinalização intracelular reguladas por AMPc.

A fosforilação destas enzimas pode resultar em alterações das atividades enzimáticas como é o caso da fosforilação do hormônio lipase sensível (HSL), colesterol esterase ou glicogênio fosforilase resultando na ativação enzimática. Mas por outro lado, a fosforilação de glicogênio sintetase causa um decréscimo na atividade enzimática. As respostas específicas de diferentes tipos celulares frente ao aumento das concentrações de AMPc e ativação da PKAc são determinadas pelo fenótipo celular e pela disponibilidade de enzimas e substratos que participam desta regulação. A exemplo, a maior resposta do fígado frente ao aumento do AMPc é a glicogenólise, uma vez que os hepatócitos expressam enzimas que sintetizam e metabolizam o glicogênio.^{12,15}

Na Figura 4b está o diagrama da PKA com ATP e um peptídeo inibidor. A subunidade C possui dois domínios: um pequeno correspondente ao sítio de ligação do ATP e um domínio maior onde se liga o substrato.^{7,8}

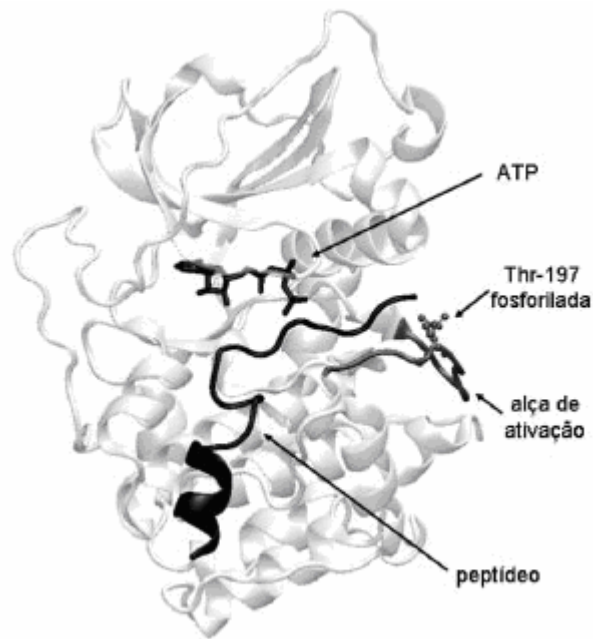


Figura 4b. Diagrama da PKA unida a um ATP e um peptídeo inibidor. A alça de ativação e o resíduo de fosforilação estão representados em cinza. O ATP e o sítio inibidor estão representados em preto.

Proteína quinase C (PKC)

A PKC é uma das três principais quinases serina-treonina. Ela está envolvida em eventos de transdução de sinais, respondendo a estímulos específicos hormonais, neuronais e de fatores de crescimento. Sua ação é catalisando a transferência de um grupo fosfato do ATP (adenosina trifosfato) a várias proteínas substrato. Da mesma forma, a PKC também sofre fosforilações antes de ser ativada, o que ocorre durante sua translocação do citosol para a membrana da célula. Sua ativação e translocação do citosol à membrana plasmática ocorrem em resposta a aumento transitório de diacilglicerol (DAG) ou exposição a agentes exógenos, conhecidos como forbol-ésteres.

Um grupo de 10 isoenzimas divididas em 3 classes compõe a família de PKC dos mamíferos sendo: a convencional (α , γ e, alternativamente, β I e β II), recente (δ , ϵ , η /L, θ) e atípica (ζ , ι / λ). Um quarto grupo, as PKC μ e ν são consideradas, por alguns, uma quarta classe e, por outros, como uma família distinta denominada proteínas quinases D.^{4,7,16}

