

Universidade Federal de São Carlos  
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Departamento de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

**ESTUDOS ESTRUTURAIS DE COMPOSTOS DE TELÚRIO E  
DE DOCKING EM CATEPSINAS B, K, L, S**

Stella Hernandez Maganhi \*

Tese apresentada como parte dos requisitos  
para obtenção do título de DOUTOR EM  
CIÊNCIAS, área de concentração QUÍMICA.

**Orientador:** Prof. Dr. Julio Zukerman-Schpector

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Ignez Caracelli

\* bolsista CNPQ

**São Carlos – SP**

**2013**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

M188ee Maganhi, Stella Hernandez.  
Estudos estruturais de compostos de telúrio e de *docking*  
em catepsinas B, K, L, S / Stella Hernandez Maganhi. -- São  
Carlos : UFSCar, 2013.  
117 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,  
2013.


1. Cristalografia. 2. *Docking*. 3. Telúrio. 4. Raios x. 5.  
Catepsinas. 6. Modelagem molecular. I. Título.

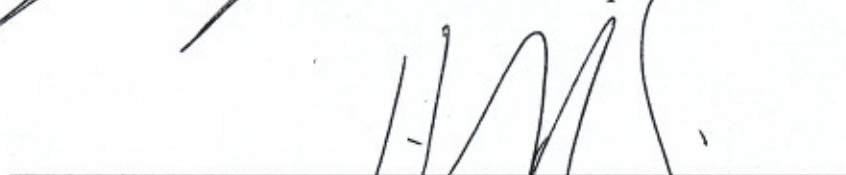
CDD: 548 (20<sup>a</sup>)


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Departamento de Química  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
Curso de Doutorado


---

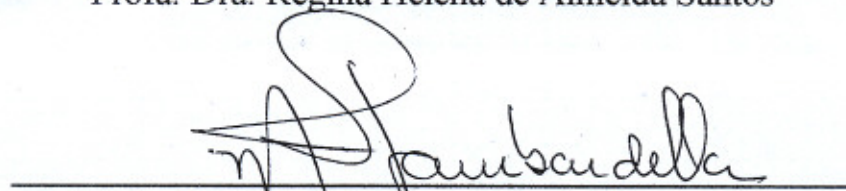
*Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de tese de doutorado da candidata **Stella Hernandez Maganhi**, realizada em 28 de março de 2013:*

  
Prof. Dr. Julio Zukerman Schpector

  
Prof. Dr. Helio Alexandre Stefani

  
Prof. Dr. Pedro Miranda Junior

  
Profa. Dra. Regina Helena de Almeida Santos

  
Profa. Dra. Maria Teresa do Prado Gambardella

Aos meus pais, Matheus (*in memoriam*) e Lucia,  
pelo constante amor, apoio,  
carinho e companheirismo que nunca me faltaram.



## Agradecimentos

Agradeço principalmente ao Prof. Dr. Julio Zukerman Schpector e à Profa. Dra. Ignez Caracelli pela constante orientação, paciência e amizades nesses 10 anos de ensinamento.

Ao Prof. Dr. Hélio A. Stefani e ao Prof. Dr. Rodrigo L. O. R. Cunha pelos cristais utilizados e testes biológicos fornecidos para realização deste trabalho.

Aos professores e secretárias da PPG-Química da UFSCar pela ajuda em minha formação.

Aos meus queridos amigos do LaCrEMM e BioMat: Camila Hino, Denis da Silva Corrêa, Felix N. Dellling, Lucas Sousa Madureira, Natália Baptistini, Sergio Ricardo Pizano Rodrigues.

Ao CNPQ pela bolsa concedida.

A todos meus amigos de Catanduva e São Carlos que me ajudaram de alguma maneira na realização deste trabalho.

## Abreviaturas

AS101 - tricloro (dioxoetileno-O,O')telurato de amônio

catB – Catepsina B

EC – *enzyme class*

Nu – nucleófilo

GOLD – *Genetic Optimisation for Ligand Docking*

CSD – *Cambridge Structural Database*

PDB – *Protein Data Bank*

Ct. – Centróide

Cys – C – cisteína

His – H – histidina

Val – V – valina

Phe – F – fenilalanina

Met – M – metionina

Gly – G – glicina

Trp – W – triptofano

Asn – N – asparagina

Lys – K – lisina

Leu – L – leucina

Tyr – Y – tirosina

Gln – Q – glutamina

Ala – A – alanina

Arg – R – arginina

Asp – D – aspartato

## Figuras

Figura 1.1	Interações secundárias de dihaletos de diorganotelúrios (Adaptado de BECKMANN, 2005).	5
Figura 1.2	Molécula AS101 (SREDNI et al., 1987).	6
Figura 1.3	Compostos de organotelúrio(IV) inibidores de cat. B .	7
Figura 1.4	Compostos de organotelúrio(IV) inibidores de cat. B, K, L e S.	8
Figura 1.5	Representação do sítio ativo da cisteíno proteases. O resíduo de cisteína atua como nucleófilo para a formação do complexo enzima substrato (Extraído de EREZ et. al., 2009).	9
Figura 1.6	Mecanismo de reação da papaína (Extraído de SHOKHEN, KHAZANOV & ALBECK 2010).	10
Figura 1.7	Triáde Catalítica das cisteíno proteases composta pelos resíduos Asn-His-Cys (adaptado de VERNET et al., 1995).	11
Figura 1.8	Representação esquemática dos subsítios da protease e dos respectivos resíduos peptídicos do substrato (adaptado de TURK, 2006).	12
Figura 1.9	Estrutura da catepsina B de código pdb 1gmy.	13
Figura 1.10	Loop de oclusão da catepsina B (código pdb 1gmy) com destaque à His110 (vermelho) e His111 (verde) (GREENSPAN et al., 2001).	14
Figura 1.11	Esquema do loop de oclusão da catepsina B com destaque para a ponte dissulfeto entre as Cys108 e Cys119, as ligações de hidrogênio entre a His110 e com Arg116 e Asp124 e interação da His111 com a parte C-terminal do substrato peptídico (adaptado de SCHENKER et al, 2008).	15
Figura 1.12	Representação do substrato peptídico na catepsina B. A clivagem ocorre no subsítio S1, onde encontra-se a Cys29, e os resíduos dos subsítios apresentados interagem com o substrato (Adaptado de FRLAN & GOBEC, 2006).	15
Figura 1.13	Interação entre o inibidor dipeptidil nitrila e os resíduos pertencentes ao bolsão do oxianion da catepsina B (GREENSPAN et al., 2001).	16
Figura 1.14	Subsítios da catepsina B de código pdb 1gmy (GREENSPAN et al., 2001).	17
Figura 1.15	Estrutura da catepsina K de código pdb 1u9v (ALTMANN, COWAN-JACOB & MISBACH, 2004).	18
Figura 1.16	Subsítios da catepsina K de código pdb 1u9v (ALTMANN, COWAN-JACOB & MISBACH, 2004).	20
Figura 1.17	Desenho esquemático do osteoclasto com a liberação de ácido hidrocloreídrico e catepsina K ao aderir-se no osso (Extraído de COSTA et al., 2011).	21
Figura 1.18	Estrutura cristalográfica da catepsina L de código pdb 2xu3 (HARDEGGER et al., 2011).	22
Figura 1.19	Subsítios da catepsina L de código pdb 2xu3 (HARDEGGER et al., 2011).	23
Figura 1.20	Estrutura cristalográfica da catepsina S de código pdb 1ms6 (WARD et al., 2002).	24
Figura 1.21	Subsítios da catepsina S de código pdb 1ms6 (WARD et al., 2002).	25
Figura1. 22	Subsítios da catepsina S (preto), K (azul) e L (vermelho) (Extraído de TURKENBURG et al., 2002).	26
Figura 1.23	Molécula E-64c (YAMAMOTO et al., 2002).	27
Figura 1.24	Mecanismo dissociativo de substituição nucleofílica.	28

Figura 4.1	Esquema dos compostos de dialetos de organotelúrios.	34
Figura 4.2	Molécula dicloro-((Z)-2-cloro-fenilvinil)-4-metoxifenil-telúrio(IV) de código YOWMEC.	35
Figura 4.3	Projeção do composto <b>1</b> , (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]Cl <sub>2</sub> .	35
Figura 4.4	Projeção para destacar o átomo de Te(IV) em configuração E ao átomo Cl3.	36
Figura 4.5	Interação intramolecular Te...π.	36
Figura 4.6	Interação intermolecular do composto <b>1</b> .	37
Figura 4.7	Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV).	38
Figura 4.8	Destaque para o poliedro de coordenação ao redor do átomo de telúrio.	38
Figura 4.9	Superfície de isodensidade do dímero de um composto de telúrio. As setas apontam para o espaço que é ocupado pelo par de elétrons isolados.	39
Figura 4.10	Ligação covalente entre o enxofre da Cys29 e o átomo de telúrio do ligante.	39
Figura 4.11	Algumas interações do composto <b>1</b> e a catepsina B.	40
Figura 4.12	Algumas interações do composto <b>1</b> nos subsítios S1 e S2.	41
Figura 4.13	Poliedro de coordenação do Te complexado com a catepsina B.	41
Figura 4.14	Comparação entre o poliedro de coordenação do cristal e do complexo ligante-enzima.	42
Figura 4.15	Projeção dos compostos <b>2</b> (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]Br <sub>2</sub> .	42
Figura 4.16	Projeção para destacar a configuração Z do composto <b>2</b> .	43
Figura 4.17	Interação intramolecular Te...Cl.	43
Figura 4.18	Interação intermolecular do composto <b>2</b> .	44
Figura 4.19	Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto <b>2</b> .	44
Figura 4.20	Destaque para o poliedro de coordenação ao redor do átomo de telúrio	45
Figura 4.21	Interações do composto <b>2</b> com resíduos da catepsina B.	45
Figura 4.22	Poliedro de coordenação ao redor do telúrio do composto <b>2</b> ligado à catepsina B.	46
Figura 4.23	Projeção da molécula <b>3</b> , (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]I <sub>2</sub> .	47
Figura 4.24	Projeção do composto <b>3</b> para destacar o átomo de Te(IV) em configuração Z ao átomo Cl1.	47
Figura 4.25	Interação intramolecular Te...Cl no composto <b>3</b> .	48
Figura 4.26	Dímeros centrossimétricos do composto <b>3</b> .	48
Figura 4.27	Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto <b>3</b> .	49

Figura 4.28	Destaque para o poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto <b>3</b> .	49
Figura 4.29	Algumas interações do composto <b>3</b> com a catepsina B.	50
Figura 4.30	Poliedro de coordenação do telúrio do composto <b>3</b> ligado à catepsina B.	50
Figura 4.31	Molécula YOWMEC.	51
Figura 4.32	Interações a molécula YOWMEC com a catepsina B.	52
Figura 4.33	Sobreposição dos resultados de docking dos compostos 1, 2, 3 e YOWMEC na catepsina B.	52
Figura 5.1	Composto <b>4</b> : butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-en-1-il) $\lambda$ 4- telano.	62
Figura 5.2	Projeção composto <b>4</b> .	63
Figura 5.3	Projeção para destacar a configuração Z do composto <b>4</b> .	63
Figura 5.4	Poliedro primário ao redor do Te(IV) com destaque para interação intramolecular com o I3.	64
Figura 5.5	Dímeros centrossimétricos no composto <b>4</b> .	65
Figura 5.6	Poliedro de coordenação no composto <b>4</b> .	65
Figura 5.7	A coordenação ao redor do telúrio do composto <b>4</b> na catepsina B.	66
Figura 5.8	Interações do composto <b>4</b> com a catepsina B.	67
Figura 5.9	Sobreposição das poses dos compostos <b>3</b> e <b>4</b> .	67
Figura 5.10	Poses dos compostos <b>3</b> e <b>4</b> na cavidade catalítica da catepsina B.	68
Figura 6.1	Estruturas das dipnonas.	72
Figura 6.2	Projeção da estrutura cristalina do composto <b>5</b> .	73
Figura 6.3	Distâncias de ligação dos cloros ligados ao átomo de telúrio.	74
Figura 6.4	Arranjo cristalino do composto <b>5</b> .	74
Figura 6.5	Coordenação ao redor do Te(IV) no composto <b>5</b> .	75
Figura 6.6	Projeção do composto <b>6</b> com os átomos identificados.	75
Figura 6.7	Distâncias de ligação dos cloros ligados ao átomo de telúrio no composto <b>6</b> .	76
Figura 6.8	Interação intermolecular do composto <b>6</b> no cristal.	77
Figura 6.9	Interação $\pi \dots \pi$ no cristal do composto <b>6</b> .	77
Figura 6.10	Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto <b>6</b> .	78
Figura 6.11	Projeção do composto <b>7</b> .	78
Figura 6.12	Distâncias de ligação dos cloros ligados ao átomo de telúrio no composto <b>7</b> .	79

Figura 6.13	Dímeros centrossimétricos do composto <b>7</b> .	79
Figura 6.14	Poliedro de coordenação ao redor do Te(IV) no composto <b>7</b> .	80
Figura 7.1	Dipnonas estudadas	88
Figura 7.2	Os compostos <b>7</b> e <b>8</b> não ocupam o subsítio S3, indicando que não tem potencial para serem bons inibidores de catepsina S. Os hidrogênios não são apresentados para maior clareza da figura.	91
Figura 7.3	Os compostos <b>5</b> , <b>6</b> e <b>9</b> dentro da cavidade catalítica parecem sobrepostos, principalmente o anel inserido no subsítio S3 e com diferenças na ocupação do subsítio S2 e no posicionamento do átomo de Te. Os compostos <b>5</b> e <b>9</b> estão representados em stick e o composto <b>6</b> em ball and stick. Os hidrogênios não são apresentados para maior clareza da figura.	92
Figura 7.4	O composto <b>5</b> , representado em ball and stick, dentro da cavidade catalítica da catepsina S. Ao fundo da cavidade encontra-se a Cys25 que se liga covalentemente ao átomo de Te do composto <b>5</b> , com Te-SG = 3,15 Å. São mostradas uma interação do tipo CH... $\pi$ com Phe70 (3,54 Å) e outra com a Met71 (SD-H = 2,78 Å).	93
Figura 7.5	O composto <b>6</b> , representado em <i>ball and stick</i> , dentro da cavidade catalítica da catepsina S. Ao fundo da cavidade encontra-se a Cys25 que se liga covalentemente ao átomo de Te do composto <b>6</b> , com Te-SG = 2,99 Å. São mostradas uma interação do tipo CH... $\pi$ com Phe70 (3,54 Å) e outra Ans63 (3,77 Å) com a Val162 (O-H da metoxila = 2,46 Å).	93
Figura 7.6	O composto <b>9</b> , representado em <i>ball and stick</i> , dentro da cavidade catalítica da catepsina S. Ao fundo da cavidade encontra-se a Cys25 que se liga covalentemente ao átomo de Te do composto <b>9</b> , com Te-SG = 3,00 Å. São mostradas uma interação do tipo CH... $\pi$ com Phe70 (3,56 Å) e outra com a Met71 (SD-H da metoxila = 3,17Å).	94
Figura 7.7	Poliedro de coordenação do átomo de Te do composto <b>6</b> na catepsina S. A figura da esquerda mostra o composto e os resíduos de aminoácido da catepsina <b>6</b> e na direita somente alguns átomos para facilitar a visualização.	95
Figura 7.8	Compostos <b>7</b> e <b>8</b> no sitio ativo da catepsina K. Os dois têm poses similares e não ocupam o subsítio S1'. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza da figura.	96
Figura 7.9	Compostos <b>9</b> no sitio ativo da catepsina K que não apresenta ocupação no subsítio S3. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza da figura.	97
Figura 7.10	Composto <b>5</b> no sitio ativo da catepsina K que interage apenas com Cys25 do sitio ativo (S1). Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza da figura.	98
Figura 7.11	Composto <b>6</b> no sitio ativo da catepsina K que interage apenas com Ans163 do subsítio S2. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza da figura.	98
Figura 7.12	Os compostos <b>5</b> , <b>6</b> e <b>9</b> apresentam orientação similar dentro da cavidade catalítica. Os composto <b>7</b> e <b>8</b> apresentam poses diferentes dos demais. Nenhum dos compostos ocupa o subsítio S1' embora ocupem S2, S3.	99
Figura 7.13	Os compostos <b>5</b> , <b>6</b> , <b>7</b> , <b>8</b> e <b>9</b> na catepsina B. O composto 4,4-dicloro-1,3-difenil-4-tellurooct-2-en-1-ona é um inibidor potente de catepsina B e ocupa os subsítios S1' e S2' (CARACELLI et al.,	101

2012). Os compostos 5,6,7 e 8 tem baixa atividade inibitória e não ocupam S1' e S2'. O composto **9** pode apresentar alguma atividade.

Figura 7.14	Interações do composto <b>9</b> com a catepsina B.	102
Figura 7.15	Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) e algumas outras interações com os cloros ligados ao telúrio.	103



## Tabelas

Tabela 4.1	Dados cristalográficos e de refinamento dos compostos <b>1, 2 e 3</b>	54
Tabela 4.2	Coordenadas atômicas fracionárias do composto <b>1</b>	55
Tabela 4.3	Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto <b>1</b>	55
Tabela 4.4	Coordenadas fracionárias dos átomos de hidrogênio do composto <b>1</b>	56
Tabela 4.5	Interações composto <b>1</b> em catepsina B	56
Tabela 4.6	Coordenadas atômicas fracionárias do composto <b>2</b>	57
Tabela 4.7	Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto <b>2</b>	57
Tabela 4.8	Coordenadas fracionárias dos átomos de hidrogênio do composto <b>2</b>	58
Tabela 4.9	Interações do composto <b>2</b> em catepsina B	58
Tabela 4.10	Coordenadas atômicas fracionárias do composto <b>3</b>	59
Tabela 4.11	Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto <b>3</b>	59
Tabela 4.12	Coordenadas fracionárias dos átomos de hidrogênio do composto <b>3</b>	60
Tabela 4.13	Interações do composto <b>3</b> em catepsina B	60
Tabela 4.14	Interações YOWMEC	61
Tabela 5.1	Dados cristalográficos e de refinamento do composto <b>4</b> butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-em-1-il) $\lambda^4$ - telano	69
Tabela 5.2	Coordenadas atômicas e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto <b>4</b>	69
Tabela 5.3	Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto <b>4</b>	70
Tabela 5.4	Coordenadas atômicas dos átomos de hidrogênio e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto <b>4</b>	70
Tabela 5.5	Interações do composto <b>4</b> em catepsina B	71
Tabela 6.1	Dados cristalográficos e de refinamento dos compostos <b>5, 6 e 7</b>	81
Tabela 6.2	Coordenadas atômicas e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto <b>5</b>	82
Tabela 6.3	Coordenadas atômicas dos átomos de hidrogênio e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto <b>5</b>	82
Tabela 6.4	Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto <b>5</b>	83
Tabela 6.5	Coordenadas atômicas e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto <b>6</b>	84
Tabela 6.6	Coordenadas atômicas dos átomos de hidrogênio e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto <b>6</b>	84
Tabela 6.7	Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto <b>6</b>	85
Tabela 6.8	Coordenadas atômicas e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto <b>7</b>	86
Tabela 6.9	Coordenadas atômicas dos átomos de hidrogênio e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto <b>7</b>	86
Tabela 6.10	Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto <b>7</b>	87
Tabela 7.1	Constantes de segunda ordem de inibição para inibição da catepsina S (extraído de CUNHA et al., 2009)	89

Tabela 7.2	Distâncias Te-SG-Cys25 para as dipnonas na catepsina S	90
Tabela 7.3	Aminoácidos distribuídos por subsítios da catepsina S que interagem com os compostos <b>5, 6 e 9</b>	92
Tabela 7.4	Constantes de segunda ordem de inibição para inibição da catepsina K (extraído de CUNHA et al., 2009)	95
Tabela 7.5	Distância Te-SG-Cys25 (Å)	96
Tabela 7.6	Aminoácidos distribuídos por subsítios da catepsina K que interagem para os compostos <b>5, 6, 7, 8 e 9*</b>	97
Tabela 7.7	Constantes de segunda ordem de inibição para inibição da catepsina L (extraído de CUNHA et al., 2009)	99
Tabela 7.8	Constantes de segunda ordem de inibição para inibição da catepsina B (extraído de CUNHA et al., 2009)	100
Tabela 7.9	Interações do composto <b>9</b> com a catepsina B	103

## Resumo

### Estudos estruturais de compostos de telúrio e de docking em catepsinas B, K, L, S

As catepsinas são cisteíno proteases lisossômicas presentes no nosso organismo. Quando em ambiente não lisossômico, estão relacionadas a uma série de doenças como câncer, Alzheimer, doenças autoimunes e osteoporose. Neste contexto, compostos de telúrio têm sido promissores agentes terapêuticos contra estas doenças por apresentarem ação inibitória das catepsinas. Isso ocorre devido à formação de uma ligação covalente entre telúrio e o enxofre da cisteína catalítica. Neste trabalho são descritas as estruturas cristalinas e moleculares dos compostos  $(\text{ptol})\text{Te}[\text{C}(\text{H})=\text{C}(\text{Cl})\text{Ph}]\text{X}_2$  ( $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ ), butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-em-1-il)  $\lambda^4$ -telano, e o docking destes compostos em Catepsina B. Os resultados mostram que estes compostos, cujas atividades não foram medidas, poderão apresentar atividades inibitórias semelhantes à de um composto de estrutura similar e com atividade conhecida. Mais ainda, foi mostrado que a substituição de um grupo fenila por um grupo alifático não deverá ter influência na atividade deste tipo de compostos. Foram também determinadas as estruturas cristalinas e moleculares de três dipnonas. Estas estruturas serviram de base para a modelagem das estruturas de outros compostos que não puderam ser cristalizados e para a realização de docking nas catepsinas B, K, L, e S. Foi então estabelecido um modelo para explicar as diferentes atividades inibitórias dos compostos de telúrio.

## Abstract

### Structural studies of tellurium compounds and molecular docking in cathepsins B, K, L, S.

Cathepsins are lysosomal cysteine proteases responsible for protein turnover in our organism. In non-lysosomal environment they are related to a number of diseases such as cancer, Alzheimer, autoimmune diseases and osteoporosis. Tellurium compounds have proved to be promising therapeutic agents against these diseases due to inhibition of the proteases through the formation of a Te–S covalent bond with the sulfur of a catalytic cysteine. In this work the crystal and molecular structures of compounds  $(pto)Te[C(H)=C(Cl)Ph]X_2$  ( $X = Cl, Br, I$ ), butyldiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-en-yl)- $\lambda^4$ -tellane and their docking in Cathepsin B are described. The results showed that these compounds, whose activity has not been measured, should have an inhibitory activity very similar to that of a known compound with a close structure. Moreover, it is shown that the substitution of a phenyl group for an aliphatic one should not have any influence on the activity of these kind of compounds. Also the structures of a series of diphenones were determined which were used as basis for the molecular modeling of others that could not be crystallized and for the docking studies in cathepsins B, K, L and S. The results allowed establishing a model that explains their different inhibitory activities.

## Sumário

Apresentação	1
1. Introdução	4
1.1 Compostos de Telúrio	4
1.2 Cisteíno proteases	8
1.3 Catepsina B	13
1.4 Catepsina K	18
1.5 Catepsina L	21
1.6 Catepsina S	24
1.7 Inibidores de cisteíno proteases	27
2. Objetivos	29
3. Materiais e Métodos	30
3.1 Determinação das estruturas cristalográficas dos compostos de Te	30
3.2 Obtenção das estruturas cristalográficas das proteases	31
3.3 <i>Docking</i>	31
3.4 Visualização Molecular	33
4. Resolução das estruturas, análise do arranjo supramolecular e poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) de três compostos dialetos de 2-clorovinil telúrio (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]X <sub>2</sub> , sendo X = Cl, Br e I e <i>docking</i> das estruturas em catepsina B	34
4.1 Composto 1: 1-{dicloro[(E)-2-cloro-2-feniletênio]-λ <sup>4</sup> -tellanil}-4-metilbenzeno, (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]Cl <sub>2</sub>	35
4.2 Composto 2: 1-{dibromo[(Z)-2-cloro-2-feniletênio]-λ <sup>4</sup> -tellanil}-4-metilbenzeno, (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]Br <sub>2</sub>	42
4.3 Composto 3: 1-{diiodo[(Z)-2-cloro-2-feniletênio]-λ <sup>4</sup> -tellanil}-4-metilbenzeno, (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]I <sub>2</sub>	46
4.4 <i>Docking</i> do composto: dicloro-((Z)-2-cloro-fenilvinil)-4-metoxifenil-telúrio(IV)	51
Apêndice	54
5. Resolução da estrutura, análise do arranjo supramolecular e poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) do Composto 4: butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-en-1-il) λ <sup>4</sup> -telano, e <i>docking</i> em catepsina B	62
5.1 Estrutura cristalográfica e análise supramolecular	63
5.2 Cálculos de <i>docking</i>	65
Apêndice	69
6. Resolução das estruturas, análise do arranjo supramolecular e poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) de três dipnonas e modelagem molecular de uma dipnona	72
6.1 Composto 5: 1,3-difenil-4-(tricloro-λ <sup>4</sup> -tellanil)butan-1-ona (C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Te)	72
6.2 Composto 6: 1,3-bis(2-metoxifenil)-4-(tricloro-λ <sup>4</sup> -tellanil)butan-1-ona (C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Te)	75
6.3 Composto 7: 1,3-bis(4-metoxifenil)-4-(tricloro-λ <sup>4</sup> -tellanil)butan-1-ona (C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Te)	78
Apêndice	81
7. <i>Docking</i> das dipnonas em catepsina B, K, L e S	88
7.1 <i>Docking</i> das dipnonas em catepsina S	89
7.2 <i>Docking</i> das dipnonas em catepsina K	95
7.3 <i>Docking</i> das dipnonas em catepsina L	98
7.4 <i>Docking</i> das dipnonas em catepsina B	100

8. Conclusões	105
9. Referências Bibliográficas	108

## Apresentação

Este trabalho se insere nas linhas de pesquisa do LaCrEMM – Laboratório de Cristalografia, Estereodinâmica e Modelagem Molecular do Departamento de Química, e foi desenvolvido em conjunto com o BioMat - Grupo de Física Teórica de Materiais e Biomoléculas do Departamento de Física, ambos da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

No LaCrEMM foram desenvolvidos os estudos visando elucidar as estruturas tridimensionais dos compostos de telúrio, e introduzindo este tema na área da química supramolecular, direcionando as pesquisas para os estudos e descrição das interações intra- e intermoleculares, principalmente as interações  $\pi$ , de modo a caracterizar os poliedros de coordenação ao redor do telúrio. Em 2006, em trabalho conjunto BioMat-LaCrEMM, foi publicado o primeiro artigo de estudos de docking em catepsina B tendo como inibidor um composto de telúrio. O trabalho contou com a colaboração do Prof. Rodrigo R. L. O. Cunha (UFABC). O artigo foi Top 25 no ranking do Science Direct (Top 25 Hottest Articles - Chemistry CUNHA et al., 2006). Continuando nesta linha, MAGANHI (2009), descreveu em sua dissertação de mestrado os resultados de mais um projeto conjunto LaCrEMM–BioMat, qual seja os estudos cristalográficos, análise conformacional e modelagem molecular de alguns compostos de Te(IV). Alguns destes resultados foram utilizados no presente trabalho.

Em 2010, mais um trabalho de docking em catepsina B de compostos de telúrio foi apresentado no III ESeTe (III Encontro sobre Selênio e Telúrio – Brasil), onde recebeu o prêmio de melhor pôster. Os resultados desta pesquisa, com os compostos sintetizados no grupo do Prof. Hélio A. Stefani da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP foram publicados (e são discutidos nesta tese) (CARACELLI et al., 2010).

Como continuação desta linha de investigação, a dissertação de mestrado de CARDOSO (2011), desenvolvida no BioMat, inicia apresentando o estudo das



características estruturais e das similaridades entre as catepsinas B, K, L e S, dados estes que foram utilizados neste trabalho.

Os trabalhos citados levaram em conta que grande parte dos compostos de telúrio formam complexos covalentes com as catepsinas, o que foi mostrado por medidas de atividade inibitória realizada pelo grupo de Síntese Química, Biologia Química e Fotociências da UFABC em uma série de trabalhos publicados por Cunha e colaboradores (CUNHA et al., 2005, 2006, 2009).

No LaCrEMM e no BioMat estes estudos continuaram e mais um trabalho detalhado foi publicado em 2012 que também foi considerado Top 25 no ranking do Science Direct (Top 25 Hottest Articles – Chemistry – CARACELLI et al., 2012).

Seguindo esta linha de trabalho, também é apresentado nesta tese o estudo da formação de complexos covalentes entre compostos de telúrio(IV), sintetizados no grupo do Professor Stefani e outros da família das dipnonas sintetizados pelo Professor Cunha e colaboradores, com as catepsinas B, K, L e S.

O presente trabalho está dividido em sete capítulos: O Capítulo 1 apresenta uma descrição dos compostos de telúrio e suas interações e das catepsinas B, K, L e S, que são o alvo dos estudos de *docking*, finalizando com uma breve apresentação de alguns inibidores destas proteínas. O Capítulo 2 tem uma breve explanação dos objetivos deste trabalho. No Capítulo 3 há uma descrição dos métodos utilizados, quais sejam, a cristalografia por difração de raio X para a determinação de estruturas cristalinas e moleculares e o *docking* molecular com ênfase na formação da ligação covalente entre o átomo de telúrio e o enxofre de uma cisteína presente no sítio ativo das catepsinas.

No Capítulo 4 são apresentados os resultados das análises cristalográficas de compostos do tipo  $(p\text{tol})\text{Te}[\text{C}(\text{H})=\text{C}(\text{Cl})\text{Ph}]X_2$  e são discutidos os resultados de *docking* em catepsina B.

O Capítulo 5 trata da estrutura cristalográfica do composto butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-en-1-il)- $\lambda^4$ -telano e discutem-se os resultados do *docking* em catepsina B.

No Capítulo 6 são apresentadas as estruturas cristalinas e moleculares de uma série de dipnonas, e, no Capítulo 7 são discutidos os resultados de *docking* das estruturas descritas no Capítulo 6, e de outras da família que foram modeladas, nas catepsinas B, K, L e S.

As conclusões são apresentadas no Capítulo 8 e no final, as referências bibliográficas.

# Capítulo 1 – Introdução

## 1.1 – Compostos de Telúrio

Os compostos de telúrio possuem uma química de coordenação variada por apresentarem diferentes estados de oxidação e número de coordenação (ZUKERMAN & HAIDUC, 2001).

Os organohaletos de telúrio(IV), de fórmula geral  $R\text{TeX}_3$ ,  $R_2\text{TeX}_2$  e  $R_3\text{TeX}_3$ , sendo R um grupo orgânico e X um haleto, geralmente apresentam-se em uma geometria  $\psi$ -bipirâmide de base trigonal, com os átomos de halogênio em posição equatorial e os grupos orgânicos em posição equatorial juntamente com os pares de elétrons isolados, de acordo com a teoria de repulsão dos pares de elétrons da camada de valência (VSEPR) (GILLEPSIE, 1972; ZUKERMAN-SCHPECTOR et al., 2002).

Quando o objeto de estudo é a análise da química supramolecular destas estruturas, ou seja, o arranjo da molécula dentro do cristal, observa-se a formação de interações do tipo  $\text{Te}\dots\text{Te}$ ,  $\text{X}\dots\text{X}$ ,  $\text{Te}\dots\text{N}$ ,  $\text{Te}\dots\text{O}$ ,  $\text{Te}\dots\text{S}$ ,  $\text{Te}\dots\pi$  (HAIDUC & ZUKERMAN-SCHPECTOR, 2001; ZUKERMAN-SCHPECTOR & HAIDUC, 2002). Estas interações geram vários tipos de arranjos supramoleculares e isto também altera o número de coordenação do átomo de Te podendo o par de elétrons isolados exercer alguma influência na geometria do poliedro de coordenação (TIEKINK, & ZUKERMAN-SCHPECTOR, 2010) (Figura 1.1).

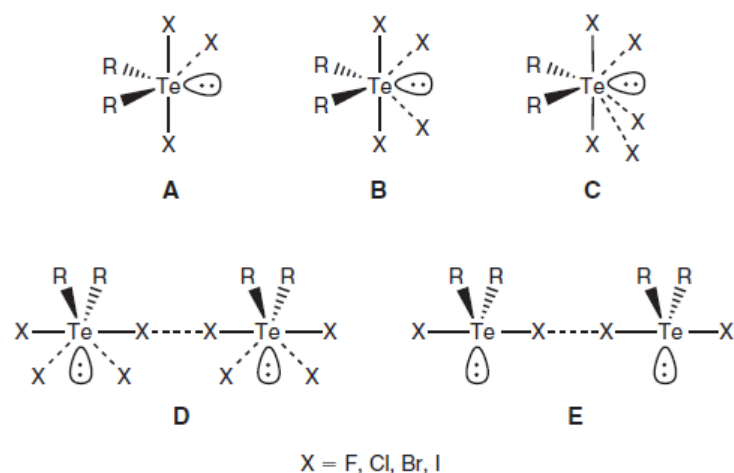


FIGURA 1.1 – Interações secundárias de dihaletos de diorganotelúrios (Adaptado de BECKMANN et al., 2005).

Estas interações que formam os arranjos apresentados na figura 1.1, devem ter distâncias menores que a soma dos raios de van der Waals de cada átomos participantes (HAIDUC & ZUKERMAN-SCHPECTOR, 2001; ZUKERMAN-SCHPECTOR & HAIDUC, 2002).

Em relação à sua utilidade, é indiscutível a importância de compostos orgânicos de telúrio em síntese orgânica (BECKMANN et al., 2003; PETRAGNANI & STEFANI, 2005; SELVAKUMAR et al., 2011); já na área biológica, compostos contendo telúrio até então nunca foram atrativos por serem considerados altamente tóxicos.

Entretanto, a ideia de utilização de compostos de telúrio em meio biológico passou a ser considerada quando o selênio, também considerado tóxico e com propriedades químicas semelhantes ao do telúrio, foi identificado como um micronutriente essencial para os mamíferos (SCHWARZ & FOLTZ, 1957). Além disso, este elemento constitui o 21º aminoácido essencial, a selenocisteína, que participa da constituição da proteína glutathione peroxidase (CHAMBERS et al., 1986; CUNHA, GOUVEA & JULIANO, 2009; CARACELLI, ZUKERMAN-SCHPECTOR & TIEKINK, 2012).

No caso do telúrio, Schroeder e colaboradores mostraram que o corpo humano possui cerca de 600 mg deste elemento em sua constituição,

principalmente nos ossos, excedendo qualquer outro elemento traço encontrado, com exceção do ferro, zinco e rubídio (SCHROEDER et al, 1967).

No campo medicinal, o composto inorgânico telurito de potássio,  $2K^+TeO_3^{2-}$ , é conhecido há mais de um século por atuar como antibiótico em bactérias resistentes à penicilina (TIEKINK, 2012) e a suspensão de  $Te^0$  em glicose foram utilizados com sucesso no tratamento de sífilis humana (CHASTEEN et al., 2009).

Porém, o composto de telúrio que merece destaque por atuar em meio biológico, é o tricloro(dioxoetileno-O,O')telurato(IV) de amônio, conhecido como AS101 (SREDNI et al., 1987) (Figura 1.2). Este composto inorgânico é um imunomodulador que apresenta eficácia na secreção e liberação de uma variedade de citocinas (STRASSMANN et al., 1997; FREI et al., 2008) e atividades terapêuticas contra doenças virais como o vírus do papiloma humano (HPV) (FRIEDMAN et al., 2009) e a febre do oeste do Nilo (WNV) (INDENBAUM et al., 2012).

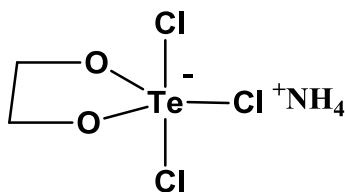


FIGURA 1.2 – Molécula AS101 (SREDNI et al., 1987).

Além de apresentar características antivirais, o AS101 apresenta atividade antitumoral devido à sua inibição efetiva em cisteína proteases, particularmente a catepsina B (Cat. B) que está relacionada à invasão tumoral, metástase e angiogênese (SREDNI, 2012).

Atualmente o composto está em fase 2 de triagem clínica em pacientes com câncer (SREDNI, 2012) monitorados pela empresa BioMas, sediada em Israel, criada pelos professores Michael Albeck e Benjamin Sredni, da Bar-Ilan University-Israel, desenvolvedores e pesquisadores do composto AS101 (<http://www.biomas-pharma.com>).

As características deste composto estão relacionadas à química do telúrio. No caso das cisteína proteases, a inibição destas ocorre devido a presença de um

grupo tiol no sítio ativo da proteína que atua como nucleófilo (Nu) perante aos compostos de Te(IV) produzindo produtos do tipo  $\text{Te}(\text{Nu})_4$ . No caso do AS101, ocorre uma inibição covalente irreversível devido à oxidação do tiol do sítio ativo (ALBECK et al., 1998).

Com o sucesso do AS101 e interesse por compostos de telúrio na parte biológica, o Prof. Rodrigo Cunha, da Universidade Federal do ABC, sintetizou uma série de compostos de organotelúrios que atuam como inibidores de Catepsina B (Figura 1.3), sendo que, estes compostos apresentam inibição maior na protease que o AS101 (CUNHA et al., 2005).

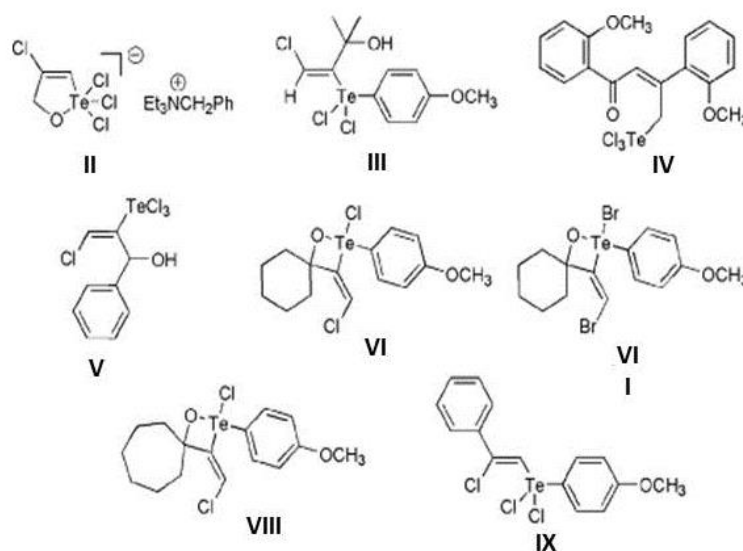


FIGURA 1.3 – Compostos de organotelúrio(IV) inibidores de Catepsina B.

Os compostos da Figura 1.3, assim como o AS101, revelaram-se inibidores irreversíveis da catepsina B devido ao ataque nucleofílico do tiol presente no sítio ativo da protease ao átomo de Te e posterior saída do haleto ligado a este (ALBECK et al., 1998; CUNHA et al., 2005).

Ao constatar que ocorre a inibição do tipo irreversível da catepsina B frente aos compostos apresentados, a explicação de como ocorre este tipo de inibição foi realizado em nosso laboratório utilizando-se o método de *docking*. O primeiro composto a ser estudado da série apresentada na Figura 1.3 foi a organotelurana V em que se analisou as interações que este composto realiza com a proteína. Utilizando o mesmo procedimento foi estudada a molécula AS101 (CUNHA et al.;

2006) e, a análise mostrou porque o composto é um inibidor melhor que o AS101. Os estudos de *docking* mostraram que o Te dos compostos realiza uma ligação covalente com o SG-Cys29 que está posicionado ao fundo de uma cavidade onde os aminoácidos que interagem com as moléculas estudadas pertencem à duas fitas  $\beta$ . Em uma delas há um resíduo de tirosina (Tyr75) que realiza interações do tipo C-H... $\pi$  com as moléculas estudadas. No caso do composto V, também há interações com os aminoácidos da outra fita  $\beta$  (Gly197, Gly198) que o AS101 não é capaz de fazer. Dessa forma, o composto bloqueia a entrada do sítio catalítico inibindo-a (CUNHA et al. 2006).

Em outro trabalho, seguiu-se o estudo das organoteluranas em catepsina B. Foram determinadas as estruturas cristalográficas e em seguida o modo de ação dos compostos VI, VII e VIII na catepsina B (MAGANHI, 2009).

Além da catepsina B, outras catepsinas possuem interesse terapêutico, já que estão envolvidas em algum tipo de doença, e que serão discutidas posteriormente. Assim o trabalho foi estendido para as catepsinas B, K, L e S (CUNHA et al., 2009) e a análise do modo de ação dos compostos nestas proteases por meio de *docking* e de visualização molecular (Figura 1.4) serão apresentados neste trabalho.

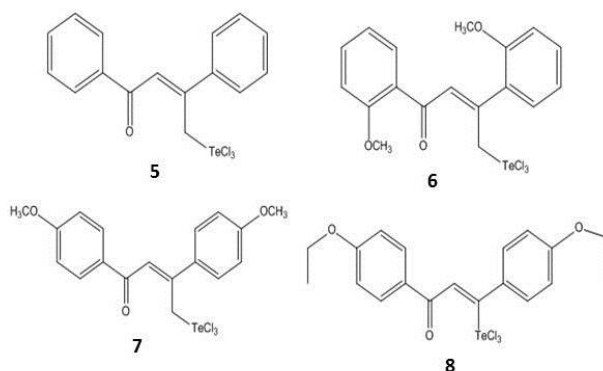


FIGURA 1.4 - Compostos de organotelúrio(IV) inibidores de catepsinas B, K, L e S.

## 1.2 – Cisteíno proteases

Os lisossomos são organelas que contêm um grande número de proteínas, dentre elas, as hidrolases, que são responsáveis pela digestão e morte celular. (ČESEN et al., 2012). Para a atividade máxima destas proteínas, o pH interno do lisossomo é próximo de 5 (VOET & VOET, 2006). Dentre estas proteínas, as cisteíno



proteases (catepsinas) empenham um importante trabalho tanto na degradação e reciclagem celular quanto na cascata que gera a apoptose (ČESEN et. al, 2012). Neste contexto, são responsáveis pela quebra por hidrólise de ligações peptídicas (SAJID & MCKERROW, 2002). Além da quebra das proteínas lisossômicas, também são responsáveis por uma série de processos como digestão, coagulação, maturação de citocinas e apoptose (CHAPMAM et al., 1997).

As cisteíno proteases são caracterizadas por possuírem um resíduo de cisteína (Cys) no sítio ativo da protease próximo a um resíduo de histidina (His). Em pH ótimo, o resíduo de cisteína encontra-se desprotonado e atua como nucleófilo para a formação de uma ligação covalente com o substrato proteico. O resíduo de histidina encontra-se protonado formando um par iônico tiol-imidazol (Figura 1.5) (TURK & GUNČAR, 2003; EREZ et al., 2009; TURK et al., 2012).

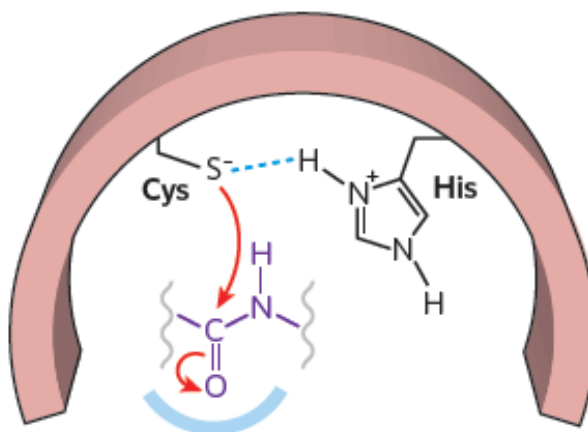


FIGURA 1.5 – Representação do sítio ativo das cisteíno proteases. O resíduo de cisteína atua como nucleófilo para a formação do complexo enzima substrato (Extraído de EREZ, E. et. al., 2009).

