

Carlos A. Montanari

Departamento de Química/ICEB/Universidade Federal de Ouro Preto*

Recebido em 17/6/93; aceito em 25/8/94

The synthesis of organic compounds with potential biological activity is discussed within the medicinal chemistry structure, according to drug design methodology of SAR/QSAR. The molecular structure of compounds are described in full view of their correlations with biological environment. Biological screening are evaluated by both classical agar diffusion method and new approach of biological microcalorimetry.

Keywords: medicinal chemistry; SAR/QSAR; agar diffusion test; biological microcalorimetry; meso-ionic compounds.

I - INTRODUÇÃO**

A evolução medicamentosa vem ocorrendo desde o século 19 através de sistemáticos avanços que podem ser divididos em 4 fases distintas²:

1. Acumulação de conhecimento e uso de medicamentos tradicionais, muitos dos quais derivados de plantas. Têm sido catalogados em farmacopéias desde meados do século 19;
2. Como consequência de (1), produtos naturais foram isolados de plantas e animais e sua importância atinge um estado de arte imprescindível na busca atual de novos medicamentos que melhor atendam as demandas. Nesse particular a medicina tropical tem papel fundamental em países como o Brasil;
3. Há um rápido crescimento da busca de medicamentos sintéticos que, em primeiro plano, procura modificar a estrutura molecular de muitos produtos naturais. Esta metodologia é amplamente utilizada e tem apresentado, em geral, bons resultados.
4. Dentro da gênese planejada de fármacos, os medicamentos já estão sendo preparados com base em planejamento racional³.

A pesquisa farmacêutica em países industrializados está intimamente ligada à última fase que é, de longe, aquela mais promissora em termos de inovação⁴. Por outro lado, em países como o Brasil o estágio ainda é inferior^{5,6}. Particularmente em nosso caso, a busca de novas drogas oriundas de produtos naturais não pode ser deixada de lado. Conseqüentemente, a síntese de moléculas oriundas de produtos naturais e/ou sua modificação estrutural devem ser, portanto, enfatizadas.

Implicitamente às inovações, precedem as novas substâncias químicas (NCEs)⁴. É exatamente nesse contexto que o Brasil mostra-se alheio. Entretanto, esta é uma questão de difícil análise já que por definição as NCEs possuem alguma novidade química, mas isso não é, de forma alguma, garantia de que as NCEs contribuirão para a inovação em termos de segurança e eficácia terapêutica. De qualquer maneira, tem-se

que atuar em duas frentes: (i) produzir NCEs e (ii) desenvolver processos que levem ao domínio da tecnologia necessária à preparação dos medicamentos já consagrados.

A produção de NCEs está, hoje em dia, restrita quase que exclusivamente aos Institutos de Pesquisa dentro e fora da Universidade, enquanto que os desenvolvimentos de processos estão na responsabilidade de um grande número de pequenas empresas de capital nacional. Ressalte-se, entretanto, que o programa de química fina (na área de fármacos) implementado no país tem contribuído para que algumas brilhantes exceções existam. Subsidiárias de multinacionais instaladas no Brasil desenvolvem apenas etapas finais de processos que geram fármacos sem, no entanto, produzir seus intermediários que são importados de suas matrizes.

É importante mencionar que a etiologia de doenças como o câncer, por exemplo, é muito complexa não bastando apenas o ensaio biológico de NCEs para resolver o problema. É necessário que uma avaliação extensa da eficiência e toxidez da droga que será administrada por longos períodos de tempo, seja realizada.

Algumas das áreas que mais precisam de inovação, como nas doenças inflamatórias, necessitam de modelos farmacológicos *in vivo* que sejam próprios para os ensaios. Associado a isso, a necessidade de equipamentos sofisticados e, naturalmente caros, é inerente.

Caso a vocação brasileira seja a de inovar, dever-se-á imaginar que a descoberta de novas moléculas de importância terapêutica não será tarefa fácil não somente pelos motivos acima mencionados mas principalmente pelo atraso científico e tecnológico a que o país vem e tem sido submetido. Se, por outro lado, o desenvolvimento de processos já patenteados for a rota escolhida deve-se, da mesma forma, imaginar não tratar-se de tarefa não muito árdua.

II - QUÍMICA MEDICINAL

A química medicinal⁷, química biomédica ou química biológica como é referida nos anais da Sociedade Brasileira de Química, compreende a síntese ou isolamento de compostos com atividade biológica, a elucidação ou confirmação da estrutura, a caracterização das propriedades físico-químicas, a determinação da atividade biológica, a exploração desta atividade ao nível molecular e o estudo das relações entre estrutura química e atividade biológica, SAR/QSAR.

Com base nesse conceito de química medicinal fica óbvio concluir que a complexidade inerente às diversas tarefas que

* Endereço atual: Departamento de Química, ICEx, UFMG. Campus da Pampulha - 31270-901 - Belo Horizonte - MG.

**Glossário: NCEs, novas substâncias químicas; RB, resposta biológica; SAR, relação entre estrutura química e atividade biológica; QSAR, relação quantitativa entre estrutura química e atividade biológica; LC/MS, cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa; bio-RMN, ressonância magnética nuclear em sistemas biológicos.

devem ser alcançadas somente poderá ser empreendida por equipes multidisciplinares, notadamente qualificadas, e, principalmente, capazes de atuarem conjuntamente. O desenvolvimento da química medicinal dá-se através de processos idealizados que incluem (i) o entendimento da doença em termos de mecanismos fisiológicos/bioquímicos, (ii) definição de biopolímeros que controlem a doença, (iii) determinação da estrutura tridimensional dos biopolímeros e (iv) desenvolvimento de moléculas inibidoras ou mimetizadoras de sistemas biológicos⁸. Em geral esses requisitos são atingidos por indústrias do mundo desenvolvido que têm disponível não somente os recursos humanos necessários mas também as substâncias químicas, os métodos de identificação estrutural e de determinação da atividade biológica, acessáveis fácil e constantemente.

A otimização de uma nova droga não está restrita à interação droga-receptor (fase farmacodinâmica), mas também inclui aspectos farmacocinéticos (absorção, distribuição, metabolismo, excreção), efeitos colaterais e toxicologia; e, esta complexidade de eventos explica porque o desenvolvimento de fármacos é um domínio da pesquisa industrial em países desenvolvidos.

Como alternativa, resta à universidade brasileira (e também à estrangeira) o papel de desenvolver seus medicamentos unicamente através de tópicos selecionados dentro do amplo espectro da química medicinal. O desenvolvimento de fármacos na universidade está diretamente ligado à pesquisa de novos ligantes seletivos com objetivos biológicos, independentemente de possíveis aplicações terapêuticas.

Nesse contexto, pretende-se mostrar que a química medicinal pode ser desenvolvida no ambiente universitário sem esquecer, entretanto, que o intercâmbio universidade-indústria se faz, uma vez mais, imprescindível para que o país alcance o mais brevemente possíveis níveis elevados na identificação de novos agentes terapêuticos. Negligenciar esse conceito resulta em perda potencial de oportunidades para ambos os lados.

Desenvolvimento de uma droga: modificação da substância matriz

Várias são as etapas que levam ao descobrimento, planejamento e desenvolvimento de uma droga⁹. Alguns aspectos, muito longe de serem exaustivos, que fazem da química medicinal uma força motriz, podem ser resumidos. A descoberta de uma nova droga pode ocorrer sem que haja uma substância matriz, como no caso das penicilinas¹⁰, por exemplo. A descoberta da substância matriz pode ser realizada através do ensaio randômico onde todas as substâncias disponíveis são testadas; é o caso da azidotimidina (AZT), talvez o exemplo mais recente da busca de agentes ativos contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV), que é usado para tratar pacientes com AIDS (síndrome de deficiência imunológica adquirida)¹¹. O entendimento de processos fisiológicos ou patofisiológicos pode resultar na identificação da superfície celular receptora e permitir a descoberta de agonistas e antagonistas relevantes ao sistema bioquímico identificado. É o caso, por exemplo, da indometacina que foi desenvolvida como um derivado do indol na tentativa de afetar o metabolismo da serotonina, tida como um potente mediador inflamatório¹².

