

MODELAGEM MOLECULAR: UMA FERRAMENTA PARA O PLANEJAMENTO RACIONAL DE FÁRMACOS EM QUÍMICA MEDICINAL¹

Eliezer J. Barreiro* e Carlos Rangel Rodrigues

DF - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro - CP 68006 - 21944-190 - Rio de Janeiro - RJ

Magaly Girão Albuquerque, Carlos Mauricio Rabello de Sant'Anna e Ricardo Bicca de Alencastro

Departamento de Química Orgânica - Instituto de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro - Cidade Universitária, CT, Bl. A - Lab. 609 - 21949-900 - Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 18/4/96; aceito em 19/9/96

MOLECULAR MODELING: A TOOL FOR RATIONAL DRUG DESIGN IN MEDICINAL CHEMISTRY. The molecular basis of modern therapeutics consists in the modulation of cell function by the interaction of microbioactive molecules as drug with cells macromolecules structures. Molecular modeling is a computational technique developed to access the chemical structure. This methodology, by means of the molecular similarity and complementary paradigm, is the basis for the computer-assisted drug design universally employed in pharmaceutical research laboratories to obtain more efficient, more selective, and safer drugs. In this work, we discuss some methods for molecular modeling and some approaches to evaluate new bioactive structures in development by our research group.

Keywords: molecular modeling; medicinal chemistry; drug design.

INTRODUÇÃO

Em nenhuma outra área da Química, o conhecimento completo da estrutura molecular é tão essencial como na Química Medicinal. Esta disciplina das Ciências Farmacêuticas estuda as origens moleculares da atividade biológica dos fármacos, determinando os parâmetros que relacionam estrutura e atividade e aplicando estes fundamentos no planejamento racional dos fármacos².

As teorias desenvolvidas para explicar a atividade farmacológica das drogas sustentam-se, numa primeira aproximação, no paradigma da "chave-fechadura"³. Neste modelo, as "fechaduras" ou receptores celulares são biomacromoléculas de extrema sensibilidade, responsáveis pelo reconhecimento molecular de espécies endógenas e exógenas capazes de apresentar atividade biológica. Estes receptores interagem reversivelmente, em geral, com as moléculas bioativas (mediadores celulares endógenos e fármacos), consideradas neste modelo como as "chaves".

Os complexos formados entre as moléculas bioativas e os receptores provocam as respostas biológicas e dependem de um mecanismo de reconhecimento molecular que determina a seletividade dos bioreceptores. O padrão de seletividade é a expressão do reconhecimento à nível molecular de apenas uma substância dentre os inúmeros compostos estruturalmente relacionados disponíveis na biofase.

A propriedade de reconhecimento molecular depende essencialmente da estrutura química e, em última análise, determina a atividade farmacológica de uma substância². Muitas vezes, um bioreceptor apresenta enantioespecificidade, ou seja, reconhece apenas um dos enantiômeros de uma substância quiral. Este isômero bioativo é denominado *eutômero*. O outro enantiômero, que não é reconhecido pelo bioreceptor, é chamado *distômero*^{3,4}. Esta situação é talvez o exemplo mais notável da especificidade das interações droga-receptor e de sua dependência das relações estruturais^{4,5}.

A nível experimental, o conhecimento da estrutura molecular de uma substância não é tarefa simples. Não são muitos os métodos capazes de caracterizar completamente uma dada estrutura, permitindo sua descrição precisa em termos de distâncias e

ângulos de ligação, além de ângulos de torção (ou ângulos diedro) que definem sua conformação. A cristalografia de raios-X⁶⁻⁸ é, ainda, a técnica experimental mais eficiente para a obtenção destes dados. Limita-se, todavia, a substâncias em fase cristalina. Além disto, não há garantia de que a conformação no estado cristalino seja a mesma das moléculas em solução^{6,9}, ou ainda a geometria assumida no complexo droga-receptor na biofase.

Dentro deste contexto, a modelagem da estrutura molecular por métodos computacionais surgiu como uma alternativa, especialmente após o desenvolvimento de programas capazes de calcular a estrutura com um compromisso adequado entre velocidade e precisão, somados aos recursos da computação gráfica e à crescente diminuição dos custos de máquinas de alto desempenho capazes de operar estes programas e recursos¹⁰.

A modelagem molecular consiste em um conjunto de ferramentas para a construção, edição e visualização, análise e armazenamento de sistemas moleculares complexos^{2,5}. Estas ferramentas podem ser aplicadas em estratégias de modelagem direta e indireta de novas drogas². Na primeira aproximação, faz-se o ajuste da droga a uma estrutura de receptor conhecida, por exemplo, através de dados de cristalografia de raios-X^{6,7} ou de ressonância magnética nuclear (RMN)^{11,12}. Na segunda aproximação, faz-se a análise comparativa das estruturas de moléculas ativas e de moléculas inativas ao nível de um determinado bioreceptor, utilizando-se o conceito de complementaridade para o desenvolvimento de um modelo topográfico hipotético do sítio receptor, denominado modelo farmacofórico.

Existem muitas opções quanto ao método de cálculo a ser aplicado em uma determinada estratégia de modelagem molecular. Estes métodos basicamente diferem quanto à natureza do campo de força, ou seja, do conjunto de funções de energia e parâmetros numéricos associados. Os campos podem ser totalmente empíricos, como os utilizados em mecânica molecular, ou, no outro extremo, puramente teóricos (métodos *ab initio*), passando pelos chamados métodos semi-empíricos. A aplicação de um ou outro método é determinada pelo compromisso entre tempo e precisão dos resultados e pela complexidade do sistema a ser analisado².

Neste trabalho serão discutidos, brevemente, alguns métodos

e metodologias empregados em modelagem molecular e alguns exemplos de abordagens feitas pelo nosso grupo de pesquisa para avaliar e definir novas estruturas bioativas em desenvolvimento no Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio).

Métodos de cálculo utilizados em Modelagem Molecular

O método da mecânica molecular¹³ baseia-se na visão clássica da estrutura molecular como um conjunto de esferas unidas por molas com constantes de força características. O campo de forças neste caso é constituído pelo somatório de termos de energia relacionados às posições de equilíbrio do sistema (distâncias de ligação, ângulos de ligação, ângulos diedros, distâncias de van der Waals, ligações hidrogênio, interações eletrostáticas, etc.) às quais podem ser associadas penalidades energéticas para seu afastamento, isto é, as constantes de força das "molas". Em geral, estas constantes de força são avaliadas por meio de dados espectroscópicos. A principal vantagem da mecânica molecular é a rapidez na avaliação de sistemas moleculares complexos.

Os pacotes de programas de mecânica molecular (AMBER, CHARM, DISCOVER, MM2/MMP2, PCMODEL-MMX, SYBIL, etc.) utilizam diferentes funções de energia potencial para representar a energia interna de uma molécula^{7,14,15}. O campo de força AMBER (*Assisted Model Building with Energy Refinement*), por exemplo, é expresso pela equação (1)¹⁵:

$$E_{\text{total}} = \sum_{\text{ligação}} k_r (r - r_0)^2 + \sum_{\text{ângulo}} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{diedro}} k_\phi/2 (1 + s \cdot \cos n \phi) + \sum_{i < j} (a_{ij}/r_{ij}^{12} - b_{ij}/r_{ij}^6 + q_i q_j / D \cdot r_{ij}) + \sum_{\text{ligação-H}} (c_{ij}/r_{ij}^{12} - d_{ij}/r_{ij}^{10}) \quad (1)$$

em que os três primeiros termos representam, respectivamente, as energias de deformação dos comprimentos e ângulos de ligação e ângulos diedro, dentro da aproximação harmônica; o quarto termo corresponde à energia das interações não ligantes (London) e eletrostáticas (Coulomb); e o quinto termo representa as contribuições de ligações hidrogênio^{13,15,16}.

Outros exemplos são o campo de força MM2, muito utilizado para moléculas de baixo peso molecular, desenvolvido por Allinger¹³ e o campo de força MMX, contido no programa PCMODEL, sendo derivado do campo MM2, acrescido de rotinas π -VESCF (*Valence Electron Self-Consistent Field*) para cálculos de sistemas π .

Os métodos de mecânica quântica^{14,17}, por outro lado, permitem maior precisão nos resultados, além de fornecerem dados sobre a estrutura eletrônica, que não é considerada na mecânica molecular. Isto implica em um custo computacional (tempo de computação e capacidade de memória necessária) maior.

Os pacotes de programas de métodos quânticos *ab initio* (CADPAC, GAMESS, GAUSSIAN, HONDO, etc.) e semi-empíricos (AMPAC, MOPAC, etc.) são baseados no formalismo de orbitais moleculares com diferentes abordagens^{7,14,15}. Nos métodos *ab initio*, um modelo para uma função de onda particular é selecionado e os cálculos necessários são realizados sem simplificação. Em tais abordagens o erro está associado ao conjunto de bases selecionado e ao nível de tratamento da correlação eletrônica¹⁸.

Os métodos semi-empíricos são baseados no mesmo formalismo dos métodos *ab initio*, mas parte de seus parâmetros são ajustados a dados experimentais. A parametrização dos métodos semi-empíricos com dados experimentais aumentou significativamente a acuracidade química e a velocidade dos métodos de orbitais moleculares. O sucesso desta abordagem é indicado por inúmeros estudos mostrando dados energéticos que variam na faixa de 1,0 kcal/mol dos dados experimentais¹⁵. Os métodos semi-empíricos mais recentes são AM1 (*Austin Model 1*)¹⁹ e PM3 (*Parametric Method 3*)^{20,21}, contidos nos pacotes AMPAC e MOPAC. Do ponto de vista da estrutura das ligações hidrogênio, importantes em sistemas biológicos, o método PM3 tem

apresentado resultados mais próximos aos obtidos experimentalmente e por cálculos *ab initio*²²⁻²⁴.

