

Estratégias em Química Medicinal para o planejamento de fármacos

Eliezer Jesus Barreiro*, Carlos Alberto Manssour Fraga, Carlos Rangel Rodrigues,
Ana Luisa Palhares de Miranda

Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), Departamento de Fármacos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

*Correspondência:

Eliezer J. Barreiro
Laboratório de Avaliação e Síntese de
Substâncias Bioativas (LASSBio)
Departamento de Fármacos,
Faculdade de Farmácia, Universidade
Federal do Rio de Janeiro
Ilha do Fundão, Caixa Postal 68.006
21944-900 - Cidade Universitária
Rio de Janeiro - Brasil
E-mail: eliezer@ufrj.br

Este artigo ilustra a aplicação das estratégias de hibridação molecular e bioisosterismo no planejamento estrutural de novos candidatos a protótipos de fármacos com propriedades analgésicas, antiinflamatórias e antitrombóticas, com base no mecanismo de ação pretendido, explorando, inclusive, produto natural brasileiro abundante como padrão molecular básico.

Unitermos:

- Novos protótipos
- Analgésicos
- Antiinflamatórios
- Antitrombóticos
- Safrol

PREÂMBULO

“...Nobody in the world is condemned to work with as many variables as the medicinal chemist...” esta afirmação de Corwin Hansch descreve de forma exemplar o contexto da interdisciplinaridade que caracteriza a **Química Medicinal** (Kubinyi, 1993).

ESTRATÉGIAS PARA A IDENTIFICAÇÃO DO COMPOSTO-PROTÓTIPO

A **Química Medicinal** se dedica a estudar as razões moleculares da ação dos fármacos, a relação entre a estrutura química e a atividade farmacológica, incluindo o planejamento e o desenho estrutural de novas substâncias que possuam propriedades farmacoterapêuticas úteis, capazes de representarem novos fármacos. Esta tarefa complexa envolve multiplicidade de fatores responsáveis pela resposta terapêutica de uma substância exógena, *i.e.* fármaco, que precisa apresentar elevada eficácia, reflexo das propriedades farmacodinâmicas — aquelas que regem as interações responsáveis pelo reconhecimento molecular do fármaco pelo biorreceptor e resultam na resposta terapêutica desejada — e farmacocinéticas - aquelas que governam os fatores

de absorção, distribuição, metabolismo e eliminação do fármaco na biofase[®], resultando no perfil de biodisponibilidade - além de possuir reduzida toxicidade.

Diversas estratégias modernas de desenho molecular de novos fármacos são disponíveis, sendo a principal aquela baseada no mecanismo de ação farmacológico pretendido para o novo fármaco, também denominada de abordagem fisiológica (Figura 1) (Ganellin, 1994).

Esta estratégia de desenho molecular de novas substâncias bioativas fundamenta-se no prévio conhecimento do processo fisiopatológico e na conseqüente eleição do alvo terapêutico mais adequado. Este alvo, representado por uma biomacromolécula — enzima ou receptor, propriamente dito — pode ter sua estrutura molecular conhecida ou não. No primeiro caso, o conhecimento da topografia molecular tridimensional do receptor, particularmente do sítio de interação, permite o desenho de inibidores enzimáticos ou de antagonistas/agonistas de receptores, por processos de complementaridade molecular planejada (Gund, Maggiora, Snyder, 1996), que pode, por sua vez, discriminar entre interações ou ligações covalentes (Lam *et al.*, 1994). Neste processo identifica-se um novo bioligante, com propriedades estruturais adequadas ao reconhecimento molecular pelo biorreceptor, reflexo de suas propriedades farmacodinâmicas. Entretanto, *hèlas*, nem sempre o bioligante identificado *in vitro*, possui perfil de biodisponibilidade adequado e, não raramente, necessita de subseqüentes modifica-

& Alguns autores abreviam como ADME

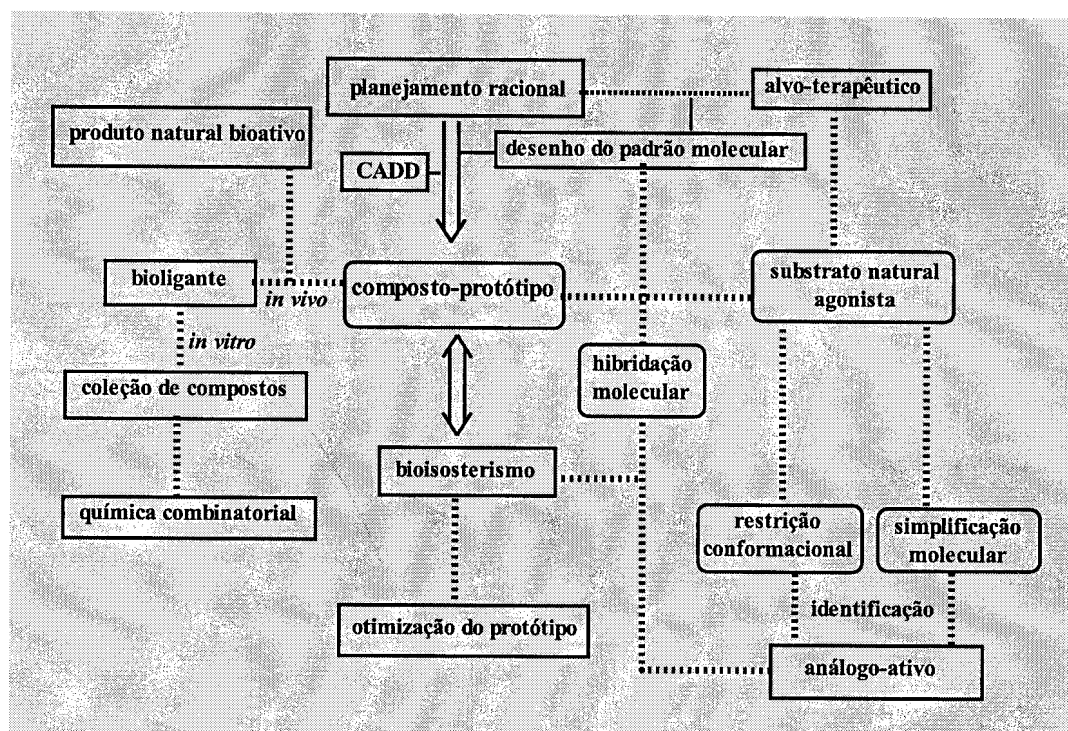


FIGURA 1 - Estratégia de identificação do composto-protótipo baseada no mecanismo de ação pretendido.

ções moleculares, capazes de ajustarem os fatores farmacocinéticos ao seu futuro emprego terapêutico como fármaco. Este ajuste de propriedades farmacocinéticas por modificação molecular posterior exige a prévia hierarquização das distintas contribuições farmacofóricas das diferentes subunidades estruturais da molécula do bioligante, de maneira a preservá-las, assegurando seu reconhecimento molecular pelo biorreceptor.

Por outro lado, a estrutura do biorreceptor eleito como alvo-terapêutico nem sempre é conhecida e, neste caso, o desenho molecular do inibidor enzimático ou do antagonista/agonista de receptor inicia-se pela estrutura da micromolécula endógena envolvida na fisiopatologia do processo em estudo, ou seja o substrato enzimático ou o agonista do receptor eleito como alvo-terapêutico (Greengrass, 1994).

Em função do mecanismo pretendido antecipado para o novo fármaco, por exemplo, inibição enzimática, reversível ou não, antagonismo do receptor, competitivo ou não, elege-se e desenha-se o padrão estrutural original, variando-se o índice de similaridade molecular de tal forma que se identifique um análogo ativo. As técnicas de modificação molecular mais empregadas nesta etapa do processo compreendem a simplificação molecular, a restrição conformacional do substrato natural ou agonista. Neste etapa, a intuição química tem importante papel contribuindo

para o correto desenho estrutural do análogo-ativo. Uma vez comprovada a atividade farmacológica desejada do análogo-ativo através de protocolos farmacológicos *in vivo*, têm-se um novo composto-protótipo, candidato ao novo fármaco pretendido.

O novo composto-protótipo identificado pode ter sua eficácia otimizada por modificações moleculares subsequentes, planejadas de maneira a preservar as propriedades farmacocinéticas identificadas nos bioensaios. Para tanto, diferentes estratégias são possíveis, como, por exemplo, o desenho de isómeros do análogo-ativo, em que, novamente, o conhecimento dos grupos farmacofóricos norteia as modificações estruturais a serem efetuadas.

O desenho estrutural de bioligantes ou compostos-protótipos deve levar em consideração as potenciais contribuições toxicofóricas de todas as sub-unidades estruturais envolvidas, particularmente ao nível do sistema microssomal hepático, onde predominam reações de oxidação e são essenciais à bioformação de diversas substâncias endógenas, como os hormônios esteróides, que regulam funções fisiológicas vitais (Burger, 1991; Barreiro, Silva, Fraga, 1996).

As estratégias modernas de desenho de fármacos (Drews, 2000) baseadas no mecanismo de ação, empregam a modelagem molecular ("Computer Assisted Drug Design", CADD) (Hann, 1994) como ferramenta essen-

al ao sucesso do planejamento estrutural de novas moléculas ativas. Por meio do emprego de técnicas adequadas de modelagem molecular pode-se antecipar índices relativos de reconhecimento molecular de novos bioligantes ou protótipos, identificar diferentes níveis de contribuições farmacofóricas (Höltje, 1996) e conformações bioativas na molécula do protótipo ou bioligante (Itai *et al.*, 1996), mapear e construir modelos topográficos 3D de sítios de reconhecimento molecular de biorreceptores (Barreiro *et al.*, 1997) de tal forma que permitam prever e explicar, ao menos teoricamente, as propriedades farmacodinâmicas relativas numa série congênere de moléculas bioativas, orientando o planejamento das modificações moleculares subseqüentes, quando necessárias à modulação/otimização de sua atividade.

Alguns processos fisiopatológicos envolvidos na gênese de doenças podem, por suas características, sugerir a necessidade de se desenharem bioligantes ou protótipos em que se incluam, na mesma molécula, propriedades farmacodinâmicas duplas, de forma a se assegurar melhor eficácia terapêutica.

Neste caso, o desenho estrutural, baseado no mecanismo de ação, deve considerar fatores estruturais ainda mais complexos, de maneira a assegurar à mesma molécula planejada, o reconhecimento molecular por dois alvos-terapêuticos simultâneos. O desenho de protótipos com atividade dual pode explorar a hibridação molecular como estratégia de planejamento estrutural inicial.

A CASCATA DO ÁCIDO ARAQUIDÔNICO COMO ALVO-TERAPÊUTICO

A cascata do ácido araquidônico (CAA) é responsável pela bioformação dos eicosanóides, como as prostaglandinas (PG's), importantes mediadores celulares que regulam diversas funções fisiológicas (Barreiro, 1987). Estas substâncias estão envolvidas em diversos processos fisiopatológicos como o acidente tromboisquêmico e a inflamação, entre outros (Higgs, Moncada e Vane, 1984) (Figura 2).

A inibição seletiva de enzimas da CAA representa um atraente alvo terapêutico para o tratamento destas doenças.

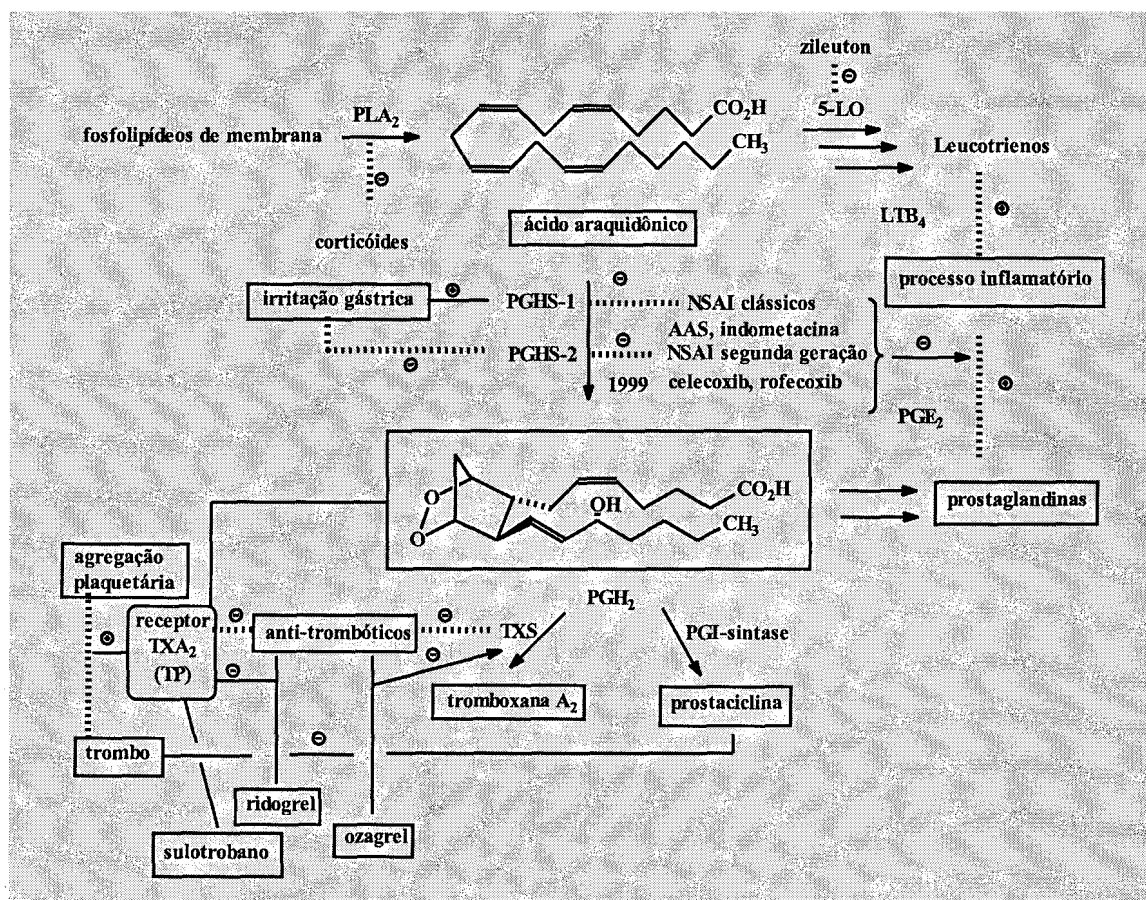
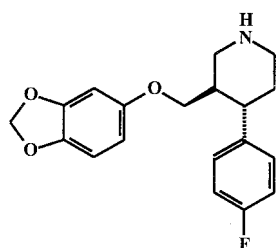
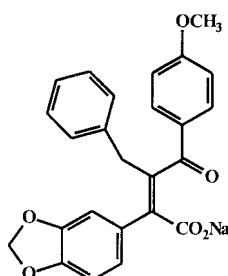


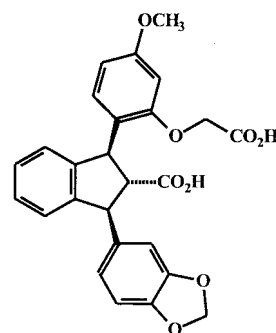
FIGURA 2 - Cascata do ácido araquidônico.



