

## QSAR-3D/CoMFA EM COMPOSTOS IMÍDICOS COM ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

Maria Elena Walter\* e Vera Lúcia Almeida

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-910 Belo Horizonte – MG, Brasil

Ricardo José Nunes

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário Trindade, 88040-900 Florianópolis – SC, Brasil

Recebido em 8/2/12; aceito em 28/11/12; publicado na web em 6/3/13

3D-QSAR/CoMFA IN IMIDIC COMPOUNDS WITH ANTINOCICEPTIVE ACTIVITY. Imide compounds have shown biological activity. These compounds can be easily synthesized with good yields. The objective of this paper was the rational planning of imides and sulfonamides with antinociceptive activity using the 3D-QSAR/CoMFA approach. The studies were performed using two data sets. The first set consisted of 39 cyclic imides while the second set consisted of 39 imides and 15 sulfonamides. The 3D-QSAR/CoMFA models have shown that the steric effect is important for the antinociceptive activity of imide and sulphonamide compounds. Ten new compounds with improved potential antinociceptive activity have been proposed by de novo design leapfrog simulations.

Keywords: imidic compounds; antinociceptive; CoMFA.

### INTRODUÇÃO

A exposição da pele ou outros órgãos ao dano ou estímulos nocivos induz uma sensação desagradável chamada dor. A nociceção constitui a recepção, pelos nociceptores, de estímulos (via sistema nervoso central) que indicam a existência de uma injúria associada a um estímulo nocivo.<sup>1</sup>

Imidas e sulfonamidas são compostos que apresentam resultados promissores nos testes biológicos de atividade antinociceptiva, são de fácil obtenção e apresentam bons rendimentos sintéticos,<sup>2-4</sup> o que é essencial para o uso em Química Medicinal. Imidas contêm o grupo  $-\text{CO}-\text{N}(\text{R})-\text{CO}-$ , sendo R um átomo de hidrogênio, grupo alquila ou grupo arila. Estes compostos podem ser divididos em classes: maleimidas, succinimidas, naftalimidas.

O crescente interesse pelo estudo destas classes de compostos é decorrente de seus usos farmacológicos (antinociceptivos, sedativos, hipnóticos, anticonvulsivantes, carcinostático, antimotóico etc.). Os efeitos biológicos de maleimidas e compostos relacionados vêm sendo estudados há anos. Hargreaves e colaboradores<sup>5</sup> destacam especialmente as atividades antifúngica, antibacteriana e inseticida destes compostos. Nunes<sup>6</sup> verificou que as maleimidas são mais ativas que as succinimidas em relação à atividade antifúngica, sugerindo a importância da dupla ligação imídica na ação biológica.

Estudos a respeito do mecanismo de ação antinociceptiva já são realizados, nos quais se verifica a participação do anel imídico na interação com a enzima prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS).<sup>6,7</sup> Em nosso grupo de pesquisa constatamos que imidas,<sup>8-11</sup> assim como sulfonamidas, têm potente ação analgésica.

Imidas são inibidores de PGHS e a inibição ocorre através da ligação desta ao carbono olefínico (no caso das maleimidas) ou ao carbono carbonílico (no caso das succinimidas e naftalimidas) do anel imídico.<sup>6,7</sup> Kalgutkar e colaboradores<sup>7</sup> estudaram a interação de várias maleimidas e succinimidas com a enzima PGHS. Através de estudos de enzimologia, sugeriram que a inibição da enzima resulta de uma ligação covalente com a proteína. Verificaram que variando o tamanho da cadeia alquílica das maleimidas alterava a velocidade,

mas não sua capacidade para inibir a enzima. Sugeriram que ocorre primeiro uma interação não covalente com a arginina carregada positivamente, o que proporciona o posicionamento adequado do fármaco; posteriormente, ocorre uma interação covalente entre o anel imídico e a tirosina, via substituição nucleofílica (Figura 1).

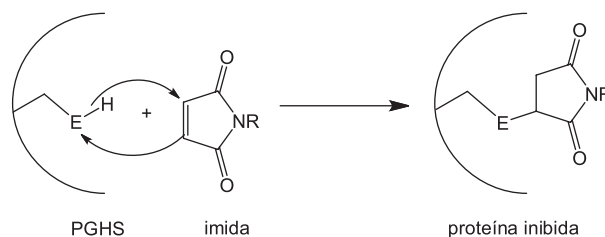


Figura 1. Inibição da prostaglandina endoperóxido sintase. Adaptada da ref. 7

No presente trabalho, foi realizado um estudo de relação quantitativa estrutura-atividade (*Quantitative Structure-Activity Relationship*/QSAR) através da análise comparativa do campo molecular (CoMFA)<sup>12</sup> de um banco de dados composto por imidas cíclicas e derivados sulfonados (Tabela 1S, material suplementar), utilizando o software Sybyl.<sup>13</sup> As substâncias que compõem o banco de dados são compostos sintetizados e testados em nosso grupo de pesquisa, com valores de atividade antinociceptiva verificadas através de testes *in vivo* de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos Swiss machos, tendo por compostos controle a aspirina e o paracetamol.<sup>8-11</sup>