De acordo com SHOKEN e colaboradores (2010), o mecanismo mais adequado para a formação do complexo enzima-substrato (EI) envolve uma catálise básica com a His retirando o próton da Cys e ataque nucleofílico do tiol da cisteína ao substrato peptídico formando um complexo tetraédrico termodinamicamente estável (Figura 1.6).

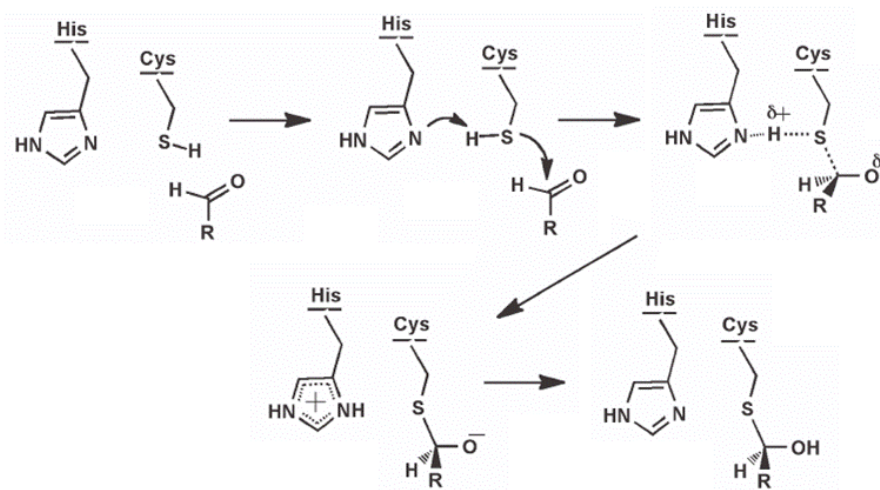


FIGURA 1.6 – Mecanismo de reação da papaína (Extraído de SHOKHEN, KHAZANOV & ALBECK, 2010).

Alguns pesquisadores, entretanto, costumam apresentar o sítio catalítico das cisteíno proteases não apenas composta com o par Cys-His, e sim como uma tríade catalítica composta pelos resíduos Cys-His-Asn (MARTINEZ et al., 2012; GINALSKI & ZEMOJTEL, 2004; VERNET et al., 1995). A tríade catalítica ocorre devido ao oxigênio da amida do resíduo de asparagina fazer uma ligação de hidrogênio com o átomo de nitrogênio da histidina catalítica (Figura 1.7) (VERNET et al., 1995). Essa ligação de hidrogênio é aproximadamente colinear com a ligação C $\beta$ -C $\gamma$  do resíduo de histidina permitindo a rotação do anel imidazol; assim, sugere-se que a asparagina auxilia na orientação da cadeia lateral do resíduo de histidina em uma posição ótima no mecanismo catalítico (VERNET et al., 1995). Entretanto, estudos mostram que o resíduo de asparagina não é essencial para a funcionalidade da enzima, já que a mutação da asparagina por uma glutamina não encerra a atividade catalítica da enzima, ocorrendo apenas diminuição de atividade (VERNET et al., 1995; CHAPMAN et al., 1997; RICHTER et al., 2012).

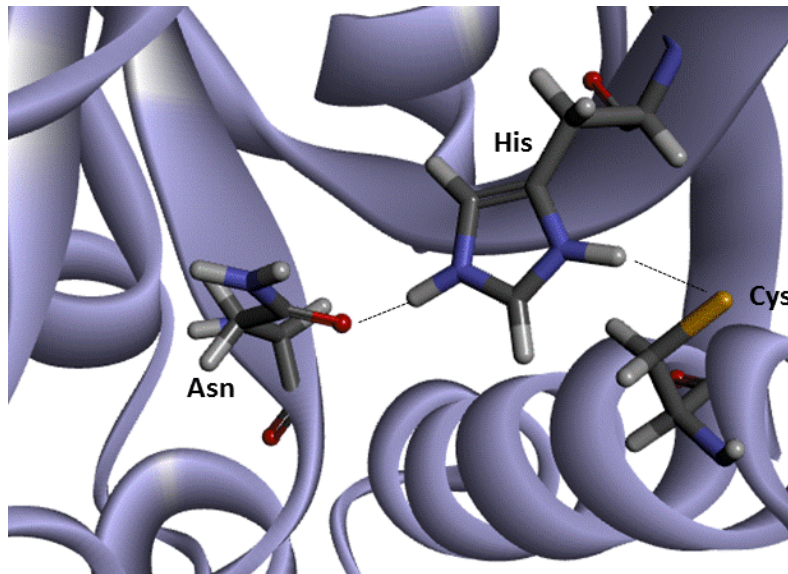


FIGURA 1.7 – Triáde Catalítica das cisteíno proteases composta pelos resíduos Asn-His-Cys (adaptado de VERNET et al., 1995).

A primeira estrutura de cisteíno protease resolvida foi a da papaína, protease extraída do mamão; assim, as cisteíno proteases que tiveram sua estrutura resolvidas são inclusas na superfamília da papaína (SAJID & MCKERROW, 2002).

As cisteíno proteases do tipo papaína são caracterizadas por serem monoméricas e possuírem dois tipos de domínio: L (*left*) e R (*right*) que interagem formando uma fenda em forma de 'V' onde se encontra o sítio ativo (TURK, TURK & TURK, 2000). No meio do sítio ativo situam-se a Cys25 (numeração da papaína), posicionada no domínio L, e a His159 posicionada no domínio R, ambas carregadas na forma ativa formando o par iônico como apresentado na Figura 1.5 (TURK, TURK & TURK, 2000). O domínio L é formado praticamente por  $\alpha$  hélices enquanto o domínio R é formado por  $\alpha$  hélice e barril  $\beta$  (VASILJEVA et al., 2007).

Segundo SCHECHTER e BERGER (1967) o sítio ativo da papaína é dividido em sete subsítios (S1-S4 e S1'-S3') localizados entre o local que ocorre o ponto de clivagem do substrato peptídico. Os resíduos do substrato peptídico nomeado P1-P4 se localizam entre o ponto de clivagem até a parte N-terminal e se acomodam respectivamente nos subsítios S1-S4. Os resíduos do substrato peptídico nomeado P1'-P3' se localizam entre o ponto de clivagem até a parte C-terminal e se acomodam respectivamente nos subsítios S1'-S3' (Figura 1.8).

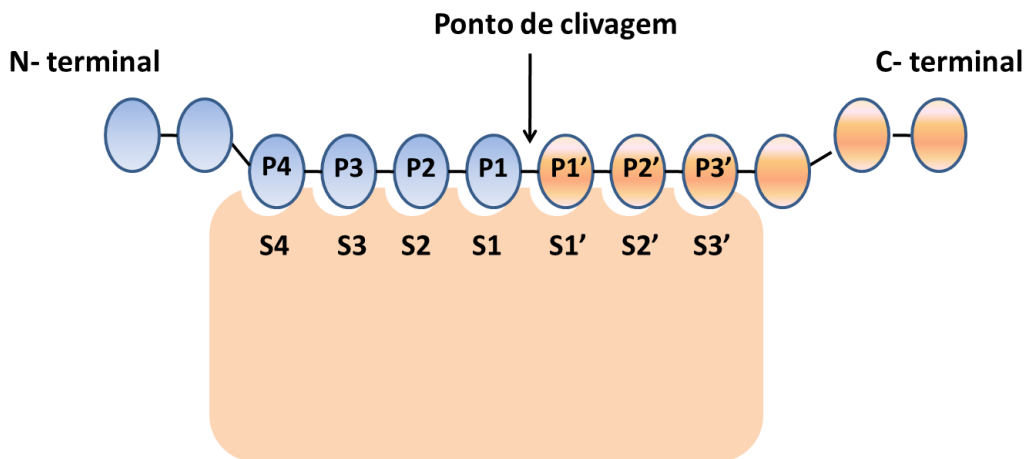


FIGURA 1.8 – Representação esquemática dos subsítios da protease e dos respectivos resíduos peptídicos do substrato (adaptado de TURK, 2006).

A estrutura de cada subsítio determina quais os resíduos de aminoácidos podem se ligar ao substrato de maneira específica; sendo assim, estes subsítios determinam a especificidade de cada protease (TURK, 2006). Nas estruturas das catepsinas conhecidas, o subsítio S2 é um bolsão mais profundo enquanto os subsítios S1 e S1' são mais superficiais (VASILJEVA et al.; 2007).

O substrato peptídico pode ser clivado de duas maneiras: as proteases que clivam o substrato peptídico a partir das extremidades do substrato são denominadas exopeptidases (catepsinas B, C, H e X); estes substratos se ligam pela parte C-terminal (carboxipeptidase) e N-terminal (aminopeptidase) por interações eletrostáticas com a protease (TURK, 2006; TURK & GUNČAR, 2003). As endopeptidases (catepsinas B, F, L, K, O, S e V) clivam as ligações peptídicas do meio da sequência do substrato peptídico. O sítio ativo das endopeptidases estende-se por toda fenda criada pelos dois domínios onde fica acomodado o substrato peptídico (TURK & GUNČAR, 2003).

Na literatura são relatadas 11 catepsinas humanas (B, C, F, H, K, L, O, S, V, X e W) distribuídas nos tecidos humanos e atuam em pH ótimo levemente ácido, característico do ambiente lisossômico (TURK et al., 2012). O alinhamento das 11 catepsinas humanas, dividem as catepsinas em 3 famílias: do tipo catepsina B, do tipo catepsina F e do tipo catepsina L (LECAILLE et al., 2008).

Neste trabalho serão abordadas as características estruturais, funções e doenças relacionadas às catepsinas B, K, L e S.

### 1.3 – Catepsina B

A caracterização da estrutura das catepsinas iniciou-se com a resolução da estrutura da Catepsina B (E.C.3.4.22.1) por Musil e colaboradores (1991) com o código pdb 1huc. Como dito anteriormente, é uma estrutura do tipo papaína com os domínios L e R interagindo e formando uma fenda catalítica em forma de 'V' e massa de cerca 30 kDa (MUSIL et al, 1991). O pH ótimo varia entre 4 e 6 sendo estável em pH igual a 7 (BRIX et al., 2008).

A proteína possui seis pontes de dissulfeto e duas cisteínas não pareadas: a Cys29 situada no sítio catalítico, referente à Cys25 na papaína, e Cys240 situada no domínio R (MUSIL et al, 1991). A Cys29 encontra-se na fenda catalítica, localizada no domínio L, próxima a His199, localizada no domínio R (Figura 1.9) (MUSIL et al., 1991; GREENSPAN et al., 2001; YAMAMOTO et al., 2002).

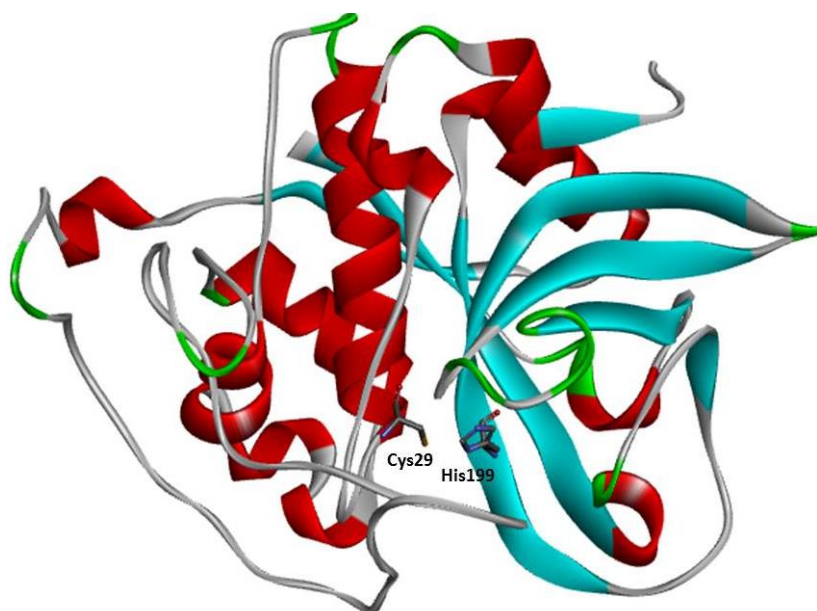


FIGURA 1.9 – Estrutura cristalográfica da catepsina B de código pdb 1gmy.

Dentre das catepsinas, a Catepsina B possui papel duplo, atuando como endo- e exopeptidase. O modo exopeptidase ocorre devido a uma estrutura extra nesta protease: o loop de oclusão (*occluding loop*) (Figura 1.10) (ILLY et al., 1997).

O loop de oclusão atua de forma a bloquear a entrada do substrato no subsítio S2' que quando ocupado leva ao modo endopeptidase (RENKO et al., 2010).

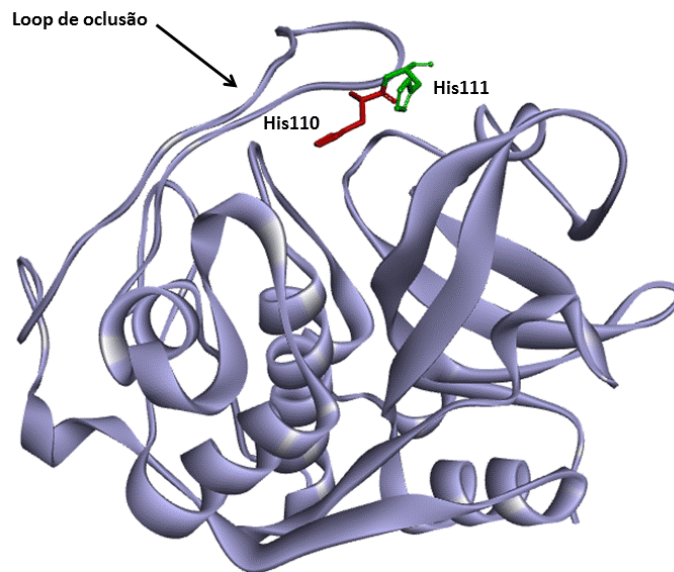


FIGURA 1.10 – Loop de oclusão da Catepsina B (código pdb 1gmy) com destaque à His110 (vermelha) e His111(verde) (GREENSPAN et al., 2001).

Esse bloqueio é formado por uma sequência de aminoácidos, que se inicia na Ile105 e vai até a Pro126 (SCHENKER et al., 2008) onde as Cys108 e Cys119 formam uma ponte dissulfeto criando o loop de oclusão (Figura 1.11) (RENKO et al., 2010). Este é estabilizado por duas pontes salinas formadas pelas His110 e Asp22 e pela Arg116 e Asp224 (RENKO et al., 2010). Na sequência do loop de oclusão encontram-se as His110 e His111 responsáveis pelo modo exopeptidase. Quando protonadas, a His110 e His111 se ligam à parte C-terminal do substrato peptídico (carboxipeptidase) (RENKO et al., 2010; ILLY et al., 1997).



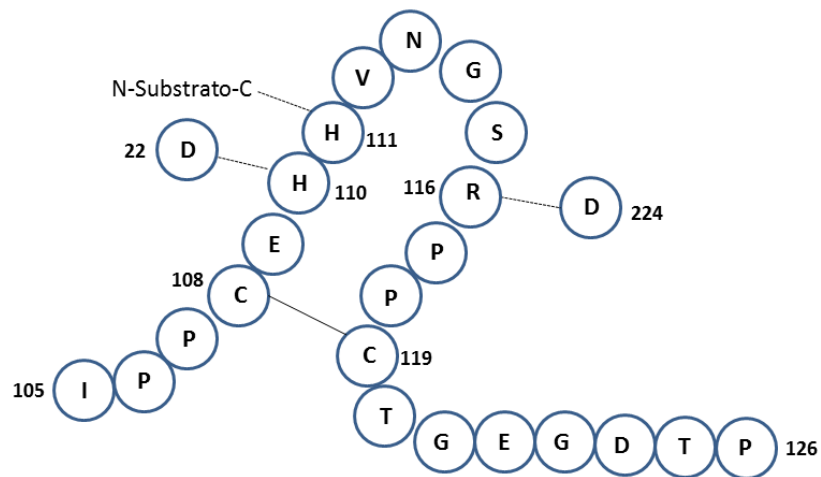


FIGURA 1.11 – Esquema do loop de oclusão da Catepsina B. A ponte dissulfeto é formada pelas Cys108 e Cys119; as pontes salinas entre a His110 e Asp22 e também com Arg116 e Asp224 . A interação da His111 é feita com a parte C-terminal do substrato peptídico (adaptado de SCHENKER et al., 2008).

Com relação aos subsítios do sítio catalítico da catepsina B, os subsítios S3, S1 e S2' estão situados no domínio esquerdo da protease, enquanto no domínio direito encontram-se os subsítios S3, S1 e S2' (Figura 1.12) (FRLAN & GOBEC, 2006).

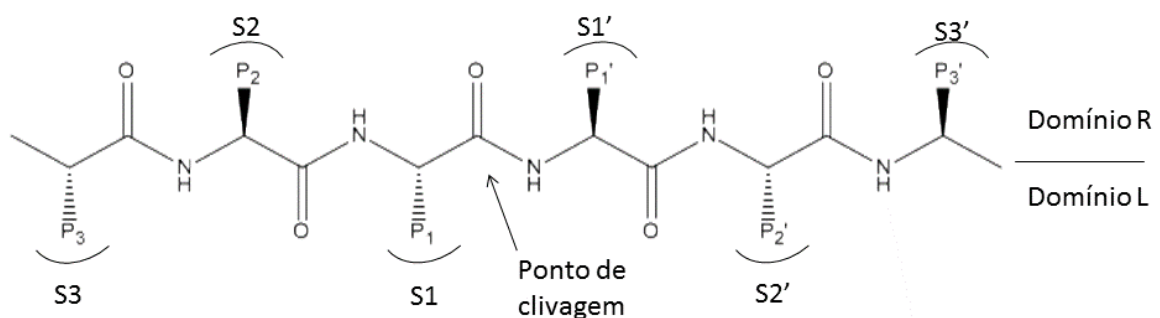


FIGURA 1.12 – Representação do substrato peptídico na Catepsina B. A clivagem ocorre no subsítio S1, onde encontra-se a Cys29, e os resíduos dos subsítios apresentados interagem com o substrato (Adaptado de FRLAN & GOBEC, 2006).

O subsítio S1 é caracterizado pela Gln23, Gly27, Cys29, Gly74, Gly198 (WATANABE et al., 2006). Nesta região, entre a Cys29 e a Gln23, há um espaço denominado bolsão do oxiânion (*oxyanion hole*) comum em todos os representantes da família da papaína (VOET & VOET, 2006; MUSIL et al., 1991). No ataque nucleofílico do tiol ao substrato peptídico, o oxigênio do intermediário tetraédrico



formado está carregado (apresentado na Figura 1.6) e o bolsão do oxianion serve para estabilizar esta carga negativa (VOET & VOET, 2006; RICHTER et al., 2012). A estabilização ocorre pela formação de duas ligações de hidrogênio deste oxigênio com as cadeias laterais dos resíduos Cys29 e Gln23.

Alguns inibidores de cisteíno proteases, como aldeídos e nitrilas, se ligam de maneira análoga aos substratos peptídicos no estado de transição (DUFOUR, STORER & MCNARD, 1995). Assim, estes inibidores também interagem na região do bolsão do oxianion. Como exemplo, é possível observar, o inibidor dipeptidil nitrila ligado à catepsina B de código 1gmy (Figura 1.13).

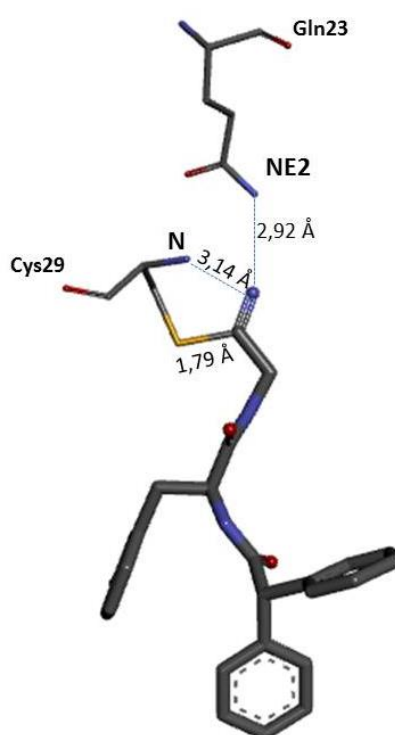


FIGURA 1.13 – Interação entre o inibidor dipeptidil nitrila e os resíduos pertencentes ao bolsão do oxianion da catepsina B (GREENSPAN et al., 2001).

O subsítio S2 contém os resíduos Pro76, Ala173, Ala200 e Glu245 (YAMAMOTO, 2000, GREENSPAN et al., 2001). No subsítio S3 possui o resíduo Phe75 (YAMAMOTO et al., 2002) O subsítio S1' é um bolso hidrofóbico composto pela Val176, Leu181, Met196, His199, Trp221 (YAMAMOTO et al., 2000; YAMAMOTO et al., 2002; Watanabe et al., 2006). O subsítio S2' é constituído pelos resíduos Gly24, His110, His111 e Gly121 (WATANABE et al., 2006). Um bom inibidor da catepsina B deve se acomodar no subsítio S2', lembrando que este está

relacionado ao loop de oclusão sendo que no modo exopeptidase está bloqueado. A ocupação dos ligantes nos subsítios S1' e S2' proporciona maior atividade inibitória. Na Figura 1.14 são apresentados os subsítios da catepsina B.

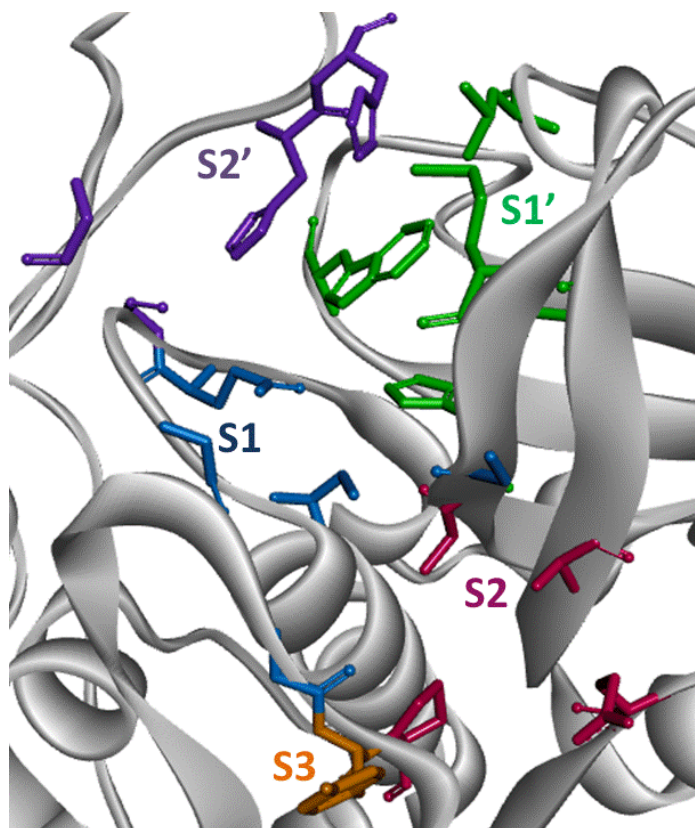


FIGURA 1.14 – Subsítios da Catepsina B de código 1gmy (GREENSPAN et al., 2001).

A catepsina B está envolvida no processo de degradação de proteínas dentro do lisossomo, no processo de apoptose e necrose celular (BUCK et al., 1992; ARTAL-SANZ & TAVERNAKARIS, 2005; BRIX et al., 2008; ČESEN et al., 2012), na degradação do fator de crescimento epidérmico no fígado e do fator de crescimento tipo insulina (IGF-I) (MÜLLER et al., 2012).

Esta protease também está correlacionada a alguns tipos de câncer como o câncer de pulmão (CHEN Q. et al., 2012), o câncer oral (CHEN M. et al, 2012) e o câncer de próstata (BECKHAM et al., 2012) . A alta atividade da cat. B em meio extracelular está relacionada a invasão tumoral além de estar envolvida na cascata de ativação de outras proteases que estão envolvidas na degradação da matriz extracelular (FRLAN & GOBEC, 2006) e na ativação do tripsinogênio intrapancreático iniciando-se a pancreatite aguda (HALANGK et al., 2000).

Assim se faz necessária a busca de um inibidor potente e específico para a catepsina B.

## 1.4 – Catepsina K

A estrutura cristalográfica da catepsina K humana foi determinada simultaneamente por McGrath e colaboradores (1997) e Zhao e colaboradores (1997) e tem código pdb 1mem e 1atk, respectivamente. A Catepsina K (E.C.3.4.22.8) é uma protease monomérica com massa de cerca 24 kDa e os dois domínios típicos da família da papaína. Esta protease atua apenas como endopeptidase (LECAILLE, BRÖMME& LALMANACH, 2008).

Sua estrutura, diferente das outras catepsinas, possui resíduos de Arg e Lys localizados no domínio esquerdo da protease que a tornam carregada positivamente (MCGRATH et al., 1997; LECAILLE, BRÖMME& LALMANACH, 2008). Na fenda catalítica encontram-se a Cys25, localizada no domínio esquerdo e a His162 localizado no domínio direito formando o par tiol-imidazol (Figura 1.15) (ZHAO et al.; 1997).

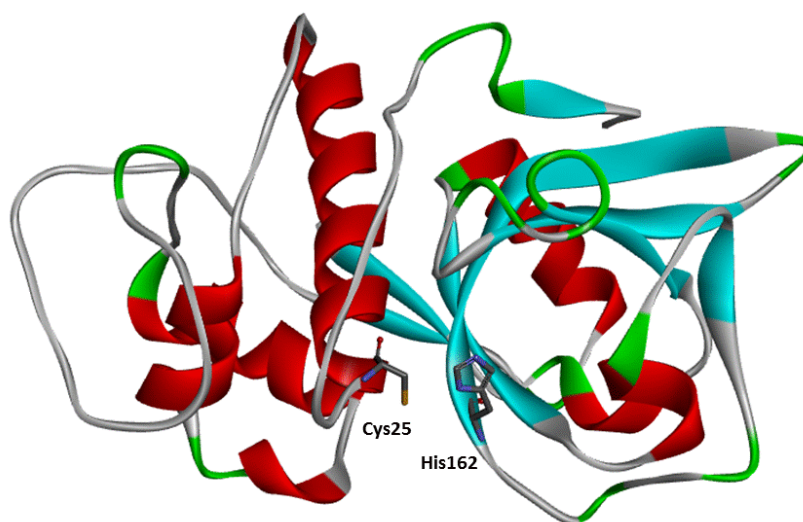


FIGURA 1.15 – Estrutura cristalográfica da catepsina K de código pdb 1u9v (ALTMANN, COWAN-JACOB & MISSBACH, 2004).

O subsítio S1 é constituído pelos resíduos de Gln19, Cys25, Cys63, Gly64, Gly65 e Asn158 (TURKENBURG et al., 2002; MCGRATH et al., 2003, TAVARES et al., 2004, CRAWFORD et al., 2012). O bolsão do oxianion da protease é formado pelos resíduos Cys25 e Gln19 (MARQUIS et al., 2001).

O subsítio S2 é um bolso hidrofóbico formado pelos resíduos Met68, Ala134, Leu157, Ala160, His162 e Leu205 (MCGRATH et al., 1997; ZHAO et al., 1997; TURKENBURG et al., 2002). O subsítio S3 é composto pelos resíduos Asp61, Gly65, Gly66, Tyr67 (MCGRATH et al., 1997; MCGRATH et al., 2003; ALTMANN, COWAN-JACOB & MISSBACH, 2004; RANKOVIC et al.; 2010a).

Os subsítios S' na catepsina K (Figura 1.16) são maiores que os da catepsina B, pois não possui o loop de oclusão (ZHAO et al., 1997).

Não foi encontrado na literatura descrição para o subsítio S1' desta protease, entretanto dado a similaridade das catepsinas, no nosso laboratório foi realizado o alinhamento estrutural e sequencial das catepsinas B, K, L e S com intuito de propor os aminoácidos constituintes deste subsítio. O subsítio S1' é constituído pelos resíduos Ala137, Gln143, His162, Phe142 (CARDOSO, 2011).

O subsítio S3' é composto pelo Trp184 (MARQUIS et al., 2001). O subsítios S2, S3 e S1' são os que dão especificidade à catepsina K (ZHAO et al., 1997; LECAILLE, BRÖMME & LALMANACH, 2008).

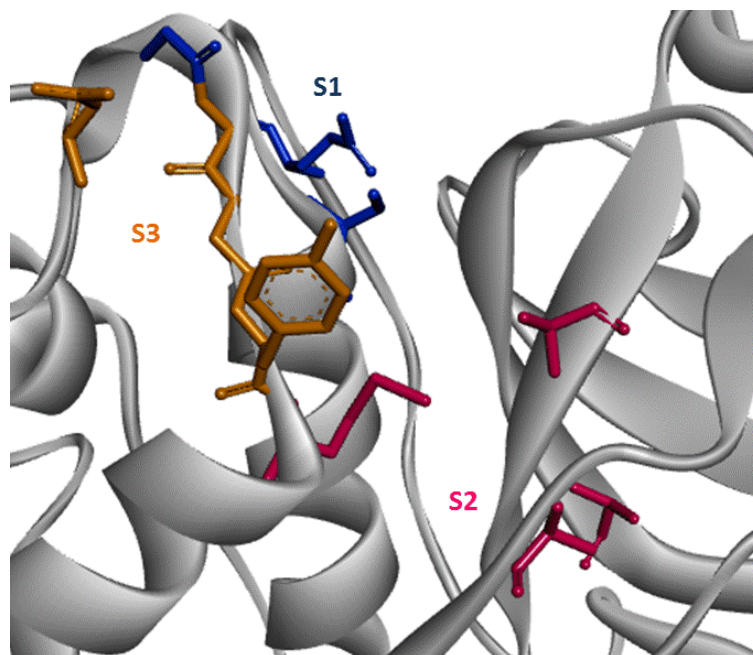


FIGURA 1.16 – Subsítios da catepsina K de código 1u9v.

A catepsina K é expressa predominantemente em células de reabsorção óssea denominada osteoclastos que atua na degradação da cartilagem do tipo I (TROEBERG & NAGASE, 2012). Está presente também, em níveis menores, no ovário, coração e músculo esquelético. Os osteoclastos, juntamente com as células chamadas osteoblastos, estão presentes no processo de renovação óssea. Os osteoblastos são responsáveis pelo remodelamento ósseo enquanto os osteoclastos promovem a liberação de prótons e de catepsina K para a degradação da matriz óssea (Figura 1.17) (YASUDA, KALETA & BRÖMME, 2005).

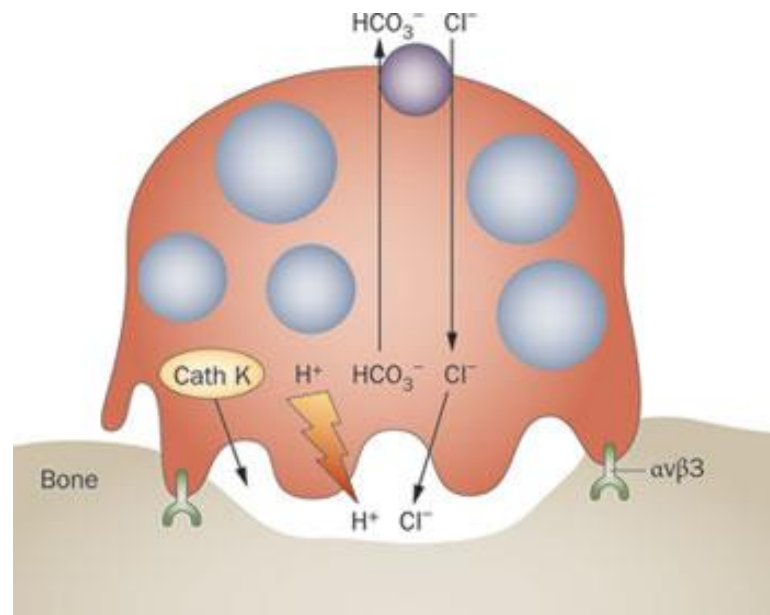


FIGURA 1.17 – Desenho esquemático do osteoclasto com a liberação de ácido hidroclorídrico e catepsina K ao aderir-se no osso (Extraído de COSTA et al., 2011).

Alguns estudos pré-clínicos mostraram que a inibição da catepsina K provoca a diminuição de perda óssea, assim, esta protease é considerada um potencial alvo terapêutico para doenças como a osteoporose e osteoartrite (YASUDA KALETA & BRÖMME, 2005; DE COSTA et al, 2011; TROEBERG & NAGASE, 2012).

Um inibidor seletivo desta protease é uma opção viável para retornar ao balanço natural entre osteoclastos e osteoblastos.

A mutação da sequência da catepsina K ou deleção de determinados resíduos de aminoácidos desta sequência leva a uma doença autossômica recessiva denominada picnodisostose caracterizada por problemas no desenvolvimento humano como baixa estatura, nanismo, alta taxa de fratura óssea e osteosclerose (HOU et al.; 1999).

## 1.5 – Catepsina L

A primeira estrutura cristalográfica de catepsina L humana resolvida foi de Gunčar e colaboradores (1999) com código pdb 1icf. A catepsina L atua como endopeptidase e mantém o mesmo tipo de formação esperada das proteases da família da papaína: dois domínios (L e R) que interagem formando um sítio catalítico

em forma de 'V' onde se encontra o par Cys25/His163 (Figura 1.18) (GUNČAR et al., 1999). Dentre as catepsinas é a mais instável em pH neutro, apresenta atividade máxima em pH em torno de 5,5 (TURK et al., 2000).

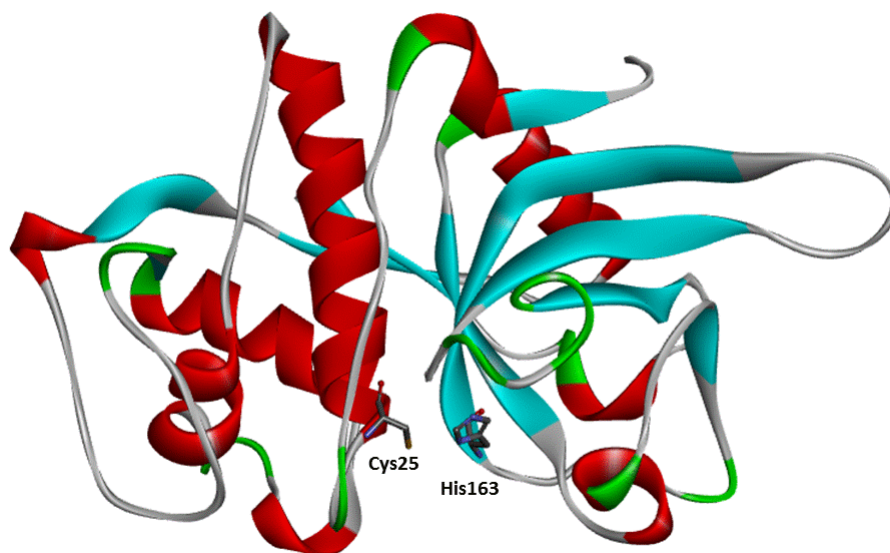


FIGURA 1.18 – Estrutura cristalográfica da catepsina L de código pdb 2xu3 (HARDEGGER et al., 2011).

O subsítio S1 é constituído dos resíduos Gln19, Cys25, Gly139, Asp162 (CHOWDHURY, 2008; SHENOY et al., 2009).

No subsítio hidrofóbico S2, mais estreito e raso que o respectivo subsítio da catepsina B (FUJISHIMA et al., 1997; YASUMA et al., 1998), encontram-se os resíduos Leu69, Met70, Ala135, Met161 e Ala 214 (CHOWDHURY et al., 2002; SHENOY et al., 2009; ASSAD et al., 2009; HARDEGGER et al., 2011).

Há diferenças estruturais também do subsítio S2 da catepsina L em relação à catepsina K: a Leu205 da catepsina K corresponde à Ala214 na catepsina L (MARQUIS et al., 2005). A alanina por ser um resíduo menor faz com que haja mais espaço no subsítio S2 da catepsina L, podendo acomodar receptores maiores nesta área (MARQUIS et al., 2005). O bolsão do oxiânion é formado pelos resíduos Gly68 e Asp162 (HARDEGGER et al., 2011).

O subsítio S3, situado no domínio L, é constituído pela Gly61, Glu63, Gly68, Tyr72 e está relacionado à potência e seletividade do inibidor (ASSAD et al., 2009; HARDEGGER et al., 2011). Além disso, este subsítio é considerado mais profundo



que o respectivo na catepsina B, podendo assim acomodar ligantes mais volumosos (YASUMA et al., 1998).

O subsítio S1' tem como resíduos Ala138, Asp162 e His163 (CHOWDHURY, 2002). O subsítio S2' é formado pelos resíduos Asn21, Cys22, Gly23, Glu141, Leu144, Phe145, Trp189 (CHOWDHURY, 2002; SHENOY et al., 2009).

Como não existe o loop de oclusão na região S2' desta protease, como há na catepsina B, espera-se que haja características diferentes de inibidores entre as duas para acomodá-los nesta região (FUJISHIMA et al., 1997). A inibição específica da catepsina L requer a ocupação dos subsítios S2, S3 e S1' (MYERS et al., 2008).

Os subsítios da catepsina L são apresentados na Figura 1.19.

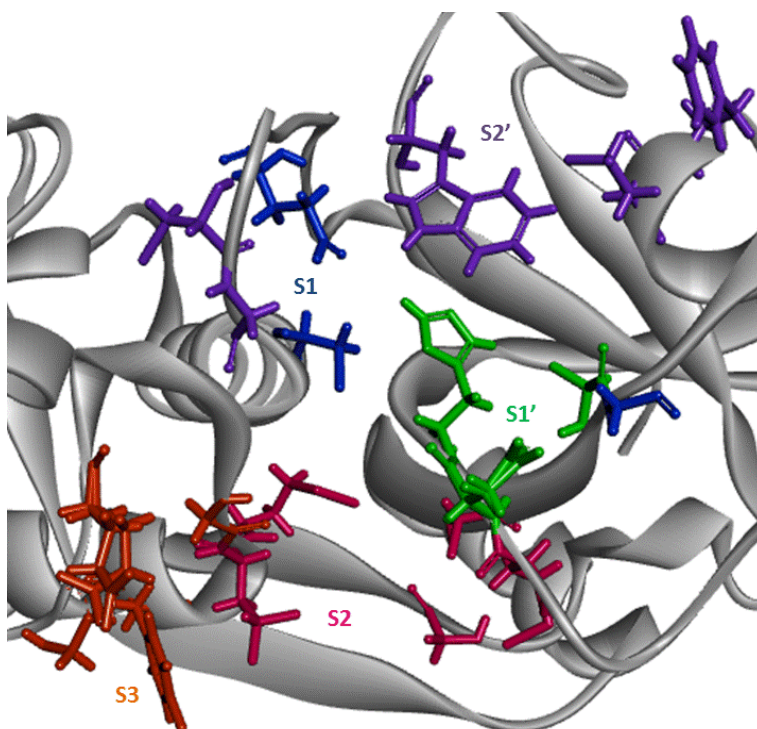


FIGURA 1.19 – Subsítios da catepsina L de código pdb 2xu3 (HARDEGGER et al., 2011).

Além da degradação da matriz proteica no lisossomo, algumas catepsinas que são encontradas em células têm funções específicas, como é o caso da catepsina K nos osteoclastos. A catepsina L, entretanto, é onipresente nas células e não possui papel específico em algum processo fisiológico (TURK, TURK & TURK, 2001). Está relacionada a algumas doenças como metástase (NAKASHIMA et al.,



2012), pancreatite (LYO et al., 2012), atrofia muscular (OHNO et al., 2012) e reabsorção óssea (KAKEGAWA et al., 1993), sendo de grande importância o desenvolvimento de inibidores potentes e específicos para esta protease.

## 1.6 – Catepsina S

A catepsina S humana foi determinada primeiramente por Turkenburg e colaboradores (2002) e depositada com código pdb 1glo. É altamente estável em pH neutro e pH levemente ácido (TURK, 2002; TURKENBURG et al., 2002). Sua estrutura, análoga à da papaína, possui dois domínios sendo o domínio L constituído de 3 hélices  $\alpha$  e o domínio R de fitas  $\beta$  antiparalelas que interagem formando o sítio catalítico em forma 'V' (TURKENBURG et al., 2002; WARD et al., 2002). No sítio catalítico encontram-se a Cys25 e His164 (Figura 1.20) (TURKENBURG et al., 2002; WARD et al., 2002).

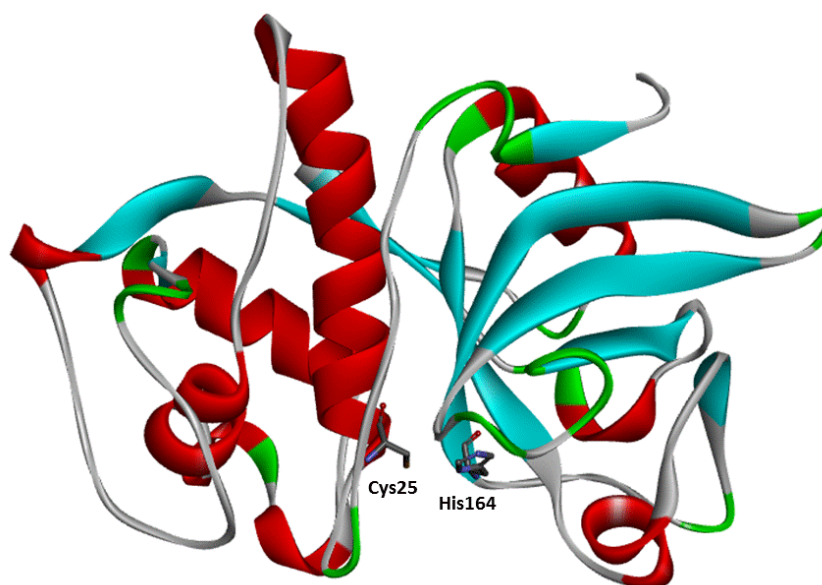


FIGURA 1.20 – Estrutura cristalográfica da catepsina S de código pdb 1ms6 (WARD et al., 2002).

O subsítio S1 da catepsina S é constituído pelos resíduos Gln19, Cys25, Cys66 e Asn67 (TURKENBURG et al., 2002). Os resíduos Gln19 e His164 formam o bolsão do oxiânion para estabilizar o intermediário tetraédrico do substrato peptídico (TURKENBURG et al., 2002).

O subsítio S2 é um bolsão hidrofóbico constituído pelos resíduos Met71, Gly137, Val138, Val162, Gly165 e Phe211 (TURKENBURG et al., 2002). Ao comparar este subsítio S2 da catepsina S com o respectivo na catepsina K e L, é possível observar que um resíduo de alanina é substituído por um resíduo de glicina, a Gly137, fazendo que o bolsão se torne mais espaçoso (TURKENBURG et al., 2002).

O subsítio S3 é formado pelos resíduos Gly62, Asn63, Lys64, Gly68, Gly69 e Phe70 (TURKENBURG et al., 2002). Os subsítios S2 e S3 são os que dão especificidade à catepsina S (TURKENBURG et al., 2002; WARD et al., 2002; AMERIKS et al., 2009).

O subsítio S1' compreende os resíduos Ala140, Asn163, His164, Trp186 (TURKENBURG et al., 2002; CAI et al., 2010).

Na Figuras 1.21 são apresentados os subsítios da catepsina S.