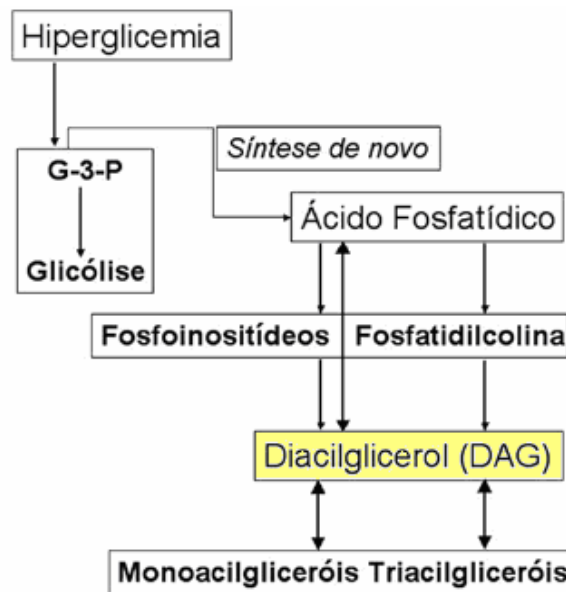


Figura 5. A liberação intracelular de diacilglicerol (DAG) é o primeiro passo que leva à ativação e translocação da PKC. O DAG celular, que é o ativador fisiológico da PKC, deriva de múltiplas fontes: hidrólise de fosfatidilinosítídeos, metabolismo da fosfatidilcolina pela fosfolipase C ou D ou síntese de novo (principal via responsável pela formação de DAG hiperglicemia-induzida no diabetes).

Todas estas enzimas têm em comum uma região C-terminal conservada, típica de quinases, e uma região N-terminal que contém módulos regulatórios: pseudo substrato (exceto μ/D); domínios de ligação à fosfatidilserina e ésteres diacilglicerol/forbol; domínios de ligação a lipídeos aniônicos (apenas as convencionais e recentes) e Ca^{+2} (apenas as convencionais); e domínios de ligação a fosfoinosítídeos (apenas μ/D).⁹

Proteína quinase dependente de cálcio Ca^{+2} /calmodulina (CaMK)

Nos mamíferos, as células possuem uma grande quantia de proteínas que se ligam ao cálcio com diferentes especificidades e afinidades, podendo ser proteínas de baixa afinidade que atuam principalmente como "tampões" que limitam a difusão de Ca^{2+} ou outras proteínas que se ligam com alta afinidade e especificidade ao cálcio e são responsáveis por algumas atividades bioquímicas.⁶

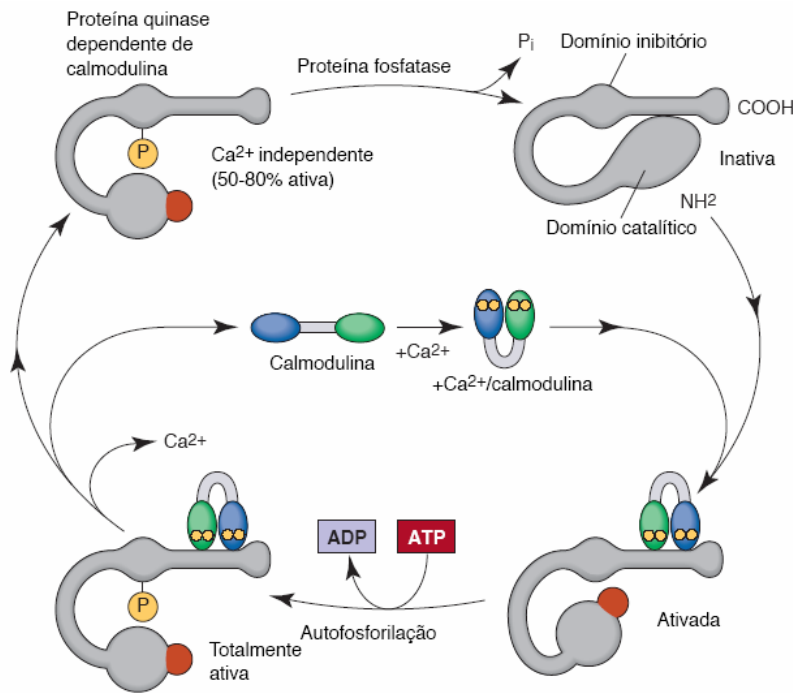


Figura 6a: Papel de calmodulina e proteína quinases reguladas por calmodulina nas cascatas de sinalização intracelular reguladas por Ca^{2+} .