As diversas aproximações semi-empíricas permitem evitar o cálculo de um grande número de integrais, o que possibilita a aplicação destes métodos em sistemas com um número maior de átomos. Nestes métodos, os núcleos são assumidos em sucessivas posições estacionárias, sobre as quais a distribuição espacial ótima dos elétrons é calculada pela resolução da equação de Schrödinger. O processo é repetido até que a energia não mais varie dentro de um limite escolhido, ou seja, até se alcançar um ponto estacionário da superfície de energia. Esta procura por um estado estacionário da geometria calculada no espaço multidimensional é o equivalente computacional da purificação experimental de uma amostra antes de se avaliar suas características físico-químicas.

Em um sistema no estado fundamental, isto significa que a geometria é tal que o calor de formação (ΔH_f) é um mínimo irreduzível (na verdade um mínimo irreduzível local), ou seja, todas as suas constantes de força são positivas; para estados de transição, o sistema deve ter exatamente uma constante de força negativa^{25,26}. Deste modo, tem se tornado prática comum nos trabalhos teóricos de qualidade, a avaliação de todas as segundas derivadas (constantes de força) da energia molecular em função dos parâmetros moleculares, para se determinar inequivocamente a natureza dos pontos estacionários encontrados no processo de otimização da geometria da estrutura²⁵.

METODOLOGIAS E PARÂMETROS USADOS EM MODELAGEM MOLECULAR

A modelagem de uma estrutura permite isolá-la e "congelá-la". Estruturas com tempos de vida muito curtos, tais como intermediários de reação ou estados de transição hipotéticos podem ser modelados e suas propriedades "medidas" com relativa facilidade^{14,27}. A possibilidade do estudo das conformações e propriedades de uma molécula isolada, simulando o estado gasoso, ou da molécula solvatada, ainda que por um número pequeno de moléculas de solvente, permite prever as conformações preferenciais em cada caso particular.

Em muitos casos, dados experimentais de espectroscopia de microondas podem ser utilizados para comparação com os dados calculados para a molécula isolada. Dados de difração de raios-X e de difração de nêutrons podem também ser empregados, desde que se considere as forças de empacotamento cristalino. Estudos espectroscópicos de RMN e de infravermelho (FTIR) em solução, podem ser também comparados com os dados calculados para a molécula solvatada, desde que se mantenham certas propriedades características do solvente, como, por exemplo, a capacidade de formar ligação hidrogênio e a constante dielétrica. Exemplos nesse sentido são, dentre outros, os programas computacionais capazes de simular a solvatação²⁸, ou os que fornecem bancos de dados de estruturas tridimensionais de moléculas que possuem os requerimentos estruturais exigidos para que se observe uma determinada bioatividade^{29,30}.

Além de fornecer dados estruturais, os cálculos teóricos são usados também na computação de índices de interesse químico e farmacológico, tais como: calores de formação, energias eletrônicas, energias do HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e do LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), energias de ionização, densidades eletrônicas atômicas, cargas atômicas líquidas, densidades eletrônicas dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO), ordens de ligação e momentos de dipolo, entre outros^{2,31}. Dentre estes parâmetros, as energias do HOMO e do LUMO estão correlacionadas às habilidades de doador e receptor de elétron, respectivamente. Uma maior energia do HOMO está correlacionada com uma maior probabilidade de doar elétrons, enquanto que uma menor energia do LUMO está relacionada a uma maior facilidade em aceitar elétrons^{31,32}.

Expressões como CADD (*Computer Aided Drug Design*, desenho de drogas assistido computacionalmente), entre outras, foram recentemente incorporadas à linguagem da Química Medicinal. Trata-se de uma metodologia que visa determinar distâncias interatômicas e densidades eletrônicas de moléculas de interesse biológico, estudar o equilíbrio conformacional das biomoléculas definindo as conformações potencialmente bioativas, explicar racionalmente as atividades farmacológicas de substâncias, definir, confirmar ou descartar hipóteses para o mecanismo de ação a nível eletrônico e molecular de diversos fármacos e, finalmente, identificar interações específicas entre drogas e receptores, definindo os grupamentos farmacofóricos^{33,34}.

É possível definir, ainda, hipóteses topográficas para sítios receptores de diversas classes de drogas, deduzindo tridimensionalmente a interação molecular de uma determinada droga e seu receptor, modelando biomacromoléculas-alvo (sítios ativos de enzimas, de receptores e de ácidos nucleicos; ou enzimas, receptores e ácidos nucleicos íntegros) e a interação destas com moléculas efetoras (substratos e agonistas naturais; fármacos inibidores, agonistas e antagonistas)⁹. Deste modo, pode-se planejar, numa base racional, novas drogas mais específicas e potentes, capazes de emprego terapêutico mais seguro.

Pelo exposto, conclui-se que a modelagem molecular, incluindo a análise conformacional e o cálculo de propriedades e parâmetros estereoeletrônicos e físico-químicos, auxilia a interpretação das correlações entre a estrutura química de uma substância e sua atividade farmacológica, sendo, portanto, uma importante ferramenta para o planejamento racional de novos fármacos².

APLICAÇÕES DE MODELAGEM MOLECULAR EM QUÍMICA MEDICINAL

Neste tópico descreve-se alguns resultados recentes do LASSBio ilustrativos dos projetos desenvolvidos em nosso grupo de pesquisas na aplicação de técnicas de modelagem molecular em *Química Medicinal*.

Estudo de Inibidores de Ciclooxigenase (COx) e 5-Lipoxigenase (5-LO): Proposta de Novos Inibidores Seletivos de 5-LO

O ácido araquidônico (ácido 5-Z,8-Z,11-Z,14-Z-icosatetraenóico, AA), liberado a partir de fosfolípidos de membranas celulares pela enzima fosfolipase A₂^{35,36}, desempenha um papel importante na inflamação. Como substrato para as enzimas 5-lipoxigenase (5-LO) e ciclooxigenase (COx) - também conhecida como prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS) - o ácido araquidônico produz, respectivamente, o hidroperóxido (AA-OOH) que é subsequentemente reduzido a leucotrienos (LTs), e o PGH₂ que origina as prostaglandinas (PGs) (Fig. 1). Revisões recentemente publicadas descrevem vários aspectos dos inibidores de 5-LO³⁷⁻³⁹.

O LTB₄ é um potente agente quimiotático para as células inflamatórias (polimorfonucleares, PMN) e pode ter um papel importante na última fase da inflamação, comumente observada

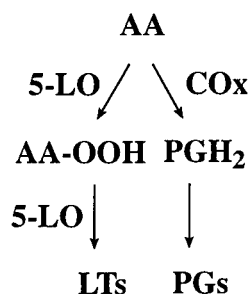


Figura 1. Esquema do metabolismo do ácido araquidônico (AA).

em pacientes asmáticos. Os LTC₄, LTD₄ e LTE₄, coletivamente identificados como substâncias de reação lenta da anafilaxia (SRS-A), têm efeitos farmacológicos potentes sobre as contrações dos músculos lisos, o estímulo da secreção de muco bronquial e o aumento da permeabilidade vascular, sendo considerados mediadores importantes dos processos alérgicos^{40,41}.

O emprego de técnicas de modelagem molecular permitiu que fossem calculadas superfícies de energia potencial (parciais) utilizando o Hamiltoniano AM1⁴²⁻⁴⁵ para vários derivados de pirazolinóis (1-2) e de indazolinonas (3-7), descritos como inibidores de COx e 5-LO. Foram também estudados alguns derivados de 5-tioaril-N-fenil-pirazóis (8a-g) sintetizados no LASSBio⁴⁶ que, embora estruturalmente relacionados com compostos anti-edematogênicos da classe dos 5-amilamino-N-fenil-pirazóis, não apresentaram atividade anti-inflamatória significativa. Estes estudos visaram a identificação de propriedades estereoeletrônicas, dependentes das estruturas, que pudessem estar relacionadas à atividade inibitória. A partir dos resultados e considerando o mecanismo molecular de ação correntemente aceito para este tipo de atividade farmacológica, foi possível propor novos inibidores mais seletivos da enzima 5-LO⁴²⁻⁴⁵.

A 5-LO é uma enzima ferro-não-heme dependente, encontrada primariamente em PMN e eosinófilos. Como dito acima, esta enzima catalisa a bioformação dos leucotrienos a partir do ácido araquidônico (Fig. 1), estando envolvida, portanto, nos eventos inflamatórios^{40,47}. O mecanismo de ação de lipoxigenases proposto por Musser & Kreft⁴⁸, Chasteen *et al.*⁴⁹ e Schilstra *et al.*⁵⁰ foi adotado em nossos estudos. Estes autores consideram a participação de um ciclo redox Fe(II)/Fe(III) neste mecanismo oxidativo.

Cucurou *et al.*⁴⁷ indicaram que no caso da inibição da lipoxigenase-1 de soja (L-1), os inibidores BW755c (1) e fenidona (2) são oxidados a um cátion-radical que seria a espécie ativa na inibição da atividade enzimática. A etapa determinante do processo parece ser a oxidação enzimática do átomo de nitrogênio heterocíclico (N1), destes inibidores (1-7), pelo Fe(III)⁴⁸. A Figura 2 ilustra o mecanismo proposto. O processo de inativação de L-1 inicia-se com a oxidação da fenidona a um cátion-radical (F⁺)⁵¹. Este cátion-radical (F⁺) ou outras espécies radiculares (F[•]) geradas pela atividade peroxidase de L-1 parecem estar envolvidos na inativação irreversível de lipoxigenases, entre elas a L-1 (Fig. 2).