A química medicinal não precisa, necessariamente, conduzir ao estudo das relações entre a estrutura química e a atividade biológica, qualitativa ou quantitativamente. A identificação do farmacóforo, por exemplo, constitui uma etapa essencial no descobrimento de novas drogas sem que a estrutura química seja, eventualmente, descrita por modelos matemáticos que contenham as propriedades relevantes de uma dada atividade farmacológica. Como exemplo iterativo pode-se mencionar a cimetidina¹³, uma droga antiúlcera cujo descobrimento da estrutura matriz deu-se com base em princípios de físico-química orgânica, amparado em diferentes metodologias

de modificação molecular sem, entretanto, usar a QSAR ou modelagem molecular.

O que parece ser importante na realidade é o descobrimento da substância matriz. Tipicamente, quando um produto natural apresenta uma certa atividade farmacológica, sua estrutura é modificada com o objetivo de melhorar ou ampliar suas propriedades. E, como consequência natural dos avanços em métodos sintéticos, de separação e técnicas bioquímicas a descoberta de drogas pode ser realizada através de uma metodologia mais racional que envolva os elementos de um planejamento. Para uma ampla discussão sobre esses aspectos, o leitor poderá consultar, por exemplo, as referências 6, 14 a 19.

Uma vez conhecida a substância matriz, as modificações na estrutura molecular que levem ao aumento da potência e do índice terapêutico podem ser realizadas através de diferentes metodologias^{9,20}, como homologia, ramificação de cadeia lateral, anelação, bioisosterismo²¹. Todos esses métodos, no entanto, constituem modificações moleculares algo qualitativas e em geral são randômicas. Entretanto, um tratamento matemático começou a ser delineado na década de '60 numa tentativa de quantificar os efeitos - parâmetros hidrofóbicos, eletrônicos e estéricos que um determinado substituinte causa quando da modificação molecular, e, a partir daí foram desenvolvidos os estudos de Relações Quantitativas entre a Estrutura Química e a Atividade Biológica (QSAR)^{22,23}.

O paradigma QSAR²⁴ nasceu em 1870 quando Crum-Brown e Fraser^{25b} propuseram que a resposta biológica (RB) era uma função da estrutura química: Resposta Biológica = $f(C)$. Eles afirmaram que seria possível desenvolver um cálculo para relações de estrutura-atividade (SAR) através de pequenas mudanças na estrutura química e relacioná-las com a RB. Isto, entretanto, só foi conseguido em 1964 quando Hansch e Fujita²³, baseados na formulação das constantes numéricas dos efeitos eletrônicos de Hammett e estéricos de Taft, propuseram, graças à disponibilidade de computadores, um avanço do paradigma QSAR que relacionou a resposta biológica com os parâmetros hidrofóbicos, eletrônicos, estéricos e de polarizabilidade. O coeficiente de partição estudado para o sistema octanol-água foi operacionalmente adotado como capaz de descrever o caráter hidrofóbico²⁶. Com o estabelecimento de uma combinação linear das constantes hidrofóbicas e eletrônicas essas duas propriedades diferentes dos substituintes foram definidas de tal forma a estabelecer o caráter constitutivo-aditivo do coeficiente de partição (P). Esse esquema operacional pode ser encontrado na Figura 1^{25a}. O esquema está baseado na interação do sistema biológico bem definido com uma série de congêneres que resultem numa série de perturbações do sistema. A partir desses resultados pode-se formular uma relação ou correlação através de constantes físico-químicas. Os sistemas aumentam constantemente e podem ser, por exemplo, macromoléculas (proteínas, enzimas), estruturas supramoleculares (membranas), vírus, organelas, células, animais e ecossistemas que interagem com milhares de compostos orgânicos.

A medida quantitativa da potência (grau de perturbação) é, em geral, definida como $\log 1/C$ (onde C é a concentração molar da droga que produz uma determinada RB), constante de velocidade (k_x) ou equilíbrio (K_m), ou uma RB relativa (geralmente comparada com uma droga padrão). Em seguida, advém o aspecto mais difícil da perturbação que é sua definição qualitativa; em geral, antibacteriano, antifúngico, anticancer, antimalárico, etc. É também possível defini-la ao nível molecular, por exemplo inibidor de ATPase. Entretanto, é bem sabido que muitas moléculas reagem com diferentes macromoléculas da mesma maneira e a formulação QSAR pode mostrar algumas semelhanças e diferenças inerentes à inibição das macromoléculas. Portanto, estabelecer que tipo de função usar não é uma tarefa cuja resposta deva surgir da definição qualitativa da RB.

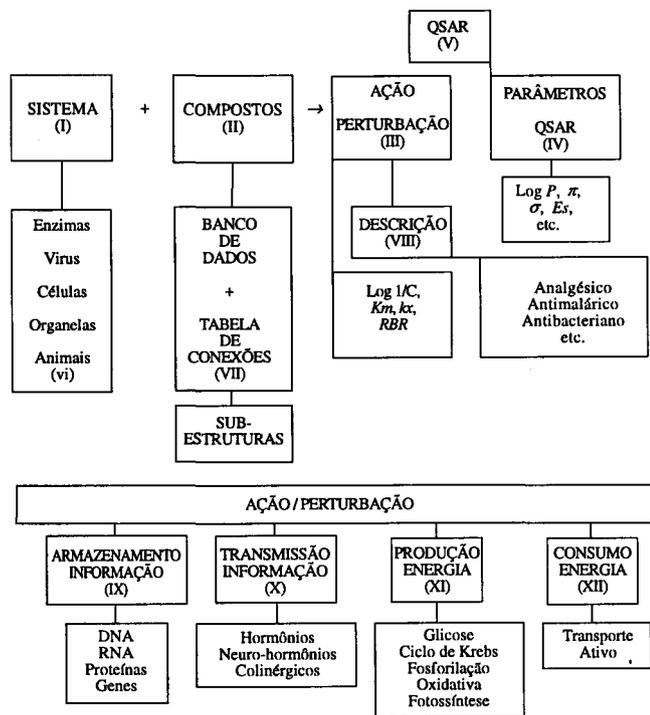


Figura 1. Sistema de trabalho em Química Medicinal. Adaptado da referência 25a.

A fatoração desse compartimento mostra que os subcompartimentos são inter-relacionados e dessa forma não está muito claro como a codificação poderia ser delimitada. Por exemplo, pode-se imaginar que uma série de congêneres que inibe a colinesterase pode ser codificada como inibidora de hidrolases que interagem como neuro-hormônios; entretanto, as conexões que poderiam ser feitas quase não têm fim.

Há, obviamente, inúmeras maneiras pelas quais os estudos de SAR/QSAR podem ser usados. Entretanto, alguma ajuda pode ser conseguida a partir de dados da literatura que já estabeleceram, por exemplo, um sumário de substituintes que não se comportam bem nos estudos e também qual é o $\log P_0$, caráter lipofílico ideal, a ser atingido²⁷. Baseado nesse empirismo, o caráter lipofílico tem sido o parâmetro mais amplamente considerado, uma vez que apresenta boas correlações nos estudos de QSAR. Por outro lado, já foi demonstrado que não se pode sintetizar moléculas cada vez mais lipofílicas a fim de obter-se maior atividade. Estudos de QSAR mostram que pode-se encontrar uma relação "parabólica" entre o caráter lipofílico e a RB da série de congêneres. Nesse sentido vale ressaltar que tem sido estabelecido que séries de congêneres, presumivelmente atuando no mesmo sítio pelo mesmo mecanismo, têm o mesmo $\log P_0$ (caráter lipofílico ideal). Isso implica em bom ponto de partida para a mudança do sistema *in vitro* para *in vivo*²⁷.