Paroxetina (2)



Endotelina-ant (3)



Endotelina-ant (4)

(TXA₂) na fisiopatologia de processos isquêmicos identificou a tromboxana-sintase (TXS), enzima citocromo P₄₅₀-dependente, que biotransforma o endoperoxídeo de prostaglandina H₂ (PGH₂) em TXA₂, como atraente alvo-terapêutico para o tratamento e prevenção do acidente trombo-isquêmico (Figura 2) (Hirsh *et al.*, 1981).

Desta forma, o desenho de protótipos de inibidores de TXS passou a atrair o interesse de diversos grupos de pesquisas (Cross, Dickinson, 1987). Estudos com derivados *N*-heterocíclicos funcionalizados em razão da afinidade pelo CitP₄₅₀ indicaram ação inibidora sobre a TXS e viabilizaram a descoberta do ozagrel (5) (Iizuka *et al.*, 1981), derivado acrílico de estrutura extremamente simples, licenciado, em 1995, pela *Food Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos para uso no tratamento de tromboes como inibidor de TXS (TXSi). Este fármaco é o primeiro anti-trombótico útil para o tratamento ou prevenção de quadros cardio-isquêmicos e asmáticos, agindo por este novo mecanismo de ação (Ong, Allen, 1988) e, portanto, representando autêntica inovação terapêutica (Reitz, Selbert, 1995).

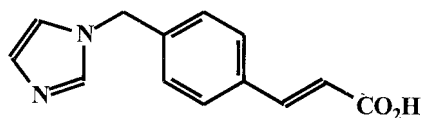
Estudos farmacológicos posteriores à sua descoberta demonstraram que o bioprecursor de TXA₂, a PGH₂, de estrutura semelhante, é também um agonista dos receptores de TXA₂ (TP), provocando efeitos agregantes plaquetários e reduzindo, portanto, a eficácia terapêutica dos TXSi. Esta observação indicou que agentes anti-trombóticos mais eficazes, atuando na CAA, seriam compostos com ação dupla

TXSi e TPant. Esta atividade dual permitiria prevenir, simultaneamente, a formação de TXA₂ pela inibição da TXS a atividade agonista do precursor acumulada PGH₂ (Ackerley *et al.*, 1995) pela ação TPant. Desta forma, uma segunda geração de agentes antitrombóticos, atuando ao nível da CAA, com ação dual TXSi/TPant foi desenvolvida, sendo o ridogrel (6), derivado *O*-alquil-éter de oxima, um importante representante desta classe.

Outrossim, compostos com simples propriedades TPant são atraentes candidatos a agentes antitrombóticos, pois previnem a ação de TXA₂ e PGH₂. Uma classe química de compostos com importantes propriedades TPant, que compreende os derivados aril-alquilsulfonamidas, em que o sulotrobano (7, BM 13177) (Patscheke, Stegmeier, 1984) foi o protótipo e o primeiro TPant não-prostanóide, que apresentou atividade antiplaquetária *in vivo* e *in vitro*. Em seguida, foi descrito o daltrobano (8, BM 13505) (Yanagisawa *et al.*, 1987), outro representante importante desta classe, que se apresentou vinte vezes mais potente que (7).

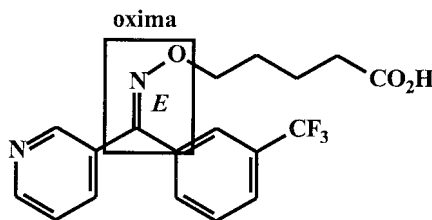
Uma vez identificados como atraentes alvos terapêuticos para o tratamento de quadros trombo-isquêmicos, os receptores de TP e a TXS, o derivado (9) e análogos foram desenhados como candidatos a agentes antitrombóticos com prováveis propriedades duais TXSi/TPant.

O composto (9) foi estruturalmente planejado (Esquema 3) considerando-se a ponte 1,3-benzodioxol, originária do safrol (1), utilizado como matéria-prima, como

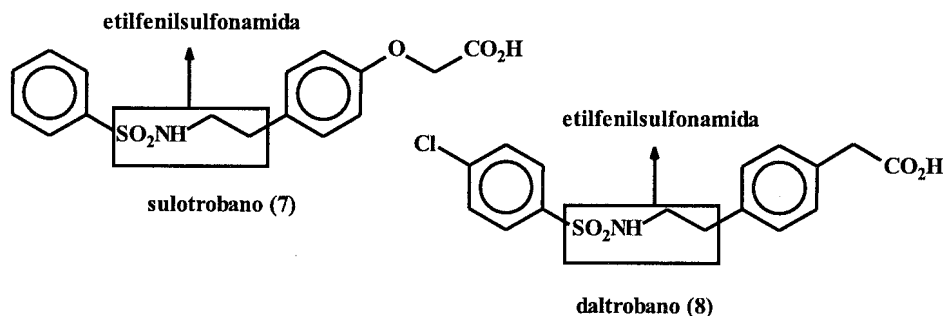


ozagrel (5)

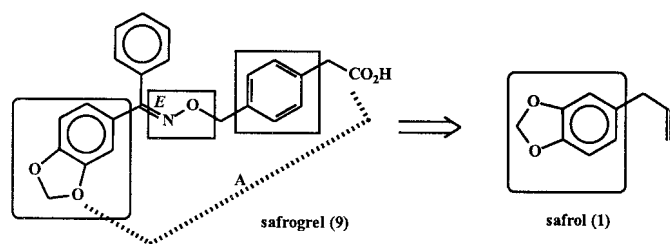
(Cataclot)



ridogrel (6)



um provável sítio de interação com o CitP_{450} da TXS, mimetizando os átomos de oxigênios da unidade bicíclica da PGH_2 , substrato natural desta enzima CitP_{450} -dependente.



Esquema 3

Modelo da topografia da TXS indicava uma distância ideal de 8,5-10 Å entre o átomo de oxigênio O-9 da função endoperóxido do substrato natural e a função ácido carboxílico terminal, como fator estrutural crítico no processo de reconhecimento molecular pela enzima (Figura 4) (Kato *et al.*, 1985).

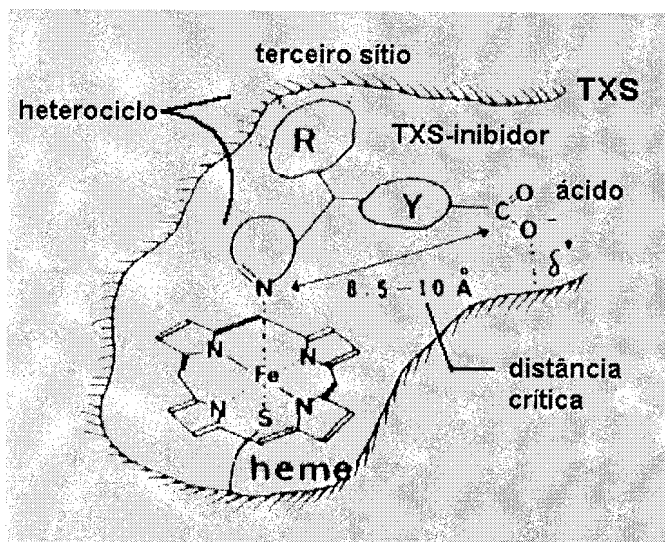


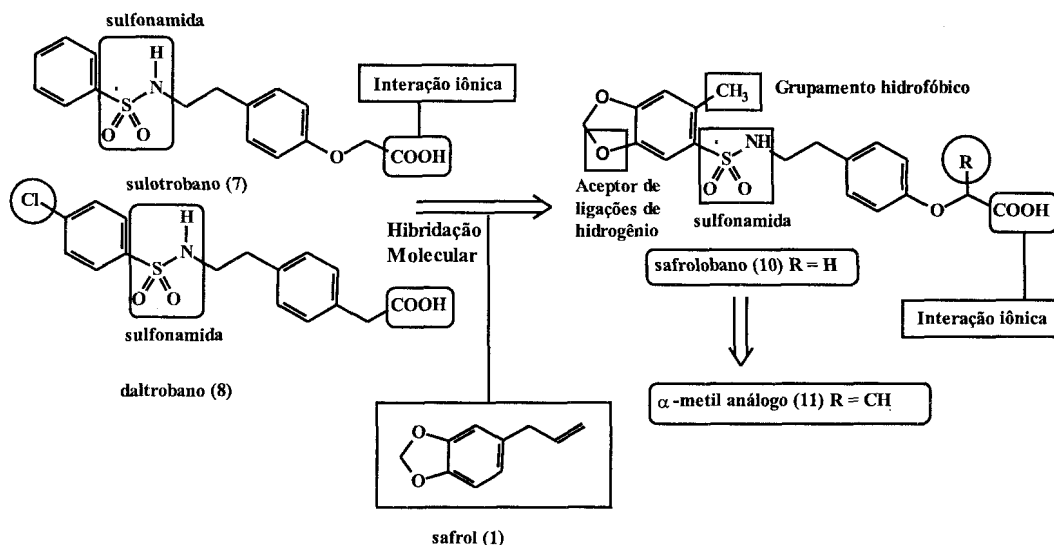
FIGURA 4 - Modelo topográfico da TXS (adaptado de Kato *et al.*, 1985).

Estudos de modelagem utilizando a mecânica molecular, permitiram a construção de modelo topográfico misto, útil para o planejamento molecular de novos derivados candidatos a protótipos duais TXSi-Tpant (Albuquerque *et al.*, 1995). Este modelo 3D reconheceu o novo derivado (9) proposto, onde a cadeia ácido carboxílico, essencial à atividade pretendida, encontra-se incluída na unidade *para*-benzilacética em (9), introduzindo nível adequado e desejável de restrição conformacional à esta sub-unidade farmacoforicamente importante, favorecendo a distância preconizada como ideal e necessária ao reconhecimento molecular pela TXS Tpant (Albuquerque *et al.*, 1995). Outrossim, a restrição conformacional da cadeia ácido carboxílico de (9) e a presença do anel fenílico não-substituído da dupla ligação imínica, de configuração definida, introduz possível caráter de ação dual a este novo derivado (9), contribuindo para seu reconhecimento, também, pelos receptores de TP.

Os resultados da avaliação farmacológica do novo derivado (9) (Figura 5) (Reis, 1997), denominado safrogrel e análogos (Reis *et al.*, 1999), no bioensaio de inibição da agregação plaquetária induzida por ácido araquidônico no plasma rico em plaquetas de coelho, confirmaram o antecipado perfil antiagregante plaquetário. Os resultados indicaram que (9) representa uma nova classe de candidatos a protótipos de agentes antitrombóticos, sintetizados a partir do safrol (1), caracterizando uma nova categoria de compostos-protótipos de agentes antitrombóticos da classe dos *O*-benziléteres de oximas.

Ainda objetivando a descoberta de novos candidatos a protótipos de fármacos anti-trombóticos, os compostos (7) e (8), derivados sulfonamídicos funcionalizados com propriedades TPant, foram eleitos como estruturas-protótipos para o desenho dos novos derivados (10) e (11), candidatos a antagonistas de TP, aplicando-se a estratégia de hibridação molecular (Esquema 4) (Lima, 1996).

Comparando-se as estruturas dos protótipos eleitos (7) e (8), pode-se postular que a menor atividade antiplaquetária de (7), *in vivo*, se dê pela presença da unidade fenoxi-acética, que representa um sítio de fácil metabolização (Barreiro, Silva, Fraga, 1996). Neste con-



Esquema 4

texto, foi planejado o composto (10) (Lima, 1996) para apresentar propriedades TPant., como híbrido de (7) e (8) (Esquema 4).

Estudos de modelagem deste composto, pelo método AM1 comparando-o ao sulotrobano (7) (Rodrigues *et al.*, 1997), evidenciaram adequado índice de similaridade molecular, sobretudo quanto aos aspectos conformacionais envolvidos, que asseguravam a distância adequada para a interação de (10) no sítio receptor, considerando-se o modelo desenvolvido por Albuquerque e colaboradores (1995).

No intuito de se investigar a contribuição da subunidade fenoxiacética ao perfil antitrombótico de (10), o derivado A-metilado (11) foi desenhado como novo análogo metabolicamente *hard* de (10) (Lima *et al.*, 1999), uma vez que a introdução do grupamento a-metila introduz fatores estéricos de restrição ao acesso de enzimas oxidativas hepáticas, responsáveis pela oxidação do metileno metabolicamente reativo a-carboxila, resultando na *O*-desalquilação (Barreiro, Silva, Fraga, 1996), com perda da função ácido carboxílico, farmacoforicamente importante à atividade pretendida.

Os resultados da avaliação das propriedades anti-agregante plaquetárias de (10) (Figura 5), *ex-vivo*, indicaram para este composto IC₅₀ de 329 mM (Lima *et al.*, 1999) no ensaio induzido por AA e, ainda, atividade antiplaquetária no bioensaio induzido pelo composto U-46619, empregado como agonista do receptor de TXA₂. Neste ensaio farmacológico o derivado a-metilado (11) mostrou-se praticamente inativo, indicando que a introdução do grupamento α-metila causa restrição estérica à interação do grupamento farmacofórico carboxilato com os receptores TP.

Estes resultados confirmam o perfil anti-agregante plaquetário de (10), representando um novo derivado aril-sulfonamídico com ação antitrombótica, provavelmente ao nível de TP (Lima *et al.*, 1999).

NOVOS ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES A PARTIR DO SAFROL

Os antiinflamatórios não-esteróides clássicos (*non-steroidal anti-inflammatory drugs – NSAID's*) como o ácido acetilsalicílico (12) (AAS, Aspirina®) (Figura 6) agem normalmente através da inibição da função cicloxigenase da enzima prostaglandina H₂ sintase (PGHS), impedindo a formação das prostaglandinas, geradas na cascata metabólica do ácido araquidônico e responsáveis pela regulação de diversos fenômenos fisiológicos, assim como os sintomas da inflamação (Figura 2).