Ensaio com agentes redutores tais como o ácido ascórbico e derivados de tióis (glutathione=GSH; etanotiol=RSH) foram realizados⁴⁷, objetivando analisar o papel das espécies radiculares no processo de inativação de L-1. Os resultados demonstraram que ocorre redução dos derivados radiculares (F[•] ou F⁺) à forma neutra (F) (Fig. 2). Entretanto, a ação nucleofílica do ácido ascórbico e dos tióis não foi observada com os metabólitos eletrofílicos da fenidona já que estudos com fenidona [¹⁴C] não revelaram a presença de adutos marcados⁴⁷.

A oxidação posterior de F[•] ou F⁺ a 1-fenil-1H-pirazol-3-ol poderia ocorrer através de diferentes reações (Fig. 2). Primeiramente, por dismutação, gerando fenidona e seu derivado desidrogenado (Fig. 2, via a)⁴². Em segundo lugar, a oxidação pela L-1 poderia levar a desidro-fenidona via carbocátion ou íon imônio, F⁺ (Fig. 2, via b). Esta espécie poderia formar ligação covalente com a proteína por reação com um resíduo nucleofílico de um amino-ácido. Esta hipótese tem suporte experimental na correlação linear observada entre a formação de ligação covalente e a inativação da lipoxigenase⁴⁷. O papel do oxigênio na inativação da L-1 sugere, finalmente, a possibilidade de oxidação do cátion-radical (F⁺) a desidro-fenidona e O₂^{•-} (via c). Esta última espécie (O₂^{•-}) poderia ser responsável pela inativação da L-1 por um mecanismo relacionado à oxidação da metionina (Fig. 2).

Na tabela 1 estão descritos os dados físico-químicos mais relevantes, calculados por AM1, assim como as atividades

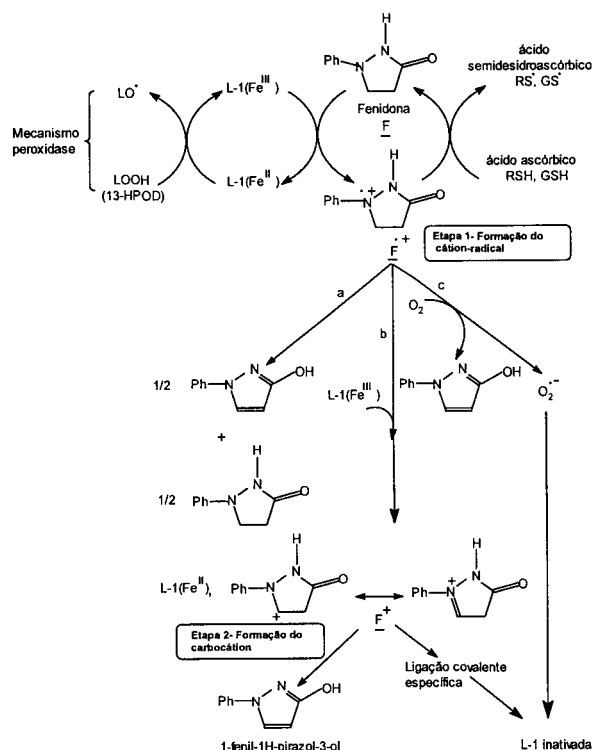


Figura 2. Possível mecanismo molecular da inativação da Lipoxigenase de soja (L-1) por 7 e 8 proposto por Cucurou et al.⁴⁷

farmacológicas destes derivados. Os compostos 1-7 (Fig. 3, Tabela 1) são inibidores⁵² de COx e 5-LO, sendo o derivado IC1207968 (7)⁵² o mais seletivo a nível de 5-LO. Os compostos 8a-g (Fig. 3, Tabela 1) foram sintetizados no LASSBio⁴⁶ como prováveis bioisómeros com atividade antiinflamatória,

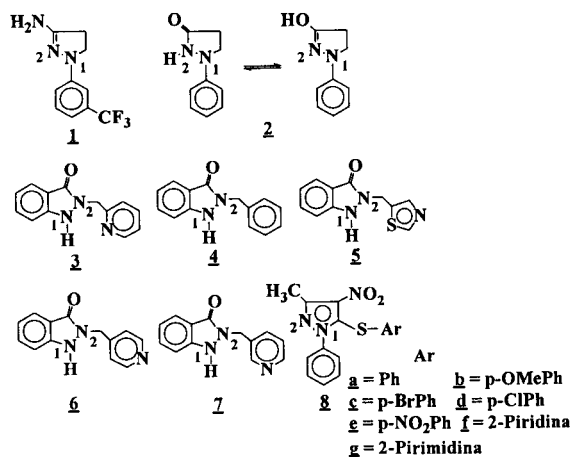


Figura 3. Inibidores de 5-LO e COx (1-7 e 8a-g).

apresentando, entretanto, fraca atividade. Os dados da tabela 1 não evidenciaram qualquer relação entre os momentos de dipolo ou os potenciais de ionização e a atividade inibitória. Entretanto, as densidades eletrônicas (DE) sobre N1 são muito diferentes para os compostos ativos e inativos. Esta diferença sugere que altas densidades eletrônicas são desejáveis para a atividade.

As densidades eletrônicas de 8a-g parecem insuficientes para participarem do ciclo redox inibitório. Estes resultados suportam a hipótese mecanística mencionada anteriormente e justificam a fraca atividade observada para os derivados sintéticos da série 8. Os dados da tabela 1 sugerem, também, que as DEs sobre N2 também são muito baixas para participarem do ciclo redox. A análise dos dados mostra que existe inversão de atividade através da 5-LO e COx para os compostos 2 (DE N₁=0,54) e 3 (DE N₁=0,51), o que parece sugerir que valores menores de DE (3-7) estão associados com maior seletividade para 5-LO.

Tabela 1. Densidade eletrônica no HOMO (DE_{HOMO}), momento de dipolo (μ) e potencial de ionização (PI) calculados por AM1 e atividade observada para os compostos 1-8:

	DE _{HOMO}		μ (D)	PI (eV)	IC ₅₀ (μ M) (<i>in vitro</i>) ^c		
	N(1)	N(2)			LO	COx	LO/COx
1	0,60	0,20	5,0	8,5	20,00	5	4:1
2 ^a	0,58	0,12	1,9	8,4	10,00	3	3:1
2 ^b	0,54	0,32	3,8	9,1	10,00	3	3:1
3	0,51	0,27	4,0	8,8	0,27	13	1:50
4	0,49	0,31	4,1	9,0	0,36	18	1:50
5	0,49	0,29	3,1	9,1	1,80	> 100	1:50
6	0,47	0,30	2,9	9,1	2,40	280	1:100
7	0,45	0,34	2,7	9,2	1,50	> 300	1:200
8a ^d	0,09	0,16	7,5	8,7	-	-	-
8b	0,08	0,16	4,5	8,8	-	-	-
8c	0,05	0,07	5,5	9,0	-	-	-
8d	0,03	0,02	6,0	8,7	-	-	-
8e	0,04	0,07	8,9	9,2	-	-	-
8f	0,05	0,10	5,7	8,7	-	-	-
8g	0,06	0,12	5,0	8,9	-	-	-

^aForma enol ^bForma cetona ^cInibição de leucotrieno B₄ (inibição de 5-LO) e prostaglandina E₂ (inibição de COx)⁵² ^dResultados farmacológicos não publicados

Como uma extensão desta hipótese, uma série de derivados triazólicos (**9a-f**) com as características estruturais mínimas necessárias à atividade desejada foram planejados, considerando o perfil farmacológico procurado⁴². Estes compostos, derivados do di-hidro-1,2,3-triazol (**9a-f**) (Fig. 4, Tabela 2), são análogos estruturais do BW755c (**1**)⁴⁷ e da fenidona (**2**) e possuem um segundo anel fenila de forma a potencializar suas propriedades hidrofóbicas e, em consequência, aumentar a seletividade frente à 5-LO⁵³.

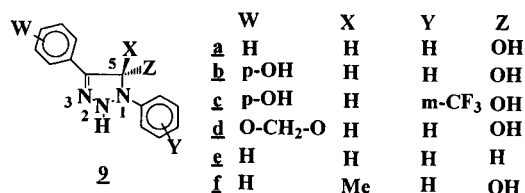


Figura 4. Inibidores propostos **9a-f** para a 5-LO (derivados 1,2,3-triazólicos).

Tabela 2. Densidade eletrônica do HOMO (DE_{HOMO}), momento de dipolo (μ) e potencial de ionização (PI) calculados por AM1 para os compostos **9a-f**:

	DE _{HOMO}			μ (D)	PI (eV)
	N(1)	N(2)	N(3)		
9a	0,41	0,26	0,06	2,8	8,9
9b	0,35	0,28	0,09	1,0	8,7
9c	0,06	0,26	0,20	1,1	8,9
9d	0,06	0,22	0,07	2,8	8,8
9e	0,43	0,27	0,13	3,3	8,8
9f	0,45	0,20	0,07	2,4	8,8

O padrão de substituição em C5 foi concebido de forma a permitir estudos mecanísticos. A tabela 2 descreve os resultados obtidos para estes compostos pelo método AM1. Considerando a hipótese descrita acima, que correlaciona a atividade com a densidade eletrônica, espera-se que os derivados **9a**, **9e** e **9f** se comportem como o composto **7**, inibindo seletivamente a enzima 5-LO. Espera-se, por outro lado, que os compostos **9c** e **9d** sejam inativos.

