



XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil



Descoberta e Desenvolvimento de Inibidores da Enzima Oxidase Alternativa (AOX) de *Moniliophthora perniciosa*

Maria Luiza L. Vieira (IC/LNBio/CNPEM)*, Dra. Silvana A. Rocco (LNBio/CNPEM), Mario R. O. Barsottini (doutorando/LGE/UNICAMP), Dr. Gonçalo A. G. Pereira (LGE/UNICAMP), Bárbara Aliende Pires (IC/LGE/UNICAMP), Dr. Mauricio L. Sforça (LNBio/CNPEM), Paulo C. S. Costa (mestrando/IQ/UNICAMP), Dr. Marcelo Falsarella Carazzolle (LGE/UNICAMP), Alessandro Coradini (LGE/UNICAMP)

Resumo

A Oxidase Alternativa (AOX) é uma proteína do fungo *Moniliophthora perniciosa*, que faz parte da cadeia respiratória do fungo, permitindo que este sobreviva mesmo quando sua via de respiração principal é bloqueada. O desenvolvimento de derivados de *N*-fenilbenzamidás com atividade de inibição da AOX parece uma alternativa para o controle da doença vassoura-de-bruxa do cacau.

Palavras-chave:

N-Fenilbenzamidás, Alternative Oxidase (AOX), Vassoura-de-bruxa.

Introdução

A doença vassoura-de-bruxa que afeta o cacauzeiro (*Theobroma cacao*) é causada pelo fungo basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa*, que atualmente constitui um dos maiores problemas fitopatológicos do Brasil. A grande complexidade da doença vassoura-de-bruxa sugere que o fungo possa estabelecer seu ciclo de vida com sucesso no hospedeiro. Um caminho promissor para o combate da doença envolve a inibição da enzima alternativa oxidase (Figura 1). A AOX é uma proteína associada à membrana, que faz parte da cadeia respiratória do fungo, permitindo que este sobreviva mesmo se sua via principal de respiração for bloqueada.^{1,2}

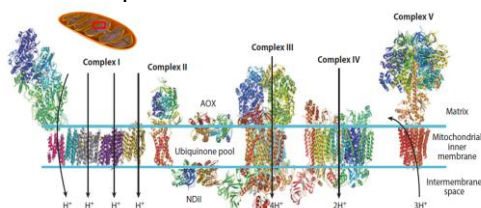


Figura 1: Cadeia respiratória do *Moniliophthora perniciosa*¹

O desenvolvimento de moléculas que inibem a atividade da AOX é uma abordagem promissora no combate da doença, pois inviabilizaria as possíveis rotas respiratórias disponíveis para o fungo. Estudos preliminares mostraram que derivados de *N*-fenilbenzamidás seriam muito promissores na inibição da AOX. Portanto, o objetivo do projeto é sintetizar uma biblioteca desses derivados utilizando metodologias organo-sintéticas apropriadas.

Resultados e Discussão

Para a síntese dos derivados de *N*-fenilbenzamidás, foi escolhida a reação de Schotten-Baumann, uma reação clássica empregada para a síntese de amidás a partir de amins com haletos de acila na presença de bases aquosas³ (Figura 2).

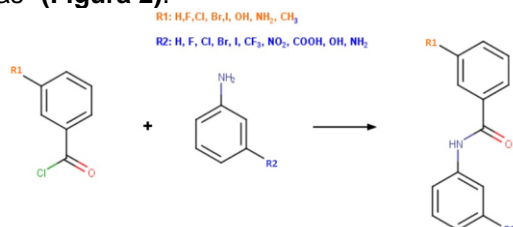


Figura 2: Reação geral para as *N*-fenilbenzamidás.

A série de moléculas sintetizadas foi nomeada como 7J-n. A biblioteca conta atualmente com 103 moléculas já sintetizadas. A maior parte das moléculas apresentou alto grau de pureza e em média 70% de rendimento. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C comprovaram a identidade dos compostos e as análises de HPLC/UV confirmaram a pureza dos mesmos.

Testes biológicos- Ensaios de crescimento celular

A levedura *Pichia pastoris* mostrou ser um bom modelo para a avaliação dos inibidores da AOX. O ensaio foi útil para a caracterização das *N*-fenilbenzamidás em relação a sua potência e toxicidade, exibindo também boa correlação com simulações computacionais da interação proteína-ligante. A triagem de novos análogos estruturais da 7J-15 revelou ao menos um composto (7J-41) ainda mais potente, com possibilidade de se apresentar menos tóxico também. Assim, se comprovou a relevância da MpAOX como alvo para o controle de *M. perniciosa*.

Conclusões

Verificou-se que a rota sintética utilizada foi eficiente para a produção dos derivados de *N*-fenilbenzamidás. Os resultados alcançados indicaram que o desenho racional desses derivados foi alcançado com sucesso, sendo confirmados em ensaios funcionais na levedura *Pichia pastoris* onde pelo menos uma molécula apresentou alta atividade inibitória contra a AOX. De forma geral, esses compostos permitiram comparar a relação entre estrutura e atividade dentro da classe química planejada.

Agradecimentos

Ao LNBio, ao grupo de RMN; ao grupo do LGE/IB/UNICAMP ao CNPq pelo projeto Universal (475535/2013-8) e pela concessão da bolsa PIBIC (153823/2016-0) e à FAPESP pelo Auxílio regular ((2015/07653-5) e outras bolsas [Mario Barsottini (2014/15339-6) e Bárbara Pires (2015/09870-3)].

¹ Moore, A. L.; Shiba, T.; Young, L.; Harada, S.; Kita, K.; Ito, K. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2013**, *64*, 637.

² Thomazella, D. P. T.; Teixeira, P. J. P. L.; Oliveira, H. C.; Saviani, E. E.; Rincones, J.; Toni, I. M.; Reis, O.; Garcia, O.; Meinhardt, L. W.; Salgado, I.; Pereira, G. A. G. *New Phytol.* **2012**, *194*, 1025.

³ Challis, B. C.; Butler, A. R. *Chem. Amino Group* **1968**, 277.