O cálcio é um sinalizador celular de extrema importância e por isso, sua concentração livre dentro da célula é estritamente regulada. A proteína quinase C liga-se diretamente ao cálcio, ao passo que outras quinases são reguladas indiretamente através de um sinal de transdução. É o caso da calmodulina (CaM) que possui dois sítios de ligação ao Ca^{2+} em cada um de seus dois domínios globulares (Figura 6a). A ligação com o Ca^{2+} induz uma mudança conformacional na CaM que promove a interação do complexo $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ com proteínas como a Ser e Thr quinases.^{12, 13}

Proteína quinase dependente de ciclina (CDK)

O caráter versátil de ativação e da regulação de proteínas quinases foi mais estudado para o grupo de quinases dependentes de ciclina. Sua ativação ocorre a partir de dois eventos: a ligação com uma molécula reguladora positiva, a ciclina e a fosforilação de um resíduo de treonina localizado em seu segmento de ativação.^{14,20}

CDK específicas operam em fases distintas do ciclo celular (Figura 6b). A CDK4 e CDK5 (ciclina D) são responsáveis pela progressão na fase G_1 ; CDK2 (ciclina E) é necessária para a progressão da fase G_1 a fase S; CDK2 (ciclina A) para a transição em fase S e a CDK1 (ciclina B) é responsável para a transição G_2/M .⁴

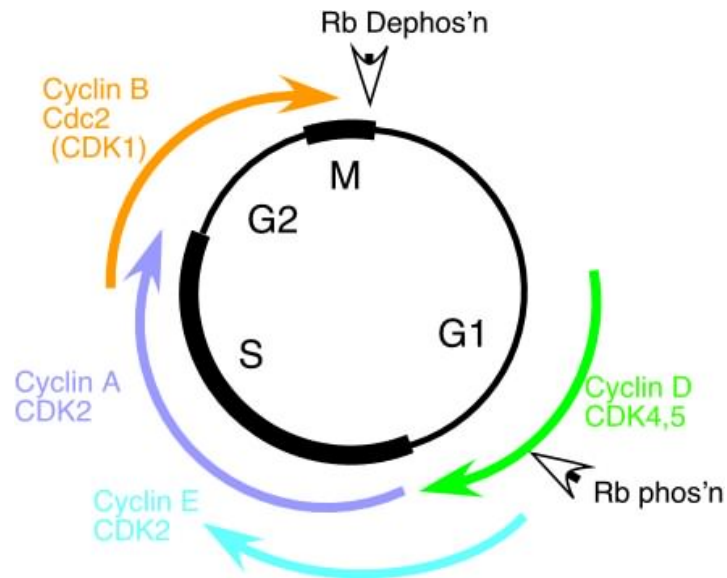


Figura 6b. O ciclo celular é dividido nas seguintes fases: G₁ (fase em que a célula se prepara para síntese do DNA; S (estágio no qual o DNA é replicado); G₂ (fase na qual a célula se prepara para a mitose); M (mitose e formação de duas células filhas).

Os complexos CDK/ciclinas são regulados por pequenas moléculas endógenas e possui inibidores específicos para cada um dos tipos.

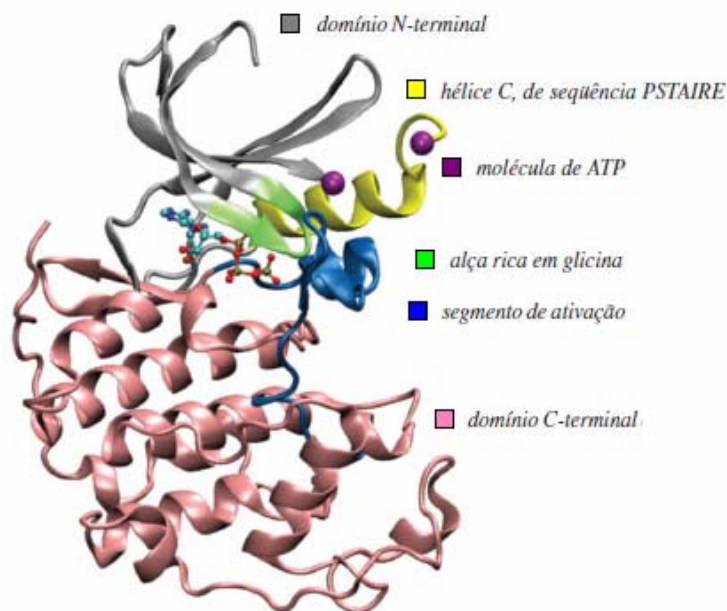


Figura 7. Estrutura monomérica de CDK2.