A idéia básica de CoMFA é gerar parâmetros estéreos e eletrostáticos das moléculas e tentar relacioná-los com a atividade biológica das mesmas, além de explicar suas propriedades biológicas observadas para tentar prever as atividades biológicas de novos compostos. As contribuições estéreos e eletrostáticas para a energia de interação entre o ligante e a sonda selecionada são calculadas numa grade tridimensional de pontos regularmente espaçados, abrangendo as moléculas em todas as suas dimensões. Neste trabalho, foi utilizado o método dos mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares* – PLS) para relacionar atividade biológica de um conjunto de compostos em um alinhamento específico e seus campos de energia de interação tridimensional (3D).<sup>14,15</sup>

\*e-mail: melenawalter@gmail.com

Os mapas estereo e eletrônico 3D gerados representam regiões no espaço externo em torno das moléculas onde é favorável ou desfavorável a interação dos fármacos com o receptor. Servem como um guia para desenvolvimento de novos compostos bioativos.

Após a obtenção dos modelos, a etapa seguinte é encontrar novos substituintes com base nos mapas de contorno dos modelos e nas moléculas que apresentam as melhores potências. Para isto, foi utilizada a rotina de desenho de novo *leapfrog* do pacote Sybyl, baseado nos resultados de QSAR-3D/CoMFA.

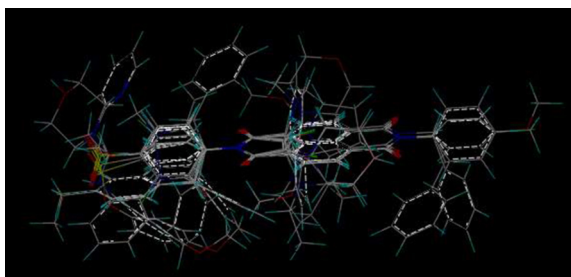
*Leapfrog* é um programa que usa a metodologia de novo para o desenvolvimento de novos fármacos. Realiza uma triagem eletrostática fazendo repetidas mudanças estruturais, mantendo ou descartando as moléculas, dependendo dos resultados da energia de ligação em relação ao seu precursor imediato.<sup>16-21</sup>

## PARTE EXPERIMENTAL

Um banco de dados foi construído com 54 compostos imídicos (Tabela 1S, material suplementar) sintetizados e testados em nosso grupo de pesquisa, com valores de atividade antinociceptiva verificadas através de testes *in vivo* de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos Swiss machos,<sup>22,23</sup> tendo por compostos controle a aspirina e o paracetamol.<sup>8-11</sup> As correspondentes atividades biológicas estão expressas em anti-log da dose que inibe as contorções em 50% da população – pDI50.

A análise comparativa dos campos moleculares estéreo e eletrostáticos, CoMFA, foi obtida pelo pacote de programas Sybyl.<sup>13</sup> As estruturas tridimensionais das imidas e dos compostos sulfonados geradas tiveram suas energias minimizadas usando-se o campo de força padrão Tripos, com uma função dielétrica dependente da distância e o critério de convergência 0.01. As cargas foram calculadas através do método Gasteiger-Hückel. As estruturas foram novamente minimizadas e, então, realizou-se a análise conformacional utilizando algoritmo genético (GA), nas seguintes condições: constante dielétrica 80,0; população 100; número de gerações 100. A seguida da minimização foi realizada por cálculo hamiltoniano AM1, no programa GAMES.<sup>24</sup>

As moléculas do banco de dados (Tabela 1S, material suplementar) foram alinhadas pelo método ponto a ponto, com base no fragmento (C<sub>4</sub>O<sub>2</sub>N) do anel imídico em cada molécula (Figura 2).



**Figura 2.** Alinhamento das imidas e sulfonamidas a partir da sobreposição do fragmento (C<sub>4</sub>O<sub>2</sub>N) do anel imídico

O estudo de QSAR 3D foi realizado com dois bancos de dados, utilizando o programa Sybyl: banco 1 – 39 imidas (compostos 1 a 37, 53, 54 - Tabela 1S, material suplementar); banco 2 – 39 imidas e 15 compostos sulfonados (compostos 1 a 54 - Tabela 1S).

Foram selecionadas aleatoriamente moléculas para compor os grupos de treino e de teste. Para o banco de dados 1, o grupo de treino foi constituído pelos compostos 2, 3, 5, 7-15, 18-21, 24-27, 29-31, 33 (Tabela 1S, material suplementar); o grupo de teste foi constituído pelos compostos 1, 4, 6, 16, 22, 23, 28, 32 (Tabela 1S). Para o banco

de dados 2, o grupo de treino foi constituído pelos compostos 1-33, 39-43, 46, 47, 49-52 (Tabela 1S); o grupo de teste foi constituído pelos compostos 1, 4, 6, 16, 17, 22, 23, 28, 32, 44, 45, 48 (Tabela 1S).