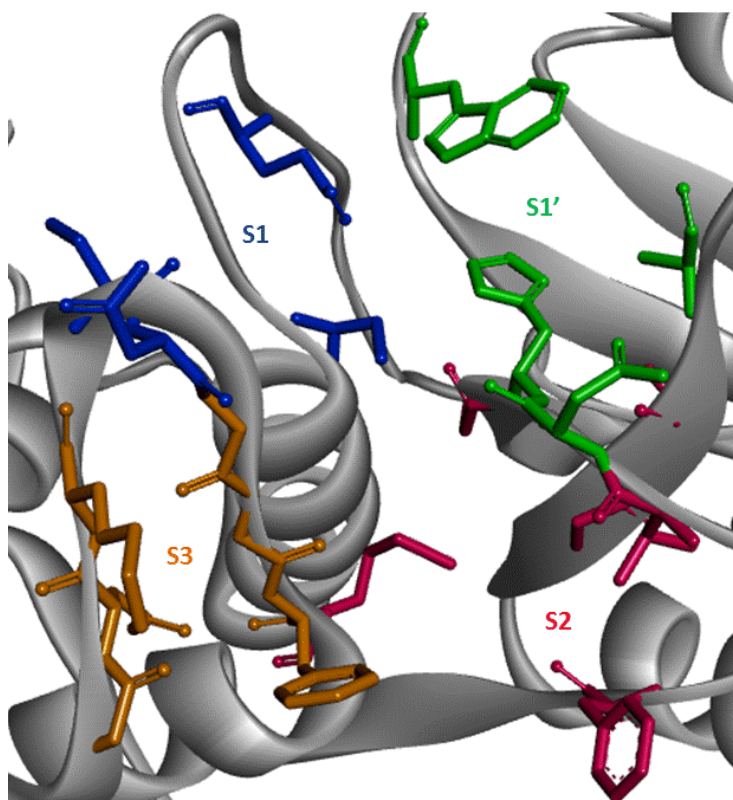


FIGURA 1.21 – Subsítios da catepsina S de código pdb 1ms6 (WARD et al., 2002).

A sequência das catepsinas K, L e S são altamente homólogas (GELB et al., 1996) , assim as catepsinas K, L e S constituem a família das catepsinas do tipo L,

sendo 60% da sequência de aminoácidos idênticas (Figura 1.22) (LECAILLE, BRÖMME & LALMANACH, 2008)

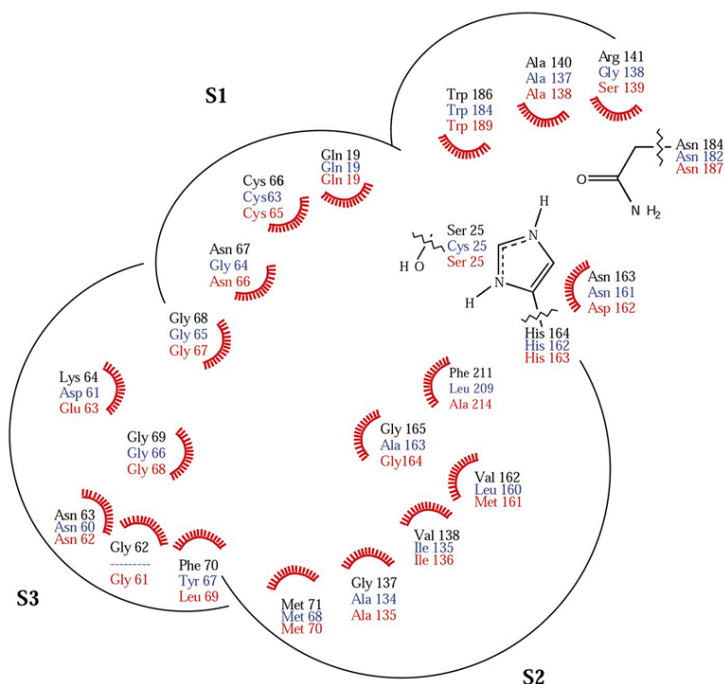


FIGURA 1.22 – Subsítios da cathepsina S (preto), K (azul) e L (vermelho) (Extraído de TURKENBURG et al., 2002).

A cathepsina S é encontrada no interior de lisossomos em células que contêm antígenos (AMERIKS et al., 2009). É responsável pela degradação do complexo principal de histocompatibilidade da classe II (MHC-II) (GUNČAR et al., 1999; WARD et al., 2002; WIENER et al., 2010). As moléculas MHC-II são uma classe de antígenos composta pelos macrófagos, células dendríticas e linfócitos B que se caracterizam por processarem os peptídeos e apresentá-los às células T, sendo que a cathepsina S está envolvida neste processo (TURK et al., 2002; BELIZAIRE & UNANUE, 2009).

Apesar da cathepsina S possuir um importante papel no processamento e apresentação do antígeno, esta protease também pode destruir células T gerando doenças auto-imunes como esclerose múltipla e diabetes *mellitus* do tipo 1. Assim, é de grande importância a busca de inibidores para a cathepsina S (STOECKLE et al., 2012).

## 1.7 – Inibidores de cisteíno proteases

Como apresentado nas seções anteriores, as catepsinas estão associadas a um grande número de patologias, sendo de grande interesse o entendimento de sua estrutura para o *design* de novos inibidores.

Os inibidores mais bem descritos são da classe das cistatinas que são inibidores e reguladores naturais das cisteíno proteases, sendo que o desequilíbrio entre o nível de cistatina e de catepsinas é indício de progressão do câncer (TURK & GUNČAR, 2002; Rzychon, Chmiel & Stec-Niemczyk, 2004; GOLE et al.; 2012). Vale destacar que as cistatinas são não específicas das catepsinas.

Em geral, os inibidores de cisteíno proteases necessitam de uma parte eletrofílica que sofrerá ataque do tiol da cisteína catalítica (FALGUEYRET et al., 2001; MCGRATH et al., 2003; YASUDA et al., 2005; RANKOVIC et al., 2010(b)), além disso, os inibidores devem se acomodar nos subsítios vizinhos à cisteína catalítica (TURK & GUNČAR, 2002). Geralmente, os inibidores clássicos sintetizados são inibidores peptídicos que contêm um grupo nitrila (GREENSPAN et al., 2001; ALTMANN et al., 2004; SHENOY et al., 2009; FRIZLER et al., 2012) ou que contem um grupo epóxi que sofrerá o ataque nucleofílico (MURATA et al., 1991; FENG et al., 1996; ZHAO et al., 1997; MCGRATH, et al., 1997; YAMAMOTO et al., 2000; YAMAMOTO et al., 2002; WATANABE et al., 2006). Um exemplo clássico de inibidor de cisteíno proteases que contém o grupo epóxi é o da molécula E-64c (YAMAMOTO et al., 2002) (Figura 1.23).

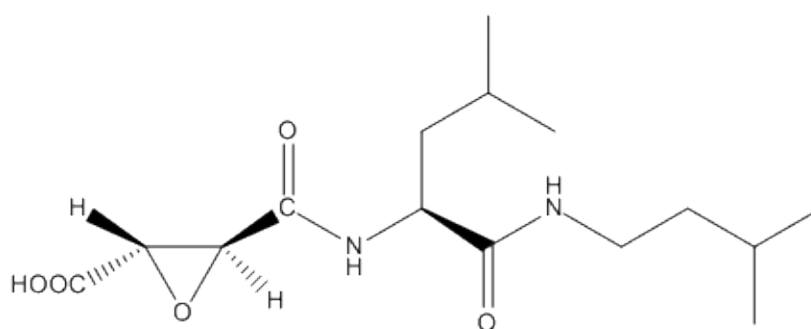


FIGURA 1.23 – Molécula E-64c (YAMAMOTO et al., 2002).

A molécula E-64c é um inibidor natural extraído de cultura de *Aspergillus japonicus*, porém não tem preferência especial por nenhuma cisteína protease (FENG et al., 1996).

No presente trabalho são estudados compostos de Te(IV) para atuar como inibidores das catepsinas. Alguns destes compostos têm se mostrado bons inibidores irreversíveis devido à combinação do caráter eletrofílico do átomo de telúrio e do caráter nucleofílico do tiol da cisteína ativa (CUNHA et al., 2005). No caso do AS-101 (ALBECK et al., 1998), o primeiro composto de telúrio a ser testado e apresentar inibição em cisteína proteases, o mecanismo de formação do complexo enzima-inibidor é o mecanismo dissociativo (Figura 1.24) (ALBECK et al., 1998):

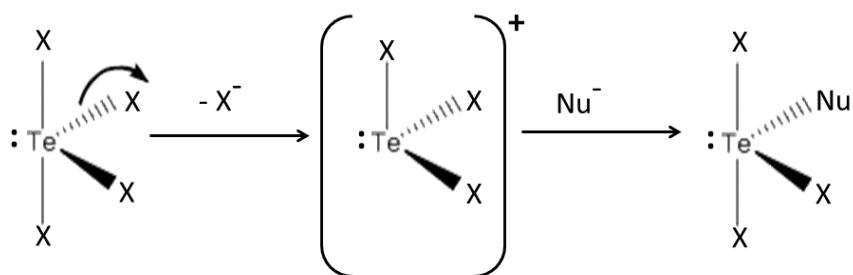


FIGURA 1.24 – Mecanismo dissociativo de substituição nucleofílica.

No mecanismo dissociativo, o composto de Te(IV) reage com o tiol e forma um intermediário que é estabilizado pelo par de elétrons isolados do átomo de telúrio e, posteriormente, ocorre a formação da ligação covalente com o tiol catalítico da protease (ALBECK et al., 1998).

## Capítulo 2 – Objetivos

Os objetivos fundamentais deste trabalho podem ser divididos em duas grandes linhas que são os estudos cristalográficos e os estudos de *docking* molecular.

No caso da cristalografia, os objetivos são a determinação de estruturas cristalinas e moleculares de compostos de telúrio(IV). Isto implica numa análise das interações intra- e intermoleculares relacionadas com o empacotamento no estado sólido, e ambas objetivando o estudo da coordenação do átomo de telúrio.

As estruturas tridimensionais dos compostos de telúrio serão então utilizadas como ponto de partida para modelar estruturas de outros compostos de Te que não puderam ser cristalizados e para a realização dos estudos de *docking*.

Os objetivos dos estudos de *docking* devem, por sua vez, ser divididos em dois, no caso dos compostos de fórmula geral  $(p\text{tol})\text{Te}[\text{C}(\text{H})=\text{C}(\text{Cl})\text{Ph}]X_2$  ( $X = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ ) a ideia é, partindo do conhecimento da atividade inibitória de um composto de telúrio similar em catepsina B, estudar os complexos proteína-ligante formados com compostos cujas atividades não são conhecidas e então predizer a necessidade, ou não, de se fazer testes de inibição com eles. Ainda, serão feitos estudos de *docking* utilizando um composto de estrutura similar, mas que possui uma cadeia alifática ao invés de um grupo fenila e então comparar os resultados com o intuito de verificar a conveniência, ou não, de utilizar este tipo de composto como inibidor.

Outro objetivo será a utilização do *docking* para tentar estabelecer um modelo que explique as diferentes atividades inibitórias de uma série de dipnonas frente às catepsinas B, K, L, e S.

## Capítulo 3 – Materiais e Métodos

Este capítulo descreve como foram obtidas as coordenadas das estruturas tridimensionais dos compostos de telúrio e das proteases catepsinas B, K, L e S. Também é apresentada a metodologia adotada no estudo da formação dos complexos catepsina-ligante. Todos estes processos foram acompanhados por visualização molecular, que permite análise e entendimentos do arranjo estrutural das moléculas, dos complexos e das interações moleculares.

### 3.1 – Obtenção das estruturas cristalográficas dos compostos de telúrio

As intensidades dos feixes difratados foram medidas no difratômetro Enraf-Nonius CAD-4, usando a técnica de varredura  $\theta$ - $2\theta$  com radiação  $K\alpha$  de molibdênio ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ) monocromatizada por cristal de grafite.

As estruturas dos compostos foram resolvidas por Métodos Diretos (SIR92, Altomare et al., 1993) e refinadas por mínimos quadrados com matriz completa de  $F^2$  (SHELXL97, SHELDRICK, 1997, 2008). Os desenhos das moléculas foram realizados com ORTEP3 (FARRUGIA, 1997). Os cálculos de parâmetros geométricos e das interações intra- e intermoleculares foram feitas com PLATON (SPEK, 1998). Alguns destes programas formam parte do sistema WinGX (FARRUGIA, 1999).

Em todos os casos os átomos de hidrogênio foram colocados em posições geometricamente calculadas e refinados ligados aos seus respectivos átomos de carbono, com um fator de deslocamento atômico igual a 1,2 vezes (1,5 para os hidrogênios metílicos) o fator de deslocamento atômico equivalente do átomo a que estão ligados.

Os compostos apresentados nos Capítulos 4 e 5 foram sintetizados e cristalizados no grupo do Prof. Hélio A. Stefani da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP-SP. As dipnonas estudadas no Capítulo 6 foram sintetizadas pelos Profs. Drs. João V. Comasseto do IQ-USP e Rodrigo L. O. R. Cunha da UFABC.

### 3.2 – Obtenção das estruturas cristalográficas das proteases

Para o estudo de *docking* são necessárias as coordenadas estruturais dos ligantes e as coordenadas cristalográficas das proteínas utilizadas como receptores, estas obtidas no Protein Data Bank (PDB) e no PDBSum.

Os dados cristalográficos da catepsina B têm código pdb 1gmy. Esta estrutura foi determinada com resolução de 1,90 Å e está complexada com um inibidor dipeptidil nitrila (GREENSPAN et al., 2001). A catepsina K tem código pdb 1u9v e está complexada com uma nitrila heterocíclica e resolução de 2,2 Å (ALTMANN et al., 2004). A catepsina L de código pdb 2xu3 tem resolução igual a 0,9 Å e está complexada com uma nitrila (ALTMANN et al., 2004). Finalmente, a catepsina S retirada do PDB foi a de código 1ms6 com resolução 1,9 Å e inibida com uma nitrila dipeptídica (WARD et al., 2002).

### 3.3 – Docking

Os cálculos de *docking* dos compostos de telúrio em catepsinas foram realizados com o programa GOLD versão 5.0.1. (JONES & WILLET, 1995; JONES, WILLET, & GLEN, 1995; JONES et al, 1997). Para a realização dos cálculos deve haver um planejamento minucioso, dadas as características particulares dos compostos estudados.

Sabe-se que compostos de haletos de Te(IV) ao reagirem com cisteíno proteases sofrem ataque nucleofílico do tiol catalítico com a saída de um dos haletos e formação de uma ligação covalente do enxofre com o átomo de telúrio (ALBECK et al., 1998; CUNHA et al., 2005).

Dessa forma, os cálculos foram planejados considerando que ocorre a formação de um complexo covalente envolvendo o enxofre SG do resíduo da cisteína catalítica das catepsinas com o átomo de telúrio dos ligantes e a saída de um grupo ligado ao telúrio. Como todos os compostos apresentados são dialetos ou trialetos de organotelúrios, o melhor grupo de saída para a formação do complexo é um dos halogênios ligado ao átomo de telúrio.

Como será mostrado nos capítulos posteriores, os haletos de organotelúrio estudados, a partir da análise cristalográfica, possuem os halogênios ligados ao



átomo de telúrio em ambientes químicos diferentes; portanto, um deve ser melhor grupo de saída que o outro. Em todos os cálculos foi feita uma avaliação sobre qual grupo de saída resultaria em condições mais favoráveis para a formação do complexo baseando-se principalmente na distância Te– SG(Cys) e também na energia obtida na formação do complexo.

Um fato que deve ser destacado é que sempre foram usadas, como ponto de partida, as estruturas cristalográficas, e que em certos casos ao formarem o complexo com a proteína as conformações mudaram.

O exemplo mais interessante está relacionado com as dipnonas, as quais no cristal apresentam uma interação secundária do telúrio com o oxigênio carbonílico formando um pseudo anel. Os resultados do *docking* mostram uma mudança da conformação na qual o átomo de oxigênio rotaciona de forma que esta interação se perde e é substituída por uma outra com um átomo da proteína.

Como já descrito em trabalhos anteriores (CARACELLI et al., 2012; CARDOSO, 2011), foi feito um estudo para determinar a distância mais provável entre o átomo de telúrio e o tiol catalítico, utilizando dados cristalográficos inseridos no Cambridge Structural Database (CSD) (ALLEN, 2002; ALLEN & MOTHERWELL, 2002) que mostraram que a distância de ligação Te-S covalente é de  $2.94 \pm 0.30$  Å.

Além da análise no CSD, trabalhos de *docking* de compostos de telúrio em catepsinas, realizados em nosso laboratório, mostraram que os compostos mais favoráveis para a formação dos complexos são aqueles nos quais a distância de ligação Te-SG é da ordem de 2,9 Å (CARACELLI et al. 2012; CARDOSO, 2011; CUNHA et al. 2006; WAGNER et al., 2000).

Com estas informações, os cálculos de docking foram planejados em etapas: primeiramente, aproximou-se o ligante completo da cavidade catalítica da protease. Para isso, foi permitida a flexibilidade total do ligante em uma esfera de 12 Å ao redor da cisteína catalítica.

Na segunda etapa, para a formação do complexo covalente, fez-se a remoção sistemática, ou seja, um por vez, de um dos halogênios ligado ao telúrio e então analisaram-se as interações entre o ligante e a proteína. Nesta etapa, com a remoção do halogênio, o ligante deve se aproximar da cisteína catalítica e, para

isso, estabeleceu-se um intervalo de distância entre o telúrio e o enxofre da cisteína de 2,0 – 3,3 Å, ou seja, foi imposta uma distância da ordem de uma ligação covalente Te–SG. Desta forma foi possível escolher qual seria o halogênio que mais provavelmente sairia.

Como o programa GOLD gera vários resultados, deve-se analisar se estes são válidos, ou seja, se tem sentido, ou não. Esta análise é feita, primeiramente dividindo-se as saídas em grupos com orientações similares. Dentro de cada grupo, já que possuem mesma orientação, é selecionado o complexo de mais baixa energia, e são estudadas mediante visualização molecular as interações receptor-ligante e se estas possuem sentido químico. O valor da energia de cada complexo ligante-proteína é dado pelo programa, que realiza uma série de cálculos que levam em consideração as interações que o ligante faz com a proteína e consigo mesmo, ou seja, intramolecularmente; esse valor é chamado pelo programa de GOLDScore (JONES, WILLET & GLEN, 1995; JONES et al, 1997).

### **3.4 – Visualização Molecular**

A visualização molecular foi empregada em todas as etapas do trabalho: para selecionar as proteínas envolvidas no estudo e o sítio de ligação e analisar os resultados do *docking*.

Como mencionado anteriormente, são geradas uma série de soluções, ou seja, o ligante aparece em diversas poses (conformação e orientação) no sítio ativo das enzimas. Na etapa de visualização molecular são analisados os padrões de orientação e as conformações dos ligantes. Também são avaliadas as distâncias Te–SG de cada ligante e todas as interações que o mesmo faz com os átomos da proteína, estudando e avaliando distâncias e ângulos.

Para visualização molecular foi utilizado o programa livre DS Visualizer 3.5 (Accelrys, Inc).

## Capítulo 4 – Resolução das estruturas, análise do arranjo supramolecular e poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) de três compostos dialetos de 2-clorovinil telúrio (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]X<sub>2</sub>, sendo X = Cl, Br e I e *docking* dos compostos em catepsina B

O grupo de pesquisa coordenado pelo Prof. Dr. Hélio Stefani da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP-SP, sintetizou e cristalizou três compostos de dialetos de organotelúrios variando os dois halogênios ligados ao átomo de telúrio (Figura 4.1).

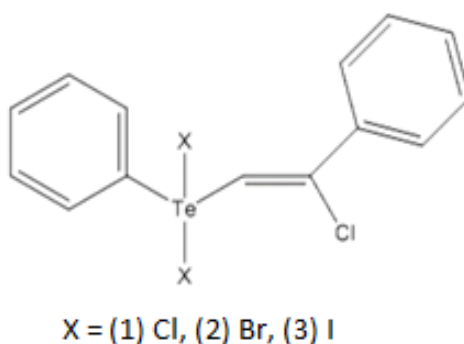


FIGURA 4.1 – Esquema dos compostos de dialetos de organotelúrios.

Neste capítulo serão apresentados os dados cristalográficos, arranjo supramolecular, poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) e, finalmente, estudos de *docking* em catepsina B das três moléculas.

As três estruturas apresentadas não possuem dados de inibição, porém, são muito semelhantes a uma outra molécula cuja estrutura encontra-se depositada no CSD, Cambridge Structural Database, o dicloro-((Z)-2-cloro-fenilvinil)-4-metoxifenil-telúrio(IV) de código YOWMEC (Figura 4.2) (ZUKERMAN-SCHPECTOR, COMASSETO & STEFANI, 1995) e possui atividade de inibição de catepsina B já determinada (CUNHA et al, 2005). Assim os cálculos de *docking* realizados com esta molécula modelo serão comparados com os dos três novos compostos.

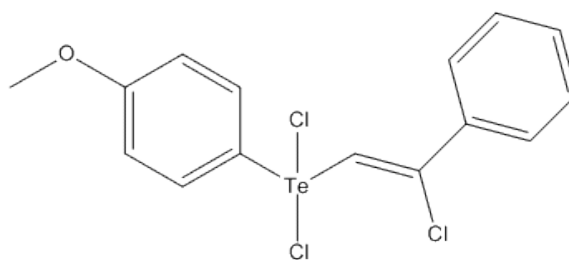


FIGURA 4.2– Molécula dicloro-((Z)-2-cloro-fenilvinil)-4-metoxifenil-telúrio(IV) de código CSD YOWMEC.

Os dados cristalográficos e de refinamento das três moléculas bem como as coordenadas atômicas, distâncias e ângulos de ligação, fatores de deslocamentos atômicos anisotrópicos e coordenadas dos átomos de hidrogênio encontram-se no apêndice ao final deste capítulo. No apêndice também estão disponíveis as tabelas de interações das moléculas com a catepsina B.

#### 4.1 – Composto 1: 1-{dicloro[(E)-2-cloro-2-feniletênil]- $\lambda^4$ -tellânio}-4-metilbenzeno, (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]Cl<sub>2</sub>

A Figura 4.3 mostra o desenho ORTEP3 (FARRUGIA, 1997) do Composto 1 (C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>Cl<sub>3</sub>Te) com os átomos identificados.

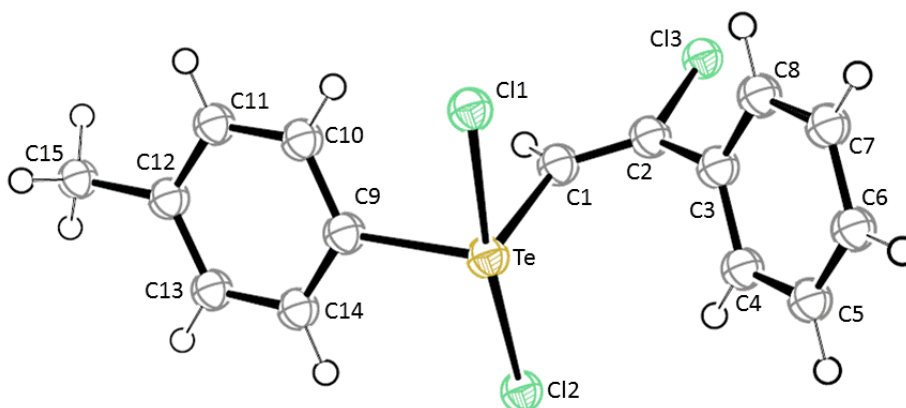


FIGURA 4.3 – Projeção do composto 1, (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]Cl<sub>2</sub>

A projeção mostrada na Figura 4.4 mostra que o Te(IV) se encontra na configuração (E) com relação ao Cl3.

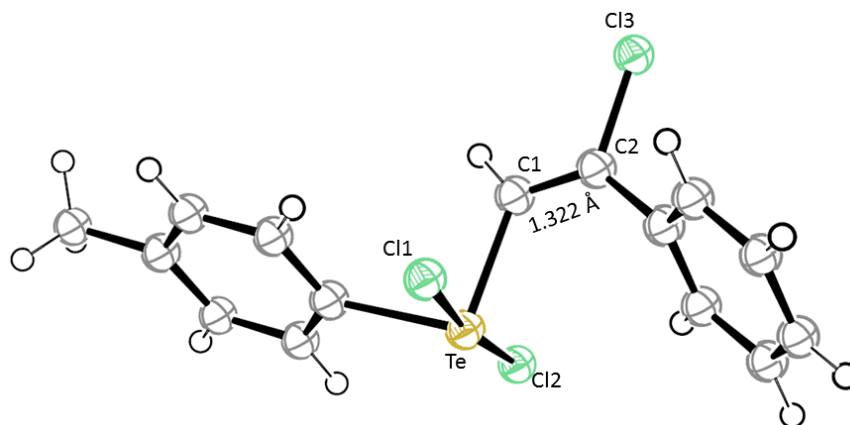


FIGURA 4.4 – Projeção para destacar o átomo de Te(IV) em configuração E ao átomo Cl3.

A análise dos dados das distâncias dos átomos de cloro ao telúrio não são iguais,  $\text{Te-Cl1} = 2,4719(7) \text{ \AA}$  e  $\text{Te-Cl2} = 2,5516(7) \text{ \AA}$ , além disso, o Cl2 está um pouco mais direcionado ao C1 vinílico ( $3,157(3) \text{ \AA}$ ) que o Cl1 ( $3,232(3) \text{ \AA}$ ). De forma que os átomos de cloro ligados ao telúrio estão em ambientes químicos diferentes.

A determinação do poliedro de coordenação ao redor do telúrio implica numa análise detalhada das interações secundárias intra- e intermoleculares que o átomo faz. Neste caso há uma interação intramolecular  $\text{Te} \cdots \pi$  entre o átomo de telúrio e o anel fenila (Figura 4.5). Este tipo de interação foi descrita pela primeira vez por ZUKERMAN-SCHPECTOR & HAIDUC (2002).

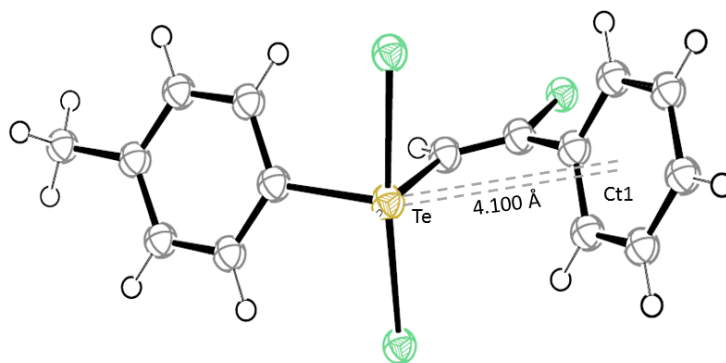


FIGURA 4.5 – Interação intramolecular  $\text{Te} \cdots \pi$ .

A análise dos arranjos supramoleculares mostra que as moléculas se organizam em dímeros centrossimétricos (operação de simetria 2-x, 1-y, 1-z) de forma que átomo de Te(IV) faz uma interação intermolecular com o átomo Cl2 de uma molécula vizinha a uma distância de  $3,3611(9) \text{ \AA}$  (Figura 4.6).

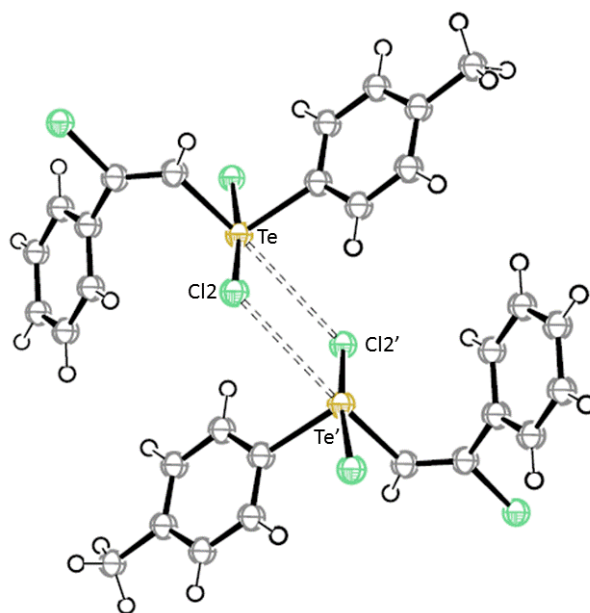


FIGURA 4.6 – Interação intermolecular do composto 1

Assim, quando levamos em consideração todas as interações do átomo de telúrio, as intra e as intermoleculares, bem como o par de elétrons isolados, então o poliedro de coordenação deve ser descrito como uma  $\Psi$ -bipirâmide de base pentagonal, sendo a base formada pelos átomos C1, C9, a interação  $\text{Te}\dots\pi$ , o par de elétrons isolados e o Cl2' da molécula vizinha, sendo que os dois átomos de cloro ligados ao telúrio ocupam as posições apicais (Figura 4.7).

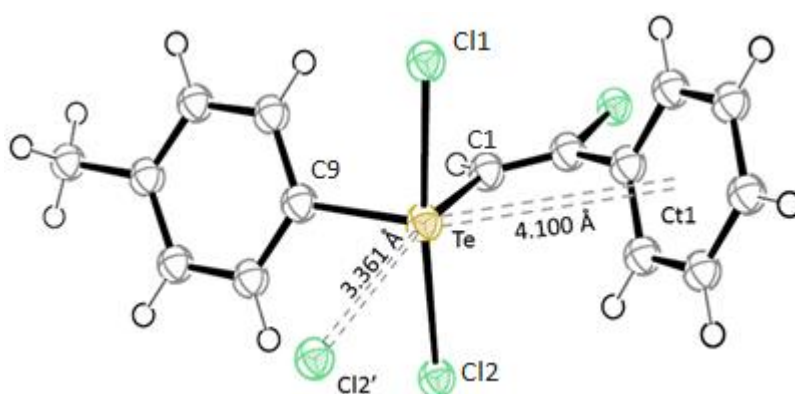


FIGURA 4.7 – Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV).

Uma melhor visualização da  $\Psi$ -bipirâmide de base pentagonal pode ser observada quando destacamos somente a geometria formada. O Te(IV) possui um par de elétrons isolados cuja localização pode ser inferida pelo espaço que há entre o átomo Cl2' e a interação  $\text{Te}\dots\pi$  (Figura 4.8).

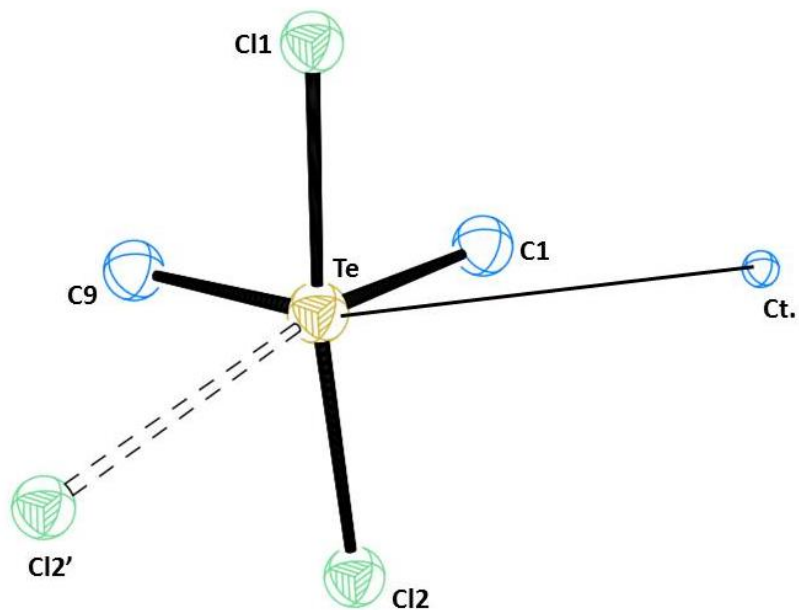


FIGURA 4.8 – Destaque para o poliedro de coordenação ao redor do átomo de telúrio.

Cálculos realizados no nosso laboratório (CARACELLI et al., 2012) permitiram observar a densidade eletrônica nesta região (Figura 4.9).

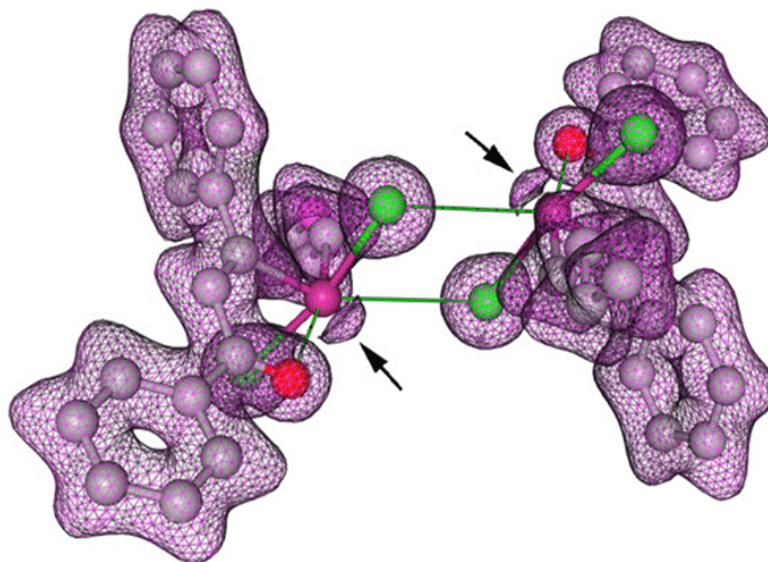


FIGURA 4.9 – Superfície de isodensidade do dímero de um composto de telúrio. As setas apontam para o espaço que é ocupado pelo par de elétrons isolados.

Como já comentado, os dois haletos ligados ao átomo de Te não são quimicamente equivalentes assim, o cálculo de *docking* foi realizado seguindo o procedimento descrito no capítulo 2.

O melhor grupo de saída foi o Cl1, sendo que o complexo formado teve um valor do GOLDScore de 45,55 kcal mol<sup>-1</sup>, posicionando átomo de telúrio a 3,21 Å de distância do enxofre da cisteína (Figura 4.10).

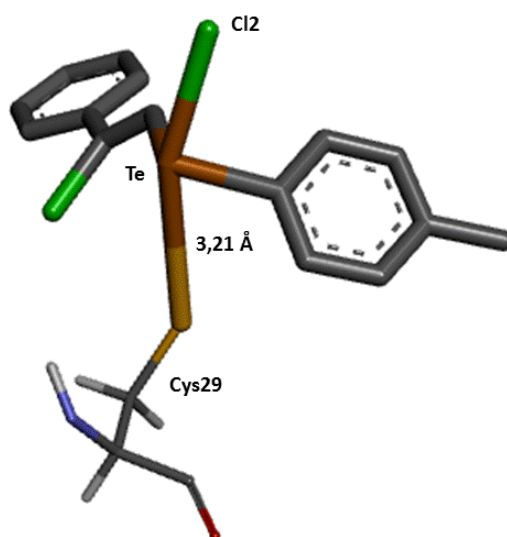


FIGURA 4.10 – Ligação covalente entre o enxofre da Cys29 e o átomo de telúrio do ligante

Como descrito no Capítulo 1, um bom inibidor além de se ligar à cisteína catalítica, deve também fazer interações principalmente nos subsítios de especificidade da protease, que no caso da catepsina B são o S1' e S2' (WATANABE et al., 2006).

O composto **1** faz interações com a Gly27, Met196 e Gly197 do subsítio S1', e uma interação com a Gln23 presente no subsítio S2' e participante do bolsão do oxianion. Na Figura 4.10 são mostradas algumas destas interações, outras foram retiradas para melhor visualização. A tabela completa destas interações encontra-se no final deste capítulo.



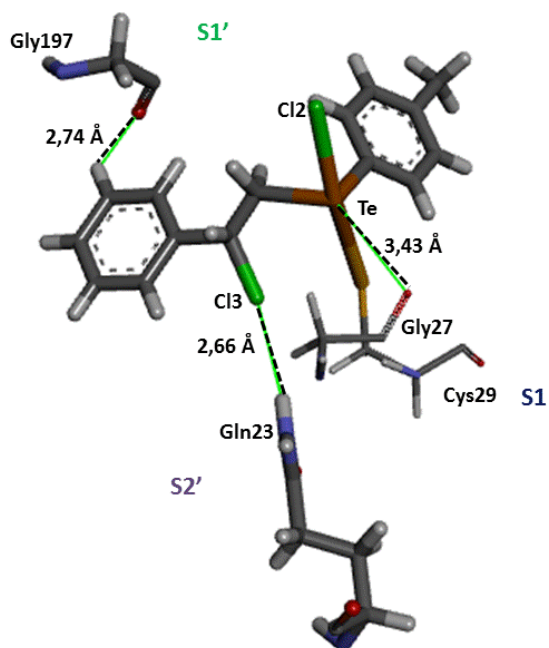


FIGURA 4.11 – Algumas interações do composto 1 e a catepsina B.

Além da ligação com a Cys29, situada no subsítio S1, outras interações também são observadas neste subsítio, como com a Asn72, Gly73 e Gly74. Há também interações no subsítio S2 com a His199 e Gly198 (Figura 4.12).

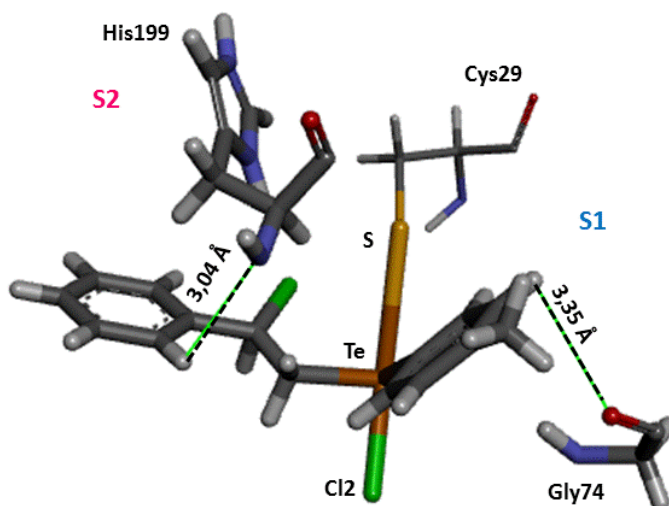


FIGURA 4.12 – Algumas interações do composto 1 nos subsítios S1 e S2

É importante destacar que, como no cristal, o poliedro de coordenação do telúrio dentro da catepsina B, é uma  $\Psi$  – bipirâmide de base pentagonal (figura 4.13), porém agora a base pentagonal é formada pelos dois átomos de carbonos ligados ao telúrio (C1 e C9), o Cl3, o átomo de oxigênio da Gly27 e o par de elétrons

isolados. Neste caso o Cl2 e o enxofre da Cys29 formam os ápices da bipirâmide. Entretanto, na estrutura cristalina, um dos vértices da base pentagonal do poliedro de coordenação é ocupado pela interação Te... $\pi$ , enquanto, que na proteína, o vértice é ocupado por uma interação Te...Cl<sub>3</sub>, ou seja, ocorre a inversão de configuração da molécula de E para Z (Figura 4.14).

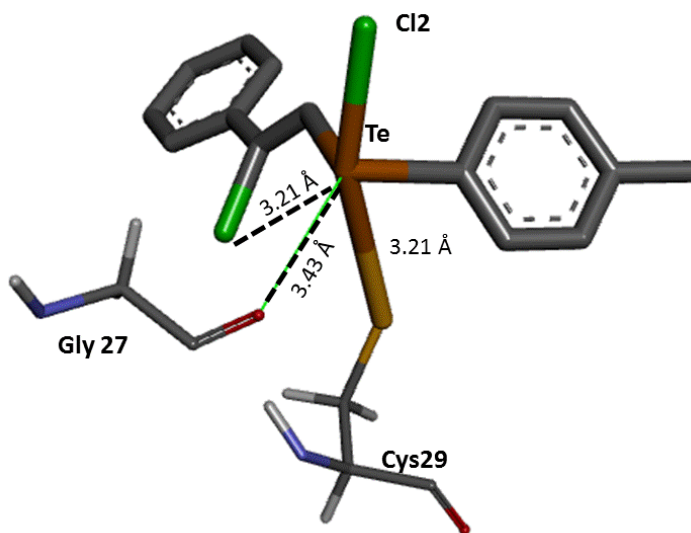


FIGURA 4.13 – Poliedro de coordenação do Te complexado com a catepsina B.

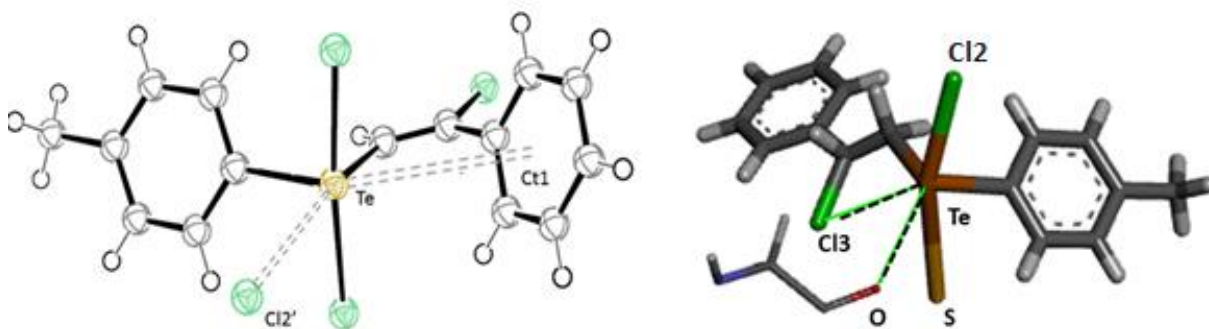


FIGURA 4.14 – Comparação entre o poliedro de coordenação do composto no cristal e no complexo ligante-enzima.

## 4.2 – Composto 2: 1-{dibromo[(Z)-2-cloro-2-feniletênil]- $\lambda^4$ -tellânio}-4-metilbenzeno, (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]Br<sub>2</sub>

A Figura 4.15 mostra a projeção da molécula do composto 2 (C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>Br<sub>2</sub>ClTe) com os átomos identificados.

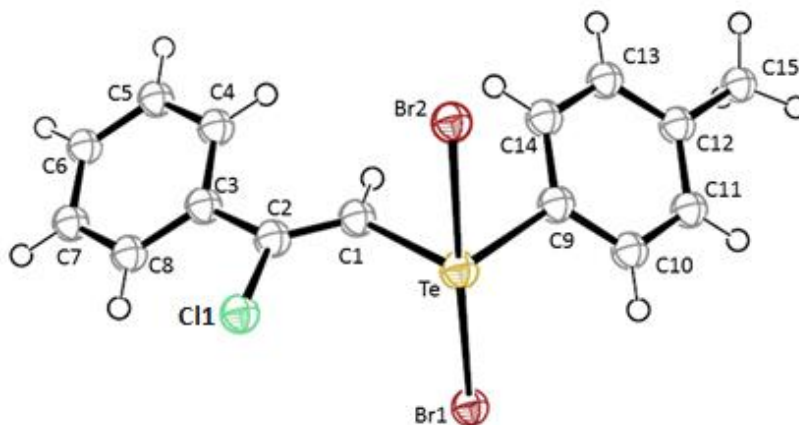


FIGURA 4.15 – Projeção do composto **2**,  $(ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]Br_2$ .

Neste caso o Te e o Cl1 estão na configuração Z, como mostrado na Figura 4.16.

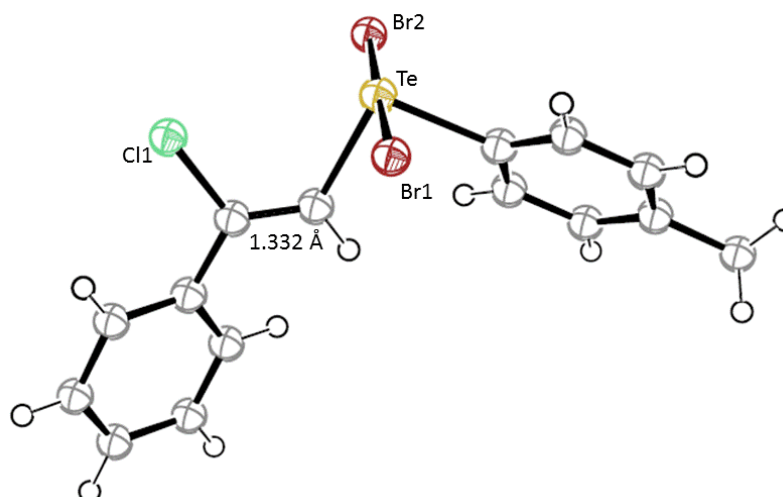


FIGURA 4.16 – Projeção para destacar a configuração Z do composto **2**.