A prostaglandina endoperóxido-H₂ sintase (PGHS) é uma enzima de membrana que participa da etapa-chave da cascata do ácido araquidônico, presente nos fosfolípidos de membrana e liberado pela ação de fosfolipases como a fosfolipase A₂, e é responsável por duas reações oxidativas sequenciais, que levam à formação do endoperóxido de prostaglandina H₂ (PGH₂) (Xie *et al.*, 1991). A PGH₂ é um precursor comum a todos os prostanóides, cujas ações celulares estão relacionadas, entre outras, à resposta inflamatória.

Conhecem-se, até o presente, pelo menos duas isoformas de PGHS, *e.g.* PGHS-1 e PGHS-2 (Xie *et al.*, 1991; Smith, Meade, DeWitt, 1994). A primeira é a forma constitutiva da enzima, sendo responsável pela produção de prostaglandinas associadas ao processo fisiológico, e a

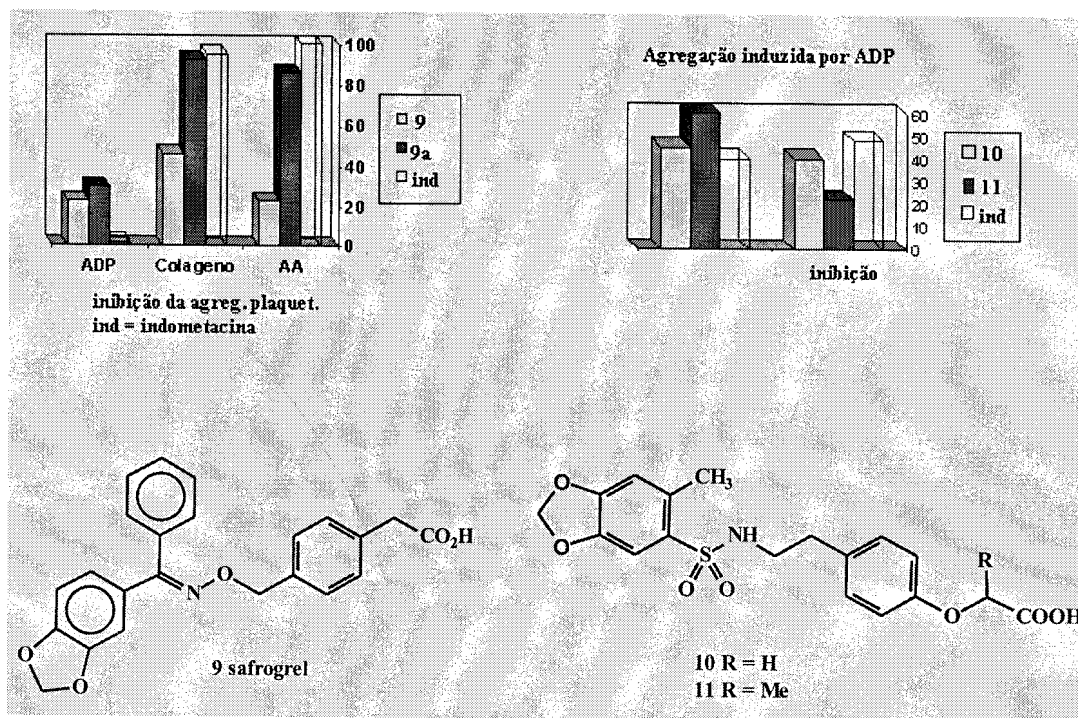


FIGURA 5 - Propriedades antiplaqueta dos novos protótipos: a) safrorel (9) e o éster metílico correspondente (9a); b) safrolobano (10) e análogo α -metilado (11).

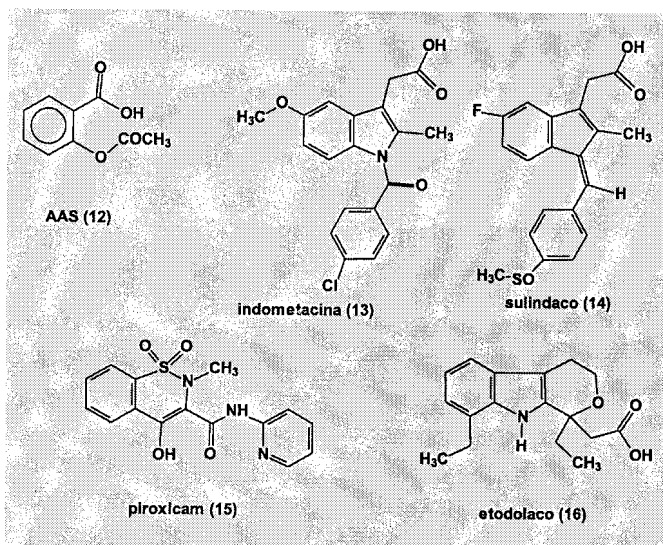
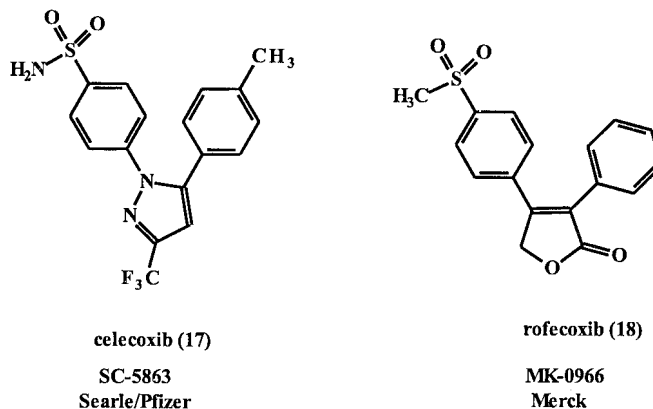


FIGURA 6 - Fármacos NSAID's clássicos.

segunda é a isoforma induzida por estímulos pró-inflamatórios, que podem ser mediados pela tirosina quinase (TK), entre outros mediadores, como lipopolissacarídeos (LPS) e fator de necrose tumoral- α (TNF α) (Smith, Garavito, DeWitt, 1996).

Vários estudos sugerem que a inibição de PGHS-1 está relacionada aos graves efeitos colaterais derivados do uso de NSAID clássicos (Figura 2), principalmente sobre

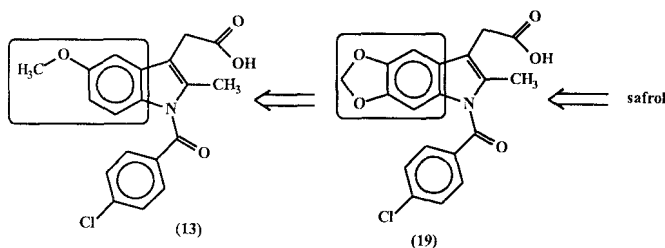
a mucosa gástrica (Vane, Bakhle, Botting, 1998; Badger, Adams, 1998). Desta forma, o conhecimento das diferenças estruturais e funcionais entre a PGHS-1 e a PGHS-2 torna-se necessário para a descoberta de nova geração de fármacos antiinflamatórios seletivos para a PGHS-2 (EC 1.14.99.1), que se caracterizam por apresentar reduzida toxicidade gastrointestinal e renal, em relação aos atuais e clássicos agentes NSAID, como o celecoxib (17) e rofecoxib (18), recentemente lançados no País.



De modo geral os antiinflamatórios não-esteróides clássicos, *e.g.* indometacina (13), inibem a função ciclooxigenase de ambas as isoformas da PGHS. Porém, de

maneira geral, a potência inibitória destes fármacos sobre a PGHS-1 está diretamente correlacionada aos efeitos colaterais graves que causam, associados ao seu uso crônico. Maior potência inibitória e seletividade sobre a isoforma PGHS-2 são responsáveis pelos menores efeitos ulcerogênicos e renais observados.

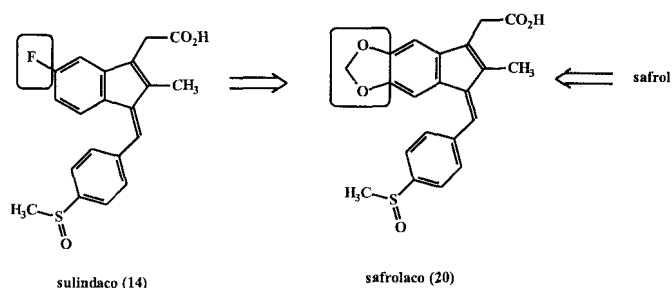
Em 1982, Barreiro e Costa descreveram um novo análogo da indometacina (13) (Esquema 5) (Barreiro *et al.*, 1982) empregando o safrol (1) como matéria-prima. A analogia estrutural entre a indometacina (13) (Shen, Winter, 1977) e o novo análogo (19) reside na presença do anel 1,3-dioxolano neste último, correspondendo à unidade 1,3-benzodioxol do produto natural de partida, em substituição ao éter metílico em C-5 do núcleo indólico da indometacina (13).



Esquema 5

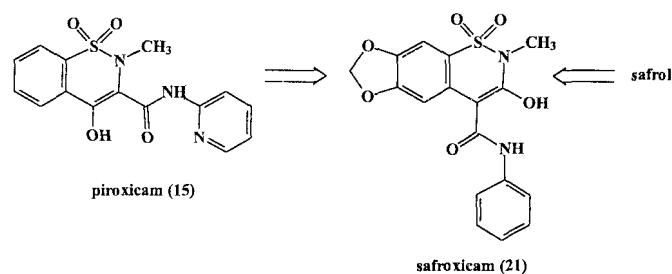
A descoberta de efeitos colaterais centrais advindos do uso continuado da indometacina (13), atribuída à labilidade plasmática da função *N*-*para*-clorobenzoila, conduziu Shen e colaboradores ao sulindaco (14) (Duggan *et al.*, 1977), bioisómero indênico de (13). Este composto apresenta a vantagem de ter um caráter de bioprecursor (Shen, 1981; Gund, Shen, 1977), devido à presença da unidade *para*-fenilmetilsulfóxido, que reduz os efeitos colaterais gastro-irritantes típicos desta classe de agentes antiinflamatórios. Em 1992, Barreiro e Lima (1992) descreveram o novo análogo de (20), sintetizado a partir do safrol (1). Este novo análogo (20) apresenta a função metil-sulfóxido, a exemplo do sulindaco (14), e possui a função 1,3-benzodioxólica, oriunda do produto natural de partida (1), como sub-unidade isostérica à unidade 5-fluorfenila do sistema indênico de (14). Os resultados da avaliação farmacológica da atividade antiinflamatória do composto (20), assim como do correspondente sulfeto, realizada através do teste do edema da pata de rato induzido por carragenina (Pereira *et al.*, 1989), confirmaram o esperado perfil anti-edematogênico deste novo composto, caracterizando nova relação bioisostérica entre o sistema 1,3-benzodioxólico de (20) e a unidade *para*-fluorfenila de (14). Outrossim, os resultados farmacológicos obtidos indicaram que o sulfeto precursor sintético de (20) apre-

sentava maior atividade AI do que o sulfóxido final, caracterizando, a exemplo do próprio sulindaco (14), cujo derivado reduzido é a forma mais ativa, o mesmo perfil pró-fármaco para este novo agente AI, denominado safrolaco (20) (Esquema 6). Estes resultados indicam que (20) representa uma nova família de agentes NSAI, obtidos a partir de produto natural brasileiro abundante, atuando pelo mesmo mecanismo que o sulindaco (14).

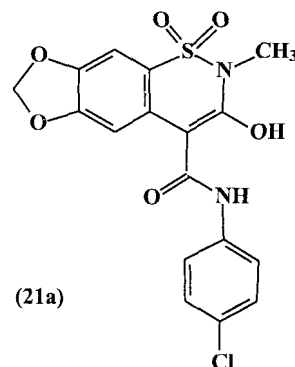


Esquema 6

Em 1972, a Pfizer lançou o protótipo da classe dos oxicanos, representado pelo piroxicam (15) (Figura 6) (Lombardino, Wiseman, McLamore, 1971), um agente NSAI enólico que apresenta baixo perfil ulcerogênico. Barreiro e Fraga (1992) descreveram novos agentes AI, análogos dos oxicanos (*e.g.* 21) (Esquema 7), sintetizados



Esquema 7

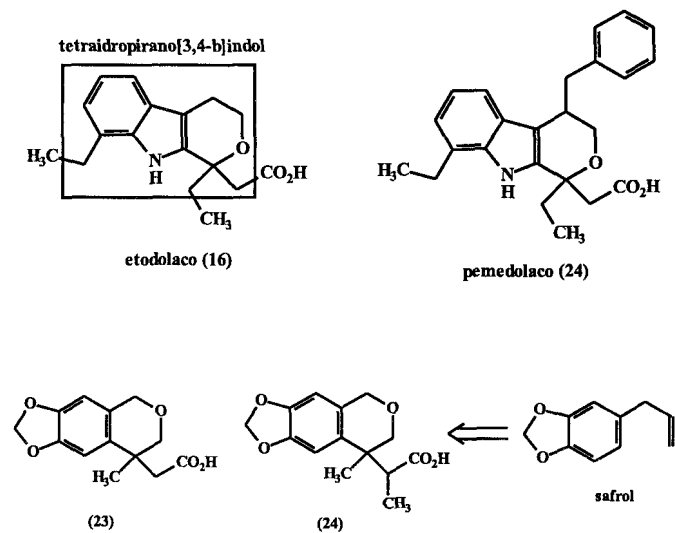


a partir do safrol (1). A avaliação das propriedades antiinflamatórias destas novas carboxamidas (e.g. 21), no modelo farmacológico de inibição da enzima ciclooxigenase representado pelo teste do edema da pata de rato induzido por carragenina (Smith, Willis, 1971), evidenciou que o derivado *para*-clorobenzênico (21a) foi equipotente ao próprio piroxicam (15), na dose de 33 mg/kg, indicando que a presença de substituintes com valores de s_p positivos, aumentando a acidez destes compostos, favorece sua potência como antiinflamatório. Estes novos derivados representam uma nova classe de análogos enólicos dos oxicanos, sintetizada a partir do safrol (1).

Em 1976, Humber e colaboradores descreveram o etodolaco (16) (Demerson *et al.*, 1976) (Figura 6), novo derivado indólico da classe dos ácidos aril-carboxílicos, com potentes propriedades antiinflamatórias e analgésicas. Os mesmos autores descreveram ainda o pemedolaco (22) (Katx *et al.*, 1988; Mobilio *et al.*, 1988), análogo benzílico de (16), que apresentou perfil analgésico superior ao primeiro, atribuído aos efeitos conformacionais introduzidos no anel isocromânico pela introdução da unidade benzílica em C-4.