O estudo de QSAR 3D é realizado com moléculas que apresentam o mesmo mecanismo de ação, considerando-se que todas as imidas estudadas pertencentes ao banco de dados 1 apresentavam o mesmo mecanismo de ação. Em razão dos resultados obtidos com os compostos sulfonados, um segundo banco de dados foi criado, banco 2, incluindo este grupo de compostos.

Os campos estereo e eletrostático foram calculados em cada ponto de interseção da caixa, usando função potencial de Leonard-Jones e de Coulomb do campo de força Tripos. Estes cálculos foram realizados para diferentes sondas e tamanhos de *grid* (Tabela 2S, material suplementar). Com base no conhecimento da interação dos compostos imídicos de atividade antinociceptiva com a enzima PGHS,<sup>7</sup> foram escolhidas as sondas. As dimensões das três caixas utilizadas foram 28, 16, 15 Å; 33, 19, 17 Å e 38, 18, 19 Å, em relação aos eixos X, Y e Z, respectivamente. Raios de corte para os campos eletrostáticos e estereoquímicos no valor de 30 Kcal/mol foram utilizados para reduzir o número de variáveis calculadas para cada modelo. O método PLS foi usado para encontrar uma relação linear. A validação cruzada foi realizada usando o método *leave-one-out* (LOO), com um filtro de coluna para excluir variáveis com variância menor que 2 Kcal/mol. O número ótimo de componentes usado para se obter o modelo não validado foi definido como o número de componentes principais que produz o maior R<sup>2</sup><sub>cv</sub> e o menor erro padrão de predição (erro). Para validação dos modelos encontrados foi utilizado o grupo de teste.

*Leapfrog* utilizou as informações do modelo CoMFA. A molécula modelo (composto 14) foi usada como estrutura de partida. O modo OPTIMIZE, que sugere melhorias no composto modelo, foi utilizado com o fator adicional de dificuldade sintética. A dificuldade sintética é calculada de maneira simplista como uma soma das contribuições: cada átomo + 0,5; cada anel + 2,0; cada centro quiral + 15,0. Quanto maior o valor, maior a dificuldade sintética. Os módulos JOIN, FUSE, WEDD, CROSSOVER foram empregados após a corrida inicial de 100 movimentos e os ligantes derivados que tiveram a melhor energia de ligação foram usados para o ciclo de repetição de 5.000 movimentos.

As condições de análise estão apresentadas na Tabela 2S, material suplementar.

Os valores de pDI50 foram calculados para os compostos da série de treino, série de testes e moléculas planejadas (compostos 54, 55 e 56 – Tabela 1S, material suplementar) utilizando o modelo 3 com maior significância estatística (Tabela 3S, material suplementar). As atividades biológicas calculadas foram comparadas com os valores descritos na literatura e os mapas de contorno das análises foram construídos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tendo trabalhado com uma variedade de moléculas (Tabela 1S, material suplementar) fez-se necessária a variação do tamanho das caixas, já que estas devem comportar todas as moléculas.

Os resultados da análise por CoMFA dos bancos 1 e 2 encontram-se nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Utilizando as condições do modelo 3 (Tabela 1) e do modelo 32 (Tabela 2), foram obtidos os melhores resultados estatísticos e os valores de pDI<sub>50</sub> para os compostos das séries de treino e de testes; para as moléculas utilizadas na validação externa foram calculadas utilizando as condições destas análises. Os resultados encontram-se na Tabela 3S, material suplementar.

Baseado nos resultados estatísticos, o melhor resultado de CoMFA para o banco 1 foi obtido no modelo 3 (sonda nitrogênio

**Tabela 1.** Resultados estatísticos da análise de CoMFA para os compostos imídicos (Tabela 1S, material suplementar) com atividade antinociceptiva, do banco 1