O núcleo catalítico da CDK2 é composto de múltiplos subdomínios conservados encontrados em todas as proteínas quinases. O sítio de ligação do ATP situa-se na interface domínio-domínio. A Figura 7 representa a estrutura monomérica de CDK2 sendo que, na estrutura inativa, apesar do

monômero inativo poder ligar-se ao ATP, resíduos do sítio de ligação do ATP estão posicionados de uma maneira incapaz de promover o alinhamento correto do grupo trifosfato para que ocorra a catálise.¹⁴

Proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK)

As MAPK abrangem uma enorme quantidade de proteínas quinases, que podem ser reguladas por sinal extracelular, quinases c-Jun N-terminal e outras. Para se tornarem ativas, este grupo exige fosforilação de resíduo de tirosina e treonina, ambas catalisadas por quinase ativadora da MAP quinase (MEK).¹⁷ Como consequência, essas quinases são inativadas pelos três maiores grupos de fosfatases: todas as que removem fosfato de serina/treonina ou de tirosina e as fosfatases que removem fosfato de serina, treonina e tirosina.¹³

A cascata de fosforilação das MAPK nas células é representada pela Figura 8. O primeiro passo ocorre com a ativação de uma proteína transmembranar, o receptor do fator de crescimento, este por sua vez ativa a proteína RAS através da molécula adaptadora GRB2 e um fator de troca do nucleotídeo guanina (SOS), induzindo RAS a trocar seu GDP por um GTP.⁶

O processo é seguido por uma estimulação sequencial de proteínas quinases citoplasmáticas, como a Raf (uma quinase específica para Ser/Thr), a MEK e as MAPK. As MAPK, migram então para o núcleo celular, onde fosforilam um conjunto de moléculas responsáveis pela transcrição, iniciando, deste modo, a proliferação celular.¹⁹

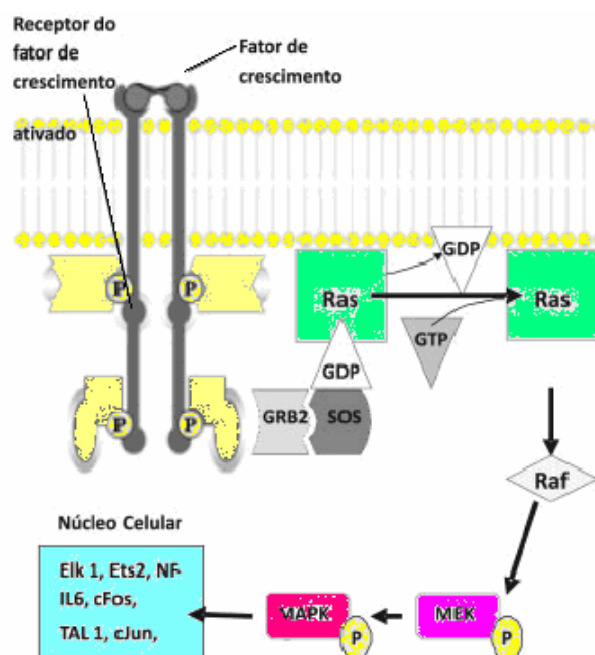


Figura 8. Cascata da MAPK nas células

Tirosina quinases (PTKs)

As PTKs apresentam duas subdivisões: as tirosina quinases não receptoras citoplasmáticas (como Src), que podem ser reguladas por diferentes mecanismos e as tirosina quinases receptoras, proteínas transmembrânicas, ativadas por um ligante extracelular. As quinases Src têm cinco componentes ou domínios: N-terminal, homólogo Src SH3, SH2, quinase (bilobada), além de um domínio não catalítico C-terminal.⁶