Assim como no composto **1** os halogênios ligados ao telúrio também estão em ambientes químicos diferentes, sendo a distância Te–Br1 igual a 2,637(5) Å e a distância Te–Br2 de 2,7213(5) Å. Além disso, o átomo Br1 está um pouco mais próximo do C1 vinílico.

Como mencionado anteriormente, a configuração do átomo de Te em relação ao Cl1 é Z, assim, a interação intramolecular que no composto **1** era uma interação  $\pi$ , neste caso temos uma interação com o átomo de Cl1 (Figura 4.17).

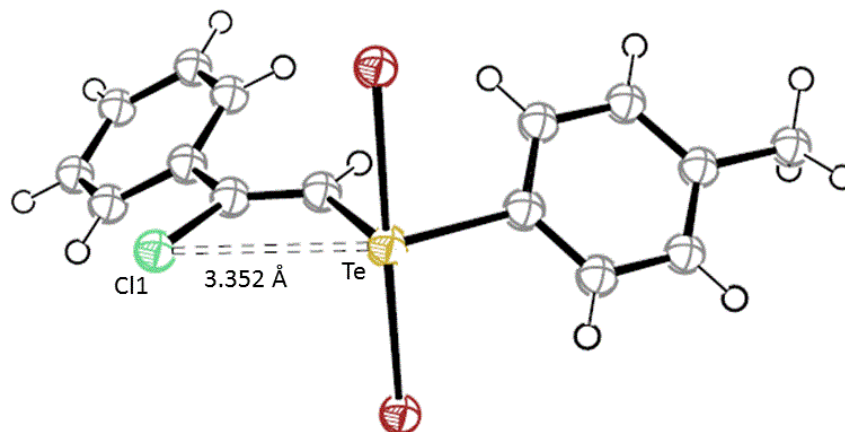


FIGURA 4.17 – Interação intramolecular Te...Cl.

A análise dos arranjos supramoleculares mostra que as moléculas no cristal se empacotam em dímeros centrossimétricos formados pela operação de simetria  $-x, 1-y, -z$ , onde o átomo de Te(IV) faz uma interação com o átomo Br2' de uma molécula vizinha a uma distância de 3,4789(9) Å (Figura 4.18):

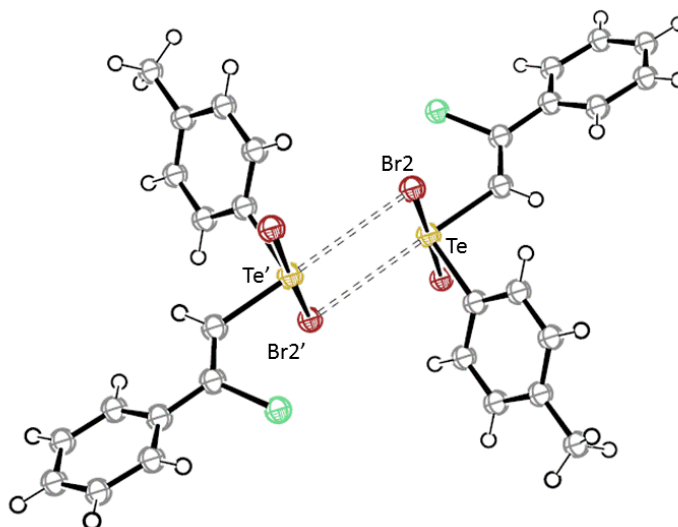


FIGURA 4.18 – Interação intermolecular do composto 2.

Novamente o poliedro de coordenação ao redor do átomo de telúrio é uma  $\Psi$ -bipirâmide de base pentagonal sendo a base formada pelos átomos C1, C9, a interação intramolecular Te...Cl1, a interação intermolecular Te...Br2' e o par de elétrons isolados. Os dois átomos de bromo encontram-se em posição axial formando os ápices da bipirâmide (Figuras 4.19 e 4.20).

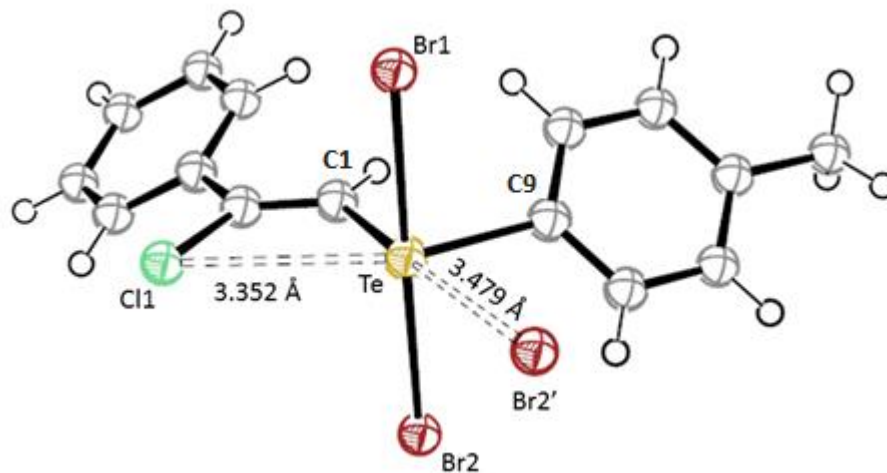


FIGURA 4.19 – Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto **2**.

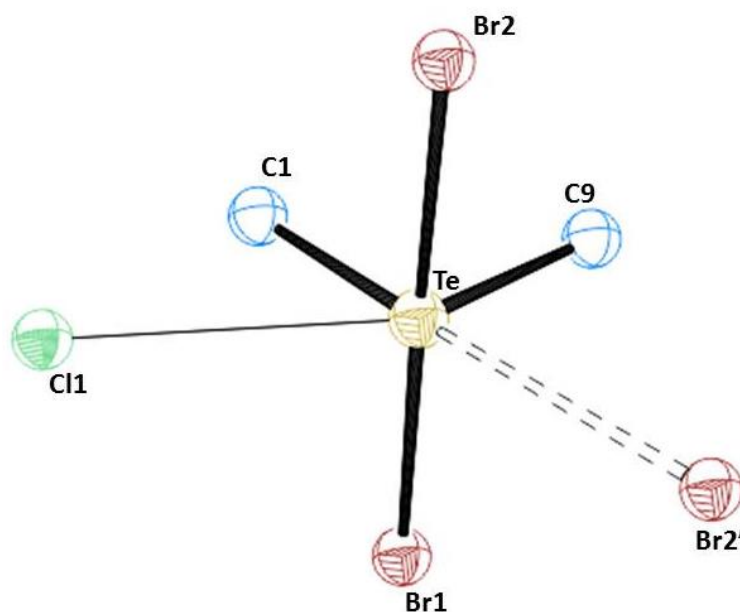


FIGURA 4.20 – Destaque para o poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto **2**.

Neste caso a saída do Br1 foi o que levou aos melhores resultados de *docking*. O valor do GOLDScore da pose escolhida foi de 43,09 kcal mol<sup>-1</sup>, posicionando o átomo de telúrio a 2,90 Å de distância do enxofre da cisteína. Das interações analisadas, destacam-se as interações do tipo C–H... $\pi$  e N–H... $\pi$  dos anéis fenila do ligante com os resíduos His199 e Gly74, respectivamente (Figura 4.21).

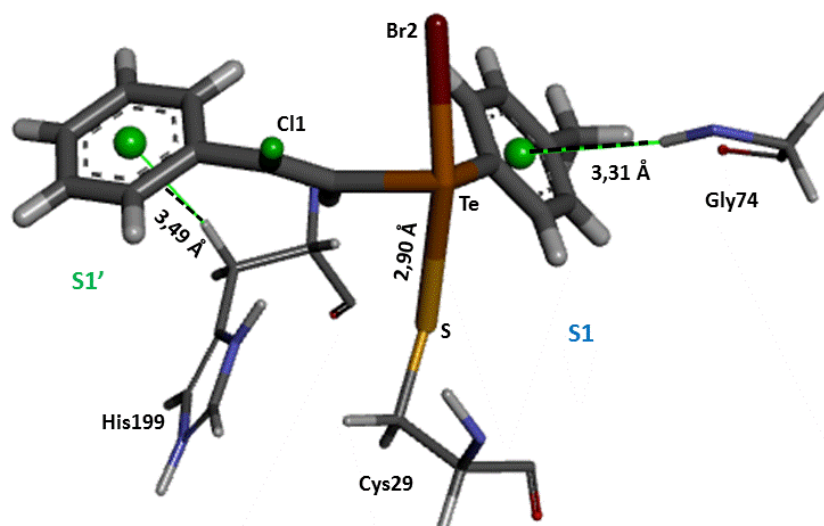


FIGURA 4.21 – Interações do composto **2** com resíduos da catepsina B.

Neste caso também foi encontrado o mesmo poliedro de coordenação ao redor do átomo de telúrio qual seja a  $\Psi$  – bipirâmide de base pentagonal, que agora é formada nos ápices pelo átomo de bromo e o enxofre da Cys29 e na base pentagonal encontram-se os carbonos ligados ao telúrio (C1 e C9), a interação Te...Cl1, a interação do telúrio com o átomo de oxigênio da Gly27 e o par de elétrons isolados (figura 4.22).

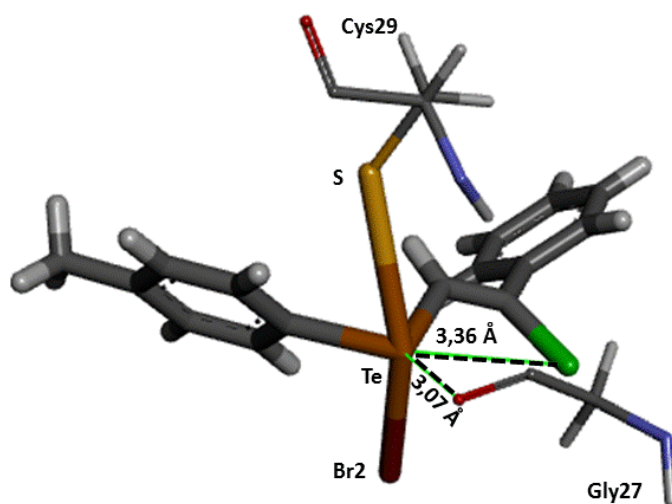


FIGURA 4.22 – Poliedro de coordenação ao redor do telúrio do composto **2** ligado à catepsina B.

### 4.3 – Composto 3: 1-{diiodo[(Z)-2-cloro-2-feniletetil]- $\lambda^4$ -tellanil}-4-metilbenzeno, (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]<sub>2</sub>

Na Figura 4.23 é apresentada a projeção da molécula do composto **3** (C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>I<sub>2</sub>ClTe) com os átomos numerados.

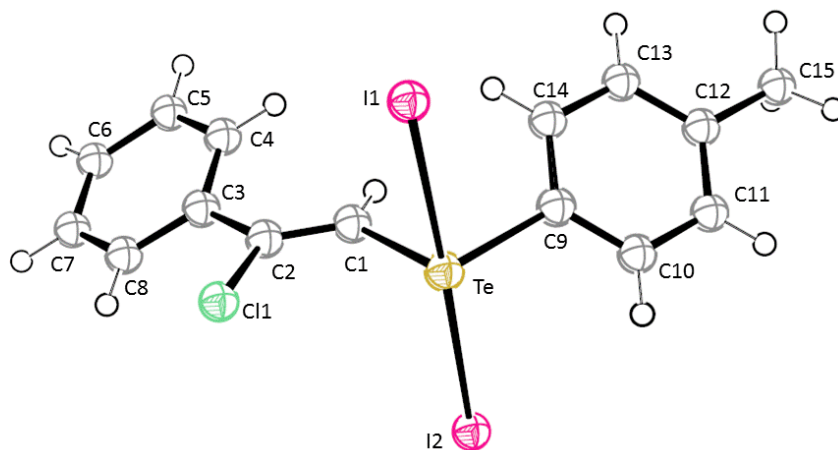


FIGURA 4.23 – Projeção do composto **3**, (ptol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]<sub>2</sub>.

Como no caso anterior, o átomo Cl1 e o átomo de telúrio encontram-se na configuração Z (Figura 4.24).

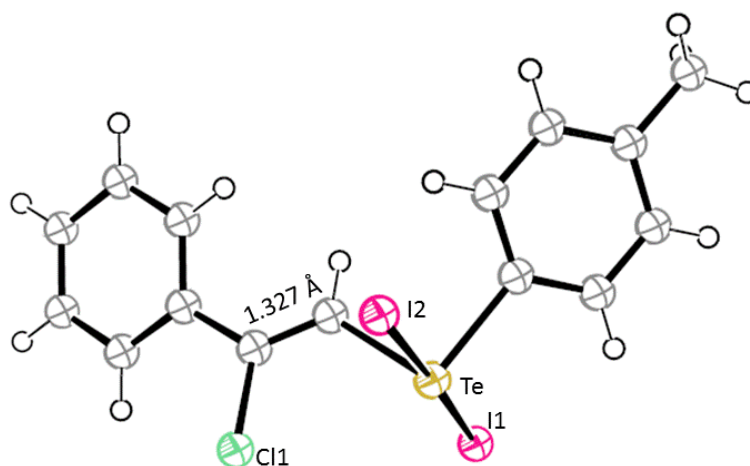


FIGURA 4.24 – Projeção do composto **3** para destacar a configuração Z entre o átomo de Te(IV) e o átomo Cl1.

Os dois átomos de iodo ligados ao telúrio possuem distâncias de ligações diferentes, sendo a distância Te–I1 = 2,8731(6) Å e a distância Te–I2 = 2,9670 (6) Å. O átomo I1 está um pouco mais próximo do C1 vinílico do que o I2, assim, os átomos de iodo também estão em ambientes quimicamente diferentes.

Como no caso do composto **2** a configuração Z faz com que a interação intramolecular do átomo de telúrio seja com o átomo Cl1 (Figura 4.25).

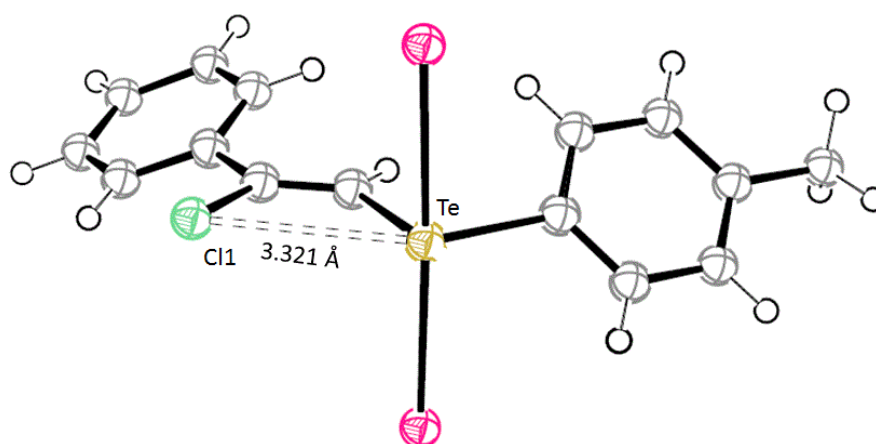


FIGURA 4.25 – Interação intramolecular Te...Cl no composto **3**.

As moléculas no cristal se arranjam em dímeros centrossimétricos relacionados pela operação de simetria -x, 1-y, 1-z, de forma que o átomo de Te(IV) faz uma interação com o átomo I2' de uma molécula vizinha a uma distância de 3,6773(10) Å (Figura 4.26).



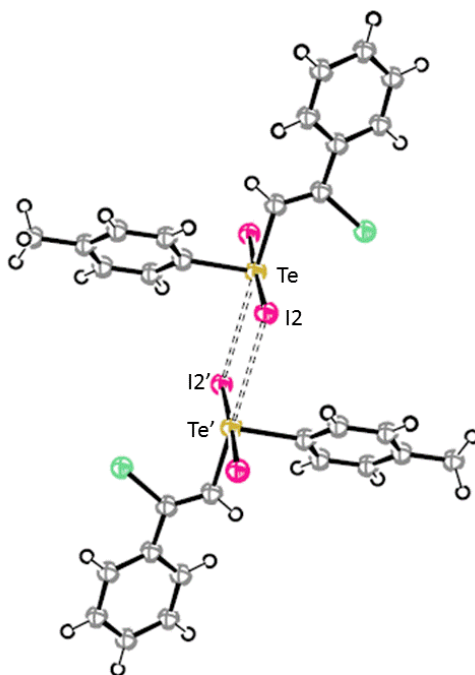


FIGURA 4.26 – Dímeros centrossimétricos do composto **3**.

A geometria ao redor do átomo de telúrio é uma  $\Psi$ -bipirâmide de base pentagonal sendo que os dois átomos de iodo encontram-se em posição axial e a base pentagonal é formada pelos átomos C1, C9, a interação intramolecular Te...Cl1, a interação intermolecular Te...I2' e o par de elétrons isolados (Figuras 4.27 e 4.28).

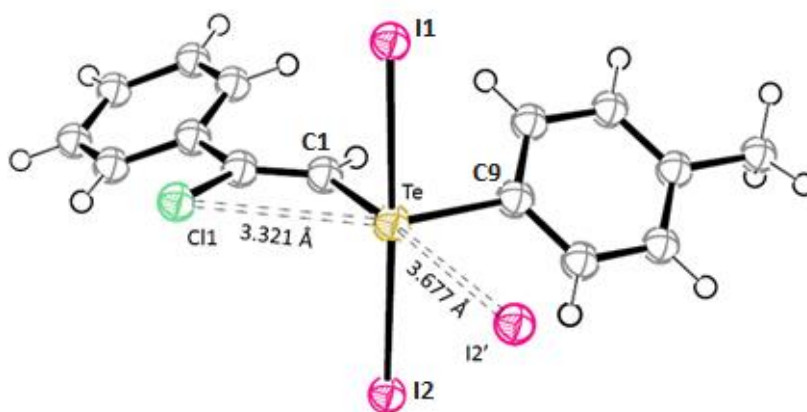


FIGURA 4.27 – Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto **3**.

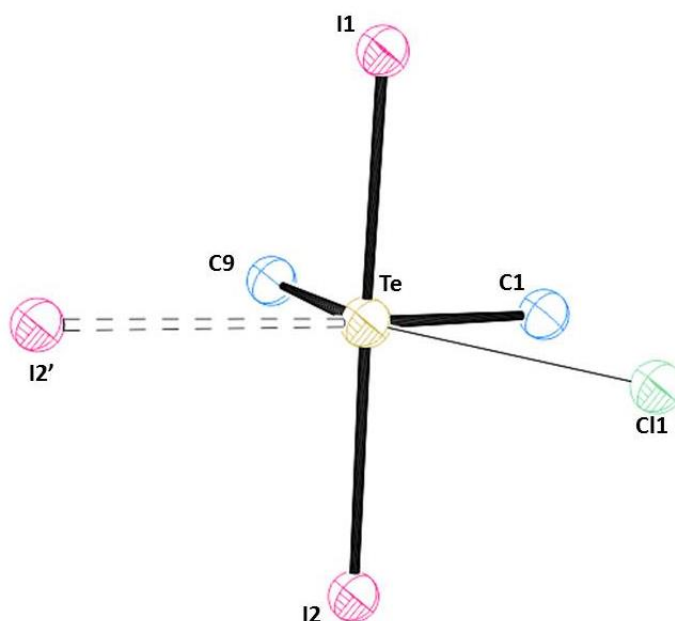


FIGURA 4.28 – Destaque para o poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto **3**.

Os cálculos de *docking* mostraram que o melhor grupo de saída é o iodo I1 sendo que a pose escolhida possui um GOLDScore de 44,97 kcal mol<sup>-1</sup>. Neste complexo o átomo de telúrio está a 2,97 Å de distância do enxofre catalítico. Algumas das interações observadas com resíduos dos diferentes subsítios, entre elas interações do tipo C–H... $\pi$  e C–H... $\pi$ , são mostradas na Figura 4.29.

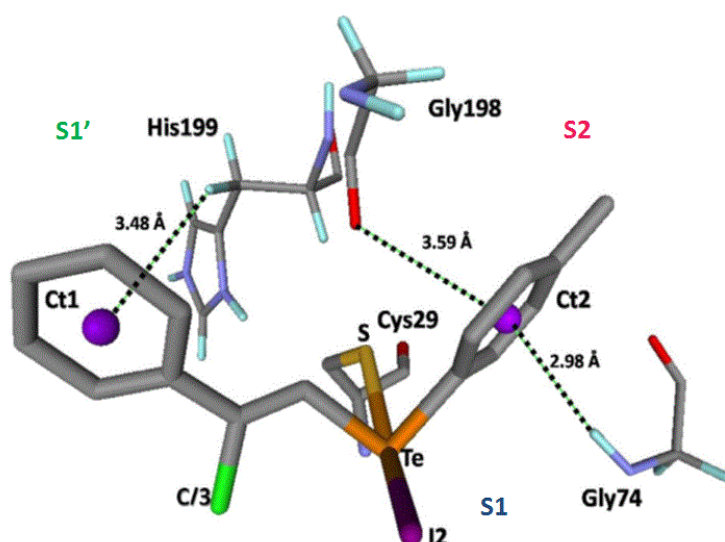


FIGURA 4.29 – Algumas interações do composto **3** com a catepsina B.

Neste caso também é observado que o poliedro de coordenação é uma  $\Psi$ -bipirâmide de base pentagonal, com a base sendo formada pelos carbonos C1 e C9, a interação Te...Cl1, a interação Te...O com oxigênio da Gly27 e o par de elétrons isolados. Os ápices da pirâmide são formados pelo iodo I2 e pelo enxofre da Cys29 (Figura 4.30).

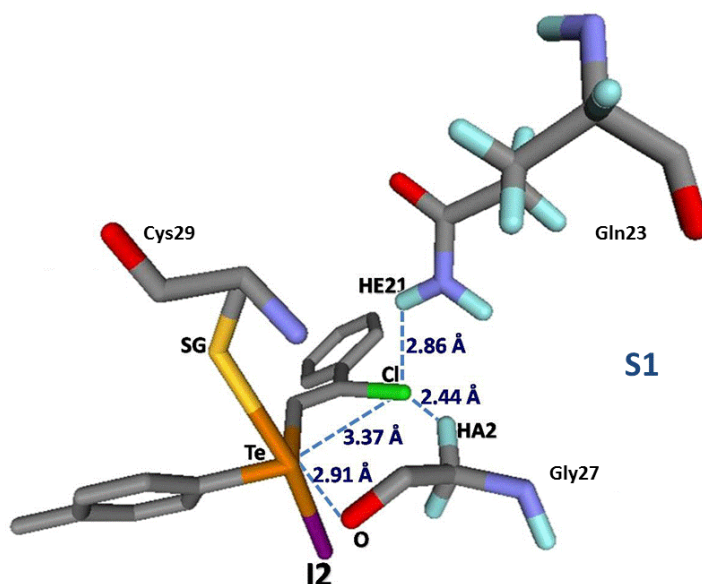


FIGURA 4.30 – Poliedro de coordenação do telúrio do composto 3 ligado à catepsina B.

#### 4.4 – *Docking* do composto: dicloro-((Z)-2-cloro-fenilvinil)-4-metoxifenil-telúrio(IV)

Com o intuito de tentar prever o poder de inibição das três moléculas estudadas, compostos (1), (2) e (3), fez-se o *docking* de uma molécula de estrutura cristalográfica conhecida, dicloro-((Z)-2-cloro-fenilvinil)-4-metoxifenil-telúrio(IV), código CSD YOWMEC (ZUKERMAN-SCHPECTOR, COMASSETO & STEFANI, 1995), e cujos dados de inibição são conhecidos (CUNHA et al, 2005). O seu modo de ligação na catepsina B foi comparado com os resultados obtidos para os compostos 1, 2 e 3.

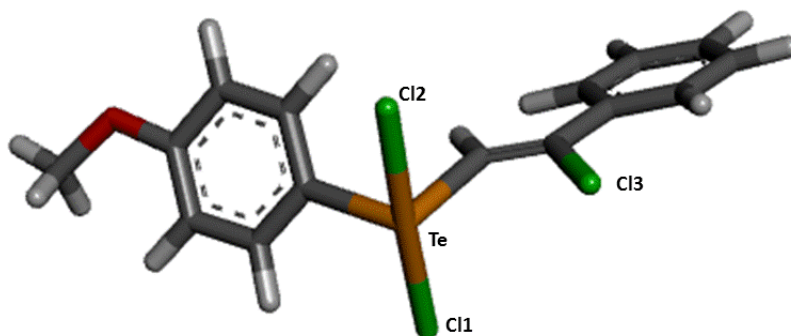


FIGURA 4.31 – Molécula YOWMEC.

O mesmo procedimento para o cálculo de *docking* foi feito para esta molécula. O melhor grupo de saída foi o átomo de cloro Cl1 sendo que o resultado escolhido possui um GOLDScore de 42,79 kcal mol<sup>-1</sup> e o átomo de telúrio está a uma distância de 2,90 Å do enxofre da Cys29. Além disso, observou-se que a molécula interage com os mesmos resíduos de aminoácidos observados para as moléculas anteriores (Figura 4.32).

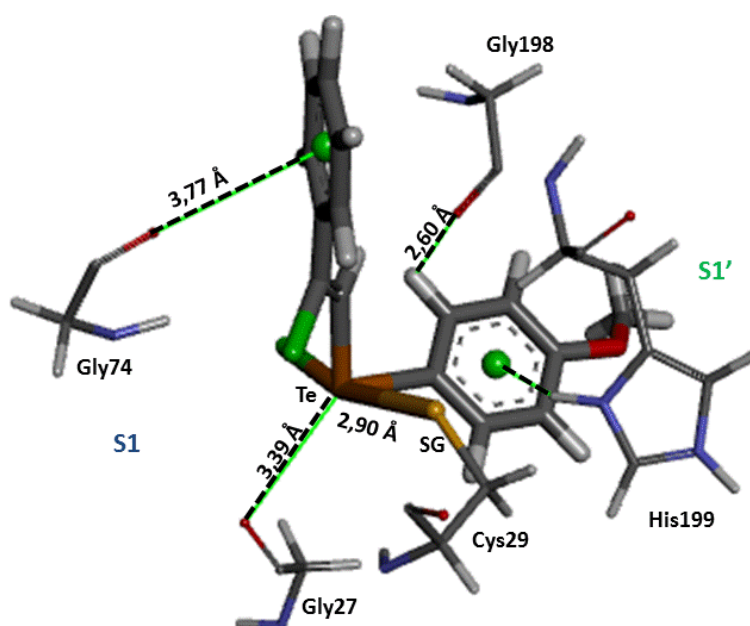


FIGURA 4.32 – Interações da molécula YOWMEC com a catepsina B.

Os resultados de *docking* mostraram que os compostos **1**, **2** e **3** se colocam em poses similares às da molécula YOWMEC, como pode ser visto na Figura 4.33.

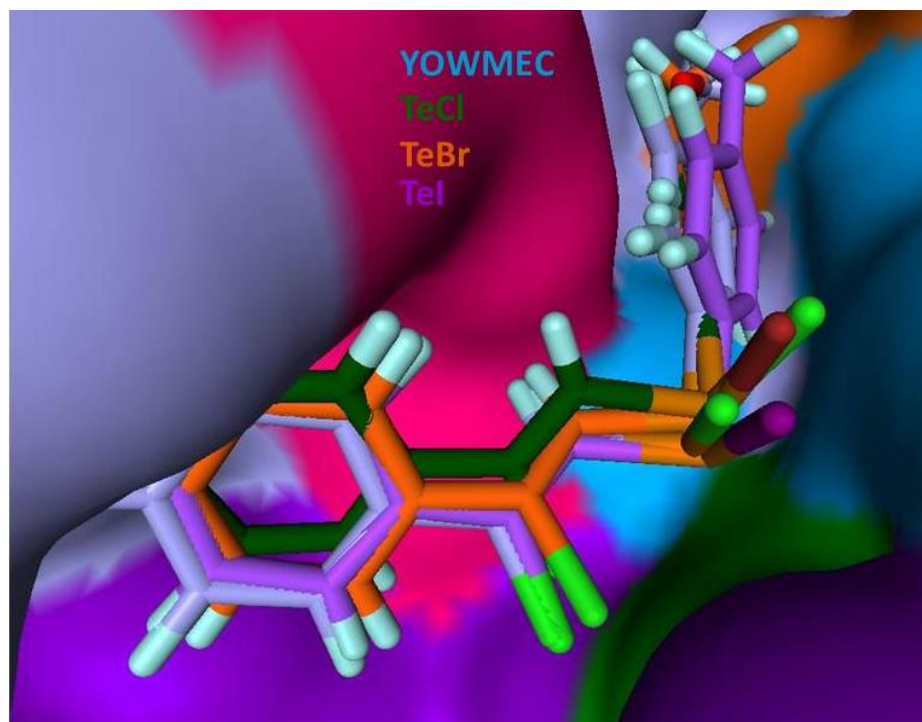


FIGURA 4.33 – Sobreposição dos resultados de *docking* dos compostos **1**, **2**, **3** e YOWMEC na catepsina B.

Estes resultados permitem prever que os compostos **1**, **2** e **3** deverão possuir um poder de inibição da mesma ordem de grandeza da molécula YOWMEC. Entre as quatro moléculas analisadas, apenas a molécula contendo bromo interage com o bolsão do oxiânion (Gln23) sendo este um diferencial desta molécula quando comparada às anteriores.

Os resultados do *docking* molecular mostram o poder deste tipo de estudo, pois permite prever o modo e daí inferir a poder de inibição de um composto partindo do conhecimento da atividade de outro com estrutura semelhante. Isto é importante já que em certos casos evitar-se-á a realização de experimentos para a determinação da atividade de compostos que a princípio não seriam interessantes.

Todos os dados apresentados neste capítulo foram publicados no Journal of the Brazilian Chemical Society (Caracelli et al., 2010).

## Apêndice

**TABELA 4.1** - Dados cristalográficos e de refinamento dos compostos **1, 2 e 3**

Composto	1	2	3
Fórmula empírica	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>3</sub> Te	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> Br <sub>2</sub> ClTe	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> ClI <sub>2</sub> Te
Peso fórmula	427,20	516,12	610,10
Sistema cristalino	Monoclínico	Triclínico	Triclínico
Grupo espacial	<i>P</i> 2 <sub>1</sub> / <i>c</i>	<i>P</i> -1	<i>P</i> -1
<i>a</i> (Å)	11,900 (2)	7,6299 (18)	8,3253 (19)
<i>b</i> (Å)	9,7334 (14)	8,6899 (19)	8,904 (2)
<i>c</i> (Å)	14,625 (2)	12,766 (3)	12,601 (3)
$\alpha$ (°)		91,785 (3)	94,514 (4)
$\beta$ (°)	112,940 (3)	93,890 (4)	93,162 (2)
$\gamma$ (°)		104,868 (5)	109,399 (4)
<i>V</i> (Å <sup>3</sup> )	1560,1 (4)	815,2 (3)	875,0 (3)
<i>D</i> <sub>c</sub> (g cm <sup>-3</sup> )	1,819	2,103	2,316
<i>Z</i>	4	2	2
$\mu$ (MoK $\alpha$ ) (mm <sup>-1</sup> )	2,404	6,874	5,367
<i>F</i> (000)	824	484	556
Dimensão do cristal (mm)	0,06 × 0,20 × 0,20	0,10 × 0,15 × 0,20	0,10 × 0,18 × 0,30
$\theta$ <sub>min</sub> , $\theta$ <sub>max</sub> (°)	2,6 a 27,5	2,8 a 27,5	2,8 a 27,5
Reflexões coletadas	6179	6240	6060
Reflexões independentes	3563	3712	3982
Reflexões observadas [ <i>I</i> > 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	3334 ( <i>R</i> <sub>int</sub> = 0,019)	3480 ( <i>R</i> <sub>int</sub> = 0,025)	3833 ( <i>R</i> <sub>int</sub> = 0,036)
Parâmetros refinados	173	173	174
GOF ( <i>F</i> <sup>2</sup> )	1,10	1,09	1,16
Índice R [ <i>I</i> ≥ 2 $\sigma$ ( <i>I</i> )]	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,027, <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,056	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,037, <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,075	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,041, <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,110
Índice R (todos os dados)	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,029, <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,058	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,034, <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,076	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0,042 <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0,111
Máximo e Mínimo $\Delta\rho$ (e Å <sup>-3</sup> )	0,86; -0,53	0,89; -0,75	1,29; -1,2

## Composto 1

**TABELA 4.2 - Coordenadas atômicas fracionárias do composto (1)**

	x	y	z
Te	0,829136 (15)	0,625049 (17)	0,465799 (12)
C11	0,74793 (7)	0,79453 (7)	0,55023 (5)
C12	0,89826 (6)	0,46346 (7)	0,36048 (5)
C13	0,51223 (6)	0,17833 (5)	0,17833 (5)
C1	0,6680 (2)	0,6434 (3)	0,33741 (19)
C2	0,6503 (2)	0,7549 (3)	0,28195 (18)
C3	0,7366 (2)	0,8703 (3)	0,29646 (18)
C4	0,8502 (3)	0,8453 (3)	0,2922 (2)
C5	0,9309 (3)	0,9534 (3)	0,3045 (2)
C6	0,8993 (3)	1,0856 (3)	0,3213 (2)
C7	0,7875 (3)	1,1101 (3)	0,3260 (2)
C8	0,7055 (3)	1,0030 (3)	0,3134 (2)
C9	0,7633 (2)	0,4550 (3)	0,52308 (19)
C10	0,6659 (2)	0,4744 (3)	0,55168 (19)
C11	0,6182 (3)	0,3620 (3)	0,5827 (2)
C12	0,6648 (2)	0,2298 (3)	0,58573 (19)
C13	0,7634 (2)	0,2139 (3)	0,5576 (2)
C14	0,8136 (2)	0,3250 (3)	0,5272 (2)
C15	0,6103 (3)	0,1099 (3)	0,6189 (2)

**TABELA 4.3 - Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto (1)**

Te-C (1)		2,104 (3)	
Te-C (9)		2,137 (3)	
Te-Cl (1)		2,4719 (7)	
Te-Cl (2)		2,5516 (7)	
Cl (3)-C (2)		1,757 (3)	
C (1)-C (2)		1,322 (4)	
C (2)-C (3)		1,480 (4)	
C (3)-C (8)		1,393 (4)	
C (3)-C (4)		1,398 (4)	
C (4)-C (5)		1,388 (4)	
C (5)-C (6)		1,389 (4)	
C (6)-C (7)		1,380 (5)	
C (7)-C (8)		1,390 (4)	
C (9)-C (10)		1,390 (4)	
C (9)-C (14)		1,390 (4)	
C (10)-C (11)		1,388 (4)	
C (11)-C (12)		1,395 (4)	
C (12)-C (13)		1,395 (4)	
C (12)-C (15)		1,504 (4)	
C (13)-C (14)		1,390 (4)	
C (1)-Te-C (9)	93,99 (10)	C (1)-C (2)-C (3)	126,8 (2)
C (1)-Te-Cl (1)	89,51 (7)	C (1)-C (2)-Cl (3)	118,9 (2)
C (9)-Te-Cl (1)	92,67 (7)	C (3)-C (2)-Cl (3)	114,33 (19)
C (1)-Te-Cl (2)	84,82 (7)	C (8)-C (3)-C (4)	119,9 (3)

C (9) -Te-Cl (2)	90,74 (7)	C (8) -C (3) -C (2)	120,8 (2)
Cl (1) -Te-Cl (2)	173,57 (2)	C (4) -C (3) -C (2)	119,4 (2)
C (2) -C (1) -Te	119,3 (2)	C (5) -C (4) -C (3)	119,7 (3)
C (4) -C (5) -C (6)	120,3 (3)	C (10) -C (9) -C (14)	120,4 (2)
C (7) -C (6) -C (5)	120,1 (3)	C (10) -C (9) -Te	119,25 (19)
C (6) -C (7) -C (8)	120,3 (3)	C (14) -C (9) -Te	120,29 (19)
C (7) -C (8) -C (3)	119,8 (3)	C (11) -C (10) -C (9)	119,1 (3)
C (10) -C (11) -C (12)	122,0 (3)	C (13) -C (14) -C (9)	119,4 (2)
C (11) -C (12) -C (13)	117,6 (2)	C (13) -C (12) -C (15)	121,8 (3)
C (11) -C (12) -C (15)	120,6 (2)	C (14) -C (13) -C (12)	121,5 (3)

**TABELA 4.4 - Coordenadas fracionárias dos átomos de hidrogênio do composto (1)**

	x	y	z
H1	0,60860	0,57230	0,31950
H2	0,87190	0,75490	0,28090
H3	1,00800	0,93680	0,30150
H4	0,95480	1,15930	0,32960
H5	0,76640	1,20060	0,33790
H6	0,62840	1,02030	0,31630
H7	0,63240	0,56340	0,55000
H8	0,55190	0,37550	0,60250
H9	0,79710	0,12490	0,55930
H10	0,88160	0,31240	0,50950
H11	0,63200	0,02430	0,59450
H12	0,52130	0,11950	0,59240
H13	0,64220	0,10790	0,69160

**TABELA 4.5 - Interações do composto 1 em catepsina B**

GOLDScore: 45,55 kcal mol <sup>-1</sup> ΔGligação: -7,16 kcal mol <sup>-1</sup>					
Subsítio	Composto 1-catepsina	distância (Å)	átomo ligante	átomo receptor	ângulo (°)
<b>S2'</b>	C13 - GLN23:N-HE21	2,66	<b>C13</b>	HE21	159
<b>S1'</b>	Te1 - GLY27:O	3,43	Te1	O	
	C13 - GLY27:C-HA2	2,91	<b>C13</b>	HA2	129
	C7-H7 - MET196:O	2,56	H7	O	120
	C7-H7 - GLY197:O	2,74	H7	O	131
	C8-H8 - MET196:O	3,37	H8	O	115
	C8-H8 - GLY197:O	3,26	H8	O	110
<b>S1</b>	Te1 - CYS29:SG	3,21	Te1	SG	
	C12 - ASN72:O	3,22	C12	O	
	C12 - GLY73:C-HA1	2,40	C12	HA1	121
	Ct:C13-C14-GLY74:O	3,35	H11	O	
	C13 - HIS199:N-HD1	2,87	C13	HD1	150
	C-H1 - GLY198:O	2,16	H1	O	174
	H8 - GLY198:O	2,95	H8	O	



	C-H13 - GLY198:O	3,20	H13	O	137
	C-H14 - GLY198:O	2,44	H14	O	115

## Composto 2

**TABELA 4.6 - Coordenadas atômicas fracionárias do composto (2)**

	x	y	z
Te1	0,06880 (3)	0,50541 (2)	0,173558 (16)
Br1	-0,08091 (5)	0,62996 (4)	0,32401 (3)
Br2	0,21812 (5)	0,38033 (4)	0,01467 (3)
Cl1	-0,00304 (12)	0,17189 (11)	0,30729 (8)
C1	0,2495 (5)	0,4406 (4)	0,2844 (3)
C2	0,2106 (4)	0,3056 (4)	0,3349 (3)
C3	0,3332 (5)	0,2600 (4)	0,4151 (3)
C4	0,5212 (5)	0,3232 (4)	0,4134 (3)
C5	0,6390 (5)	0,2873 (5)	0,4907 (3)
C6	0,5701 (6)	0,1901 (4)	0,5701 (3)
C7	0,3857 (6)	0,1277 (4)	0,5729 (3)
C8	0,2659 (5)	0,1610 (4)	0,4955 (3)
C9	0,2517 (4)	0,7304 (4)	0,1547 (3)
C10	0,1840 (5)	0,8647 (4)	0,1525 (3)
C11	0,3047 (5)	1,0136 (4)	0,1435 (3)
C12	0,4899 (5)	1,0292 (4)	0,1362 (2)
C13	0,5525 (4)	0,8915 (4)	0,1372 (3)
C14	0,4352 (5)	0,7428 (4)	0,1462 (3)
C15	0,6187 (5)	1,1912 (4)	0,1285 (3)

**TABELA 4.7 - Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto (2)**

Te-C (1)	2,098 (3)
Te-C (9)	2,122 (3)
Te-Br (1)	2,6397 (5)
Te-Br (2)	2,7213 (5)
Cl (1)-C (2)	1,748 (3)
C (1)-C (2)	1,332 (5)
C (2)-C (3)	1,472 (5)
C (3)-C (8)	1,399 (5)
C (3)-C (4)	1,400 (5)
C (4)-C (5)	1,386 (5)
C (5)-C (6)	1,384 (5)
C (6)-C (7)	1,375 (6)
C (7)-C (8)	1,389 (5)
C (9)-C (14)	1,389 (5)
C (9)-C (10)	1,392 (4)
C (10)-C (11)	1,396 (5)
C (11)-C (12)	1,394 (5)

	C (12) -C (13)		1,398 (5)
	C (12) -C (15)		1,506 (4)
	C (13) -C (14)		1,383 (5)
C (1) -Te-C (9)	92,69 (13)	C (6) -C (5) -C (4)	119,8 (4)
C (1) -Te-Br (1)	91,03 (10)	C (7) -C (6) -C (5)	120,7 (4)
C (9) -Te-Br (1)	90,65 (9)	C (6) -C (7) -C (8)	120,3 (3)
C (1) -Te-Br (2)	90,45 (10)	C (7) -C (8) -C (3)	119,7 (3)
C (9) -Te-Br (2)	89,04 (9)	C (14) -C (9) -C (10)	121,0 (3)
Br (1) -Te-Br (2)	178,505 (13)	C (14) -C (9) -Te	120,4 (2)
C (2) -C (1) -Te	124,1 (3)	C (10) -C (9) -Te	118,6 (2)
C (1) -C (2) -C (3)	125,0 (3)	C (9) -C (10) -C (11)	118,8 (3)
C (1) -C (2) -C (11)	118,6 (3)	C (12) -C (11) -C (10)	121,2 (3)
C (3) -C (2) -C (11)	116,4 (2)	C (11) -C (12) -C (13)	118,4 (3)
C (8) -C (3) -C (4)	119,4 (3)	C (11) -C (12) -C (15)	120,5 (3)
C (8) -C (3) -C (2)	121,5 (3)	C (13) -C (12) -C (15)	121,1 (3)
C (4) -C (3) -C (2)	119,0 (3)	C (14) -C (13) -C (12)	121,4 (3)
C (5) -C (4) -C (3)	120,1 (3)	C (13) -C (14) -C (9)	119,2 (3)

**TABELA 4.8 - Coordenadas fracionárias dos átomos de hidrogênio do composto (2)**

	x	y	z
H1	0,36640	0,51200	0,29940
H2	0,56800	0,39080	0,35920
H3	0,76660	0,32930	0,48910
H4	0,65110	0,16620	0,62330
H5	0,34020	0,06150	0,62800
H6	0,13860	0,11670	0,49710
H7	0,05800	0,85510	0,15700
H8	0,25990	1,10590	0,14230
H9	0,67810	0,90030	0,13170
H10	0,47970	0,65020	0,14650
H11	0,66240	1,23810	0,19930
H12	0,55530	1,26040	0,09100
H13	0,72230	1,18060	0,09010

**TABELA 4.9 - Interações composto 2 em catepsina B**GOLDScore: 43,09 kcal mol<sup>-1</sup> ΔGligação: -6,90 kcal mol<sup>-1</sup>