Através do esquema operacional mencionado, pode-se fazer estimativas razoáveis e confiáveis da atividade de milhares de compostos orgânicos simples em milhares de sistemas diferentes. Isto, entretanto, não pode deixar o químico ansioso para, necessariamente, descobrir uma nova droga mas certamente com a formulação de equações em sistemas de maior e maior especificidade, será possível produzir uma estrutura no campo da química medicinal²⁴⁻²⁸.

III - GÊNESE PLANEJADA DE FÁRMACOS

Vários são os mecanismos utilizados na identificação de um novo fármaco^{20,29}. A gênese planejada de medicamentos deve conter a programação da pesquisa que compreende os

planejamentos químicos e biológicos³⁰. Estes incluem os métodos de síntese e de avaliação biológica (técnicas de ensaios). Como resultado da triagem preliminar das substâncias, uma seleção dos compostos mais promissores deve ser realizada e, estes, que constituem medicamentos em potencial podem ser submetidos a estudos de toxicidade³¹, farmacocinética; os estudos detalhados em animais (modelo farmacológico *in vivo*) podem ser realizados. Até este patamar, tem sido estimado um consumo de tempo de 3 a 10 anos^{6,32,33}.

A escolha das classes de compostos orgânicos pode ser função da aplicabilidade da gênese planejada de fármacos. O processo de modificação molecular, que constitui um desenvolvimento natural da química orgânica, e uma maneira de se descobrir novas drogas baseia-se em uma substância química de estrutura molecular determinada e de ação biológica conhecida que é utilizada como protótipo. Novos homólogos ou análogos são sintetizados a partir da estrutura matriz e suas propriedades farmacológicas são determinadas.

O método tem como base (i) a possibilidade de se obter drogas farmacologicamente superiores (ii) a utilização da mesma seqüência reacional (iii) o emprego dos mesmos métodos de ensaios biológicos e (iv) possibilidade de elucidar as relações de estrutura química e atividade biológica²⁰.

O processo utilizado no método de modificação molecular e empregado em nossos trabalhos consiste na síntese e ensaio de derivados cada vez mais complexos do que a estrutura matriz, e também através de alterações das propriedades físico-químicas dos compostos protótipos³⁴. A síntese de novos derivados é realizada através da aplicação de metodologia própria para que os diversos parâmetros, eventualmente, responsáveis pelo aparecimento da atividade biológica sejam validados no sentido de levar a um melhor entendimento das relações entre a estrutura química e a resposta biológica³⁵.

IV - SÍNTESE DE COMPOSTOS ORGÂNICOS COM ATIVIDADE BIOLÓGICA POTENCIAL

A atividade microbiana que incide diretamente ao ser humano, tem despertado grande interesse na procura constante de novos agentes químicos que provoquem a eliminação ou melhoria das doenças infecciosas inerentes. Isto leva, algumas vezes, ao desenvolvimento de novos agentes que combinem atividades antibacterianas e antifúngicas, numa tentativa de melhor combater as enfermidades. A síntese deve ser implementada no sentido de não somente procurar evitar problemas crônicos de toxicidade dos agentes já existentes no mercado mas também a resistência causada por seu uso³⁶.

A síntese de novos agentes antimicrobianos (antifúngicos e antibacterianos) está direcionada para compostos heterocíclicos de cinco membros conhecidos como compostos mesoiônicos incluídos nos seguintes sistemas: 1,3,4-oxadiazólio-2-olato, (1), 1,3,4-oxadiazólio-2-aminida, (2), 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, (3), 1,3,4-triazólio-2-tiolato, (4). Além dos produtos finais, intermediários necessários para suas preparações também mostram essa atividade biológica e constituem, portanto, material biologicamente útil e não somente na síntese dos produtos. São eles: acilidrazinas, (5), acil-semicarbazidas, (6), e aciltiossemicarbazidas, (7), Figura 2.

V - CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA

É sabido desde o tempo de Emil Fischer que a forma das moléculas está diretamente associada com a atividade biológica, uma idéia que prontamente sugeriu o efeito "lock-and-key". Ehrlich dizia a mesma coisa quando falou que grupos "farmacofóricos são atraídos por receptores"^{37,38}. Implícito nestas propostas está a complementaridade entre a substância ativa e o receptor. Isto, no entanto, não precisa ser assim já que existe uma flexibilidade conformacional de uma determinada

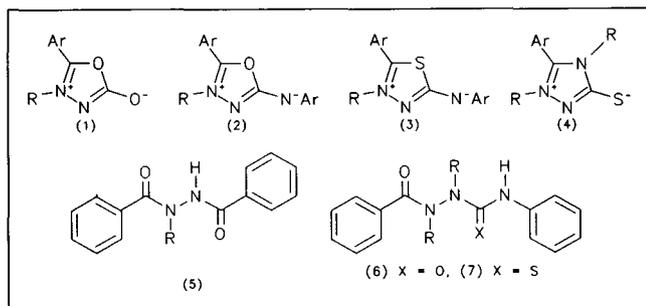


Figura 2. Compostos mesoiônicos e seus intermediários em estudo.

molécula (ou seu receptor) onde o conceito "lock-and-key" não precisa, necessariamente, operar para que uma determinada interação ocorra. Mais do que isso, a interação pode resultar em um complexo energeticamente estável sem que haja uma conformação apropriada da droga e/ou do receptor, como sugere a *teoria do encaixe induzido*³⁹. Um método elegante de determinar a conformação ativa de uma droga, no complexo droga-receptor, envolve a síntese de análogos conformacionalmente rígidos. O farmacóforo potencial torna-se "bloqueado" em diferentes configurações pela incorporação de subunidades cíclicas ou insaturadas. Os análogos conformacionalmente rígidos são testados e aquele com melhor potência pode ser usado como protótipo para futuras modificações estruturais. Embora esse procedimento apresente como desvantagem a inclusão de átomos ou ligações na substância matriz e o planejamento deva contemplar sua forma, tamanho e peso molecular, trata-se de um método eficiente⁴⁰.

Desde a virada do século é que os químicos estão intrigados com a forma das moléculas biologicamente ativas e como essa forma afeta a atividade biológica. A forma que, obviamente deve ser considerada em três dimensões, pode ser expressa através de modelos moleculares. Entretanto, somente com o avanço dos métodos físicos é que a estrutura 3D de moléculas orgânicas têm sido melhor compreendida⁴¹. Estes estudos envolvem a análise de difração de Raio-X do estado cristalino, métodos espectroscópicos de RMN para o estado líquido ou solução e cálculos de mecânica quântica para estados isolados.

Com o advento dos estudos quantitativos ficou evidente que o planejamento de fármacos poderia ser melhor racionalizado se as estruturas dos receptores e das drogas pudessem ser visualizadas e os processos moleculares mimetizados em um terminal de computador ou mesmo em estações gráficas de trabalho^{42,43}. Cálculos de comprimento de ligação, ângulos de ligação, mecânica quântica ou campo de força podem ser usados no sentido de realizar o que se chama de *encaixe complementar*⁴⁴ entre a droga e o receptor. Embora esta metodologia esteja, implicitamente, direcionada pelo modelo de "lock-and-key" vários algoritmos que usam esse conceito são conhecidos^{45,46}. Ressalte-se, entretanto, duas dificuldades básicas. A primeira diz respeito ao fato de que as estruturas de poucos receptores são conhecidas; e, a segunda se refere ao "modelo estático" (minimização de energia para o conformero de menor energia conformacional⁴⁷ - sem, entretanto, referir-se à qual "poço energético" pertence tal conformero), que utiliza conformações rígidas. No entanto, graças aos avanços que vêm sendo conseguidos na tecnologia de *hardware* e *software*, tem sido possível obter informações de sítios de ligação em receptores desconhecidos^{45,46,49-52}.