O domínio quinase é conservado em toda a classe e é responsável pela atividade catalítica. Possui também os domínios SH3 e SH2, que fazem interação proteína-proteína e têm funções reguladoras e adaptadoras. O domínio SH3 tem aproximadamente 60 aminoácidos e contém regiões ricas em prolina. O domínio SH2 tem aproximadamente 100 aminoácidos e é responsável pelo reconhecimento e ligação à tirosina fosforilada. Abelson tirosina quinase (ABL) é um exemplo de membro da família tirosina quinases não receptoras.⁴

Tirosina quinases receptoras (RTKS)

A quinase receptora de insulina (IRK), uma glicoproteína transmembrânica, foi a primeira estrutura de receptores de tirosina quinases a ser determinada. O receptor de insulina (Figura 9), ao contrário de outros receptores tirosina quinases, é um dímero na forma inativa. A insulina liga-se às subunidades α e a porção intracelular da subunidade β transmembrânica contém o domínio com atividade de tirosina quinase com estrutura semelhante à PKAc. A ligação da insulina a uma ou duas subunidades α desencadeia uma alteração conformacional no domínio intracelular do receptor que consequentemente sofre autofosforilação, aumentando sua atividade e posteriormente fosforilando outras proteínas.⁶

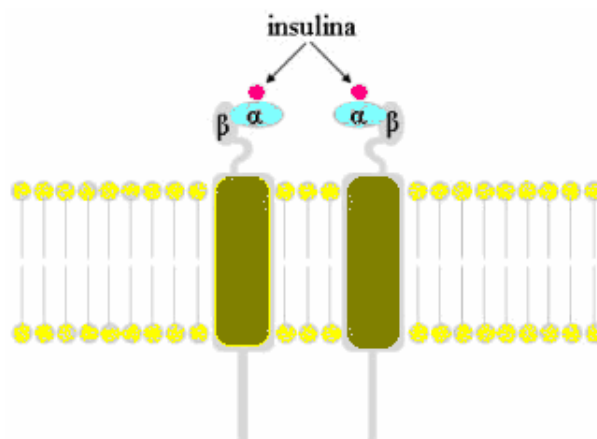


Figura 9. Esquema da quinase receptora de insulina (IRK)

A Figura 9 é representada pela ligação de um fator de crescimento – um hormônio protéico – que resulta na dimerização de seus receptores de superfície. Os domínios intracelulares da tirosina quinase sofrem, então, autofosforilação, ligando-os às proteínas celulares que por sua vez ativam a cascata quinase.^{4,12}

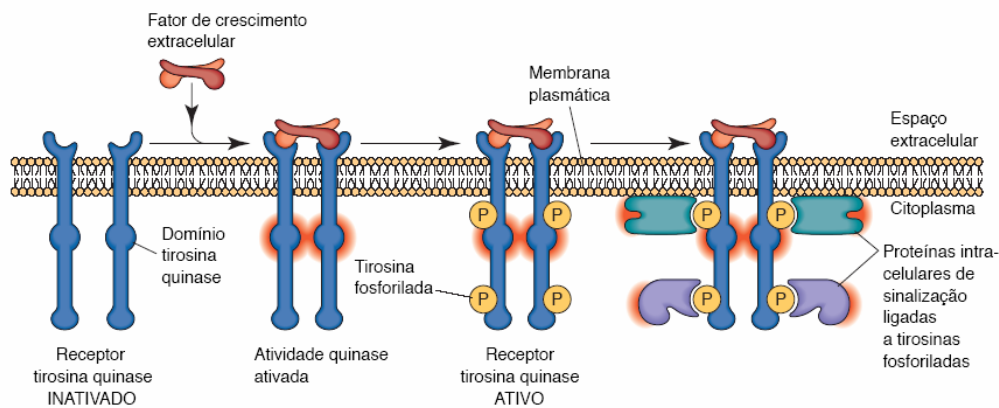


Figura 9. Mudanças conformacionais e funcionais em um receptor tirosina quinase durante ativação por ligação de fator de crescimento.