Em 1993, Silva e Barreiro (1993) descreveram os derivados (23) e (24) (Esquema 8), planejados como

isómeros de (16) (Barreiro, 1991), em que a relação isostérica reside na substituição do sistema indólico de (16) pela sub-unidade 1,3-benzodioxólica em (23) e (24), explorando o safrol (1) como material de partida.



Esquema 8

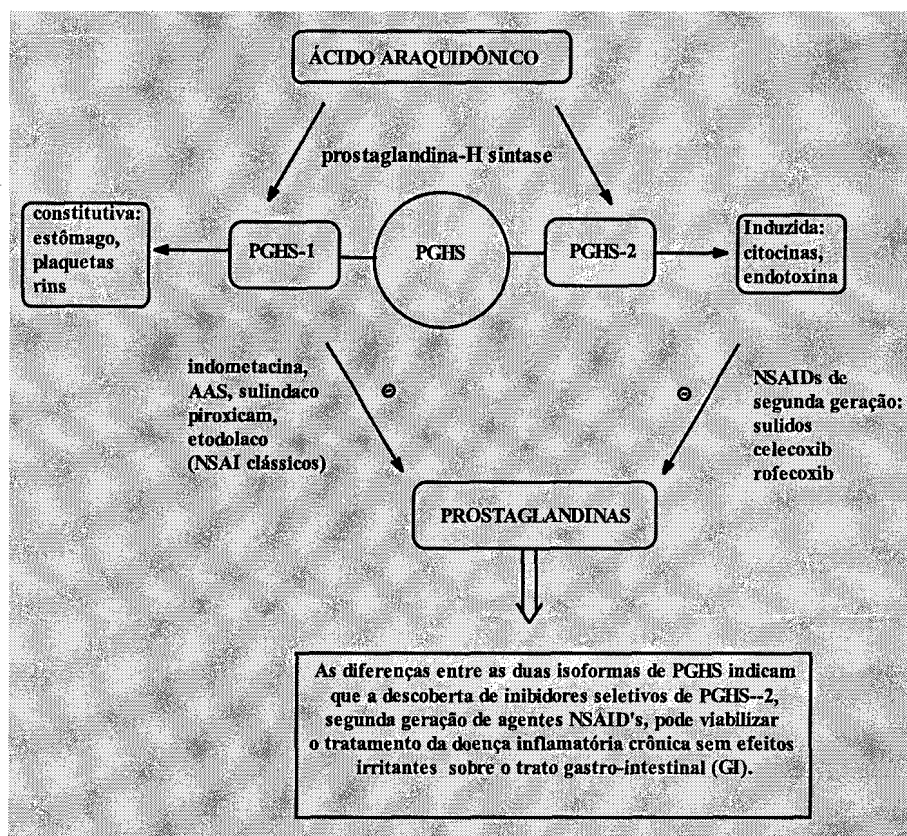


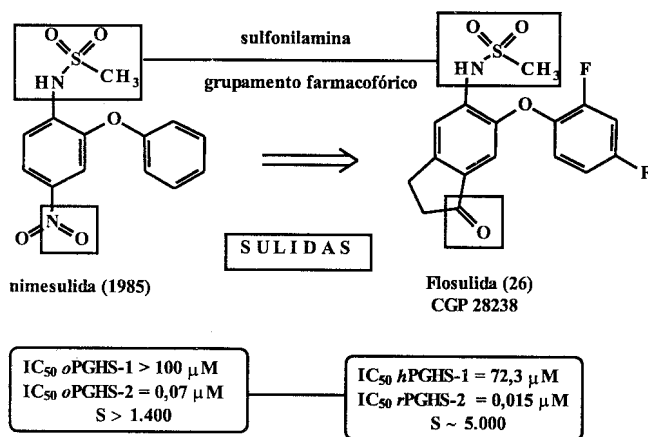
FIGURA 7 - Isoformas da PGHS.

Os ensaios das propriedades antiinflamatórias destes derivados evidenciaram que o composto (23) apresentou melhor perfil do que o derivado α -metilado (24).

NOVOS PROTÓTIPOS DE AGENTES ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES DE SEGUNDA GERAÇÃO

A recente descoberta da isoforma 2 da PGHS (PGHS-2) (Figura 7) (Xie *et al.*, 1991; Smith, Meade, DeWitt, 1994; Smith, Garavito, DeWitt, 1996), como uma enzima induzida pelo estímulo inflamatório, identificou-a como alvo-terapêutico atraente para o desenho de nova geração de agentes NSAI, inibidores seletivos desta enzima, que atuariam sem os efeitos gastro-irritantes, mecanismo de ação dependente, típicos dos clássicos fármacos NSAI inibidores de PGHS-1, isoforma constitutiva responsável pela produção de PG's essenciais à regulação do mecanismo de citoproteção do trato gastrointestinal.

Neste contexto, o desenho de novos agentes NSAI de segunda geração, não gastro-irritantes, empregando o safrol como matéria-prima se constituiu num atraente desafio. Entre os compostos descritos, à época, como inibidores seletivos de PGHS-2 encontravam-se a nimesulida (25) (Swingle, Moore, Grant, 1976) (Esquema 9), que apresenta um índice de seletividade (*IS*) PGHS-2/PGHS-1 da ordem de 1400 e a flosulida (26) (Esquema 9) com *IS* de 5000 (Klein *et al.*, 1994), sendo ambos pertencentes à classe de inibidores de PGHS-2 das sulidas (Lages *et al.*, 1998; Reitz, Seibert, 1995), que possuem como principal unidade farmacofórica a função aril-sulfonilamina.



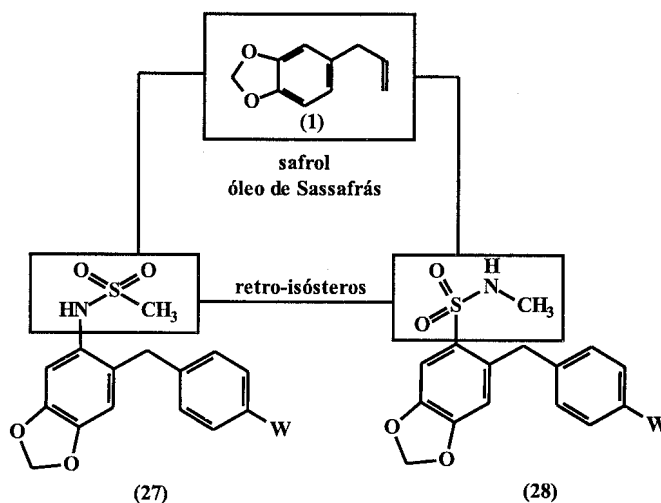
Esquema 9

A nimesulida (25) é empregada como agente AI desde 1985, *i.e.* antes da descoberta da PGHS-2, e por não apresentar a função ácido carboxílico, típica dos derivados

NSAI clássicos, seus efeitos AI foram inicialmente atribuídos às propriedades anti-oxidantes (Rabasseda, 1996), o que provavelmente explica a presença em sua estrutura da unidade *para*-nitrofenila. Diversos representantes da classe das sulidas são conhecidos.

O desenho estrutural dos novos protótipos de agentes NSAI de segunda geração propostos, os retroisósteros (27) e (28), a partir do safrol (1), foi idealizado conforme ilustrado no Esquema 10. Considerando-se como farmacóforo a sub-unidade metilsulfonilamina e o maior índice de seletividade de (26) em relação a (25), a cuidadosa análise estrutural de (26) sugeriu que a carbonila do sistema indanônico da flusolida (Esquema 10) corresponde à ligação dupla $N=O$, contida no grupamento *para*-nitrofenila da nimesulida (25), que representa neste fármaco um potencial toxicofórico.

Outrossim, ambas funcionalidades, *i.e.* a carbonila do sistema indanônico de (26) e o grupamento nitro de (25), podem apresentar um caráter aceptor de ligações de hidrogênio na interação com a PGHS-2 e respeitam uma relação *para*- com a unidade farmacofórica típica das sulidas (Lages *et al.*, 1998). Com base nesta análise comparativa foi definido o padrão de substituição do anel aromático dos novos candidatos propostos (27) e (28), admitindo-se que um dos átomos de oxigênio da ponte 1,3-benzodioxol do produto natural de partida, mantendo uma relação *para*- com o grupamento farmacofórico metilsulfonilamina, pode corresponder a um sítio aceptor de hidrogênio isótero aquele presente em (26).



Esquema 10

Este desenho estrutural antecipava uma nova relação bioisostérica entre os sistemas indanona e metileno-dioxifenila oriundo do safrol de partida. Ademais, a natureza difeniléter de ambos os inibidores eleitos como mo-

delo (25) e (26) foi substituída nos novos compostos desenhados (27) e (28), por uma unidade difenilmetano, explorando-se a clássica relação bioisotérica entre $-O-$ e $-CH_2-$ (Patani, LaVoie, 1997). Finalmente, visando introduzir maior variação estrutural entre os novos candidatos a protótipos de agentes AI de segunda geração, preparados a partir do safrol, e investigar a contribuição farmacofórica da sub-unidade metilsulfonilamina de (27), empregou-se o retroisosterismo funcional para identificar-se a função sulfonamida incluída no novo protótipo proposto (28), isótero do farmacóforo metilsulfonilamina das sulidas, o que assegurava um novo padrão estrutural.

De maneira a identificar índices de similaridade molecular entre os derivados propostos e as sulidas eleitas como seus protótipos, iniciaram-se simultaneamente, estudos de modelagem por mecânica molecular (Romeiro, Barreiro, Albuquerque, 1999), visando à definição de um modelo topográfico 3-D para a PGHS-2 que fosse capaz de auxiliar o desenho dos novos protótipos. Este modelo foi construído a partir dos dados estruturais disponíveis para a isoforma conhecida PGHS-1 e considerando-se o seu grau de homologia com a nova isoforma PGHS-2, de estrutura até então desconhecida (Romeiro, 1997). Destes estudos resultou o modelo indicado na Figura 8, onde os sítios S_1 e S_2 representam sítios de interações por ligações de hidrogênio do inibidor com a PGHS-2. O sítio S_3 do modelo desenvolvido por Romeiro (1997) corresponde a interações hidrofóbicas e o sítio S_4 corresponde a cavidade estérica do sítio ativo da PGHS-2.

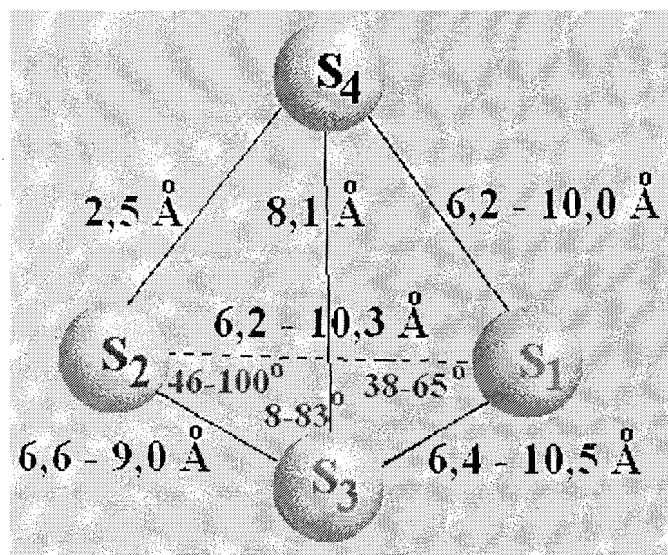
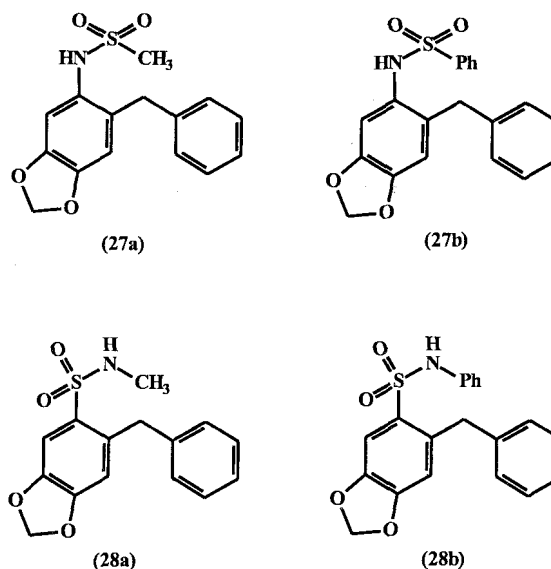


FIGURA 8 - Modelo tridimensional de sítio farmacofórico para inibidores seletivos de PHGS-2 (Romeiro, 1997).

Análise esquemática dos novos derivados propostos (27) e (28) no modelo ilustrado na Figura 8 indicou um



ótimo nível de sobreposição, validando seu desenho estrutural. A síntese de (27) e (28), a partir do safrol (1), foi realizada empregando rota convergente, com intermediário comum, obtido em elevado rendimento global a partir do safrol (1) (Lages *et al.*, 1998).

Os resultados da avaliação farmacológica destes novos compostos, ilustrados na Figura 9, confirmaram o perfil antiinflamatório antecipado, tendo os derivados sulfonamídicos (28a) e (28b) apresentado significativa resposta no bioensaio de inibição da pleurisia induzida por carragenina em ratos, superior àquelas apresentadas pelos compostos sulfonilaminícos (27a) e (27b). Dentre os novos protótipos obtidos, aquele apresentando um substituinte metila na unidade sulfonamida (28a) se mostrou como o mais ativo (46,0 % de inibição), enquanto que seu análogo fenilado (28b) apresentou menor potência (38%), embora ambos tenham sido mais ativos que a própria nimesulida (25), empregada como padrão, que apresentou 29,9% de inibição.

Estes resultados indicam um índice de atividade *ca.* 1,3 superior para os novos compostos (27) e (28) em relação ao fármaco disponível no mercado.

Visando confirmar a seletividade destas novas substâncias antiinflamatórias sobre a PGHS-2, investigamos, em seguida, seu potencial ulcerogênico. Os resultados obtidos com (27) e (28), em concentrações seis vezes superiores àquelas que manifestaram a atividade AI, indicaram que estes novos AI não provocaram lesões na mucosa gástrica dos animais estudados, contrariamente ao observado com a própria nimesulida nas mesmas concentrações relativas (Sabbadini *et al.*, 1999). A indometacina (13), empregada nestes bioensaios como padrão, apresentou, como esperado, visto que é um inibidor seletivo da isoforma PGHS-1, significativo perfil ulcerogênico (Sabbadini *et al.*,

1999). Estes resultados referendam a atividade desejada de (27) e (28) como sendo ao nível da PGHS-2, confirmando a validade da estratégia de planejamento estrutural adotada. Ademais, os novos candidatos a protótipos de compostos antiinflamatórios de segunda geração (27) e (28) não apresentaram propriedades antiagregantes plaquetárias significativas em diversas concentrações no ensaio da inibição da agregação plaquetária induzida por AA no plasma rico em plaquetas de coelho, em que predomina a isoforma PGHS-1 e a indometacina (13) apresentou potentes propriedades inibitórias, corroborando a ação dos novos compostos ao nível PGHS-2.