Algumas considerações sobre a topografia e a estereoquímica das moléculas podem ser mencionadas.

De acordo com o princípio de bioisosterismo, muitos agentes antiestamínicos, Ar¹(Ar²)X-C-C-NR¹R², antagonistas de um receptor histamínico conhecido como receptor H₁¹³, apresentam

características estruturais específicas, como por exemplo: Ar¹ = fenila, fenila substituída ou heteroarófla (2-piridila ou tienila); Ar² = arila ou arilmetila. X pode ser CH-O-, N- ou CH-; C-C é uma cadeia carbônica de 2 ou 3 átomos que pode ser saturada, insaturada, ramificada ou tomar parte de um anel. Estas características comuns sugerem que existem sítios específicos no receptor com uma topologia apropriada para a interação com certos grupos do agente antiestamínico que são arrançados em uma configuração similar. Aquelas partes da droga que interagem com o receptor são conhecidas como *farmacofóricas*; sendo esta a interação responsável pela resposta biológica. Ressalte-se, entretanto, que esta é apenas uma visão simplista da interação já que sítios negativos no receptor, interações hidrofóbicas e muitas outras podem estar envolvidas.

A histamina é uma molécula aquiral e a maioria dos antagonistas ao receptor H₁ é constituída por moléculas aquirais. As proteínas são macromoléculas de poliaminoácidos e aminoácidos são moléculas quirais. Portanto, os dois complexos formados entre um receptor e dois enantiômeros são diastereômeros e, então, apresentam diferentes energias e propriedades químicas. Implícito está o fato de que as constantes de dissociação droga-receptor de moléculas enantioméricas podem ser diferentes, podendo até envolver diferentes sítios de interação. Como exemplo ilustrativo, o antiestamínico dexclorfeniramina, 4-Cl-C₆H₄-(2-C₆H₅N)CHCH₂CH₂N(CH₃)₂, é altamente estereosseletivo: um estereoisômero é mais ativo do que o outro, o isômero-(S)-(+) é cerca de 200 vezes mais potente do que o isômero-(R)-(-)⁵³. O isômero mais ativo é chamado *eutômero* e o menos ativo *distômero*. A razão das potências dos enantiômeros é chamada de *razão eudísmica*⁵⁴. Por isso, a síntese de enantiômeros puros⁵⁵⁻⁵⁸ constitui uma importante área na busca de novas drogas e os planejamentos, quando necessário⁵⁹, devem contemplar essa preocupação.

Os diversos níveis de descrição da estrutura molecular e sua relação e/ou correlação com sistemas biológicos são discutidos na seção (VII).

VI - DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

O uso de microrganismos no estudo das interações droga-sistema biológico tem sido levado a efeito haja vista que (i) trata-se de um sistema *in vitro* onde (ii) as transformações microbianas metabólicas mimetizam as biotransformações humanas que podem resultar em (iii) prognose modelar do metabolismo (modificação estrutural da droga por sistemas enzimáticos). Além disso, o sistema pode gerar quantidades significantes de produtos metabólicos que podem ser facilmente analisados por LC/MS e bio-RMN. O meio de cultura pode ser padronizado e um grande número de microrganismos, patogênicos ou não, pode ser estudado simultaneamente. Embora esses aspectos levem, inicialmente, a uma importante análise não se pode esquecer que nesses estudos apenas a fase farmacodinâmica é estudada e que, portanto, a fase farmacocinética da ação da droga não está delineada. Para isso, entretanto, o uso de animais deve ser imprescindível. Embora o custo do experimento seja elevado e haja controvérsias quanto ao uso de animais na pesquisa biomédica, eles continuarão a ser utilizados. Entretanto, o uso de microrganismos conjuntamente à metodologia SAR/QSAR contribuirão significativamente para que ocorra uma drástica diminuição das pesquisas usando animais⁶⁰.

A atividade antimicrobiana tem sido determinada, em nossos estudos, através da aplicação de duas técnicas de ensaios microbiológicos *in vitro*: (i) difusão em ágar⁶¹ e (ii) microcalorimetria biológica^{62,63}.

A difusão em ágar é uma técnica clássica na qual os microrganismos em teste são colocados em discos que contém ágar próprio para o crescimento. A substância a ser ensaiada é então adicionada sobre o inóculo. Depois de um ou dois dias de incubação, os discos são lidos pela medição do diâmetro da

zona de inibição e a atividade biológica é medida por esse parâmetro. Em condições padronizadas o diâmetro da zona de inibição é proporcional à concentração da droga.

A microcalorimetria biológica tem-se mostrado como uma técnica microbiológica com futuro promissor, particularmente em áreas onde os métodos analíticos clássicos são consumidores de tempo, laboriosos e de baixa precisão. Ainda existem poucos artigos sobre o efeito de drogas e microorganismos avaliados pelo método microcalorimétrico^{32,64-70}. Entretanto, os resultados têm apresentado como características fundamentais: melhor reprodutibilidade (cerca de 2% quando comparada com cerca de 5 a 10% no método clássico de difusão em ágar); melhor sensibilidade; maior rapidez (cerca de 1 hora quando comparado a 24-48 horas na técnica clássica), uso de inóculo armazenado em condições padronizadas em nitrogênio líquido; além da simplicidade do experimento. No entanto, para ser uma verdadeira substituta da técnica clássica de difusão em ágar, a técnica microcalorimétrica deve ser capaz de operar com uma variedade significativa de microrganismos tal como na primeira, o que, até o presente, ainda não está garantido⁶⁷.

A microcalorimetria biológica é uma técnica analítica não seletiva na qual se registra o efeito de calor produzido por um processo metabólico microbiano que acontece numa cultura. Este efeito pode ser registrado continuamente sem perturbar o processo. Os calorímetros mais amplamente usados em aplicação analítica microbiológica são os microcalorímetros isotérmicos de condução de calor. A capacidade para operar isotermicamente é importante porque os microrganismos podem ser monitorados a diferentes temperaturas, para condições ótimas de respiração e crescimento e, a natureza da interação antibiótico-microrganismo como função da temperatura é uma consideração importante. Além disso, é importante ter condições isotérmicas porque o microrganismo cresce a temperatura constante e seu metabolismo e subsequente inibição são melhor compreendidos como função da temperatura.

É sabido que culturas de microrganismos que crescem/metabolizam produzem perfis gráficos que são frequentemente conhecidos como curvas potência-tempo (dQ/dt versus tempo). Muitos estudos do calor produzido por microrganismos em crescimento como função do tempo originam curvas simétricas ou hiperbólicas na forma de sinos. O crescimento de uma população homogênea de células dispersa em um meio líquido apropriado para o crescimento, é descrito por um aumento exponencial da densidade celular. A velocidade da produção de calor será, então, descrita pela mesma função exponencial. Quando o crescimento exponencial é limitado pela fonte de energia, a velocidade de produção de calor declina quando o substrato é exaurido e retorna para um valor básico. Da mesma maneira, antibióticos podem ser adicionados a microrganismos metabolizando sob condições de não-crescimento. Em tais situações, entretanto, uma curva dQ/dt mais simples do que aquela devido ao crescimento é obtida (reação de ordem zero)⁶².

É estimado que no intuito de se produzir um único agente antifúngico pelo método "hit or miss", de 1 a 12.000 novas drogas devem ser sintetizadas e testadas^{6,67}. A microcalorimetria biológica, que ainda não é aplicada no Brasil como método de avaliação da atividade biológica de novas substâncias dentro da gênese planejada de fármacos, é uma técnica microbiológica *in vitro* à semelhança da técnica clássica de difusão em ágar que, certamente, será capaz de estabelecer novos horizontes na busca de novos métodos de testes biológicos³².