Modelo	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	R <sup>2</sup>	F	Erro	Nº ótimo de componentes	% contribuição Estéreo   Eletrost.		Filtragem de coluna (2,0)	SAMPLS	Região de foco
1	0,642	0,962	120,295	0,196	4	66,3	33,7	X	-	-
2	0,645	0,962	120,295	0,169	4	66,3	33,7	-	X	-
3	0,727	0,965	132,387	0,187	4	69,5	30,5	-	-	X
4	0,581	0,983	160,175	0,140	6	69,1	30,9	X	-	-
5	0,574	0,983	160,069	0,140	6	69,1	30,9	X	-	-
6	0,642	0,962	120,295	0,196	4	66,3	33,7	X	-	-
7	0,642	0,962	120,295	0,196	4	66,3	33,7	X	-	-
8	0,724	0,965	132,387	0,187	4	69,5	30,5	-	-	X
9	0,544	0,962	120,357	0,196	4	69,6	30,4	X	-	-
10	0,570	0,974	135,895	1,666	5	69,3	30,7	X	-	-
11	0,677	0,982	154,420	0,143	6	70,9	29,1	-	-	X
12	0,700	0,977	152,321	0,157	5	(N)34,5 (O)34,1	(N) 16,2 (O) 15,3	-	-	X
13	0,581	0,983	160,175	0,140	6	69,1	30,9	X	-	-
14	0,486	0,948	85,828	0,231	4	66,6	33,4	-	X	-
15	0,574	0,983	160,069	0,140	6	69,1	30,9	X	-	-
16	0,511	0,720	24,484	0,476	3	61,0	39,0	X	-	-
17	0,421	0,809	25,384	0,405	3	73,5	26,5	X	-	-
18	0,454	0,678	20,032	0,511	2	63,4	36,6	X	-	-
19	0,459	0,816	26,609	0,397	3	65,3	34,7	X	-	-
20	0,454	0,678	20,302	0,511	2	63,4	36,6	X	-	-
21	0,505	0,714	23,762	0,481	2	61,2	38,8	X	-	-
22	0,450	0,815	26,382	0,398	3	66,4	33,6	X	-	-
23	0,421	0,809	25,425	0,404	3	73,6	26,4	X	-	-
24	0,453	0,926	31,088	0,277	2	70,1	29,9	X	-	-
25	0,448	0,674	19,630	0,514	2	62,9	37,1	X	-	-
26	0,453	0,674	19,630	0,514	2			X	-	-

**Tabela 2.** Resultados estatísticos da análise de CoMFA para os compostos imídicos (Tabela 1S, material suplementar) com atividade antinociceptiva, do banco de dados 2

Modelo	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	R <sup>2</sup>	F	Erro	Nº ótimo de componentes	%contribuição estéreo/eletrost	Filtragem de coluna (2,0)	SAMPLS	Região de foco
27	0,388	0,953	89,270	0,214	5	66/34	X	-	-
28	0,422	0,953	89,270	0,214	5	66/34	-	X	-
29	0,580	0,958	101,024	0,202	5	65,2/34,8	-	-	X
30	0,482	0,975	137,754	0,155	6	66,3/33,7	X	-	-
31	0,481	0,975	137,754	0,155	6	66,3/33,7	-	X	-
32	0,573	0,977	148,666	0,149	6	62,7/37,3	-	-	X

sp<sup>3</sup>, com carga +1, n = 25). As potências preditas por este modelo, assim como os erros percentuais destas predições, são relatadas na Tabela 3S, material suplementar.

Este modelo não conseguiu prever bem as potências dos compostos sulfonados testados ao longo do trabalho (série de testes: compostos 38-52/Tabela 1). A ausência de compostos sulfonados no banco de dados 1 utilizado para elaboração do modelo 3 acarretou falta de maiores informações biológicas e estruturais a respeito deste tipo de composto. Desta forma, houve uma pequena variação nestes dados, dificultando o estudo de QSAR para os compostos sulfonados com este banco.

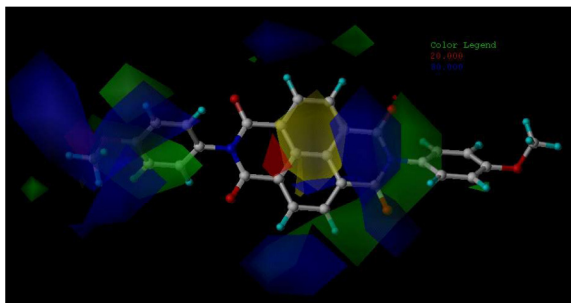
Por serem compostos imídicos, os compostos sulfonados provavelmente possuem o mesmo mecanismo de ação que os compostos pertencentes ao banco de dados 1. Sendo assim, foi montado o banco 2 com todos estes compostos juntos com o objetivo de se construir um modelo matemático que relacione a estrutura química à atividade biológica desta série de substâncias.

O modelo 32 apresentou o melhor resultado de CoMFA para o banco 2 (sonda nitrogênio sp<sup>3</sup>, com carga +1, n = 44). As potências preditas por este modelo, assim como os erros percentuais destas predições, são relatadas na Tabela 3S, material suplementar.

### Modelo 3

A análise do modelo 3, tendo por série treino os compostos 2, 3, 5, 7-15, 18-21, 24-27, 29-31, 33, resultou em r<sup>2</sup> = 0,965, r<sup>2</sup><sub>cv</sub> = 0,727, um erro padrão de 0,187, contribuições 69,5% estéreo e 30,5% eletrostática (Tabela 1).

O mapa estéreo e eletrostático deste modelo é representado na Figura 3. A superfície verde próxima ao anel imídico e próxima ao substituinte do anel benzênico sugere que a utilização de ligantes mais volumosos nesta região favorece o aumento da atividade. A superfície amarela próxima ao anel naftálico sugere que um ligante de menor volume nesta posição favorece a interação estérea.