A diferença de atividade observada entre os derivados (28a) e (28b) pode ser influenciada pela diferença dos substituintes na unidade farmacofórica sulfonamida, a saber um grupamento metila (28a) *versus* fenila (28b). Para verificar esta hipótese empregaram-se os dados de cristalografia de raios-X da PGHS-2, então disponibilizados no *Protein Data Bank*, em 1998 (1CCX2, <http://rcsb.org/pdb/>), e construiu-se um modelo preditivo do sítio-ativo de PGHS-2 e por estudos de dinâmica molecular verificou-se a afinidade relativa destas substâncias pelo sítio ativo da PGHS-2 (Figura 10) (Barreiro *et al.*, 2000).

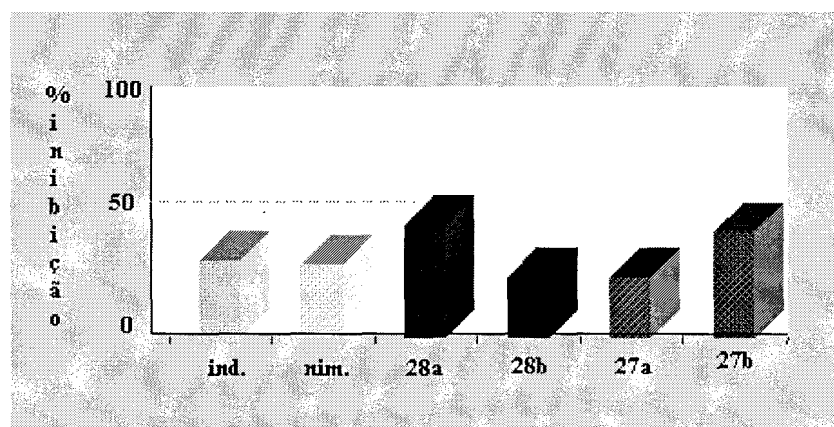


FIGURA 9 - Perfil antiinflamatório dos novos derivados (27a, b) e (28a, b), determinado no ensaio da pleurisia induzida pela carragenina em camundongos.

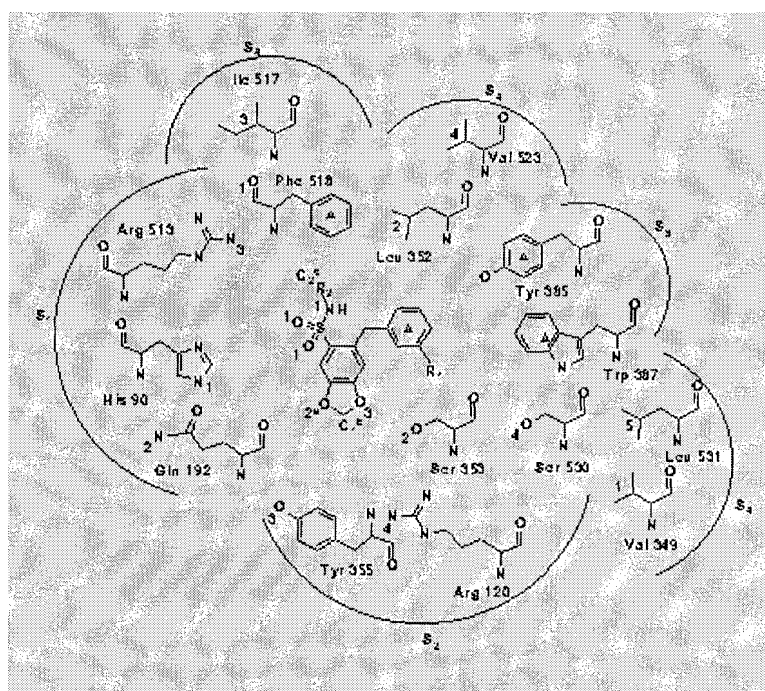


FIGURA 10 - Esquema do modelo preditivo do sítio-ativo da PGHS-2 desenvolvido por dinâmica molecular (Barreiro *et al.*, 2000).

Os resultados obtidos, ilustrados na Figuras 11 e 12, demonstraram que a presença da fenila na unidade farmacofórica de (28b) provoca interações estéricas desfavoráveis com a Glu-111 do sítio-ativo da PGHS-2, afastando o grupamento farmacofórico dos principais sítios de interação (Figura 11a e b), o que não ocorre com o derivado metilado (28a).

A sobreposição de (28a) e (28b) (Figura 12) ilustra a diferença nas interações de ambos derivados ativos e indica o *fit* adequado que o derivado sulfonamídico metilado (28a) apresenta com o sítio ativo da PGHS-2, evidenciando uma base racional para sua maior atividade.

O elevado grau de complementaridade molecular observada entre estes derivados ativos (28a) e (28b) e o modelo do sítio-ativo da PGHS-2, aliado ao perfil farmacológico evidenciado pelos bioensaios realizados, representam evidências a favor de que as propriedades antiinflamatórias observadas nestes novos compostos decorram, de fato, da inibição seletiva da PGHS-2. Outrossim, os resultados dos estudos de modelagem molecular do sítio ativo de PGHS-2 validaram, de forma inequívoca, o modelo 3D desenvolvido preliminarmente, anterior ao conhecimento da topografia da PGHS-2.

Finalmente, os resultados obtidos a partir da estratégia racional empregada para o desenho estrutural destes

novos agentes AI ilustram uma nova relação bioisostérica envolvendo o sistema 1,3-benzodioxola presente no produto natural de partida e a unidade 2-indanona presente na flosulida (26) e representam a descoberta de novas entidades químicas de nova classe de protótipos de agentes NSAI de segunda geração, inibidores seletivos de PGHS-2, sintetizados a partir do safrol (1), um produto natural brasileiro abundante.

Otimização do protótipo identificado a partir do safrol

Os estudos de dinâmica molecular indicaram a presença do resíduo Tyr-385 no sítio ativo da PGHS-2, distante *ca.* 4,3 Å do término fenílico dos novos derivados ativos (28a) e (28b). Esta observação sugeriu o desenho de novas séries isostéricas, entre si, (29) e (30), homologando o *spacer* difenilmetano presente nos compostos originais.

Esta modificação molecular, visando à otimização dos protótipos originais (28) (Esquema 11), por homologação, visou aproximar a unidade fenilica dos novos derivados (29) e (30) à Tyr-385 do sítio ativo da PGHS-2, permitindo que novas interações do tipo π -*stacking* entre os dois sistemas aromáticos fossem favorecidas, potencializando as interações enzima-inibidor e, conseqüentemente,

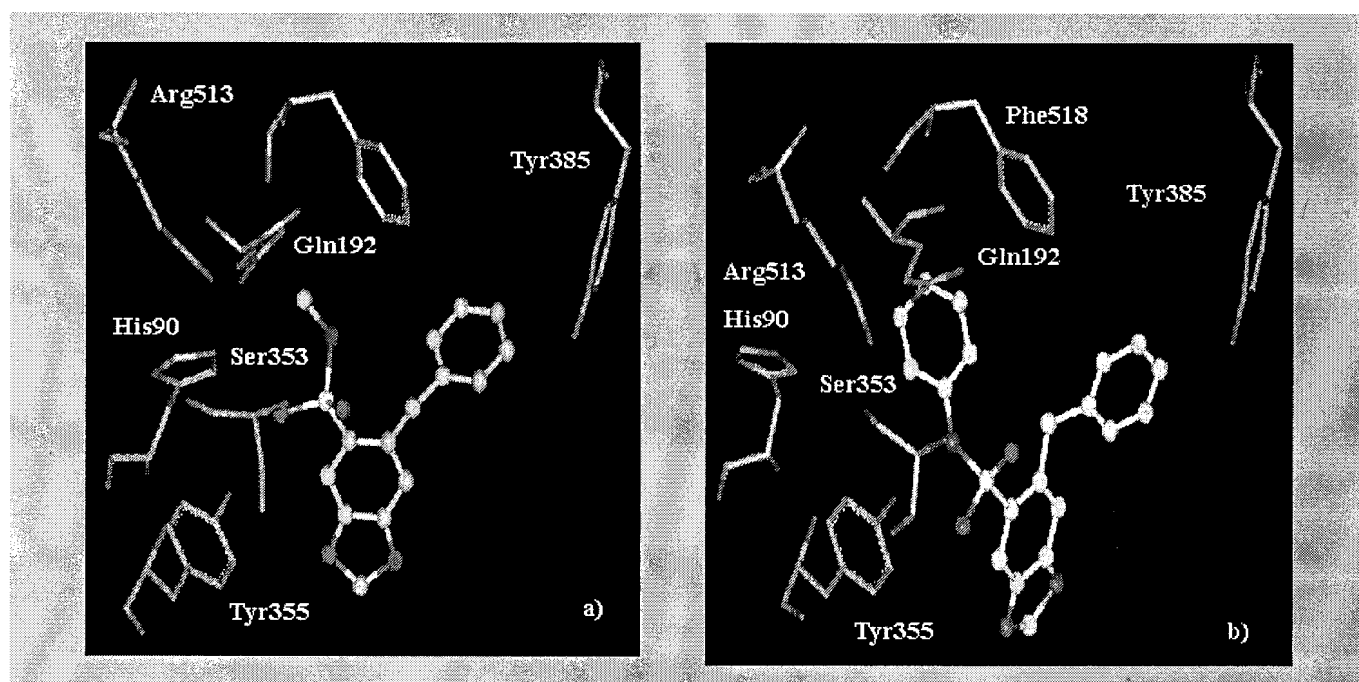


FIGURA 11 - Modelo de dinâmica molecular do sítio ativo da PGHS-2: a) na presença do derivado sulfonamídico metilado (28a), indicando as principais interações do grupamento farmacofórico sulfonamida com a tríade Gln192, His90 e Ser353; b) na presença do derivado sulfonamídico fenilado (28b), indicando a perda das principais interações do grupamento farmacofórico sulfonamida com a Ser353, em virtude da compressão estérica causada pela fenila com Gln192.

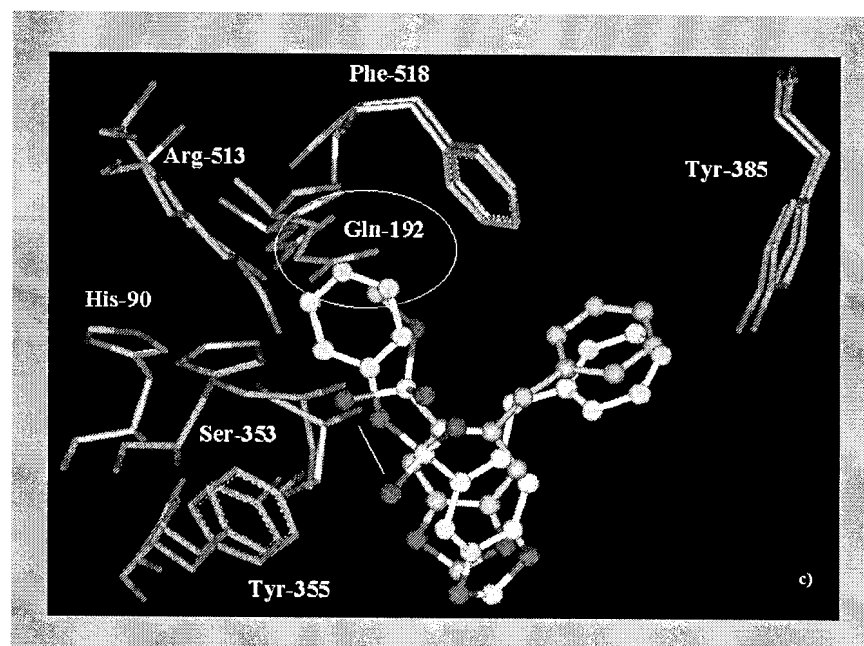
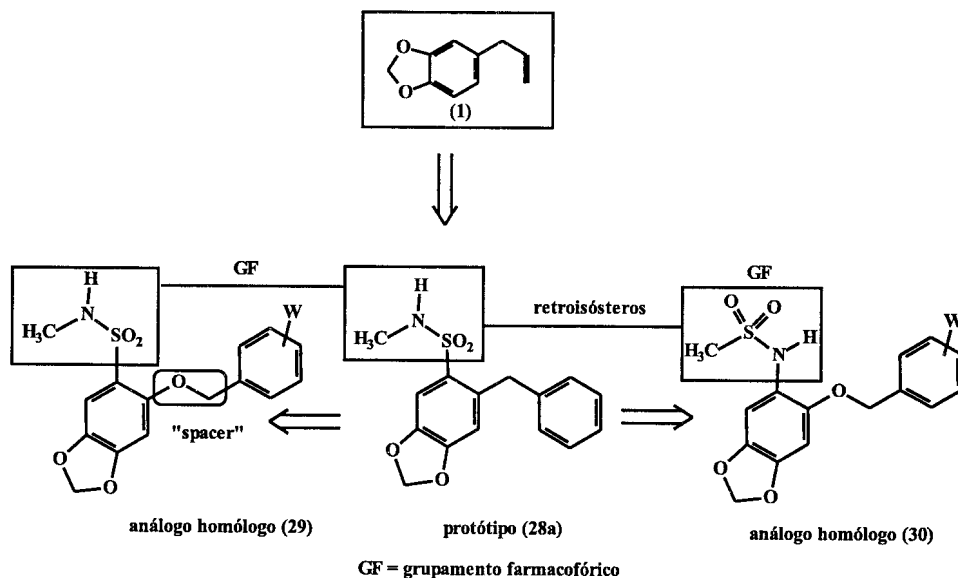


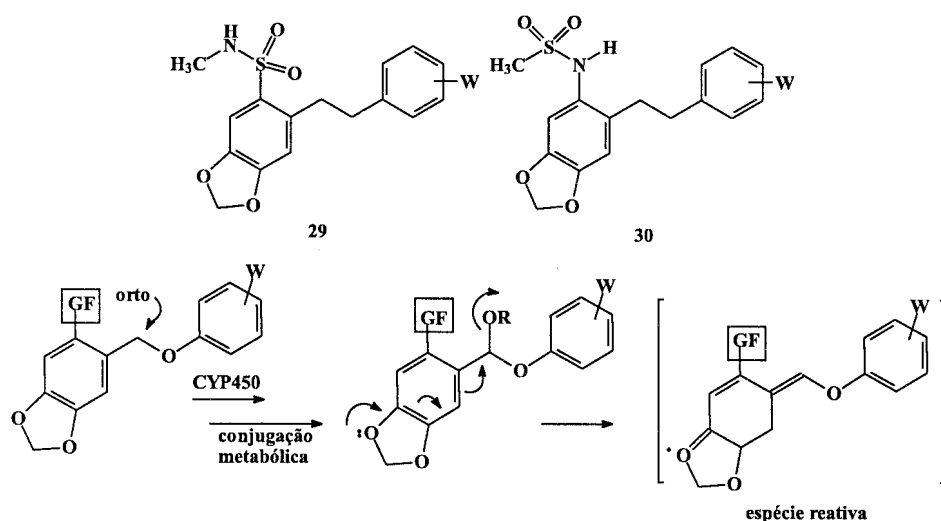
FIGURA 12 - Modelo do sítio ativo da PGHS-2 indicando a sobreposição dos derivados sulfonamídico fenilado (28b) e metilado (28a), indicando as interações estéricas desfavoráveis que o derivado fenilado apresenta com o resíduo Gln-192, afastando o grupamento farmacofórico, indicado no quadrado amarelo, do sítio de interação representado pela Ser-353.