Foi proposto, ainda, uma segunda série de derivados heterocíclicos baseada nos mesmos critérios farmacológicos, os derivados **10a-h** (Fig. 5, Tabela 3)⁴⁵. A tabela 3 contém resultados obtidos pelo método AM1. Como os compostos **8a-g** (Tabela 1), as DEs sobre N1 destes derivados são muito baixas, impedindo a participação no ciclo redox Fe(II)/Fe(III). Entretanto, algumas densidades eletrônicas sobre N2 tem os valores desejados, o que permite antecipar que o composto **10e** deve agir como um inibidor de ambas as enzimas 5-LO e COx, sendo seletivo frente a 5-LO. O composto **10a**, no qual observou-se uma baixa densidade eletrônica sobre N2, deve ser ativo em relação a 5-LO mas inativo em relação a enzima COx.

Os resultados obtidos nestes estudos⁴⁷ antecipam a hipótese de que a modulação da carga residual sobre o átomo de nitrogênio heteroaromático pode determinar as propriedades inibidoras sobre COx/5-LO, permitindo o planejamento de inibidores seletivos de 5-LO. Outrossim, a conjugação de propriedades hidrofóbicas adequadas, determinará o perfil farmacocinético que as novas substâncias poderão apresentar, viabilizando sua avaliação farmacológica *in vivo*.

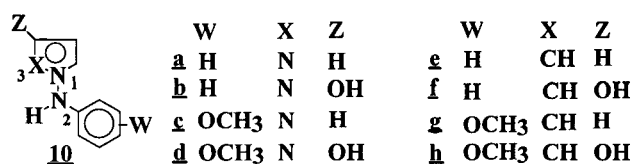


Figura 5. Inibidores propostos **10a-h** para a 5-LO (derivados pirrólicos e pirazólicos).

Tabela 3. Densidade eletrônica do HOMO (DE_{HOMO}), momento de dipolo (μ) e potencial de ionização (PI) calculados por AM1 para os compostos **10a-h**:

	DE _{HOMO}			μ (D)	PI (eV)
	N(1)	N(2)	X(3)		
10a	0,04	0,33	0,02	1,1	9,3
10b	0,24	0,19	0,07	2,2	9,3
10c	0,03	0,19	0,02	1,6	8,9
10d	0,05	0,17	0,02	3,2	8,9
10e	0,12	0,43	-	3,7	9,1
10f	0,13	0,02	-	1,3	8,5
10g	0,03	0,02	-	1,7	8,7
10h	0,12	0,02	-	2,2	8,5

Estudo Teórico da Tromboxana A₂: Proposta de uma Conformação Bioativa

Como mencionado anteriormente, a cicloxigenase (COx), também conhecida como prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS), é responsável pela ciclicização-oxidativa do ácido araquidônico (AA, **11**) a endoperóxido de prostaglandina H₂ (PGH₂, **12**), que é isomerizado pela tromboxana sintase (TXS) à tromboxana A₂ (TXA₂, **13**), uma substância com meia vida de 3 minutos nas condições fisiológicas e que se transforma em tromboxana B₂ (TXB₂, **14**), um metabólito estável com perfil biológico³⁵ distinto (Fig. 6).

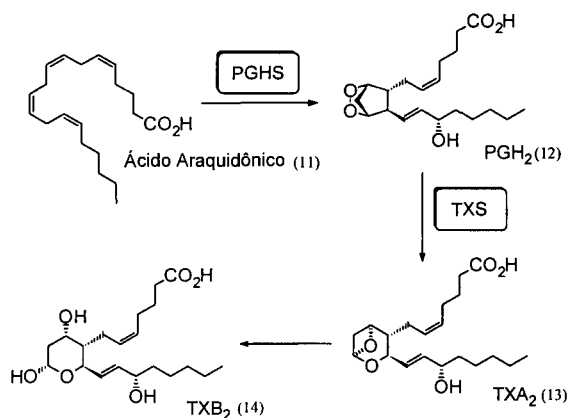


Figura 6. Bioformação da TXA₂ (**13**) e da TXB₂ (**14**) a partir do ácido araquidônico (**11**).

A TXA₂ (**13**) é um vasoconstritor potente no sistema cardiovascular e um indutor potente da agregação plaquetária e da reação de liberação plaquetária no sistema sanguíneo, atuando a nível de receptores específicos. O PGH₂ (**12**) possui um perfil farmacológico semelhante ao da TXA₂ (**13**) com

propriedades agonísticas no receptor de TXA_2 .³⁵ Nestes sistemas biológicos a TXB_2 (**14**) é inativa. O receptor de TXA_2 (TP) é comumente referido como receptor de TXA_2 e PGH_2 , uma vez que estes icosanóides produzem efeitos biológicos semelhantes. De fato, análogos estáveis do endoperóxido natural PGH_2 (**12**), tais como U-46609 (**15**) e U-46619 (**16**) (Fig. 7), mimetizam os efeitos da TXA_2 (**13**).

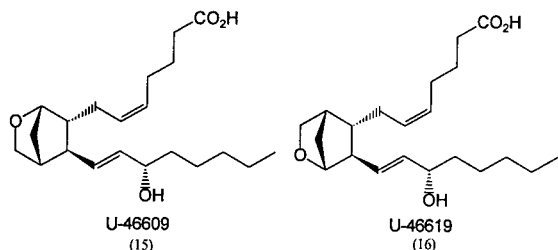


Figura 7. Estrutura dos prostanóides U-46609 (**15**) e U-46619 (**16**), análogos estáveis de PGH_2 (**12**) e TXA_2 (**13**).

Recentemente, a seqüência de aminoácidos do receptor TP humano foi deduzida a partir da seqüência de nucleotídeos do clone de cDNA que o codifica, utilizando-se tecido de placenta humana e de um clone parcial, obtido a partir de uma cultura de células leucêmicas megacariocíticas humanas⁵⁵. Acredita-se que o receptor TP pertença à família de receptores acoplados à proteína-G (GPCR) por apresentar sete domínios transmembrânicos, uma característica dos GPCR, e uma significativa homologia seqüencial com o receptor de rodopsina, um membro desta família^{55,56}.

Estes conhecimentos permitiram que o receptor de TXA_2 fosse modelado⁵⁶ por mecânica molecular, com base em sua seqüência de aminoácidos e na estrutura tridimensional da bacteriorodopsina, obtida por criomicroscopia eletrônica. Esta enzima também contém sete segmentos transmembrânicos, mas como apresenta pouca homologia seqüencial com a rodopsina⁵⁶, o modelo gerado deve ser usado com cautela, na falta da estrutura cristalográfica.

O sítio do receptor assim modelado apresenta dois resíduos de aminoácidos, Arg295 e Ser201, separados por uma região hidrofóbica. A Arg295 parece interagir com a carboxila terminal da TXA_2 (**13**). De fato, o ajuste da TXA_2 (**13**) ao receptor modelado permite identificar as interações entre o grupamento ácido carboxílico terminal da TXA_2 (**13**) e o resíduo de Arg295, e entre a hidroxila alílica em C-15 e o resíduo de Ser201. Estes estudos, porém, não indicaram nenhuma interação envolvendo os átomos de oxigênio do sistema bis-oxabicyclo[3.1.1]heptano e outros resíduos de aminoácido do receptor (Fig. 8).

A estrutura da TXB_2 (**14**) (Fig. 6), o metabólito estável da TXA_2 (**13**) que não possui propriedades agregantes plaquetárias, determinada por difração de raios-X⁵⁷, mostrou duas formas de cristalização, denominadas α e β (Fig. 9, a e b) de conformação semelhante, exceto quanto à orientação das cadeias α ⁵⁸, com a função ácido carboxílico terminal orientada em direções opostas. Neste estudo, foi sugerido que a estrutura da TXB_2 (**14**) pode ser comparada com a da TXA_2 (**13**) porque, apesar da TXB_2 (**14**) ser inativa a nível das plaquetas, a preferência de ligação dos anéis endocíclicos são suficientemente diferentes para assegurar um reconhecimento molecular distinto entre estes dois prostanóides⁵⁷.

O estudo de diversos agonistas e antagonistas do receptor de TXA_2 (**13**) por FTIR em solução diluída de CCl_4 , mostrou a formação de ligação de hidrogênio intramolecular em muitos deles^{59,60}. Por exemplo, o composto U-46619 (**16**) (Fig. 7), um conhecido eficiente agonista do receptor TP, apresenta 80% das suas moléculas na conformação estabilizada por ligação

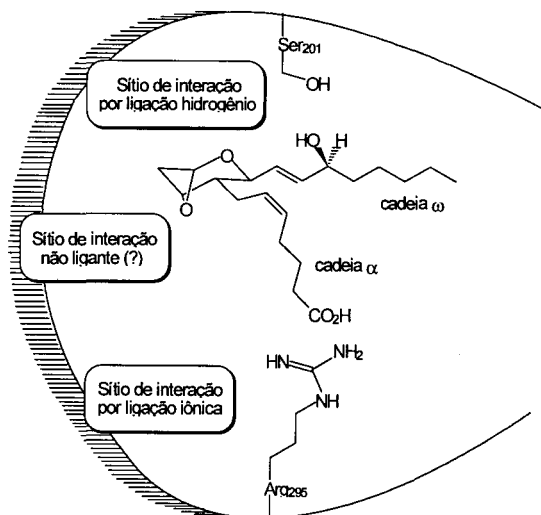


Figura 8. Representação esquemática do sítio receptor da tromboxana A_2 (TXA_2 , **13**), a partir do receptor TP modelado por Yamamoto et al.⁵⁶, demonstrando a interação entre o receptor TP e a TXA_2 (**13**).