O emprego desse método físico-químico em sistemas microbiológicos tem como primeiro objetivo a possibilidade de viabilizar o ensaio biológico preliminar dentro da gênese planejada de fármacos. Este aspecto é bastante importante quando se leva em consideração que no Brasil cerca de 90% das plantas (produtos naturais) ainda não foram estudadas. Pode, ainda, minimizar a dificuldade em se encontrar um centro que realize

os ensaios biológicos, já que a técnica de microcalorimetria biológica pode apresentar os resultados de uma análise em menos do que uma hora. Em princípio, num estudo preliminar qualitativo, poderiam ser realizadas cerca de 7.680 análises por ano. Utilizando-se a mesma base de cálculo, apenas 960 análises seriam realizadas pela técnica de difusão em ágar⁶⁷.

O uso da microcalorimetria biológica de fluxo na análise de drogas pode ser assim resumido: (i) distinção entre agentes biocidas e biostáticos; (ii) análise quantitativa de agentes simples ou combinados: biopotência de agentes estruturalmente relacionados; sinergismo e antagonismo. O estudo de QSAR baseado em microcalorimetria biológica pode ser desenvolvido com estes objetivos; (iii) efeito da formulação farmacêutica sobre a atividade do agente; (iv) cinética da ação do agente e (v) efeito de fatores ambientais na interação microrganismo-agente.

VII - RELAÇÕES ENTRE A ESTRUTURA QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA - SAR/QSAR

O conceito de relações de estrutura-atividade (SAR) é um paradigma importante na farmacologia atual e compreende todos os tipos de atividade biológica (resposta biológica = RB) produzidas por um composto químico⁷¹. Nesse contexto, uma descrição informativa e realista da estrutura molecular é obrigatória para que os resultados tenham algum significado e que conduzam a interpretações razoáveis e racionalizações⁷²⁻⁷⁴.

A estrutura molecular é uma realidade complexa que pode ser dividida em diferentes níveis de descrição: para cada nível espera-se que da informação mais simples até a mais informativa correspondam-se características estruturais e/ou propriedades físico-químicas observáveis.

Uma molécula é constituída de átomos que estão unidos por forças eletrônicas no espaço tridimensional e de acordo com uma certa disposição. Pela união dos átomos para formação de uma molécula, há perda de sua identidade que resulta num todo que é inigualavelmente diferente da soma de suas partes. Uma definição geral de estrutura molecular deve começar pela diferenciação entre fórmula (estrutura ou elementos subestruturais) e funções (propriedades), uma vez que podem existir em diferentes estados, dependendo de seu conteúdo energético.

A forma (topologia conformacional) de uma molécula não pode ser medida mas apenas modelada como numa expressão matemática. O mesmo se aplica para os componentes da estrutura molecular, que podem ser chamados de atributos estruturais.

A função exercida por uma molécula é alguma coisa bem diferente, uma vez que é uma consequência manifesta da estrutura. A função é, dessa maneira, representada pelos muitos tipos de fenômenos observáveis que são chamados propriedades (que por questões práticas podem ser chamadas de propriedades físico-químicas), inerentes a uma dada estrutura. Em outras palavras, significa dizer que as propriedades moleculares resultam da interação de uma molécula com seu meio-ambiente, como por exemplo nas interações intermoleculares. As propriedades físico-químicas, contrariamente à topologia, podem ser medidas mas não podem ser modeladas com completa exatidão.

Destarte, pode-se dizer que as propriedades físico-químicas são funções (consequências) da estrutura, enquanto que a estrutura pode ser inferida, dentro de limites, a partir das propriedades. Noutras palavras, as propriedades físico-químicas são influenciadas pela estrutura enquanto que as propriedades físico-químicas simbolizam informação proveniente da estrutura.

A dicotomia acima pode parecer lógica e simples, entretanto isso nem sempre é verdadeiro, já que os atributos estruturais não apresentam uma definição absoluta mas podem ser definidos apenas de maneira relativa (comparando-se com outra molécula, por exemplo). É o caso dos raios de van der Waals e volumes moleculares que são componentes da topologia

molecular. Da mesma maneira, o potencial eletrostático molecular é definido relativamente a um ponto de carga que ocupa sucessivamente um número muito grande de posições no espaço. O volume molecular e o potencial eletrostático devem ser vistos como sendo simultaneamente atributos estruturais e propriedades físico-químicas e, para esta incerteza atribui-se o termo atributo/propriedade.

Com isso, parece óbvio que a dicotomia entre estrutura e propriedade não é completa e um diagrama de Venn, Figura 3, pode ser postulado, onde o esquema propriedade-estrutura acima referido experimenta uma sobreposição parcial de dois círculos que indica a existência de atributos estruturais que podem ser vistos como propriedades ou vice-versa.

A estrutura molecular é convenientemente delineada considerando-se-a em vários níveis de descrição. A descrição começa no nível elementar - a estrutura unidimensional, onde as moléculas são representadas por suas fórmulas químicas. Neste nível considera-se apenas a contagem dos átomos e seus elementos e o único atributo estrutural que pode ser derivado precisamente dessa descrição é o peso molecular.

Em níveis geométricos a descrição em duas e três dimensões pode ser considerada⁷². As moléculas continuam sendo descritas como entidades abstratas, ou seja, objetos geométricos que consistem de átomos representados por seus símbolos e ligações por linhas. Este é o método mais comum de representação da molécula: modelos gráficos por computador, eslaides, artigos, etc⁷²⁻⁷⁵.

A descrição em duas dimensões considera como os átomos estão ligados; define a conexão dos átomos na molécula (presença e natureza das ligações químicas). Também explica a configuração *cis* ou *trans*, *Z* ou *E* no caso de diastereomerismo- π . É exatamente aqui que os modelos moleculares aparecem como "ferramenta" para relacionar índices de conexão entre propriedades moleculares e biológicas.

A descrição em três dimensões trata a molécula como um objeto geométrico rígido no espaço e explica não somente a conexão dos átomos (estrutura 2D), mas também a configuração total da molécula no caso de enantiomerismo e diastereomerismo.

Ao nível estereletrônico as moléculas se tornam reais. Elas não são mais vistas como abstrações geométricas, mas como objetos que possuem volume e forma. Neste nível os atributos/propriedades de tamanho, volume e superfície são modelados com o raio de van der Waals. Quando a dimensão temporal é incorporada, as moléculas não são mais tratadas como puramente espaciais, mas como entidades espaço-temporais. Noutras palavras, é a estrutura estereodinâmica da molécula que é descrita, à qual correspondem os atributos ou propriedades de flexibilidade, comportamento conformacional e prototrópico.

Esses atributos/propriedades são inerentes ao nível estereletrônico são dependentes dos elétrons de valência das moléculas, cujos atributos estereletrônicos são expressos como

propriedades eletrônicas características das próprias moléculas que podem ser medidas ou computadorizadas - distribuição eletrônica *e*, também aquelas que afetam o ambiente - potencial eletrostático molecular.

Nos níveis acima, as moléculas são descritas isoladamente, embora isto seja apenas parcialmente correto já que são necessários parâmetros que definam tais atributos/propriedades.

As propriedades e os atributos que correspondem aos níveis elementar e geométrico são invariantes com o ambiente, enquanto que os atributos/propriedades eletrônicos são influenciados pelo ambiente molecular.

Ao nível das interações intermoleculares duas classes de propriedades moleculares são encontradas. A primeira, atributos/propriedades eletrônicas influenciadas pelo ambiente, expressam o fato de que os elétrons, que são responsáveis pela maioria das interações intermoleculares, também sejam afetados por essas interações.

"Moléculas sociais" (moléculas descritas ao nível das interações intermoleculares) também apresentam propriedades emergentes, ou seja propriedades que não são encontradas nos níveis anteriores. Estas são propriedades físico-químicas como ponto de fusão, solvatação, comportamento em sistemas cromatográficos, e a propriedade biologicamente essencial da lipofilia. Propriedades coligativas (propriedades que dependem da concentração) também aparecem neste nível.