Subsítio	Composto 2-catepsina	distância (Å)	átomo ligante	átomo receptor	ângulo (°)
<b>S2'</b>	C13 - GLN23:N-HE21	3,39	<b>C13</b>	HE21	128
	C13 - GLU122:OE2	3,45	<b>C13</b>	OE2	
<b>S1'</b>	Te1 - GLY27:O	3,43	Te1	O	112
	C11 - GLY27:C-HA1	2,91	<b>C13</b>	HA1	
	C-H5 - MET196:O	3,01	H5	O	
	C-H5 - GLY197:O	2,58	H5	O	
<b>S1</b>	Te1 - CYS29:SG	2,90	Te1	SG	121
	Br2 - ASN72:O	3,43	Br2	O	
	Br2 - GLY73:C-HA1	2,69	Br2	HA1	
	Br2 - GLY73:C-HA2	3,15	Br2	HA2	
	H13-GLY74:O	3,32	H13	O	
<b>S2</b>	C-H1 - GLY198:O	2,22	H1	O	174
	H8 - GLY198:O	2,66	H4	O	
	C-H13 - GLY198:O	2,35	H10	O	
	C-H14 - GLY198:O	3,19	H11	O	

**Composto 3****TABELA 4.10 - Coordenadas atômicas fracionárias do composto (3)**

	x	y	z
I1	-0,05112 (4)	0,64590 (4)	0,35527 (3)
I2	0,21157 (4)	0,36845 (4)	-0,00214 (2)
Te1	0,08367 (3)	0,51581 (3)	0,17923 (2)
C11	0,00100 (16)	0,16764 (15)	0,28094 (12)
C1	0,2460 (6)	0,4501 (6)	0,2859 (4)
C2	0,2023 (6)	0,3076 (6)	0,3227 (4)
C3	0,3120 (6)	0,2570 (5)	0,3990 (4)
C4	0,4884 (7)	0,3307 (6)	0,4051 (4)
C5	0,5933 (7)	0,2925 (6)	0,4812 (4)
C6	0,5182 (7)	0,1806 (6)	0,5524 (4)
C7	0,3460 (8)	0,1079 (6)	0,5458 (4)
C8	0,2400 (7)	0,1431 (6)	0,4689 (4)
C9	0,2687 (6)	0,7428 (5)	0,1642 (4)
C10	0,2154 (6)	0,8750 (5)	0,1632 (4)
C11	0,3346 (6)	1,0253 (5)	0,1515 (4)
C12	0,5059 (6)	1,0433 (5)	0,1427 (4)
C13	0,5566 (6)	0,9092 (6)	0,1438 (4)
C14	0,4392 (6)	0,7581 (5)	0,1547 (4)
C15	0,6327 (7)	1,2052 (6)	0,1311 (4)

**TABELA 4.11 - Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto (3)**

I (1) -Te		2,8731 (6)	
I (2) -Te		2,9670 (6)	
Te-C(1)		2,103 (5)	
Te-C(9)		2,125 (4)	
C1(1) -C (2)		1,747 (5)	
C (1) -C (2)		1,328 (7)	
C (2) -C (3)		1,485 (7)	
C (3) -C (4)		1,390 (7)	
C (3) -C (8)		1,399 (7)	
C (4) -C (5)		1,398 (7)	
C (5) -C (6)		1,406 (7)	
C (6) -C (7)		1,357 (8)	
C (7) -C (8)		1,398 (8)	
C (9) -C (10)		1,390 (7)	
C (9) -C (14)		1,393 (6)	
C (10) -C (11)		1,401 (6)	
C (11) -C (12)		1,393 (7)	
C (12) -C (13)		1,392 (7)	
C (12) -C (15)		1,501 (6)	
C (13) -C (14)		1,398 (6)	
C (1) -Te-C (9)	93,67 (18)	C (4) -C (5) -C (6)	119,3 (5)
C (1) -Te-I (1)	90,51 (13)	C (7) -C (6) -C (5)	120,4 (5)
C (9) -Te-I (1)	91,73 (12)	C (6) -C (7) -C (8)	120,9 (5)
C (1) -Te-I (2)	89,49 (13)	C (7) -C (8) -C (3)	119,6 (5)
C (9) -Te-I (2)	90,65 (12)	C (10) -C (9) -C (14)	120,9 (4)
I (1) -Te-I (2)	177,618 (12)	C (10) -C (9) -Te	118,5 (3)
C (2) -C (1) -Te	123,0 (4)	C (14) -C (9) -Te	120,6 (3)
C (1) -C (2) -C (3)	124,8 (4)	C (9) -C (10) -C (11)	119,5 (4)
C (1) -C (2) -C (11)	118,7 (4)	C (12) -C (11) -C (10)	120,5 (4)
C (3) -C (2) -C (11)	116,5 (3)	C (13) -C (12) -C (11)	119,1 (4)
C (4) -C (3) -C (8)	119,6 (5)	C (13) -C (12) -C (15)	120,9 (5)
C (4) -C (3) -C (2)	119,3 (4)	C (11) -C (12) -C (15)	120,0 (4)
C (8) -C (3) -C (2)	120,9 (4)	C (12) -C (13) -C14	121,2 (4)
C (3) -C (4) -C (5)	120,2 (5)	C (9) -C (14) -C (13)	118,9 (4)

**TABELA 4.12 - Coordenadas fracionárias dos átomos de hidrogênio do composto (3)**

	x	y	z
H1	0,35560	0,52590	0,30880
H2	0,53790	0,40730	0,35730
H3	0,71390	0,34150	0,48480
H4	0,58830	0,15580	0,60550
H5	0,29690	0,03200	0,59410
H6	0,11980	0,09000	0,46400
H7	0,09910	0,86360	0,17050
H8	0,29830	1,11570	0,14950
H9	0,67300	0,92070	0,13700
H10	0,47510	0,66740	0,15550

H11	0,57460	1,26960	0,09590
H12	0,72280	1,19280	0,08790
H13	0,68360	1,25880	0,20190

**TABELA 4.13 - Interações composto 3 em catepsina B**

GOLDScore: 44,97 kcal mol<sup>-1</sup> ΔGligação: -7,10 kcal mol<sup>-1</sup>

Subsítio	Composto 3-catepsina	distância (Å)	átomo ligante	átomo receptor	ângulo (°)
<b>S2'</b>	I2-GLU122:OE2	3,32	<b>I2</b>	OE2	133
	C13 - GLN23:N-HE21	2,86	<b>C13</b>	HE21	
<b>S1'</b>	Te1 - GLY27:O	2,91	Te1	O	110
	C13 - GLY27:C-HA2	2,44	<b>C13</b>	HA2	113
	C5-H5- MET196:O	3,10	H5	O	117
	C5-H5- GLY197:O	2,32	H5	O	
<b>S1</b>	Te1 - CYS29:SG	2,97	Te1	SG	
	I2 - ASN72:O	3,18	I2	O	
	I2 - GLY73:C-HA1	3,13	I2	HA1	143
	Ct - HIS199:ND-HD1	3,82	Ct	HD1	128
<b>S2</b>	H1 - GLY198:O	2,48	H1	O	127
	H8 - GLY198:O	2,52	H8	O	123

## Composto YOWMEC

**TABELA 4.14 - Interações YOWMEC**

GOLDScore: 42,79 kcal mol<sup>-1</sup> ΔGligação: -6,87 kcal mol<sup>-1</sup>

Subsítio	YOWMEC - catepsina	distância (Å)	átomo ligante	átomo receptor	ângulo (°)
<b>S2'</b>	C13 - GLN23:N-HE21	2,93	<b>C13</b>	HE21	147
<b>S1'</b>	Te1 - GLY27:O	3,21	Te1	O	
	C13 - GLY27:C-HA1	2,56	<b>C13</b>	HA1	149
	C5-H5- MET196:O	2,98	H5	O	135
	C5-H5- GLY197:N	2,79	H5	N	172
	C6-H6- GLY197:O	3,41	H6	O	147
<b>S1</b>	Te1 - CYS29:SG	2,90	Te1	SG	
	C13 - GLY74:N-H	2,79	C13	O	149
	H12 - GLY74:O	2,90	I2	HA1	122
<b>S2</b>	H1 - GLY198:O	2,41	H1	O	121
	H7 - GLY198:O	2,33	H7	O	115
	H8 - GLY198:N	3,42	H8	N	120

## Capítulo 5 – Resolução da estrutura, análise do arranjo supramolecular e poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) do Composto 4: butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-en-1-il) $\lambda^4$ -telano, e *docking* em catepsina B

O composto **4** (Figura 5.1) foi sintetizado e cristalizado pelo grupo de pesquisa do prof. Hélio Stefani da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP-SP. A estrutura foi determinada por difração de raio X e realizado o cálculo de *docking* de acordo com o procedimento descrito no Capítulo 2.

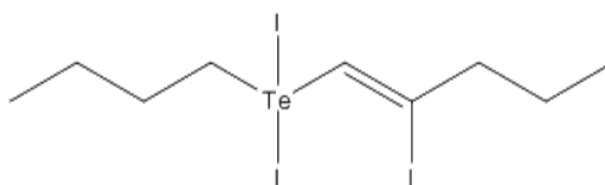


FIGURA 5.1 – Composto **4**: butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-en-1-il)  $\lambda^4$ -telano.

Neste capítulo serão apresentados os dados cristalográficos, arranjo supramolecular, poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) e, finalmente, estudos de *docking* em catepsina B.

Os dados cristalográficos e de refinamento do composto **4**, as coordenadas atômicas, distâncias e ângulos de ligação, fatores de deslocamentos atômicos anisotrópicos e coordenadas dos átomos de hidrogênio se encontram no apêndice ao final deste capítulo juntamente com a tabela de interações da molécula com a catepsina B.

## 5.1 – Estrutura cristalográfica e análise supramolecular

A Figura 5.2 apresenta a projeção da estrutura do Composto 4 ( $C_9H_{17}I_3Te$ ).

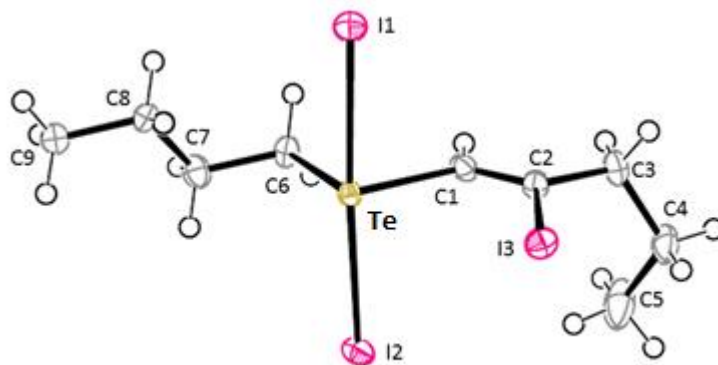


FIGURA 5.2 – Projeção Composto 4.

Há uma ligação dupla entre os carbonos C1 e C2, sendo a distância igual a 1,325(8) Å, e o iodo I3 encontra-se em configuração Z em relação ao átomo de telúrio (Figura 5.3).

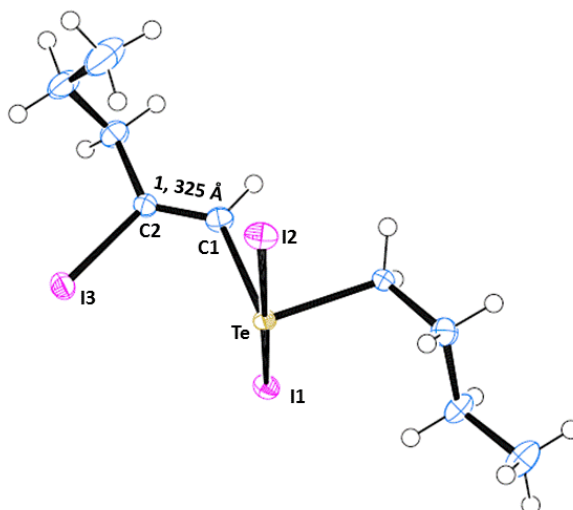


FIGURA 5.3 – Projeção para destacar a configuração Z do composto 4.

A análise das distâncias entre os átomos nos mostra que o iodo I1 está um pouco mais próximo do telúrio ( $Te-I1 = 2,9083(13)$  Å) do que o iodo I2 ( $Te-I2 =$



2,9333(13) Å). Observa-se também que as distâncias dos dois átomos de carbono ligados ao telúrio são diferentes: o telúrio encontra-se mais próximo ao carbono vinílico (Te–C1 = 2,106(5) Å) do que ao carbono C6 (Te–C6 = 2,164(5) Å). Essa diferença deve-se ao fato do grupo vinílico ser mais rico em elétrons atraindo assim o átomo de telúrio.

Devido à configuração Z do iodo I3 em relação ao átomo de telúrio, há uma interação intramolecular Te...I3 (Figura 5.4).

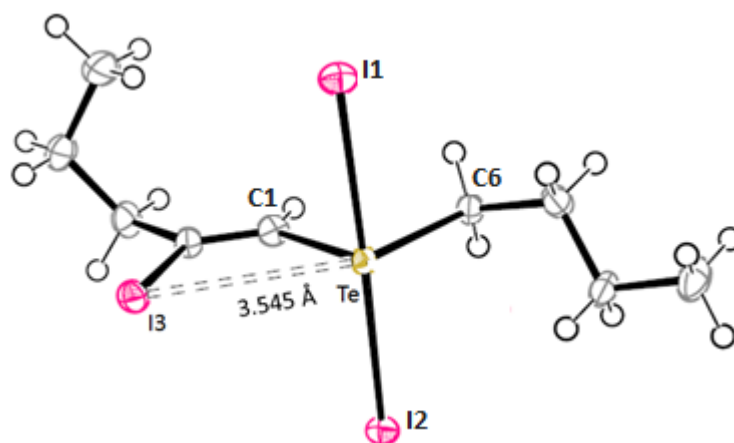


FIGURA 5.4 – Poliedro primário ao redor do Te(IV) com destaque para interação intramolecular com o I3.

A análise do empacotamento cristalino mostra (Figura 5.5) que as moléculas estão arranjadas formando dímeros centrossimétricos (operação de simetria:  $-x, 1-y, 1-z$ ) sustentados por uma interação secundária entre o átomo de telúrio e um átomo de iodo da molécula centrossimétrica (Te...I2' = 3,844(4) Å).

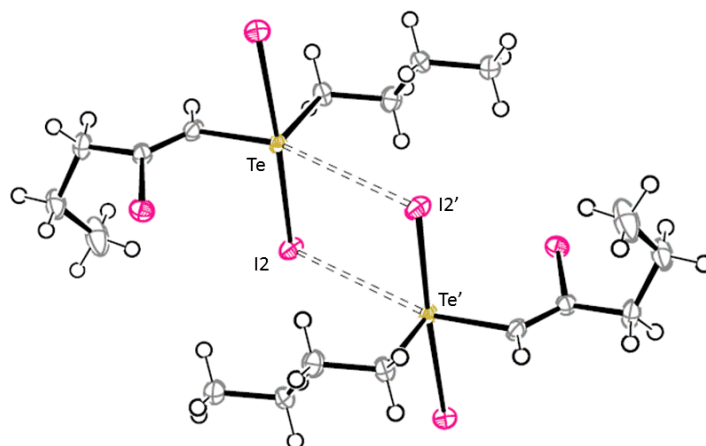


FIGURA 5.5 – Dímeros centrossimétricos no Composto 4.

Se levarmos em consideração esta interação intermolecular então o poliedro de coordenação ao redor do Te(IV) é uma  $\psi$  – bipirâmide de base pentagonal, na qual a base é formada pelos átomos C1, C6, I3, I2' e o par de elétrons isolados do telúrio (Figura 5.6).

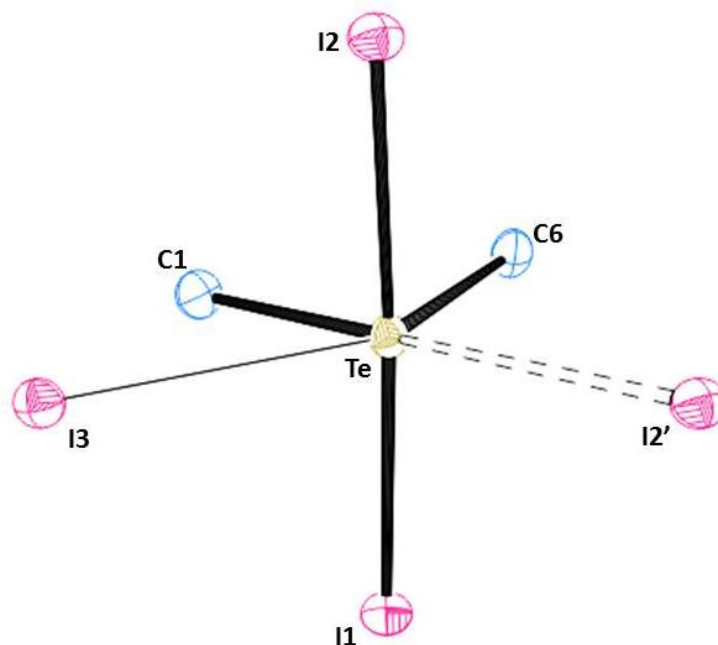


FIGURA 5.6 – Poliedro de coordenação no Composto 4.

## 5.2 – Cálculos de *docking*

O interesse na realização de cálculos de *docking* deste composto em catepsina B, apesar de não haver dados de inibição, foi pelo fato deste possuir

tamanho similar (ca 10 Å de comprimento) aos compostos estudados no Capítulo 4 (compostos **1**, **2** e **3**). A diferença entre estes compostos reside no grupo orgânico ligado ao átomo de telúrio. No composto **4** os grupos orgânicos são cadeias alifáticas, e, nos compostos **1**, **2** e **3**, são grupos aromáticos. Os resultados destes cálculos poderão dar uma orientação sobre as diferenças, ou não, entre esses dois tipos de grupos de forma a poder traçar uma linha de desenvolvimento de novos compostos.

O planejamento e o cálculo de *docking* foram feitos como descritos no Capítulo 2.

O melhor grupo de saída foi o átomo I1 aproximando o átomo de telúrio 2,91Å do enxofre da cisteína. O complexo formado teve  $-43.31\text{kcal.mol}^{-1}$  de GOLDScore, valor comparável aos apresentados no capítulo anterior para as moléculas com grupos aromáticos.

A análise das interações do telúrio mostra que o poliedro de coordenação é uma  $\psi$ -bipirâmide de base pentagonal (Figura 5.6), mesma geometria encontrada no cristal. Porém, neste caso a base do poliedro está formada pelos átomos C1, C6, I3, o oxigênio da Gly27 e o par de elétrons isolados do telúrio, o enxofre da Cys29 e o iodo I2 estão em posições apicais.

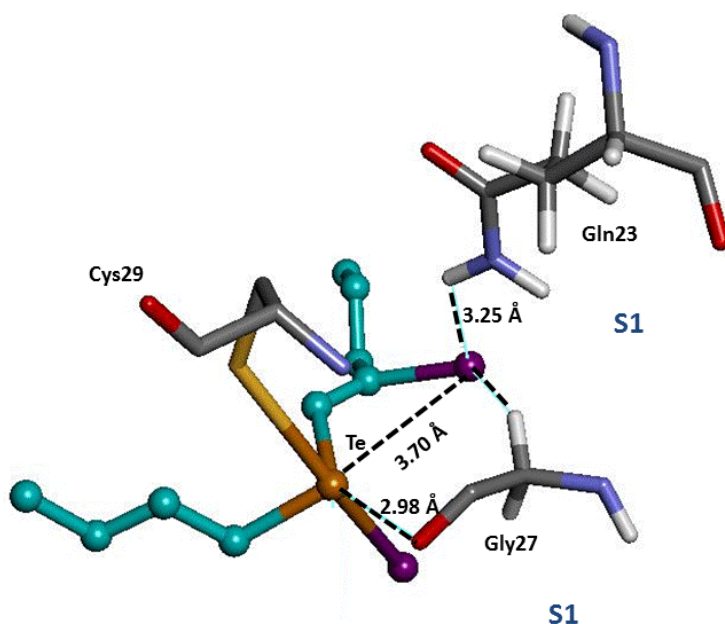


FIGURA 5.7 – A coordenação ao redor do telúrio do Composto **4** na catepsina B.

A análise das interações mostrou que o composto interage com os mesmos resíduos de aminoácidos, nos mesmos subsítios, que os compostos com grupos aromáticos (Figura 5.8).

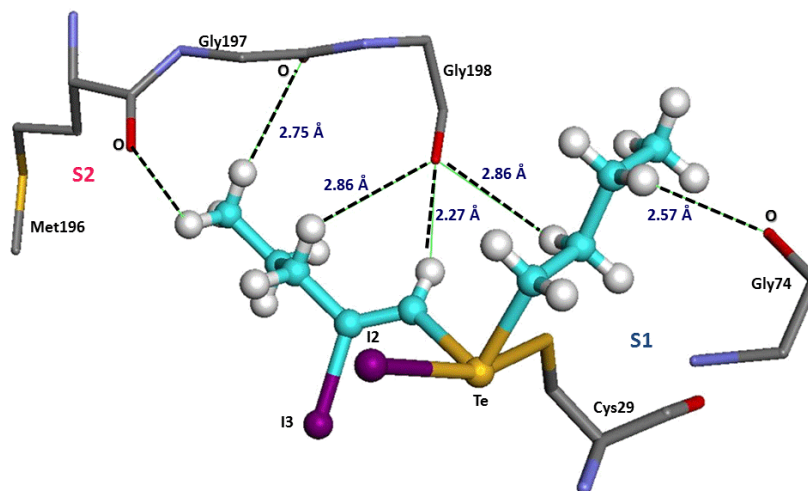


FIGURA 5.8 – Interações do Composto 4 com a catepsina B.

As Figuras 5.9 e 5.10 mostram a sobreposição das poses dos compostos 3 e 4 na catepsina B. Pode ser visto que as moléculas ocupam os mesmos subsítios, inclusive os de especificidade, S1' e S2'.

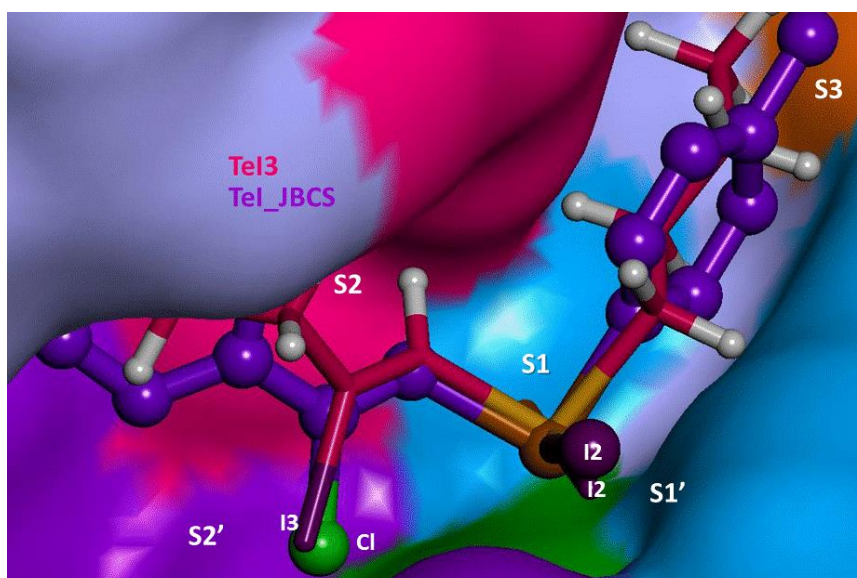


FIGURA 5.9 – Sobreposição das poses dos compostos 3 e 4.

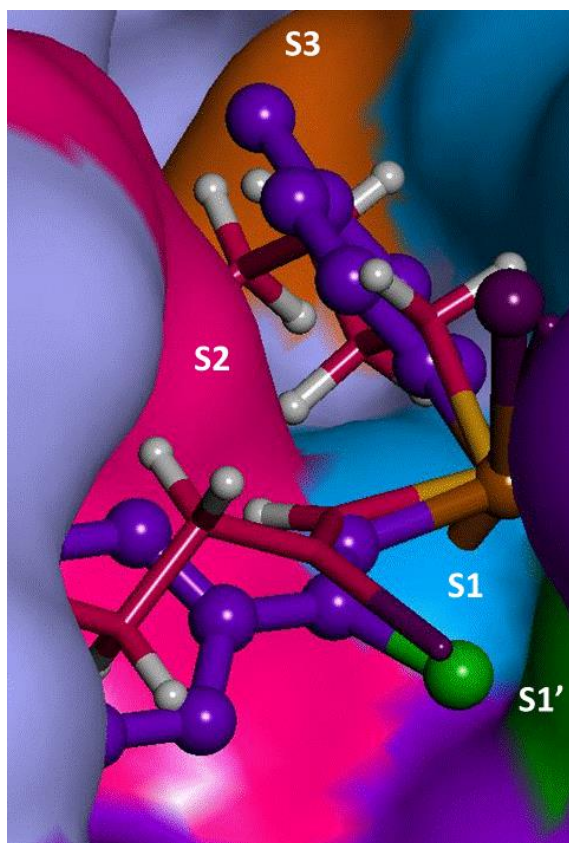


Figura 5.10 – Poses dos compostos **3** e **4** na cavidade catalítica da catepsina B.

Com base na análise dos resultados de *docking* é possível prever que o composto **4**, alifático, deverá apresentar uma capacidade de inibição da catepsina B similar ao do composto YOWMEC. Ou seja, neste caso a substituição de um grupo aromático por um grupo alifático não deverá trazer vantagens no que se refere a inibição da catepsina B.

Na Tabela 5.5, Ao final do apêndice, são apresentadas as interações do composto **4** a catepsina B.

## Apêndice

**TABELA 5.1 - Dados cristalográficos e de refinamento do composto 4 butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-em-1-il) λ<sup>4</sup>-telano**

Fórmula Empírica	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> I <sub>3</sub> Te
Peso Fórmula	633,53
Sistema Cristalino	Triclinico
a	6,599(3) Å
b	10,917(5) Å
c	11,451(6) Å
α	86,54(3) °
β	83,28(3) °
γ	81,13(3) °
Volume A <sup>3</sup> )	808,7(7)
Dc(g cm <sup>-3</sup> )	2,602
Z	2
M (Mo Kα) (mm <sup>-1</sup> )	7,534
F(000)	564
Dimensão do cristal	0,2 x 0,2 x 0,1
θ <sub>min</sub> , θ <sub>max</sub>	1,79 a 27,00
Reflexões coletadas	7962
Reflexões observadas	3506 R(int) = 0.0439
Parâmetros	120
GOF on F <sup>2</sup>	1,152
Índice R final [I>2σ(I)]	R1 = 0,0362, wR2 = 0,1000
Índice R (todos os dados)	R1 = 0,0374, wR2 = 0,1011
Máximo e mínimo Δρ( e.Å <sup>-3</sup> )	1,455; -1,915

**TABELA 5.2 - Coordenadas atômicas e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto 4**

	x	y	z	U(eq)
Te	0,0716(1)	0,4920(1)	0,2800(1)	0,0016(1)
I(1)	0,2667(1)	0,6459(1)	0,0976(1)	0,0021(1)
I(2)	-0,1286(1)	0,3258(1)	0,4517(1)	0,0023(1)
I(3)	0,4995(1)	0,2524(1)	0,2419(1)	0,0021(1)
C(1)	0,0928(9)	0,3544(5)	0,1560(5)	0,0020(1)
C(2)	0,02501(8)	0,2636(5)	0,1395(5)	0,0018(1)
C(3)	-0,2341(8)	0,5746(5)	0,2410(5)	0,0019(1)
C(4)	-0,3379(9)	0,6723(6)	0,3290(5)	0,0024(1)
C(5)	-0,2542(10)	0,7949(5)	0,3108(5)	0,0024(1)
C(6)	-0,3654(12)	0,8901(6)	0,3985(6)	0,0033(2)
C(7)	0,2633(10)	0,1628(6)	0,0523(6)	0,0026(1)
C(8)	0,2742(11)	0,326(6)	0,1100(6)	0,0032(1)
C(9)	0,0916(14)	0,0184(7)	0,2010(9)	0,0053(2)

**TABELA 5.3 - Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto 4**

Te-C (1)		2,106 (5)	
Te-C (3)		2,164 (5)	
Te-I (1)		2,9083 (13)	
Te-I (2)		2,9334 (13)	
I (3)-C (2)		2,114 (6)	
C (1)-C (2)		1,325 (8)	
C (2)-C (7)		1,516 (7)	
C (3)-C (4)		1,538 (8)	
C (4)-C (5)		1,519 (8)	
C (5)-C (6)		1,531 (8)	
C (7)-C (8)		1,526 (9)	
C (8)-C (9)		1,519 (10)	
C (1)-Te-C (3)	92,8 (2)	C (4)-C (5)-C (6)	111,8 (5)
C (1)-Te-I (1)	88,52 (16)	C (1)-C (2)-C (7)	124,2 (5)
C (3)-Te-I (1)	92,04 (16)	C (1)-C (2)-I (3)	119,3 (4)
C (1)-Te-I (2)	87,75 (16)	C (7)-C (2)-I (3)	116,4 (4)
C (3)-Te-I (2)	87,38 (16)	C (4)-C (3)-Te	112,8 (4)
I (1)-Te-I (2)	176,189 (15)	C (2)-C (7)-C (8)	113,4 (5)
C (2)-C (1)-Te	124,2 (4)	C (5)-C (4)-C (3)	113,7 (5)
C (9)-C (8)-C (7)	113,0 (6)		

**TABELA 5.4 - Coordenadas atômicas dos átomos de hidrogênio e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto 4**

H (1A)	-0,0151	0,3576	0,1099	0,0024
H (3A)	-0,2247	0,6133	0,1624	0,0023
H (3B)	-0,3196	0,5097	0,2418	0,0023
H (4A)	-0,4849	0,6874	0,3222	0,0029
H (4B)	-0,3193	0,6392	0,4082	0,0029
H (5A)	-0,2703	0,8278	0,2313	0,0029
H (5B)	-0,1080	0,7808	0,3199	0,0029
H (6A)	-0,5106	0,9029	0,3909	0,0050
H (6B)	-0,3124	0,9672	0,3824	0,0050
H (6C)	-0,3430	0,8599	0,4771	0,0050
H (7A)	0,3848	0,1660	-0,0037	0,0031
H (7B)	0,1435	0,1792	0,0089	0,0031
H (8A)	0,2800	-0,0268	0,0496	0,0038
H (8B)	0,4003	0,0133	0,1476	0,0038
H (9A)	0,0930	0,0708	0,2652	0,0079
H (9B)	0,1005	-0,0664	0,2299	0,0079
H (5C)	-0,0343	0,0420	0,1656	0,0079

**TABELA 5.5 - Interações do composto 4 em catepsina B**GOLDScore: -43,31 kcal mol<sup>-1</sup> ΔGligação: -4,41 kcal mol<sup>-1</sup>

Subsítio	Composto 4-catepsina	distância (Å)	átomo ligante	átomo receptor	ângulo (°)
<b>S2'</b>	I2 - GLU122:OE2	2,91	<b>I2</b>	OE2	
<b>S1'</b>	Te1 - GLY27:O	3,06	Te1	O	
	C9-H9B - MET196:O	2,94	H9B	O	124
	C9-H9A - GLY197:O	2,75	H9A	O	171
	C8-H8A- HIS199:CtCE1-ND	3,45	H8A	Ct	139
<b>S1</b>	Te1 - CYS29:SG	2,90	Te1	SG	
	I2 - ASN72:O	3,09	I2	O	
	Te - GLY73:C-HA2	2,86	Te1	HA2	147
	C5-H5A-GLY74:O	2,57	H5A	O	148
<b>S2</b>	C1-H1A - GLY198:O	2,27	H1	O	140
	C9-H9B - MET196:O	2,94	H4	O	124
	C-H13 - GLY198:O	2,35	H10	O	137
	C-H14 - GLY198:O	3,19	H11	O	115



## Capítulo 6 – Resolução das estruturas, análise do arranjo supramolecular e poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) de três dipnonas e modelagem molecular de uma dipnona

As dipnonas estudadas neste capítulo (Figura 6.1) foram sintetizadas pelos Profs. Drs. João V. Comasseto do IQ-USP e Rodrigo L. O. R. Cunha da UFABC.

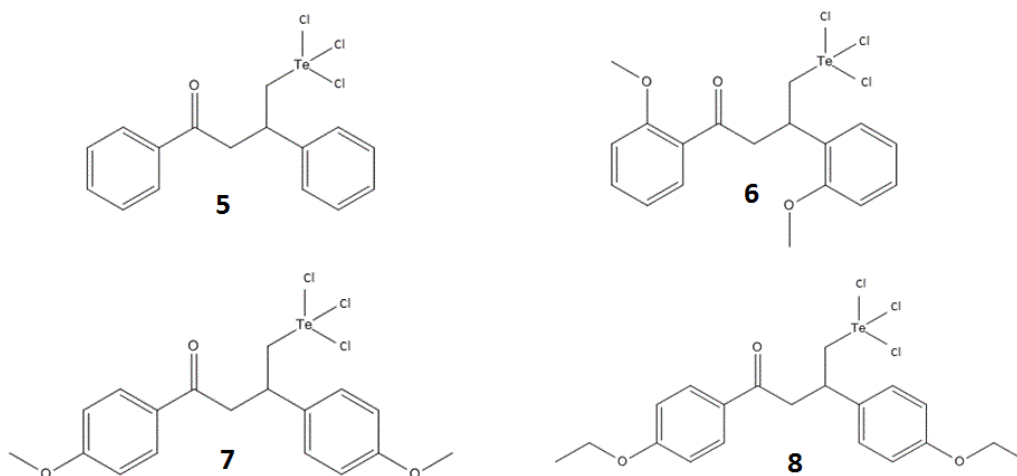


FIGURA 6.1 – Estruturas das dipnonas.

Desses quatro compostos somente não foi possível obter cristal do Composto **8** de modo que para os estudos de *docking*, apresentados no Capítulo 7, esta molécula foi modelada. Assim, neste capítulo serão apresentados os resultados cristalográficos, as análises do arranjo supramolecular e do poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) dos compostos **5**, **6** e **7**. As tabelas de coordenadas atômicas e fatores de deslocamento isotrópicos, distâncias e ângulos de ligação, se encontram no apêndice ao final deste capítulo.

### 6.1 – Composto **5**: 1,3-difenil-4-(triclouro- $\lambda^4$ -telanil)butan-1-ona ( $C_{16}H_{13}Cl_3OTe$ )

Uma projeção da estrutura cristalina do composto **5** com os átomos identificados é apresentada na Figura 6.2.

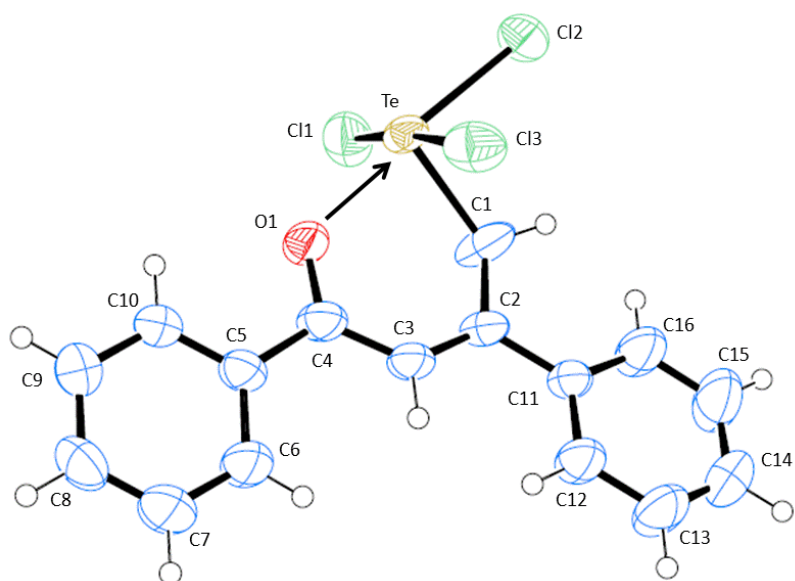


FIGURA 6.2 – Projeção da estrutura cristalina do composto **5**.

A molécula não é plana, de fato o ângulo diédrico entre os anéis fenila é de  $13(3)^\circ$ . Um aspecto interessante nesta molécula é a interação Te...O. A distância entre o átomo de telúrio e de oxigênio é de  $2,240(3)$  Å, que é menor que a soma dos raios de van der Waals (Te =  $2,06$  e O =  $1,52$  Å). Assim, há a formação de um pseudo anel quelato de seis membros, formado pelo átomo de telúrio, C1, C2, C3, C4 e O1 (Figura 6.2).

Com relação às distâncias de ligação do telúrio aos cloros pode ser visto na Figura 6.3 que há diferenças significativas.

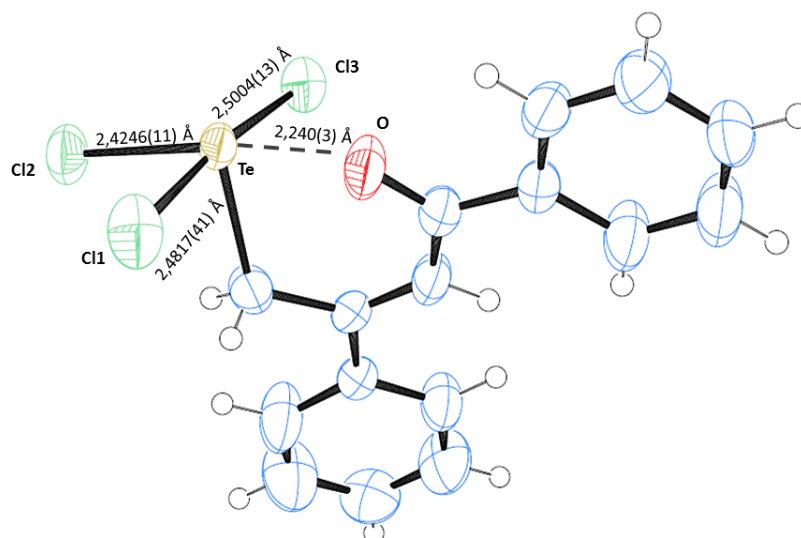


FIGURA 6.3 – Distâncias de ligação dos cloros ligados ao átomo de telúrio.

A análise dos arranjos supramoleculares mostra que as moléculas se organizam em dímeros centrossimétricos (operação de simetria 1-x, -y, 2-z) de forma que átomo de Te(IV) faz uma interação intermolecular com o átomo Cl3 de uma molécula vizinha a uma distância de 3,874(6) Å (Figura 6.4). Esta ligação secundária Te...Cl3 poderia explicar o fato desta ser a maior das distâncias Te-Cl.

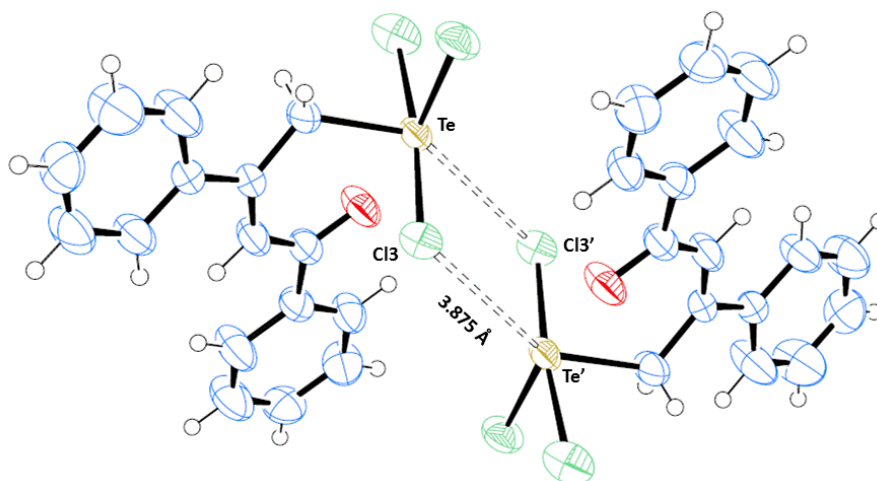


FIGURA 6.4 – Arranjo cristalino do composto 5.

Levando em consideração as interações secundárias intra e intermoleculares feitas pelo Te(IV) e a presença do par isolado de elétrons a melhor descrição para o poliedro de coordenação ao redor do telúrio é o de uma  $\psi$ -bipirâmide de base pentagonal. A base é formada pelos átomos C1, O1, Cl2, Cl3' e o par de elétrons

isolados. Os átomos Cl1 e Cl3 estão nos ápices da bipirâmide. O ângulo Cl2-Te-Cl3' de  $126,68(4)^\circ$  indica que este deve ser o lugar onde se localiza o par de elétrons isolados (Figura 6.5).

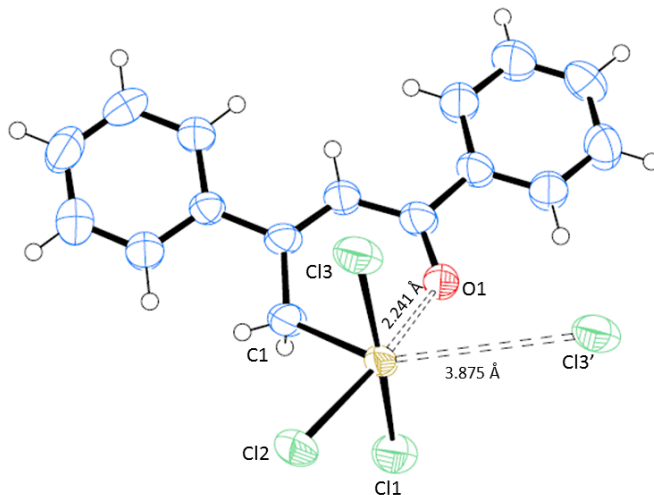


FIGURA 6.5 – Coordenação ao redor do Te(IV) no Composto 5.

## 6.2 – Composto 6: 1,3-bis(2-metoxifenil)-4-(triclora- $\lambda^4$ -tellanil)butan-1-ona ( $C_{18}H_{17}Cl_3O_3Te$ )

Uma projeção da estrutura cristalina do composto 6 com os átomos identificados é apresentada na Figura 6.6, onde é possível ver os substituintes metóxi na posição *orto*.

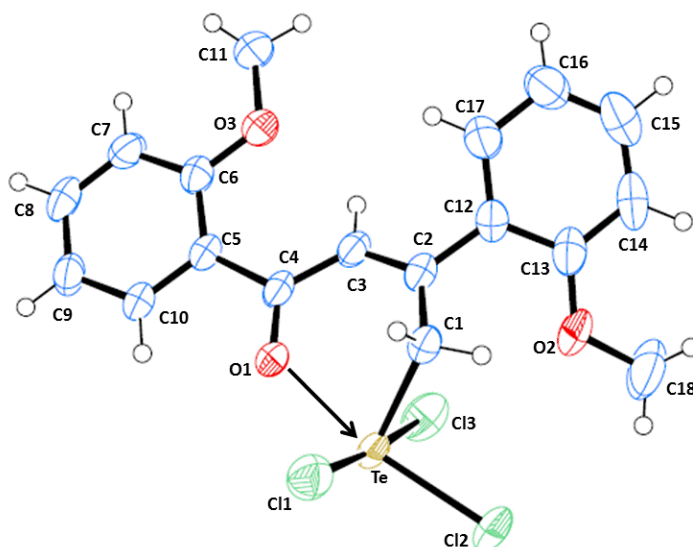


FIGURA 6.6 – Projeção do composto 6 com os átomos identificados.

A estrutura desta dipnona também não é plana e neste caso o ângulo diedro entre os anéis é  $25,9(2)^\circ$ . O átomo de oxigênio está a uma distância de  $2,287(4)$  Å do telúrio, também formando um pseudo anel quelato de 6 membros. Nesta estrutura também há diferença nas distâncias de comprimentos das ligações Te – Cl (Figura 6.7).

