

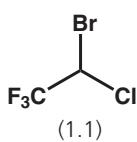
ASPECTOS GERAIS DA AÇÃO DOS FÁRMACOS

FASE FARMACODINÂMICA: INTERAÇÕES ENTRE MICRO E BIOMACROMOLÉCULAS

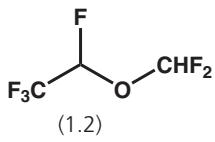
As interações de um fármaco com o seu sítio de ação no sistema biológico ocorrem durante a chamada fase farmacodinâmica e são determinadas pela resultante entre forças intermoleculares atrativas e repulsivas, isto é, interações hidrofóbicas, eletrostáticas e estéricas.^{1,2} Considerando os possíveis modos de interação entre o fármaco e a biofase, necessários para se promover uma determinada resposta biológica, pode-se classificá-los, de maneira genérica, em dois grandes grupos: fármacos estruturalmente inespecíficos e específicos.³

Os fármacos ditos *estruturalmente inespecíficos* são aqueles que dependem única e exclusivamente de suas propriedades físico-químicas, por exemplo, coeficiente de partição (P) e pKa, para promoverem o efeito farmacológico evidenciado. Como esta classe de fármacos em geral apresenta baixa potência, seus efeitos são dependentes do uso de doses elevadas ou da acumulação da substância no tecido-alvo. Os anestésicos gerais são um exemplo clássico de substâncias que pertencem a esta classe de fármacos, uma vez que seu mecanismo de ação envolve a depressão inespecífica de biomembranas, elevando o limiar de excitabilidade celular ou a interação inespecífica com sítios hidrofóbicos de proteínas do sistema nervoso central, provocando perda de consciência.⁴⁻⁶ Nesse caso, em que a complexação do fármaco com macromoléculas da biofase ocorre predominantemente por meio de interações de van der Waals, a lipossolubilidade do fármaco está diretamente relacionada à sua potência, como exemplificado comparativamente na [Figura 1.1](#), para os anestésicos halotano (1.1), isoflurano (1.2) e sevoflurano (1.3).⁵⁻⁷

Em alguns casos, a alteração das propriedades físico-químicas em função de modificações estruturais de um fármaco pode alterar seu mecanismo de interação com a biofase. Um clássico exemplo diz respeito à classe dos anticonvulsivantes, como o pentobarbital (1.4), cuja simples alteração de um átomo de oxigênio por um átomo de enxofre, com maior polarizabilidade, confere um incremento de lipossolubilidade que altera o perfil de atividade estruturalmente específico de 1.4 sobre o complexo receptor GABA ionóforo, para uma ação anestésica inespecífica evidenciada para o tiopental (1.5) ([Figura 1.2](#)).^{6,8}

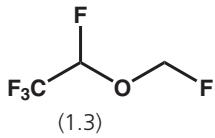


Coeficiente de Partição óleo:gás = 224
Coeficiente de Partição cérebro:plasma = 1,94
MAC₅₀ = 0,7 % de 1 atm



Coeficiente de Partição óleo:gás = 90,8
Coeficiente de Partição cérebro:plasma = 1,57
MAC₅₀ = 1,15 % de 1 atm

MAC₅₀ = Concentração alveolar mínima necessária para provocar imobilidade em 50% dos pacientes



Coeficiente de Partição óleo:gás = 47,2
Coeficiente de Partição cérebro:plasma = 1,70
MAC₅₀ = 2,1 % de 1 atm

FIGURA 1.1 ▶ CORRELAÇÃO ENTRE AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E A ATIVIDADE ANESTÉSICA DOS FÁRMACOS ESTRUTURALMENTE INESPECÍFICOS (1.1), (1.2) E (1.3).

Por outro lado, durante o desenvolvimento de uma família de antagonistas de receptores de adenosina A₁, foi possível identificar o protótipo imidazo[4,5-*b*]piridínico (1.6), o qual, embora apresentasse a eficácia desejada nos ensaios clínicos como cardiotônico, promovia em alguns dos pacientes o aparecimento de *flashes* brilhantes resultantes de suas ações inespecíficas no sistema nervoso central.⁹ Modificações estruturais visando à redução de sua permeabilidade pela barreira hematencefálica resultaram na descoberta da sulmazola (1.7), análogo com o grupo sulfinila que, por apresentar reduzido valor de coeficiente de partição (Log P), não apresenta os efeitos centrais indesejáveis (Figura 1.3).¹⁰

FÁRMACOS ESTRUTURALMENTE ESPECÍFICOS

Os fármacos *estruturalmente específicos* exercem seu efeito biológico pela interação seletiva com uma determinada biomacromolécula-alvo que, na maior parte dos casos, são enzimas, receptores metabotrópicos (acoplados a proteína G), receptores ionotrópicos (acoplados a canais iônicos), receptores ligados a quinases, receptores nucleares e, ainda, ácidos nucleicos.

O reconhecimento molecular do fármaco (micromolécula) pela biomacromolécula é dependente do arranjo espacial dos grupamentos funcionais e das propriedades estruturais da micromolécula, que devem ser complementares ao sítio de ligação localizado na biomacromolécula, ou seja, o sítio receptor.

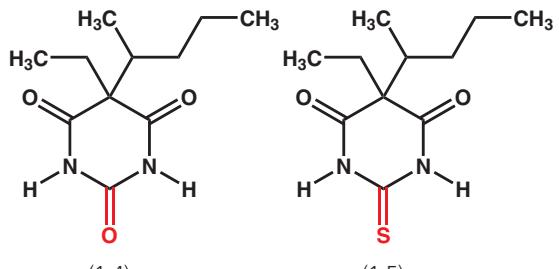


FIGURA 1.2 ▶ INFLUÊNCIA DA MODIFICAÇÃO MOLECULAR NO MECANISMO DE AÇÃO DOS BARBITURATOS (1.4) E (1.5).

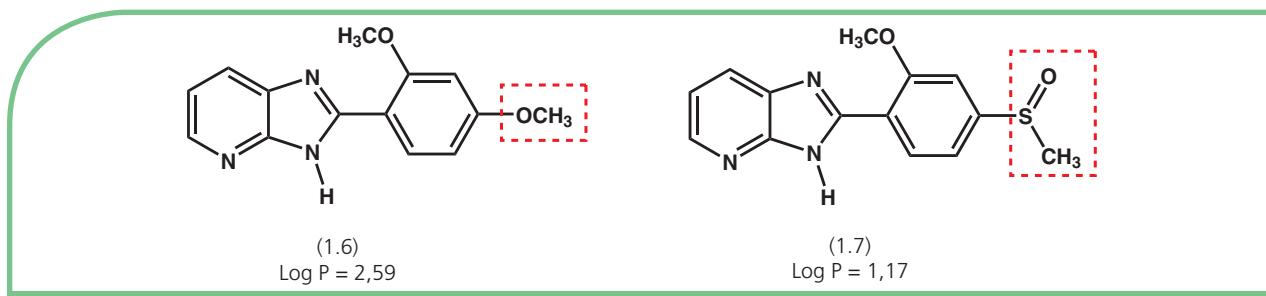


FIGURA 1.3 ▶ INFLUÊNCIA DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (P) NOS EFEITOS CENTRAIS INESPECÍFICOS DOS PROTÓTIPOS CANDIDATOS A FÁRMACOS CARDIOTÔNICOS (1.6) E (1.7).

A complementaridade molecular necessária para a interação da micromolécula com a biomacromolécula receptora pode ser simplificada ilustrativamente pelo modelo *chave-fechadura* (Figura 1.4).^{11,12} Neste modelo, proposto pelo químico alemão Emil Fischer para explicar a especificidade da interação enzima-substrato,¹¹ pode-se considerar a biomacromolécula como a *fechadura*, o sítio receptor como a “fenda da fechadura”, isto é, região da biomacromolécula que interagirá diretamente com a micromolécula (fármaco), e as *chaves* como ligantes do sítio receptor. Na aplicação deste modelo, a ação de “abrir a porta” ou “não abrir a porta” representam as respostas biológicas decorrentes da interação *chave-fechadura*.^{11,12} A análise da Figura 1.4 permite evidenciarem-se três principais tipos de chaves: a) *chave original*, que se encaixa adequadamente com a fechadura, permitindo a abertura da porta, e corresponderia ao agonista natural (endógeno) ou substrato natural, que interage com o sítio receptor da biomacromolécula localizado respectivamente em uma proteína-receptora ou enzima, desencadeando uma resposta biológica; b) *chave modificada*, que tem propriedades estruturais que a tornam semelhantes à chave original e permitem seu acesso à fechadura e consequente abertura da porta, e corresponderia ao agonista modificado da biomacromolécula, sintético ou de origem natural, capaz de ser reconhecido complementarmente pelo sítio receptor e promover uma resposta biológica qualitativamente similar àquela do agonista natural, mas com diferentes magnitudes; c) *chave falsa*, que apresenta propriedades estruturais mínimas que permitem seu acesso à fechadura, sem, entretanto, ser capaz de permitir a abertura da porta, e corresponderia ao antagonista, sintético ou de origem natural, capaz de se ligar ao sítio receptor sem promover a resposta biológica e bloqueando a ação do agonista endógeno e/ou modificado.

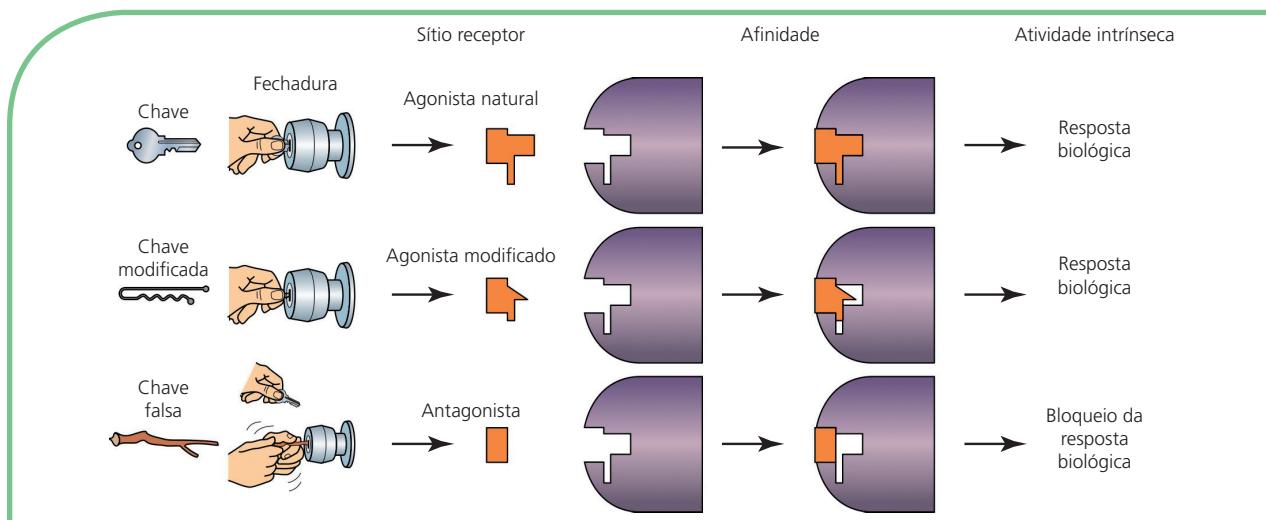


FIGURA 1.4 ▶ MODELO CHAVE-FECHADURA E O RECONHECIMENTO LIGANTE-RECEPTOR.

Nos três casos em questão, é possível distinguir duas etapas relevantes desde a interação da micromolécula ligante com a biomacromolécula, que contém a subunidade receptora, até o desenvolvimento da resposta biológica resultante: a) interação ligante-receptor propriamente dita – expressa quantitativamente pelo termo afinidade, traduz a capacidade da micromolécula em se complexar com o sítio complementar de interação; b) promoção da resposta biológica – expressa quantitativamente pelo termo atividade intrínseca, traduz a capacidade do complexo ligante-receptor de desencadear uma determinada resposta biológica (Figura 1.4). O Quadro 1.1 ilustra essas considerações com o exemplo das substâncias (1.8-1.11), que atuam como ligantes de receptores benzodiazepínicos,¹³ e incluem os fármacos diazepam (1.8) e midazolam (1.9), que atuam como agonistas e promovem o característico efeito sedativo, hipnótico e anticonvulsivante desta classe terapêutica.¹⁴ Cabe destacar que as substâncias (1.8-1.11) são ligantes com afinidades distintas, uma vez que são reconhecidas diferenciadamente pelos sítios complementares de interação localizados no biorreceptor-alvo. Neste caso, o composto imidazolobenzodiazepílico flumazenil (1.10) é aquele que apresenta maior afinidade pelo receptor benzodiazepílico, seguido do derivado β -carbolínico (1.11) e, por fim, os fármacos 1.9 e 1.8 respectivamente. Entretanto, uma maior afinidade não traduz a capacidade de o ligante produzir uma determinada resposta biológica, como pode-se evidenciar pela análise comparativa dos derivados (1.9), (1.10) e (1.11), que apresentam atividades intrínsecas distintas, isto é, agonista, antagonista e agonista inverso, respectivamente. Considerando-se que a ação terapêutica desta classe é devida à atividade agonista sobre os receptores benzodiazepínicos, pode-se concluir que o derivado (1.9), apesar de apresentar menor afinidade relativa por este receptor, é um melhor candidato a fármaco ansiolítico e anticonvulsivante do que os derivados (1.10) e (1.11).

INTERAÇÕES ENVOLVIDAS NO RECONHECIMENTO MOLECULAR LIGANTE-SÍTIO RECEPTOR

Do ponto de vista qualitativo, o grau de afinidade e a especificidade da ligação micromolécula-sítio receptor são determinados por interações intermoleculares, as quais

QUADRO 1.1 ► AFINIDADE E ATIVIDADE INTRÍNSECA DE LIGANTES DE RECEPTORES BENZODIAZEPÍNICOS

SUBSTÂNCIA	AFINIDADE DO LIGANTE ENSAIO DE "BINDING", K_i (nM)	ATIVIDADE INTRÍNSECA DO LIGANTE
1.8	11,0	Agonista
1.9	3,1	Agonista
1.10	1,4	Antagonista
1.11	2,3	Agonista inverso

K_i = constante de afinidade pelos receptores benzodiazepínicos em preparações de cérebros de murinos.
Fonte: Adaptada de Ogris e colaboradores¹³ e Fryer.¹⁴

compreendem forças eletrostáticas, tais como ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo, ion-dipolo, ligações covalentes; e interações hidrofóbicas.

FORÇAS ELETROSTÁTICAS

As forças de atração eletrostáticas são aquelas resultantes da interação entre dipolos e/ou íons de cargas opostas, cuja magnitude depende diretamente da constante dielétrica do meio e da distância entre as cargas.

A água apresenta elevada constante dielétrica ($\epsilon = 80$), devido ao seu momento de dipolo permanente, podendo diminuir as forças de atração e repulsão entre dois grupos carregados, solvatados. Dessa forma, na maior parte dos casos, a interação iônica é precedida pela dessolvatação dos íons, processo que envolve perdas entálpicas e é favorecido pelo ganho entrópico resultante da formação de uma “rede” de interações entre as moléculas de água livres (Figura 1.5). A força da ligação iônica, ~ 5 kcal/mol, é dependente da diferença de energia da interação íon-íon versus a energia dos íons solvatados (Figura 1.5).

No pH fisiológico, alguns aminoácidos presentes nos biorreceptores se encontram ionizados (p. ex., aminoácidos básicos – arginina, lisina, histidina – e aminoácidos com caráter ácido – ácido glutâmico, ácido aspártico), podendo interagir com fármacos que apresentem grupos carregados negativa ou positivamente. O flurbiprofeno (1.12), anti-inflamatório não esteroide que atua inibindo a enzima cicloxygenase (COX),⁸ é reconhecido molecularmente por meio de interações com resíduos de aminoácidos do sítio receptor, dentre as quais se destaca a interação do grupamento carboxilato da forma ionizada de 1.12 especificamente com o resíduo de arginina na posição 120 da sequência primária da isoforma 1 da COX (Figura 1.6).^{15,16} Cabe destacar que uma ligação iônica reforçada por uma ligação de hidrogênio, como neste caso, pode resultar em expressivo incremento da força de interação, isto é, ~ 10 kcal/mol.

Adicionalmente, as forças de atração eletrostáticas podem incluir dois tipos de interações, que variam energeticamente entre 1 e 7 kcal/mol:

- ion-dipolo, força resultante da interação de um íon e uma espécie neutra polarizável, com carga oposta àquela do íon (Figura 1.7);
- dipolo-dipolo, interação entre dois grupamentos com polarizações de cargas opostas (Figura 1.7). Essa polarização, decorrente da diferença de eletronegatividade entre um heteroátomo (p. ex., oxigênio, nitrogênio ou halogênio) e um átomo de carbono, produz espécies que apresentam aumento da densidade eletrônica do heteroátomo e redução da densidade eletrônica sobre o átomo de carbono, como ilustrado na Figura 1.7, para o grupamento carbonila.

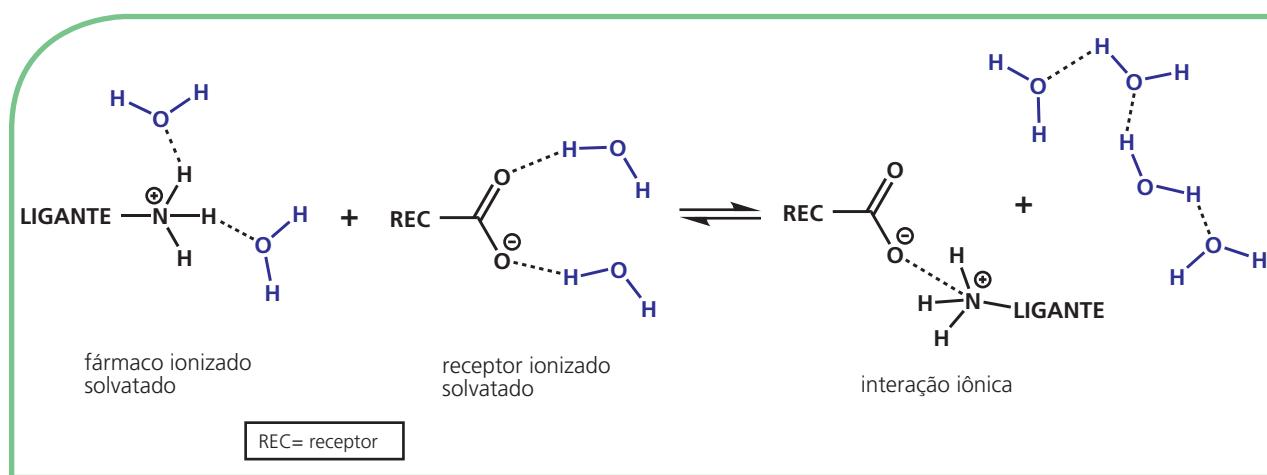


FIGURA 1.5 ▶ INTERAÇÕES IÔNICAS E O RECONHECIMENTO FÁRMACO-RECEPTOR.

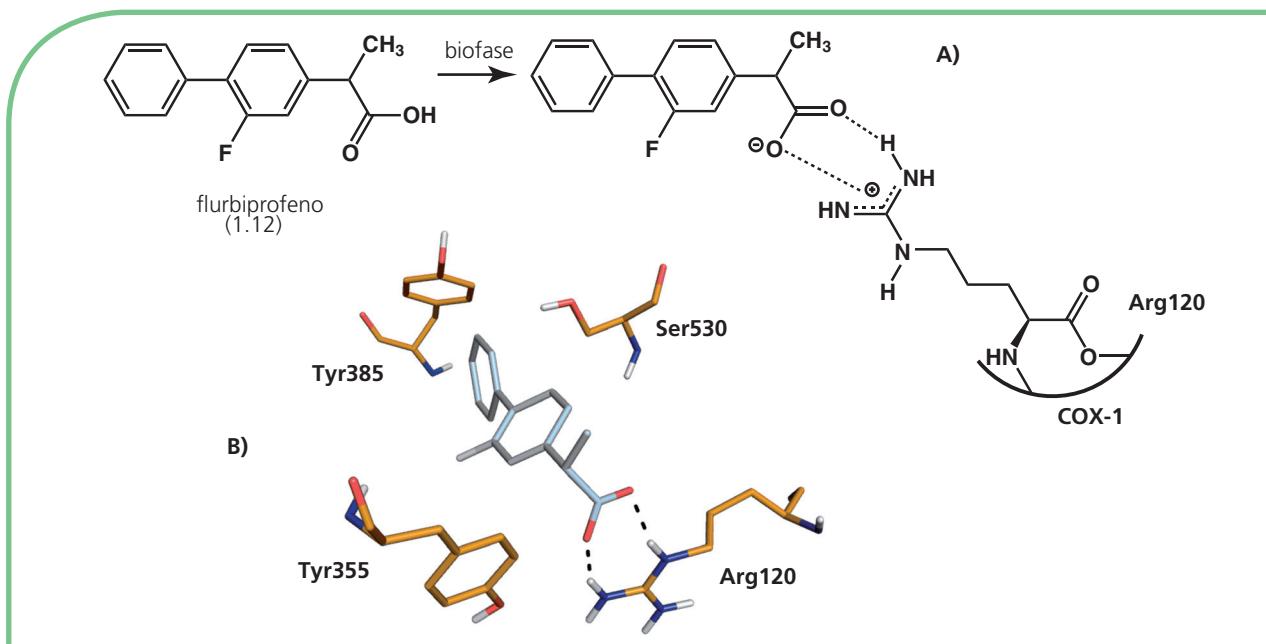


FIGURA 1.6 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DO FLURBIPROFENO (1.12) PELO RESÍDUO ARG120 DO SÍTIO ATIVO DA COX-1 (PDB ID 3N8Z), VIA INTERAÇÃO IÔNICA. (A) VISÃO BIDIMENSIONAL; (B) VISÃO TRIDIMENSIONAL.