Esquema 11

otimizando os protótipos iniciais. A homologação planejada, introduzindo um novo átomo de oxigênio, permitiria a formação de ligações-H intramoleculares entre os substituintes *orto*-orientados, de maneira a configurar um certo grau de restrição conformacional nos derivados propostos, permitindo que conformações similares aos protótipos originais fossem favorecidas, a despeito dos dois novos ângulos de torção que a nova série possui, assegurando

a aproximação do anel fenílico terminal ao sítio Tyr-385 desejado. Ademais, esta racionalização indicava a regiolocalização do novo átomo de oxigênio sobre o anel 1,3-benzodioxol, oriundo do produto natural de partida, e não sobre o anel fenílico terminal, de maneira a favorecer a formação de ligações-H intramoleculares. Outrossim, a oxa-homologação, se feita sobre o anel fenílico, permitiria a formação de metabólitos da posição benzílica α -hetero-



Esquema 12

átomo, hidroxilados, que, a exemplo do safrol, poderiam sofrer eliminação, assistida pelo sistema 1,3-dioxólico, conduzindo à formação de espécies eletrofílicas reativas, transientes, de elevado potencial toxicofórico (Esquema 12).

Os estudos de dinâmica molecular evidenciaram, ainda, a natureza do substituinte W a ser incluído no anel fenílico terminal, pois, em função de sua natureza e regiolocalização, poder-se-ia induzir à formação de novas interações adicionais por ligação-H entre os *meta*-substituintes e o grupamento hidroxila, fenólico, da Tyr-385 (Figura 13).

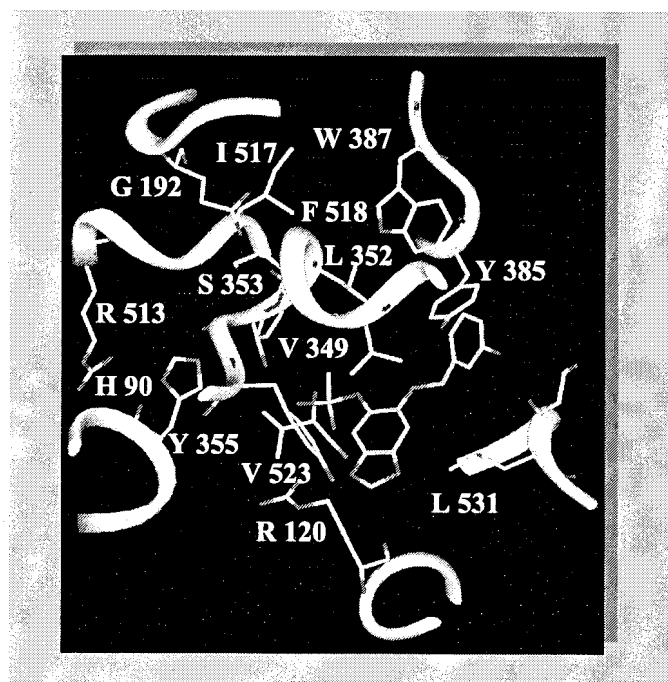


FIGURA 13 - Visão das interações do derivado homólogo (30) com o sítio ativo da PGHS-2, evidenciando a Tyr-385 (Y385).

Os resultados da avaliação farmacológica com os novos derivados evidenciaram seu perfil antiinflamatório no ensaio do edema de pata de rato induzido por carragenina, com potência inferior à série protótipo. Entretanto, não se observaram efeitos gastro-irritantes com seis vezes as doses antiinflamatórias utilizadas.

Derivados *N*-acilidrazônicos Bioativos

A inibição da PGHS pelos fármacos NSAI têm como consequência suplementar, o acúmulo de AA que pode ser empregado pelo 5-LO levando ao aumento da produção de LT's (Figura 2), que aumentam a quimiotaxia de neutrófilos e, de certa forma, reduzem a eficácia terapêutica dos NSAI's. Ademais, as propriedades fisiológicas dos LT's estão relacionadas aos efeitos de hipersensibilidade ou alérgicos que alguns pacientes desenvolvem frente ao AAS.

Desta forma, a inibição dupla da PGHS/5-LO representa uma atraente estratégia para o tratamento do quadro inflamatório. Conseqüentemente, o planejamento de novos compostos com atividade dupla têm despertado o interesse de diversos grupos de pesquisa, tanto acadêmicos como industriais.

Entre os processos úteis para a identificação de novos compostos-protótipos, a hibridação molecular de inibidores/antagonistas de enzimas ou receptores, respectivamente, representa uma atraente estratégia.

Considerando-se que o derivado BW-755c (31), descrito por Glighieri-Bertez (1982), como um potente inibidor dual de COX e 5-LO, possui uma função *N*-fenilidrazona substituída (a, Figura 14) contida no sistema heterocíclico e que o composto CBS-1008 (32), descrito por Sincholle e colaboradores (1985), possui as mes-

mas propriedades, e apresenta a mesma função – *N*-heteroarilidrazona (**b**, Figura 14) – desta feita como espaçadora entre os anéis heterocíclicos, o derivado (33) foi planejado como híbrido de (31) e (32) (Figura 14) (Matheus *et al.*, 1991). Esta substância pertencente à classe *N*-fenilpirazol, contém, internalizada no anel *N*-heterocíclico, a função *N*-fenilidrazona (**a**) do BW-755c (31) e na posição C-5 do anel pirazólico possui a segunda unidade arilidrazona espaçadora (**b**) presente no CBS-1008 (32).

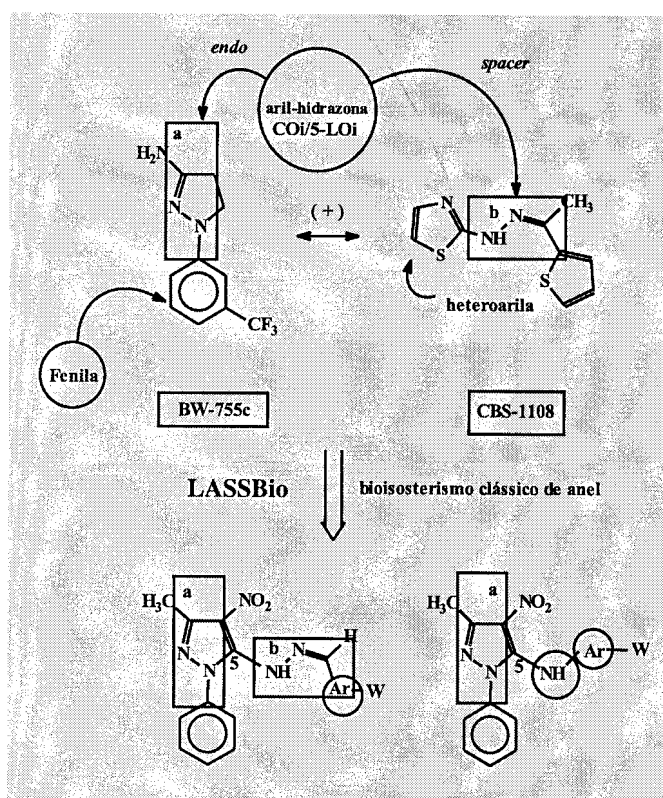


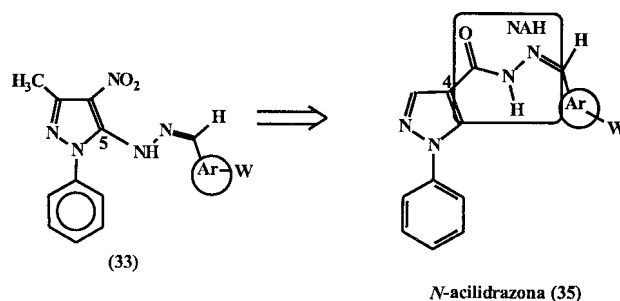
FIGURA 14 - Gênese dos derivados arilidrazônicos por hibridação molecular.

Os bioensaios realizados com estas substâncias, em que a natureza dos substituintes do anel fenílico (**W**) da unidade imínica foi definida de forma a variarem-se as contribuições eletrônicas e a natureza hidrofóbica desta parte da molécula, identificaram o derivado *para*-dimetilaminofenila como o mais atraente, com propriedades analgésicas e antiinflamatórias (Silveira *et al.*, 1991).

Uma vez que este derivado (33) possuía as duas funções hidrazonas, oriundas de (31) e (32), com a finalidade de investigarem-se suas contribuições farmacofóricas relativas a série 5-arilamino (34) foi sintetizada e bioensaiada (Silveira *et al.*, 1993). Os resultados farmacológicos mostraram que esta classe não apresentava o perfil demonstrado pelos compostos (33), indicando que a presença da fun-

ção hidrazônica espaçadora (**b**) era necessária à atividade.

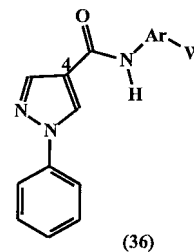
Considerando que a presença da sub-unidade nitroazol em (33) atribui um potencial tóxico a este derivado, esta classe de derivados hidrazônicos ativos foi estruturalmente simplificada, originando a série *N*-acilarilidrazona (35) (Esquema 13). A partir de (33), eleito como protótipo, introduziu-se em C-4, uma função carbonila C=O, elétron-atratora, que mimetiza a presença do grupo nitro em C-4 de (33), sem, entretanto, apresentar propriedades toxicofóricas. Desta forma, identificamos a classe *N*-acilarilidrazonas (NAH), representadas por (35).



Esquema 13

A avaliação farmacológica, ao nível das propriedades anti-edematogênicas de (35) e análogos substituídos no anel fenila da função imina, permitiu identificar-se como ativos nos modelos de analgesia periférica e inflamação mediada pelo ácido araquidônico, os compostos *para*-substituídos, onde o composto com o grupo *para*-*N*-dimetilaminofenila se destacou (Freitas *et al.*, 1993; Dias *et al.*, 1994; Freitas *et al.*, 1995; Pereira *et al.*, 1998; Manasfi *et al.*, 2000).

Da mesma forma que se procedeu com a série protótipo, hidrazônica, nesta classe a síntese e avaliação farmacológica dos análogos 4-arilamídicos (36) correspondentes permitiu evidenciar-se o caráter farmacofórico da unidade NAH em C-4.



A natureza dos substituintes **W** no anel fenílico da unidade imínica foi definida em função de suas propriedades hidrofóbicas (p, s), e pelo emprego do bioisosterismo como estratégia de modificação molecular, obtiveram-se diversas classes congêneres de substâncias aromáticas e

heteroaromáticas, apresentando a função *N*-acilarilidrazona e contendo 6, 10 e 14 elétrons- π com distinto caráter hidrofóbico (Figura 15).

Para se estudar a relação entre a estrutura e a atividade anti-edematogênica observada nesta classe de derivados bioativos, foi essencial determinar-se a forma tautomérica predominante nesta classe de derivados, bem como identificar-se a configuração relativa da insaturação $N=C$ da função NAH (Pereira *et al.*, 1998).

Cabe destacar que a possibilidade de tautomeria nesta série conduziria à formação de espécies reativas, tóxicas, representadas por diazo-cetonas (Esquema 14), que compreendem espéciesceptoras de Michael, reagindo com nucleófilos biológicos (*e.g.* bases purínicas) e formando adutos irreversíveis de elevado potencial toxicofórico.

A predominância do tautomêro imínico e a configuração relativa da ligação dupla $N=C$ nesta classe de derivados foi determinada pela análise cuidadosa de suas propriedades espectroscópicas, que evidenciaram forte absorção no espectro IV a 3200 cm^{-1} ($N-H$), associada à presença de sinais simples nos espectros de RMN 1H e ^{13}C em δ

8,5-9,0 e 144,2-148,5, respectivamente, correspondendo ao $C-H$ imínico, o que exclui a predominância da forma diazo-cetona e identifica a configuração da ligação dupla $N=C$ como (*E*) (Santos *et al.*, 1998).