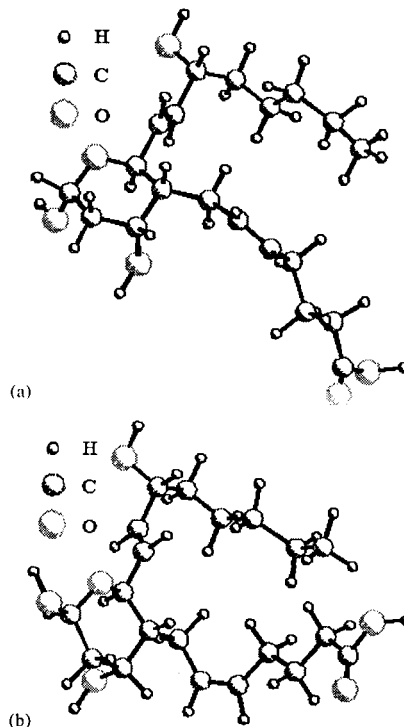


Figura 9. Estruturas cristalográficas α (a) e β (b) da TXB_2 (**14**)⁵⁷.

de hidrogênio intramolecular entre a carboxila e a hidroxila, formando um macrociclo de quinze membros, relativamente rígido⁵⁹. Nestes estudos, o CCl_4 foi usado como solvente porque sua constante dielétrica ($\epsilon=2,23$ a $25^\circ C$) é semelhante à encontrada no interior das proteínas. Os autores concluíram que embora a conformação predominante não deva ser a bioativa, porque compromete a função carboxila, considerada um farmacoforo importante para as atividades agonista e antagonista, esta não deve diferir muito daquela determinada em CCl_4 ^{59,60}. Este tipo de argumento não considera, entretanto, que o microambiente em que o agonista ou o antagonista interagem no receptor, isto é, o sítio receptor, é formado por resíduos de aminoácidos diversos, que podem inclusive atuar como doadores ou aceptores em ligações de hidrogênio, alterando a conformação da molécula. Este microambiente, portanto, não é

perfeitamente mimetizado por um solvente apolar incapaz de interagir com a molécula por ligações hidrogênio.

Pelo contrário, é razoável supor que compostos contendo, simultaneamente, grupos doadores e aceptores de hidrogênio, diluídos em solventes apolares, formem, preferencialmente, ligações hidrogênio intramoleculares, desde que a geometria molecular o permita, e o fator entrópico não seja desfavorável. De qualquer forma, como salientado no próprio trabalho^{59,60}, o estudo conformacional da TXA₂ (13) em solução diluída de CCl₄ pode ser útil como subsídio para a modelagem da conformação através de cálculos teóricos, usualmente realizados com a molécula isolada, simulando o vácuo ($\epsilon=1$)^{59,60}.

Ezumi *et al.*⁶¹ também estudaram por mecânica molecular e orbitais moleculares (MNDO) a TXA₂ (13) e o composto U-46619 (16) dentre outros compostos, e assumiram que a conformação bioativa não deve diferir muito das conformações mais estáveis no estado gasoso. Estes autores propuseram duas conformações bioativas para estes dois prostanóides, uma envolvendo ligação hidrogênio intramolecular, semelhante à encontrada em CCl₄, e outra, mantendo basicamente a geometria anterior, porém, com a carboxila do ácido terminal e a hidroxila em C-15, opostamente orientadas⁶¹.

Recentemente, foi proposto por mecânica molecular e orbitais moleculares um modelo espacial do sítio farmacofórico do receptor de tromboxana A₂⁶², com base no estudo das conformações mais estáveis de cinco conhecidos antagonistas de receptor de TXA₂.

Nossos resultados sobre a análise conformacional da TXA₂ (13) pelo método AM1^{44,45,63,64} conseguiram classificar as conformações obtidas para a TXA₂ (13) em dois grupos distintos. Um, representado pela conformação 1 (Fig. 10, a), onde ocorre formação de ligação hidrogênio intramolecular, como no caso do análogo U-46619 (16)^{59,61}, e o outro, representado pela conformação 2 (Fig. 10, b), na qual as cadeias α e ω ⁵⁸ estão relativamente afastadas e, tanto a carboxila do ácido terminal como a hidroxila em C-15 estão orientadas em direções opostas, porém distintas daquelas propostas por Ezumi *et al.*⁶¹.

Estes resultados foram obtidos a partir de um estudo de sobreposição molecular, no qual foram considerados o átomo

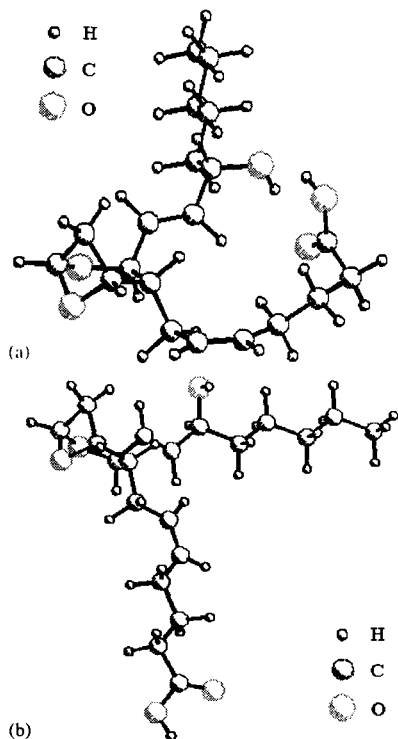


Figura 10. Conformações 1 (a) e 2 (b) da TXA₂ (13) obtidas por AM1⁴⁵.

de carbono C-1 da carboxila terminal, um dos átomos de oxigênio do anel endoperóxido ligado em C-9, e o átomo de oxigênio da hidroxila em C-15 da estrutura da TXA₂ (13) (Fig. 6), para a sobreposição dos pares de conformações em análise.

As conformações 1 e 2 da TXA₂ (13), selecionadas por representarem conformações distintas, foram sobrepostas, então, às conformações α e β da TXB₂ (14) obtidas por difração de raios-X⁵⁷. As sobreposições da conformação α da TXB₂ (14) com as conformações 1 e 2 da TXA₂ (13) apresentaram desvios médios de 3,3 e 0,8 Å, respectivamente, enquanto que as sobreposições da conformação β da TXB₂ (14) com as conformações 1 e 2 da TXA₂ (13) apresentaram, desvios médios de 2,7 e 0,6 Å, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Sobreposição das conformações α e β da TXB₂ (14) (por raios-X⁵⁷) com as conformações 1 e 2 da TXA₂ (13) (por AM1⁴⁵), relacionando os desvios médios obtidos pelo pareamento de três átomos de cada estrutura:

Conformações sobrepostas		Desvio médio (Å) da distância entre 3 pares de átomos
TXB ₂	TXA ₂	
a	1	3,3
a	2	0,8
b	1	2,7
b	2	0,6

Assim, as sobreposições obtidas com os melhores níveis de similaridade conformacional, ocorreram entre as conformações α ou β da TXB₂ (14) e a conformação 2 da TXA₂ (13). Cabe ressaltar que a TXB₂ (14) não apresenta atividade a nível de receptor de TXA₂ (13) e, portanto, a melhor sobreposição poderia ser desfavorável para a conformação 2 da TXA₂ (13). Entretanto, observando-se melhor a estrutura da TXB₂, pode-se notar que o sistema oxacíclico apresenta duas hidroxilas, conferindo elevada hidrofília a esta região da molécula, distintamente ao que ocorre na TXA₂ (13). Como consequência, este autacóide não deve ser reconhecido pelo receptor TP, muito provavelmente, devido a esta diferença de caráter lipofílico ao nível da sub-unidade estrutural complementar ao sítio hidrofóbico estereo-exigente do receptor TP⁶² e não porque apresentaria uma conformação inadequada.

Os resultados destes estudos indicam que a conformação 2 pode representar a conformação bioativa da TXA₂ (13), possuindo como referência, uma conformação similar da TXB₂ (14), no estado sólido, podendo ser então utilizada como modelo farmacofórico no planejamento de novos antagonistas de receptor TP^{45,63}.

Estudos de Nova Classe de Antagonistas do PAF Baseados no Sistema Protótipo Biciclo[3.3.0]-2-oxaocetano, como Isótero Cíclico

O fator de ativação plaquetária (PAF, 17) é um mediador celular que foi inicialmente identificado como um estimulante da agregação plaquetária⁶⁵ e como agente hipotensivo⁶⁶. Posteriormente, foi reconhecido como ativador dos leucócitos polimorfonucleares, monócitos e macrófagos⁶⁷ e como estimulante do aumento da permeabilidade vascular⁶⁸, da broncoconstrição e do choque circulatório⁶⁹. Estes efeitos fisiológicos estão relacionados a uma série de estados patológicos, tais como a asma, isquemias cerebral, renal e do miocárdio, ulceração gástrica, psoríase e choque endotóxico⁶⁹.

O composto 17 é um fosfolípídeo de estrutura geral 1-O-alkuil-2-acetil-*sn*-gliceril-3-fosfocolina⁷⁰ (Fig. 11), possuindo predominantemente, nos neutrófilos humanos, grupamentos

O-alkila lineares com 16 e 18 átomos de carbono⁷¹. O (*R*)-enantiômero é consideravelmente mais ativo do que o (*S*)⁷¹. Sua bioformação ocorre na membrana celular em consequência de diversos estímulos físicos e químicos externos.