A interação do substrato natural da enzima ferro-heme dependente tromboxana sintase (TXS),¹⁷ isto é, endoperóxido cílico de prostaglandina H₂ (PGH₂, 1.13), envolve a formação de uma interação íon-dipolo regiosseletiva entre o átomo de ferro do grupamento heme e o átomo de oxigênio em C-11 da função ambidente endoperóxido, polarizada adequadamente (Figura 1.8A). Esse reconhecimento molecular é responsável pelo rearranjo que permite a transformação da PGH₂ (1.13) no autacoide trombogênico e vasoconstritor tromboxana A₂ (TXA₂). Essas evidências do mecanismo catalítico da enzima auxiliaram o desenvolvimento de fármacos antitrombóticos capazes de atuar como inibidores de TXS (TXSi), explorando a interação de sistemas heterocíclicos apresentando átomo de nitrogênio básico como o íon Fe⁺⁺ do grupamento protético heme (Figura 1.8B), como o ozagrel¹⁸ (1.14).

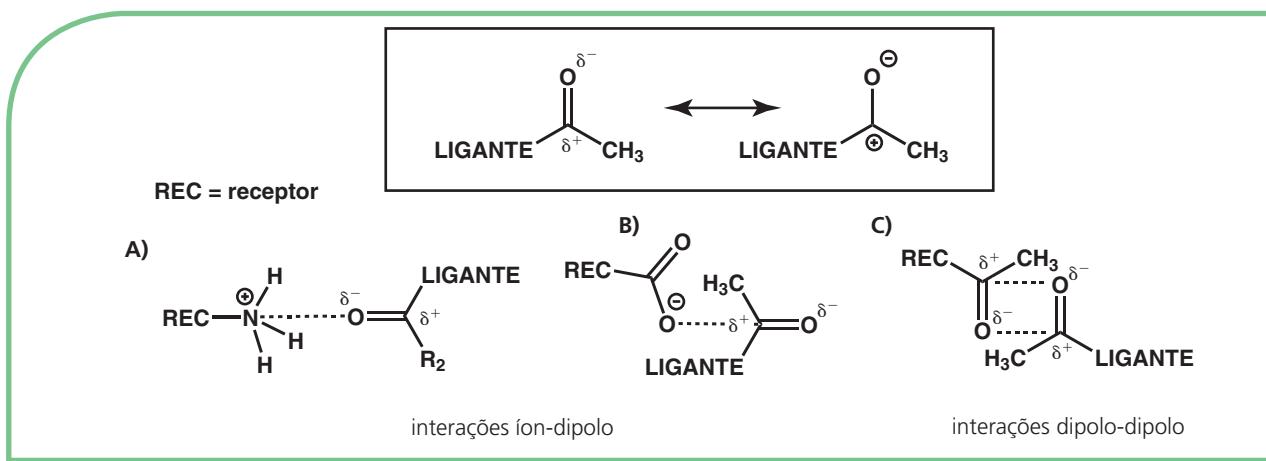


FIGURA 1.7 ► INTERAÇÕES ÍON-DIPOLO (A e B); DIPOLO-DIPOLO (C) E O RECONHECIMENTO FÁRMACO-RECEPTOR.

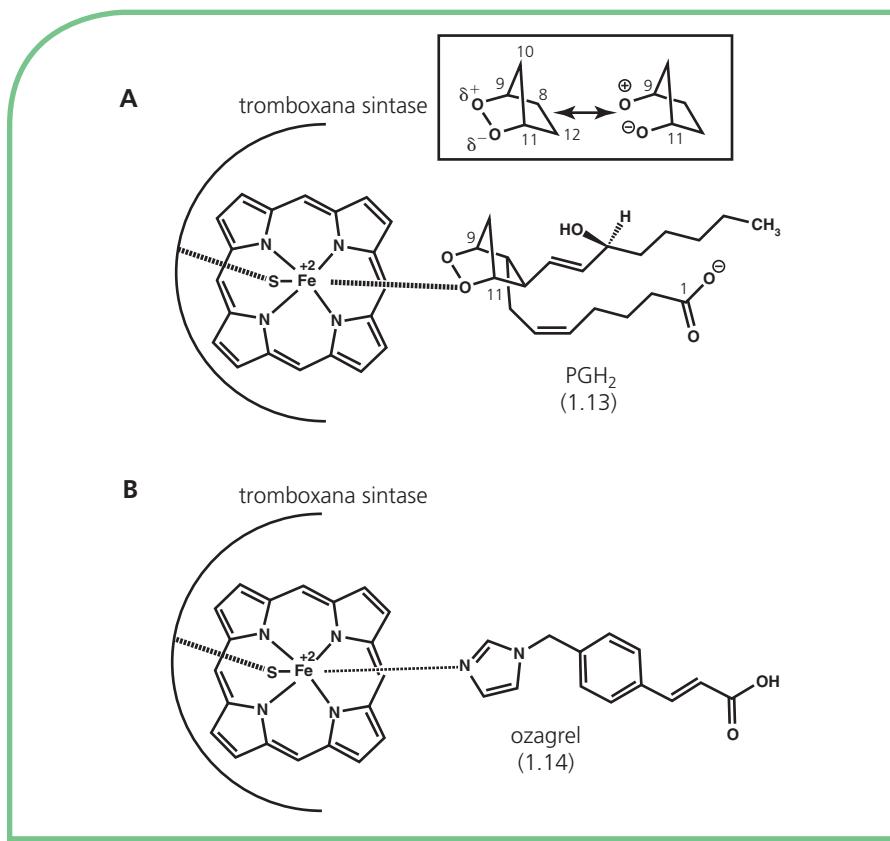


FIGURA 1.8 ▶ RECONHECIMENTO MOLECULAR DA PGH₂ (1.13) (A) E DO OZAGREL (1.14) (B) PELO RESÍDUO Fe-HEME DO SÍTIO ATIVO DA TROMBOXANA SINTASE, VIA INTERAÇÕES ÍON-DIPOLO.

Adicionalmente, anéis aromáticos e heteroaromáticos que estão presentes na grande maioria dos fármacos e também na estrutura dos aminoácidos naturais fenilalanina (1.15), tirosina (1.16), histidina (1.17) e triptofano (1.18) podem participar do processo de reconhecimento molecular de um ligante pelo seu biorreceptor-alvo por meio de interações eletrostáticas do tipo dipolo-dipolo conhecidas como empilhamento- π , empilhamento-T, ou alternativamente interações íon-dipolo denominadas de cátion- π . As interações de empilhamento, que apresentam magnitudes variadas dependendo da orientação e variação dos momentos dipolo dos sistemas aromáticos,¹⁹ são decorrentes da aproximação paralela (empilhamento- π) ou ortogonal (empilhamento-T) de dois sistemas aromáticos que apresentam densidades eletrônicas opostas, como ilustrado na Figura 1.9. Por sua vez, as interações cátion- π são resultado da aproximação espacial de um sistema aromático rico em elétrons e uma espécie catiônica, normalmente resultante da ionização de uma amina primária, secundária ou terciária (Figura 1.9).

Essas interações dipolares têm grande relevância no reconhecimento molecular do fármaco antiAlzheimer, tacrina (THA) (1.19), pelo sítio ativo da enzima acetilcolinesterase (AChE), como ilustrado pela interação de empilhamento- π entre seu anel quinolínico e os resíduos de aminoácidos triptofano e fenilalanina nas posições 84 (Trp84) e 330 (Phe330),²⁰ respectivamente (Figura 1.10A). Ademais, os estudos de Zhong e colaboradores²¹ demonstraram que as interações cátion- π são importantes para o reconhecimento molecular da acetilcolina (1.20) pelos receptores nicotínicos (nAChR), resultando na sua ativação, e que variações eletrônicas no anel indólico do resíduo de triptofano localizado na posição 149 da subunidade α do biorreceptor (Trp149) são capazes de afetar a energia da interação com o grupo trimetilâmônio do neurotransmissor (Figura 1.10B).

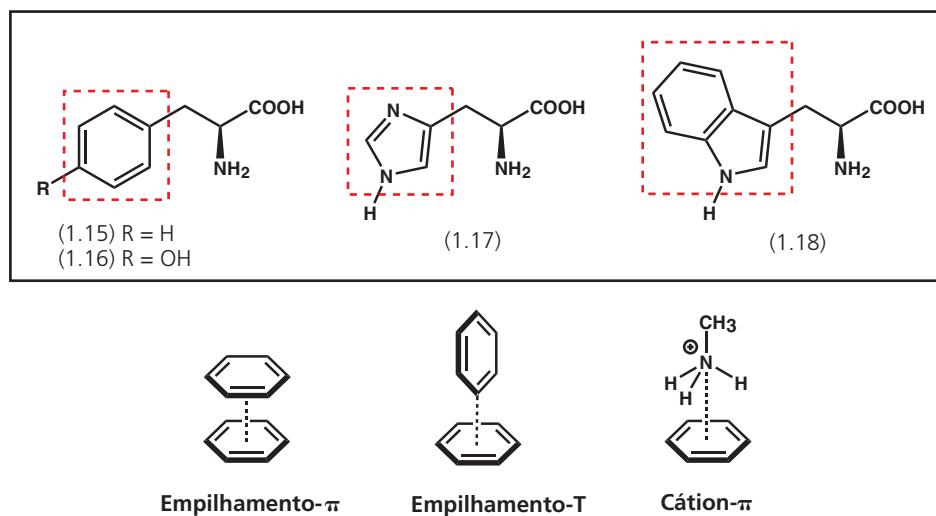


FIGURA 1.9 ► PRINCIPAIS AMINOÁCIDOS AROMÁTICOS E A REPRESENTAÇÃO DE INTERAÇÕES ELETROSTÁTICAS DE EMPILHAMENTO π , EMPILHAMENTO T E CÁTION- π .

Mais recentemente, outro grupo de interações do tipo dipolo-dipolo vem crescendo em importância na compreensão dos aspectos estruturais associados ao reconhecimento ligante-receptor e no planejamento de novos candidatos a fármacos, a saber, as interações de halogênio.²² Essas interações não covalentes atípicas, análogas às interações de hidrogênio, são, em geral, decorrentes da polarização de uma ligação carbono-halogênio com a formação de uma região de potencial eletrostático positivo na superfície do

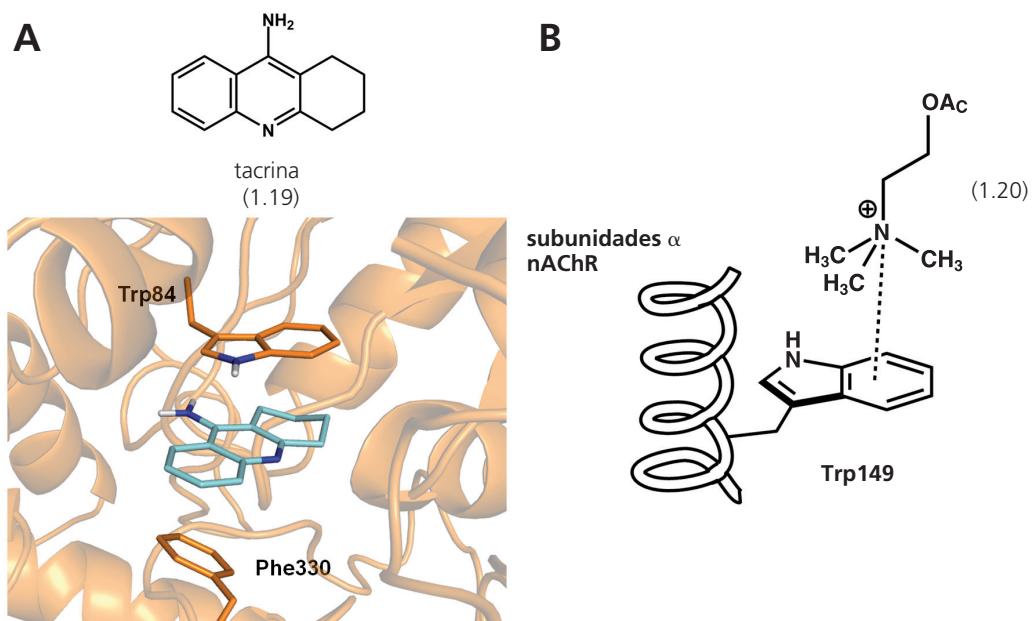


FIGURA 1.10 ► A) RECONHECIMENTO MOLECULAR DA TACRINA (1.19) POR INTERAÇÕES DE EMPILHAMENTO- π COM AMINOÁCIDOS TRP84 E PHE330 DO SÍTIO ATIVO DA ACETILCOLINESTERASE (PDB ID 1ACJ); B) REPRESENTAÇÃO DA INTERAÇÃO CÁTION- π ENVOLVIDA NO RECONHECIMENTO MOLECULAR DO NEUROTRANSMISSOR ACETILCOLINA (1.20) PELO RESÍDUO DE AMINOÁCIDO TRP149 DA SUBUNIDADE α DE RECEPTORES NICOTÍNICOS (nAChR).

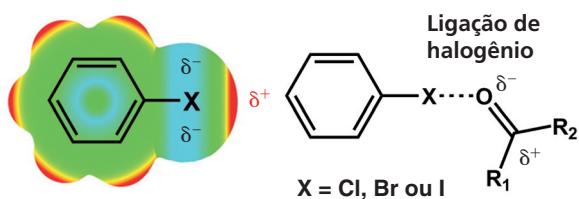


FIGURA 1.11 ► POLARIZAÇÃO DA LIGAÇÃO CARBONO-HALOGÊNIO E A REPRESENTAÇÃO DE INTERAÇÕES DE HALOGÊNIO COM GRUPOS FUNCIONAIS CAPAZES DE ATUAR COM BASES DE LEWIS, COMO O ÁTOMO DE OXIGÊNIO DA SUBUNIDADE CARBONILA.

átomo de halogênio (cloro, bromo ou iodo) do lado oposto do eixo da ligação carbono-halogênio²³ (Figura 1.11). Essa região deficiente de elétrons é capaz de interagir com grupos funcionais capazes de atuar como bases de Lewis, com energias variando entre 1 e 5 kcal/mol, dependendo do átomo de halogênio envolvido (Figura 1.11). Essa interação pode ser ilustrativamente exemplificada na identificação do derivado halogenado²⁴ (1.22), um potente inibidor de catepsina L, planejado pela troca de uma subunidade metila do protótipo precursor (1.21) por um átomo de iodo capaz de fazer ligação de halogênio com o oxigênio carbonílico do resíduo de glicina na posição 61 (Gly61) que resulta em um incremento de 20 vezes na afinidade pelo biorreceptor-alvo (Figura 1.12).

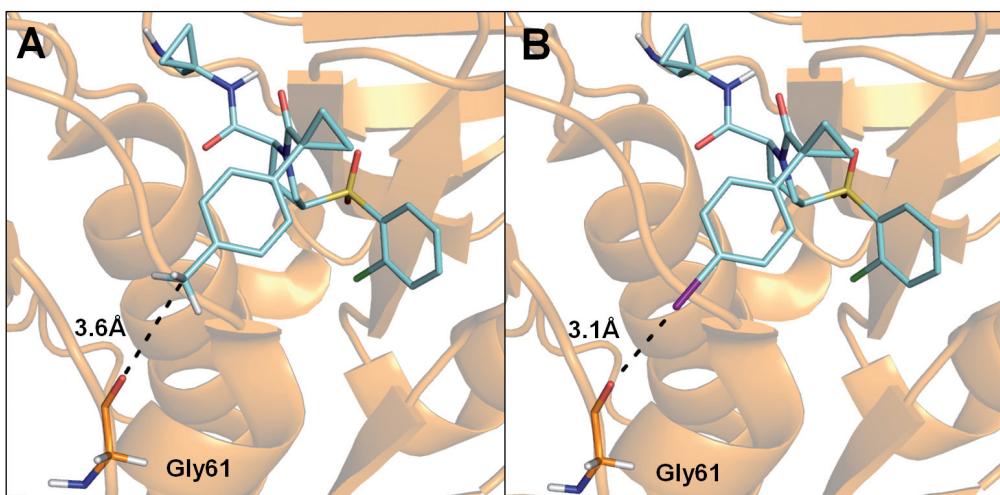
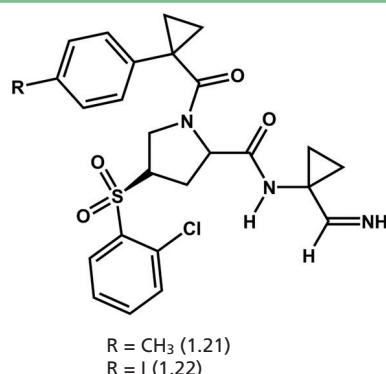


FIGURA 1.12 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DIFERENCIADO DE INIBIDORES DE CATEPSINA L APRESENTADO GRUPOAMENTO METILA (1.21) (A, PDB ID 2XU5) OU ÁTOMO DE IODO (1.22) (B, PDB ID 2YJ8) PELO RESÍDUO GLY81 DO SÍTIO ATIVO, VIA INTERAÇÃO DE HALOGÊNIO.

FORÇAS DE DISPERSÃO

Estas forças atrativas, conhecidas como forças de dispersão de London, tipo de interação de van der Waals, caracterizam-se pela aproximação de moléculas apolares apresentando dipolos induzidos. Estes dipolos são resultado de uma flutuação local transiente (10^{-6} s) de densidade eletrônica entre grupos apolares adjacentes, que não apresentam momento de dipolo permanente. Normalmente, essas interações de fraca energia, isto é, 0,5 a 1,0 kcal/mol, ocorrem em função da polarização transitória de ligações carbono-hidrogênio ou carbono-carbono (Figura 1.13).

Apesar de envolverem fracas energias de interação, as forças de dispersão são de extrema importância para o processo de reconhecimento molecular do fármaco pelo sítio receptor, uma vez que, normalmente, se caracterizam por interações múltiplas que, somadas, acarretam contribuições energéticas significativas. A losartana (1.23), fármaco anti-hipertensivo que atua como antagonista de receptores de angiotensina II do subtipo 1 (AT₁R), faz importantes interações de van der Waals entre suas subunidades *n*-butila e bifenila com os resíduos de aminoácidos hidrofóbicos localizados na bolsa lipofílica L1 (Phe182, Phe171 e Ala163) e com o resíduo de valina em posição 108 (Val108), respectivamente^{25,26} (Figura 1.14).

INTERAÇÕES HIDROFÓBICAS

Como as forças de dispersão, as interações hidrofóbicas são individualmente fracas (cerca de 1 kcal/mol) e ocorrem em função da interação entre cadeias ou subunidades apolares. Normalmente, as cadeias ou subunidades hidrofóbicas, presentes tanto no sítio receptor como no ligante, se encontram organizadamente solvatadas por camadas de moléculas de água. A aproximação das superfícies hidrofóbicas promove o colapso da estrutura organizada da água, permitindo a interação ligante-receptor à custa do ganho entrópico associado à desorganização do sistema. Em vista do grande número de subunidades hidrofóbicas presentes nas estruturas de peptídeos e fármacos, essa interação pode ser considerada importante para o reconhecimento da micromolécula pela biomacromolécula, como exemplificado na Figura 1.15, para a interação do fator de ativação plaquetária (PAF, 1.24) com o seu biorreceptor, por meio do reconhecimento da cadeia alquílica C-16 por uma bolsa lipofílica presente na estrutura da proteína receptora.^{27,28}

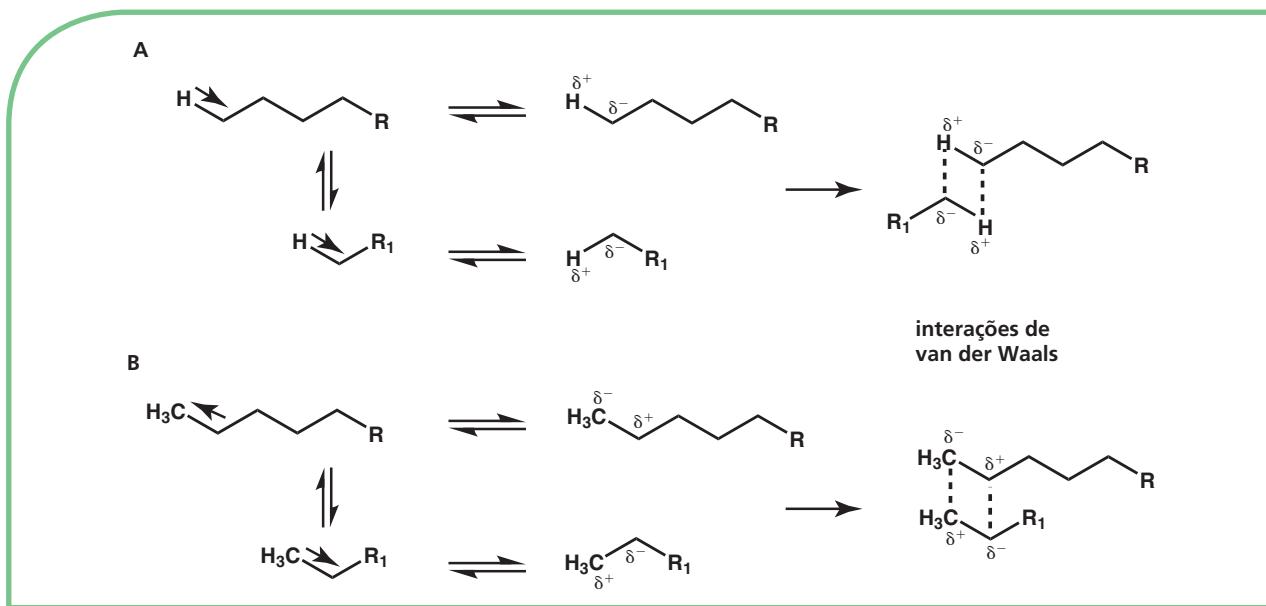


FIGURA 1.13 ▶ INTERAÇÕES DIPOLO-DIPOLO PELA POLARIZAÇÃO TRANSIENTE DE LIGAÇÕES CARBONO-HIDROGÊNIO (A) OU CARBONO-CARBONO (B).