**Figura 3.** Mapa estereo e eletrostático do modelo 3 (Tabela 1), tendo o composto 14 como referência

A superfície azul (Figura 3) próxima ao anel imídico sugere que o aumento do potencial eletrostático positivo no anel imídico (lado direito) e na região do anel benzênico (lado esquerdo) pode levar a um acréscimo da atividade. Isto pode ser obtido por introdução de substituintes retiradores de elétrons nestes anéis. Este resultado é coerente com a interação covalente entre o anel imídico e a tirosina, da enzima PGHS (Figura 1), citada na literatura.<sup>7</sup> Também segundo este modelo, um substituinte que aumente o potencial eletrostático negativo, sugerido pela região vermelha, deve aumentar a atividade quando adicionado na extremidade esquerda (sob a região azul) da molécula. O substituinte que aumente o potencial eletrostático negativo deve favorecer a interação não covalente com a arginina carregada positivamente, da enzima PGHS.<sup>7</sup> No composto 14 (composto de maior potência), utilizado como referência na Figura 3, esta substituição seria no grupo OMe, do lado esquerdo.

A capacidade preditiva do modelo 3 foi avaliada pela série de testes formada por 9 compostos (1, 4, 6, 16, 17, 22, 23, 28, 32 - Tabela 1S, material suplementar) escolhidos aleatoriamente. Os valores calculados juntamente com os resultados experimentais estão listados na Tabela 3S, material suplementar. O modelo prevê bem as potências de compostos da série de testes, pois dentre as 9 predições realizadas, apenas as obtidas para os compostos 1 e 28 (dicloromaleimidás) apresentaram erro superior a 20%. O modelo já apresentava problemas em prever a potência para este tipo de composto na série treino (composto 29 – erro = 27,74%). A incapacidade de prever bem a potência de dicloromaleimidás deve ocorrer provavelmente porque as informações obtidas na análise de CoMFA são apenas relacionadas com a farmacodinâmica (interação ligante-alvo) destes compostos, não levando em consideração a farmacocinética; os parâmetros não conseguiram para explicar os dados biológicos dos ensaios *in vivo*.

Alguns compostos com potências antinociceptivas desconhecidas (34-56, Tabela 1) tiveram suas potências previstas pelo modelo 3. Algumas destas substâncias foram testadas durante a realização do trabalho e desta forma são usadas como série de teste na avaliação do modelo. Os resultados das predições e os valores experimentais, dos compostos que foram testados, são apresentados na Tabela 3S, material suplementar. O modelo não previu bem as potências destes compostos, apresentando erro >20%, exceto para o composto 39. Como já mencionado, o modelo 3 não prevê bem a potência de compostos sulfonados por não apresentar nenhum composto deste tipo no seu banco de dados.

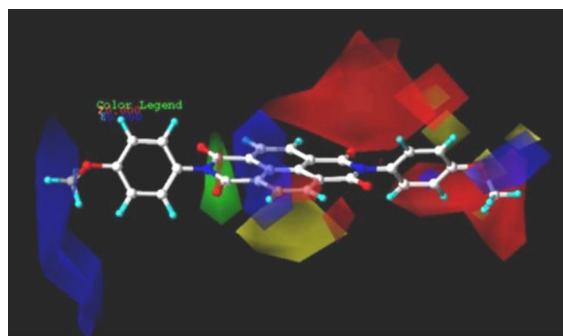
Com base no composto 35 e no estudo de mecanismo de ação, onde foi verificada a contribuição do tamanho da cadeia alquílica, foi idealizado o composto 37. O composto 54 foi idealizado tendo por composto modelo o 53, para analisar se a introdução de ligantes mais volumosos reduz a potência da substância. A potência prevista para este composto, se comparada à potência experimental do composto modelo, indica que existe a redução da potência. Também foram idealizados dois compostos, 55 e 56, com base nas estruturas

da bisnaftalimida mais potente (14) e do composto sulfonado mais potente (40). Suas potências previstas pelo modelo 3 foram maiores que a do composto mais potente (Tabela 1).

### Modelo 32

A análise do modelo 32 (série de treino: compostos 1-33, 39-43, 46, 47, 49-52/Tabela 1) resulta num  $r^2 = 0,977$ ,  $r^2_{CV} = 0,573$ , com erro padrão de 0.149 e contribuições de 62,7 e 37,3% (Tabela 2) para as interações estereo e eletrostática, respectivamente.

No mapa eletrostático (Figura 4) pode ser observada uma região predominantemente negativa no lado direito, representada pela superfície vermelha, e uma região positiva na extremidade do substituinte do anel benzênico (lado esquerdo) e na região entre o anel naftálico e o anel imídico, representadas pelas regiões azuis.