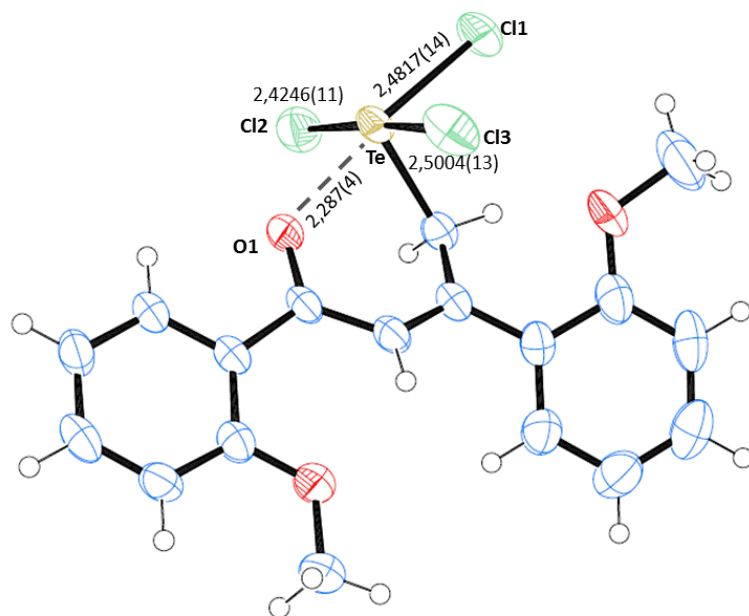


FIGURA 6.7 – Distâncias de ligação dos cloros ligados ao átomo de telúrio no composto **6**.

No cristal a molécula se empacota em dímeros centrossimétricos (operação de simetria  $1-x, -y, 2-z$ ) formando interações intermoleculares:  $\text{Te}\dots\text{Cl2}' = 3,741(7)$  Å (Figura 6.8).

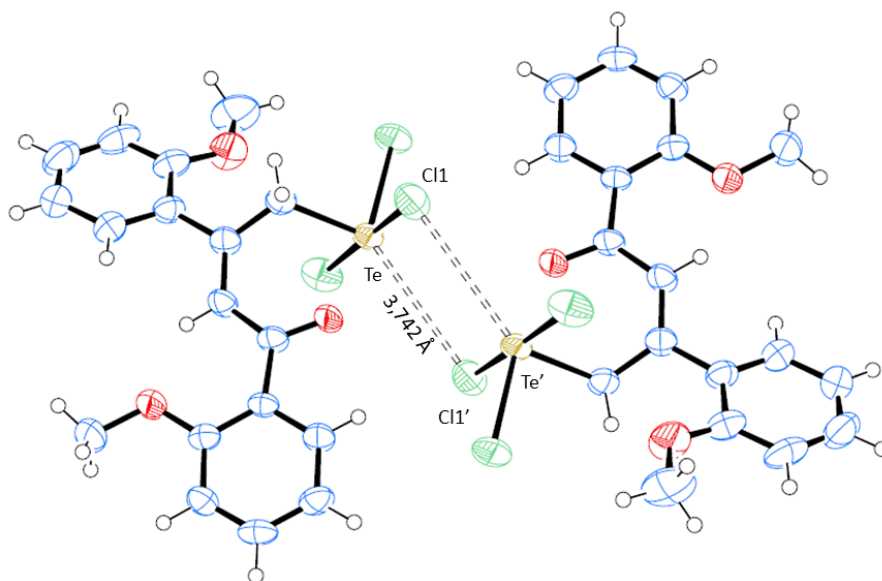


Figura 6.8 – Interação intermolecular do composto **6** no cristal.

Mais ainda, neste caso é possível observar a presença de interações  $\pi\cdots\pi$  entre anéis fenila (operação de simetria, 1-x, 1-y, 1-z), com uma distância entre as centroides dos anéis de 3,604(6) Å, como mostrado na Figura 6.9.

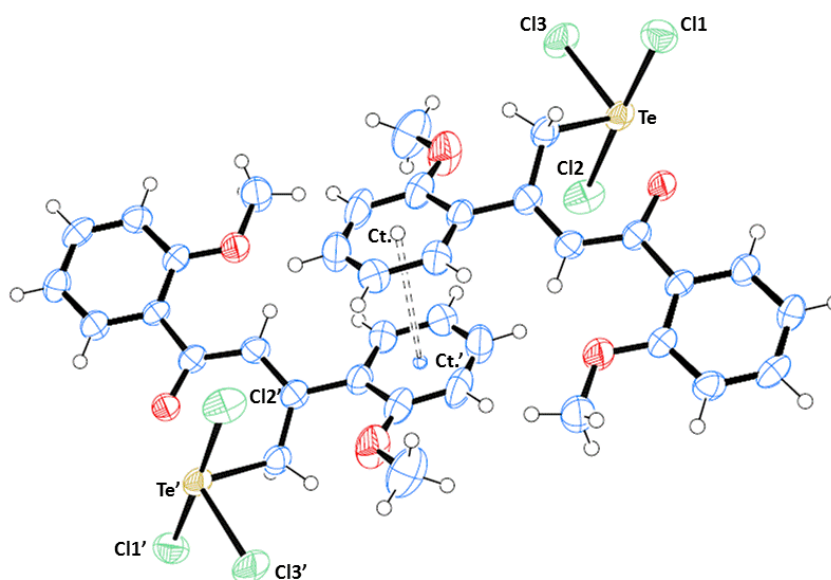


FIGURA 6.9 – Interação  $\pi\cdots\pi$  no cristal do composto **6**.

O poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) (Figura 6.10) é uma  $\psi$ -bipirâmide pentagonal cuja base é formada pelos átomos C1, Cl3, O1, Cl1' e o par de elétrons isolados. Os ápices da pirâmide são formados pelos átomos Cl1 e Cl2.

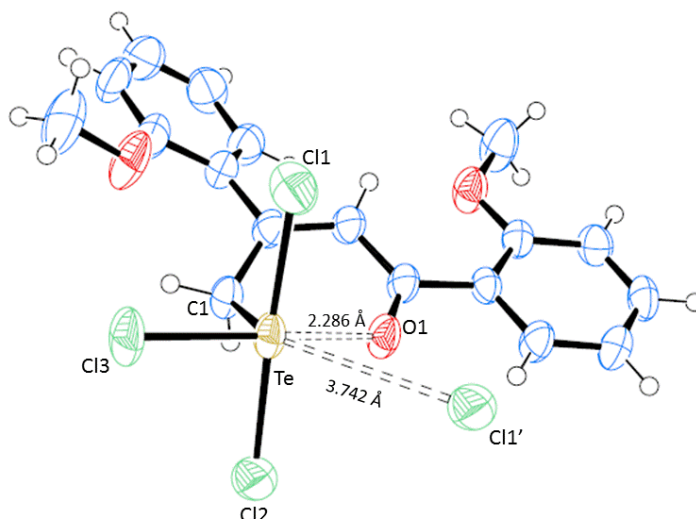


FIGURA 6.10 – Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) no composto 6.

### 6.3 – Composto 7: 1,3-bis(4-metoxifenil)-4-(tricloro- $\lambda^4$ -tellanil)butan-1-ona (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Te)

A projeção do composto 7, que possui grupos metóxi em posição *para*, com os átomos identificados está na Figura 6.11.

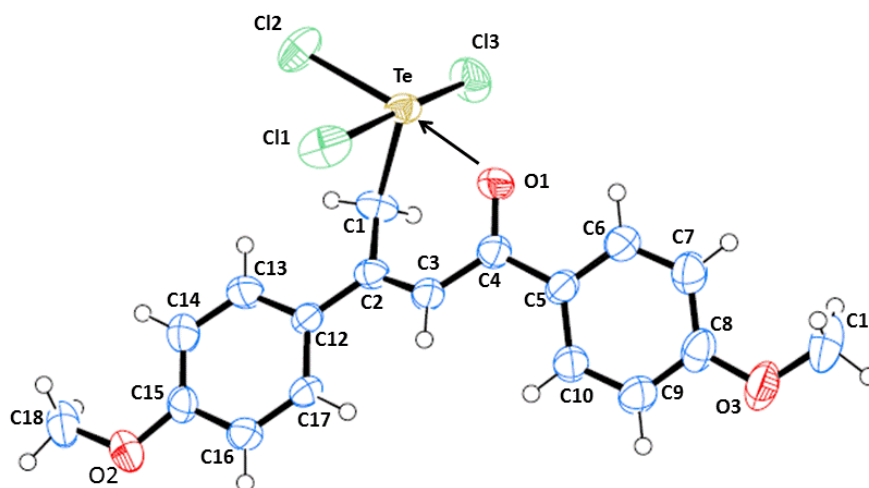


FIGURA 6.11 – Projeção do composto 7.

O ângulo diédrico entre os anéis é de 19,1(4)<sup>o</sup>, mostrando que também neste caso a molécula não é plana. O pseudo anel de seis membros também é formado neste caso, com o telúrio a 2,292(5) Å de distância do oxigênio. Nesta estrutura

também há diferença nos tamanhos de ligação dos três cloros ligados ao telúrio, como mostrado na Figura 6.12.

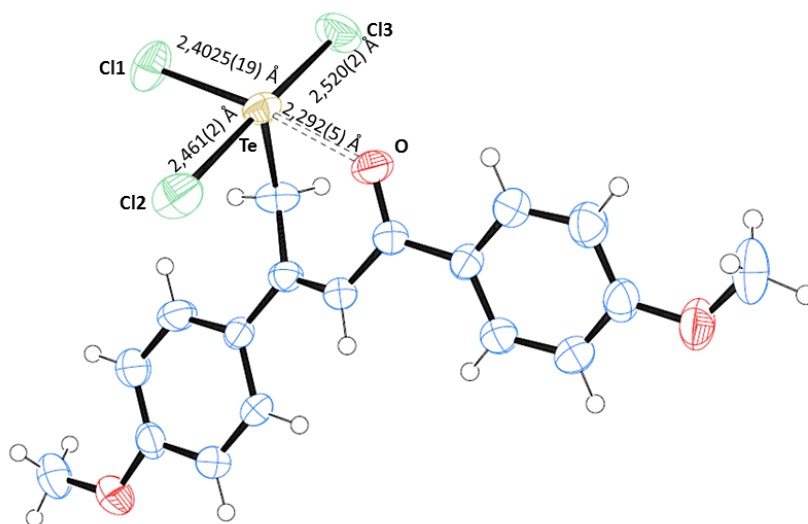


FIGURA 6.12 – Distâncias de ligação dos cloros ligados ao átomo de telúrio no composto 7.

No cristal as moléculas se empacotam formando dímeros centrossimétricos (operação de simetria  $1-x, 1-y, -z$ ) com uma interação entre o átomo de telúrio e o de oxigênio de uma molécula vizinha (Figura 6.13), a distância Te...O1' é de 3,782 (1) Å.

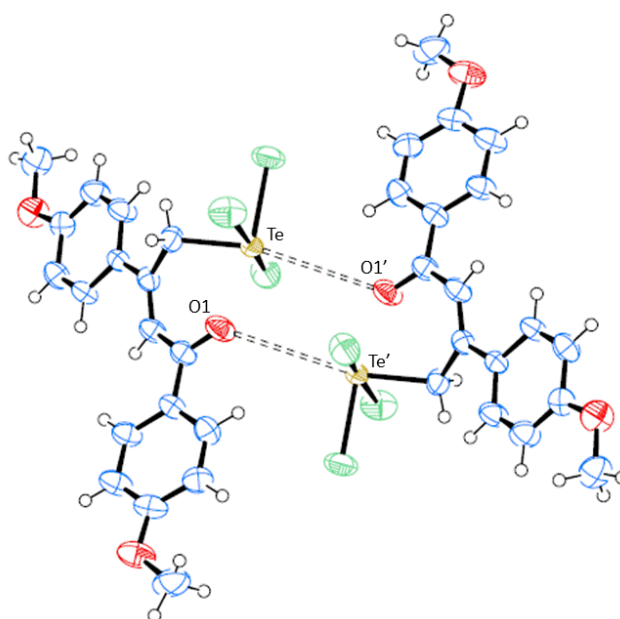


FIGURA 6.13 – Dímeros centrossimétricos do composto 7.



O poliedro de coordenação ao redor do Te(IV) é uma  $\psi$ -bipirâmide de base pentagonal, com a base formada pelos átomos Cl1, C1, O1, O1' e o par de elétrons isolados do Te(IV), e os átomos Cl2 e Cl3 nas posições apicais (Figura 6.14).

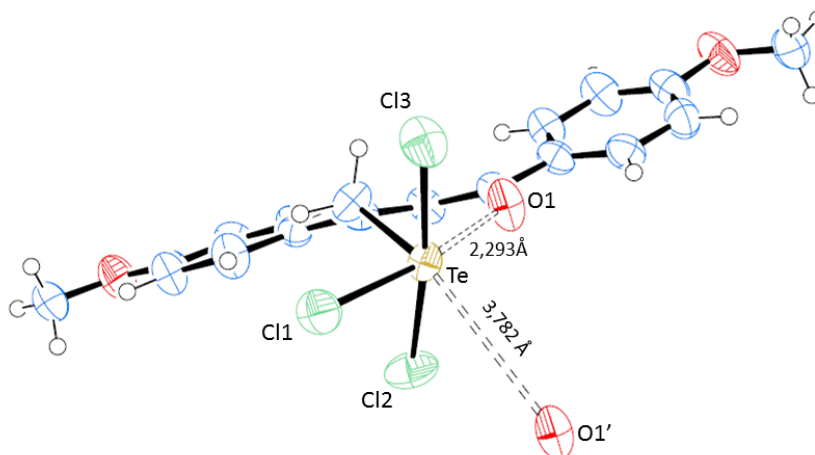


FIGURA 6.14 – Poliedro de coordenação ao redor do Te(IV) no composto 7.

Apesar de apresentarem estruturas bastante semelhantes e cristalizarem no mesmo grupo espacial ( $P\bar{1}$ ), há diferenças nas interações intermoleculares. Devemos destacar a interação  $\pi$ - $\pi$  no composto **6** e o fato que no composto **7** no cristal o Te(IV) faz uma interação secundária com um átomo de oxigênio de uma molécula vizinha ao invés de com um átomo de cloro como nas outros dois casos. Do ponto de vista da cristalografia este é um resultado muito interessante pois mostra que é muito difícil prever *a priori* a forma como moléculas vão se relacionar no estado sólido.

## Apêndice

**TABELA 6.1- Dados cristalográficos e de refinamento dos compostos 5, 6 e 7**

Composto	(5)	(6)	(7)
Fórmula empírica	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Te	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Te	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Te
Peso fórmula	455,21	515,27	515,27
Sistema cristalino	Triclinico	Triclinico	Triclinico
Grupo espacial	P $\bar{1}$	P $\bar{1}$	P $\bar{1}$
a (Å)	8,9308 (7)	7,3665 (9)	9,6177 (9)
b (Å)	9,6253 (9)	10,371 (1)	10,546 (1)
c (Å)	10,986 (1)	13,321 (1)	11,387 (1)
$\alpha$ (°)	77,065 (7)	84,594 (9)	104,713 (8)
$\beta$ (°)	86,827 (10)	76,224 (10)	113,291 (9)
$\gamma$ (°)	63,089 (13)	77,036 (8)	100,748 (9)
V (Å <sup>3</sup> )	819,59 (16)	962,33 (17)	971,1 (2)
D <sub>c</sub> (g cm <sup>-3</sup> )	1,845	1,778	1,762
Z	2	2	2
m(MoK $\alpha$ ) (mm <sup>-1</sup> )	2,298	1,976	1,958
F(000)	440	504	504
Dimensão do cristal (mm)	0,2x0,2x0,1	0,18x0,12x0,1	0,18x0,12x0,08
$\theta_{min}$ , $\theta_{max}$	2,43 ; 26,00	1,58 ; 25,50	2,09 ; 25,47
Reflexões coletadas	3333	3753	3834
Reflexões observadas [ $I > 2\sigma(I)$ ]	3121 [R(int) = 0,0246]	3585 [R(int) = 0,0772]	3601 [R(int) = 0,0606]
Parâmetros	190	228	228
GOF on F <sup>2</sup>	1,041	1,071	1,082
Índice R final [ $I \geq 2\sigma(I)$ ]	R1 = 0,0295, wR2 = 0,076	R1 = 0,0508, wR2 = 0,1240	R1 = 0,0605, wR2 = 0,1575
Índice R(todos os dados)	R1 = 0,0447, wR2 = 0,0841	R1 = 0,0796, wR2 = 0,1370	R1 = 0,0795, wR2 = 0,1712
Máximo e Mínimo $\Delta\rho$ (e Å <sup>-3</sup> )	0,388; -0,661	1,571; -1,280	2,825 ; -1,779

## **Composto 5**

**TABELA 6.2 - Coordenadas atômicas e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto (5)**

	x	y	z	U (eq)
Te	0,5245 (1)	-0,0017 (1)	0,7863 (1)	0,0047 (1)
Cl (1)	0,7810 (2)	-0,1488 (2)	0,6789 (1)	0,0071 (1)
Cl (2)	0,3739 (2)	-0,1044 (1)	0,6852 (1)	0,0061 (1)
Cl (3)	0,2643 (2)	0,1736 (1)	0,8793 (1)	0,0066 (1)
O (1)	0,6637 (4)	0,1170 (3)	0,8473 (3)	0,0063 (1)
C (1)	0,4576 (8)	0,1911 (5)	0,6282 (4)	0,0068 (1)
C (2)	0,4157 (5)	0,3539 (4)	0,6463 (3)	0,0043 (1)
C (3)	0,4904 (6)	0,3811 (5)	0,7349 (4)	0,0052 (1)
C (4)	0,6160 (6)	0,2659 (5)	0,8297 (4)	0,0052 (1)
C (5)	0,6974 (6)	0,3147 (5)	0,9129 (4)	0,0050 (1)
C (6)	0,6710 (8)	0,4727 (6)	0,8981 (5)	0,0078 (2)
C (7)	0,7523 (8)	0,5101 (7)	0,9783 (6)	0,0082 (2)
C (8)	0,8619 (6)	0,3951 (6)	1,0729 (5)	0,0065 (1)
C (9)	0,8889 (7)	0,2389 (6)	1,0885 (5)	0,0068 (1)
C (10)	0,8089 (6)	0,1997 (5)	1,0084 (4)	0,0055 (1)
C (11)	0,2900 (5)	0,4883 (4)	0,5531 (3)	0,0042 (1)
C (12)	0,2390 (7)	0,6445 (5)	0,5601 (4)	0,0063 (1)
C (13)	0,1246 (7)	0,7702 (6)	0,4704 (5)	0,0077 (2)
C (14)	0,0585 (6)	0,7436 (6)	0,3753 (5)	0,0070 (1)
C (15)	0,1085 (8)	0,5909 (7)	0,3679 (6)	0,0090 (2)
C (16)	0,2228 (8)	0,4646 (6)	0,4544 (5)	0,0081 (2)

**TABELA 6.3 - Coordenadas atômicas dos átomos de hidrogênio e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto (5)**

	x	y	z	U (eq)
H (1A)	0,5499	0,1624	0,5727	0,0081
H (1B)	0,3614	0,1993	0,5847	0,0081
H (3)	0,4564	0,4878	0,7348	0,0062
H (6)	0,5983	0,5523	0,8338	0,0093
H (7)	0,7326	0,6156	0,9683	0,0099
H (8)	0,9174	0,4219	1,1258	0,0078
H (9)	0,9612	0,1602	1,1534	0,0082
H (10)	0,8301	0,0937	1,0186	0,0066
H (12)	0,2813	0,6660	0,6253	0,0076
H (13)	0,0929	0,8748	0,4759	0,0092
H (14)	-0,0193	0,8282	0,3165	0,0084
H (15)	0,0646	0,5707	0,3028	0,0108
H (16)	0,2554	0,3609	0,4460	0,0097

**TABELA 6.4 - Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto (5)**

Te-C(1)	2,117(4)		
Te-O(1)	2,240(3)		
Te-Cl(2)	2,4246(11)		
Te-Cl(1)	2,4817(14)		
Te-Cl(3)	2,5004(13)		
O(1)-C(4)	1,268(5)		
C(1)-C(2)	1,495(5)		
C(2)-C(3)	1,344(5)		
C(2)-C(11)	1,484(5)		
C(3)-C(4)	1,435(6)		
C(4)-C(5)	1,469(6)		
C(5)-C(10)	1,384(6)		
C(5)-C(6)	1,402(6)		
C(6)-C(7)	1,372(7)		
C(7)-C(8)	1,371(7)		
C(8)-C(9)	1,381(7)		
C(9)-C(10)	1,376(6)		
C(11)-C(16)	1,377(6)		
C(11)-C(12)	1,379(5)		
C(12)-C(13)	1,392(6)		
C(13)-C(14)	1,353(8)		
C(14)-C(15)	1,349(7)		
C(15)-C(16)	1,374(7)		
C(1)-Te-O(1)	82,22(16)	C(10)-C(5)-C(4)	119,0(4)
C(1)-Te-Cl(2)	88,62(14)	C(6)-C(5)-C(4)	123,0(4)
O(1)-Te-Cl(2)	170,32(9)	C(7)-C(6)-C(5)	120,1(5)
C(1)-Te-Cl(1)	87,38(15)	C(8)-C(7)-C(6)	121,3(5)
O(1)-Te-Cl(1)	86,72(10)	C(7)-C(8)-C(9)	119,1(4)
Cl(2)-Te-Cl(1)	89,76(4)	C(10)-C(9)-C(8)	120,1(5)
C(1)-Te-Cl(3)	86,82(15)	C(9)-C(10)-C(5)	121,3(4)
O(1)-Te-Cl(3)	90,31(9)	C(3)-C(2)-C(11)	121,0(3)
Cl(2)-Te-Cl(3)	92,31(4)	C(3)-C(2)-C(1)	123,9(4)
Cl(1)-Te-Cl(3)	173,80(4)	C(11)-C(2)-C(1)	115,0(3)
C(4)-O(1)-Te	126,8(3)	C(2)-C(3)-C(4)	128,1(4)
C(2)-C(1)-Te	119,4(3)	O(1)-C(4)-C(3)	122,6(4)
C(9)-C(10)-C(5)	121,3(4)	O(1)-C(4)-C(5)	115,9(4)
C(16)-C(11)-C(12)	116,9(4)	C(3)-C(4)-C(5)	121,5(4)
C(16)-C(11)-C(2)	122,4(4)	C(10)-C(5)-C(6)	118,0(4)
C(12)-C(11)-C(2)	120,7(4)	C(11)-C(12)-C(13)	120,4(4)
C(15)-C(14)-C(13)	118,2(5)	C(14)-C(13)-C(12)	121,5(5)
C(14)-C(15)-C(16)	121,5(5)	C(15)-C(16)-C(11)	121,4(5)

## Composto 6

**TABELA 6.5 - Coordenadas atômicas e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto (6)**

	x	y	z	U(eq)
Te	0,5667(1)	0,0481(1)	0,8256(1)	0,0043(1)
Cl(1)	0,8093(3)	-0,0159(2)	0,9344(1)	0,0061(1)
Cl(2)	0,7386(3)	-0,1220(2)	0,7046(1)	0,0065(1)
Cl(3)	0,3197(3)	0,1284(2)	0,7234(2)	0,0066(1)
O(1)	0,4614(7)	0,2282(4)	0,9266(3)	0,0048(1)
O(11)	0,7105(9)	0,1811(5)	0,5364(4)	0,0072(2)
O(21)	0,3231(7)	0,6351(4)	0,8694(3)	0,0054(1)
C(1)	0,7338(9)	0,1827(5)	0,7448(4)	0,0043(1)
C(2)	0,6240(9)	0,3173(6)	0,7195(4)	0,0041(1)
C(3)	0,4852(9)	0,3898(6)	0,7900(4)	0,0041(1)
C(4)	0,4220(8)	0,3476(5)	0,8962(4)	0,0038(1)
C(5)	0,3032(8)	0,4404(5)	0,9756(4)	0,0035(1)
C(6)	0,2524(8)	0,5793(6)	0,9625(4)	0,0040(1)
C(7)	0,1322(9)	0,6536(6)	1,0430(5)	0,0045(1)
C(8)	0,0680(9)	0,5941(6)	1,1369(5)	0,0048(2)
C(9)	0,1199(9)	0,4582(6)	1,1528(5)	0,0048(2)
C(10)	0,2354(9)	0,3821(6)	1,0731(4)	0,0045(1)
C(11)	0,2751(13)	0,7755(6)	0,8529(6)	0,0069(2)
C(12)	0,6876(9)	0,3784(6)	0,6157(4)	0,0044(1)
C(13)	0,7324(10)	0,3086(7)	0,5241(5)	0,0054(2)
C(14)	0,7816(10)	0,3723(9)	0,4296(5)	0,0064(2)
C(15)	0,7883(11)	0,5059(9)	0,4241(6)	0,0069(2)
C(16)	0,6985(10)	0,5116(7)	0,6066(5)	0,0053(2)
C(17)	0,7502(11)	0,5747(7)	0,5114(6)	0,0063(2)
C(18)	0,7265(14)	0,1058(10)	0,4499(6)	0,0089(3)

**TABELA 6.6 - Coordenadas atômicas dos átomos de hidrogênio e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto (6)**

	x	y	z	U(eq)
H(1A)	0,8213	0,1934	0,7860	0,0052
H(1B)	0,8101	0,1439	0,6808	0,0052
H(3)	0,4261	0,4732	0,7683	0,0049
H(7)	0,0948	0,7448	1,0331	0,0054
H(8)	-0,0110	0,6453	1,1905	0,0058
H(9)	0,0769	0,4184	1,2170	0,0058
H(10)	0,2691	0,2908	1,0840	0,0054
H(11A)	0,1400	0,8031	0,8578	0,0104
H(11B)	0,3426	0,8001	0,7854	0,0104
H(11C)	0,3104	0,8176	0,9043	0,0104
H(13)	0,8104	0,3262	0,3693	0,0077
H(15)	0,8193	0,5488	0,3598	0,0083
H(16)	0,7588	0,6632	0,5070	0,0076
H(17)	0,6702	0,5591	0,6661	0,0063
H(18A)	0,6154	0,1361	0,4215	0,0133
H(18B)	0,7363	0,0140	0,4715	0,0133
H(18C)	0,8385	0,1164	0,3983	0,0133

**TABELA 6.7 - Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto (6)**

Te-C(1)	2,116(6)		
Te-O(1)	2,287(4)		
Te-Cl(2)	2,4240(15)		
Te-Cl(3)	2,479(2)		
Te-Cl(1)	2,502(2)		
O(1)-C(4)	1,258(7)		
O(11)-C(13)	1,358(8)		
O(11)-C(18)	1,420(9)		
O(21)-C(6)	1,355(7)		
O(21)-C(11)	1,427(7)		
C(1)-C(2)	1,500(8)		
C(2)-C(3)	1,351(8)		
C(2)-C(12)	1,480(8)		
C(3)-C(4)	1,439(8)		
C(4)-C(5)	1,478(7)		
C(12)-C(17)	1,394(9)		
C(12)-C(13)	1,411(9)		
C(13)-C(14)	1,372(9)		
C(14)-C(15)	1,392(11)		
C(15)-C(16)	1,360(12)		
C(15)-H(15)	0,9300		
C(17)-C(16)	1,381(9)		
C(5)-C(10)	1,408(8)		
C(5)-C(6)	1,410(8)		
C(6)-C(7)	1,388(8)		
C(8)-C(7)	1,368(9)		
C(8)-C(9)	1,385(9)		
C(9)-C(10)	1,378(8)		
C(1)-Te-Cl(2)	91,02(16)	C(13)-C(14)-C(15)	120,0(7)
C(1)-Te-O(1)	77,36(18)	C(16)-C(15)-C(14)	121,0(6)
O(1)-Te-Cl(2)	167,59(12)	C(16)-C(17)-C(12)	121,7(6)
C(1)-Te-Cl(3)	91,65(18)	C(15)-C(16)-C(17)	119,3(7)
O(1)-Te-Cl(3)	92,42(13)	C(10)-C(5)-C(6)	118,0(5)
Cl(2)-Te-Cl(3)	92,23(7)	C(10)-C(5)-C(4)	115,7(5)
C(1)-Te-Cl(1)	86,58(18)	C(6)-C(5)-C(4)	126,4(5)
O(1)-Te-Cl(1)	83,32(12)	O(21)-C(6)-C(7)	122,4(5)
Cl(2)-Te-Cl(1)	91,77(7)	O(21)-C(6)-C(5)	117,6(5)
Cl(3)-Te-Cl(1)	175,65(6)	C(3)-C(2)-C(12)	118,9(5)
C(4)-O(1)-Te	126,8(4)	C(3)-C(2)-C(1)	123,0(5)
C(13)-O(11)-C(18)	121,2(6)	C(12)-C(2)-C(1)	117,7(5)
C(6)-O(21)-C(11)	119,4(5)	C(2)-C(3)-C(4)	124,9(5)
C(2)-C(1)-Te	115,6(4)	C(7)-C(6)-C(5)	119,9(5)
O(1)-C(4)-C(3)	121,7(5)	C(7)-C(8)-C(9)	120,5(5)
C(3)-C(2)-C(12)	118,9(5)	C(9)-C(10)-C(5)	121,1(6)
O(1)-C(4)-C(5)	115,8(5)	C(10)-C(9)-C(8)	119,8(6)
C(3)-C(4)-C(5)	122,5(5)	C(17)-C(12)-C(13)	117,8(6)
C(17)-C(12)-C(2)	119,3(5)	C(8)-C(7)-C(6)	120,7(6)
C(13)-C(12)-C(2)	122,8(6)	O(11)-C(13)-C(12)	115,7(6)
O(11)-C(13)-C(14)	123,9(6)	C(14)-C(13)-C(12)	120,2(7)

## Composto 7

**TABELA 6.8 - Coordenadas atômicas e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto (7)**

	x	y	z	U (eq)
Te	0,4918 (1)	0,3013 (1)	0,0119 (1)	0,0040 (1)
Cl (1)	0,5763 (3)	0,1334 (2)	-0,1053 (2)	0,0065 (1)
Cl (2)	0,2956 (3)	0,2885 (3)	-0,2133 (2)	0,0066 (1)
Cl (3)	0,6744 (2)	0,2844 (2)	0,2341 (2)	0,0067 (1)
O (1)	0,3786 (6)	0,4280 (5)	0,1202 (6)	0,0058 (1)
O (11)	-0,3556 (7)	-0,3299 (6)	-0,4556 (5)	0,0061 (1)
O (21)	0,0941 (8)	0,7823 (6)	0,4344 (6)	0,0067 (2)
C (1)	0,3146 (8)	0,1458 (7)	0,0063 (8)	0,0045 (2)
C (2)	0,1468 (7)	0,1519 (7)	-0,0530 (6)	0,0037 (1)
C (3)	0,1161 (8)	0,2675 (7)	-0,0029 (6)	0,0043 (2)
C (4)	0,2367 (8)	0,3980 (7)	0,0992 (7)	0,0042 (2)
C (5)	0,01945 (8)	0,5012 (7)	0,1807 (7)	0,0043 (2)
C (6)	0,3060 (9)	0,6319 (8)	0,2634 (7)	0,0048 (2)
C (7)	0,2781 (10)	0,7295 (8)	0,3478 (8)	0,0053 (2)
C (8)	0,1330 (9)	0,6965 (8)	0,3536 (7)	0,0052 (2)
C (9)	0,0183 (9)	0,5659 (9)	0,2694 (8)	0,0057 (2)
C (10)	0,0480 (9)	0,4705 (8)	0,1837 (7)	0,0049 (2)
C (11)	0,2023 (14)	0,9187 (9)	0,5184 (9)	0,0075 (3)
C (12)	0,0201 (7)	0,0258 (6)	-0,1573 (6)	0,0035 (1)
C (13)	0,0498 (8)	-0,0825 (8)	-0,2292 (8)	0,0051 (2)
C (14)	-0,0710 (9)	-0,2018 (8)	-0,3316 (8)	0,0054 (2)
C (15)	-0,02270 (8)	-0,2170 (7)	-0,3617 (6)	0,0043 (2)
C (16)	-0,02627 (8)	-0,1100 (8)	-0,2895 (7)	0,0048 (2)
C (17)	-0,01410 (8)	0,0089 (7)	-0,1899 (7)	0,0043 (2)
C (18)	-0,3264 (11)	-0,4434 (8)	-0,5304 (8)	0,0061 (2)

**TABELA 6.9 - Coordenadas atômicas dos átomos de hidrogênio e fatores de deslocamentos atômicos isotrópicos equivalentes do composto (7)**

	x	y	z	U (eq)
H (1A)	0,3131	0,0568	-0,0462	0,0054
H (1B)	0,3460	0,1487	0,0993	0,0054
H (3)	0,0095	0,2636	-0,0362	0,0051
H (6)	0,4030	0,6536	0,2612	0,0058
H (7)	0,3541	0,8169	0,4009	0,0064
H (9)	-0,0786	0,5438	0,2718	0,0068
H (10)	-0,0297	0,3846	0,1271	0,0059
H (11A)	0,3049	0,9141	0,5748	0,0113
H (11B)	0,1622	0,9650	0,5758	0,0113
H (11C)	0,2127	0,9691	0,4614	0,0113
H (16)	-0,3682	-0,1190	-0,3086	0,0057
H (17)	-0,1662	0,795	-0,1432	0,0051
H (18A)	-0,2747	-0,4129	-0,5799	0,0091
H (18B)	-0,4260	-0,5156	-0,5938	0,0091
H (18C)	-0,2586	-0,4781	-0,4677	0,0091

**TABELA 6.10 - Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligação do composto (7)**

Te-C (1)	2,102 (7)		
Te-O (1)	2,292 (5)		
Te-Cl (1)	2,4025 (19)		
Te-Cl (2)	2,461 (2)		
Te-Cl (3)	2,520 (2)		
O (1)-C (4)	1,250 (8)		
O (11)-C (15)	1,360 (8)		
O (11)-C (18)	1,426 (10)		
O (21)-C (8)	1,334 (9)		
O (21)-C (11)	1,423 (11)		
C (1)-C (2)	1,504 (8)		
C (2)-C (3)	1,347 (9)		
C (2)-C (12)	1,454 (9)		
C (3)-C (4)	1,455 (9)		
C (4)-C (5)	1,470 (9)		
C (12)-C (13)	1,374 (9)		
C (12)-C (17)	1,406 (9)		
C (13)-C (14)	1,389 (10)		
C (14)-C (15)	1,367 (10)		
C (15)-C (16)	1,401 (10)		
C (16)-C (17)	1,381 (10)		
C (5)-C (6)	1,388 (10)		
C (5)-C (10)	1,402 (10)		
C (6)-C (7)	1,364 (10)		
C (7)-C (8)	1,406 (11)		
C (11)-C (9)	1,399 (12)		
C (9)-C (10)	1,369 (10)		
C (1)-Te-O (1)	77,8 (2)	C (14)-C (15)-C (16)	119,0 (6)
C (1)-Te-Cl (1)	92,0 (2)	C (17)-C (16)-C (15)	119,9 (6)
O (1)-Te-Cl (1)	169,80 (15)	C (16)-C (17)-C (12)	121,7 (6)
C (1)-Te-Cl (2)	88,5 (2)	C (1)-Te-Cl (3)	85,5 (2)
O (1)-Te-Cl (2)	91,20 (16)	O (1)-Te-Cl (3)	90,74 (16)
Cl (1)-Te-Cl (2)	88,50 (8)	Cl (1)-Te-Cl (3)	88,43 (8)
Cl (2)-Te-Cl (3)	173,16 (7)	C (6)-C (5)-C (10)	118,3 (6)
C (4)-O (1)-Te	128,6 (4)	C (6)-C (5)-C (4)	119,3 (6)
C (15)-O (11)-C (18)	117,5 (6)	C (10)-C (5)-C (4)	122,4 (6)
C (8)-O (21)-C (11)	119,2 (7)	C (7)-C (6)-C (5)	122,2 (7)
C (2)-C (1)-Te	117,1 (4)	C (5)-C (6)-C (7)	119,2 (7)
C (3)-C (2)-C (11)	122,0 (6)	O (21)-C (8)-C (9)	116,2 (7)
C (3)-C (2)-C (1)	120,4 (6)	O (21)-C (8)-C (7)	124,5 (7)
C (12)-C (2)-C (1)	117,4 (6)	C (9)-C (8)-C (7)	119,4 (7)
C (2)-C (3)-C (4)	125,0 (6)	C (10)-C (9)-C (8)	120,4 (7)
O (1)-C (4)-C (3)	122,0 (6)	C (15)-C (14)-C (13)	120,1 (7)
O (1)-C (4)-C (21)	117,4 (6)	O (11)-C (15)-C (14)	126,1 (7)
C (3)-C (4)-C (21)	120,6 (6)	O (11)-C (15)-C (16)	114,9 (6)
C (13)-C (12)-C (17)	116,4 (6)	C (9)-C (10)-C (5)	120,6 (7)
C (13)-C (12)-C (2)	122,5 (6)	C (12)-C (13)-C (14)	122,8 (7)
C (17)-C (12)-C (2)	121,1 (6)		



## Capítulo 7 – Docking das dipnonas em Catepsina B, K, L e S

Neste capítulo são apresentados os resultados dos estudos da formação dos complexos formados entre as catepsinas e os compostos descritos no Capítulo 6, as dipnonas.

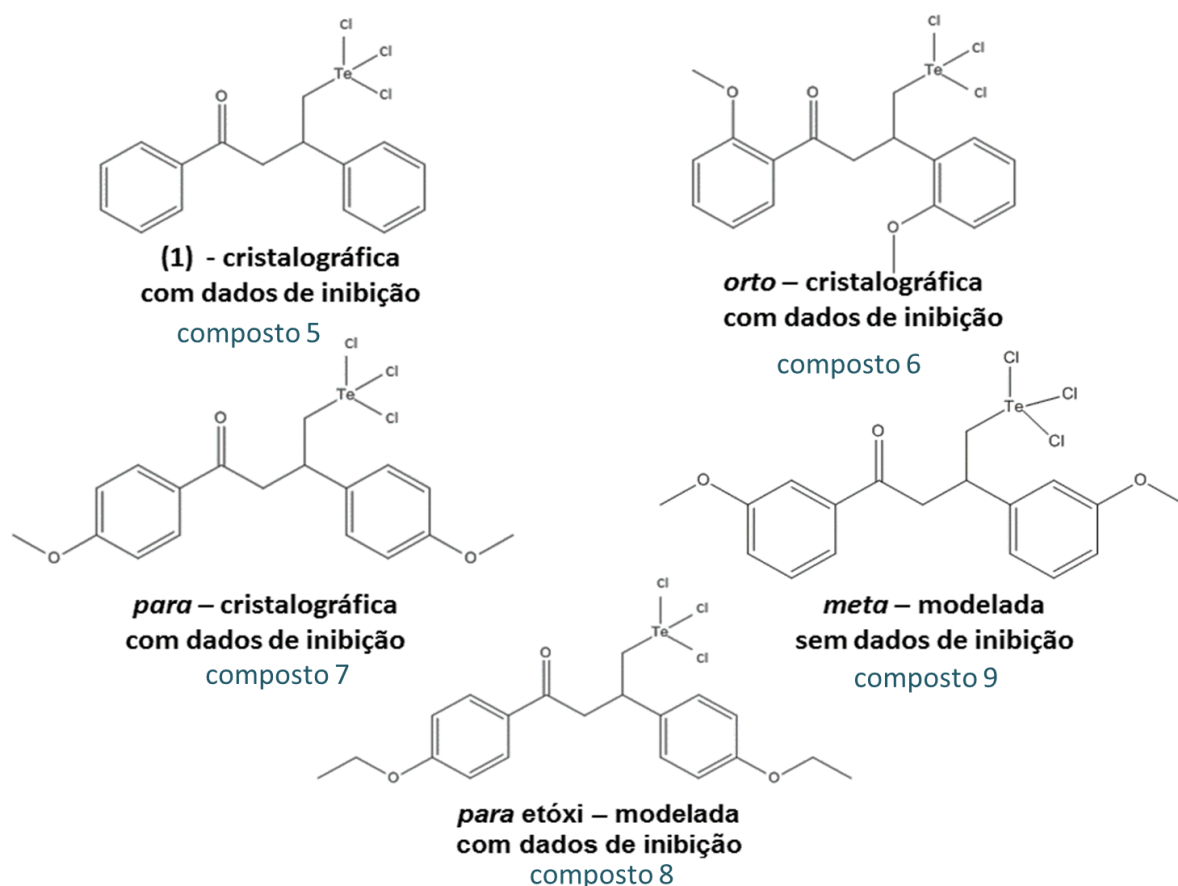


FIGURA 7.1 – Dipnonas estudadas.

Em cada caso o procedimento para o cálculo de *docking* foi realizado como descrito no Capítulo 3:

- estudo do melhor grupo de saída (haletos) do composto;
- estudo da melhor conformação do composto quanto à interação Te-O intramolecular, uma possibilidade é a cristalográfica na qual há uma interação secundária intramolecular Te...O; a outra conformação é a aberta na qual o átomo de oxigênio está rodado numa posição ca. 180° da

anterior. Em todos os casos, a melhor conformação foi a aberta e estes resultados serão apresentados no trabalho.

No Capítulo 6 foram descritas as estruturas cristalográficas das dipnonas **5**, **6** (*orto*) e **7** (*para*). Para a estrutura **8** (*para* etóxi) não foi possível obter o cristal e então foi modelada com base nos dados cristalográficos das três estruturas resolvidas.

## 7.1 – *Docking* das dipnonas em Catepsina S

Como mencionado no Capítulo 1, um inibidor será mais eficiente se ocupar os subsítios S2 e S3 nas catepsinas S (TURKENBURG et al., 2002; WARD et al., 2002; AMERIKS et al., 2010). Espera-se portanto que o composto com potencial inibitório desta protease ocupe estes subsítios.

A Tabela 7.1, mostra os dados de atividade inibitória obtidos por Cunha e colaboradores (2009). Na tabela pode ser destacado o composto 6 como o de maior poder inibitório da catepsina S.

**TABELA 7.1 – Constantes de segunda ordem de inibição para inibição da catepsina S (extraído de CUNHA et al., 2009)**

Composto	$K_3$ ( $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ )
composto 5 - Dipnona (1)	$24,5 \pm 4,3$
composto 6 - Dipnona orto	$1000 \pm 125$
composto 7 - Dipnona para	$8,7 \pm 0,7$
composto 8 - Dipnona para etóxi	$27,5 \pm 3,8$

A Tabela 7.2 apresenta as distâncias obtidas Te-SG como resultado dos cálculos de docking para as dipnonas na catepsina S, onde foram avaliadas a conformação aberta e a fechada e, simultaneamente, a saída do grupo que favorece a melhor condição de formação da ligação covalente Te-SG. Os resultados em destaque são aqueles das poses selecionadas para cada composto.