Finalmente, estudos de modelagem molecular, por mecânica, reiteraram a predominância da configuração (*E*) da insaturação, assim como permitiram evidências da estabilidade relativa das conformações (Esquema 15) da cadeia NAH, em função do padrão de substituição dos diversos núcleos isósteros sintetizados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste artigo foi demonstrado que a estratégia de desenho de novos compostos protótipos baseada no mecanismo de ação é uma abordagem válida para o planejamento racional de novos fármacos. Ademais, novos compostos-protótipos de fármacos antitrombóticos com propriedades duais TXSi/TPant e TPant, antiinflamatórios, análogos de agentes clássicos, foram estruturalmente planejados e obtidos por esta abordagem. As estratégias de

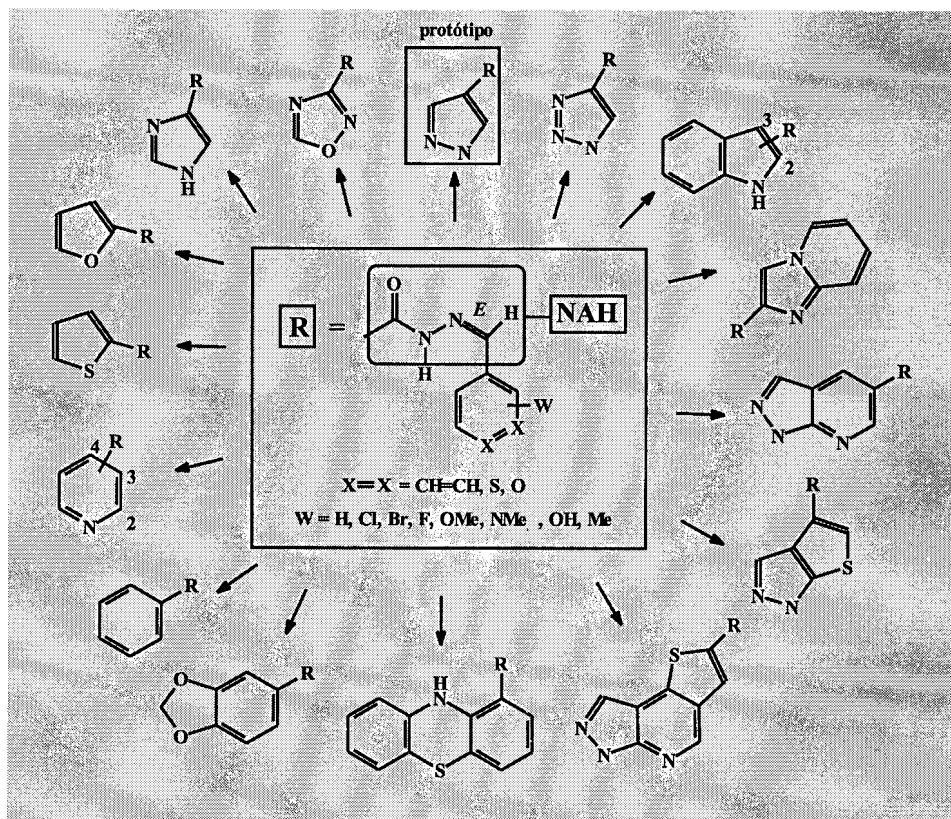
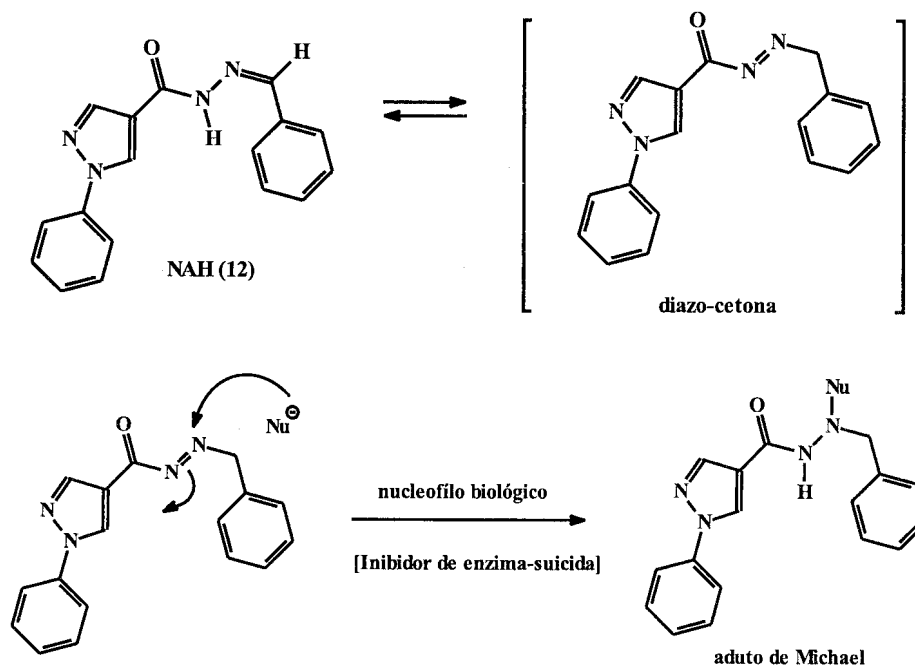


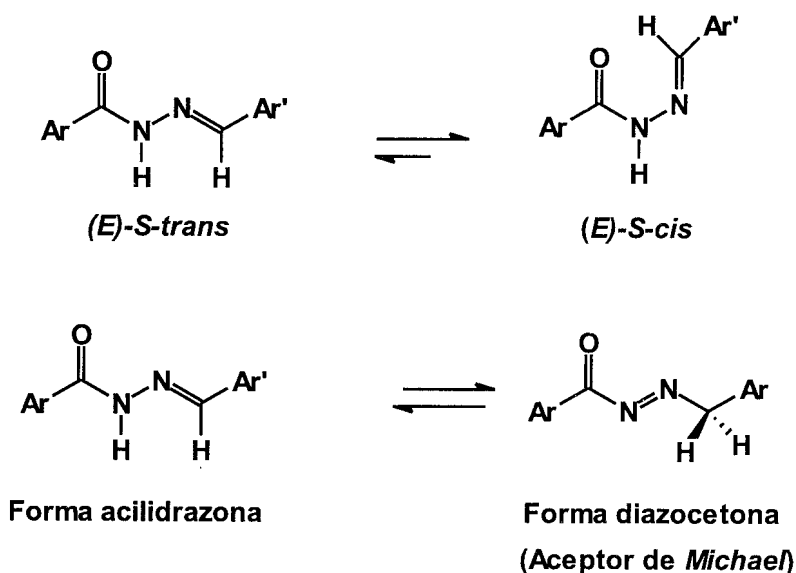
FIGURA 15 - Diversidade molecular da série de derivados NAH ativos, construída pelo emprego do bioisosterismo (Freitas *et al.*, 1993; Dias *et al.*, 1994; Freitas *et al.*, 1995; Pereira *et al.*, 1998; Todeschini *et al.*, 1998; Ribeiro *et al.*, 1998; Barja-Fidalgo *et al.*, 1999; Leite *et al.*, 1999; Lima *et al.*, 1999; Albuquerque, Barreiro, Sudo, 1999; Lima *et al.*, 2000; Manasfi *et al.*, 2000).



Esquema 14

desenho estrutural empregadas, incluindo o bioisotermismo; a hibridação molecular, aliadas à intuição química e ao esforço de pesquisa interdisciplinar englobando a Química Orgânica Sintética, a Farmacologia e Química Computacional mostraram-se adequadas, para se obter novos compostos protótipos. Entre estes novos compostos protótipos planejados e sintetizados em elevados rendi-

mentos a partir de produto natural brasileiro abundante, através de rotas de fácil execução, identificaram-se novas relações bioisotéricas envolvendo a sub-unidade 1,3-benzodioxol do safol. Os novos protótipos de inibidores seletivos de PGHS-2, NSAI de segunda geração foram desenhados com auxílio da modelagem molecular, explorando-se modelo topográfico 3D do sítio ativo da enzima-



Esquema 15

alvo. A expressiva atividade observada nos bioensaios realizados para o novo protótipo (28a), superior à nimesulida empregada como padrão, pode ser racionalizada a partir de estudos de dinâmica molecular com a construção de modelo preditivo do sítio ativo que pode ser empregado para o desenho futuro de novos protótipos de inibidores seletivos de PGHS-2.

Finalmente, os resultados descritos neste artigo, demonstram, inequívoca e decisivamente, que o uso de produtos naturais brasileiros abundantes, como matéria-prima na síntese de candidatos a protótipos de novos fármacos, planejados a partir de desenho estrutural que se baseia no mecanismo de ação, pode ser efetivamente realizado, com sucesso, no País, tendo sido objeto recente de depósito de pedido de duas patentes para uma nova classe de agentes anti-inflamatórios não-esteróides de segunda geração e uma nova substância cardioativa (Albuquerque, Barreiro, Sudo, 1999; Sudo, Zapata-Sudo, Barreiro, 2001; Gonzalez-Serratos *et al.*, 2001).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as bolsas de produtividade em pesquisa do CNPq e o apoio financeiro dos órgãos de fomento (FUJB, FAPERJ, Pronex).

Agradecemos a todos os alunos de graduação e pós-graduação, que participam/participaram dos projetos com decisiva e tenaz dedicação, cujos nomes estão mencionados nas referências citadas, por terem contribuído de forma eficaz com seu aprendizado, ao esforço de pesquisa em **Química Medicinal** que vimos desenvolvendo no LASSBio, Departamento de Fármacos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

ABSTRACT

Strategies in Medicinal Chemistry to the discovery of new lead-compounds

This paper describes some examples of the molecular hybridization and bioisosterism strategies in the design of new lead-compounds candidates with antiinflammatory, anti-thrombotic and analgesic properties, using the physiological approach. Several lead-compounds were obtained exploring the chemical functionalities of an abundant Brazilian natural product, for instance saffrole the principal chemical constituent of sassafras oil and some Piper sp.

UNITERMS: New lead-compounds. Analgesic. Anti-inflammatory. Anti-thrombotic. Saffrole.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS E NOTAS

- ACKERLEY, N. *et al.* A novel approach to dual-acting thromboxane receptor antagonist/synthase inhibitors based on the link of 1,3-dioxane-thromboxane receptor antagonists and -thromboxane synthase inhibitors. *J. Med. Chem.*, Washington, v.38, n.10, p.1608-1628, 1995.
- ALBUQUERQUE, M. G. *et al.* Design of new potential 5-lipoxygenase inhibitors, dual thromboxane synthase inhibitors, and thromboxane A2 Receptor Antagonists By AM1. *Int. J. Quantum Chem.: Quantum Biol. Symp.*, New York, v.22, p.181-190, 1995.
- ALBUQUERQUE, E. X., BARREIRO, E. J., SUDO, R. T. LASSBio 294 a novel digitalis-like compound with potential anti-fatigue activity", *US Patent Office Provisional Number* 60-525,352, 1999.
- BADGER, A. M., ADAMS, J. L. New treatments for arthritis. *Annu. Rep. Med. Chem.*, Washington, v.33, p.203-212, 1998.
- BARJA-FIDALGO, C. *et al.* Anti-inflammatory profile of N-phenylpyrazole arylhydrazones derivatives in rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.51, n.6, p.703-707, 1999.
- BARREIRO, E. J. Bioisosterismo: importante estratégia de modificação molecular para o planejamento racional de medicamentos. Parte I. *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v.72, n.1, p.2-7, 1991.
- BARREIRO, E. J. Bioisosterismo: importante estratégia de modificação molecular para o planejamento racional de medicamentos (conclusão). *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v.72, n.2, p.34-38, 1991.
- BARREIRO, E. J. Eicosanóides (Parte I). *Cad. Farm.*, Porto Alegre, v.3, n.1/2, p.67-83, 1987.
- BARREIRO, E. J. *et al.* An improved synthesis from natural saffrole of indole-derivatives related to indomethacin. *J. Chem. Res.*, Cambridge, v.4, p.102-103, 1982.
- BARREIRO, E. J. *et al.* Molecular modeling: A tool for rational drug design in medicinal chemistry. *Quím. Nova*, São Paulo, v.29, n.3, p.300-310, 1997.
- BARREIRO, E. J., DA SILVA, J. F. M., FRAGA, C. A. M. Basic notions of drug metabolism. *Quím. Nova*, São Paulo, v.19, n.6, p.641-650, 1996.

- BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M. The utilization of the safrole, principal chemical constituent of sassafras oil, in the synthesis of compounds actives in the arachidonic acid cascade: Antiinflammatory, analgesic and antithrombotic. *Quím. Nova*, São Paulo, v.22, n.5, p.744-759, 1999.
- BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M., ARAÚJO-JR, J. X. O uso de matérias-primas vegetais para a síntese de fármacos. In: SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., DE MELLO, J. C. P., MENTS, L. A., PETROVICK, P. R., eds. *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC/Editora da UFRGS, 1999. p.123-146.
- BURGER, A. Isosterism and bioisosterism in drug design. *Prog. Drug Res.*, v.36, New York, 1991, p.287-371.
- COSTA, P. R. R., LOPES, C. C., PINTO, A. V. A convenient method for the preparation of 6,7-methyl-enedioxy-3-alkyl-2-hydroxy-1,4-naphthoquinones from natural safrole and carboxylic acids. *Synthetic. Commun.*, New York, v.13, n.8, p.691-699, 1983.
- CROSS, P. E., DICKINSON, R. P. Thromboxane synthase inhibitors and antagonists *Annu. Rep. Med. Chem.*, San Diego, v.22, p.95-105, 1987.
- DA SILVA, E. F., BARREIRO, E. J. The synthesis and antiinflammatory activity of 1-alkyl-isochroman-1-yl acetic acids derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.*, São Paulo, v.4, p.40-44, 1993.
- DA SILVEIRA, I. A. *et al.* New pyrazolyldiazone derivatives as inhibitors of platelet aggregation. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.45, n.7, p.646-649, 1993.
- DECHANT, K. L., CLISSOLD, S. P. Paroxetine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in depressive illness. *Drugs*, Auckland, v.41, n.2, p.225-53, 1991.
- DIAS, L. R. S. *et al.* Synthesis and analgesic properties of 5-acyl-arylhydrazone 1-H pyrazolo [3,4-b] pyridine derivatives. *Pharma. Acta Helv.*, Oxford, v.69, n.3, p.163-169, 1994.
- DOHERTY, A. M.; Design and discovery of nonpeptide endothelin antagonists. *Drug Discov. Today*, Oxford, v.1, n.2, p.60-70, 1996.
- DOS SANTOS, M. L., DE MAGALHÃES, G. C. Utilization of cashew nut shell liquid from *Anacardium occidentale* as starting material for organic synthesis: A novel route to lasiodiplodin from cardols. *J. Braz. Chem. Soc.*, São Paulo, v.10, n.1, p.13-20, 1999.
- DREWS, J. Drug discovery: A Historical perspective. *Science*, Washington, v. 287, p. 1960-1964, 2000.
- DUGGAN, D. E. *et al.* Identification of the biologically active form of sulindac. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Washington, v.201, n.1, p.8-13, 1977.
- FRAGA, C. A. M., BARREIRO, E. J. Synthesis of bioactive compounds from abundant natural products- 12. The synthesis of a new benzothiazine derivative, related to oxicams, synthesized from natural safrole. *J. Heterocyclic Chem.*, Tampa, v.29, n.6, p.1667-1669, 1992.
- FREITAS, A. C. C. *et al.* Síntese e atividade antiinflamatória de novos derivados pirazólicos funcionalizados. Parte I – 5-amino pirazolas. *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v.74, n.3, p.57-62, 1993.
- FREITAS, A. C. C. *et al.* Synthesis evaluation of antiedematogenic properties and structure-activity relationship of 5-arylhydrazone-N-phenylpyrazole derivatives. *Quím. Nova*, São Paulo, v.18, n.2, p.138-143, 1995.
- FRENCH, L. G. The Sassafras tree and designer drugs – from herbal tea to ecstasy. *J. Chem. Educ.*, Washington, v.72, n.6, p.484-491, 1995.
- GANELLIN, C. R. Past approaches to discovering new drugs as medicines. In: KING, F. D., ed., *Medicinal chemistry principles and practice*. London: RSC, 1994. p.189-205.
- GHIGLIERI-BERTEZ, C., COQUELET, C., ALAZET, A., BONNE, C. Dual inhibitors of the cyclooxygenase and lipoxygenase pathways – Synthesis and activity of hydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, Paris, v.22, n.2, p-147-152, 1987.
- GONZALEZ-SERRATOS, H., CHANG, R., PEREIRA, E. F. R., CASTRO, N. G., ARACAVA, Y., MELO, P. A., LIMA, P. C., FRAGA, C. A. M., BARREIRO, E. J., ALBUQUERQUE, E. X. A novel thienylhydrazone, (2-thienylidene)3,4-methylenedioxybenzoylhydrazine, increases inotropism and decreases fatigue of skeletal muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Baltimore, v. 299, n. 3, p. 558-566, 2001.