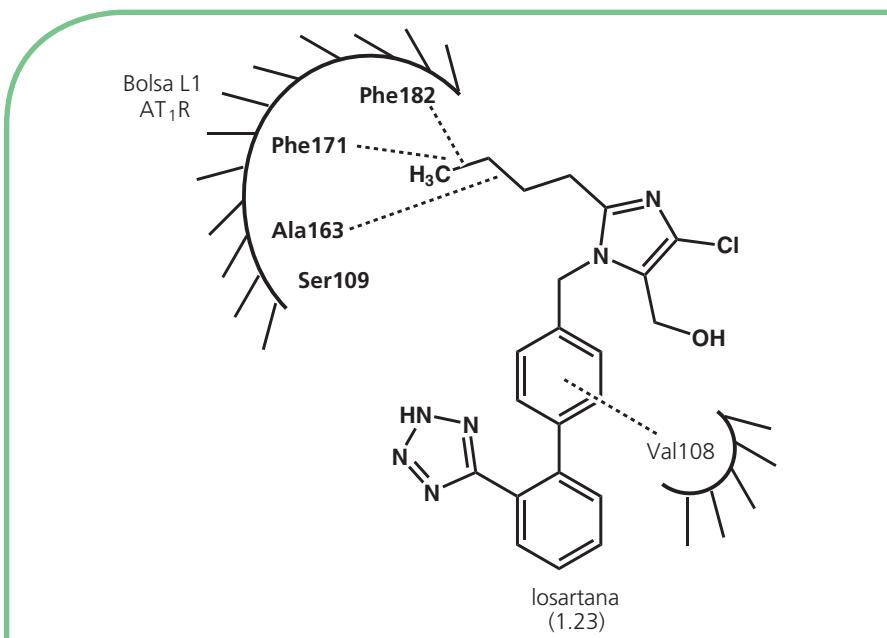


FIGURA 1.14 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DA CADEIA LATERAL E SUBUNIDADE BIFENILA DA LOSARTANA (1.23) POR MEIO DE INTERAÇÕES DE VAN DER WAALS COM RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS HIDROFÓBICOS DO RECEPTOR DE ANGOTENSINA II DO SUBTIPO AT₁.

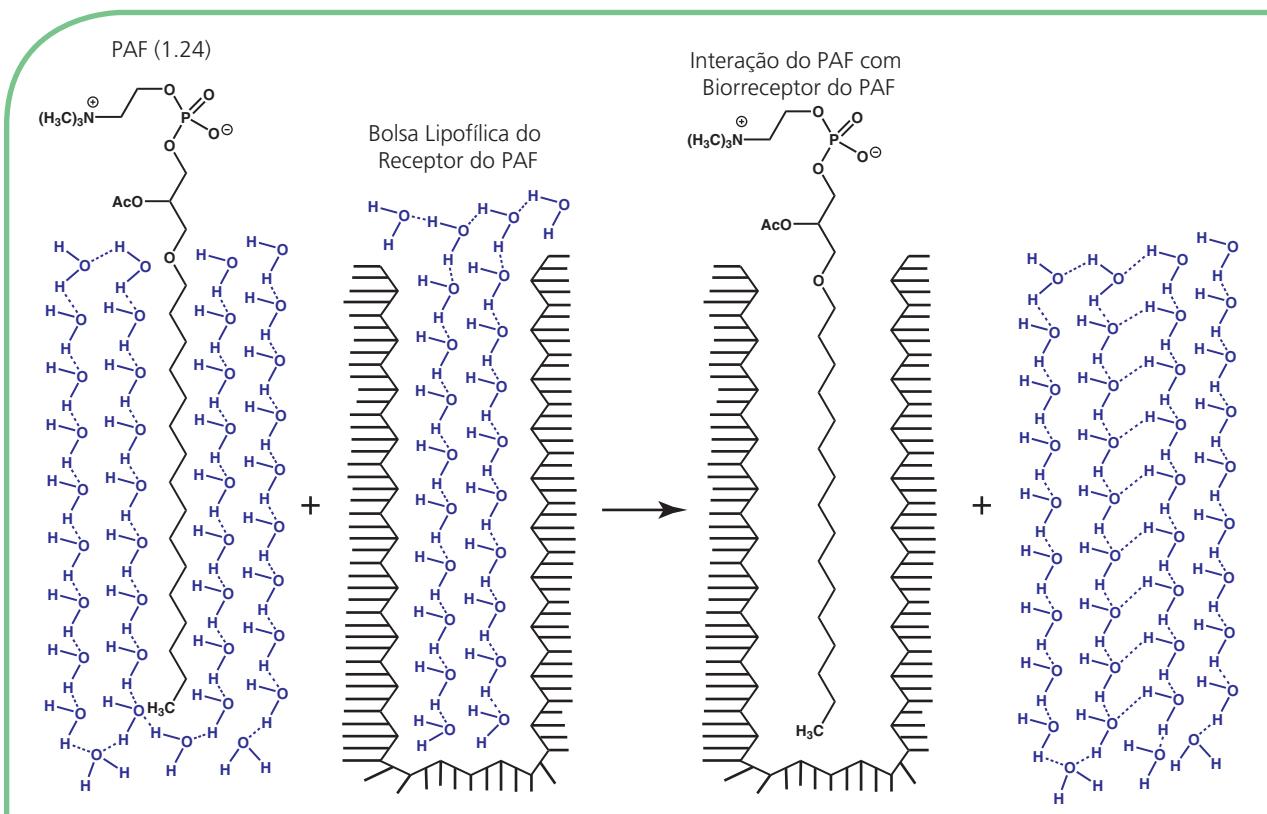


FIGURA 1.15 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DO PAF (1.24) VIA INTERAÇÕES HIDROFÓBICAS COM A BOLSA LIPOFÍLICA DE SEU BIORRECEPTOR.

LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO (LIGAÇÃO-H)

As ligações de hidrogênio (ligação-H) são as mais importantes interações não covalentes existentes nos sistemas biológicos, sendo responsáveis pela manutenção das conformações bioativas de macromoléculas nobres, essenciais à vida: α -hélices e folhas β das proteínas (Figura 1.16) e das bases purinas-pirimidinas dos ácidos nucleicos (Figura 1.17).

Essas interações são formadas entre heteroátomos eletronegativos, como oxigênio, nitrogênio, flúor, e o átomo de hidrogênio de ligações **O-H**, **N-H** e **F-H**, como resultado de suas polarizações (Figura 1.18). Cabe destacar que, apesar de normalmente a ligação C-H não apresentar polarização suficiente para favorecer a formação de ligações de hidrogênio, o forte efeito indutivo promovido pela introdução de dois átomos de flúor pode compensar este comportamento, tornando o grupo diflurometila ($\text{F}_2\text{C-H}$) um bom doador de ligações de hidrogênio²⁹ (Figura 1.18).

Inúmeros exemplos de fármacos que são reconhecidos molecularmente por meio de ligações de hidrogênio podem ser citados: dentre eles, pode-se destacar ilustrativamente a interação do antiviral saquinavir (1.25) com o sítio ativo da protease do vírus HIV-1 (Figura 1.19).^{30,31} O reconhecimento desse inibidor enzimático (1.25) envolve a participação de ligações de hidrogênio com resíduos de aminoácidos do sítio ativo, diretas ou intermediadas por moléculas de água (Figura 1.19).

LIGAÇÃO COVALENTE

As interações intermoleculares envolvendo a formação de ligações covalentes são de elevada energia, ou seja, 77 a 88 kcal/mol. Considerando-se que, na temperatura comum dos sistemas biológicos (30 a 40 °C), ligações mais fortes do que 10 kcal/mol são dificilmente rompidas em processos não enzimáticos, os complexos fármaco-receptores envolvendo ligações covalentes são raramente desfeitos, culminando em inibição enzimática irreversível ou inativação do sítio receptor.

Essa interação, envolvendo a formação de uma ligação sigma entre dois átomos que contribuem cada qual com um elétron, eventualmente, ocorre com fármacos que apresentam grupamentos com acentuado caráter eletrofílico e bionucleófilos orgânicos. O ácido acetilsalicílico (AAS, 1.26) e a benzilpenicilina (1.27) são dois exemplos de fárma-

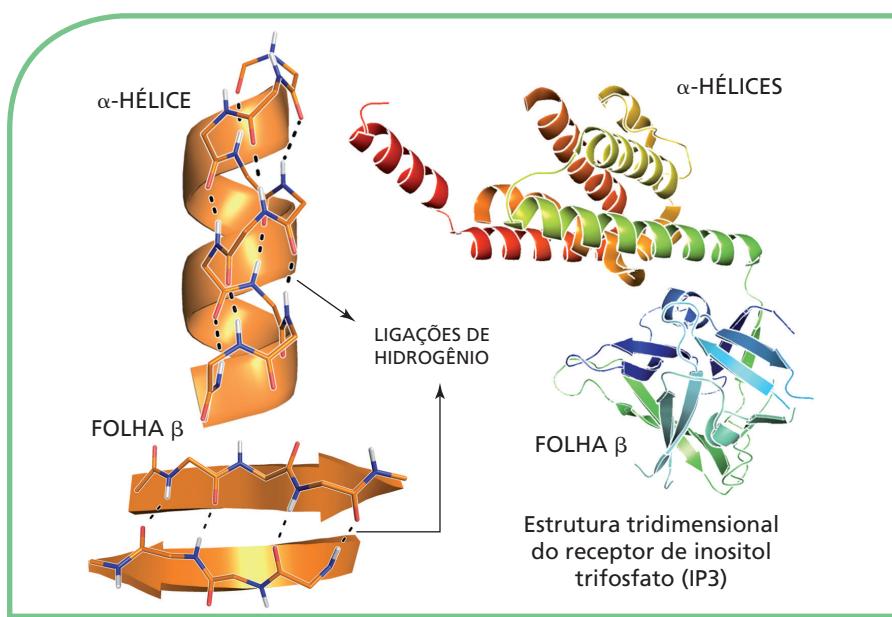


FIGURA 1.16 ▶ LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO E A MANUTENÇÃO DA ESTRUTURA TERCIÁRIA DE PROTEÍNAS (P. EX., RECEPTOR DO INOSITOL TRIFOSFATO COMPLEXADO COM IP3, PDB ID 1N4K).

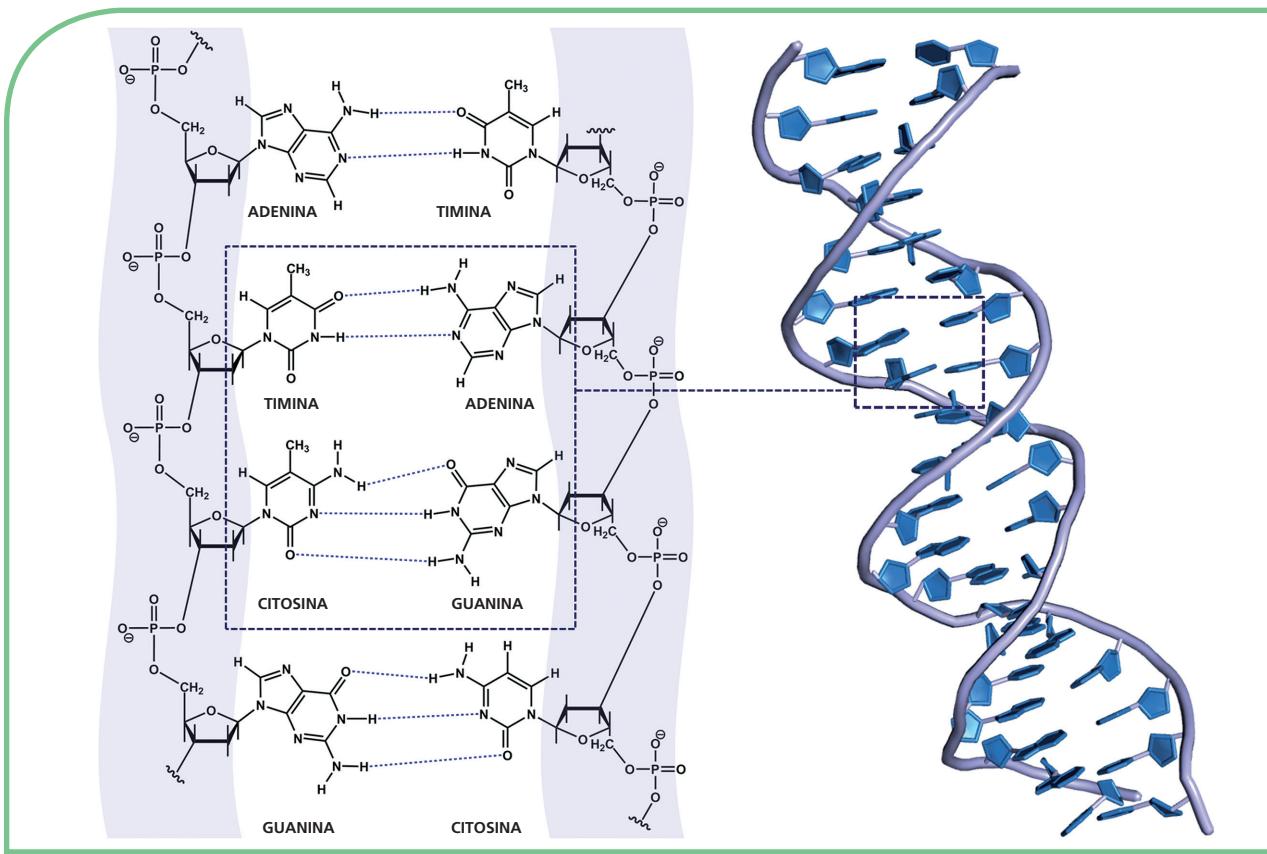


FIGURA 1.17 ► LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO E A MANUTENÇÃO DA ESTRUTURA DUPLA FITA DO DNA.

cos que atuam como inibidores enzimáticos irreversíveis, cujo reconhecimento molecular envolve a formação de ligações covalentes.*

O ácido acetilsalicílico (1.26) apresenta propriedades anti-inflamatórias e analgésicas decorrentes do bloqueio da biossíntese de prostaglandinas inflamatogênicas e pró-álgesicas, devido à inibição da enzima prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS).³²

* No Capítulo 6 é apresentado o mecanismo de ação do AAS.

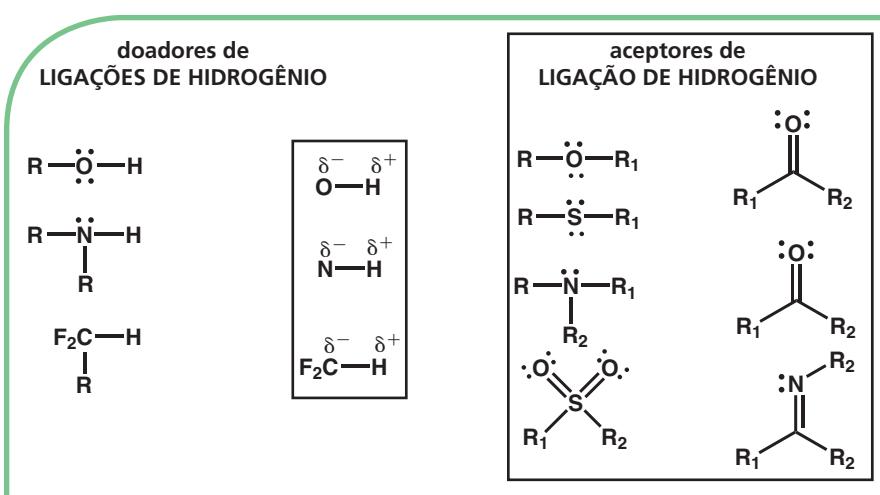


FIGURA 1.18 ► EXEMPLOS DE GRUPOS FUNCIONAIS CAPAZES DE ATUAR COMO DOADORES E ACETORES DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO.

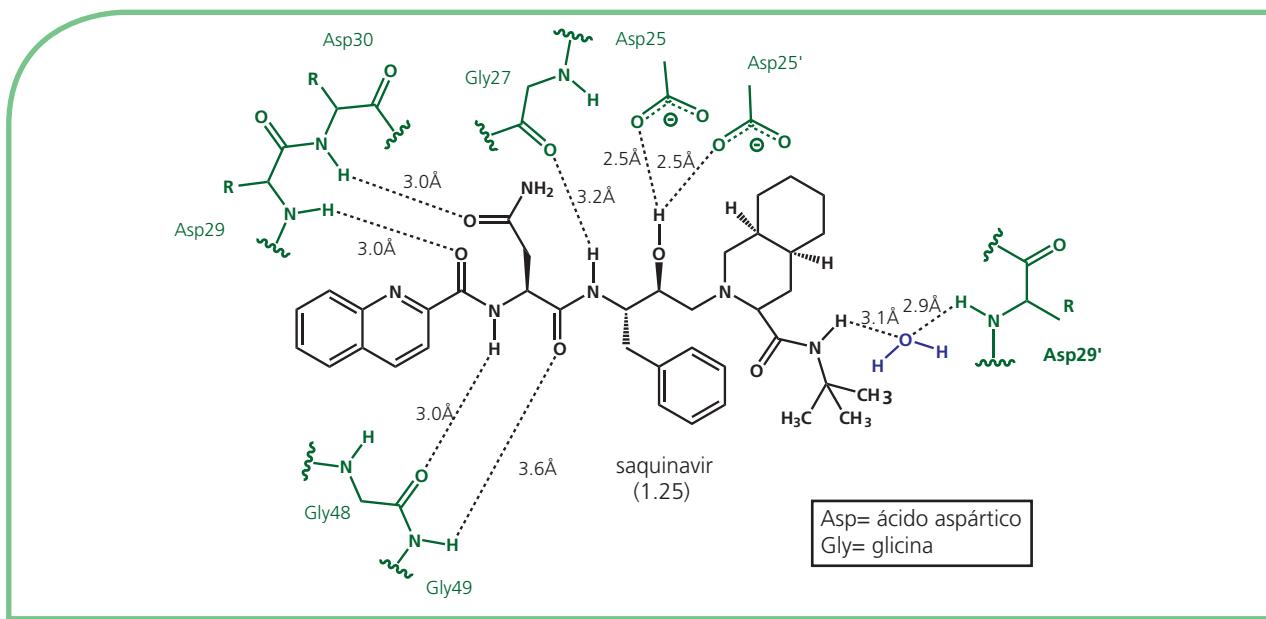


FIGURA 1.19 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DO ANTIVIRAL SAQUINAVIR (1.25) PELO SÍTO ATIVO DA ASPARTIL PROTEASE DO HIV-1, VIA INTERAÇÕES DE HIDROGÊNIO. AS DISTÂNCIAS EM ANGSTROM (Å) ENTRE OS ÁTOMOS ENVOLVIDOS ESTÃO REPRESENTADAS NAS LINHAS TRACEJADAS QUE INDICAM A INTERAÇÃO.

Essa interação fármaco-receptor é de natureza irreversível em função da formação de uma ligação covalente resultante do ataque nucleofílico da hidroxila do aminoácido serina-530 (Ser530) ao grupamento eletrofílico acetila presente em (1.26) (Figura 1.20), promovendo a transacetilação deste sítio enzimático.³³ Cabe salientar que atualmente se considera que a inibição da enzima prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS) pelo AAS é um processo *pseudoirreversível*, pois o fragmento Ser-530-OAc é hidrolisado de forma tempo-dependente regenerando a enzima PGHS.

Outro exemplo diz respeito ao mecanismo de ação da benzilpenicilina (Penicilina G, 1.27) e outras penicilinas semissintéticas, classificadas como antibióticos β -lactâmicos, que atuam inibindo a *D,D*-carboxipeptidase, enzima responsável pela formação de ligações peptídicas cruzadas no peptideoglicano da parede celular bacteriana, por meio de processos de transpeptidação³⁴ (Figura 1.21).

O reconhecimento molecular deste fármaco (1.27) pelo sítio catalítico da enzima é função de sua similaridade estrutural com a subunidade terminal *D*-Ala-*D*-Ala do peptideoglicano. Entretanto, a ligação peptídica inclusa no anel β -lactâmico de 1.27 se caracteriza como um centro altamente eletrofílico, como ilustra o mapa de potencial eletrostático descrito na Figura 1.21. Dessa forma, o ataque nucleofílico da hidroxila do resíduo serina da triade catalítica da enzima ao centro eletrofílico de 1.27 promove a abertura do anel de quatro membros e a formação de uma ligação covalente, responsável pela inibição irreversível da enzima (Figura 1.21).

Cabe destacar que, a despeito das ligações covalentes serem aquelas de mais alta energia, seu uso no planejamento de fármacos de ação dinâmica, isto é, que modulam alvos moleculares próprios do organismo humano, não é a mais adequada em função da potencial toxicidade oriunda da reatividade dos grupos eletrofílicos da estrutura do fármaco com diferentes bionucleófilos orgânicos e também da irreversibilidade decorrente da interação com o biorreceptor-alvo. Por outro lado, é extremamente frequente a ocorrência desse tipo de interação na estrutura de fármacos quimioterápicos, incluindo antibacterianos, antiprotozoários, antifúngicos e antitumorais, onde a inibição irreversível de alvo molecular do patógeno causador da doença é desejável.