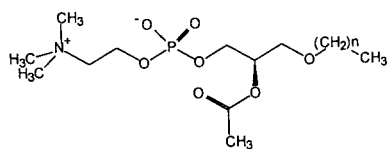


Figura 11. Estrutura do PAF (17), $n = 15$ ou 17.

Receptores específicos presentes na membrana citoplasmática de células-alvo, incluindo plaquetas, macrófagos, neutrófilos, leucócitos, eosinófilos, entre outros, atuam como mediadores das ações de 17⁷². Após a clonagem e a determinação de sua sequência primária, o receptor do PAF (PAFr) foi identificado como membro da família dos *receptores celulares acoplados a proteínas G*⁷³. Todavia, sua estrutura tridimensional permanece desconhecida.

Tentativas foram feitas para modelar o PAFr^{74,75}, mas os modelos resultantes ainda são muito imprecisos para explicar as sutis exigências estruturais que resultam em elevada afinidade de seus agonistas e antagonistas⁷⁶. Um modelo mais específico de receptor⁷⁶ foi desenvolvido usando a técnica de Monte Carlo "Salto de Boltzmann" para explicar a *binding* da classe de antagonistas heterocíclicos de nitrogênio-*sp*².

Mais recentemente foi proposto, por Bures *et al.*⁷⁷, um mapa farmacofórico (Fig. 12) para antagonistas do PAF (PAFant), desenvolvido a partir da estrutura tridimensional de cinco antagonistas potentes conhecidos de 17, de acordo com o conceito de Farmer de um ligante com três sítios para uma alta afinidade antagonista-receptor⁶².

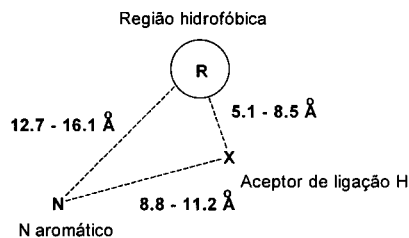


Figura 12. Mapa farmacofórico para antagonistas do PAF⁷⁷.

A primeira classe desenvolvida de PAFant foi a dos antagonistas com nitrogênio quaternário, estruturalmente relacionados a 17⁶⁹, representados esquematicamente na Fig. 13.

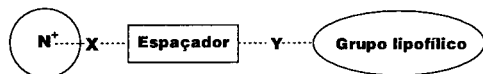


Figura 13. Representação esquemática dos antagonistas do PAF denitrogênio quaternário: X representa um isómero de fosfato e Y representa um isómero de éster⁶⁹.

No âmbito dos interesses de pesquisas do LASSBio, particularmente a descoberta de novos compostos protótipos úteis no tratamento de patologias trombóticas, decidimos desenvolver uma nova classe de derivados PAFant possuindo o sistema biciclo[3.3.0]-2-oxaocetano (18a-d) como análogos estruturais de 17 conformacionalmente restritos (Fig. 14)⁷⁸⁻⁸¹. Estas estruturas foram propostas supondo-se que a interação antagonista-PAFr é

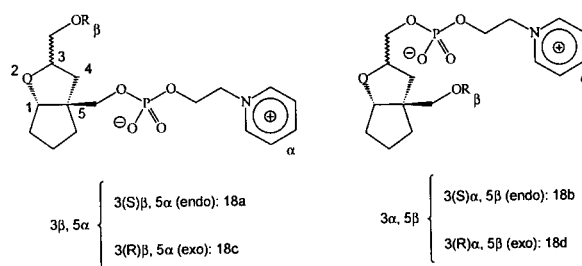


Figura 14. Estruturas diastereoisoméricas dos antagonistas (18a-d) de 17 propostos como análogos conformacionalmente restritos, baseados no biciclo[3.3.0]-2-oxaocetano.

principalmente de natureza entrópica, como tem sido sugerido para outros sistemas^{82,83}. A redução da flexibilidade molecular apresentada pelo sistema bicíclico em relação ao esqueleto de glicerol de 17 resultaria em uma menor penalidade entrópica paga pelo antagonista ao se ligar ao receptor, compensando, pelo menos em parte, uma variação menos favorável na entalpia do processo⁸⁴.

Os estudos de modelagem molecular destas substâncias visaram definir, dentre os diastereoisomêros passíveis de síntese a partir do biciclo[3.3.0]-2-oxaocetano (*i.e.* 18a-d), o isômero com maior similaridade estrutural com o agonista. Os cálculos foram executados com o Hamiltoniano AM1 do programa de orbitais moleculares semi-empíricos MOPAC 6.0⁸⁵ em uma estação de trabalho IBM RISC System/6000⁷⁸⁻⁷⁹. Como as estruturas descritas são compostas das mesmas unidades básicas, empregamos como estratégia para economizar tempo de máquina a subdivisão das estruturas previamente otimizadas em 3 fragmentos (Fig. 15). Cada ângulo de torção do fragmento B foi varrido isoladamente entre 0° e 360° por incrementos de 20°. As estruturas de energia mínima encontradas nestas superfícies parciais de energia potencial (SEP) foram totalmente caracterizadas por suas matrizes de Hess.

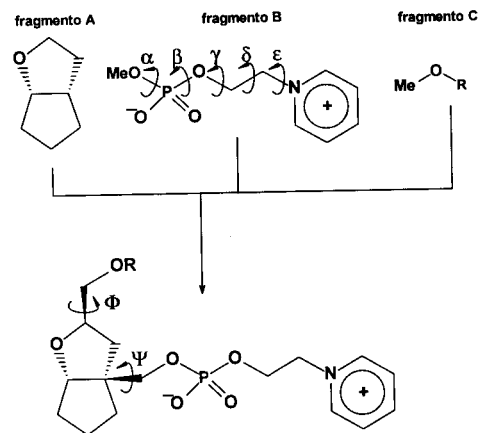


Figura 15. Representação esquemática do procedimento de modelagem molecular usado para definir as estruturas de energia mínima. Os ângulos diedros em destaque foram avaliados conforme descrito no texto. A estrutura recomposta representada corresponde ao diastereoisômero 18c.

Os fragmentos de menor energia assim identificados foram recompostos nas estruturas originais (18a-d) e os ângulos ao redor das ligações de junção foram avaliados independentemente entre 0° e 360° por incrementos de 30°. Uma completa relaxação da geometria foi permitida nesta etapa e não foi observada nenhuma alteração significativa nos valores iniciais dos ângulos de torção previamente pesquisados. As estruturas

de menor energia assim obtidas foram completamente reotimizadas (método BFGS⁸⁶⁻⁸⁹) adotando-se uma norma de gradiente menor do que 0.1 kcal/(Å ou rad). Estas estruturas foram inequivocamente caracterizadas como mínimos de energia pela análise de suas respectivas matrizes de Hess.

Inicialmente, examinamos os derivados metílicos dos antagonistas propostos (**18a-d**, R=CH₃). Para se avaliar as estruturas obtidas, utilizamos o mapa farmacofórico desenvolvido por Bures *et al.*⁷⁷ para antagonistas de **17** (Fig. 12). Para comparação das estruturas **18** com o mapa da Fig. 12, escolhemos o grupamento metila como o equivalente da “região hidrofóbica” do sítio receptor; o átomo de oxigênio do sistema bicíclico como o aceptor de ligação hidrogênio, e o átomo de nitrogênio piridínico como o N-aromático. Apesar dos átomos de nitrogênio das estruturas dos antagonistas envolvidos na geração do mapa farmacofórico não possuírem carga positiva permanente, como nos antagonistas que propusemos, Bures *et al.* sugerem que estes átomos podem estar na forma protonada ao interagir com o receptor⁷⁷. Os resultados obtidos para (**18a-d**, R=CH₃) encontram-se resumidos na tabela 5, juntamente com os calores de formação calculados (ΔH_f).

Tabela 5. Dados de distância e calor de formação (ΔH_f) para os derivados metílicos dos antagonistas propostos (**18a-d**, R=Me). Para definição do código dos antagonistas, veja a Fig. 14. N-R representa a distância N aromático-região hidrofóbica, X-R, a distância aceptor de ligação H-região hidrofóbica e N-X, a distância N aromático-acceptor de ligação H. Os números em negrito estão de acordo com o modelo⁷⁷.

Estrutura	18a	18b	18c	18d
N - R (Å)	11,8	9,3	7,2	7,5
X - R (Å)	3,1	5,7	4,4	5,3
N - X (Å)	9,3	8,1	8,9	8,4
ΔH_f (kcal/mol)	-289,5	-287,5	-290,54	-289,84

A análise da tabela 5 indica que as quatro estruturas têm energias semelhantes, o que sugere que estas são principalmente dependentes de interações de curta distância. Pode-se observar que nenhum dos derivados metilados dos antagonistas propostos **18a-d** encaixa-se completamente no mapa farmacofórico. No caso dos derivados **18b** e **18d**, a substituição da cadeia a na posição 3 do sistema bicíclico coloca o átomo de nitrogênio aromático muito próximo do aceptor de ligação hidrogênio. Por outro lado, as dificuldades do ajuste das estruturas **18a** e **18c** ao mapa localizam-se em ambas as distâncias que envolvem a “região hidrofóbica”. Como estas

distâncias podem, em princípio, ser otimizadas pelo aumento da cadeia alquílica, decidimos avaliar o efeito da presença de cadeias mais longas nas estruturas **18a** e **18c**, buscando maximizar seus padrões de ajuste ao modelo farmacofórico.