Os fatores de crescimento são denominados de acordo com o tipo de tecido em que seus receptores são expressos e atuam mediante a ativação de seus receptores que são, em geral, tirosina quinases. Dentre alguns exemplos, os fatores de crescimento vascular endotelial (VEGF) agem mediante ativação de receptores do tipo tirosina quinase e são expressos em células endoteliais vasculares. Estes receptores são subdivididos em três categorias e a ativação seletiva de cada um deles resulta em diferentes respostas biológicas tais como, a indução nos efeitos organizacionais na estrutura vascular; a indução da mitose das células endoteliais vasculares e a indução da linfoangiogênese (este último expresso em vasos linfáticos).¹²

O receptor do fator de crescimento epitelial (EGFR) são importantes mediadores do crescimento celular, da diferenciação e sobrevivência destas células. Trata-se de uma glicoproteína da membrana plasmática composta de um domínio de ligação extracelular, um segmento transmembrânico lipofílico e um domínio intracelular de tirosina quinase.⁶

Um outro sub-grupo de RTK é composto pelos receptores de fator de crescimento derivados de plaqueta, que possuem 5 domínios imunoglobulinas na região extracelular e um domínio quinase hidrofílico na região citoplasmática.⁴

Um outra classe é a de fatores de crescimento do fibroblasto (FGF) que é composta por 22 proteínas que estão estruturalmente relacionadas e as respostas biológicas deste grupo são mediadas por quatro distintos receptores tirosina quinase (FGFR), cada um formado por uma porção de ligação extracelular, que contém três domínios imunoglobulinas, uma hélice transmembrânica e um segmento citoplasmático com atividade tirosina quinase (figura 9).¹⁶

Inibidores químicos das PK

A inibição da ação de proteínas quinases (PK) podem ser feitas de duas formas: por inibidores alostéricos que competem pelos sítios de ligação do ATP ou por inibidores alostéricos de quinase que se ligam em sítios de substratos protéicos (inibição cinética não competitiva).⁴ Quando os inibidores alostéricos se ligam ocorre uma alteração na conformação espacial destas enzimas e, conseqüentemente, bloqueia os sítios de ligação do ATP ou dos substratos protéicos.

Serão citados a seguir os principais inibidores de suas respectivas proteína quinases.

Inibidores de PKC

A maior parte das células expressa a mistura de várias isoformas de PKC e há grande variedade de tecido para tecido. Por isto, a inibição seletiva de PKC não é realizada de forma simples e apenas por um elemento. A estaurosporina e a briostatina são potentes inibidor de PKC.¹

Inibidores de CDK

Várias moléculas de baixa massa molecular, seletivas e que competem com os sítios de ligação do ATP em CDK1, CDK2 e CDK4 e foram obtidas mediante pesquisas a procura de inibidores de CDK, uma vez que sua desregulação está relacionada com o desenvolvimento de tumores em humanos. Compostos da classe dos oxindóis por exemplo, interrompem o ciclo celular através da inibição da atividade de CDK2 e previnem a alopecia que normalmente acontece durante a quimioterapia.¹⁴ A CGP 60474 e a olomoucina interagem com a CDK2 e apresentam razoável seletividade para CDK1. Moléculas da classe triaminopirimidina (TAP), o produto natural fascaplisina e o flavopiridol são inibidores seletivos *in vitro* de várias CPKs.⁴

Inibidores de EGFR

Produtos naturais pertencentes à classe das ansamicinas, como a geldanamicina e a herbimicina são potentes inibidores de EGFR, impedindo a proliferação celular.^{16,17} O EGFR foi identificado

como um protooncogene tirosina quinase. Diversos estudos sugerem que estes receptores e seus ligantes estejam associados a uma grande porcentagem de todos os tumores descritos.¹

A geldanamicina é um inibidor competitivo dos sítios de ATP e isso faz com que os EGFR não se liguem apropriadamente ao transportador. Consequentemente estas estruturas são desviadas para os lisossomos e posteriormente degradadas. Após um período de muitas horas, as ansamicinas também conduzem à completa inibição da atividade quinase EGFR pela destruição proteica. Muitos outros RTK, incluindo a insulina, são também destruídos da mesma forma por estes inibidores.⁶

O ZD1839, um derivado de quinazolina, inibe EGRF de maneira reversível. Ele é capaz de se ligar fortemente ao receptor, inibindo o crescimento tumoral e é usado para o tratamento de câncer de pulmão ou em metástase. O OSI-774 é outro exemplo de fármaco utilizado para mesma finalidade que o ZD1839. Ele é administrado por via oral também apresenta bons resultados para o tratamento de pacientes câncer pancreático^{18, 58, 59}