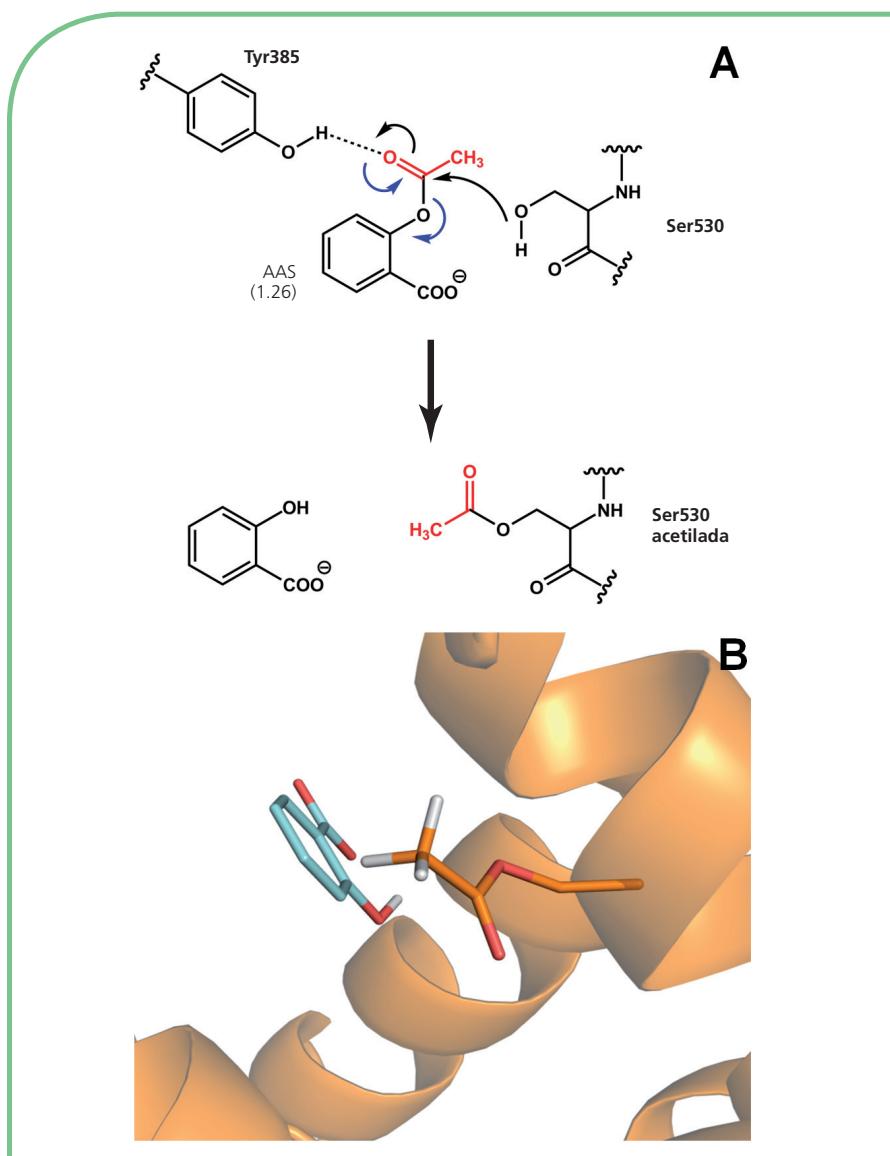


FIGURA 1.20 ► MECANISMO DE INIBIÇÃO IRREVERSÍVEL DA PGHS PELO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO (AAS, 1.26), VIA FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO COVALENTE. A) MECANISMO HIPOTÉTICO DA REAÇÃO; B) REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DO SÍTO ATIVO DA PGHS INIBIDA PELA ACETILAÇÃO DO RESÍDUO DE SERINA 530 (SER530) (PDB ID 1PTH).

FATORES ESTEREOQUÍMICOS E CONFORMACIONAIS ENVOLVIDOS NO RECONHECIMENTO MOLECULAR LIGANTE-SÍTO RECEPTOR

Apesar do modelo chave-fechadura ser útil na compreensão dos eventos envolvidos no reconhecimento molecular ligante-receptor, caracteriza-se como uma representação parcial da realidade, uma vez que as interações entre a biomacromolécula (receptor) e a micromolécula (fármaco) apresentam características tridimensionais dinâmicas. Dessa forma, o volume molecular do ligante, as distâncias interatômicas e o arranjo espacial entre os grupamentos farmacofóricos compõem aspectos fundamentais na compreensão das diferenças na interação fármaco-receptor. A [Figura 1.22](#), que descreve o complexo entre a enzima HMG-CoA redutase pelo inibidor atorvastatina (1.28), ilustra a

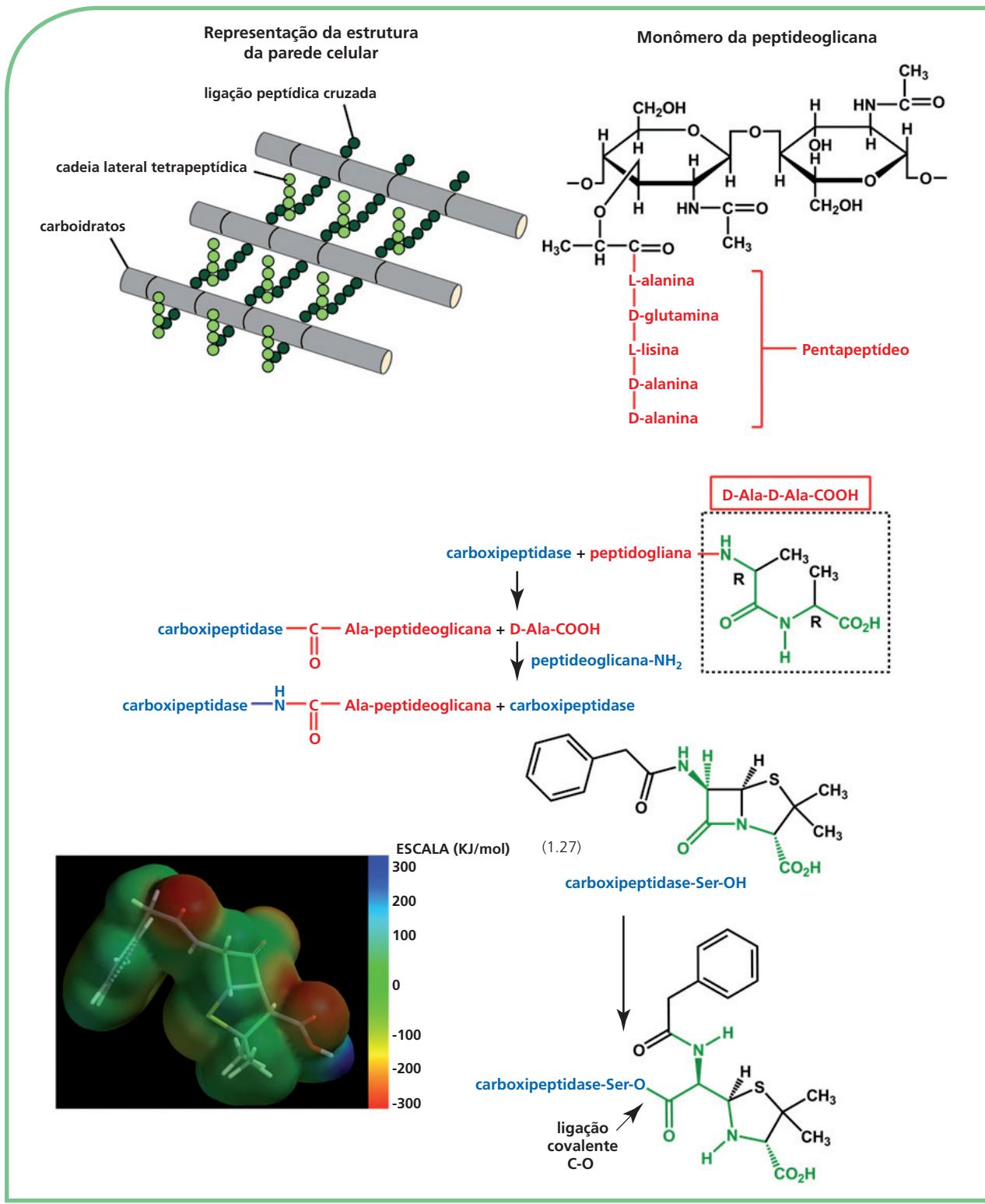


FIGURA 1.21 ► ESTRUTURA GERAL DA PAREDE CELULAR BACTERIANA E O MECANISMO DE INIBIÇÃO IRREVERSÍVEL DA CARBOXIPEPTIDASE PELA BENZILPENICILINA (1.27), VIA FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO COVALENTE. À ESQUERDA, MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO DE 1.27.

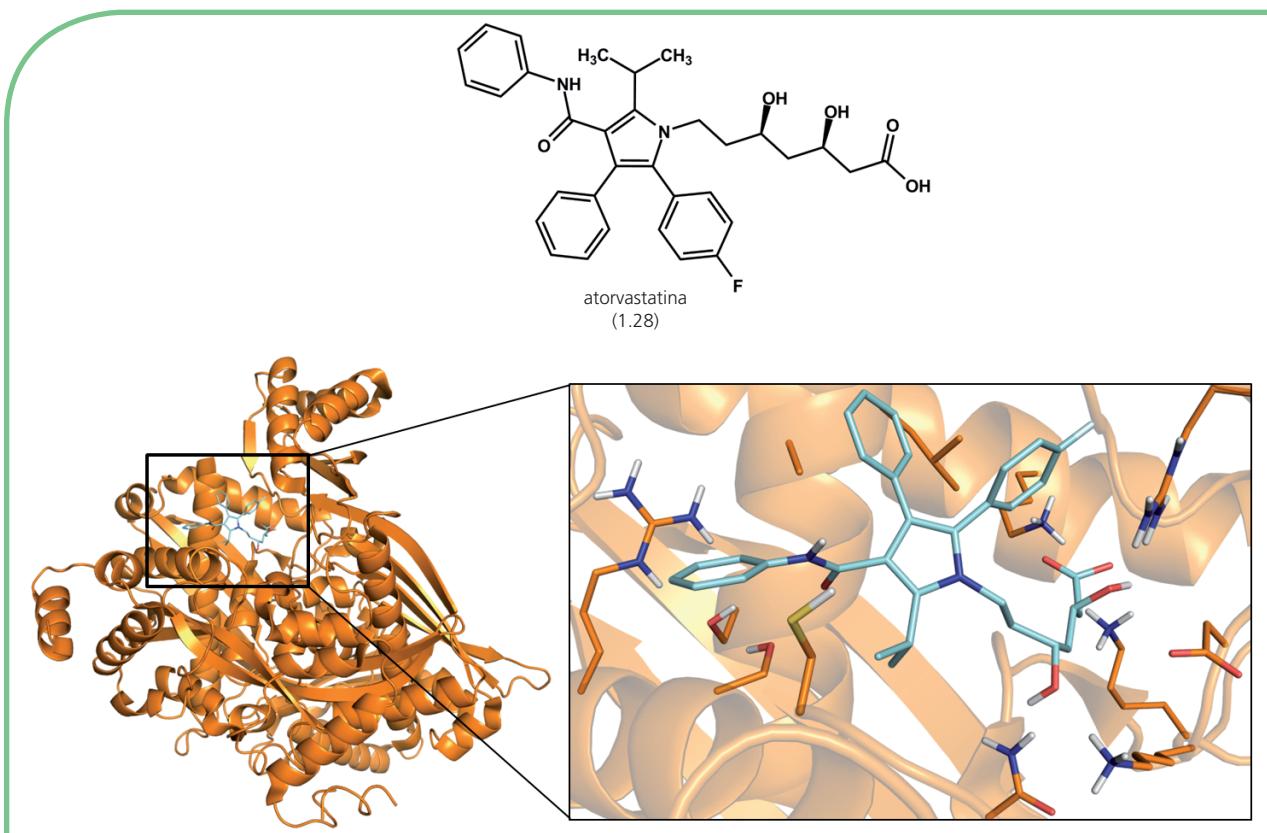


FIGURA 1.22 ► REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DO COMPLEXO DA HIDROXIMETILGLUTARIL-COENZIMA A (HMG-CoA) REDUTASE COM O INIBIDOR ATORVASTATINA (1.28, CARBONOS NA COR AZUL) (PDB ID 1HWK), COM DESTAQUE PARA OS RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS QUE COMPÕEM O SÍTIO RECEPTOR (LARANJA).

natureza tridimensional do complexo biomacromolécula-micromolécula, com destaque para o arranjo espacial dos aminoácidos que constituem o sítio ativo e participam do reconhecimento molecular do fármaco.³⁵

FLEXIBILIDADE CONFORMACIONAL DE PROTEÍNAS E LIGANTES: TEORIA DO ENCAIXE INDUZIDO

As características de complementaridade rígida do modelo chave-fechadura de Fisher limitam, por vezes, a compreensão e a avaliação do perfil de afinidade de determinados ligantes por seu sítio molecular de interação, podendo induzir a erros no planejamento estrutural de novos candidatos a fármacos.³⁶ Nesse contexto, Koshland introduziu os aspectos dinâmicos que governam o reconhecimento molecular de uma micromolécula por uma biomacromolécula, na sua teoria do encaixe induzido,³⁷ propondo que o acomodamento conformacional recíproco no sítio de interação, até que se atinja os menores valores de energia do complexo, constitui aspecto fundamental na compreensão de diferenças na interação fármaco-receptor (Figura 1.23).³⁸

Essa interpretação pode ser ilustrativamente empregada na compreensão dos diferentes modos de interação de inibidores da enzima acetilcolinesterase (1.29) e (1.30), planejados molecularmente como análogos estruturais da tacrina³⁹ (1.19), primeiro fármaco aprovado para o tratamento da doença de Alzheimer. Cabe destacar que, a despeito da presença da subunidade farmacofórica tetraidro-4-aminoquinolina, comum aos três inibidores, suas orientações e consequentemente seus modos de reconhecimento molecular pelo sítio ativo da enzima são parcialmente distintos (Figura 1.24), comprometendo análises de relação estrutura-atividade que considerem apenas a similaridade

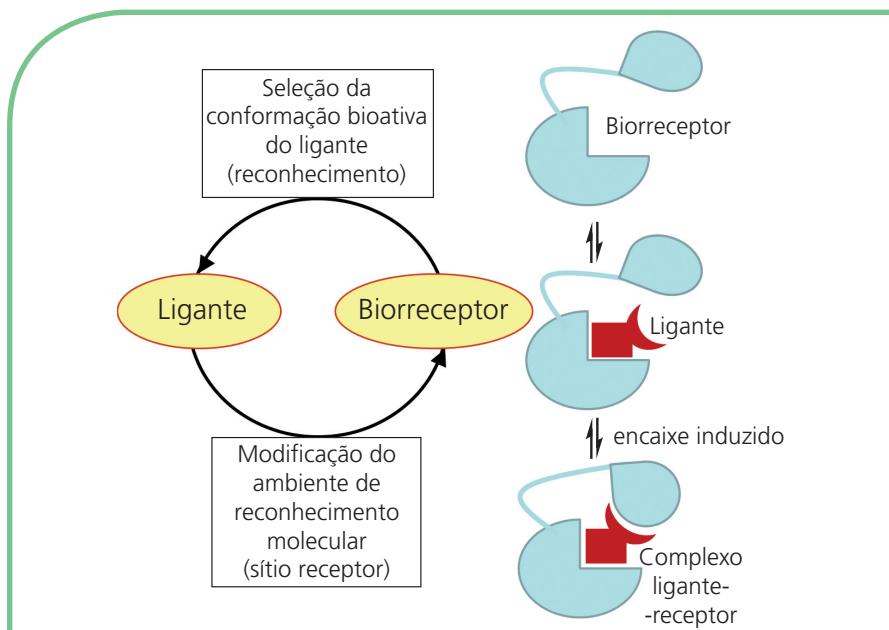


FIGURA 1.23 ▶ REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE INDUÇÃO E SELEÇÃO DA CONFORMAÇÃO BIOATIVA DE LIGANTES E RECEPTORES.

estrutural entre estes compostos. Por essa razão, deve-se considerar que pequenas alterações estruturais em compostos de uma série congênere podem promover grandes mudanças no perfil de interação com o biorreceptor-alvo, resultando em eventuais falsas interpretações comparativas da contribuição de variações do perfil estereoeletrônico de grupos funcionais para a atividade farmacológica evidenciada.

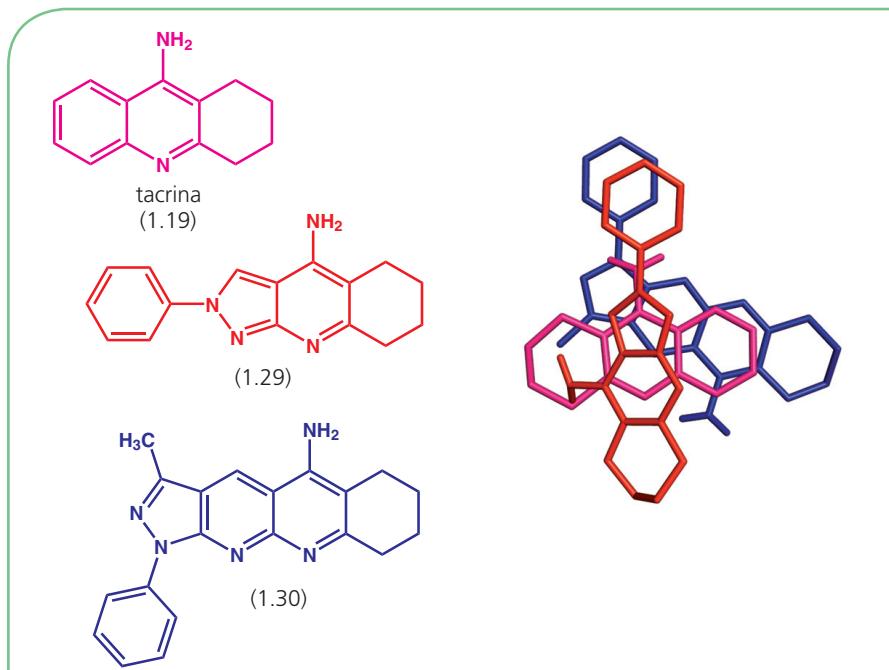


FIGURA 1.24 ▶ SOBREPOSIÇÃO DAS CONFORMAÇÕES BIOATIVAS DOS COMPOSTOS (1.29, VERMELHO) E (1.30, AZUL), ANÁLOGOS ESTRUTURAIS DA TACRINA (1.19, ROSA), APÓS RECONHECIMENTO MOLECULAR PELO SÍTIO ATIVO DA ACETILCOLINESTERASE (AChE).

Por outro lado, ao analisar as interações envolvidas no reconhecimento molecular do derivado peptoide (1.31), capaz de inibir a metaloproteinase-3 de matriz (MMP-3) com $K_i = 5$ nM, pode-se identificar a importância da subunidade *N*-metil-carboxamida terminal, que participa diretamente do atracamento ao biorreceptor-alvo por meio de duas interações de hidrogênio, como ilustra a Figura 1.25.⁴⁰ Considerando-se esse perfil de ligação, poderia-se antecipar, *a priori*, que o derivado (1.32), análogo estrutural de 1.31, que apresenta um grupamento hidrofóbico fenila substituindo o grupo *N*-metil-carboxamida terminal, deveria apresentar menor afinidade pelo sítio ativo da enzima-alvo, devido à inabilidade de essa subunidade estrutural reproduzir o reconhecimento molecular por meio de interações de hidrogênio. Entretanto, a alteração conformacional no sítio ativo de MMP-3 induzida pela presença do composto (1.32) promove a exposição do aminoácido hidrofóbico leucina (Leu), que passa a participar do reconhecimento da subunidade hidrofóbica fenila presente neste inibidor, mantendo sua afinidade pela enzima-alvo ($K_i = 9$ nM) (Figura 1.25).⁴⁰

Dessa forma, pode-se considerar que a interação entre um bioligante e uma proteína deve ser imaginada como uma colisão entre dois objetos flexíveis. Nesse processo, o choque inicial do ligante com a superfície da proteína deve provocar o deslocamento de algumas moléculas de água superficiais sem, entretanto, garantir o acesso imediato ao sítio ativo, uma vez que o transporte do ligante ao sítio de reconhecimento molecular deve envolver múltiplas etapas de acomodamento conformacional que produzam o modo de interação mais favorável entálpica e entropicamente.^{36,41,42} Ademais, alguns estudos termodinâmicos (ΔG) da interação ligante-receptor permitiram evidenciar uma relação entre o balanço dos termos entálpico e entrópico de ligantes de diferentes receptores acoplados à proteína G,⁴³ com o seu perfil agonista e antagonista, como, por exemplo, foi descrito para ligantes de receptores canabinoides dos subtipos CB₁ e CB₂,⁴⁴ de adenosina dos subtipos A₁ e A_{2A},⁴⁵ de serotonina do subtipo 5-HT_{1A},⁴⁶ e de histamina

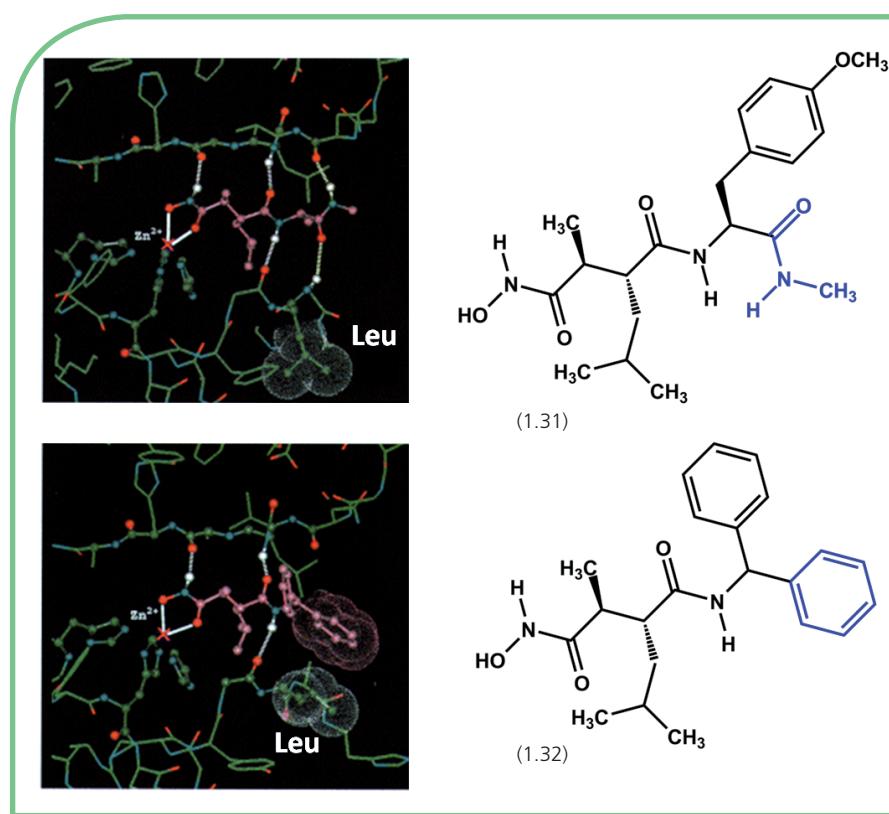


FIGURA 1.25 ▶ ESTRUTURA CRYSTALOGRÁFICA DOS COMPLEXOS ENTRE OS INIBIDORES PEPTOIDES (1.31) E (1.32) COM A METALOPROTEASE-3 (MMP-3) DE MATRIZ.