As propriedades biológicas (RB), não pertencem à descrição da estrutura química em *stricto sensu*. Entretanto, as interações com um ambiente biológico indicam que existe um "continuum" entre este nível de propriedades e o anterior, qual seja as interações intermoleculares. Isto fica claro quando se considera que os coeficientes de partição membrana/água podem ser vistos tanto como uma propriedade físico-química ou biológica. A lipofilia é uma propriedade popular⁷⁶. Ela é dependente de todos os atributos estruturais dos níveis elementar, geométrico e estereletrônico. A lipofilia resulta de uma vasta gama de interações que vão desde fatores hidrofóbicos e forças de van der Waals até interações íon-dipolo e ligações de hidrogênio.

Nessa perspectiva, parece implícito que a dependência das propriedades biológicas sobre as moleculares é inevitável.

Nos estudos de SAR as relações qualitativas ou correlações quantitativas são estabelecidas entre respostas biológicas (RB) e estrutura molecular e também propriedades moleculares que resultam na terminologia relações de atividade-propriedades, PAR.

As relações entre atividade e estrutura e também entre atividade e propriedade são esquematizadas à semelhança das relações entre propriedade e estrutura. A atividade biológica (isto é a RB) é uma função da estrutura molecular ou das propriedades físico-químicas enquanto que as propriedades e estrutura podem ser deduzidas ou inferidas a partir da atividade.

Ao nível molecular ao qual estão implícitas todas as respostas biológicas originadas por agentes químicos, as interações biológicas podem ser fatoradas em partes específica e não-específica. A parte não-específica expressa as interações direcionais pobres tais como forças de London (interações instantâneas dipolo-induzido dipolo) e ligações hidrofóbicas, enquanto que a parte específica expressa parâmetros estereletrônicos tais como ligação de hidrogênio, iônica e forças de Keesom (interações permanentes dipolo-permanente dipolo). É óbvio, portanto, que em função das propriedades inerentes às interações intermoleculares e eventos farmacocinéticos e farmacodinâmicos que levam a uma RB indicam que um "continuum" existe e dessa forma um diagrama de Venn pode ser idealizado.

Dessa forma, os objetivos dos estudos de SAR/PAR são: (i) conhecer os mecanismos de ação e (ii) prever a atividade de compostos antes mesmo que sejam preparados e deduzir as propriedades moleculares correspondentes ao objetivo da atividade biológica (planejamento de fármacos). Em termos mecanísticos, os estudos de SAR e PAR levam a três relações:

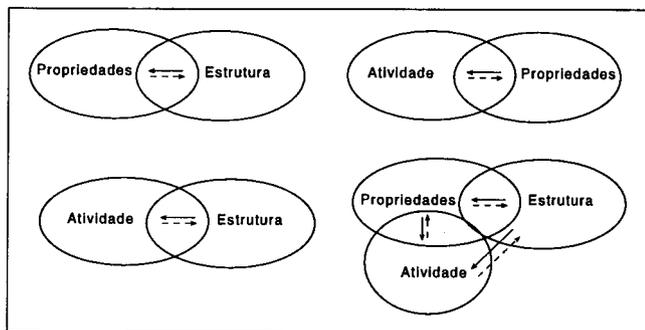


Figura 3. Diagramas de Venn para as interações Estrutura-Propriedades-Atividade.

(i) Um mecanismo molecular simples influencia a atividade biológica (RB). Esta situação pode ocorrer somente com os sistemas biológicos mais simples (proteínas, enzimas). Há uma interpretação mecanística da relação. Nenhum outro mecanismo molecular (distribuição, penetração, "binding") o influencia; (ii) Vários mecanismos moleculares influenciam a atividade biológica. As relações entre atividade e estrutura/propriedade não permite uma interpretação mecanística estatisticamente correlacionada; (iii) A relação observada é essencialmente tautológica.

VIII - CONCLUSÃO

Freter⁷⁷ tem postulado que "drogas não são descobertas por planejamento racional ou ensaio randômico, mas são a evolução das substâncias matriz já existentes". Isso está de acordo com o que esse autor chama de "pesquisa analógica". Entretanto, essa afirmação parece um tanto inesperada quando a evolução natural da química medicinal tem mostrado, por exemplo, a importância da interação droga-membrana⁷⁸ ou ainda o emprego de métodos bioquímicos em atividade antifúngica seletiva⁷⁹ e a existência da azidotimidina (AZT) como primeira droga aplicada eficazmente na diminuição da morte de pacientes com AIDS²⁹ e que foi identificada através de um processo randômico. Além disso, o planejamento de estruturas candidatas a substâncias protótipas a partir de hipóteses farmacofóricas^{45,46} - modelagem molecular e a aplicação da linguagem computacional gráfica, relacionados com a estrutura do receptor em três dimensões, já constituem metodologias correntes.

Em outro contexto, a busca de novas substâncias protótipas deve advir da ênfase a produtos naturais que já constitui uma das poucas fontes novas de descobrimento de drogas. E, agora sim, essas substâncias devem ser modificadas^{28,80}.

O planejamento e desenvolvimento de compostos bioativos resultam de uma relação interdisciplinar que envolve, dentre outros, químicos orgânicos, químicos medicinais teóricos, biólogos, biólogos moleculares, químicos biofísicos, cristalógrafos e especialistas em RMN, particularmente bio-RMN. Somente com os esforços concentrados de todos esses cientistas e o progresso em cada uma das áreas farão da descoberta ou otimização de drogas uma multidisciplinar estimulante, que contribuirá para a independência farmacológica do Brasil, dentro de uma estrutura complexa que parece constituir uma ciência que já está sendo referenciada como "ciência sem nome"^{7b}. Neste particular, a introdução da teoria matemática das probabilidades - a *estocástica*, não pode ser validada.