As conformações mais estendidas de quatro diferentes cadeias alquílicas (alila, propila, butila e hexila) foram substituídas no fragmento C. Após otimização, estes novos fragmentos foram ancorados aos fragmentos A e B e o ângulo de torção das ligações de junção avaliado como antes. As estruturas de menor energia tiveram suas geometrias otimizadas e caracterizadas de acordo com os critérios adotados anteriormente. Os resultados encontram-se na tabela 6. As distâncias entre o nitrogênio aromático e o aceptor de ligação de hidrogênio, naturalmente, permanecem de acordo com o modelo. Duas referências diferentes podem agora ser adotadas para se avaliar as distâncias que envolvem a cadeia alquílica: o seu limite superior (adotando o átomo de carbono mais distante) ou o seu “centro de massa” (adotando a distância média entre os átomos de carbono mais próximo e mais distante). Adotando-se como referência o “centro de massa” da cadeia alquílica, o derivado hexílico (**18a**, R=hex) se encaixa ao modelo. Nos derivados **18c**, a configuração relativa *cis* das cadeias α e β coloca o nitrogênio aromático e a região hidrofóbica próximos demais, prejudicando seu ajuste ao modelo farmacofórico.

Quando consideramos para comparação o limite superior da cadeia alquílica, os derivados **18c** também não se ajustam ao mapa farmacofórico, mas, agora, praticamente todos os derivados **18a** se ajustam. A distância entre o aceptor de ligação hidrogênio e a região hidrofóbica do derivado alílico de **18a** está ligeiramente abaixo do valor mínimo (5,1 Å) correspondente no mapa; no derivado hexílico, esta distância é maior (10,69 Å) do que o valor máximo correspondente do mapa (8,5 Å), mas esta distância reflete apenas o limite superior das estruturas modeladas. O PAFr deve provavelmente aceitar cadeias alquílicas maiores, já que a “região hidrofóbica” presente em **17** é bastante longa.

Estes resultados subsidiaram a síntese de derivados estruturalmente relacionados com **18a**, ora em andamento no LASSBio⁹⁰.

CONCLUSÕES

O uso integrado de conhecimentos teóricos e experimentais, multidisciplinares, no estudo de problemas de interesse biológico incluiu, recentemente, a modelagem molecular assistida por computadores (CAMM “computer-assisted molecular modeling” ou CADD “computer-aided drug design”, Fig. 16). Metodologias tais como 3D-QSAR⁹¹, técnicas de química combinatória^{92,93}, esta representando fontes de *novos* de estruturas-protótipo de um ligante enzimático seletivo e antagonistas/

Tabela 6. Dados de distância e calor de formação (ΔH_f) para os derivados de cadeia longa dos antagonistas propostos (**18a** e **18c**). Para definição do código dos antagonistas, veja a Fig. 14. N-R representa a distância N aromático-região hidrofóbica, X-R, a distância aceptor de ligação H-região hidrofóbica e N-X, a distância N aromático-acceptor de ligação H. CM representa centro de massa e LS, o limite superior. Os números em negrito estão de acordo com o modelo⁷⁷.

R	alila		propila		butila		hexila	
	18a	18c	18a	18c	18a	18c	18a	18c
distância	18a	18c	18a	18c	18a	18c	18a	18c
N-R (CM)	12,89	7,45	12,92	7,52	13,50	7,74	14,64	8,51
N-R (LS)	13,94	7,77	13,99	7,86	15,17	8,33	17,44	9,81
X-R (CM)	3,97	5,67	4,09	5,68	4,78	6,34	5,95	7,57
X-R (LS)	4,96	6,89	5,10	6,90	6,50	8,24	8,83	10,69
N-X	9,34	8,86	9,25	8,87	9,24	8,88	9,25	8,88
ΔH_f (kcal/mol)	-269,3	-271,4	-301,9	-302,9	-308,7	-309,7	-322,4	-323,4

agonistas de bioreceptores, dentre outras técnicas computacionais, representam estratégias modernas, essenciais ao planejamento racional de fármacos baseados na estrutura⁹⁴. Estas novas metodologias são capazes de viabilizar a descoberta racional de drogas, baseada no paradigma de similaridade e complementaridade molecular, hoje empregado universalmente em laboratórios de pesquisa das indústrias farmacêuticas para acesso a novos fármacos eficientes, seletivos e de uso mais seguro.

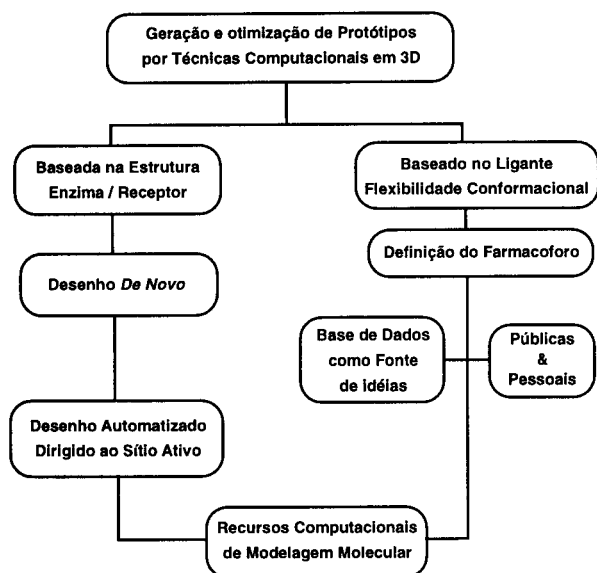


Figura 16. Geração de compostos-protótipos por técnicas de modelagem molecular.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as bolsas de pós-graduação de CRR (e-mail: rangel@aix143.iq.ufrj.br), MGA (e-mail: magaly@aix143.iq.ufrj.br) e CMRS (e-mail: mauricio@aix143.iq.ufrj.br) e de pesquisa de EJB (e-mail: eliezer_b@unikey.com.br) e RBA (e-mail: bicca@iq.ufrj.br) das agências financiadoras CNPq e CAPES. As correspondências podem ser enviadas para Eliezer J. Barreiro, Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), Faculdade de Farmácia, UFRJ. CP: 68006, CEP: 21944-390, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Fax (021) 260-2299, (021) 280-1784, ramal: 220.

REFERÊNCIAS

- Este trabalho é a contribuição número 15 do LASSBio, UFRJ.
- Cohen, N. C., Blaney, J. M., Humblet, C., Gund, P. & Barry, D. C.; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 883.
- Silverman, R. B.; *The organic chemistry of drug design and drug action*. Academic Press, San Diego, 1992.
- Eliel, E. L., Wien, S. H. & Mander, L. N.; *Stereochemistry of organic compounds*. Wiley-Interscience, New York, 1994.
- Cohen, N. D., Blaney, J. M., Howard, A. E. & Kollman, P. A.; *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1669.
- Abraham, D. J. X-ray crystallography and drug design. In: Perun, T. J. & Propst, C. L.; (eds) *Computer-aided drug design: methods and applications*. Marcel Dekker, New York, 1989.
- Boyd, D. B. Compendium of software for molecular modeling. In: Lipkowitz, K. B. & Boyd, D. B.; (eds) *Reviews in computational chemistry*. VCH Pub, New York, 1990.
- Martin, Y. C., Bures, M. G. & Willett, P.; *Searching Databases of Three-Dimensional Structures*. In: Lipkowitz, K. B. & Boyd, D. B. (eds) *Reviews in computational chemistry*. VCH Pub, New York, 1990.
- Propst, C. L. & Perun, T. J.; Introduction to computer-aided drug design. In: Perun, T. J. & Propst, C. L. (eds) *Computer-aided drug design: methods and applications*. Marcel Dekker, New York, 1989.
- Lipkowitz, K. B. & Boyd, D. B.; (eds) *Reviews in computational chemistry*. VCH Pub, New York, 1990.
- Fesik, S. W. Approaches to drug design using nuclear magnetic resonance spectroscopy. In: Perun, T. J. & Propst, C. L. (eds) *Computer-aided drug design: methods and applications*. Marcel Dekker, New York, 1989.
- Charretier, E. & Guéron, M.; *Biochem. Cell. Biol.* **1991**, *69*, 322.
- Burkert, U. & Allinger, N. L.; *Molecular mechanics*. ACS Monograph 177. American Chemical Society, Washington, DC, 1982.
- Clark, T.; *A handbook of computational chemistry: a practical guide to chemical structure and energy calculations*. John Wiley & Sons, Friedrich, 1985.
- Brewster, M. E., Pop, E., Huang, M. J. & Bodor, N.; *Heterocycles* **1994**, *37*, 1373.
- Boyd, B. D. & Lipkowitz, K. B.; *J. Chem. Ed.* **1982**, 269.
- Hirst, D. A. *A Computational Approach to Chemistry*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1990.
- Szabo, A. & Ostlind, N. S.; *Modern Quantum Chemistry*. McGraw-Hill, New York, 1989.
- Dewar, M. J. S., Zoebisch, E. G., Healy, E. F. & Stewart, J. J. P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3902.
- Stewart, J. J. P.; *J. Comput. Chem.* **1989**, *10*, 209.
- Stewart, J. J. P.; *J. Comput. Chem.* **1989**, *10*, 221.
- Zheng, Y. J., Merz, K. M.; *J. Comp. Chem.* **1992**, *13*, 1151.
- Jurema, M. W. & Shields, G. C.; *J. Comp. Chem.* **1993**, *14*, 89.
- Jurema, M. W., Kirschner, K. N. & Shields, G. C.; *J. Comp. Chem.* **1993**, *14*, 1326.
- Almeida, W. B. & O'Malley, P. J.; *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1992**, *253*, 349.
- Bofill, J. M. & Comajuan, M.; *J. Comp. Chem.* **1995**, *16*, 1326.
- Sant'Anna, C. M. R., Alencastro, R. B., Barreiro, E. J. & Fraga, C. A. M.; *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1995**, *340*, 193.
- Milne, G. W. Nicklaus, M. C., Hoposek, K. M.; *J. Mol. Struct.* **1993**, *291*, 89.
- Martin, Y. C. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2145.
- Humblet, C. & Dunbar Jr., J. B.; *Ann. Rep. Med. Chem.* **1993**, *28*, 275.
- Korolkovas, A. & Burckhalter, J. H.; *Essential of medicinal chemistry*. New York, Wiley-Interscience, 1976.
- Fleming, I. *Frontier orbitals and organic chemical reactions*. Wiley & Sons, London, 1978.
- Gund, P., Barry, D. C., Blaney, J. M. & Cohen, C.; *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2230.
- Motta Neto, J. D., Zerner, M. C. & Alencastro, R. B.; *Intern. J. Quantum Chem.: Quantum Biol. Symp.* **1992**, *19*, 225.
- Campbell, W. B. Lipid-derived autacoids: eicosanoids and platelet-activating factor. In: Gilman, A. G., Rall, T. W., Nies, A. S. & Taylor, P.; (eds) *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 8th ed. Pergamon Press, New York, 1990.
- Decker, K. Basic mechanisms of the inflammatory response. In: Sies, H., Flohé, L. & Zimmer, G.; (eds) *Molecular aspects of inflammation*. Springer-Verlag, Berlin, 1991.