Fonte: Adaptada de Rockwell e colaboradores.⁴⁰

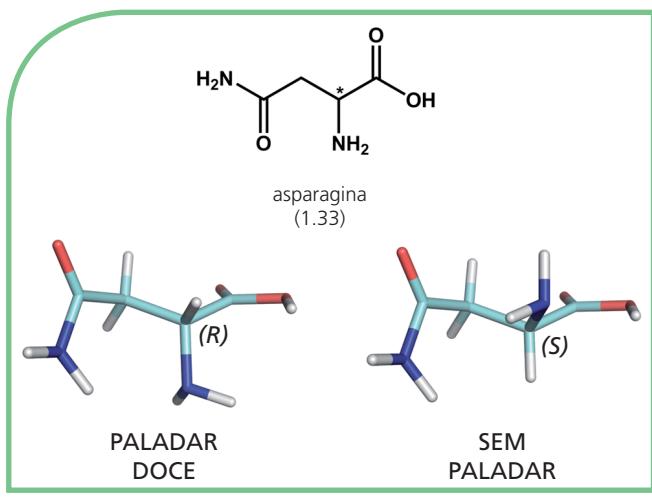


FIGURA 1.26 ▶ PALADAR DOS ESTEREOISÔMEROS DA ASPARAGINA (1.33).

do subtipo H₃.⁴⁷ Entretanto, a falta de correlação sistemática entre o perfil termodinâmico e atividade intrínseca de ligantes de alguns biorreceptores, como os receptores de histamina do subtipo H₁,⁴⁸ leva a crer que estudos termodinâmicos adicionais com maior número de ligantes torna-se necessário para caracterizar a discriminação de agonistas, agonistas parciais e antagonistas.⁴⁹

CONFIGURAÇÃO ABSOLUTA E ATIVIDADE BIOLÓGICA

Um dos primeiros relatos da literatura que indicava a relevância da estereoquímica, mais particularmente da configuração absoluta na atividade biológica, deve-se a Piutti em 1886,⁵⁰ que descreveu o isolamento e as diferentes propriedades gustativas dos enantiômeros do aminoácido asparagina (1.33) (Figura 1.26). Essas diferenças de propriedades organolépticas expressavam modos diferenciados de reconhecimento molecular do ligante pelo sítio receptor, nesse caso, localizado nas papilas gustativas, traduzindo sensações distintas.⁵¹

Entretanto, a importância da configuração absoluta na atividade biológica⁵²⁻⁵⁵ permaneceu obscura até a década de 60, quando, infelizmente, ocorreu a tragédia da talidomida⁵⁶ (1.34), decorrente do uso de sua forma racêmica, indicada para a redução do desconforto matinal em gestantes, resultando no nascimento de cerca de 12.000 crianças com malformações congênitas. Posteriormente, o estudo do metabolismo de 1.34 permitiu evidenciar que o enantiômero (S) era seletivamente oxidado, levando à formação de espécies eletrofílicas reativas do tipo areno-óxido, que reagem com nucleófilos bio-orgânicos, induzindo teratogenicidade,⁵⁷ enquanto o antípoda (R) era responsável pelas propriedades hipnótico-sedativas (Figura 1.27).

Esse episódio foi o marco de nova era no desenvolvimento de novos fármacos. Nesse momento, a quiralidade passou a ter destaque e a investigação cuidadosa do comportamento de fármacos quirais^{58,59} ou homoquirais^{60,61} frente a processos capazes de

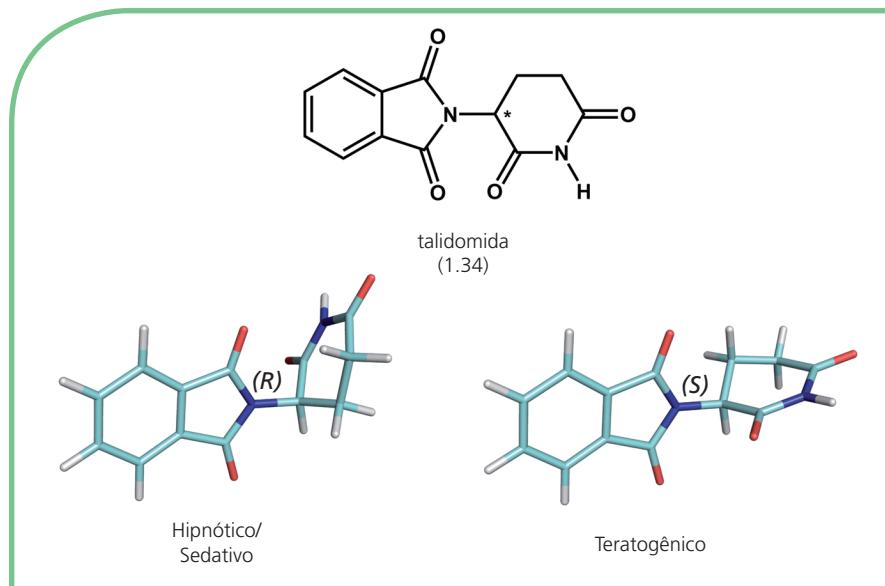


FIGURA 1.27 ▶ PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DOS ESTEREOISÔMEROS DA TALIDOMIDA (1.34).

influenciar tanto a fase farmacocinética, isto é, absorção, distribuição, metabolismo e eliminação, quanto à fase farmacodinâmica, ou seja, interação fármaco-receptor, passou a ser fundamental antes de sua liberação para uso clínico.

O diferente perfil farmacológico de substâncias quirais foi pioneiramente racionalizado por Easson e Stedman.⁶² Esses autores propuseram que o reconhecimento molecular de um ligante com um único centro assimétrico pelo biorreceptor envolveria a participação de, ao menos, três pontos. Nesse caso, o reconhecimento do antípoda correspondente pelo mesmo sítio receptor não seria tão eficaz devido à perda de um ou mais pontos de interação complementar ou a novas interações repulsivas com resíduos de aminoácidos do receptor-alvo.⁶³ Esses autores inspiraram o modelo de três pontos ilustrado na **Figura 1.28**, que considera o mecanismo de reconhecimento estereoespecífico do propranolol (1.35) pelos receptores β -adrenérgicos.⁶⁴ O enantiômero (S)-(1.35) é reconhecido por esses receptores por meio de três principais pontos de interação:⁶⁵ a) sítio de interação hidrofóbica, que reconhece o grupamento lipofílico naftila de 1.35; b) sítio aceptor de ligação de hidrogênio, que reconhece o átomo de hidrogênio da hidroxila da cadeia lateral de 1.35; e c) sítio de alta densidade eletrônica, que reconhece o grupamento amina da cadeia lateral (ionizado em pH fisiológico), por meio de interações do tipo íon-dipolo. Nesse caso particular, o enantiômero (R)-(1.35) apresenta-se praticamente destituído das propriedades β -bloqueadoras terapeuticamente úteis, devido à menor afinidade decorrente da perda do ponto de interação (b), apresentando, por sua vez, propriedades indesejadas relacionadas à inibição da conversão do hormônio da tireoide tiroxina à tri-iodotironina (Figura 1.29B).

Assim, de acordo com as regras de nomenclatura recomendadas pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), o enantiômero terapeuticamente útil de um fármaco, que apresenta maior afinidade e potência pelos receptores-alvo, é denominado de eutômero, enquanto seu antípoda, ligante de menor afinidade pelo biorreceptor, denominase distômero.⁶⁶

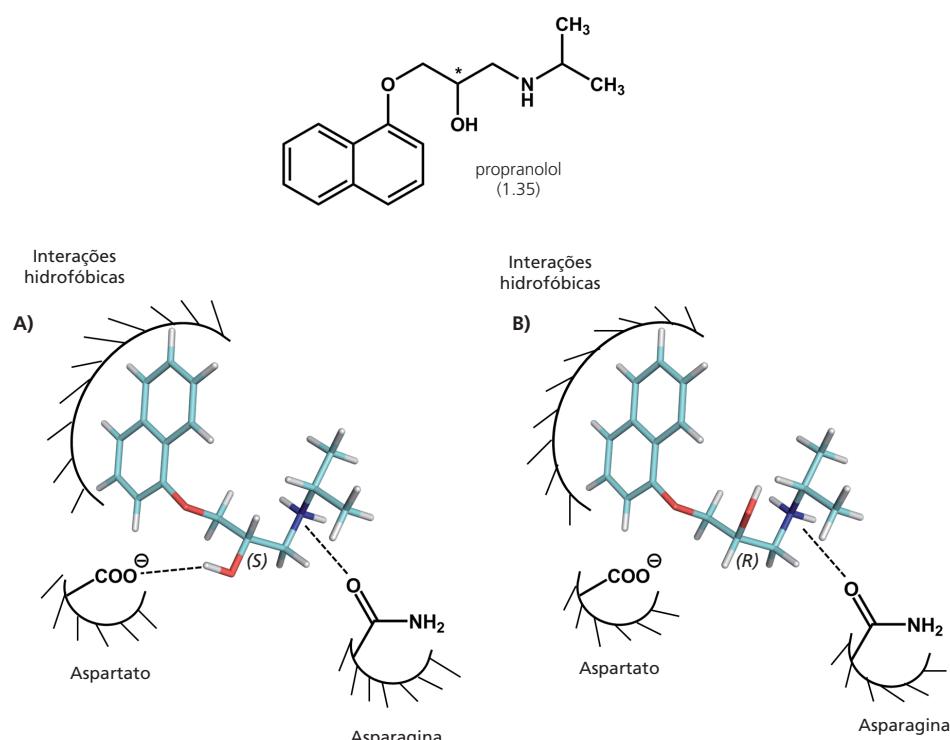


FIGURA 1.28 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DOS GRUAMENTOS FARMACOFÓRICOS DOS ENANTIÔMEROS DO PROPRANOLOL (1.35) PELOS RECEPTORES β_1 - E β_2 -ADRENÉRGICOS. (A) RECONHECIMENTO DO ENANTIÔMERO S ENVOLVENDO 3 PONTOS DE INTERAÇÃO; (B) ANTÍPODA R ENVOLVENDO 2 PONTOS DE INTERAÇÃO COM O BIORRECEPTOR.

As diferenças de atividade intrínseca de fármacos enantioméricos, possuindo as mesmas propriedades físico-químicas, excetuando-se o desvio do plano da luz polarizada, é função da natureza quiral dos aminoácidos, que constituem a grande maioria de biomacromoléculas receptoras e que se caracterizam como alvos terapêuticos “otimamente ativos”. Dessa forma, a interação entre os antípodas do fármaco quiral com receptores quirais, leva à formação de complexos fármaco-receptores diastereoisoméricos que apresentam propriedades físico-químicas e energias diferentes, podendo, assim, promover respostas biológicas distintas.

CONFIGURAÇÃO RELATIVA E ATIVIDADE BIOLÓGICA*

* O Capítulo 7 ilustra aspectos particulares da importância da configuração relativa na atividade farmacológica dos fármacos.

De forma análoga, alterações da configuração relativa dos grupamentos farmacofóricos de um ligante alicíclico ou olefínico também podem repercutir diretamente no seu reconhecimento pelo biorreceptor, uma vez que as diferenças de arranjo espacial dos grupos envolvidos nas interações com o sítio receptor implicam em perda de complementaridade e consequente redução de sua afinidade e atividade intrínseca, como ilustra a Figura 1.29.

Um exemplo clássico que ilustra a importância da isomeria geométrica (*cis-trans*, *E-Z*) na atividade biológica de um fármaco diz respeito ao desenvolvimento do estrogênio sintético, *E*-dietilestilbestrol (1.36), cuja configuração relativa dos grupamentos *para*-hidroxifenila mimetiza o arranjo molecular do ligante natural, isto é, hormônio estradiol (1.37), necessário ao seu reconhecimento pelos receptores de estrogênio intracelulares, como ilustra a Figura 1.30.⁶⁷ O estereoisômero *Z* do dietilestilbestrol (1.38) possui distância entre estes grupamentos farmacofóricos (7,7 Å) inferior àquela necessária ao reconhecimento pelo biorreceptor e, consequentemente, apresenta atividade estrogênica 14 vezes menor do que o isômero *E* correspondente (1.36) (Figura 1.31).

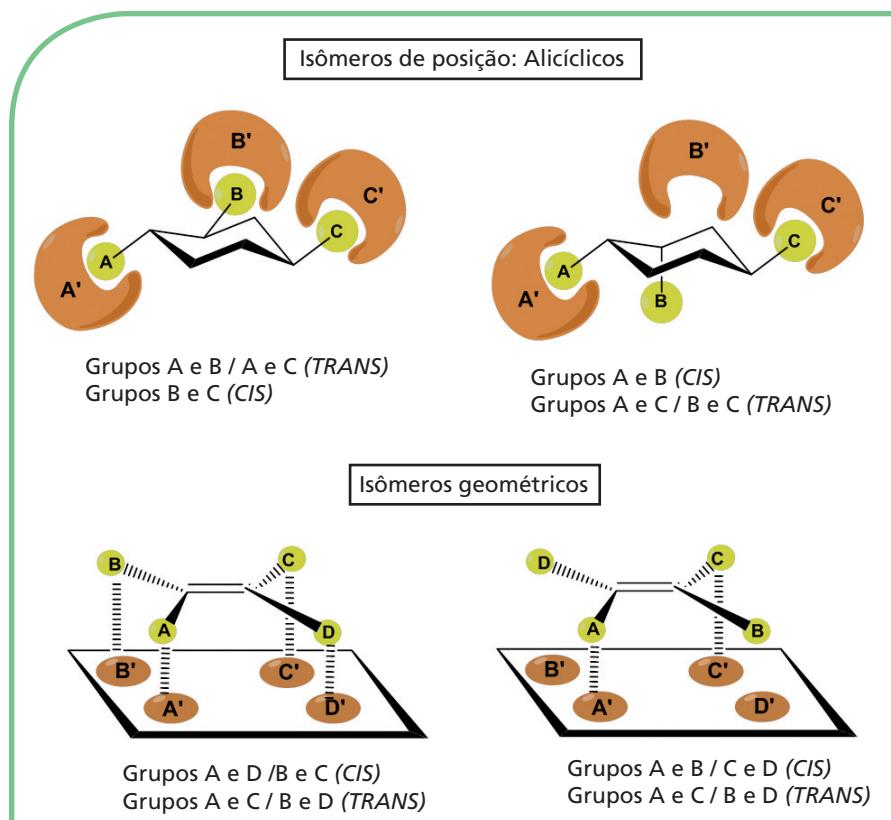


FIGURA 1.29 ▶ CONFIGURAÇÃO RELATIVA E RECONHECIMENTO MOLECULAR LIGANTE-RECEPTOR.

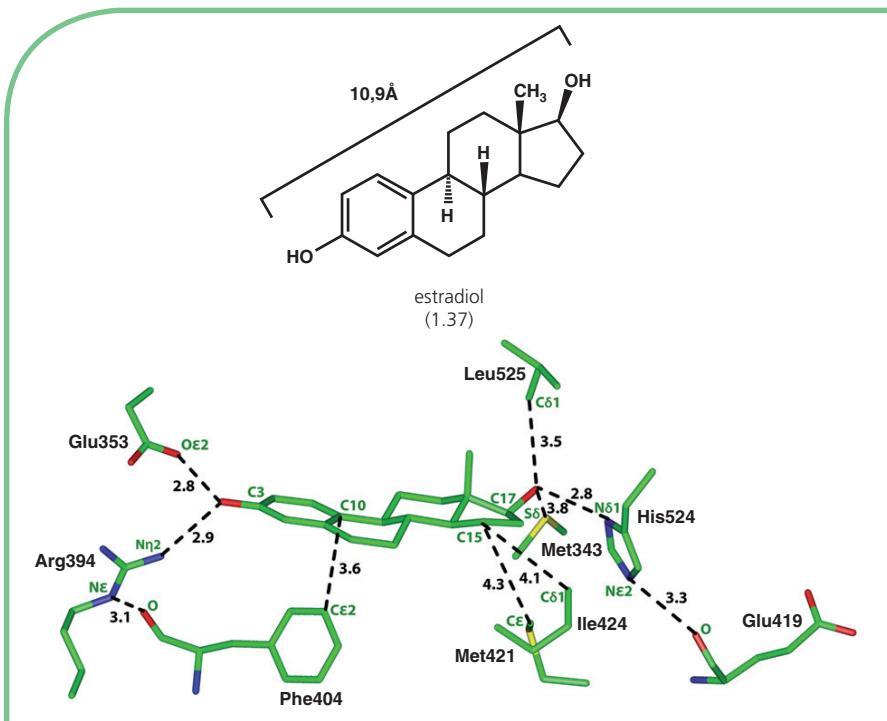


FIGURA 1.30 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DO ESTRADIOL (1.37) PELOS RECEPTORES DE ESTROGÊNIO HUMANOS.

Fonte: Adaptada de Baker e colaboradores.⁶⁷

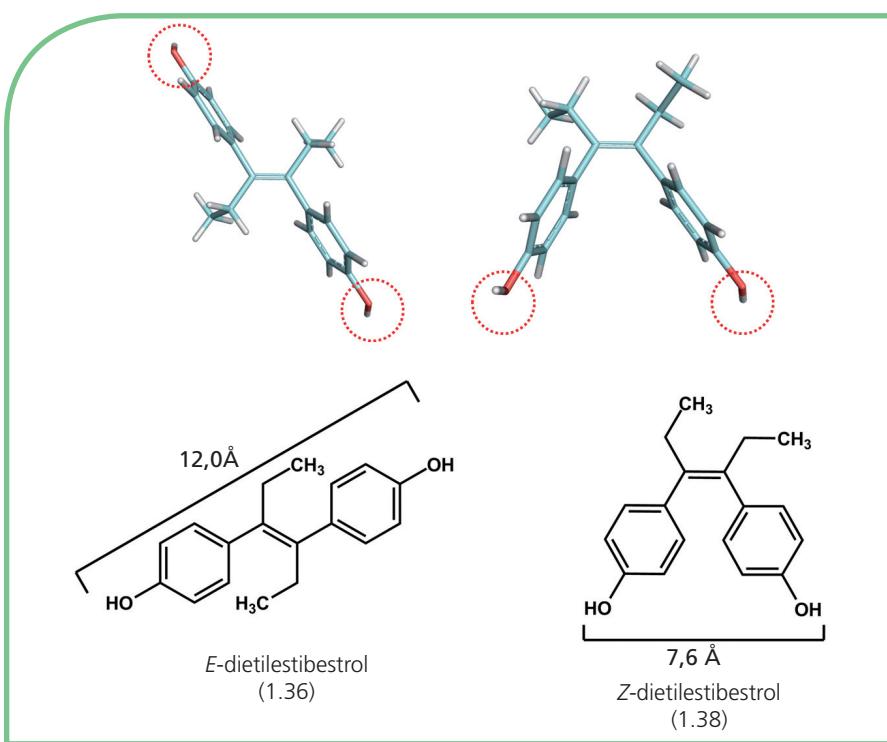


FIGURA 1.31 ► RELAÇÃO ESPACIAL ENTRE OS GRUPAMENTOS FARMACOFÓRICOS DOS ESTEREOISÔMEROS (E) (1.36) E (Z) (1.38) DO DIETILESTILBESTROL.

CONFORMAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA*

* O Capítulo 7 discute em detalhes os aspectos conformacionais envolvidos na atividade dos fármacos.

As variações do arranjo espacial envolvendo a rotação de ligações covalentes sigma, associadas a energias inferiores à 10 kcal/mol, caracterizam as conformações. Esse tipo particular de estereoisomeria extremamente relevante para o reconhecimento molecular de uma micromolécula endógena (p. ex., dopamina, serotonina, histamina, acetilcolina) ou exógena explica as diferenças de atividade biológica, dependentes da modulação de diferentes subtipos de receptores (p. ex., D1/D2/D3/D4/D5, 5-HT1/5-HT2/5-HT3, H1/H2/H3, muscarínicos/nicotínicos, respectivamente).⁶⁸ A despeito da possível utilização de métodos *in silico*, difração de raios X ou diferentes técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) na caracterização de confôrmeros de uma substância bioativa, a baixa barreira energética necessária para a conversão de um arranjo conformacional em outro à temperatura do corpo humano, 37 °C, dificulta a inambígua identificação da conformação responsável pelo reconhecimento molecular pelo biorreceptor-alvo, o qual pode ainda induzir alterações no confôrmero mais estável de um ligante de forma a viabilizar interações complementares mais favoráveis.⁶⁹ Entretanto, algumas estratégias de modificação molecular que resultam em restrição conformacional, como a anelação e o efeito-*ortho*, são capazes de deslocar o equilíbrio de uma população de confôrmeros para uma conformação definida, que permitirá a melhor caracterização das relações entre conformação-atividade farmacológica.