**Figura 4.** Mapas estereo e eletrostático do modelo 32 (Tabela 2), tendo como referência o composto 14

Como se trata de uma molécula simétrica é interessante analisá-la como duas partes (lado esquerdo e direito). Desta forma, segundo o mapa eletrostático, a interação com a enzima é favorecida numa molécula que tenha uma parte em que predomine a densidade de carga negativa (lado direito) e, na região do farmacóforo (anel imídico) do lado oposto (lado esquerdo), uma densidade positiva. Esta parte da molécula com densidade de carga negativa deve favorecer a interação não covalente com a arginina carregada positivamente, da enzima PGHS. Já a parte com densidade de carga positiva deve favorecer a interação covalente entre o anel imídico e a tirosina, da enzima PGHS, citada na literatura.<sup>7</sup>

No mapa estereo (Figura 4), grupos menos volumosos (região amarela) perto dos anéis aromáticos centrais e próximos do substituinte do anel benzênico (lado direito da figura), assim como grupos mais volumosos (região verde) na região do N imídico (lado esquerdo) favorecem o aumento da atividade.

O mecanismo de ação já proposto sugere também uma interação não covalente com a Arg<sup>+</sup>.<sup>7</sup> Esta interação desempenha um papel importante na determinação da atividade de alguns compostos, onde se verificou o aumento da potência devido ao acréscimo de grupos SO<sub>2</sub>NR ou SO<sub>2</sub>OR nas moléculas. Moléculas maiores (naftalimidás e compostos sulfonados) devem agir através de uma primeira interação não covalente entre a Arg<sup>+</sup> e o grupo SO<sub>2</sub>NR (ou SO<sub>2</sub>OR) ou entre o substituinte do anel benzênico na bisnaftalimida (região marcada com um retângulo na Figura 5). Após esta interação não covalente, que deve posicionar adequadamente a molécula no sítio receptor, deve ocorrer uma interação covalente entre Tyr e o anel imídico (marcado com um círculo na figura), através de ataque nucleofílico na carbonila, como no composto exemplo da Figura 5, ou no carbono olefínico.

A capacidade preditiva do modelo 32 foi avaliada pela série de testes formada por 9 compostos (1, 4, 6, 16, 17, 22, 23, 28, 32, 38, 44, 45, 48 – Tabela 1S, material suplementar). Todos os valores

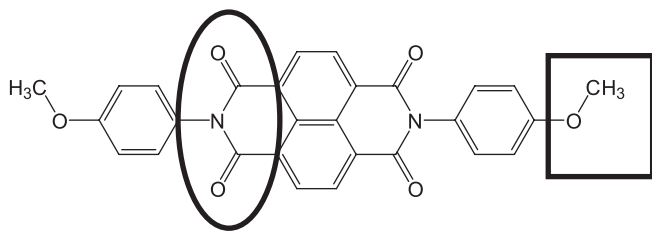


Figura 5. Composto 14 (Tabela 1S, material suplementar)

previstos apresentam erro inferior a 20%, sendo que apenas dois têm erro superior a 10%. Verifica-se através dos resultados estatísticos que este é um bom modelo. Os valores calculados juntamente com os resultados experimentais estão listados na Tabela 3S, material suplementar. É interessante observar que os compostos 1 e 28 (Tabela 3S, material suplementar) tiveram suas potências preditas com erro inferior a 20%, o que não havia ocorrido nas predições do modelo 3. A série treino utilizada na construção do modelo 32 apresenta vários compostos clorados no anel imídico, contribuindo assim para a obtenção de informações químicas a respeito destes compostos.

O mesmo ocorreu com os compostos sulfonados (38, 44, 45 e 48 - Tabela 1S, material suplementar). Como o banco de dados é constituído por compostos sulfonados, o modelo obtido (modelo 32) é capaz de prever a atividade deste tipo de substância.

Alguns compostos com potências antinociceptivas até então desconhecidas (37 e 54 - Tabela 1S, material suplementar), tiveram suas potências preditas pelo modelo 32. A potência predita para o composto 37 é menor que a potência do composto 35 e a potência predita para o composto 54 é menor que a potência do composto 53. Os resultados das predições são apresentados na Tabela 3S, material suplementar. Estas predições apresentam valores coerentes com a faixa de  $pDI_{50}$  esperado para este tipo de composto ( $pDI_{50} \cong 4,5 \mu\text{mol/kg}$ ). Em razão dos valores preditos, estes compostos não são bons candidatos à síntese. Os dois compostos planejados 55 e 56 (Tabela 1S, material suplementar) tiveram suas potências preditas pelo modelo 3 e 32 e estes valores estão na Tabela 3S. Comparando os resultados com a potência experimental do composto 14, verifica-se que o modelo 32, por ter informações dos compostos sulfonados, é mais confiável. Levando em conta que um aumento de 1 unidade de log é muito grande em termos de concentração, a previsão do modelo 32 aparentemente deve ser mais realista do que o previsto pelo modelo 3.