REFERÊNCIAS E NOTAS

1. Conferência apresentada durante o VI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - Regional-MG, em homenagem ao setuagenário do Prof. Williebrordus Copray. São João Del Rei, novembro de 1992; durante a VI Semana de Estudos em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora, junho de 1993 e, parcialmente, durante a XVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Caxambu, 1993.
2. Price, B. J.; Dodds, M. G.; *Spec. Public. R. Soc. Chem.* (1991), **96** (Milestones 150 years Chem. Ind.), **27**. *Chemical Abstract*, **116**, 82833z.
3. (a) Amer, M. S.; McKinney, G. R.; *Ann. Rep. Med. Chem.* (1974), **9**, 203 (b) Redl, G. *et al.*; *Chem. Soc. Rev.* (1974), **3**, 273 (c) Hansch, C.; Sammes, P. G.; Taylor, J. B. (Eds.); em "Comprehensive Medicinal Chemistry" *The Rational Design, Mechanistic Study & Therapeutic Applications of Chemical Compounds*. Vol. 4. Quantitative Drug Design. 1990, Pergamon Press.
4. Steward, F.; Wibberley, G.; *Nature*, (1980), **280**, 118.
5. Barreiro, E. J.; *Quím. Nova* (1991), **14**, 179.
6. Korolkovas, A.; *Ciência e Cultura*, (1989), **41**, 528.
7. (a) Mannhold, R.; *Quant. Struct.-Act. Relat.*, (1992), **11**, 232 (b) Hansch, C.; *Acc. Chem. Res.*, (1993), **26**, 147.
8. Vale mencionar que há a possibilidade de se combinar a química de macromoléculas com a química de moléculas pequenas para planejar novos fármacos. A chamada "química bioconjugada" envolve a ligação covalente de pequenas moléculas com biopolímeros com o propósito de confeitar às moléculas pequenas as propriedades do biopolímero. Veja: Upešlacis, J.; Hinman, L.; *Ann. Rep. Med. Chem.*, (1988), **23**, 151.
9. Silverman, R. B. em "The Organic chemistry of Drug Design and Drug Action", Academic Press, Inc. 1992.
10. Fleming, A.; *Br. J. Exp. Pathol.*, (1929), **10**, 226.
11. Mitsuya, H. *et al.*; *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* (1985), **82**, 7096.
12. Shen, T. Y.; *J. Med. Chem.*, (1981), **24**, 1.
13. (a) Ganellin, C. R.; *Chronicles of Drug Discovery*. Bindra, J. S.; Lednicer, D.; Eds., Wiley, NY, 1982. *Chemical Abstract*, **96** 45726q; (b) Ganellin, C. R. in "Pharmacology of Histamine Receptors". Ganellin, C. R. e Parsons, M. E., Eds., Wright-PSG, England 1982. *Chemical Abstract*, **97**, B156518p; (c) Ganellin, C. R.; *J. Med. Chem.* (1981), **24**, 913; (d) Ganellin, C. R. e Durant, G. J. em "Burger's Medicinal Chemistry", Wolff, M. E., Ed., Wiley, NY; (e) Black, J. W.; Durant, G. J.; Emmett, J. C.; Ganellin, C. R.; *Nature* (1974), **248**, 65; (f) Ganellin, C. R.; *Recept. Biochem. Methodol.* (1992), **16**, 1.
14. Ariëns, E. J. Ed. "Drug Design", Vols. 1-10, Academic Press, NY, 1971-1980.
15. Burger, A. em "A Guide to the Chemical Basis of Drug Design", Wiley, NY, 1983.
16. Foye, W. O. em "Principles of Medicinal Chemistry", 3rd ed., Lea & Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, 1989.
17. Hansch, C.; Emmett, J. C.; Kennewell, P. D.; Ramsden, C. A.; Sammes, P. G.; Taylor, J. B., Eds. "Comprehensive Medicinal Chemistry" Vols. 1-6, Pergamon, Oxford, 1990.
18. Korolkovas, A. em "Essentials of Medicinal Chemistry", 2nd ed., Wiley, NY, 1988.
19. Wolff, M. E.; Ed. "Burger's Medicinal Chemistry" 4th ed., Wiley, 1979-1981.
20. Korolkovas, A.; Burckhalter, J. H. em "Química Farmacêutica", Ed. Guanabara Dois, RJ, 1976.
21. Burger, A.; *Prog. Drug Res.*, (1991), **37**, 287.
22. Hansch, C.; Maloney, P. P.; Fujita, T.; Muir, R. M.; *Nature*, (1962), **194**, 178.
23. Hansch, C.; Fujita, T.; *J. Am. Chem. Soc.*, (1964), **86**, 1616.
24. (a) Rekker, R. F.; *Quant. Struct.-Act. Relat.*, (1992), **11**, 195; (b) Van de Waterbeemd, H.; *Ibidem*, 200.
25. (a) Hansch, C.; *J. Med. Chem.*, (1976), **19**, 1; (b) Crumb-Brown, A.; Fraser, T.; *Trans. R. Soc. Edinburgh*, (1868-1869), **25**, 151, 693.
26. (a) Kubinyi, H. *Prog. Drug Res.* (1979), **23**, 97; (b) Beezer, A. E.; Gooch, C. A.; Hunter, W. H., Volpe, P. L. O.; *J. Pharm. Pharmacol.* (1987), **39**, 774.
27. Hansch, C.; Björkroth, J. P.; Leo, A.; *J. Pharm. Sci.*, (1987), **76**, 663.
28. deStevens, G.; *Prog. Drug Res.* (1990), **34**, 343.
29. Goodwin, J. S.; *Perspect. Biol. Med.* (1991), **35**, 20.
30. Slack, R.; Nineham, A. W.; *Medical and Veterinary Chemicals*, Pergamon, Oxford, 1968.
31. Os estudos de toxidez não precisam, necessariamente, ser realizados nesta etapa. Dependendo da capacidade de operação da equipe multidisciplinar, estudos como DL₅₀, por exemplo, podem ser realizado para um composto matriz dentro de uma determinada classe química com atividade terapêutica de interesse.