**TABELA 7.2 – Distâncias Te-SG-Cys25 para as dipnonas na Catepsina S**

Conformação fechada		Conformação aberta	
Complexos com Catepsina S	Dist Te-SG (Å)	Dist Te-SG (Å)	Complexos com Catepsina S
composto 5 -F-Te -S	3,99	3,39	composto 5 -A-Te -S
composto 5 -F-Te-Cl1-Cl2	3,86	<b>3,15</b>	<b>composto 5 -A-Te-Cl1-Cl2</b>
composto 5 -F-Te-Cl1-Cl3	3,98	3,66	composto 5 -A-Te-Cl1-Cl3
composto 5 -F-Te-Cl2-Cl3	3,94	3,21	composto 5 -A-Te-Cl2-Cl3
composto 6 -F-Te -S	4,22	3,05	composto 6 -A-Te
composto 6 -F-Te-Cl1-Cl2	3,39	<b>2,99</b>	<b>composto 6 -A-Te-Cl1-Cl2</b>
composto 6 -F-Te-Cl1-Cl3	4,07	3,11	composto 6 -A-Te-Cl1-Cl3
composto 6 -F-Te-Cl2-Cl3	4,19	3,09	composto 6 -A-Te-Cl2-Cl3
composto 7 - F-Te	3,80	3,54	composto 7 - A-Te
composto 7 - F-Te-Cl1-Cl2	3,62	<b>2,93</b>	<b>composto 7 - A-Te-Cl1-Cl2</b>
composto 7 - F-Te-Cl1-Cl3	3,90	3,47	composto 7 - A-Te-Cl1-Cl3
composto 7 - F-Te-Cl2-Cl3	3,73	3,74	composto 7 - A-Te-Cl2-Cl3
composto 8 - F-Te	3,73	3,39	composto 8 - A-Te
composto 8 - F-Te-Cl1-Cl2	3,19	<b>2,99</b>	<b>composto 8 - A-Te-Cl1-Cl2</b>
composto 8 - F-Te-Cl1-Cl3	3,97	3,03	composto 8 - A-Te-Cl1-Cl3
composto 8 - F-Te-Cl2-Cl3	3,93	3,81	composto 8 - A-Te-Cl2-Cl3
composto 9 -F-Te -S	3,22	2,93	composto 9 -A-Te -S
composto 9 -F-Te-Cl1-Cl2	3,36	3,05	composto 9 -A-Te-Cl1-Cl2
composto 9 -F-Te-Cl1-Cl3	3,99	2,93	composto 9 -A-Te-Cl1-Cl3
composto 9 -F-Te-Cl2-Cl3	3,98	<b>3,00</b>	<b>composto 9 -A-Te-Cl2-Cl3</b>

Observa-se, de forma geral que a conformação aberta parece a mais provável. Para decidir qual o melhor composto em cada caso também foram consideradas a energia, a pose e a ocupação ou não dos subsítios S2 e S3.

Os resultados para os compostos **7** e **8** são apresentados na Figura 7.2, e são os complexos de energia  $-45,1$  e  $-47,0$  kcal mol<sup>-1</sup>, respectivamente. Dois pontos a serem destacados são que nenhum dos compostos ocupa o subsítio S3, que parece ser uma exigência para boa atividade inibitória (TURKENBURG et. al., 2002; WARD et al., 2002; AMERIKS et al., 2010) e eles estão numa conformação diferente dos outros 3 compostos estudados, como será visto a seguir.

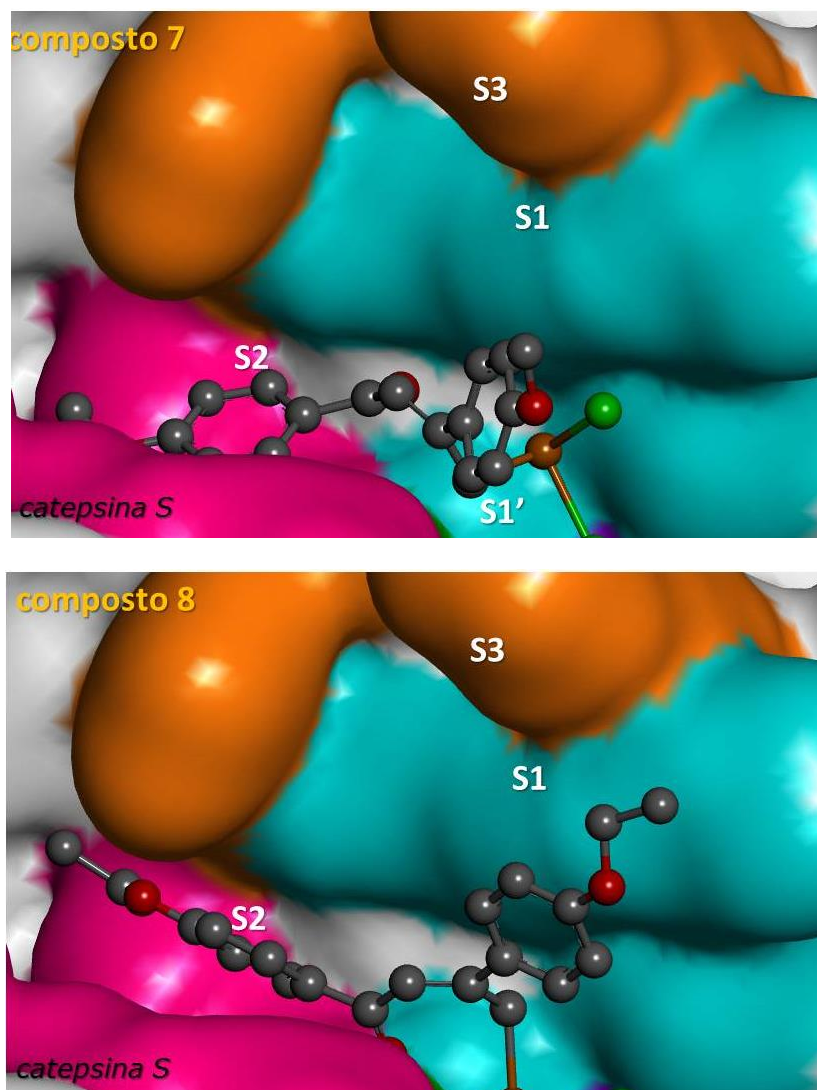


FIGURA 7.2 – Os compostos **7** e **8** não ocupam o subsítio S3, indicando que não tem potencial para serem bons inibidores de cathepsina S. Os hidrogênios não são apresentados para maior clareza da figura.

Os resultados de *docking* dentro da cavidade catalítica para os compostos **5**, **6** e **9** são apresentados na Figura 7.3 onde parecem sobrepostos. Pode ser observado que nos três casos há um anel inserido no subsítio S3 sendo as maiores diferenças a ocupação do subsítio S2 e o posicionamento do átomo de Te. As energias obtidas para os complexos foram  $-54,14$ ;  $-52,69$ ; e  $-53,14$  kcal mol<sup>-1</sup> para os compostos **5**, **6** e **9**, respectivamente. Esta primeira análise dos resultados, ou seja, da pose e energia, não permite desenhar um modelo para prever as diferenças de atividade e isso também não possibilita prever sobre o composto **9** cuja atividade não foi determinada.

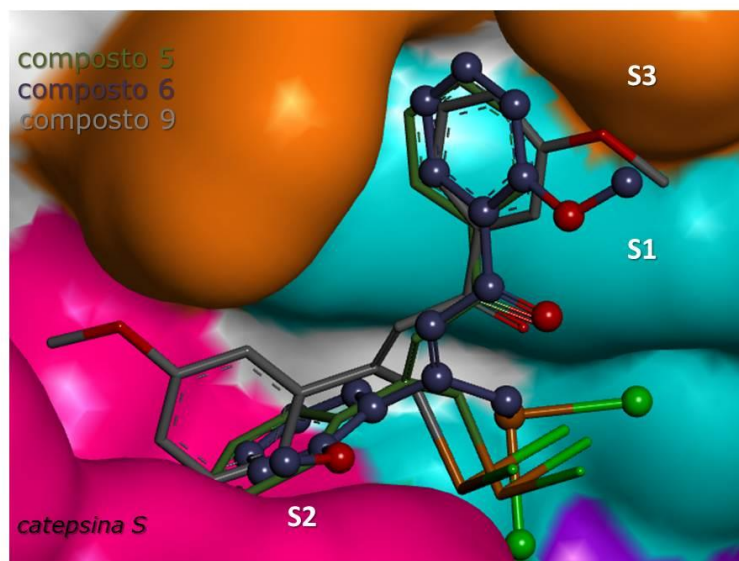


FIGURA 7.3 – Os compostos **5**, **6** e **9** dentro da cavidade catalítica parecem sobrepostos, principalmente o anel inserido no subsítio S3 e com diferenças na ocupação do subsítio S2 e no posicionamento do átomo de Te. Os compostos **5** e **9** estão representados em *stick* e o composto **6** em *ball and stick*. Os hidrogênios não são apresentados para maior clareza da figura.

O próximo passo é a análise das interações para tentar obter um padrão de distinção (Tabela 7.3).

**TABELA 7.3 – Aminoácidos distribuídos por subsítios da cathepsina S que interagem com os compostos 5, 6 e 9**

composto	S1				S2				S3			S1'	
	G23	C25	W26	G68	G69	M71	V162	N163	G165	G62	K64	F70	H164
5	x	x		x		x				x		x	
6	x	x	x	x	x		x	x		x	x	x	
9	x	x		x		x				x	x	x	x

\*em amarelo estão destacados os que fazem algum tipo de interação  $\pi$

Em relação ao subsítio S1, o composto **6** faz interações adicionais com Trp26 e Gly69. Já no subsítio S2, o composto **5** faz interações com Met71 enquanto o composto **6** faz com Val162 e Asn163. No subsítio S3, a principal característica é que todos interagem com a Phe70, fazendo interação do tipo  $\text{CH}\cdots\pi$ .

É necessário agora correlacionar estas interações com a estrutura da proteína como um todo. A cisteína catalítica, Cys25, se posiciona em um canal ladeado por duas fitas  $\beta$ . Uma delas contém os resíduos de aminoácido Val162,

Asn162 e His164 (domínio R); na outra fita  $\beta$  estão o Phe70 e a Met71(domínio L). As Figuras 7.4 e 7.5 mostram os compostos **5** e **6**, respectivamente, posicionados no sítio ativo entre as fitas  $\beta$ .

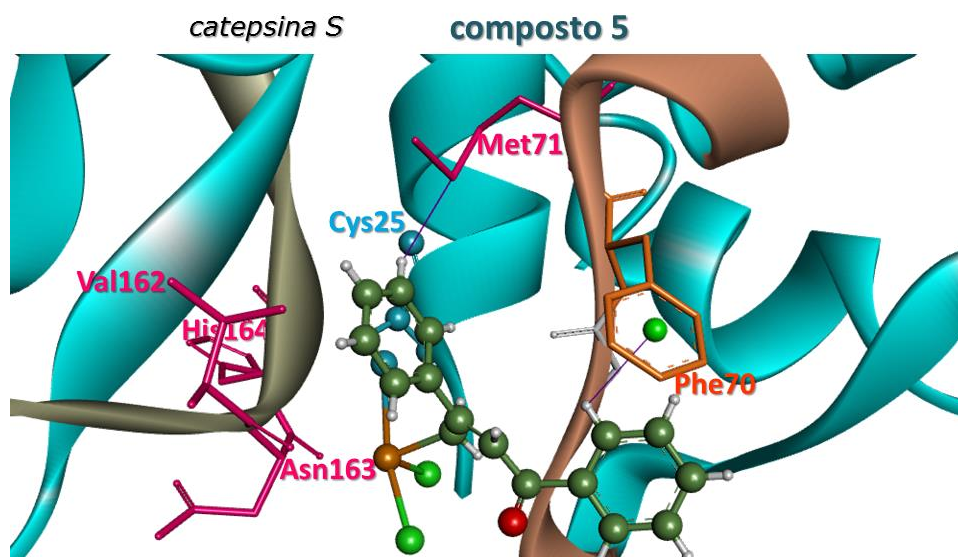


FIGURA 7.4 – O composto **5**, representado em *ball and stick*, dentro da cavidade catalítica da cathepsina S. Ao fundo da cavidade encontra-se a Cys25 que se liga covalentemente ao átomo de Te do composto **5**, com Te-SG = 3,15 Å. São mostradas uma interação do tipo CH... $\pi$  com Phe70 (3,54 Å) e outra com a Met71 (SD-H = 2,78 Å).

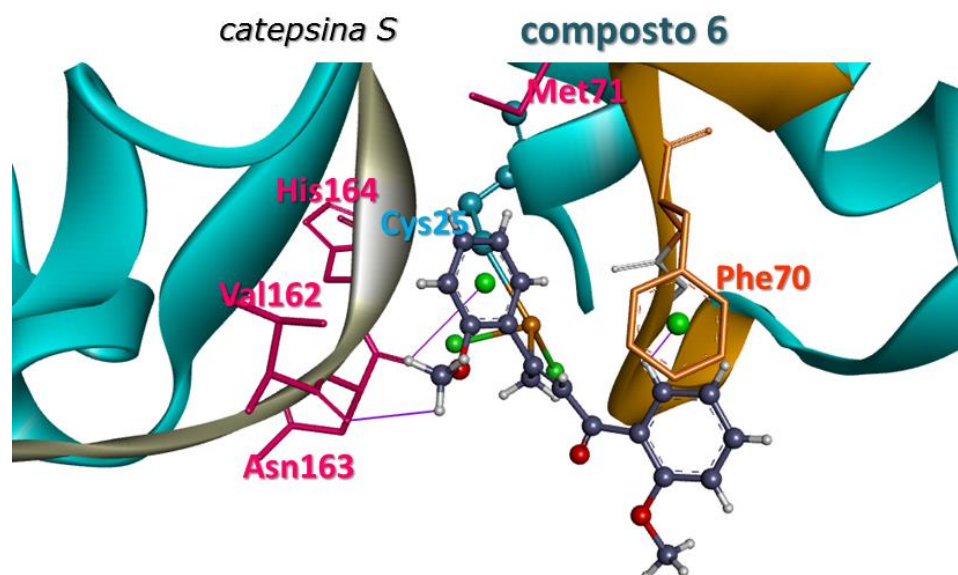


FIGURA 7.5 – O composto **6**, representado em *ball and stick*, dentro da cavidade catalítica da cathepsina S. Ao fundo da cavidade encontra-se a Cys25 que se liga covalentemente ao átomo de Te do composto **6**, com Te-SG = 2,99 Å. São mostradas uma interação do tipo CH... $\pi$  com Phe70 (3,54 Å) e outra Ans163 (3,77 Å) com a Val162 (O-H da metoxila = 2,46 Å).



As Figuras 7.4 e 7.5 mostram que o composto **5** está apoiado em uma única fita  $\beta$ , enquanto que o composto **6** interage com as duas fitas  $\beta$ , bloqueando desta forma a entrada do canal que dá acesso à Cys25, a cisteína catalítica. Um comportamento similar foi sugerido anteriormente (CUNHA et al., 2006) para a inibição por outro composto de telúrio frente à catepsina B. Entre dois compostos, o de maior atividade inibitória era capaz de fechar a entrada do canal enquanto que o de menor atividade não.

Outro ponto agora é em relação ao composto **9** que não tem atividade medida. Na Figura 7.6 pode-se observar que o comportamento deste composto é similar ao do composto **5**, apoiando-se em uma única fita. Dessa forma, é possível sugerir que o composto apresentaria uma atividade inibitória similar à do composto **5**.

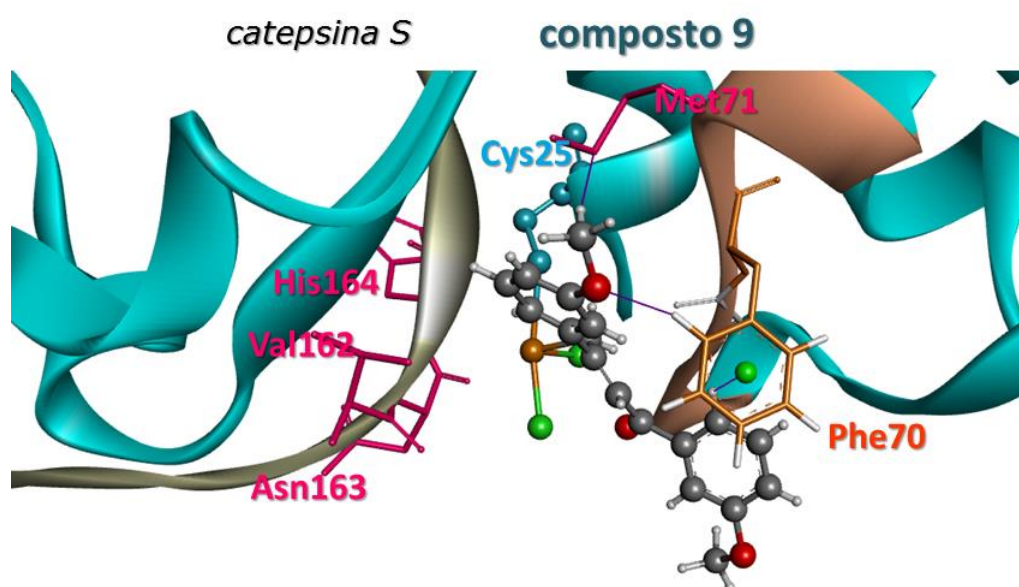


FIGURA 7.6 – O composto **9**, representado em *ball and stick*, dentro da cavidade catalítica da catepsina S. Ao fundo da cavidade encontra-se a Cys25 que se liga covalentemente ao átomo de Te do composto **9**, com Te-SG = 3,00 Å. São mostradas uma interação do tipo CH... $\pi$  com Phe70 (3,56 Å) e outra com a Met71 (SD-H da metoxila = 3,17 Å).

A Figura 7.7 apresenta o poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) do composto **6**, com a configuração de uma pseudo-bipirâmide monoencapuzada de base pentagonal distorcida, formada pelos átomos C1, Cl2, SG-Cys25, O-Gly23 e o par de elétrons isolados. O ápice da bipirâmide é formado pelos átomos Cl1 e HD-Trp26. O capuz é formado pelo átomo HN-Gly69.

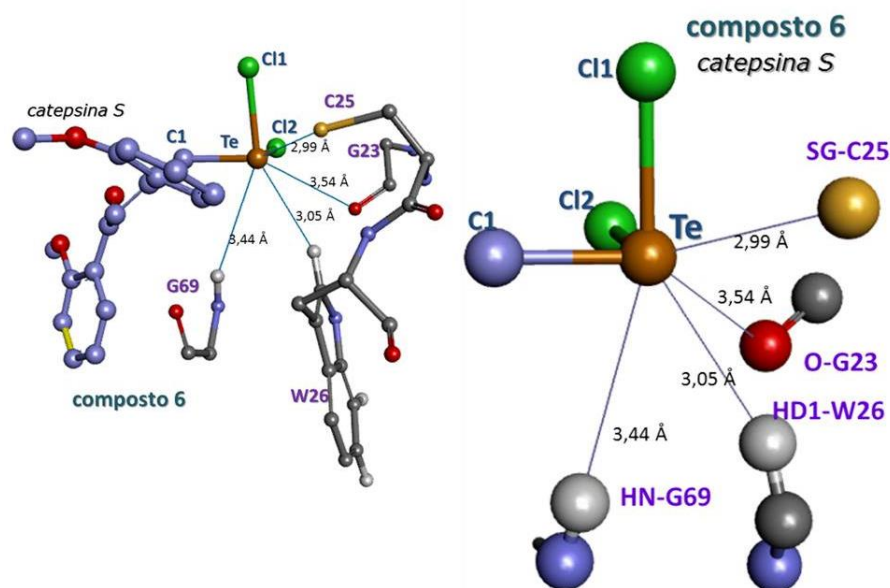


FIGURA 7.7 – Poliedro de coordenação do átomo de Te do composto 6 na catepsina S. A figura da esquerda mostra o composto e os resíduos de aminoácido da catepsina 6 e na direita somente alguns átomos para facilitar a visualização.

## 7.2 – Docking das dipnonas em Catepsina K

A descrição da estrutura da catepsina K foi feita no capítulo 1, e segundo a literatura (ZHAO et al., 1997; LECAILLE, BRÖMME & LALMANACH; 2008) para que um composto seja um bom inibidor seletivo da catepsina K espera-se que ocupe os subsítios S2, S3 e S1'.

A Tabela 7.4, mostra os dados de atividade inibitória obtidos por Cunha e colaboradores (2009) para estes compostos na catepsina K. O composto 6, neste caso, também se apresenta como o melhor inibidor da série.

TABELA 7.4 – Constantes de segunda ordem de inibição para inibição da catepsina K (extraído de CUNHA et al., 2009)	
Composto	$K_3$ ( $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ )
composto 5 - Dipnona (1)	$160 \pm 12$
composto 6 - Dipnona orto	$540 \pm 34$
composto 7 - Dipnona para	$6,5 \pm 0,5$
composto 8 - Dipnona para etóxi	$16,5 \pm 1,4$



Uma análise similar à apresentada para a Catepsina S, foi feita em relação à conformação aberta ou fechada e, da mesma forma que a anterior, a aberta parece ser a mais provável. Para decidir qual o melhor composto em cada caso também foram consideradas a energia, a pose e a ocupação dos subsítios S2, S3 e S1. Na Tabela 7.5 estão indicadas as distâncias Te-SG-Cys25 os complexos com a catepsina K.

<b>TABELA 7.5 - Distância Te-SG-Cys25 (Å)</b>	
composto 5	3,22
composto 6	3,13
composto 7	3,29
composto 8	3,15
composto 9	3,06

Na Figura 7.8 são apresentadas as poses selecionadas para os compostos **7** e **8**. Na figura observa-se que os dois compostos não ocupam o subsítio S1', resultado também mostrado na Tabela 7.6, em que são apontadas as interações dos compostos com os resíduos de aminoácidos da catepsina K. Na Figura 7.9 é apresentada a pose selecionada para o composto **9** que não ocupa o subsítio S3 e outras interações também aparecem na Tabela 7.6. Dessa forma, os resultados obtidos indicam que os compostos **7** e **8** não devem ser bons inibidores da catepsina K, como publicado no trabalho de Cunha e colaboradores (2009). Para o composto **9**, sugere-se que o mesmo também não deverá mostrar boa atividade inibitória.

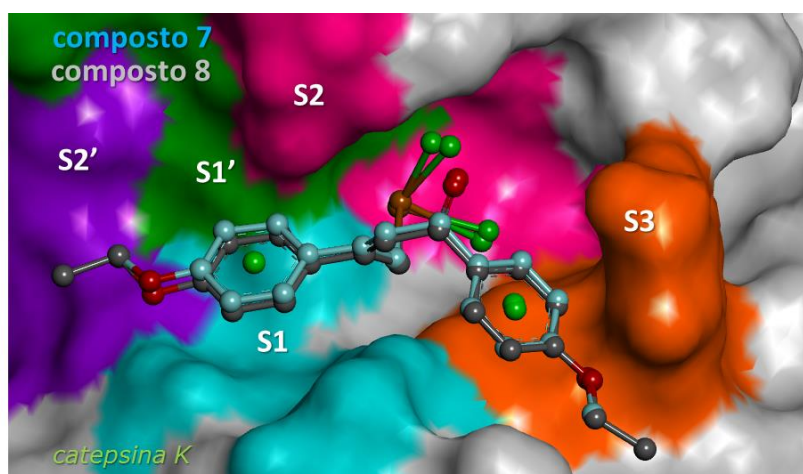


FIGURA 7.8 – Compostos **7** e **8** no sitio ativo da catepsina K. Os dois têm poses similares e não ocupam o subsítio S1'. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza da figura.

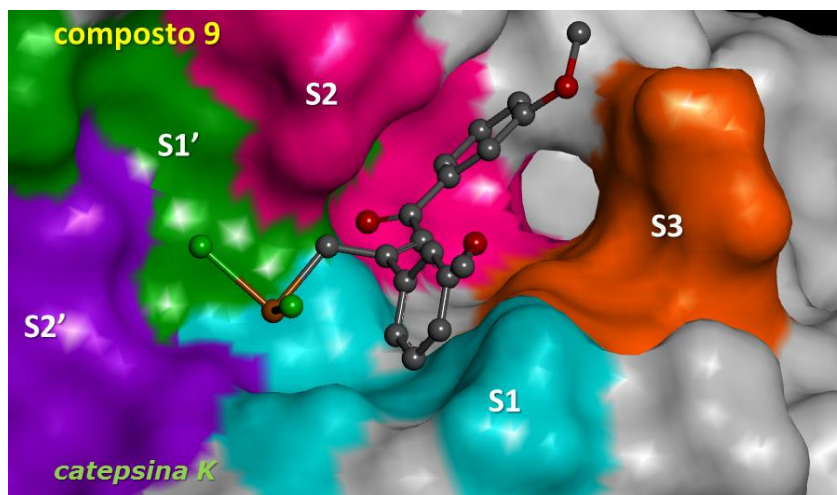


FIGURA 7.9 – Compostos **9** no sitio ativo da catepsina K que não apresenta ocupação no subsítio S3. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza da figura.

TABELA 7.6 – Aminoácidos distribuídos por subsítios da Catepsina K que interagem para os compostos 5, 6, 7, 8 e 9\*

composto	S3		S2			S1				S1'	S2'	
	G66	Y67	L160	N161	A163	G23	C25	W26	G64	G65	H162	Q19
composto 5	x	x		x			x	x			x	
composto 6	x	x		x		x	x	x	x	x	x	
composto 7	x	x	x	x	x	x	x	x				x
composto 8	x	x	x	x	x	x	x	x				x
composto 9			x	x	x	x	x			x	x	x

\*as células em amarelo indicam a existência de interação CH... $\pi$  com o resíduo.

As Figuras 7.10 e 7.11 mostram os resultados para os compostos **5** e **6** respectivamente. Os dois realizam interações com His162 (S1'). Nos dois casos, a interação com o subsítio S2 ocorre somente com o resíduo Asn161.

O composto **5** interage apenas com a cisteína catalítica no subsítio S1 já que o Trp26 não é considerado deste subsítio. O composto **6** interage com todos os aminoácidos do subsítio S1. Assim, pode-se sugerir que por isso a atividade inibitória do composto **5** seja menor que a do composto **6**, e que atividade deste poderia ser ampliada caso pudesse interagir também com Ala163 pertencente ao subsítio S2.

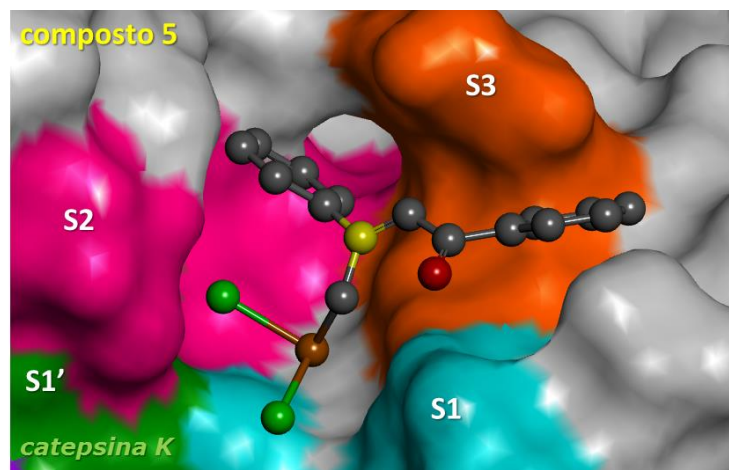


FIGURA 7.10 – Composto **5** no sítio ativo da cathepsina K que interage apenas com Cys25 do sítio ativo (S1). Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza da figura.

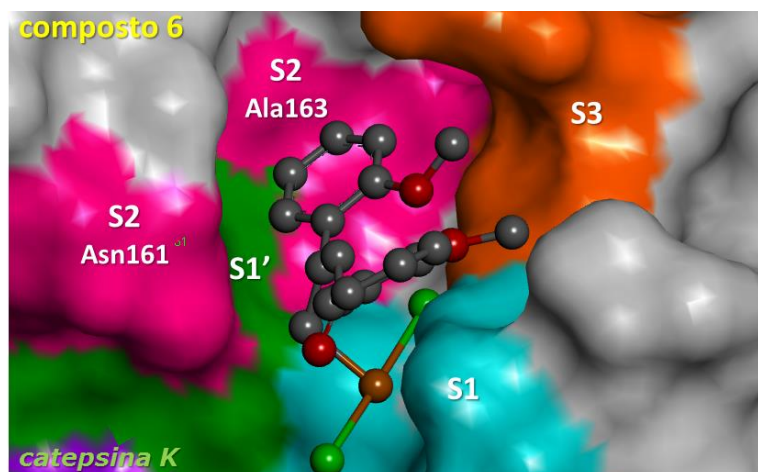


FIGURA 7.11 – Composto **6** no sítio ativo da cathepsina K que interage apenas com Asn161 do subsítio S2. Os hidrogênios foram omitidos para maior clareza da figura.

### 7.3 – Docking das dipnonas em Cathepsina L

Como mencionado no Capítulo 1, há diferenças estruturais do subsítio S2 da cathepsina L em relação à cathepsina K. A Leu205 da cathepsina K é substituída pela Ala214 na cathepsina L (MARQUIS et al., 2005), ou seja, o subsítio S2 da cathepsina L é mais espaçoso, podendo acomodar inibidores maiores nesta área. Inibidores potentes desta protease devem ocupar os subsítios S2, S3 e S1'.

Os estudos de inibição mostram baixa atividade para estes compostos na cathepsina L (CUNHA et al., 2009) e são apresentados na Tabela 7.7.

TABELA 7.7 - Constantes de segunda ordem de inibição para inibição da catepsina L (extraído de CUNHA et al., 2009)	
Composto	$K_3$ ( $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ )
composto 5 - Dipnona (1)	$39,0 \pm 3,8$
composto 6 - Dipnona orto	$7,1 \pm 0,9$
composto 7 - Dipnona para	$63,0 \pm 2,1$
composto 8 - Dipnona para etóxi	$57,0 \pm 6,4$

Os resultados dos estudos de docking são apresentados na Figura 7.12.

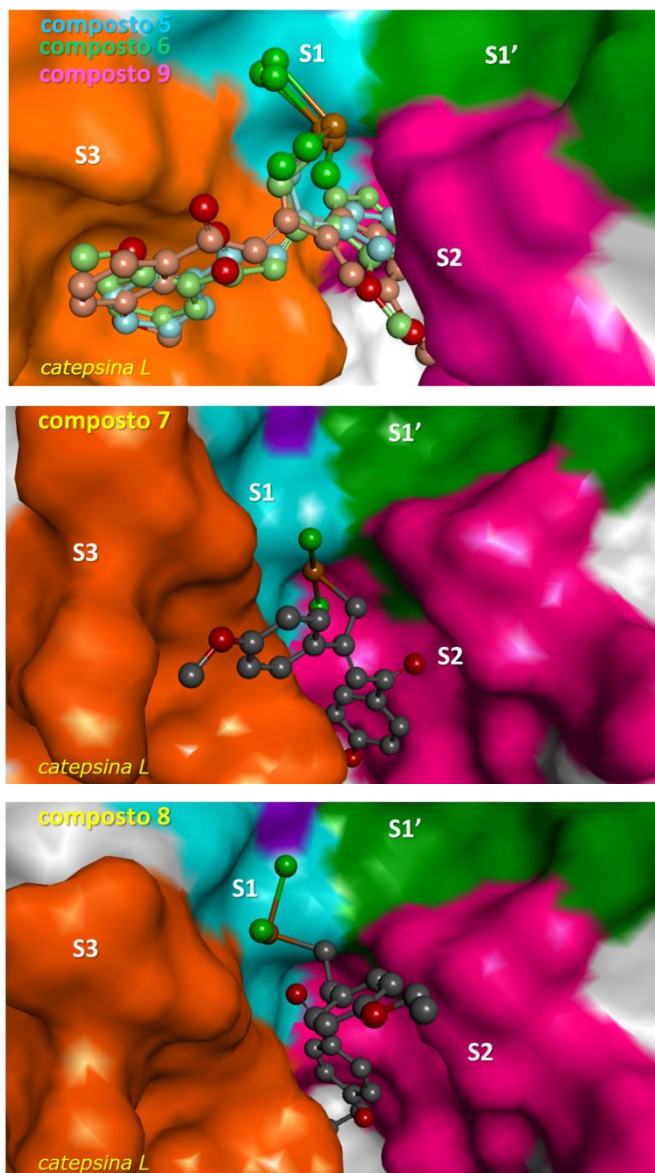


FIGURA 7.12 – Os compostos 5, 6 e 9 apresentam orientação similar dentro da cavidade catalítica. Os composto 7 e 8 apresentam poses diferentes dos demais. Nenhum dos compostos ocupa o subsítio S1' embora ocupem S2, S3.

O subsítio S1' é formado nesta estrutura pelos resíduos de aminoácido His163 e Gly164 e nenhum dos compostos estudados interage com estes dois

resíduos, podendo explicar a baixa atividade apresentada, embora ocupem os subsítios S2 e S3.

#### 7.4 – Docking das dipnonas em Catepsina B

Os estudos mostram que no caso da catepsina B, os inibidores potentes devem ocupar os subsítios S1' e S2' (WATANABE et al., 2006; CARACELLI et al., 2012). O subsítio S2' é aquele que está relacionado ao loop de oclusão. Os estudos de inibição mostram baixa atividade para estes compostos na catepsina B (CUNHA et al., 2009) e são apresentados na Tabela 7.8.

<b>Composto</b>	<b><math>K_3</math> (mM<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>)</b>
composto 5 - Dipnona (1)	27,0 ± 4,2
composto 6 - Dipnona orto	15,0 ± 2,1
composto 7 - Dipnona para	2,0 ± 0,4
composto 8 - Dipnona para etóxi	2,5 ± 0,1

Os cálculos de docking foram feitos e as poses dos compostos foram selecionadas, com base nos mesmos procedimentos utilizados para as outras catepsinas. A conformação chamada de aberta foi a mais favorável, da mesma forma que para as catepsinas S, K e L. Os resultados estão apresentados na Figura 7.13.



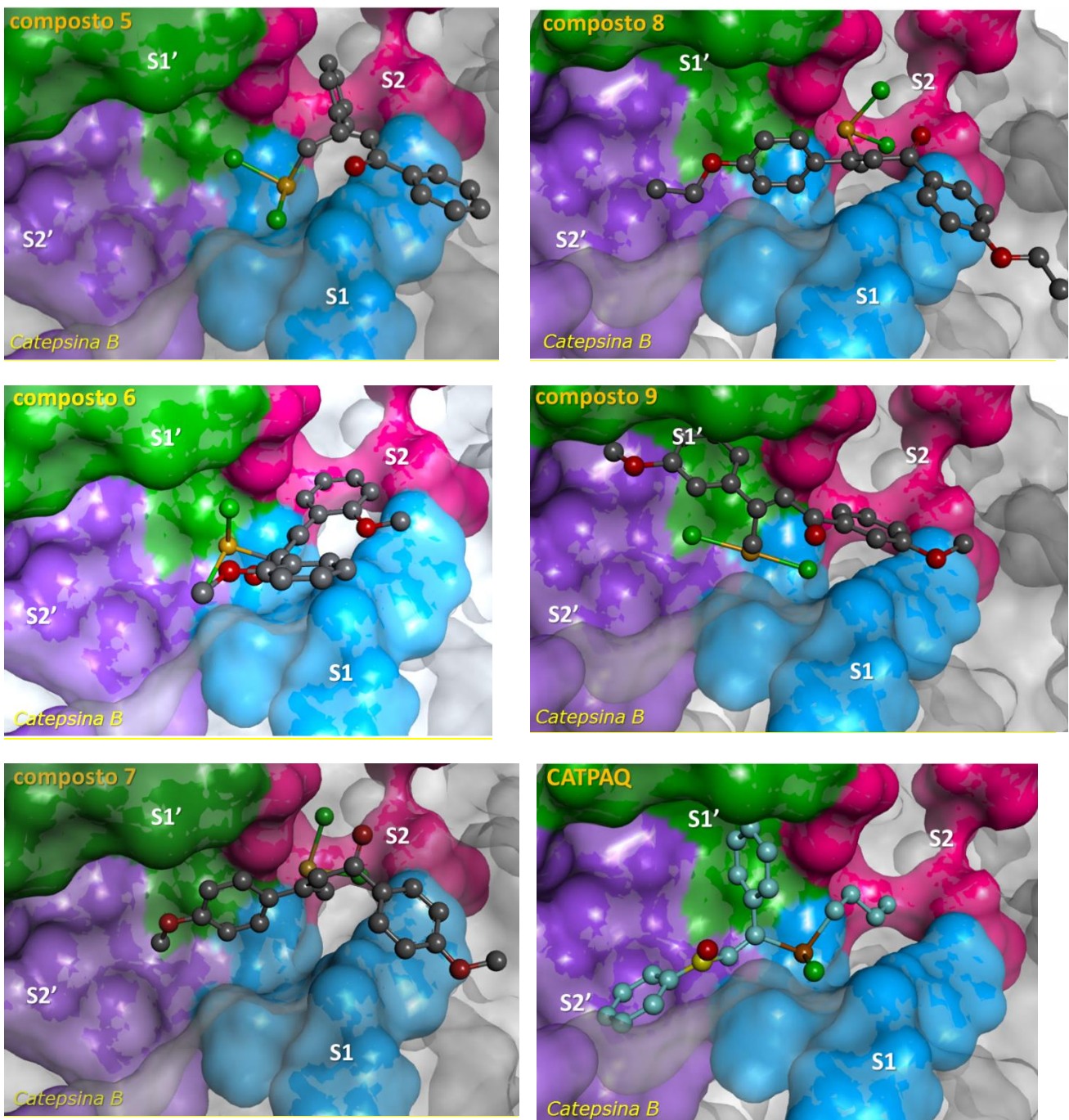


FIGURA 7.13 – Os compostos **5**, **6**, **7**, **8** e **9** na catepsina B. O composto 4,4-dicloro-1,3-difenil-4-tellurooct-2-en-1-ona é um inibidor potente de catepsina B e ocupa os subsítios S1' e S2' (CARACELLI et al., 2012). Os compostos 5,6,7 e 8 tem baixa atividade inibitória e não ocupam S1' e S2'. O composto 9 pode apresentar alguma atividade.

Estudos anteriores desenvolvidos em parceria com o BioMat-LaCrEMM (CARACELLI et al., 2012) mostraram que o composto 4,4-dicloro-1,3-difenil-4-tellurooct-2-en-1-ona, código CSD CATPAQ, é um inibidor potente de catepsina B e ocupa os subsítios S2, S1, S1' e S2' onde faz interações com os resíduos His110 e His111 do loop de oclusão, fato este que ajuda a bloquear a entrada do canal de

acesso ao sítio ativo. Os compostos **5**, **6**, **7** e **8** têm baixa atividade inibitória e não ocupam S1' e S2'. O composto **9** pode apresentar alguma atividade.

A dipnona *meta* estudada (composto **9**), da qual não se tem dados de inibição, mostrou-se a mais promissora como inibidor da catepsina B. Com a saída do cloro Cl2, há a formação da ligação covalente Te-S-Cys29 de 3,01 Å. Esta dipnona ocupa os subsítios S1, incluindo a Gln23, S2, S1' e S2', como apresentado na Figura 7.14.

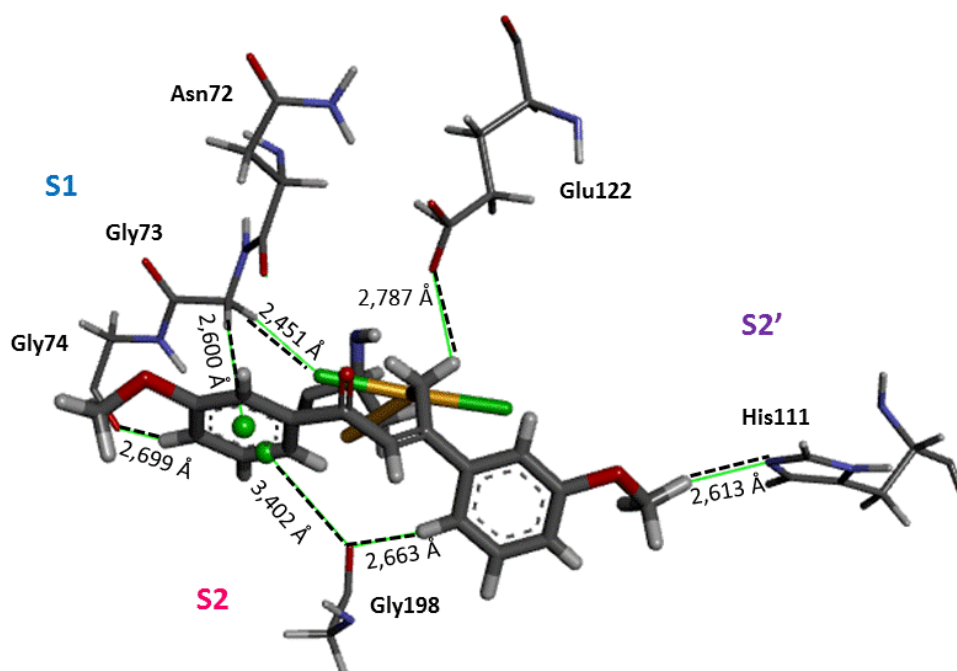


FIGURA 7.14 – Interações do composto **9** com a catepsina B.

Na região do bolsão do oxianion encontra-se o cloro Cl3, e vale destacar que uma das interações observadas é com a His111 participante do loop de oclusão da catepsina B que tem como função, juntamente com a His110, modificar o modo de quebra da ligação peptídica (endo/exopeptidase).

Na Tabela 7.9 estão apresentadas as interações do composto **9** com os resíduos de aminoácido da catepsina B.

**TABELA 7.9 - Interações do composto 9 com a Catepsina B**

GOLDScore:  $-48,37 \text{ kcal mol}^{-1}$   $\Delta$ Gligação:  $-4,21 \text{ kcal mol}^{-1}$

Subsítio	Para - catepsina	distância (Å)	átomo ligante	átomo receptor	ângulo (°)
<b>S2'</b>	C18-H18B - His111: NE2	2,613	H18B	N	158
<b>S1'</b>	C15-H15 - Gly197: O	2,305	H15	O	121
	C13 - His199: ND-HD1	2,916	C13	H	119
<b>S1</b>	C13 - Gln23: NE2-HE21	2,824	C13	H	132
	C11 - Gly27: O	2,778	C11	O	
	Te - Gly27: CA-HA	3,009	Te	HA	116
	Te - Cys25: SG	3,001	Te	S	
	O1 - Asn72: O	3,359	O1	O	
	Ct - Gly73: CA-HA1	2,600	Ct.	H	134
<b>S2</b>	C11 - Gly73: CA-HA2	2,451	C11	H	152
	C8-H8 - Gly74: O	2,699	H8	O	146
	C16-H16 - Gly198: O	2,163	H16	O	157
	Ct.C9-C10 - Gly198: O	3,402	Ct.	O	
	C1-H1A - Glu122: OE2	2,787	H1A	O	112

O poliedro de coordenação ao redor do telúrio está apresentado na Figura 7.15.

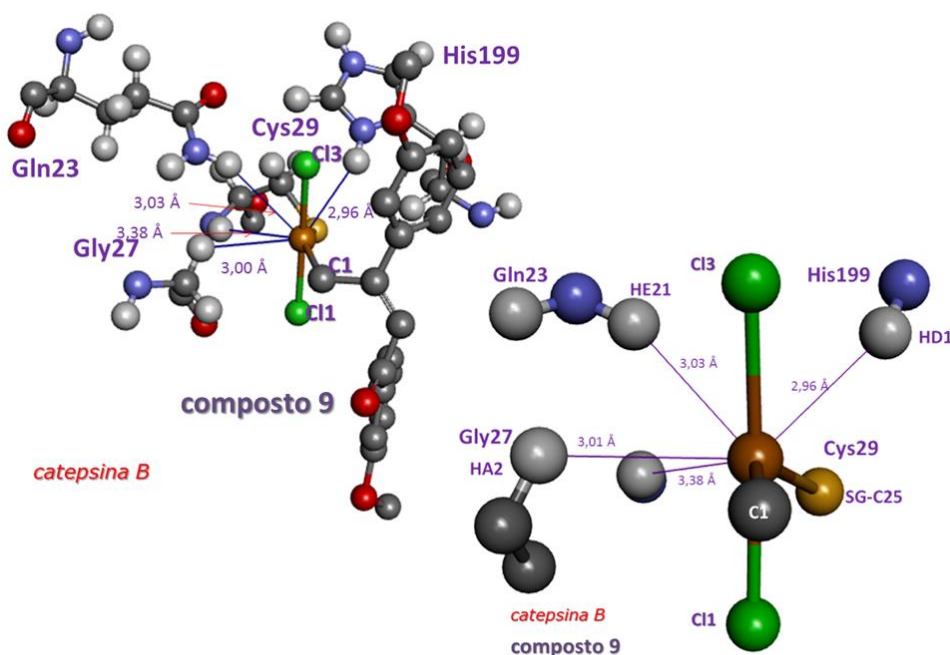


FIGURA 7. 15 – Poliedro de coordenação ao redor do átomo de Te(IV) e algumas outras interações com os cloros ligados ao telúrio.