A acetilcolina (1.39), importante neurotransmissor do sistema nervoso parassimpático, é capaz de sensibilizar dois subtipos de receptores: os *receptores muscarínicos*, predominantemente localizados no sistema nervoso periférico, e os *receptores nicotínicos*, localizados predominantemente no sistema nervoso central. Entretanto, os diferentes efeitos biológicos promovidos por esse autocoide são decorrentes de interações que envolvem distintos arranjos espaciais dos grupamentos farmacofóricos com o sítio receptor correspondente, isto é, grupamento acetato e grupamento amônio quaternário. Eles podem, preferencialmente, adotar uma conformação de afastamento máximo, conhecida como *antiperiplanar*, ou conformações onde estes grupos apresentam um ângulo de 60° entre si, conhecidas como *sinclinais* (Figura 1.32).⁷⁰ O reconhecimento seletivo dos bioligantes muscarina (1.40) e nicotina (1.41) por estes subtipos de receptores permitiu evidenciar que a conformação *antiperiplanar* de 1.39 está envolvida na interação com os receptores muscarínicos, enquanto a conformação *sinclinal* de 1.39 é a responsável pelo reconhecimento molecular do subtipo nicotínico.

QUIRALIDADE AXIAL E ATIVIDADE BIOLÓGICA**

** O Capítulo 7 estudará os aspectos conformacionais envolvidos na atividade dos fármacos.

Quando variações do arranjo espacial de moléculas, envolvendo a rotação de ligações covalentes sigma, estão associadas a barreiras energéticas superiores a 30 kcal/mol, observa-se o “congelamento” de conformações enantioméricas, que podem ser caracterizadas isoladamente.^{71,72} Esse tipo particular de estereoisomeria, chamada atropoisomerismo,⁶⁶ foi inicialmente descrita em bifenilas *ortofuncionalizadas* (1.42) (Figura 1.33), mas grande número de funções orgânicas distintas podem apresentar este fenômeno, caracterizado pela presença de propriedades quirais em ligantes que não apresentam centro estereogênico.⁷³

Diversos fármacos e substâncias bioativas que apresentam e dependem desta propriedade estrutural para o reconhecimento molecular pelo biorreceptor-alvo são conhecidos,^{71,72} como os exemplos representados pelo gossipol e pela metaqualona, discutidos nos Capítulos 3 e 7, respectivamente. Cabe destacar também o antibiótico atropoisomérico de origem natural vancomicina⁷⁴ (1.43) (Figura 1.34), que era, até o final da década de 80, o último recurso terapêutico para o tratamento de certas infecções provocadas por bactérias resistentes à penicilina e seus derivados. O mecanismo de ação desse antibiótico envolve sua complexação, por meio de ligações de hidrogênio, com o peptídeo D-Ala-D-Ala precursor do peptideoglicano que reforça a membrana externa, impedindo sua formação e provocando a consequente morte bacteriana⁷⁴ (Figura 1.34).

Outro importante exemplo de protótipo atropoisomérico é o derivado heterotricíclico telenzepina (1.44) (Figura 1.35), cujo enantiômero dextrorrotatório apresenta atividade como antagonista seletivo de receptores muscarínicos do subtipo M₁ 500 vezes superior

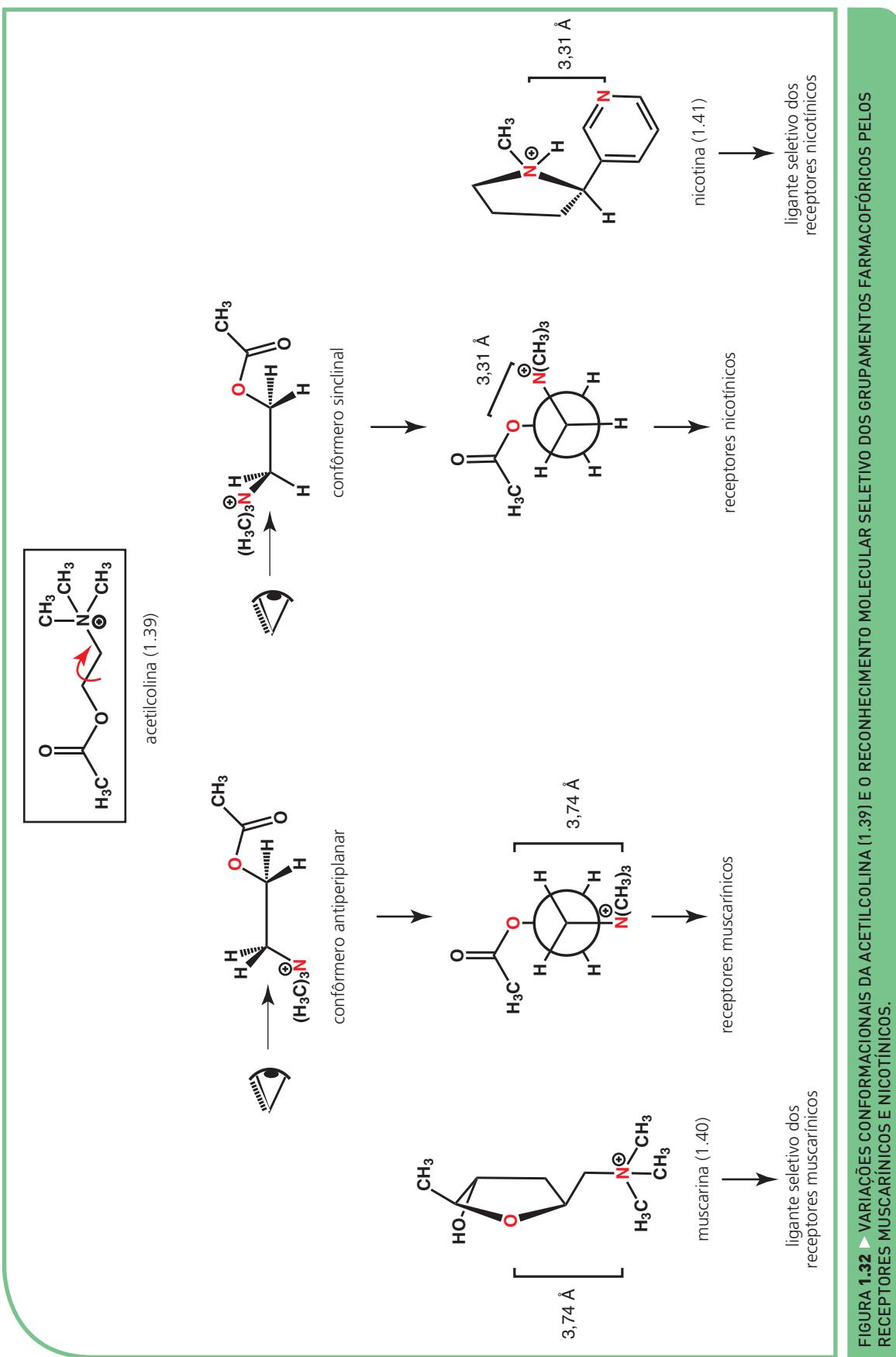


FIGURA 1.32 ▶ VARIACÕES CONFORMACIONAIS DA ACETILCOLINA (1.39) E O RECONHECIMENTO MOLECULAR SELETIVO DOS GRUPOAMENTOS FARMACOFÓRICOS PELOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS E NICOTÍNICOS.

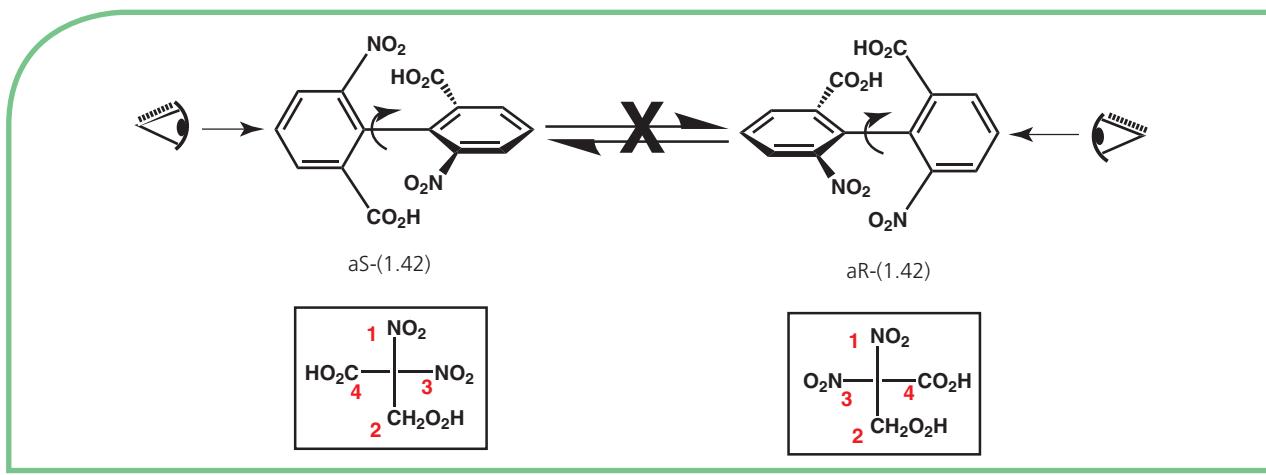


FIGURA 1.33 ▶ ATROPOISOMERISMO DA BIFENILA ORTO-FUNCIONALIZADA (1.42).

ao correspondente antípoda ótico em preparações de córtex cerebral de ratos.⁷⁵ Esta relação atropoisomérica é resultante do efeito-*orto* do grupo metila ligado ao anel tiofenila de 1.44 sobre a cadeia lateral que contém o grupo metilpiperazina, introduzindo uma barreira energética de 35 kcal/mol para a interconversão das conformações “borboleta” classicamente evidenciadas em sistemas tricíclicos dessa natureza (Figura 1.35).

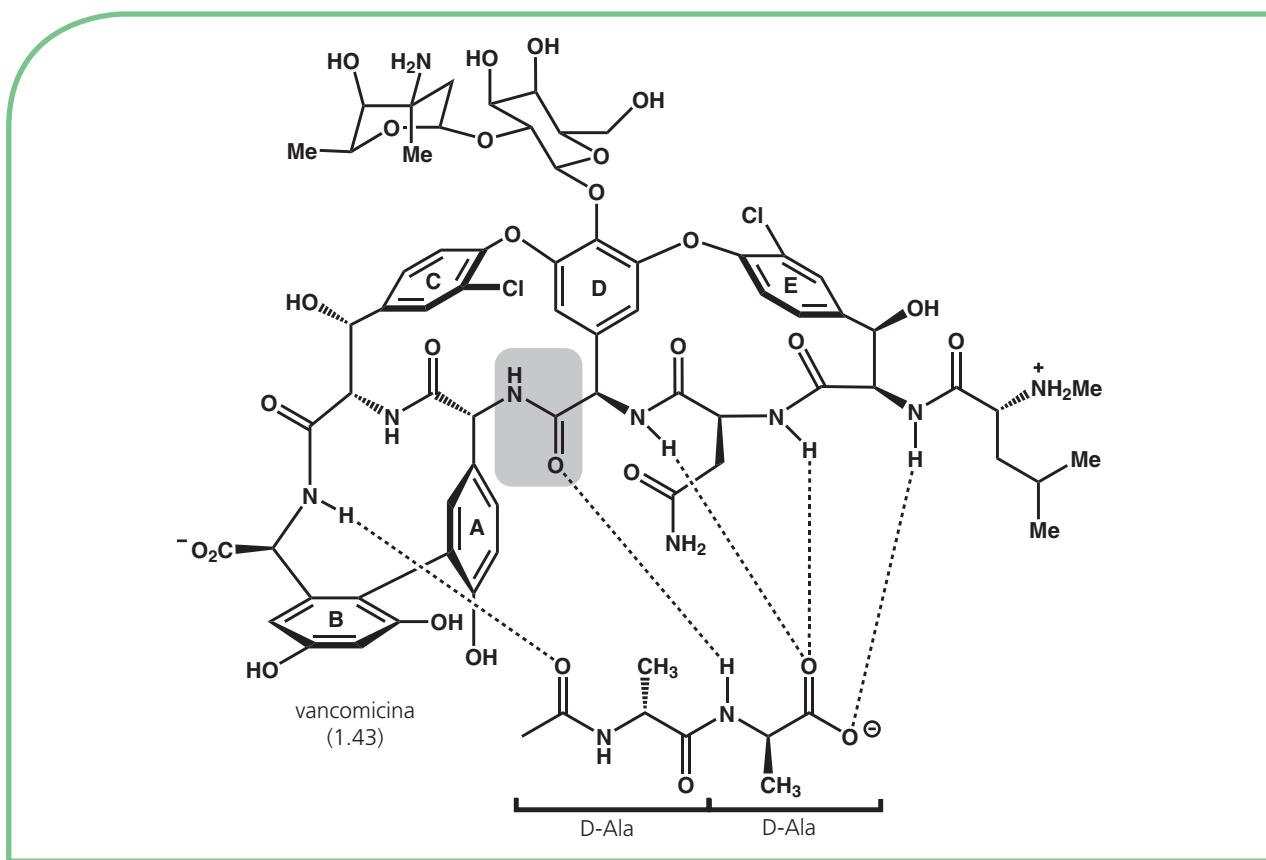
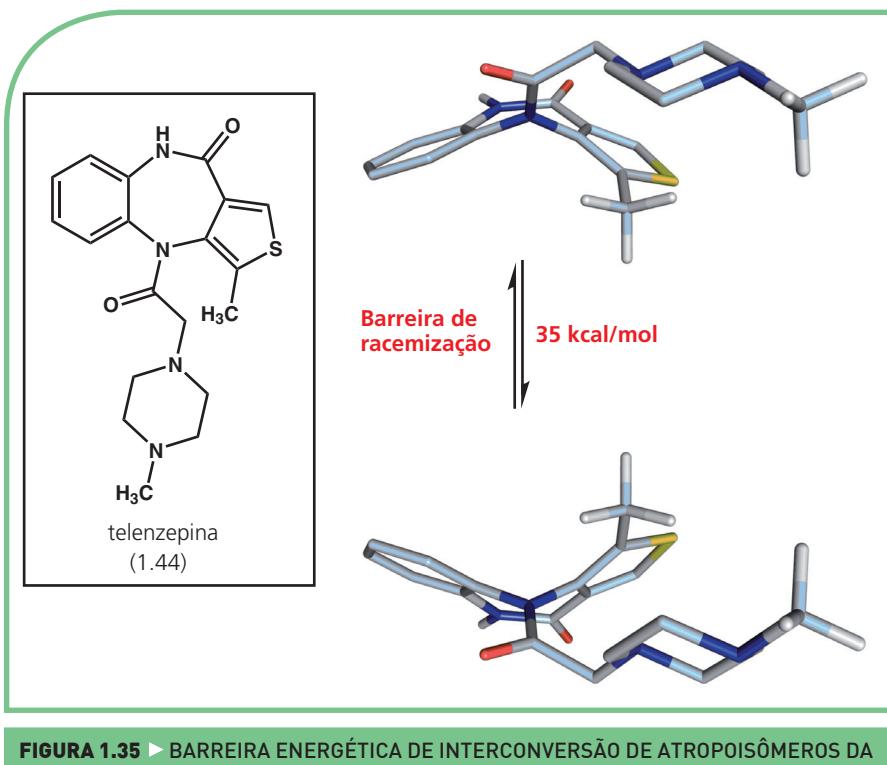


FIGURA 1.34 ▶ ANTIBIÓTICO ATROPOISOMÉRICO VANCOMICINA (1.43) COMPLEXADO À SUBUNIDADE D-ALA-D-ALA DO PEPTIDEOGLICANO BACTERIANO.



PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E A ATIVIDADE BIOLÓGICA

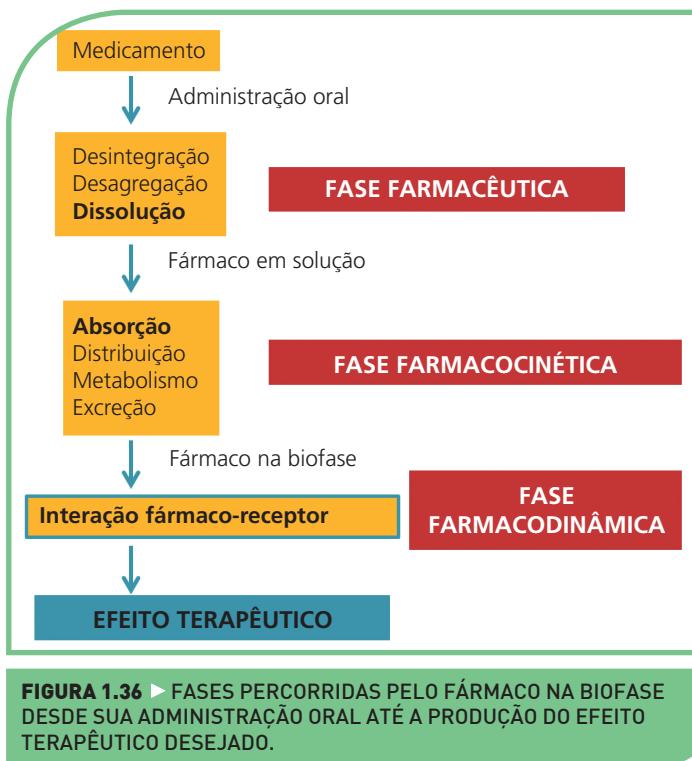
Como mencionado, as propriedades físico-químicas de determinados grupamentos funcionais são de fundamental importância na fase farmacodinâmica da ação dos fármacos, etapa de reconhecimento molecular, uma vez que a afinidade de um fármaco pelo seu biorreceptor é dependente do somatório das forças de interação dos grupamentos farmacofóricos com sítios complementares da biomacromolécula.

Entretanto, se considerarmos que a grande maioria dos fármacos é desenvolvida de forma a permitir sua administração pela via oral, a qual traz grandes vantagens quanto à adesão do paciente ao tratamento, a fase farmacocinética passa a ter grande importância para sua adequada eficácia terapêutica e é uma das principais causas para a descontinuidade da investigação de novos candidatos a fármacos nas etapas iniciais de triagem clínica.⁷⁶ A fase farmacocinética, que engloba os processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção*, repercutindo diretamente na biodisponibilidade e no tempo de meia-vida do fármaco na biofase, também pode ser drasticamente afetada pela variação das propriedades físico-químicas de um fármaco. Adicionalmente, deve-se considerar que as etapas da fase farmacocinética são precedidas, no caso de fármacos de uso oral administrados em formas farmacêuticas sólidas, das etapas de desintegração, desagregação e dissolução que compõem a fase farmacêutica e são dependentes do perfil de hidrossolubilidade do princípio ativo (Figura 1.36).

As principais propriedades físico-químicas de uma micromolécula capazes de alterar seu perfil farmacoterapêutico são o coeficiente de partição, que expressa a relação entre o seu perfil de hidro e lipossolubilidade, e o coeficiente de ionização, expresso pelo pK_a , que traduz o grau de contribuição relativa das espécies neutra e ionizada.

Considerando-se que a grande maioria dos fármacos ativos por via oral é absorvida passivamente, tendo que transpor a bicamada lipídica que constitui o ambiente hidrofóbico das membranas biológicas (Figura 1.37), destaca-se a importância das propriedades físico-químicas, isto é, lipofilicidade e pK_a , para que o fármaco atinja concentrações plasmáticas capazes de reproduzirem o efeito biológico evidenciado em experimentos

* A fase farmacocinética é referida em livros de língua inglesa com ADME (A = absorção; D = distribuição; M = metabolismo [ver Capítulo 2]; E = excreção).



in vitro. Em contrapartida, o processo de absorção oral de um fármaco é muito dependente da sua concentração em solução, após a liberação do princípio ativo da formulação farmacêutica, fenômeno que é favorecido pelo seu perfil de hidrossolubilidade relativa. Essa dicotomia exige que um fármaco ou novo protótipo candidato a fármaco deva apresentar propriedades físico-químicas balanceadas, de forma a se ajustar às características de cada uma das fases percorridas na biofase.

LIPOFILICIDADE (LOG P)

A lipofilicidade é definida pelo coeficiente de partição de uma substância entre uma fase aquosa e uma fase orgânica. O conceito atualmente aceito para coeficiente de partição (P) pode ser definido pela razão entre a concentração da substância na fase orgânica (C_{org}) e sua concentração na fase aquosa (C_{aq}) em um sistema de dois compartimentos sob condições de equilíbrio, como ilustrado na **Figura 1.38**.