32. Montanari, C. A.; Beezer, A. E.; Sandall, J. P. B.; Montanari, M. L. C.; Miller, J.; Giesbrecht, A. M.; *Rev. Microbiol.*, (1992), **23**, 274.
33. Obviamente esse tempo representa uma estimativa. Existe uma variação inerente à capacidade de trabalho da equipe multidisciplinar.
34. A parte ativa da molécula constitui o grupo farmacofórico ou simplesmente farmacóforo: a interação da droga pode ser muito específica e apenas parte do composto matriz poderá estar envolvida na interação apropriada. Quando se conhece o grupo farmacofórico, requisito fundamental no método da modificação molecular, pode-se produzir alterações de suas propriedades pela introdução de grupos, fragmentos, subunidades estruturais que levem à possíveis alterações na interação do grupo farmacofórico com o sistema biológico. Se um composto bioativo apresentar grupos adicionais, estes podem interferir na ação farmacológica.
35. Pleiss, M. A.; Unger, S. H.; in "Comprehensive Medicinal Chemistry", C. Hansch, P. G. Sammes e J. B. Taylor, Eds.; Pergamon Press, 1990, Vol. 4, pp. 561.
36. Polak, A.; Hartman, P. G.; *Prog. Drug. Res.*, (1991), **37**, 181.
37. (a) Langley, J. N.; *J. Physiol. (London)*, (1878), **1**, 367; (b) Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, (1894), **27**, 2985.
38. Ehrlich, P.; *Klin. Jahrb.*, (1897), **6**, 299.
39. (a) Koshland, D. E., Jr.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (1958), **44**, 98; (b) Idem, *Biochem. Pharmacol.* (1961), **8**, 57; (c) Koshland, D. E., Jr., Neet, K. E.; *Ann. Rev. Biochem.* (1968), **37**, 359; (d) Koshland, D. E., Jr.; *Pure Appl. Chem.* (1971), **25**, 119; (e) Changeux, J. P. *et al.*; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, (1967), **57**, 335; (f) Wyman, J.; *J. Am. Chem. Soc.*, (1967), **89**, 2202.
40. Veja, por exemplo: (a) Smismann, E. E.; Nelson, W. L.; LaPidus, J. B.; Day, J. L.; *J. Med. Chem.*, (1966), **9**, 458; (b) Armstrong, P. D. *et al.*; *J. Pharmacol. Chem. Exp. Ther.*, (1969), **166**, 243; (c) Armstrong, P. D.; Cannon, J. G.; *J. Med. Chem.*, (1970), **13**, 1037; (d) Li, J. P.; Biel, J. H.; *J. Med. Chem.*, (1969), **12**, 917.
41. Hendrickson, M. A. *et al.*; *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, (1993), **33**, 155.
42. Kier, L. B. *et al.*; *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, (1993), **33**, 148.
43. (a) Kellogg, G. E. e Abraham, D. J.; *J. Mol. Graphics*, (1992), **10**, 212, 226; (b) Pearlman, D. D.; Murko, M. A.; *J. Comput. Chem.*, (1993), **14**, 1184.
44. "Encaixe complementar" ou "dinâmica química" pode ser melhor compreendido com o emprego da palavra inglesa *docking* que significa em linguagem computacional gráfica o movimento de uma molécula em um terminal em direção ao receptor.
45. Tschinke, V. *et al.*; *J. Med. Chem.*, (1993), **36**, 3863.
46. Ripka, W. C. *et al.*; *Chem. Struct. 2 Proc. Int. Conf.*, 2nd 1990, 303. *Chemical Abstract*, **119**, 270083r.
47. Ghose, A. K.; Jaeger, E. P.; Kowalczyk, P. J.; Peterson, M. L.; Treasuzywala, A. M.; *J. Comput. Chem.*, (1993), **14**, 1050.
48. Gund, T.; Gund, P. em "Molecular Structure and Energetics". Liebman, J. F.; Greenberg, A., Eds., 1987, Vol. 4, Cap. 10, VCH, Weinheim.
49. Carlson, G. M.; McDonald, R. J.; Meyer, E. F., Jr.; *J. Theor. Biol.*, (1986), **119**, 107.
50. Sufrin, J. R.; Dunn, D. A.; Marshall, G. R.; *Mol. Pharmacol.*, (1981), **19**, 307.
51. Humblet, C.; Marshall, G. R.; *Ann. Rep. Med. Chem.*, (1980), **15**, 267.
52. Marshall, G. R.; *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, (1980), **439**, 162.
53. Roth, F. E.; Govier, W. M.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, (1958), **124**, 347.
54. (a) Ariëns, E. J.; *Med. Res. Rev.*, (1986), **6**, 451; (b) Idem, *Ib.* (1987), **7**, 367.
55. Noguchi, H.; *Kagazu, Zokan (Kyoto)*, (1993), **123**, 133. *Chemical Abstract*, **119**, 173440x.
56. Eichelbaum, M.; *Dev. Pharmacol. Ther.*, (1992), **18**, 131. *Chemical Abstract*, **119**, 195001g.
57. Shivprakash, S. D. A.; Shah, Y. D.; Santani, D. D.; *Indian Drugs*, (1993), **30**, 296. *Chemical Abstract*, **119**, 194875h.
58. Barlow, R.; *Trends Pharmacol. Sci.*, (1990), **11**, 148.
59. É óbvio que esta análise deve ser empreendida quando do planejamento da pesquisa e, a inclusão de substâncias estereoisoméricas ou não depende não só de conhecimentos químicos como também dos processos fisiológicos ou patofisiológicos da relação saúde/doença.
60. Clark, A. M.; Hufford, C. D.; *Med. Res. Rev.*, (1991), **11**, 473.
61. Lorian, N. V.; em "Antibiotics in Laboratory Medicine", William & Wilkins Company, Baltimore, 1980, 1.
62. Beezer, A. E.; em "Biological Microcalorimetry", Academic Press, London, 1980.
63. Perry, B. F.; em "Comprehensive Analytical Chemistry", G. Svehla, Ed., Vol. XII, Thermal Analysis, Part B, Biochemical and Clinical Applications of Thermometric and Thermal Analysis, Jespersen, N. D., Ed., Elsevier Scientific Publishing Company, 1982, 176.
64. Volpe, P. L. O.; *Quím. Nova* (1988), **11**, 435.
65. De Moraes, S. M.; Beezer, A. E.; Ashby, L. J.; Bolton, R.; *Int. J. Pharm.*, (1990), **66**, 107.
66. Montanari, M. L. C.; Beezer, A. E.; Sandall, J. P. B.; Montanari, C. A.; *Int. J. Pharm.*, (1992), **85**, 199.
67. Montanari, C. A.; Montanari, M. L. C.; Beezer, A. E. e Giesbrecht, A. M.; *Quím. Nova*, (1993), **16**, 133.
68. Beezer, A. E.; Fox, G. G.; Gooch, C. A.; Hunter, W. H.; Miles, R. J.; Smith, B. V.; *Int. J. Pharm.*, (1988), **45**, 153.
69. Perry, B. F.; Beezer, A. E.; Miles, R. J.; Smith, B. V.; Miller, J.; Nascimento, M. G.; *Microbios*, (1986), **45**, 181.
70. Beezer, A. E.; Hunter, W. H. e Storey, D. E.; *J. Pharm. Pharmacol.*, (1983), **35**, 406.
71. Não se trata aqui de uma exaustiva revisão sobre SAR/ QSAR mas apenas algumas considerações sobre a descrição da molécula enquanto entidade que interage em um sistema biológico complexo. Para estudos em QSAR e os métodos usados para correlacionar parâmetros físico-químicos com a resposta biológica veja, por exemplo, as referências 14, 17, 22, 23, 26, 35 e 76. Veja ainda: (a) Hansch, C.; *Acc. Chem. Res.* (1969), **2**, 232; (b) Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D.; *Chem. Rev.*, (1971), **71**, 525; (c) Topliss, J. G.; Costello, R. J.; *J. Med. Chem.*, (1972), **15**, 1066; (d) Topliss, J. G.; *J. Med. Chem.*, (1972), **15**, 1006; (e) Hansch, C. *et al.*; *J. Med. Chem.*, (1973), **16**, 1207; (f) Hansch, C.; Unger, S. H.; *J. Med. Chem.*, (1973), **16**, 1217; (g) Hansch, C.; Leo, A.; Elkins, D.; *J. Chem. Doc.*, (1974), **14**, 57; (h) Martin, Y. C. em "Quantitative Drug Design: A Critical Introduction" 1978, Dekker, NY; (i) Burger, A.; *J. Med. Chem.*, (1978), **21**, 1; (j) Martin, Y. C. e Panas, H. N.; *J. Med. Chem.*, (1979), **22**, 784; (k) Burger, A.; *Trends Pharmacol. Sci.*, (1979), **1**, 62; (l) Hansch, C.; Leo, A. em "Substituent Constant for Correlation in chemistry and Biology" 1979, Wiley, NY; (m) Martin, Y. C.; *J. Med. Chem.*, (1981), **24**, 229; (n) Burger, A.; *Med. Chem. Adv., Proc. Int. Symp.*, 7th 1980, 1. De las Heras, F. G.; Vega, S. Eds. Pergamon, Oxford, *Chemical Abstract*, **95**, 180465y; (o) Boschke, F. L., Ed. "Topics in Current Chemistry", *Steric Effects in Drug Design*, (1983), **114**, 1-119; (p) Dearden, J. C.; *Environ. Health Perspect.*, (1985), **61**, 203; (q) Hansch, C.; Klein, T. E.; *Acc. Chem. Res.*, (1986), **19**, 392; (r) Hansch, C.; "Molecular Structure and Energetics", 1987, Vol. 4, 341, VCH; (s) Wold, S.; *Quant. Struct.-Act. Relat.* (1991), **10**,

- 191; (t) Hansch, C.; Leo, A.; Taft, R. W.; *Chem. Rev.*, (1991), **91**, 165; (u) Ariëns, E. J.; *Quant. Struct.-Act. Relat.*, (1992), **11**, 190; (v) Rotstein, S. H.; Murcko, M. A.; *J. Med. Chem.*, (1993), **36**, 1700; (w) Leo, A. J.; *Chem. Rev.*, (1993), **93**, 1281; (x) Lien, E. J.; Gao, H.; Wang, F.; *Quant. Struct.-Act. Relat.*, (1993), **12**, 158; (y) Rekker, R. F.; ter Laak, A. M.; Manhold, R.; *Quant. Struct.-Act. Relat.*, (1993), **12**, 152; (z) Waller, C. L.; Marshall, G. R.; *J. Med. Chem.*, (1993), **36**, 2390.
72. Testa, B.; Kier, L. B.; *Med. Res. Rev.*, (1991), **11**, 35.
73. Kier, L. B.; Hall, L. H.; *Adv. Drug Res.*, (1992), **22**, 1.
74. Todeschini, R. *et al.*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, (1992), **15**, 51. *Chemical Abstract*, **117**, 89796u.
75. Balaban, A. T.; Motoc, I.; Bonchev, D.; Mekenyan, O.; in "Topics in Current Chemistry", Charton, M.; Motoc, I., Eds.; Springer-Verlag, 1983, 21-55.
76. De Waterbeemd, H. V.; Testa, B.; *Adv. Drug Res.*, (1987), **16**, 85.
77. Freter, K. R.; *Pharm. Res.*, (1988), **5**, 397.
78. Seydel, J. K. *et al.*; *Quant. Struct.-Act. Relat.*, (1992), **11**, 205.
79. Van den Bossche, H. *et al.*; *Mycoses*, (1989), **32**, 35.
80. Soudijn, W.; *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, (1993), **112**, 43. *Chemical Abstract*, **118**, 246752s.