Inibidores de FGF

Em 1997, uma nova classe de inibidores de receptores de tirosina quinases com diferentes substituintes químicos para a estrutura do oxindol foi testada para a inibição da atividade quinase receptora em receptor do fator de crescimento do fibroblasto. Um ensaio *in vitro* de autofosforilação foi realizado com FGFR1 na presença de SU4984 e SU5402 e ambos inibiram a atividade quinase de FGFR1K.⁶

Inibidores multiquinases

Os inibidores de receptores múltiplos de quinases possuem um mecanismo de ataque multipropagado sobre a complexa via da comunicação celular. A seguir estão descritos alguns inibidores que possuem como alvo dois ou mais tipos de quinase¹⁵

As **quinazolinas** são inibidores de sinalização celular e utilizadas para o tratamento de câncer de mama, embora esse fármaco não seja capaz de curar cânceres em fase de metástase.^{17,18,19,20}

A classe das **Pirrolotriazinas** inibe EGFR e as **Uréiacarbamoilpiridinila (BAY 43-9006)** e os **oxindóis (SU11248)** inibem a quinase Raf e os receptores do fator de crescimento vascular endotelial (VEGFR) desempenham papel importante no desenvolvimento da angiogênese e estão aliados à progressão de uma variedade de cânceres humanos e indiretamente relacionados com progressão da leucemia mielóide aguda (AML) e do tumor estromal gastrointestinal (GIST).¹⁹

O derivado aminoindazol que apresentou os melhores resultados *in vitro* e *in vivo* é chamado de ABT-869 apresentando eficácia na redução de tumores, como o carcinoma do colo do útero e o carcinoma de mama.²⁰

Os **Diidroindenopirazóis** inibem uma grande quantidade de tirosina quinases, apresentando, porém, maior seletividade para a inibição das subfamílias PDGFR/VEGFR.

Os **Derivados de pirimidinas** atuam como inibidores de um receptor de fator de crescimento (PDGFR) e a autofosforilação contra a maior parte das quinases conhecidas.⁶⁸ A **BMS-354825** é uma piperazinopirimidina também utilizada no tratamento de CLM por efeito inibidor múltiplo de quinases receptoras.⁵⁸ Já o **PP1** (classe pirazolpirimidina) e **CGP 76030** (classe pirrol pirimidina) bloqueiam o crescimento e a sobrevivência celular.¹⁹

O **Balanol** é um produto natural mimético do ATP que foi isolado de um fungo *Verticillium balanoides*. É um potente inibidor de PKC e PKA. A desregulação do AMPc implica em doenças como o câncer, desordens cardiovasculares e inflamação. O **BD2**, um análogo da série do produto natural balanol inibe a proteína quinase A através da ocupação do sítio catalítico do AMPc.²⁰

Compostos que se ligam a dois sítios de uma proteína podem aumentar a potência e especificidade de inibidores para muitas enzimas. Os principais inibidores que se ligam a duas regiões de uma quinase estão incluídos em quatro categorias: derivados de sulfonilbenzoil, de ácidos carboxílicos, de dipeptídeos e de fosfodiésteres.^{16,18}

Recentemente, derivados do grupo diarilimidazóis foram apontados como inibidores da Raf quinase, atuando também em dois sítios dessa proteína: o sítio do ATP e de uma região alostérica adjacente.²¹

Conclusão

As proteínas quinases são importantes alvos terapêuticos em função do seu envolvimento com a diferenciação, proliferação celular e transdução de sinais. Além disso, algumas doenças também envolvem proteínas quinases como as cardiovasculares e a maior parte das neoplasias, que está associada com a desregulação proteica, geralmente por meio de mutações gênicas, e consequente superexpressão ou danificação de inibidores endógenos. O completo entendimento da ação das quinases na comunicação celular ainda é motivo de pesquisa, pois, a presença de resistência aos fármacos no tratamento quimioterápico para as neoplasias, a busca por melhores propriedades farmacocinéticas de moléculas sintéticas e devido a grande variedade dessa família expressa pelo genoma tornam-se um grande desafio para a ciência.