O poliedro observado na figura 7.15 é uma  $\psi$  – bipirâmide de base pentagonal bi-encapuzada com a base pentagonal formada pelos átomos C1, SG-Cys25, HA2-Gly27, HN-Cys29 e o par de elétrons isolados. Os ápices da bipirâmide são formados pelos átomos Cl3 e Cl1. Finalmente, os dois capuzes são os átomos HE21-Gln23 e HD1-His199.

Como a dipnona meta é a única que interage com os dois subsítios S1' e S2' pode-se prever que terá uma boa atividade inibitória.

Finalmente, em todos os casos, o melhor grupo abandonador é aquele que deixa um espaço maior para o telúrio poder fazer a ligação Te-SG-Cys29.

## Capítulo 8 – Conclusões

Neste trabalho foi estudado o comportamento estrutural de compostos de telúrio em dois meios: no cristal e em meio biológico.

As estruturas cristalográficas mostraram que todos os compostos estudados se arranjam em dímeros centrossimétricos envolvendo interações secundárias do tipo Te...halogênio e Te...oxigênio. O número de coordenação ao redor do átomo de telúrio, em todos os casos, é sete e a forma do poliedro é o de uma  $\psi$  - bipirâmide de base pentagonal, com o par de elétrons isolados do telúrio ocupando uma das posições na base. A análise estrutural mostrou que, nos casos aqui apresentados, os halogênios ligados ao átomo de telúrio encontram-se em ambientes químicos diferentes.

Com relação aos poliedros de coordenação ao redor do telúrio nas catepsinas foram obtidos resultados diferentes. No caso dos compostos  $(pto)Te[C(H)=C(Cl)Ph]X_2$  foi observado que era o mesmo no estado cristalino e no sistema biológico. Nos outros casos, diversos poliedros foram obtidos, como por exemplo  $\psi$  - bipirâmide de base pentagonal mono e bi-encapuzada. O que deve ser destacado é que em todos os casos o par de elétrons isolados do Te(IV) são estereoquimicamente ativos.

As estruturas cristalográficas dos compostos de telúrio serviram de ponto de partida tanto para os cálculos de docking como para a modelagem molecular de compostos que não puderam ser cristalizados e, portanto, não tiveram suas estruturas determinadas. As estruturas cristalográficas das proteínas foram obtidas do PDB ou PDBSum.

Para a realização dos experimentos *in silico* foi necessário determinar qual seria o melhor grupo de saída e a que distância o átomo de telúrio pode se aproximar do enxofre e então formar a ligação covalente Te-SG, onde SG é o enxofre da cisteína catalítica (Cys29 na catepsina B e Cys25 nas demais catepsinas).

Deve ser ressaltado que simplesmente a análise dos resultados de pose e energia dos complexos não permite estabelecer um modelo para explicar as diferenças de atividade dos compostos ou predizer sua possível atividade inibitória.

Para isso é imprescindível avaliar as interações com os resíduos de aminoácidos e o posicionamento destes nos subsítios das proteases e compará-los, quando possível, com a estrutura cristalográfica da proteína complexada com um inibidor.

De forma que, após a realização dos cálculos de docking a parte mais crítica do trabalho é a de análise, utilizando visualização gráfica dos resultados. Para isso é imprescindível o entendimento estrutural e funcional das proteases em questão bem como dos tipos de interações possíveis entre a proteína e os diferentes ligantes. Em particular deve-se conhecer a constituição de cada subsítio das enzimas e quais destes são de importância, isto para determinar porque um composto estudado é um bom inibidor específico ou, em outros casos, poder prever a possível atividade inibitória de um composto.

Os cálculos de *docking* mostraram que em todos os casos os ligantes formaram complexos com as catepsinas estudadas.

No caso das três moléculas de fórmula geral  $(pto)Te[C(H)=C(Cl)Ph]X_2$  ( $X = Cl, Br, I$ ) que são estruturalmente semelhantes à molécula dicloro-((Z)-2-clorofenilvinil)-4-metoxifenil-telúrio(IV), de atividade inibitória conhecida frente à catepsina B, a comparação entre os resultados de *docking* mostrou que todas apresentam a mesma pose e fazem praticamente as mesmas interações no sítio catalítico, em especial com os subsítios S1' e S2'. Portanto, neste caso foi possível prever que estas moléculas deverão apresentar poder de inibição da catepsina B, similar ao da molécula conhecida. Mais ainda, foi estudada uma molécula, butildiiodo[(1Z)-(2-iodopent-1-en-1-il)- $\lambda^4$ -telano], com cadeias alifáticas ao invés de grupos fenila e os resultados mostraram que não há diferenças maiores nas poses e interações, de forma que não deverá haver diferenças na atividade inibitória.

O estudo realizado com um conjunto de cinco dipnonas, das quais uma, composto **5**, não apresenta substituintes nos anéis fenila, enquanto que as outras, compostos **6** a **9**, têm substituintes nas posições *orto*, *meta* e *para*. Neste caso os trabalhos de *docking* em catepsina B, K, L e S, permitiram propor um modelo para explicar os dados de atividade inibitória dos compostos **5** a **8**, e então, baseado neste modelo, sugerir se há ou não necessidade de testar o composto **9** como inibidor das catepsinas estudadas.

Quando comparados os resultados de docking das cinco dipnonas, dentro de cada protease, não foi observado um padrão de formação do complexo como foi observado nos estudos dos compostos  $(p\text{to})\text{Te}[\text{C}(\text{H})=\text{C}(\text{Cl})\text{Ph}]X_2$ , provavelmente devido aos tamanhos e posições diferentes dos substituintes.

No caso da catepsina S os requisitos para um bom inibidor são a ocupação dos subsítios S2 e S3. O fato que os compostos **7** e **8** não ocupam o subsítio S3 explica porque não são bons inibidores. Os compostos **5**, **6** e **9**, adotam poses similares e ocupam os subsítios S2 e S3, porém o posicionamento na fenda catalítica os diferencia; enquanto **5** e **9** interagem apenas com a fita do domínio L, o composto **6** interage com os resíduos dos domínios L e R, bloqueando desta forma a entrada do canal que dá acesso à Cys25, a cisteína catalítica, e isto explica por que é um bom inibidor, não ocorrendo o mesmo com **5** e **9**.

No caso da catepsina K os requisitos para um bom inibidor são a ocupação dos subsítios S2, S3 e S1'. Como os compostos **7** e **8** não ocupam o subsítio S1', e o composto **9** não ocupa o subsítio S3, isto explicaria o fato de não serem bons inibidores. Os compostos **5** e **6** têm interações com o subsítio S1' e com o resíduo Asn161 do subsítio S2. Além disso, o composto **5** interage apenas com a cisteína catalítica do subsítio S1. Pode-se sugerir que por isso a atividade inibitória do composto **5** seja menor que a do composto **6**, e que atividade deste poderia ser aumentada caso pudesse interagir também com a Ala163.

No caso da catepsina L os requisitos para um bom inibidor são a ocupação dos subsítios S2, S3 e S1'. Nenhum dos compostos estudados, **5** a **9**, interage com resíduos de S1', o que poderia explicar a baixa atividade apresentada, embora ocupem os subsítios S2, S3.

No caso da catepsina B os requisitos para um bom inibidor são a ocupação dos subsítios S2' e S1' e nenhum dos compostos interagiu com resíduos destes subsítios, exceto o composto **9** que deveria ser testado como inibidor.

Os estudos de *docking* molecular são uma poderosa ferramenta que permite prever a provável atividade de um composto, o que em muitos casos evita a realização de experimentos caros, e também permite estabelecer modelos de interação moléculas-proteínas e desta forma utilizar estes resultados para sugerir a síntese de novos compostos com melhor atividade.

## Referências Bibliográficas

ALBECK, A.; WEITMAN, H.; SREDNI, B. & ALBECK, M. "Tellurium compounds: Selective inhibition of cysteine proteases and model reaction with thiols". *Inorg. Chem.*, **37**: 1704, 1998.

ALLEN, F.A. "The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising". *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, **58**: 380, 2002.

ALLEN, F.A. & MOTHERWELL, W.D.S. "Applications of the Cambridge Structural Database in organic chemistry and crystal chemistry". *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, **58**: 407, 2002.

ALTMANN, E.; COWAN-JACOB, S.W. & MISSBACH, M. "Novel purine nitrile derived inhibitors of the cysteine protease cathepsin K". *J. Med. Chem.*, **47**: 5833, 2004.

AMERIKS, M.K.; AXE, F.U.; BEMBENEK, S.D.; EDWARDS, J.P.; GU, Y.; KARLSSON, L.; SUN, S.; THURMOND, R.L. & ZHU, J. "Pyrazole-based cathepsin S inhibitors with arylalkynes as P1 binding elements". *Bioorg. & Med. Lett.*, **19**: 6131, 2009.

ARTAL-SANZ, M. & TAVERNAKARIS, N. "Proteolytic mechanisms in necrotic cell death and neurodegeneration". *FEBS Letters*, **579**:3287, 2005

ASSAD, N.; BETHEL, P.A.; COULSON, M.D.; DAWSON, J.E.; FORD, S.J.; GERHARDT, S.; GRIST, M.; HAMLIN, G.A.; JAMES, M.J.; JONES, E.V.; KAROUTCHI, G.I.; KENNY, P.W.; MORLEY, A.D.; OLDHAM, K.; RANKINE, N.; RYAN, D.; WELLS, S.L.; WOOD, L.; AUGUSTIN, M.; KRAPP, S.; SIMADER, H.; STEINBACHER, S. "Dipeptidyl nitrile inhibitors of Cathepsin L". *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **19**: 4280, 2009.

BECKHAM, T. H.; LU, P.; CHENG, J. C.; ZHAO, D.; TURNER, L. S.; ZHANG, X. & HOFFMAN, S. "Acid ceramidase-mediated production of sphingosine 1-phosphate promotes prostate cancer invasion through upregulation of cathepsin B". *Int. J. Cancer*, **131**(9): 2034, 2012

BECKMANN, J.; DAKTERNIEKS, D.; DUTHIE, A.; FRANÇOIS, R.; SCHÜRMAN, M. & LEWCENKO, N.A. "New insights into the structures of diorganotellurium oxides. The first polymeric diorganotelluroxane [(p-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)<sub>2</sub>TeO]<sub>n</sub>". *Organometallics*, **22**:3257, 2003.

BECKMANN, J.; DAKTERNIEKS, D.; DUTHIE, A. & MITCHELL, C.; SCHÜRMAN, M. "Observation of Te... $\pi$  and X...X bonding in *para*-substituted diphenyltellurium dihalides, (p-Me<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)(p-YC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)TeX<sub>2</sub> (X= Cl, Br, I; Y= H, EtO, Me<sub>2</sub>N)". *Aus. J. Chem.*, **58**:119, 2005.

BELIZAIRE, R. & UNANUE, E. "Targeting proteins to distinct subcellular compartments reveals unique requirements for MHC class I and II presentation". *PNAS*, **106** (41): 17463, 2009.

BioMas - <http://www.biomass-pharma.com>

BRIX K.; DUNKHORST, A.; MAYER, K. & JORDANS, S. "Cysteine cathepsins: Cellular roadmap to different functions". *Biochimie*, **90**: 194, 2008.

BUCK, M.R.; KARUSTIS, D.G.; DAY, N.A.; HONN, K.V. & SLOANE, B.F. "Degradation of extracellular-matrix proteins by human cathepsin B from normal and tumor tissues". *Biochemical Journal*, **282**: 273, 1992.

CAI, J.; ROBINSON, J.; BELSHAW, S.; EVERETT, K.; FRADERA, X.; VAN ZEELAND, M.; VAN BERKOM, L.; VAN RIJNSBERGEN, P.; POPPLESTONE, L.; BAUGH, M.; DEMPSTER, M.; BRUIN, J.; HAMILTON, W.; KINGHORN, E.; WESTWOOD, P.; KERR, J.; RANKOVIC, Z.; ARBUCKLE, W.; BENNETT, J.; JONES, P. S.; LONG, C.; MARTIN I.; A, UITDEHAAG, J.C.M. & MEULEMANS, T. "Trifluoromethylphenyl as P2 for ketoamide-based cathepsin S inhibitors". *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **20**: 6890, 2010.

CARACELLI, I.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; MAGANHI, S.H.; STEFANI, H.A.; GUADAGNIN, R. & TIEKINK, E.R.T. "2-Chlorovinyl tellurium dihalides, (p-tol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]X<sub>2</sub> for X = Cl, Br and I: Variable coordination environments, supramolecular structures and docking studies in cathepsin B". *J. Braz. Chem. Soc.*, **21**(11): 2155, 2010.

CARACELLI, I.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; & TIEKINK, E.R.T. "Supramolecular aggregation patterns based on the bio-inspired Se(lone pair)···π(aryl) synthon". *Coord.Chem.Rev.* **256**: 412, 2012.

CARACELLI, I.; VEGA-TEIJIDO, M.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; CEZARI, M.H.S.; LOPES, J.G.S.; JULIANO, L.; SANTOS, P.S.; COMASSETO, J.V.; CUNHA, R.L.O.R. & TIEKINK, E.R.T. "A tellurium-based cathepsin B inhibitor: molecular structure, modeling, molecular docking, and biological evaluation". *J. Mol. Struc.*, **1013**: 11, 2012.

CARDOSO, J. O. Estudos de Docking de Telurooxetanas em Catepsinas B, K, L e S. – 2011. Anápolis, Programa de Mestrado em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás – UEG, 2011. Dissertação de Mestrado, 140 p.

ČESEN, M. H.; PEGAN, K.; ŠPES, A.; TURK, B. "Lysosomal pathways to cell death and their therapeutic applications". *Exp. Cell Res.*, **18**:1245, 2012.

CHAMBERS, I.; FRAMPTON, J.; GOLDFARB, P.; AFFARA, N.; MCBAIN, W. & HARRISON, P.R. "The structure of the mouse glutathione peroxidase gene: the selenocysteine in the active site is encoded by the 'termination' codon, TGA". *Embo Journal*, **6**:1221, 1986.

CHAPMAN, H.A.; RIESE, R.J. & SHI, G. "Emerging roles for cysteine proteases in human biology". *Ann. Rev. Physiol.*, **59**: 63, 1997.

CHASTEEN, T.G.; FUENTES, D.E.; TANTALEÁN, J.C. & VÁSQUEZ, C.C. "Tellurite: history, oxidative stress, and molecular mechanisms of resistance". *FEMS Microbiol. Rev.*, **33**: 820, 2009.

CHEN, M.; SU, S.; LIN, C.; TSAI, C.; YANG, S. & WENG, C. "Cathepsin B SNPs elevate the pathological development of oral cancer and raise the susceptibility to carcinogen-mediated oral cancer". *Human Genetics*, **131**(12):1861, 2012b.

- CHEN, Q.; SHI, J.; YAO, Q.; JIAO, D.; WANG, Y.; HU, H.; WU, Y.; SONG, J.; YAN, J.; WU, L. "Lysosomal membrane permeabilization is involved in curcumin-induced apoptosis of A549 lung carcinoma cells". *Mol. Cell. Biol.*, **359**: 389, 2012a.
- CHOWDHURY, S.F.; SIVARAMAN, J.; WANG, J.; DEVANATHAN, G.; LACHANCE, P.; QI, H.; MÉNARD, R.; LEFEBVRE, J.; KONISHI, Y.; CYGLER, M.; SULEA, T. & PURISIMA, E. O. "Design of noncovalent inhibitors of human cathepsin L. From the 96-residue proregion to optimized tripeptides". *J. Med. Chem.*, **45**: 5321, 2002.
- CHOWDHURY, S.F.; JOSEPH, L.; KUMAR, S.; TULSIDAS, S.R.; BHAT, S.; ZIOMEK, E.; MÉNARD, R.; SIVARAMAN, J. & PURISIMA, E. O. "Exploring inhibitor binding at the S' subsites of cathepsin L". *J. Med. Chem.*, **51**: 1361, 2008.
- COSTA, A.G.; CUSANO, N. E.; SILVA, B. C.; CREMERS, S. & BILEZIKIAN, J. P. "Cathepsin K: its skeletal actions and role as a therapeutic target in osteoporosis". *Nature Reviews Rheumatology*, **7**: 447, 2011.
- CRAWFORD, J.J.; KENNY, P.W.; BOWYER, J.; COOK, C.R.; FINLAYSON, J.E.; HEYES, C.; HIGHTON, A.J.; HUDSON, J.A.; JESTEL, A.; KRAPP, S.; MARTIN, S.; MACFAUL, P.A.; MCDERMOTT, B.P.; MCGUIRE, T.M.; MORLEY, A.D.; MORRIS, J.J.; PAGE, K.M.; RIBEIRO, L.R.; SAWNEY, H.; STEINBACHER, S.; SMITH, C. & DOSSETTER, A.G. "Pharmacokinetic benefits of 3,4-dimethoxy substitution of a phenyl ring and design of isosteres yielding orally available cathepsin K inhibitors". *J. Med. Chem.*, **55**: 8827, 2012.
- CUNHA, R.L.O.R.; URANO, M.E.; CHAGAS, J.R.; ALMEIDA, P.C.; BINCOLETTI, C.; TERSARIOL, I.L.S. & COMASSETO, J.V. "Tellurium-based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium(IV) compounds as inhibitors of human cathepsin B". *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **15**: 755, 2005.
- CUNHA, R. L. O. R.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; CARACELLI, I. & COMASSETO, J. V. "Revisiting the addition reaction of TeCl<sub>4</sub> to alkynes: The crystal structure and docking studies of 1-chloro-2-trichlorotelluro-3-phenyl-open-2-ol." *J. of Organ. Chem.*, **691**: 4807, 2006.
- CUNHA, R.L.O.R.; GOUVÊA, I.E.; FEITOSA, G.P.V.; ALVES, M.F.M.; BRÖMME, D.; COMASSETO, J.V.; TERSARIOL, I.L.S. & JULIANO, L. "Irreversible inhibition of human cathepsins B, L, S and K by hypervalent tellurium compounds". *Biol. Chem.*, **390**: 1205, 2009.
- CUNHA, R.L.O.R.; GOUVÊA, I.E. & JULIANO, L. "A glimpse on biological activities of tellurium". *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **81**(3): 393, 2009.
- DUFOUR, E.; STORER, A.C. & MCNARD, R. "Peptide aldehydes and nitriles as transition state analog inhibitors of cysteine proteases". *Biochemistry*, **34**: 9136, 1995.
- EREZ, E.; FASS, D. & BIBI, E. "How intramembrane proteases bury hydrolytic reactions in the membrane." *Nature*, **459**: 371, 2009.
- FALGUEYRET, J.P.; OBALLA, R.M.; OKAMOTO, O.; WESOLOWSKI, G.; AUBIN, Y.; RYDZEWSKI, R.M.; PRASIT, P.; RIENDEAU, D.; RODAN, S.B. & PERCIVAL, D. "Novel, nonpeptidic cyanamides as potent and reversible inhibitors of human cathepsin K and L". *J. Med. Chem.*, **44**: 94, 2001.

- FARRUGIA, L.J. "ORTEP-3 for Windows – A Version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI)". *J. Apply. Cryst.*, **30**: 568, 1997.
- FARRUGIA, L. J. "WinGX Suite for Small-Molecule Single-Crystal Crystallography". *J. Apply. Cryst.* **32**: 837, 1999.
- FENG, M.H.; CHAN, S.L.; XIANG, Y.; HUBER, C.P. & LIM, C. "The binding mode of an E-64 analog to the active site of cathepsin B". *Protein Eng.*, **9**(11): 977, 1996.
- FREI, G.M.; KREMER, M.; HANSCHMANN, K.-M.; KRAUSE, S.; ALBECK, M.; SREDNI, B. & SCHNIERLE, B.S. "Antitumour effects in mycosis fungoides of the immunomodulatory, tellurium-based compound, AS101". *Brit. J. of Dermat.*, **158**: 578, 2008.
- FRIEDMAN, M.; BAYER, I.; LETKO, I.; DUVDEVANI, R.; ZAVARO-LEVY, O.; RON, B.; ALBECK, M. & SREDNI, B. "Topical treatment for human papillomavirus-associated genital warts in humans with the novel tellurium immunomodulator AS101: assessment of its safety and efficacy". *Brit. J. of Dermat.*, **160**: 403, 2009.
- FRIZLER, M.; MERTENS, M.D. & GÜTSCHOW, M. "Fluorescent nitrile-based inhibitors of cysteine cathepsins". *Bioorg. Med. Chem.*, **22** : 7715, 2012.
- FRLAN, R. & GOBEC, S. "Inhibitors of Cathepsin B", *Curr. Med. Chem.*, **13**: 2309, 2006.
- FUJISHIMA, A.; IMAI, Y.; NOMURA, T.; FUJISAWA, Y.; YAMAMOTO, Y. & SUGAWARA, T. "The crystal structure of human cathepsin L complexed with E-64". *The FEBS Letters*, **407**: 47, 1997.
- GELB, B.D.; MOISSOGLU, K.M.; ZHANG, J.; MARTIGNETTI, J. A.; BRÖMME, D. & DESNICK, R. J. "Cathepsin K: Isolation and characterization of the murine cDNA and genomic sequence, the homologue of the human pycnodysostosis gene". *Biochem. Mol. Med.*, **59**: 200, 1996.
- GILLESPIE, R.J. *Molecular Geometry*, Van Nostrand Reinhold, 1972.
- GINALSKI, K. & ZEMOJTEL, T. "ECEPE proteins: a novel family of eukaryotic cysteine proteinases". *TRENDS in Biochemical Sciences*, **29**(10):524, 2004
- GOLE, B.; Huszthy, P.C.; POPOVIC, M.; JERUC, J.; ARDEBILI, Y.; Bjerkvig, R. & LAH, T.T. "The regulation of cysteine cathepsins and cystatins in human gliomas". *Int. J. Cancer*, **131**(8): 1779, 2012.
- GREENSPAN, P.D.; CLARK, K.L.; TOMMASI, R.A.; COWEN, S.D.; MCQUIRE, L.W.; FARLEY, D.L.; VAN DUZER, J.H.; GOLDBERG, R.L.; ZHOU, H.; DU, Z.; FITT, J.J.; COPPA, D.E.; DOUGHTY, J.R.; BOHACEK, R.S. & KNAP, A.K. "Identification of dipeptidyl nitriles as potent and selective inhibitors of cathepsin B through structure-based drug design". *J. Med. Chem.*, **44**:4524, 2001.
- GUNČAR, G.; PUNGERČIČ, G.; KLEMENČIČ, I.; TURK, V.; TURK, D. "Crystal structure of MHC class II-associated p41 li fragment bound to cathepsin L reveals the structural basis for differentiation between cathepsins L and S". *The EMBO Journal*, **18**(4): 793, 1999.



H Aiduc, I. & Zukerman-Schpector, J. "Supramolecular self-assembly through secondary bonds in organotellurium chemistry". *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **171**: 171, 2001.

Halangk, W.; Lerch, M. M.; Brandt-Nedelev, B.; Roth, W.; Ruthenbuenger, M.; Reinheckel, T.; Domschke, W.; Lippert, H.; Peters, C. & Deussing, J. "Role of cathepsin B in intracellular trypsinogen activation and the onset of acute pancreatitis". *J Clin Invest.*, 106(6): 773, 2000.

Hardegger, L.A.; Kuhn, B.; Spinnler, B.; Anselm, L.; Ecabert, R.; Stihle, M.; Gsell, B.; Thoma, R.; Diez, J.; Benz, J.; Plancher, J.; Hartmann, G.; Banner, D.W.; Haap, W. & Diederich, F. "Systematic investigation of halogen bonding in protein–ligand interactions". *Angew. Chem.*, **50**: 314, 2011.

Hou, W.; Brömme, D.; Zhao, Y.; Mehler, E.; Dushey, C.; Weinstein, H.; Miranda, C.S.; Fraga, C.; Greig, F.; Carey, J.; Rimoïn, D.L.; Desnick, R.J. & Gelb, B.D. "Characterization of novel cathepsin K mutations in the pro and mature polypeptide regions causing pycnodyostosis". *J Clin Invest.*, **103**(5): 731, 1999.

Illy, C.; Quraishi, O.; Wang, J.; Purisima, E.; Vernet, T.; & Mort, J. "Role of the occluding loop in Cathepsin B activity", *J. Biol. Chem.*, **272**(2): 1197, 1997.

Indenbaum, V.; Bin, H.; Makarovky, D.; Weil, M.; Shulman, L.M. & Albeck, M. "In vitro and in vivo activity of AS101 against West Nile virus (WNV)". *Virus Research*, **160**: 68, 2012.

Jones, G.; Willet, P. & Glen, R.C. "Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with description of desolvation". *J. Mol. Biol.*, **245**:43, 1995.

Jones, G. & Willet, P. "Docking small-molecule ligands into active sites". *Curr. Op. Biotech.*, **6**:652, 1995.

Jones, G.; Willet, P.; Glen, R.C.; Leach, A.R. & Taylor, R. "Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking". *J. Mol. Biol.*, **267**:727, 1997.

Kakegawa, H.; Nkawab, T.; Tagami, K.; Kamioka, H.; Sumitani, K.; Kawata, T.; Drobnič-Kosorok, M.; Lenarčič, B.; Turk, V. & Katunuma, N. "Participation of cathepsin L on bone resorption". *Febs Letters*, **321**: 247, 1993.

Lecaille, F.; Brömme, D. & Lalmanach, G. "Biochemical properties and regulation of cathepsin K activity". *Biochimie*, **90**: 208, 2008.

Lyo, V.; Cattaruzza, F.; Kim, T.N.; Walker, A.W.; Paulick, M.; Cox, D.; Cloyd, J.; Buxbaum, J.; Ostroff, J.; Bogyo, M.; Grady, E.F.; Bunnett, N.W. & Kirkwood, K. S.; "Active cathepsins B, L, and S in murine and human pancreatitis". *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, **303** (8): G894, 2012.

Maganhi, S. H. Telurooxetanas: Estudos cristalográficos, Modelagem Molecular e cálculos de *docking* para aplicação biológica. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2009. Dissertação de mestrado, 83 p.

MARQUIS, R.W.; RU, Y.; ZENG, J.; TROUT, R.E.L; LOCASTRO, S. M.; GRIBBLE, A. D.; WITHERINGTON, J.; FENWICK, A. E.; GARNIER, B.; TOMASZEK, T.; TEW, D.; HEMLING, M. E.; QUINN, C. J.; SMITH, W. W.; ZHAO, B.; MCQUENEY, M. S.; JANSON, C. A.; D'ALESSIO, K. & VEBER, D.F. "Cyclic ketone inhibitors of the cysteine protease cathepsin K". *J. Med. Chem.*, **44**: 725, 2001.

MARQUIS, R.W.; JAMES, Y.; ZENG, J.; TROUT, R.E.L; THOMPSON, S.; RAHMAN, A.; YAMASHITA, D.S.; XIE, R.; RU, Y.; GRESS, C.J.; BLAKE, S.; LARK, M.A.; HWANG, S.; TOMASZEK, T.; OFFEN, P.; HEAD, M.S.; CUMMINGS, M.D. & VEBER, D.F. "Azepanone-based inhibitors of human cathepsin L". *J. Med. Chem.*, **48**: 6870, 2005.

MARTÍNEZ, M.; CAMBRA, I.; GONZÁLEZ-MELENDI, P.; SANTAMARÍA, M.E. & DÍAZ, I. "C1A cysteine-proteases and their inhibitors in plants". *Physiologia Plantarum*, **145**(85): 85, 2012.

MCGRATH, M.E.; KLAUS, J.L.; BARNES, M.G. & BRÖMME, D. "Crystal structure of human cathepsin K complexed with a potent inhibitor". *Nature Structural Biology*, **4**(2): 105, 1997.

MCGRATH, M.E.; SPRENGLER, P.A.; CRAIG, M.H.; MARTICHONOK, V.; CHEUNG, H.; SOMOZA, J.R.; PALMER, J.T. & JANC, J.W. "Peptide ketobenzazole inhibitors bound to cathepsin K". *Biochemistry*, **42**: 15018, 2003.

MÜLLER, S.; DENNEMÄRKER, J.; REINHECKEL, T. "Specific functions of lysosomal proteases in endocytic and autophagic pathways". *Biochimica et Biophysica acta*, **1824**: 34, 2012.

MURATA, M.; MIYASHITA, S.; YOKOO, C.; TAMAI, M.; HANADA, K.; HATAYAMA, K.; TOWATARI, T.; NIKAWA, T. & KATUNUMA, N. "Novel epoxysuccinil peptides". *The FEBS Letters*, **280**(2): 307, 1991.

MYERS, M. C.; SHAH, P. P.; BEAVERS, M. P.; NAPPER, A. D.; DIAMOND, S. L.; SMITH, A. B. & HURYN, D. M. "Design, synthesis, and evaluation of inhibitors of cathepsin L: Exploiting a unique thiocarbamate chemotype". *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **18**(12): 3646, 2008

MUSIL, D.; ZUCIC, D.; TURK, D.; ENGH, R.A.; MAYR, I.; HUBER, R.; POPOVIC, T.; TURK, V.; TOWATARI, T.; KATUNUMA, N. & BODE, W. "The refined 2.15 Å X-ray crystal structure of human liver cathepsin B: the structural basis for its specificity". *The EMBO Journal*, **10**(9):2321, 1991.

NAKASHIMA, T.; YASUMATSU, R.; MASUDA, M.; CLAYMAN, G.L.; KOMUNE, S.; "Prognostic value of cathepsin L and its inhibitor headpin in oral squamous cell carcinoma". *Journal of laryngology and otology*, **126** (11): 1134, 2012.

OHNO, Y.; YAMADA, S.; GOTO, A.; IKUTA, A.; SUGIURA, T.; OHIRA, Y.; YOSHIOKA, T. & GOTO, K. "Effects of heat stress on muscle mass and the expression levels of heat shock proteins and lysosomal cathepsin L in soleus muscle of young and aged mice". *Mol Cell Biochem*, **369** : 45, 2012.

PDB - <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

PDBSum - <http://www.ebi.ac.uk/pdbsum>

PETRAGNANI, N. & STEFANI, H. A. "Advances in organic tellurium chemistry". *Tetrahedron*, **61**: 1613, 2005.

SAJID, M. & MCKERROW, J.H. "Cysteine proteases of parasitic organisms". *Mol. Biochem. Parasitol.* , **121**(1):159, 2002.

SPEK, A.L. " *PLATON, A Multipurpose Crystallographic Tool*", Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, 1998.

RANKOVIC, Z.; CAI, J.; KERR, J.; FRADERA, X.; DEMPSTER, M.; MISTRY, A.; MITCHELL, A.; LONG, C.; HAMILTON, E.; KING, A.; BOUCHARENS, S.; JAMIESON, C.; GILLESPIE, J.; CUMMING I.; UITDEHAAG, J. & VAN ZEELAND, M. "DIOXO-triazonias as a novel series of cathepsin K inhibitors". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**: 1488, 2010a.

RANKOVIC, Z.; CAI, J.; KERR, J.; FRADERA, X.; ROBINSON, J.; MISTRY, A.; FINLAY, W.; MCGARRY, G.; ANDREWS, F.; CAULFIELD, W.; CUMMING, I.; DEMPSTER, M.; WALLER, J.; ARBUCKLE W.; ANDERSON, M.; MARTIN, I.; MITCHELL, A.; LONG, C.; BAUGH, M.; WESTWOOD, P.; KINGHORN, E.; JONES, P.; UITDEHAAG, J.C.M.; VAN ZEELAND, M.; POTIN, D.; SANIERE, L.; FOUQUET, A.; CHEVALLIER, F.; DERONZIER, H.; DORLEANS, C. & NICOLAI, E. "Optimisation of 2-cyano-pyrimidine inhibitors of cathepsin K: Improving selectivity over hERG". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**: 6237, 2010b.

RENKO, M.; POŽGAN, U.; MAJERA, D. & TURK, D. "Stefin A displaces the occluding loop of cathepsin B only by as much as required to bind to the active site cleft". *The FEBS Journal*, **277**(20): 4338, 2010.

RICHTER, F.; BLOMBERG, R.; KHARE, S.D.; KISS, G.; KUZIN, A.P.; SMITH, A. J. T.; GALLAHER, J.; PIANOWSKI, Z.; HELGESON, R.C.; GRJASNOW, A.; XIAO, R.; SEETHARAMAN, J.; SU, M.; VOROBIEV, S.; LEW, S.; FOROHOUAR, F.; KORNHABER, G.J.; HUNT, J.F.; MONTELIONE, G.T.; TONG, L.; HOUK, K.N.; HILVERT, D. & BAKER, D. "Computational design of catalytic dyads and oxyanion holes for ester hydrolysis". *JACS*, **134**: 16197, 2012.

RZYCHON, M; CHMIEL, D. & STEC-NIEMCZYK, J. "Modes of inhibition of cysteine proteases" *Acta Biochim. Pol.*, **51**(4): 861, 2004.

SCHECHTER, I & BERGER, A. "On size of active site in proteases .I. papain". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **27**(2): 157, 1967.

SCHENKER, P.; ALFARANO, P.; KOLB, P.; CAFLISCH, A. & BAICI, A. "A double-headed cathepsin B inhibitor devoid of warhead", *Protein Science*, **17**(12): 2145, 2008).

SCHROEDER, H.A.; BUCKMAN, J. & BALASSA, J.J. "Abnormal trace elements in man: Tellurium". *J.Chron.Dis.*, **20**:147, 1967.

SCHWARZ K. & FOLTZ C.M. "Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration". *J. Am. Chem. Soc.*, **79**:3292,1957.

- SELVAKUMAR, K.; SINGH, H. B.; GOEL, N. & SINGH, U. P. "Methyl ester function: An intramolecular electrophilic trap for the isolation of aryltellurenyl hydroxide and diorganotellurium dihydroxide". *Organometallics*, **30**:3892, 2011.
- SHELDRICK, G.M. "A short history of SHELX". *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.*, **64**: 112, 2008.
- SHELDRICK, G.M. *SHELXL-97, Program for crystal structure refinement*, University of Göttingen, Germany, 1997.
- SHENOY, R.T.; CHOWDHURY, S.F.; KUMAR, S.; JOSEPH, L.; PURISIMA, E.O. & SIVARAMAN, J. "A combined crystallographic and molecular dynamics study of cathepsin L retrobinding inhibitors". *J. Med.Chem.*, **52**: 6335, 2009.
- SHOKHEN, M.; KHAZANOV, N.; ALBECK, A. "The mechanism of papain inhibition by peptidyl aldehydes", *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.*, **79**(3): 975, 2010.
- SREDNI, B.; CASPI, R.R.; KLEIN, A.; KALECHMAN, Y.; DANZIGER, Y., BENYAAKOV, M.; TAMARI, T.; SHALIT, F. & ALBECK, M. "A new immunomodulating compound (AS-101) with potential therapeutic application". *Nature*, **330**:173, 1987.
- SREDNI, B. "Immunomodulating tellurium compounds as anti-cancer agents" *Semin. Cancer Biol.*, **22**: 60, 2012.
- STOECKLE, C.; QUECKE, P.; RÜCKRICH, T.; BURSTER, T.; REICH, M.; WEBER, E.; KALBACHER, H.; DRIESSEN, C.; MELMS, A. & TOLOSA, E. "Cathepsin S dominates autoantigen processing in human thymic dendritic cells". *J. Autoimmun.*, **38**: 332, 2012.
- STRASSMANN, G.; KAMBAYASHI, T.; JACOB, C.O. & SREDNI, D. "The immunomodulator AS-101 inhibits IL-10 release and augments TNF $\alpha$  and IL-1 $\alpha$  release by mouse and human mononuclear phagocytes". *Cell. Immunol.*, **176**:180, 1997.
- TAVARES, F.X.; BONCEK, V.; DEATON, D.N.; HASSELL, A.N.; LONG, S.T.; MILLER, A.B.; PAYNE, L.R.; SHEWCHUK, L.M.; WELLS-KNECHT, K.; WILLARD, D.H.; WRIGHT, L.L. & ZHOU, H. "Design of potent, selective, and orally bioavailable inhibitors of cysteine protease cathepsin K". *J. Med. Chem.*, **47**: 588, 2004.
- TIEKINK, E.R.T. "Therapeutic potential of selenium and tellurium compounds: Opportunities yet unrelised". *Dalton Trans.*, **41**: 6390, 2012.
- TIEKINK, E.R.T. & ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. "Stereochemical activity of lone pairs of electrons and supramolecular aggregation patterns based on secondary interactions involving tellurium in its 1,1-dithiolste structures". *Coord. Chem. Rev.*, **254**: 46, 2010.
- TROEBERG, L & NAGASE, H. "Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis". *Biochim. Biophys. Acta*, **1824**: 133, 2012.
- Turk, B.; Dolenc, I.; Turk, V. & Biethl, J.G. "Kinetics of the pH-induced inactivation of human cathepsin L". *Biochemistry*, **32**: 375, 1993.

- TURK, B. "Targeting proteases: successes, failures and future prospects". *Nature Reviews*, **5**: 785, 2006.
- TURK, B.; TURK D & TURK V. "Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers". *Biochim. Biophys. Acta*, **1477**: 98, 2000.
- TURK, D. & GUNČAR, G. "Lysosomal cysteine proteases (cathepsins): promising drug targets". *Acta Crystallogr., Sect. D: Biol. Crystallogr.*, **59**: 203, 2003.
- TURK, V.; TURK, D.; GUNČAR, G.; TURK, D. & KOS, J. "Lysosomal cathepsins: Structure, role in antigen processing and presentation, and cancer". *Advan. Enzyme Regul.*, **42**: 285, 2002.
- TURK, V.; STOKA, V.; VASILJEVA, O.; RENKO, M.; SUN, T.; TURK, B. & TURK D. "Cysteine cathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers". *Biochim. Biophys. Acta*, **1824**:68, 2012.
- TURK, V.; TURK, B. & TURK, D. "Lysosomal cysteine proteases: facts and opportunities". *The EMBO Journal*, 20(17): 4629, 2001
- TURKENBURG, J. P., LAMERS, M. B. A. C., BRZOZOWSKI, A. M., WRIGHT, L. M., HUBBARD, R. E., STURT, S. L. & WILLIAMS, D. H. "Crystal structure of Cys25Ser mutant of human cathepsin S". *Acta Crystallogr., Sect. D: Biol. Crystallogr.*, **58** :451, 2002.
- VASILJEVA, O.; REINHECKEL, T.; PETERS, C.; TURK, D.; TURK, V. & TURK, B. "Emerging roles of cysteine cathepsins in disease and their potential as drug targets". *Curr. Pharm. Des.*, **13**: 387, 2007.
- VERNET, T.; TESSIER, D.C.; CHATELLIER, J.; PLOUFFE, C.; SING LEE, T.; THOMAS, D.Y.; STORER, A.C. & MENÁRD, R. "Structural and functional roles of Asparagine 175 in the cysteine proteinase papain". *J. Biol. Chem.*, **270**(28): 16645, 1995.
- VOET, D. & VOET, J. *Bioquímica*. 3ª edição, Artmed, 2006. p.10, 1353.
- WAGNER, M. A.; TRICKEY, P.; CHEN, Z.-W.; MATHEWS, F. S. & JORNS, M. S. "Monomeric sarcosine oxidase: 1. flavin reactivity and active site binding determinants". *Biochemistry*, **39**: 8813, 2000.
- WATANABE, D.; YAMAMOTO, A.; TOMOO, K.; MATSUMOTO, K.; MURATA, M.; KITAMURA, K. & ISHIDA, T. "Quantitative Evaluation of each catalytic subsite of Cathepsin B for inhibitory activity-binding mode relationship of epoxysuccinyl inhibitors by x-ray Crystal structure analyses of complexes". *J. Mol. Biol.*, **362**:979, 2006.
- WARD, Y.D.; THOMSON, D.S.; FRYE, L.L.; CYWIN, C.L.; MORWICK, T.; EMMANUEL, M.J.; ZINDELL, R.; MCNEIL, D.; BEKKALI, Y.; GIRARDOT, M.; HRAPCHAK, M.; DETURI, M.; CRANE, K.; WHITE, D.; PAV, S.; WANG, Y.; HAO, M.; GRYGON, C.A.; LABADIA, M.E.; FREEMAN, D.M.; DAVIDSON, W.; HOPKINS, J.L.; BROWN, M.L. & SPERO, D.M. "Design and synthesis of dipeptide nitriles as reversible and potent cathepsin S inhibitors". *J. Med. Chem.*, **45**: 5471, 2002.

- WIENER, D.K.; LEE-DUTRA, A.; BEMBENEK, S.; NGUYEN, S.; THURMOND, R.L.; SUN, S.; KARLSSON, L.; GRICE, C.A.; JONES, T.K. & EDWARDS, J.P. "Thioether acetamides as P3 binding elements for tetrahydropyrido-pyrazole cathepsin S inhibitors". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**: 2379, 2010.
- YAMAMOTO, A.; TOMOO, K.; MIYAGAWA, H.; TAKAOKA, Y.; SUMIYA, S.; KITAMURA, K. & ISHIDA, T. "Molecular dynamics simulations of bovine cathepsin B and its complex with C074". *Chem. Pharm. Bull.*, **48**(4): 480, 2000.
- YAMAMOTO, A.; TOMOO, K.; MATSUGI, K.; TADAOKI, H.; YASUKO, I.; MURATA, M.; KITAMURA, K. & ISHIDA, T. "Structural basis for development of cathepsin B-specific noncovalent-type inhibitor: crystal structure of cathepsin B-E64c complex". *Biochim. Biophys. Acta*, **1597**: 244, 2002.
- YASUDA, Y.; KALETA, J. & BRÖMME, D. "The role of cathepsins in osteoporosis and arthritis: Rationale for the design of new therapeutics". *Adv. Drug Delivery Rev.* **57**: 973, 2005.
- YASUMA, T.; OI, S.; CHOH, N.; NOMURA, T.; FURUYAMA, N.; NISHIMURA, A.; FUJISAWA, Y. & SOHDA, T. "Synthesis of peptide aldehyde derivatives as selective inhibitors of human cathepsin L and their inhibitory effect on bone resorption". *J. Med. Chem.*, **41**: 4301, 1998.
- ZHAO, B.; JANSON, C.A.; AMEGADZIE, B.Y.; D'ALESSIO, K.; GRIFFIN, C.; HANNING, C.R.; JONES, C.; KURDYLA, J.; MCQUENEY, M.; QIU, X.; SMITH, W.W.; ABDEL-MEGUID, S.S. "Crystal structure of human osteoclast cathepsin K complex with E-64". *Nature Structural Biology*, **4**(2):109, 1997.
- ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; COMASSETO, J.V. & STEFANI, H.A. "Dichloro[(Z)-2-chloro-2-phenylvinyl](4-methoxyphenyl)tellurium(IV)". *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, **51**: 861, 1995.
- ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. & HAIDUC, I. "Diorganotellurium(IV) dihalides and secondary bonding: Revisiting the coordination polyhedra". *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **171**: 73, 2001.
- ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. & HAIDUC, I. "Tellurium... $\pi$ -aryl interactions: a new bonding motif for supramolecular self-assembly and crystal engineering". *Cryst. Eng. Comm.*, **4**(33): 178, 2002.
- ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; HAIDUC, I.; CAMILLO, R.L.; COMASSETO, J.V.; CUNHA, R.L.O.R. & JORGE, A. "Supramolecular self-assembly through tellurium...halogen secondary bonds: A hexagonal grid of Te<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and Te<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub> rings in the solid state structure of 1,1,3-trichloro-2,4,5,6-tetrahydro-1H-1 $\lambda$ <sup>4</sup>-benzo[b]tellurophene". *Can. J. Chem.*, **80**: 1530, 2002.