Os fármacos que apresentam maior coeficiente de partição, ou seja, têm maior afinidade pela fase orgânica, tendem a apresentar maior taxa de permeabilidade pelas biomembranas hidrofóbicas, apresentando melhor perfil de biodisponibilidade, que

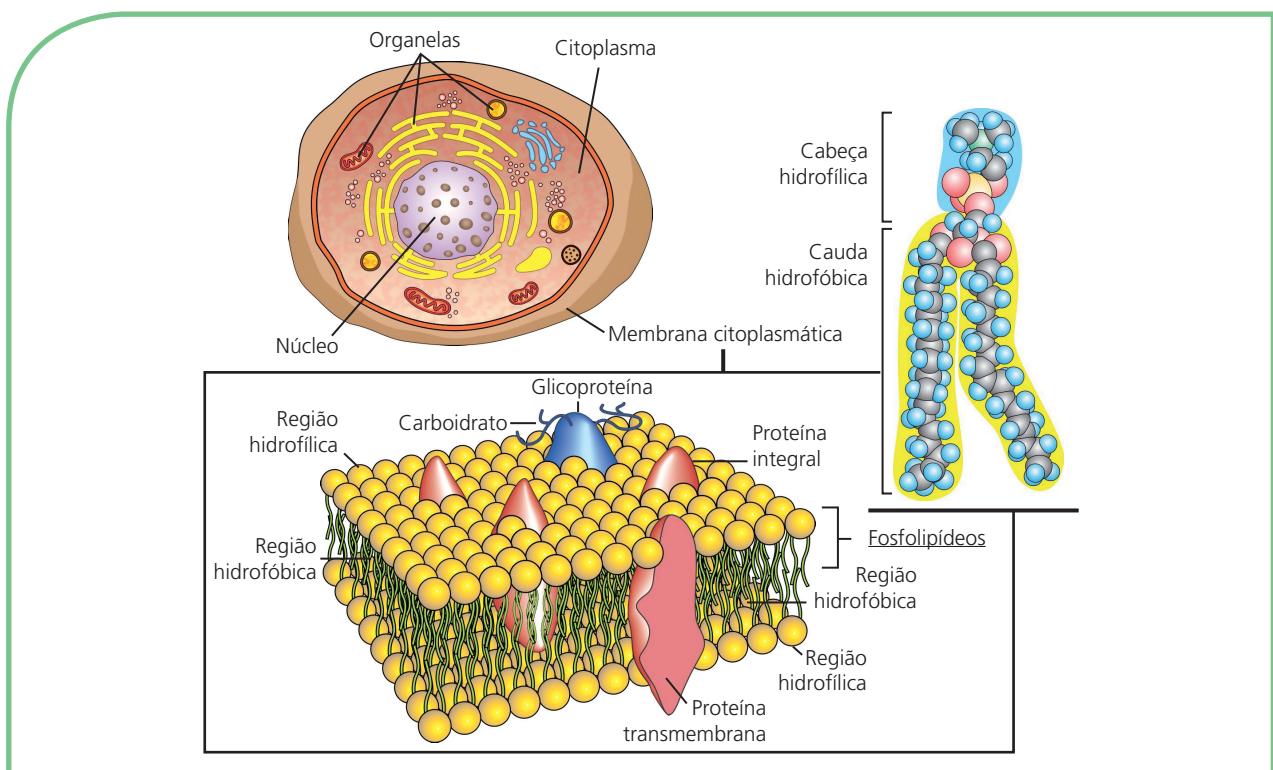


FIGURA 1.37 ▶ REPRESENTAÇÃO DO MODELO DO MOSAICO FLUIDO E A ESTRUTURA DA BICAMADA LIPÍDICA DAS MEMBRANAS BIOLÓGICAS.

pode resultar no aumento de seus efeitos farmacológicos. O Quadro 1.2 ilustra como a introdução de grupos funcionais polares ($R = OH$) altera o coeficiente de partição e, consequentemente, a absorção gastrintestinal dos fármacos cardiotônicos digitoxina (1.45) e digoxina (1.46).⁷⁷

O coeficiente de partição (P) é tradicionalmente determinado pelo método de *shake flask*, empregando *n*-octanol como fase orgânica, devido à sua semelhança estrutural com os fosfolipídeos de membrana. Os valores do logaritmo do coeficiente de partição ($\log P$) são normalmente correlacionados à atividade biológica, descrevendo em geral um modelo parabólico bilinear^{78,79} (Figura 1.39), que indica haver lipofilicidade ótima, normalmente compreendida entre valores de 1 a 3, capaz de expressar requisitos farmacocinéticos e farmacodinâmicos ideais e cujo incremento leva à progressiva redução da absorção. As razões para a redução dos perfis de absorção e biodisponibilidade com o aumento da lipofilicidade de substâncias administradas pela via oral estão relacionadas à redução do perfil de hidrossolubilidade, crucial para a etapa inicial de dissolução do fármaco, e a formação de micelas no lúmen intestinal pela ação de sais biliares.^{80,81}

Além da demonstração das correlações entre absorção, atividade farmacológica e parâmetros físico-químicos (p. ex., lipofilicidade), os estudos de Hansch e colaboradores^{82,83} demonstraram que $\log P$ é uma propriedade aditiva e possui um considerável caráter constitutivo. Por analogia à equação de Hammett (1935) utilizando derivados benzênicos substituídos, definiu-se a constante hidrofóbica do substituinte, π_x (Equação 1.1):

$$\text{Equação 1.1} \quad \pi_x = \log (P_x / PH)$$

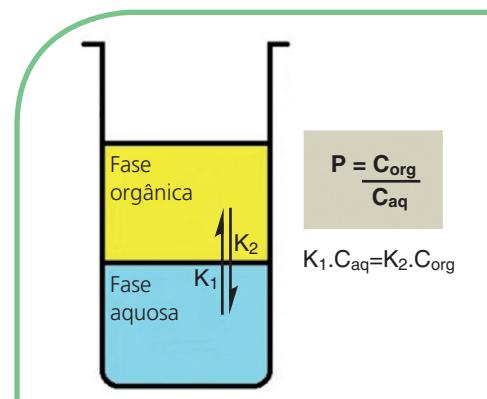
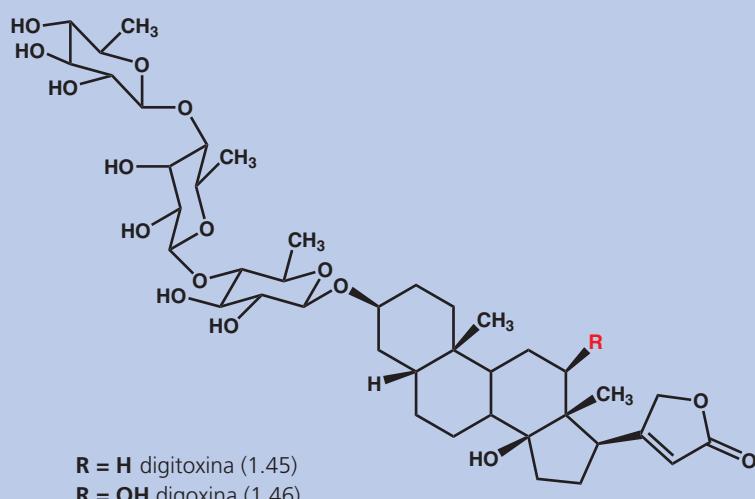


FIGURA 1.38 ▶ DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (P) DE UM SOLUTO. C_{ORG} E C_{AQ} SÃO AS CONCENTRAÇÕES DO SOLUTO NAS FASES ORGÂNICA E AQUOSA, RESPECTIVAMENTE.

QUADRO 1.2 ▶ RELAÇÃO ENTRE O COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (P) E A ABSORÇÃO GASTRINTESTINAL DE FÁRMACOS CARDIOTÔNICOS



FÁRMACO	COEFICIENTE DE PARTIÇÃO P [CHCl ₃ /MEOH:H ₂ O (16:84)]	ABSORÇÃO GASTRINTESTINAL	MEIA-VIDA (h)
Digitoxina (1.45)	96,5	100	144
Digoxina (1.46)	81,5	70-85	38

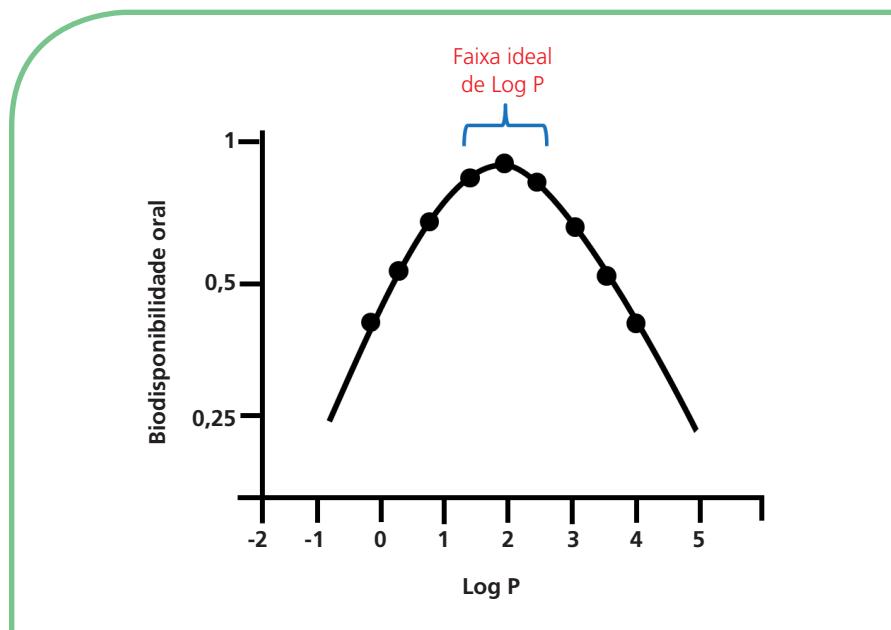


FIGURA 1.39 ► MODELO BILINEAR USADO PARA DESCREVER AS CORRELACOES ENTRE A ATIVIDADE BIOLÓGICA E A LIPOFILICIDADE DE UMA SÉRIE DE FÁRMACOS CONGÉNERES.

E, então, o logaritmo do coeficiente de partição ($\text{Log } P_x$) de um derivado funcionalizado com um substituinte X apresentado pode ser calculado empregando-se a [Equação 1.2](#):

$$\text{Equação 1.2} \quad \text{Log } P_x = \text{Log } P_H + \pi_x$$

* Estão incluídos, nos Anexos, dados tabulados das constantes fragmentais.

Acrescenta-se o valor da contribuição da constante hidrofóbica do substituinte X tabulada (ver anexos)* ao logaritmo do coeficiente de partição do derivado não substituído ($\text{Log } P_H$).

Pode-se exemplificar o emprego dessa equação no cálculo do logaritmo do coeficiente de partição do analgésico paracetamol (1.47) a partir de valores experimentalmente obtidos para o fenol (1.48), a acetanilida (1.49) e o benzeno (1.50), como ilustra a [Figura 1.40](#). Deve-se destacar que, face ao caráter aditivo do parâmetro lipofilicidade em derivados congêneres, qualquer das rotas utilizadas na predição do Log P do paracetamol (1.47) leva a valores bem próximos daquele obtido experimentalmente, ou seja, 0,46.

A limitação do emprego desse método de predição do coeficiente de partição está relacionada à impossibilidade de extrapolação dos valores da contribuição hidrofóbica de radicais monovalentes (p. ex., $-\text{CH}_3$) para radicais divalentes (p. ex., $-\text{CH}_2-$) ou trivalentes. Nesses casos, os valores preditos empregando-se as constantes π_x são normalmente menores do que os valores experimentais correspondentes, fato que pode ser contornado pelo emprego das constantes fragmentais (f) de Mannhold e Rekker.⁸⁴

Durante o estudo de uma série congênere de substâncias bioativas, o uso dos valores das constantes de hidrofobicidade de Hansch (π_x) e mesmo das constantes de contribuição eletrônica de Hammett⁸⁵ (σ_x) permite orientar a introdução de grupos funcionais de acordo com a natureza da propriedade física que se deseja potencializar, visando modificações no perfil farmacocinético ou farmacodinâmico. O diagrama de Craig⁸⁶ agrupa em quadrantes os grupos funcionais que apresentam características similares em relação às contribuições hidrofóbicas e aos efeitos eletrônicos, isto é, π^+/π^- , grupos que incrementam e reduzem a lipofilicidade, respectivamente; σ^+/σ^- , grupos elétron-retiradores e elétron-doadores, respectivamente ([Figura 1.41](#)). Ademais, é possível prever os valores do Log P teórico de derivados desta série congênere apresentando diferentes substituintes, com relativa acurácia, tendo como base apenas o valor do coeficiente de partição experimental do derivado não substituído correspondente.

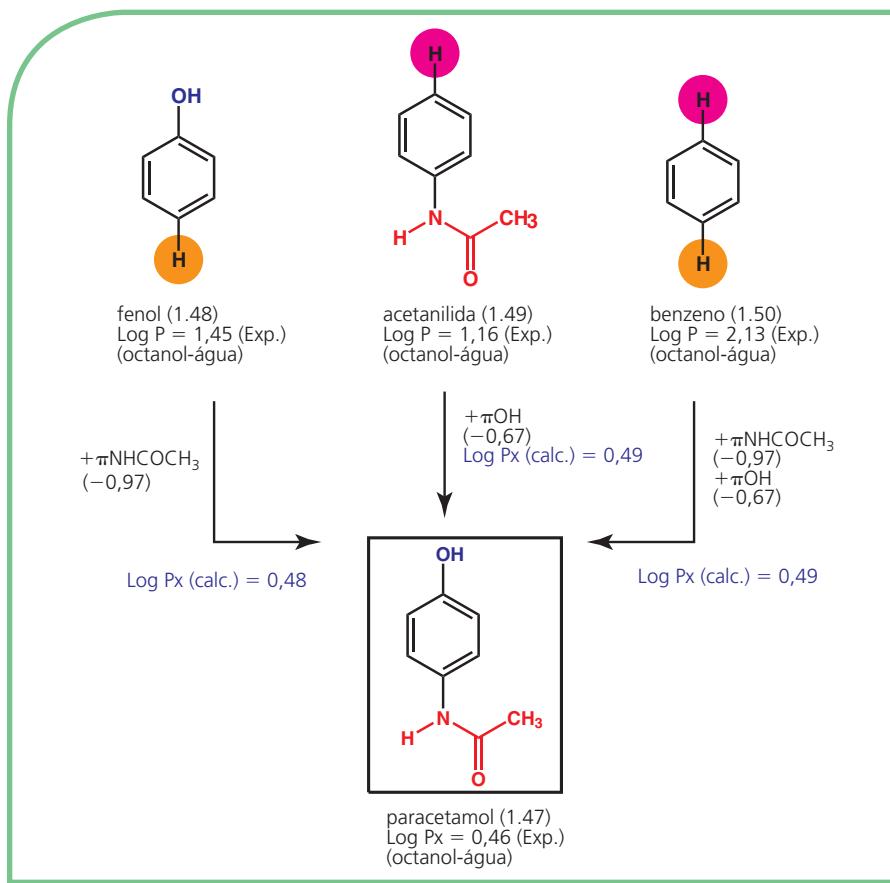


FIGURA 1.40 ▶ USO DA EQUAÇÃO DE HANSCH NA PREDIÇÃO DO LOG P DO PARACETAMOL (1.47) A PARTIR DE DIFERENTES PRECURSORES NÃO SUBSTITUÍDOS.

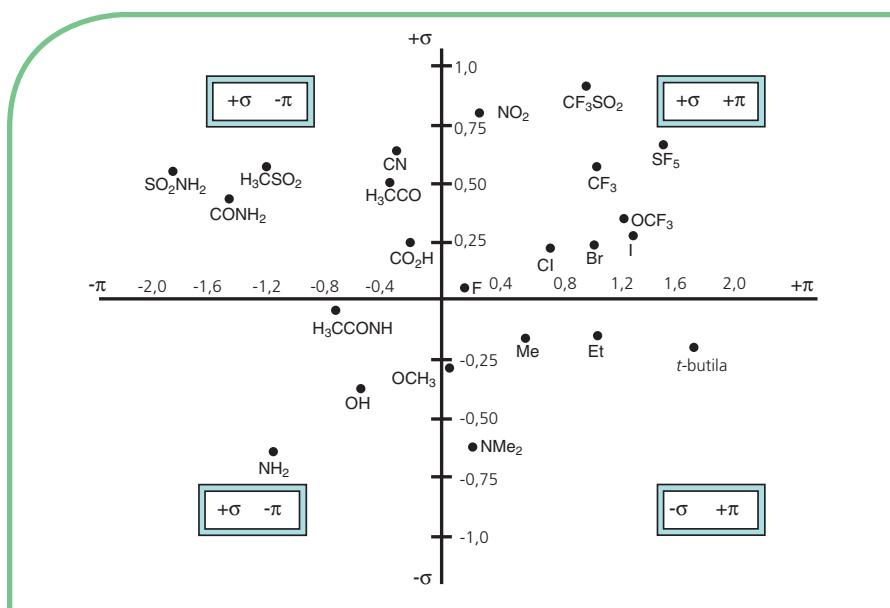


FIGURA 1.41 ▶ DIAGRAMA DE CRAIG – CORRELAÇÃO DOS VALORES DA CONSTANTE DE HIDROFOBICIDADE (π) VERSUS A CONTRIBUIÇÃO ELETRÔNICA (σ) DE GRUPOS FUNCIONAIS.

pKa

A maior parte dos fármacos é ácida ou base fraca. Na biofase, fármacos de natureza ácida (HA) podem perder o próton, levando à formação da espécie aniónica correspondente (A^-), enquanto fármacos de natureza básica (B) podem ser protonados, levando à formação da espécie catiônica (BH^+), como ilustra a [Figura 1.42](#).

A constante de ionização de um fármaco é capaz de expressar, dependendo de sua natureza química e do pH do meio, a contribuição percentual relativa das espécies ionizadas (A^- ou BH^+) e não ionizadas correspondentes (HA ou B) ([Figura 1.42](#)). Essa propriedade é de fundamental importância na fase farmacocinética, uma vez que o grau de ionização é inversamente proporcional à lipofilicidade, de forma que as espécies não ionizadas, por serem mais lipofílicas, conseguem mais facilmente atravessar as biomembranas por transporte passivo; já as espécies carregadas são polares e normalmente se encontram solvatadas por moléculas de água, dificultando o processo de absorção passiva (permeabilidade), mas, por outro lado, favorecendo a etapa de dissolução do princípio ativo nos fluidos do trato gastrintestinal que precede a etapa de absorção ([Figura 1.42](#)).

Adicionalmente, essa propriedade físico-química é de fundamental importância na fase farmacodinâmica, devido à formação de espécies ionizadas que podem interagir complementarmente com resíduos de aminoácidos do sítio ativo da biomacromolécula receptora por ligação iônica ou interações do tipo íon-dipolo, como discutido no Item Forças eletrostáticas deste capítulo.

A equação de Henderson-Hasselbach,⁸⁷ que permite o cálculo do percentual de ionização de ácidos fracos, deriva da [Equação 1.3](#):



Em que a constante de ionização K_a pode ser expressa pela relação das concentrações das espécies ionizadas, sobre as espécies não ionizadas, como ilustra a [Equação 1.4](#):

$$\text{Equação 1.4} \quad K_a = \frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA]}$$

Então, se considerarmos que:

$$\text{Equações 1.5 e 1.6} \quad pK_a = -\log K_a \quad \text{e} \quad pH = -\log [H_3O^+]$$

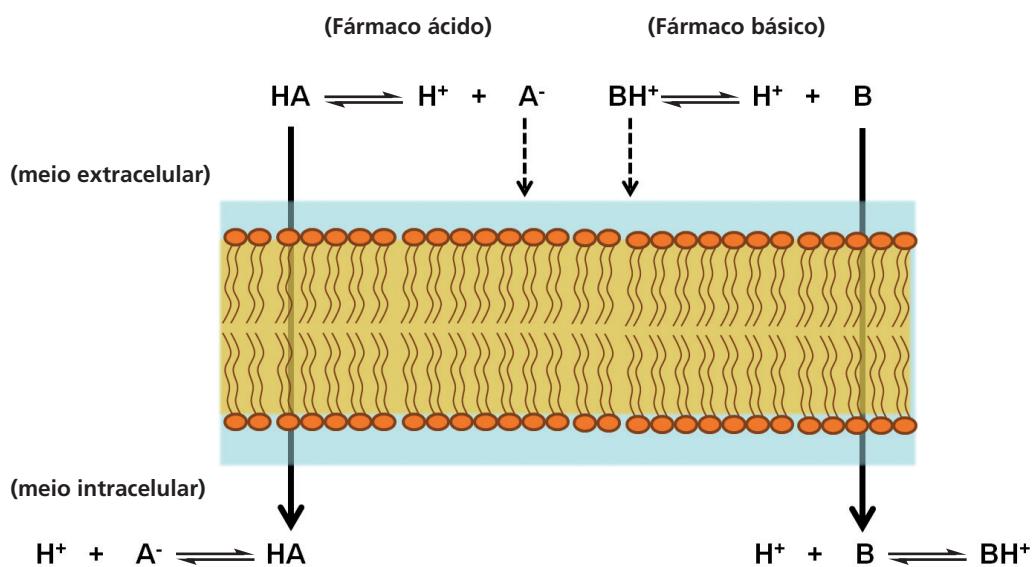


FIGURA 1.42 ► GRAU DE IONIZAÇÃO E ABSORÇÃO PASSIVA DE ÁCIDOS OU BASES FRACAS.

pode-se transformar a Equação 1.4 na Equação 1.7:

$$\text{Equação 1.7} \quad -\log K_a = -\log [H_3O^+] - \log \frac{[A^-]}{[HA]}, \text{ em que:}$$

$$\text{Equação 1.8} \quad pK_a = pH - \log \frac{[\text{espécie ionizada}]}{[\text{espécie não ionizada}]}$$

Finalmente, pode-se atribuir à fração ionizada o termo α , de forma que em termos percentuais a fração não ionizada corresponderia a $100 - \alpha$, chegando então à equação para cálculo do percentual de ionização de ácidos, descrita a seguir:

$$\text{Equação 1.9} \quad \% \text{ de ionização} (\alpha) = 100 - \frac{100}{1 + \text{antilog}(pH - pK_a)}$$

Similarmente, a equação de Henderson-Hasselbach para o cálculo do grau de ionização de bases pode ser desenvolvida como demonstrado, produzindo a expressão final:

$$\text{Equação 1.10} \quad \% \text{ de ionização} (\alpha) = 100 - \frac{100}{1 + \text{antilog}(pK_b - pH)}$$

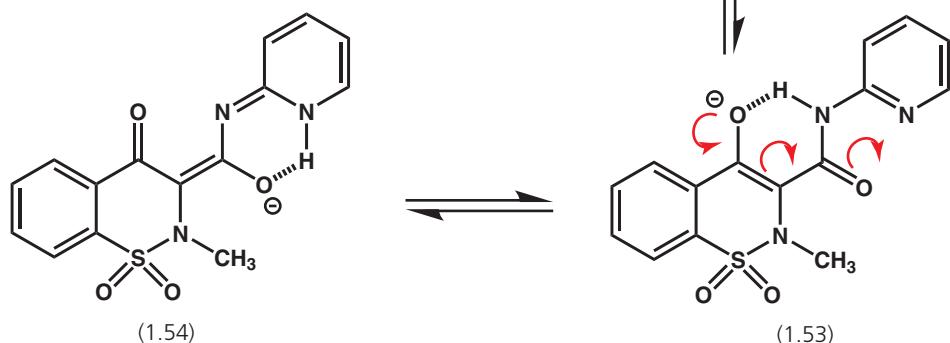
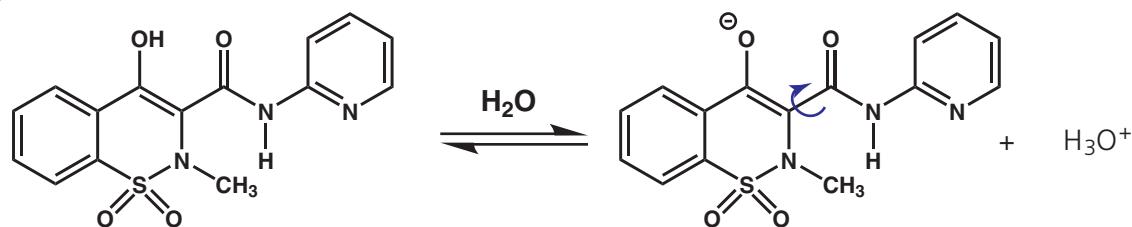
Sabendo-se que os principais compartimentos biológicos têm pH definidos (p. ex., mucosa gástrica, pH ~ 1 , mucosa intestinal, pH ~ 5 e plasma, pH $\sim 7,4$), as equações de Henderson-Hasselbach podem ser empregadas na previsão do comportamento farmacocinético de substâncias terapeuticamente úteis, isto é, absorção, distribuição e excreção, podendo em alguns casos permitir a obtenção de fármacos com propriedades físico-químicas otimizadas, como é o caso do anti-inflamatório não esteroide piroxicam (1.51).⁸⁸

O piroxicam (1.51) é um fármaco de natureza ácida devido à presença da função enólica e à estabilização da base conjugada correspondente (1.52) por ressonância e interações de hidrogênio intramoleculares (Figura 1.43). A absorção do piroxicam (1.51) se dá ao nível do trato gastrintestinal, sob a forma não ionizada, sendo, portanto, modulada pelo coeficiente de partição (P), que determina as concentrações plasmáticas efetivas, alcançadas duas horas após a administração oral deste fármaco. Uma vez absorvido, o piroxicam (1.51) se ioniza fortemente no pH sanguíneo e cerca de 99,3% são distribuídos complexados com proteínas plasmáticas, como a albumina. No tecido inflamado, existe uma intensa atividade metabólica, controlada pela ação de proteases que acarretam em redução significativa do pH (~ 5), condições nas quais mais de 95% do fármaco se encontra na forma não ionizada, podendo ser adequadamente absorvido (Figura 1.43).