É importante ressaltar que foram dados apenas alguns exemplos neste trabalho, pois, embora os mecanismos de ação sejam muito semelhantes entre si existem centenas de proteínas quinases e fosfoproteínas-fosfatases, cada um com seu ativador específico e com sua própria proteína substrato e estes elementos ainda vêm sendo amplamente citados e descobertos desde seus primeiros relatos.

Referências bibliográficas

1. BRIDGES, A.J. Chemical inhibitors of protein kinases. *Chemistry. Rev.*, 2001, 101, 2541-2571.
2. GONZÁLEZ, F.H.D & SILVA, S.C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003. pp.24-32, 262.
3. ENGH, R.A.; BOSSEMEYER, D. The protein kinase activity modulation sites: mechanisms for cellular regulation. *Advances in Enzyme Regulation*. 2001, 41, 121.
4. GRIFFIN, J. E. & OJEDA S. R. *Textbook of endocrine physiology*. Oxford University Press, New York, 1992 p.66, 67, 149.
5. STRAUB S.V; GIOVANNUCCI D.R.; BRUCE J.I.E.; YULE D.I. A role for phosphorylation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in defining calcium signals induced by peptide agonists in pancreatic acinar. *Journal Biol. Chemistry* v. 277, p.31949-31956, 2002.
6. SILVA B.V.; HORTA B.A.C. ALENCASTRO R.B. & PINTO A.C. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. *Química Nova*, v.32 n.2 São Paulo, 2009. 30p.
7. ADAMS J.A. Kinetic and catalytic mechanisms of protein kinases. *Chem Rev.* 2001 v.101, n.8, p.2271–2290.
8. PICKIN, K.A.; CHAUDHU S.; DANCY, B.C.R.; GRAY, J.J.; COLE, P.A. Analysis of protein kinase autophosphorylation using expressed protein ligation and computational modeling. *Journal American Chemical Society* 2008, v.130, p.5667-5669.
9. GUYTON, A.C., HALL, J.E. *Tratado de fisiologia médica*. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. 973p.
10. KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5ª ed. London: Academic Press, 1997. p.305-317.
11. DEVLIN, T.M. *Textbook of biochemistry with clinical correlations*, 3rd edition. Wiley-Liss, 1992. p. 319-350, 891, 894.
12. LEHNINGER; NELSON, D.L., COX, M.M. *Principles of biochemistry*. 3rd ed. New York, 2000.
13. COBB, M.H. *Progress in biophysics and molecular biology*. 1999, 71, 479.
14. BRAMSON, H.N.; CORONA, J.; DAVIS, S.T.; et al. Oxindole-based inhibitors of cyclin-dependent kinase 2 (CDK2): design, synthesis, enzymatic activities, and X-ray crystallographic analysis. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2007, v.44, p.4339.
15. PARANG, K.; COLE, P.A. Designing bisubstrate inhibitors of protein kinases. *Pharmacol. Therapy*. 2002, v.93, p.145-157.
16. IBRAHIMI, O.A.; ZHANG, F.; HRSTKA, S.C.L.; MOHAMMADI, M.; LINHARDT, R. J. Signal transduction complex assembly. *Biochemistry* 2004, v.43, p.4724-4730.
17. YARDEN, Y.; SLIWKOWSK, M.X. Untangling the ErbB signalling network. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2001, v.2, n.2, p.127-137.
18. BASELGA, J.; HERBST, R.; LORUSSO, P. et al. New technologies in epidermal growth factor receptor-targeted cancer. *Proc. American Society of Clinical Oncology*. v.19, p.177a, 2000 (Abstr. 686).

19. DEININGER, M.; BUCHDUNGER, E.; DRUKER, B. J., The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2005, v.105, p.2640-2653.
20. GARBER, K.; The second wave in kinase cancer drugs. *Natural Biotechnology* 2006, v.24, p.127-130.
21. WOLIN, R.L.; BEMBENEK, S.D.; WEI, J. et al. *Bioorganic and medicinal chemistry letters*. May 2008, v.18, p.2825-2829.

As informações sobre enfermidades associadas à desregulação de proteínas quinases podem ser consultadas na página virtual *Protein Kinase Resource Page* em <http://www.sdsc.edu/kinases> (acessada em Abril 2009).