Os modelos 3 e 32 foram utilizados para prever a potência antinociceptiva de compostos sintetizados com potências conhecidas ou não, o que resultou em boas predições. Utilizando o *leapfrog*, com base nos mapas de contorno obtidos dos modelos 3 e 32 QSAR 3D/CoMFA, foram propostos novos compostos que apresentem potências melhores que os compostos modelos. Utilizando o modelo 3, primeiro foi realizada uma busca a partir do composto 9 (Tabela 1S, material suplementar), escolhido por ser uma bisnaphthalimida (imidazóis mais potentes e com estrutura mais simples) com anel benzênico não substituído.

Nova busca foi realizada partindo do composto 14 (Tabela 1S, material suplementar), bisnaphthalimida mais potente, para tentar melhorar a potência através da adição de substituintes no lugar do átomo de hidrogênio do grupo metóxi. É importante ressaltar que o método só substitui átomos de hidrogênio da molécula original. Foram utilizadas 3 formas de busca. Todas as possibilidades foram testadas e comparadas às energias de ligação dos compostos obtidos.

Dois novos compostos (L1e L2/Tabela 3) foram planejados a partir do composto 9 e cinco novos compostos (L3-L7/Tabela 3) a partir do composto 14, cujas  $pDI_{50}$  preditas pelo mesmo modelo estão na Tabela 4. O melhor resultado foi encontrado quando um dos hidrogênios de cada grupo p-OCH<sub>3</sub> do composto 14 foi substituído

por HOCH<sub>2</sub>-. Isto resultou no composto L3 (Tabela 3) e num aumento de mais de 100 vezes na energia de ligação calculada.

Tabela 3. Compostos planejados a partir dos modelos 3 e 32, utilizando a ferramenta *leapfrog*

Composto	Composto
<b>L1</b>	<b>L2</b>
<b>L3</b>	
<b>L4</b>	<b>L5</b>
<b>L6</b>	<b>L7</b>
<b>L8</b>	<b>L9</b>
<b>L10</b>	

Tabela 4. Valores de  $pDI_{50}$  previstos dos compostos planejados (L3-L7, Tabela 3) pelo modelo 3 e dos compostos planejados (L8-L10, Tabela 3) pelo modelo 32

Composto	Modelo 3 - $pDI_{50}$ previsto	Modelo 32 - $pDI_{50}$ previsto
L3	7,317	----
L4	7,106	----
L5	6,779	----
L6	6,601	----
L7	7,060	----
L8	----	5,657
L9	----	4,975
L10	----	4,449

O  $pDI_{50}$  previsto pelo modelo 3 para esta molécula (L3) é de 7,31708. A  $DI_{50}$  reduziria de 0,46  $\mu\text{mol/kg}$  (composto 14) para 0,048  $\mu\text{mol/kg}$  (L3), uma redução de mais de 90%. Ou seja, com este composto alcançaríamos  $DI_{50}$  na ordem de nanomolares (48 nmol/kg).

Outro planejamento de novos compostos foi realizado utilizando o modelo 32 gerado no CoMFA para obtenção de compostos sulfonados. Os mesmos passos acima descritos foram seguidos, no *leapfrog*.

Utilizando como protótipo o composto 40 (composto sulfonado mais potente) e modelo 32 obteve-se o composto L8 (Tabela 3). O

composto L8 apresenta potência predita, pelo modelo 32, maior que o composto 40 ( $pDI_{50} = 5,13$ ), o que é um resultado promissor no planejamento de novos compostos sulfonados.

Já ao utilizar como protótipo o composto 43 (sulfonamida mais potente) obtiveram-se os compostos L9 e L10 (Tabela 3).

O composto L9 apresenta potência prevista, pelo modelo 32, maior que o composto 43 ( $pDI_{50} = 4,98$ ). Já o composto L10 apresenta potência prevista inferior ao composto 43, contudo sua estrutura não deve ser desconsiderada. As potências preditas para os novos compostos pelo modelo 32 estão na Tabela 4.

## CONCLUSÃO

Neste estudo de QSAR-3D/CoMFA (Figura 3) foi visto que a atividade antinociceptiva é favorecida por substituintes que proporcionem uma densidade de carga positiva no anel imídico (à direita na Figura 3) e uma densidade de carga negativa na região do substituinte do anel benzênico, no lado esquerdo, sob a região azul, da figura. Desta forma, foi possível relacionar, com base no estudo do mecanismo de ação já realizado,<sup>7</sup> este mapa de contorno eletrostático com uma interação da tirosina da PGHS e o anel imídico, além de uma interação da arginina carregada positivamente da PGHS e o substituinte do anel benzênico.