37. Ford-Hutchison, A. W., Gressner, M. & Young, R. N.; *Ann. Rev. Biochem.* **1994**, *63*, 383.
38. Friedman, B. & Margolskee, D. J.; *Lipid Mediators Allerg. Dis. Respir. Tract* **1994**, 207.
39. Robinson, C.; *Lipid Mediators Allerg. Dis. Respir. Tract* **1994**, 1.
40. Shaw, A. & Krell, R. D.; *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1236.
41. Kreutner, W. & Siegel, H. *Ann. Rep. Med. Chem.* **1984**, *19*, 241.
42. Rodrigues, C. R.; Tese de Mestrado. Instituto de Química, UFRJ, Brasil, 1994.
43. Rodrigues, C. R., Alencastro, R. B. & Barreiro, E. J.; *Resumos da 18ª Reunião Anual da SBQ*, SA-013, Minas Gerais, Brasil, 1995.
44. Albuquerque, M. G., Rodrigues, C. R., Alencastro, R. B. & Barreiro, E. B.; 35th *Sanibel Symposium*, Florida, USA, 1995.
45. Albuquerque, M. G., Rodrigues, C. R., Alencastro, R. B. & Barreiro, E. B.; *Int. J. Quantum Chem., Quantum Biol. Symp.* **1995**, *22*, 181.
46. Pereira, N. P.; Tese de Mestrado, Instituto de Química, UFRJ, Brasil, 1994.
47. Cucurou, C., Battioni, J. P., Thang, D. C., Nam, N. H. & Mansuy, D.; *Biochemistry* **1991**, *30*, 8964.
48. Musser, J. H. & Kreft, A. F. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2501.
49. Chasteen, N. D., Grady, K. J., Shorey, I. K., Neden, J. K., Riendeau, D. & Percival, M. D.; *Biochemistry* **1993**, *32*, 9763.
50. Schilstra, M. J., Veldink, G. A. & Vliegthart, F. G.; *Biochemistry* **1994**, *33*, 3974.
51. van der Zee, J., Eling, T. E. & Mason, R. P.; *Biochemistry* **1989**, *28*, 8363.
52. Bruneau, P. & Delvare, C.; *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1028.
53. Cucurou, C., Battioni, J. P., Daniel, R. & Mansuy, D.; *Biochem. Biophys. Acta* **1991**, *1081*, 99.
54. Harrold, M. W., Grajzl, B., Shin, Y., Romstedt, K. J., Feller, D. R. & Miller, D. D.; *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1506.
55. Hirata, M., Hayashi, Y., Ushikubi, F., Yokota, Y., Kageyama, R., Nakanishi, S. & Narumiya, S.; *Nature* **1991**, *349*, 617.
56. Yamamoto, Y., Kamiya, K. & Terao, S.; *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 820.
57. Fortier, S., Erman, M. G., Langs, D. A. & DeTitta, G. T.; *Acta. Cryst. B* **1980**, *36*, 1099.
58. Nos prostanóides, a cadeia que contém a função ácido carboxílico é denominada de cadeia a e a que contém a função hidroxila, de cadeia w.
59. Takasuka, M., Yamakawa, M. & Watanabe, F.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1989**, 1173.
60. Takasuka, M., Kishi, M. & Yamakawa, M.; *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 47.
61. Ezumi, K., Yamakawa, M. & Narisada, M.; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1117.
62. Jin, B. & Hopfinger, A. J.; *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* **1994**, *34*, 1014.
63. Albuquerque, M. G.; Tese de Mestrado. Instituto de Química, UFRJ, Brasil, 1994.
64. Albuquerque, M. G., Alencastro, R. B. & Barreiro, E. J.; *Resumos da 18ª Reunião Anual da SBQ*, SA-10, Minas Gerais, Brasil, 1995.
65. Demopoulos, C. A., Pinckard, R. N. & Hanahan, D. J.; *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 9355.
66. Muirhead, E. E., Pitcock, J. A.; *Hypertens. J.* **1985**, *3*, 1.
67. Prescott, S. M., Zimmerman, G. A. & McIntyre, T. M.; *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 17381.
68. McManus, L. M., Pinckard, R. N., Fitzpatrick, F. A., O'Rourke, R. A., Crawford, M. H. & Hanahan, D.; *J. Lab. Invest.* **1981**, *45*, 303.
69. Whittaker, M. *Curr. Op. Therap. Patents.* **1992**, *2*, 583.
70. Hanahan, D. J., Demopoulos, C. A., Liehr, J. & Pinckard, R. N.; *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 5514.
71. Godfroid, J. & Braquet, P.; *Trends Pharm. Sci.* **1986**, *7*, 368.
72. Chao, W. & Olson, M. S.; *Biochem. J.* **1993**, *292*, 617.
73. Nakamura, M., Honda, Z., Izumi, T., Sakanaka, C., Mutoh, H., Minami, M., Bito, H., Seyama, Y., Matsumoto, T., Noma, M. & Shimizu, T.; *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 20400.
74. Dubost, J. P., Langlois, M. H., Audry, E., Braquet, P., Coletter, J. C., Croizet, F. & Dallet, P. In: Braquet, P.; (ed) *CRC Handbook of PAF and PAF antagonists*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1991, p261.
75. Godfroid, J., Dive, G., Lamotte-Brasseur, J., Batt, J. & Heymans, F.; *Lipids* **1991**, *26*, 1162.
76. Hodgkin, E. E. Miller, A. & Whittaker, M.; *J. Comp.-Aided Mol. Design* **1993**, *7*, 515.
77. Bures, M. G., Danaher, E., Delazzer, J. & Martin, Y. C.; *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1994**, *34*, 218.
78. Sant'Anna, C. M. R., Alencastro, R. B., Fraga, C. A. M., Barreiro, E. J. & Motta Neto, J. D.; *Int. J. Quantum Chem.* **1996** (in press).
79. Sant'Anna, C. M. R., Motta Neto, J. D., Barreiro, E. J. & Alencastro, R. B.; 35th *Sanibel Symposium*, Florida, USA, 1995.
80. Sant'Anna, C. M. R., Fraga, C. A. M., Alencastro, R. B. & Barreiro, E. J.; *Resumos da 18ª Reunião Anual da SBQ*, SA-019, Minas Gerais, Brasil, 1995.
81. Garcia, V. L. & E. J. Barreiro; *Abstracts of the 10th International Congress of Heterocyclic Chemistry*, p. 8, Waterloo, Canadá, 1985.
82. Campbell, S. F. *Química Nova* **1991**, *14*, 196.
83. Miklavc, A., Kocjan, D., Mavri, J., Koller, J. & Hadzi, D.; *Biochem. Pharm.* **1990**, *40*, 663.
84. Wang, S., Milne, G. W. A., Nicklaus, M. C., Marquez, V. E., Lee, J. & Blumberg, P. M.; *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1326.
85. Stewart, J. J. P.; MOPAC version 6.00, Frank J. Seiler Research Laboratory, United States Air Force Academy, Colorado Springs, CO, 1990.
86. Broyden, C. G.; *J. Inst. Math. Its Appl.* **1970**, *6*, 222.
87. Fletcher, R.; *Comp. J.* **1970**, *13*, 317.
88. Goldfarb, D.; *Math. Comput.* **1970**, *24*, 23.
89. Shanno, D. F.; *Math. Comput.* **1970**, *24*, 647.
90. Peçanha, E. P., Fraga, C. A. M. & Barreiro, E. J.; *Resumos da 18ª Reunião Anual da SBQ*, QO-014, Minas Gerais, Brasil, 1995.
91. Kubinyi, H.; (ed) *3D QSAR in drug design: theory, methods and applications*. ESCOM, Leiden 1993.
92. Gallop, M. A., Barret, R. W., Dower, W. J., Fodor, S. P. A. & Gordon, E. M.; *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1233.
93. Martin, E. J., Blaney, J. M., Siani, M. A., Spellmeyer, D. C., Wong, A. K. & Moos, W. H.; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1431.
94. Kubinyi, H.; *Pharmazie* **1995**, *50*, 647.