- GREENGRASS, C. W. Devising a research strategy. In: KING, F. D., ed. *Medicinal chemistry principles and practice*. London: RSC, 1994. p.179.
- GUND, P., MAGGIORA, G., SNYDER, J. P. Computer-Assisted Drug Discovery. In: COHEN, N. C., ed. *Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design*. New York: Academic Press, 1996. p.219-233.
- GUND, P., SHEN, T. Y. A model for the prostaglandin synthetase cyclooxygenation site and its inhibition by antiinflammatory arylacetic acids. *J. Med. Chem.*, Washington, v.20, n.9, p.1146-1152, 1977.
- HANN, M. M. Considerations for the use of computational chemistry techniques by medicinal chemists. In: KING, F. D., ed. *Medicinal Chemistry Principles and Practice*. London: RSC, 1994. p.130-140.
- HIGGS, G. A., MONCADA, S., VANE, J. R. Eicosanoids in inflammation. *Ann. Clin. Res.*, Helsinki, v.16, n.5-6, p.287-299, 1984.
- HIRSH, P. D. *et al.* Release of prostaglandins and thromboxane into the coronary circulation in patients with ischemic heart disease. *New Engl. J. Med.*, Waltham, v.304, n.12, p.685-691, 1981.
- HÖLTJE, H. D. Pharmacophore identification and receptor mapping. In: WERMUTH, C. G., ed. *The practice of medicinal chemistry*. New York: Academic Press, 1996. p.437-458.
- IIZUKA, K. *et al.* Highly selective inhibitors of thromboxane synthetase. 1. Imidazole derivatives. *J. Med. Chem.*, Washington, v.24, n.10, p.1139-1148, 1981.
- ITAI, A. *et al.* Computer-assisted new lead design. In: COHEN, N. C., ed. *Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design*. New York: Academic Press, 1996. p.93-138.
- KATO, K. *et al.* Thromboxane synthetase inhibitors (TXSI). Design, synthesis, and evaluation of a novel series of omega-pyridylalkenoic acids. *J. Med. Chem.*, Washington, v.28, n.3, p.287-292, 1985.
- KATZ, A. H. *et al.* Synthesis and analgesic activity of pemedolac (cis-1-ethyl-1,3,4,9-tetrahydro-4-(phenylmethyl)pyrano[3,4-b]indole-1-acetic acid). *J. Med. Chem.*, Washington, v.31, n.6, p.1244-1250, 1988.
- KING, F. D. Bioisosteres, conformational restriction, and pro-drugs- case history: an example of a conformational restriction approach. In: KING, F. D., ed. *Medicinal chemistry principles and practice*. London: RSC, 1994. p.206-225.
- KLEIN, T. *et al.* Selective inhibition of cyclooxygenase 2. *Biochem. Pharmacol.*, Oxford, v.48, n.8, p.1605-1610, 1994.
- KUBINYI, H. *QSAR: Hansh analysis and related approaches*. Weinheim: VCH, 1993. p.240.
- LAGES, A. S. *et al.* Selective inhibitors of prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PGHS-2): New target to the treatment for inflammatory diseases. *Quím. Nova*, São Paulo, v.21, n.6, 761-771, 1998.
- LAGES, A. S. *et al.* Synthesis and pharmacological evaluation of new flosulide analogues, synthesized from natural safrole. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, Oxford, v.8, n.2 p.183-188, 1998.
- LAM, P. Y. S. *et al.* Rational design of potent, bioavailable, nonpeptide cyclic ureas as HIV protease inhibitors. *Science*, v.263, n.5145, Washington, p.380-384, 1994.
- LEITE, L. F. C. C. *et al.* Synthesis and analgesic profile of novel N-containing heterocycle derivatives: arylidene 3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-carbohydrazide. *Farmaco*, Lausanne, v.54, n.11-12, p.747-757, 1999.
- LIMA, L. M. *et al.* Synthesis and antinociceptive profile of novel acidic sulfonylhydrazone derivatives, from Natural Safrole. *Pharm. Pharmac. Commun.*, London, v.5, p.673-678, 1999.
- LIMA, L. M. *et al.* Synthesis and antiplatelet evaluation of novel aryl-sulfonamide derivatives, from natural safrole. *Pharm. Acta Helv.*, Oxford, v.73, p.281-292, 1999.
- LIMA, L. M. *Planejamento e síntese de novos análogos de arilsulfonamidas, antagonistas de bioreceptores de TXA2, a partir do Safrol*, Rio de Janeiro, 1997. 134p. [Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio de Janeiro].
- LIMA, M. E. F., BARREIRO, E. J. The synthesis and anti-inflammatory properties of a new sulindac analogue synthesized from natural safrole. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.81, n.12, p.1219-1222, 1992.

- LIMA, P. C. *et al.* Synthesis and analgesic activity of novel N-acylarylhydrazones and isosters, derived from natural safrole. *Eur. J. Med. Chem.*, Paris, v.35, n.2, p.187-203, 2000.
- LOMBARDINO, J. G., WISEMAN, E. H., McLAMORE, W. M. Synthesis and antiinflammatory activity of some 3-carboxamides of 2-alkyl-4-hydroxy-2H-1,2-benzothiazine 1,1-dioxide. *J. Med. Chem.*, Washington, v.14, n.12, p.1171-1175, 1971.
- MARNETT, L. J., KALGUTKAR, A. S. Design of selective inhibitors of cyclooxygenase-2 as nonulcerogenic anti-inflammatory agents. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, London, v.2, n.4, p.482-490, 1998.
- MARTEL, R. R. *et al.* Etodolic acid and related compounds. Chemistry and antiinflammatory actions of some potent di- and trisubstituted 1, 3, 4, 9-tetrahydropyrano[3, 4-b]indole-1-acetic acids. *J. Med. Chem.*, Washington, v.19, n.3, p.391-395, 1976.
- MATHEUS, M. E. *et al.* Antinociceptive property of new 4-acyl-arylhydrazone pyrazole compounds. *Braz. J. Biol. Med. Res.*, São Paulo, v.24, n.12, p.1219-1222, 1991.
- McMILLAN, R. M., WALKER, E. R. H. Designing Therapeutically, effective 5-lipoxygenase inhibitors. *Trends Pharmacol. Sci.*, Oxford, v.13, n.8, p.323-330, 1992.
- MOBILIO, D. *et al.* Structure-activity relationships among analogues of pemedolac, cis-1-ethyl-1,3,4,9-tetrahydro-4-(phenylmethyl)pyrano[3,4-b]indole-1-acetic acid, a potent analgesic agent. *J. Med. Chem.*, Washington, v.31, n.11, p.2211-2217, 1988.
- ONG, H. H., ALLEN, C. R. To market, to market, 1988. *Annu. Rep. Med. Chem.*, San Diego, v.24, p.295-315, 1989.
- PATANI, G. A., LaVOIE, E. J. Bioisosterism: A rational approach in drug design. *Chem. Rev.*, Washington, v.96, n.8, p.3147-3176, 1996.
- PATSCHEKE, H., STEGMEIER, K. Investigation on a selective non-prostanoid thromboxane antagonist, BM 13.177, in human platelets. *Thromb. Res.*, Oxford, v.33, n.3, p.277-188, 1984.
- PEREIRA, A. L. *et al.* Investigation of the Lipophilicity of Antiphlogistic Pyrazole Derivatives: Relationships Between Log Kw and Log P of 5-Arylamino- and 5-Arylhyaazono-3-Methyl-4-Nitro-1-Phenylpyrazoles. *J. Liq. Chromatogr.*, New York, v.14, n.7, p.1161-1171, 1991.
- PEREIRA, A. S. *et al.* Diastereomeric Analysis of Bioactive N-phenylpyrazole-4-acylhydrazone Derivatives by High Resolution Gas Chromatography. *Anal. Lett.*, Washington, v.31, p.719-732, 1998.
- PEREIRA, E. F. R. *et al.* Anti-inflammatory properties of new bioisosteres of indomethacin synthesized from safrole which are sulindac analogues. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, São Paulo, v.22, n.11, p.1415-1419, 1989.
- PEREIRA, N. P. *et al.* Synthesis and analgesic properties of new 5-thioaryl pyrazole derivatives. *Boll. Chim. Farm.*, Roma, v.137, n.3, p.82-86, 1998.
- RABASEDA, X. Nimesulide: A selective cyclooxygenase 2 inhibitor antiinflammatory drug. *Drugs Today*, Barcelona, v.32 (suppl. D), p.1-23, 1996.
- REIS, A. L. A. *et al.* Studies on antiplatelet agents from natural safrole. II. Synthesis and pharmacological properties of novel functionalized oxime O-benzylether derivatives. *Pharm. Acta Helv.*, Oxford, v.74, n.1, p.19-28, 1999.
- REIS, A. L. A. *Síntese e avaliação farmacológica de novos análogos do ridogrel, antagonista de receptor de tromboxana, a partir do Safrol.* Rio de Janeiro, 1996. 112p. [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro].
- REITZ, D. B., SEIBERT, K. Selective cyclooxygenase inhibitors. *Annu. Rep. Med. Chem.*, San Diego, v.30, p.179-188, 1995.
- RIBEIRO, I. G. *et al.* Synthesis and antinociceptive properties of new structurally planned imidazo[1,2-a]pyridine 3-acylarylhydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, Paris, v.33, n.3, p.225-235, 1998.
- RIZZINI, C. T., MORS, W. B. *Botânica econômica brasileira.* São Paulo: E.P.U.- EDUSP, 1976. p.119-123.
- RODRIGUES, C. R. *et al.* On the modeling of some anti-inflammatory and anti-thrombotic drugs by AM1. *Mol. Eng.*, Netherlands, v.7, p.473-490, 1997.

- ROMEIRO, N. C. *Estudos de Modelagem Molecular por AM1 de Inibidores Seletivos de COX-2*. Rio de Janeiro, 1997. 125p. [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro].
- ROMEIRO, N. C., BARREIRO, E. J., ALBUQUERQUE, M. G. Estudos de dinâmica molecular de inibidores seletivos de PGHS-2 em modelos de sítio ativo. In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 22, Poços de Caldas, 1999. *Resumos*. São Paulo: SBQ, 1999. res.2, MD131.
- SABBADINI, J. N. *et al.* Estudo do perfil antiinflamatório de derivados sulfonil-bipirazólicos planejados como possíveis inibidores seletivos de PGHS-2. In: REUNIÃO ANUAL DA FESBE, 14., Caxambu, 1999. *Resumos*. São Paulo: FESBE, 1999. res. 14.035.
- SANTOS, M. R. L. *et al.* H-1 and C-13 NMR of bioactive isochromanylacetylarylhydrazone derivatives. *Magn. Reson. Chem.*, W Sussex, v.36, n.7, p.533-538, 1998.
- SHEN, T. Y. Burger Award address. Toward more selective antiarthritic therapy. *J. Med. Chem.*, Washington, v.24, n.1, p.1-5, 1981.
- SHEN, T. Y., WINTER, C. A. Chemical and biological studies on indomethacin, sulindac and their analogs. *Adv. Drug Res.*, New York, v.12, p.90-245, 1977.
- SILVEIRA, I. A. B. *et al.* Substituted pyrazolyhydrazones: a new class of platelet aggregation inhibitors. *Braz. J. Biol. Med. Res.*, São Paulo, v.24, n.9, p.947-951, 1991.
- SINCHOLLE, D. *et al.* Anti-inflammatory activity of a dual inhibitor of cyclooxygenase and lipoxygenase pathways, CBS-1108 (2-acetylthiophene-2-thiazolylhydrazone). *Arzneim. Forsch.*, Aulendorf, v.35, n.8, p.1260-1263, 1985.
- SMITH, J. B., WILLIS, A. L. Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nat. New Biol.*, London, v.231, n.25, p.235-237, 1971.
- SMITH, W. L., GARAVITO, R. M., DEWITT, D. L. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J. Biol. Chem.*, Bethesda, v.271, n.52, p.33157-33160, 1996.
- SMITH, W. L., MEADE, E. A., DEWITT, D. L. Pharmacology of prostaglandin endoperoxide synthase isozymes-1 and -2. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, Washington, v.714, p.136-142, 1994.
- SUDO, R. T., ZAPATA-SUDO, G., BARREIRO, E. J. The new compound, LASSBio-294, increases the contractility of intact and saponini-skinned cardiac muscle from Wistar rats. *Brit. J. Pharmacol.*, London, v. 134, p. 603-613, 2001.
- SWINGLE, F., MOORE, G. G. I., GRANT, T. J. 4-Nitro-2-phenoxyethanesulfonamide (R-805) – chemically novel anti-inflammatory agent. *Arch. Int. Pharmacod. T.*, Ghent, v.221, n.1, p.132-139, 1976.
- TODESCHINI, A. R. *et al.* Synthesis and evaluation of analgesic, antiinflammatory and antiplatelet properties of new 2-pyridylarylhydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, Paris, v.33, n.3, p.189-199, 1998.
- VANE, J. R., BAKHLE, Y. S., BOTTING, R. M. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, Palo Alto, v.38, p.97-120, 1998.
- WERMUTH, C., G. Strategies in the search for new lead compounds or original working hypotheses. In: WERMUTH, C., G., ed. *The Practice of Medicinal Chemistry*. New York: Academic Press, 1996. p.81-100.
- XIE, W. *et al.* Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Washington, v.88, n.7, p.2692-2696, 1991.
- YANAGISAWA, A. *et al.* Mechanism of antagonism of thromboxane receptors in vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, Amsterdam, v.133, n.1, p.89-96, 1987.