Os modelos QSAR-3D/CoMFA obtidos (3 e 32) apresentaram boa capacidade preditiva e através destes foi possível planejar os compostos L3 e L8 (Tabela 3) que apresentaram  $DI_{50}$  previsto na ordem de  $10^{-9}$  e  $10^{-6}$  M/kg, respectivamente.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Está disponível em <http://quimicanova.s bq.org.br>, em arquivo pdf e com acesso livre. Na Tabela 1S estão descritos todos os compostos constituintes do banco de dados utilizados neste estudo de QSAR-3D (série de treino, série de testes e moléculas planejadas), com as correspondentes potências biológicas ( $pDI_{50}$ ) já determinadas. Na Tabela 2S encontram-se as condições utilizadas na análise de CoMFA para os compostos imídicos (Tabela 1S). Na Tabela 3S estão expressos os valores de  $pDI_{50}$  experimentais, previstos pelos modelos 3 e 32 e seus respectivos resíduos e erros %.

## REFERÊNCIAS

1. Gjerstad, J.; Tjolsen, A.; Hole, K.; *Eur. J. Pharmacol.* **1997**, *335*, 127.
2. Campos, F. de; Correa, R.; Souza, M. de; Yunes, R. A.; Nunes, R. J.; Cechinel-Filho, V.; *Drug Res.* **2002**, *52*, 6.

3. Cechinel Filho, V.; de Campos, F.; Correa, R.; Yunes, R. A.; Nunes, R. J.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 230.
4. Oliveira, K. N.; Costa, P.; Santin, J. R.; Mazzambani, L.; Burger, C.; Mora, C.; Nunes, R. J.; Souza, M. M.; *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 14.
5. Hargreaves, M. K.; Pritchard, J. G.; Dave, H. R.; *Chem. Rev.* **1970**, *70*, 439.
6. Nunes, R. J.; *Tese de Doutorado*, The Hatfield Polytechnic, England, 1986.
7. Kalgutkar, A. S.; Crews, B. C.; Marnett, L. J.; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 8.
8. Andricopulo, A. D.; Willain-Filho, A.; Corrêa, R.; Santos, A., R. S.; Nunes R. J.; Yunes, R. A.; Cechinel Filho, V.; *Pharmazie* **1998**, *53*, 493.
9. Cechinel Filho, V.; de Queiroz, E. F.; Lima, E. de O.; Pinheiro, T. R.; Nunes, R. J.; Yunes, R. A.; *Quim. Nova* **1996**, *19*, 590.
10. Corrêa, R.; Cechinel Filho, V.; Schlemper, V.; Rosa, P. W.; Pereira, C. I.; Nunes, R. J.; *Pharmazie* **1997**, *3*, 1.
11. Walter, M. E.; Mora, C.; Mundstock, K.; Souza, M. M. de; Pinheiro, A. de O.; Yunes, R. A.; Nunes, R. J.; *Arch. Pharm.* **2004**, *337*, 4.
12. Cramer, R. D. I.; Depriest, S.; Patterson, D.; Hecht, P. Em *The Developing Practice of Comparative Molecular Field Analysis*; Kubinyi, H., ed.; Escom: Leiden, 1993.
13. SYBYL 6.7 ed, *SYBYL molecular modeling software packages*, Tripos Associates Ltd.: St Louis, 2000.
14. de Almeida, V. L.; Lopes, J. C. D.; Oliveira, S. R.; Donnici, C. L.; Montanari, C. A.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 1482.
15. Fabiano, R. L.; Montanari, C. A.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 499.
16. Payne, A. W. R.; Glen, R. C.; *J. Mol. Graph.* **1993**, *11*, 74.
17. Dixon, S.; Blamey, J.; Weininger, D.; *Present at the Third York Meeting – Characterizing and Satisfying the Steric and Chemical Restraints of Binding Sites*, York, Reino Unido, 1993.
18. Morales-Bayelo, A.; Ayaro, H.; Vivas-Reyes, R.; *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 10.
19. Gueto, C.; Torres, J.; Vivas-Reyes, R.; *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 9.
20. Goodsell, D. S.; Olson, A. J.; *Proteins* **1990**, *8*, 3.
21. Pattabiraman, N.; Levitt, M.; Ferrin, T. E.; Langridg, R.; *J. Comput. Chem.* **1985**, *6*, 5.
22. Collier, H. D. J.; Dinning, L. C.; Johnson, C. A.; Schneider, C.; *Br. J. Pharmacol. Sci.* **1968**, *32*, 2.
23. Souza, M. M.; Kern, P.; Floriani, A. E. O.; Cechinel Filho, V.; *Phytother. Res.* **1998**, *12*, 279.
24. Schmidt, M. W.; Baldrige, K. K.; Boatz, J. A.; Elbert, S. T.; Gordon, M. S.; Jensen, J. J.; Koseki, S.; Matsunaga, N.; Nguyen, K. A.; Su, S.; Windus, T. L.; Duprius, M.; Montgomery, J. A.; *J. Comput. Chem.* **1993**, *14*, 1347.