O exemplo dos oxicams ilustra a importância da modulação dos efeitos eletrônicos de grupos funcionais na adequação das propriedades físico-químicas de novos candidatos a fármacos. Durante o desenvolvimento desta família de compostos, foi evidenciada a dupla estabilização das possíveis formas de ressonância (1.53) e (1.54) da base conjugada por ligações de hidrogênio com o N-H amídico e o tautômero que apresenta o grupo N-H piridínico. A contribuição dessas interações para o aumento da acidez do piroxicam (1.51) fica clara quando se compara o seu valor de pKa, com aqueles dos análogos obtidos pela troca isostérica do anel piridina por uma fenila (1.55) e N-metilação do nitrogênio amídico (1.56) como ilustra a Figura 1.44.⁸⁹

A adequação das propriedades físico-químicas de 1.51, aliada à sua afinidade pelo biorreceptor e à baixa velocidade de metabolização e excreção, permite que baixas doses do fármaco, 20 mg/dia, sejam necessárias para se alcançar o efeito terapêutico desejado.

Entretanto, em alguns casos, as diferenças de pKa não são capazes de explicar diferenças no perfil farmacoterapêutico de determinados fármacos, como é o caso dos antagonistas seletivos de receptores β_1 , metoprolol (1.57) e atenolol (1.58), os quais, apesar de apresentarem valores de pKa similares, têm coeficientes de partição bastante distintos em função da variação dos substituintes da cadeia lateral ($-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ vs CONH_2) (Figura 1.45). Apesar desses anti-hipertensivos da classe das ariloxipropanolaminas apresentarem propriedades farmacodinâmicas similares, suas propriedades na fase farmacocinética são distintas, implicando na possibilidade de emprego clínico diferenciado. O metoprolol (1.57) é um β -bloqueador lipossolúvel ($\text{Log P} = 1,88$), metabolizado por efeito



$$\% \text{ de ionização } (\alpha) = 100 - \frac{100}{1 + \text{antilog} (5,0 - 6,3)} = 0,0005\%$$

$$\% \text{ de ionização } (\alpha) = 100 - \frac{100}{1 + \text{antilog} (7,4 - 6,3)} = 4,7\%$$

$$\% \text{ de ionização } (\alpha) = 100 - \frac{100}{1 + \text{antilog} (7,4 - 6,3)} = 92,6\%$$

$$\% \text{ de ionização } (\alpha) = 100 - \frac{100}{1 + \text{antilog} (5,0 - 6,3)} = 4,7\%$$

FIGURA 1.43 ► GRAU DE IONIZAÇÃO DO PIROXICAM (1.51) EM DIFERENTES COMPARTIMENTOS BIOLÓGICOS.

de primeira passagem, cujo uso clínico é contraindicado para pacientes com distúrbios no sistema nervoso central, devido à tendência de atravessar a barreira hematencefálica.

O atenolol (1.58) é um β -bloqueador hidrossolúvel ($\text{Log } P = 0,16$), cujo uso clínico é contraindicado para pacientes com distúrbios renais, devido ao estresse provocado pela excreção renal do fármaco na forma não modificada.

A variação do coeficiente de partição (P) de substâncias ionizáveis em função da alteração do pH da fase aquosa e a subsequente alteração dos percentuais da fração ionizada, mais solúvel em água, e da fração não ionizada, é conhecida como coeficiente de distribuição (D), o qual é expresso também com a forma logarítmica ($\text{Log } D$). Geralmente, o $\text{Log } P$ é igual ao $\text{Log } D_{7,4}$, ou seja, o logaritmo do coeficiente de distribuição medido em pH 7,4.

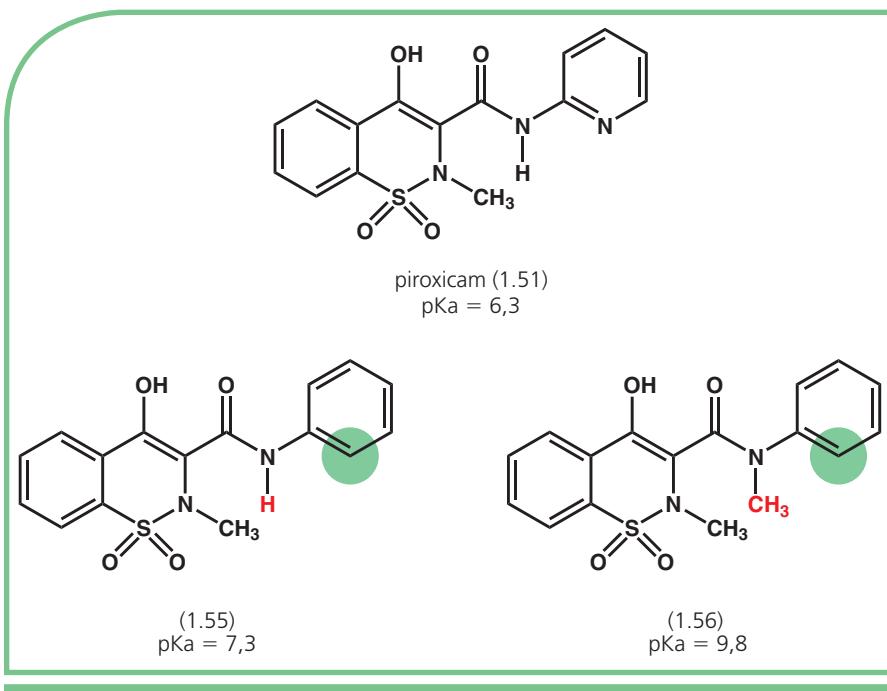


FIGURA 1.44 ▶ VARIAÇÃO DO pKa EM ANÁLOGOS ESTRUTURAIS DO PIROXICAM (1.51).

De forma geral, a otimização do perfil de absorção gastrintestinal por difusão passiva após administração oral de um protótipo candidato a fármaco pode ser alcançada por meio do balanço de seu perfil de permeabilidade e hidrossolubilidade. Como descrito anteriormente, a faixa de valores de Log P ou Log D_{7,4} ótima está geralmente compreendida entre 1 e 3 (Figura 1.39), e valores extremos traduzem um desbalanço nos perfis de permeabilidade e hidrossolubilidade capazes de impactar o perfil de biodisponibilidade oral, como ilustra o Quadro 1.3.⁹⁰

O fármaco antimalárico artemisinina⁹¹ (1.59) é uma sesquiterpeno lactona obtida da planta de origem asiática *Artemisia annua*, que, por apresentar excelente perfil de atividade antiplasmoidal *in vitro*, resultante do estresse oxidativo promovido no parasita pela

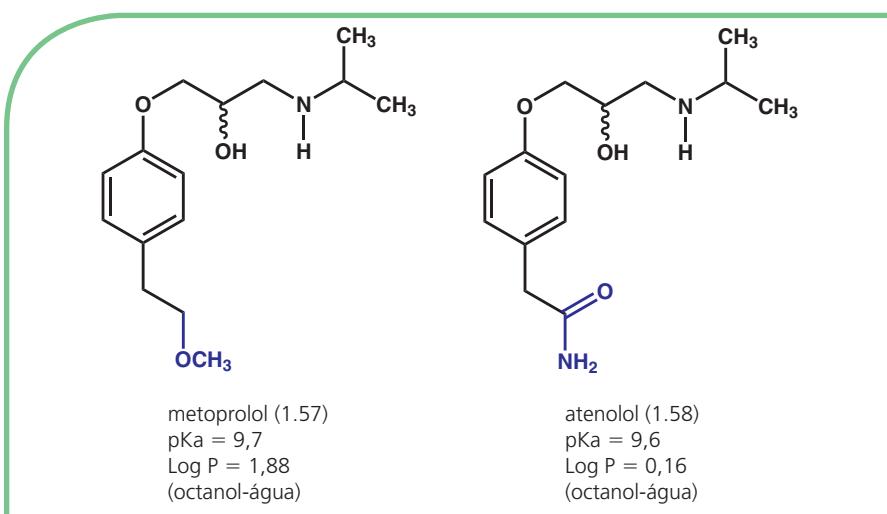


FIGURA 1.45 ▶ PERFIL COMPARATIVO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO METOPROLOL (1.57) E DO ATENOLOL (1.58).

QUADRO 1.3 ► RESULTADO DA VARIAÇÃO DA LIPOFILICIDADE (LOG D_{7,4}) NO PERFIL DE ABSORÇÃO ORAL DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS

Log D _{7,4} < 1,0	Substâncias apresentam boa hidrossolubilidade, mas baixa taxa de absorção passiva, devido à baixa permeabilidade. Compostos tendem a ter alta taxa de excreção renal.
1,0 > Log D _{7,4} < 3,0	É a faixa ótima para uma boa absorção intestinal, devido ao adequado equilíbrio entre a hidrossolubilidade e a taxa de permeabilidade por difusão passiva.
3,0 > Log D _{7,4} < 5,0	Compostos apresentam alta permeabilidade, mas a absorção é reduzida devido ao baixo perfil de hidrossolubilidade.
Log D _{7,4} > 5,0	Substâncias tendem a ter baixa absorção e biodisponibilidade oral, devido à baixíssima hidrossolubilidade e ao aumento da taxa de metabolização.

Fonte: Adaptado de Kerns e Di.90

cissão oxidativa da ponte endoperóxido de [1.59](#), tem grandes limitações de aplicação terapêutica pela via oral em função de seu baixo perfil de hidro e lipossolubilidade ([Figura 1.46A](#)). Nesse contexto, visando contornar essa limitação das propriedades estruturais do produto natural ([1.59](#)), uma série de análogos foi sintetizada com o objetivo de se potencializar seu perfil de lipo ou hidrossolubilidade. Entre eles, merece destaque o artesunato de sódio⁹² ([1.60](#)), derivado hidrossolúvel obtido pela inserção de uma subunidade succinila, que apresenta biodisponibilidade oral de 82% da dose administrada, aproximadamente 10 vezes superior à da artemisinina ([1.59](#)) ([Figura 1.46A](#)).

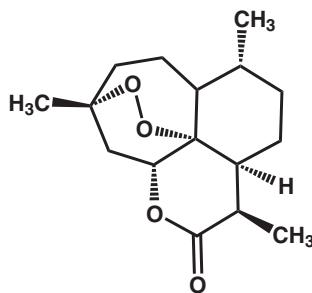
Outro exemplo que ressalta a importância da adequação do perfil de lipo/hidrossolubilidade de candidatos a fármacos, diz respeito à otimização das propriedades farmacocinéticas do protótipo antiviral L-685,434 ([1.61](#)), inativo por via oral em função do baixo perfil de hidrossolubilidade.⁹³ A inserção de uma cadeia lateral básica ionizável, que resultou na gênese do inibidor de HIV protease indinavir ([1.62](#)), promoveu o incremento do perfil de hidrossolubilidade e o consequente aumento da biodisponibilidade oral para 60% da dose administrada ([Figura 1.46B](#)).

À luz desse panorama, Amidon e colaboradores⁹⁴ desenvolveram o *Sistema de Classificação Biofarmacêutica*, no qual, em função do seu perfil de solubilidade em água e permeabilidade por difusão passiva, os fármacos podem ser classificados em uma de quatro classes (I a IV), como ilustra a [Figura 1.47](#). Esse sistema é uma das ferramentas de prognóstico mais importantes para se facilitar a descoberta e o desenvolvimento de fármacos para uso oral nos últimos anos,⁹⁵ tendo sido vastamente empregado por agências regulatórias como o Food and Drug Administration (FDA), a Agência Europeia de Medicamentos (EMEA) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) para a normatização de padrões de biodisponibilidade/bioequivalência usados na aprovação de fármacos ativos por via oral. O [Quadro 1.4](#) ilustra exemplos de fármacos que pertencem a diferentes classes do sistema de classificação biofarmacêutica.

Adicionalmente, vários grupos de pesquisa, especialmente associados a diferentes indústrias farmacêuticas, vêm tentando identificar, pela análise sistemática de bancos de dados de fármacos oralmente ativos, propriedades estruturais que possam balizar a identificação de compostos oralmente ativos, nos estágios iniciais do processo de desenvolvimento de fármacos. Entre esses estudos, merece destaque aquele realizado por Lipinski e colaboradores,⁹⁶ os quais, após análise do *World Drug Index*, propuseram a chamada *Regra dos Cinco*, um conjunto de regras que traduziam características estruturais comuns dos fármacos oralmente ativos deste banco de dados, a saber:

- peso molecular < 500 Da;
- presença de número ≤ 5 grupos doadores de ligação de hidrogênio;
- presença de número ≤ 10 grupos aceptores de ligação de hidrogênio;
- Log P calculado ≤ 5.

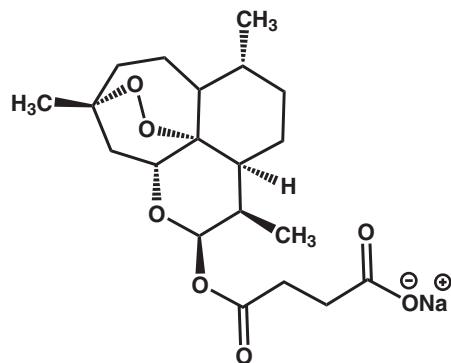
A)



artemisinina (1.59)

Baixa hidrossolubilidade
Baixa lipossolubilidade

Biodisponibilidade oral (%) = 8-10

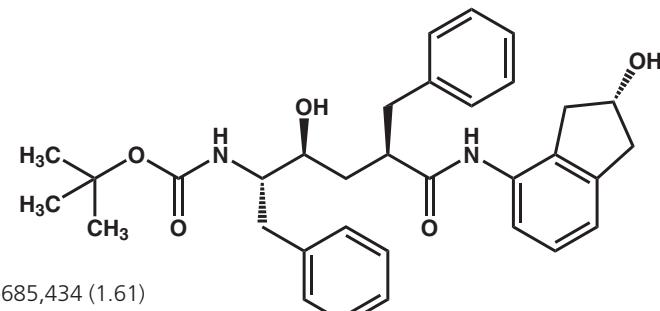


artesunato de sódio (1.60)

Boa hidrossolubilidade

Biodisponibilidade oral (%) = 82

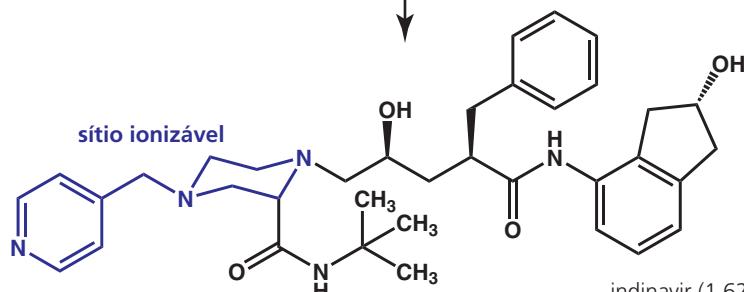
B)



L-685,434 (1.61)

Baixa solubilidade em H₂O

Biodisponibilidade oral (%) = 0



indinavir (1.62)

sítio ionizável

Mais solúvel em H₂O
(pH dependente)

Biodisponibilidade oral (%) = 60

FIGURA 1.46 ▶ OTIMIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS DO FÁRMACO ANTIMALÁRICO ARTEMISININA (1.59) (A) E DO PROTÓTIPO ANTIVIRAL L-685-434 (1.61) (B).

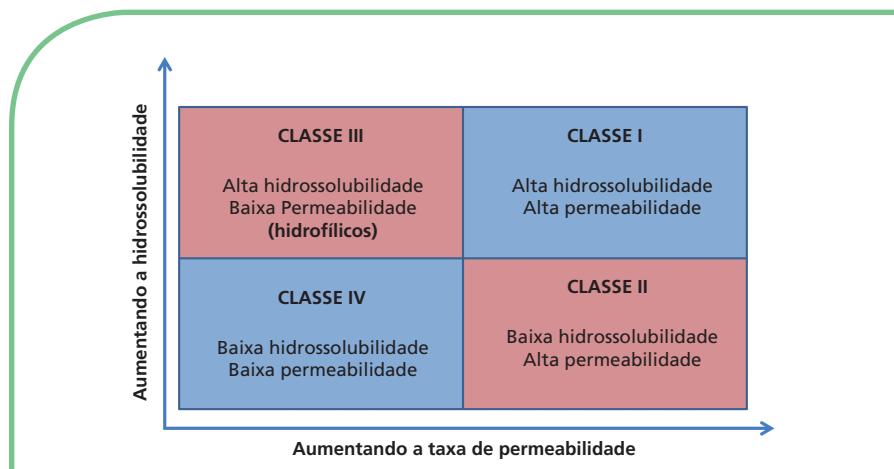


FIGURA 1.47 ▶ SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA.
Fonte: Adaptada de Amidon e colaboradores.⁹⁴

Outro estudo independente realizado por Weber e colaboradores⁹⁷ identificou a importância de propriedades adicionais para o perfil de biodisponibilidade oral de fármacos, como a área de superfície polar ($\leq 140 \text{ \AA}$) e o número de ligações com flexibilidade torsional (≤ 10).

Entretanto, apesar de essas regras darem uma estimativa de adequabilidade das propriedades físico-químicas e estruturais de novas substâncias bioativas, deve-se empregá-las com extremo cuidado, pois inúmeros são os exemplos de fármacos oralmente ativos atualmente no mercado farmacêutico que violam um ou mais desses requisitos (Figura 1.48), colocando-se em questão sua real capacidade preditiva do perfil de absorção oral de fármacos.

Pelo exposto e se considerando a importância de se obter informações sobre o perfil de hidro/lipossolubilidade e seu impacto sobre o perfil de permeabilidade celular ainda nos estágios iniciais do processo de identificação de uma nova substância-protótipo,⁹⁸ alguns modelos *in vitro* vêm sendo cada vez mais utilizados, como aqueles que usam fluidos que simulam as condições gástricas (SGF, do inglês *Simulated Gastric Fluid*) e intestinais em condições de jejum (FaSSIF, do inglês *Fasted State Simulated Intestinal Fluid*) e durante alimentação (FeSSIF, do inglês *Fed State Simulated Intestinal Fluid*) para avaliar de forma mais realística o perfil de solubilidade,⁹⁹ ou, ainda, métodos para avaliar

QUADRO 1.4 ▶ EXEMPLOS DE FÁRMACOS CLASSIFICADOS SEGUNDO O SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA

Classe I (anfifílicos)^a	Propranolol, metoprolol, labetalol, enalapril, captopril, diltiazem, nortriptilina, etc.
Classe II (lipofílicos)^b	Flurbiprofeno, naproxeno, diclofenaco, piroxicam, glibenclamida, carbamazepina, fenitoína, nifedipina, etc.
Classe III (hidrofílicos)^c	Famotidina, cimetidina, atenolol, ranitidina, nadolol, insulina, etc.
Classe IV^d	Terfenadina, cetoprofeno, hidroclorotiazida, furosemida, paclitaxel, etc.

^a Velocidade de dissolução limita a absorção *in vivo*. ^b Hidrossolubilidade limita o fluxo do fármaco no processo de absorção. ^c Permeabilidade é a etapa determinante da absorção. ^d Não é esperada correlação entre o perfil *in vitro* versus *in vivo*.

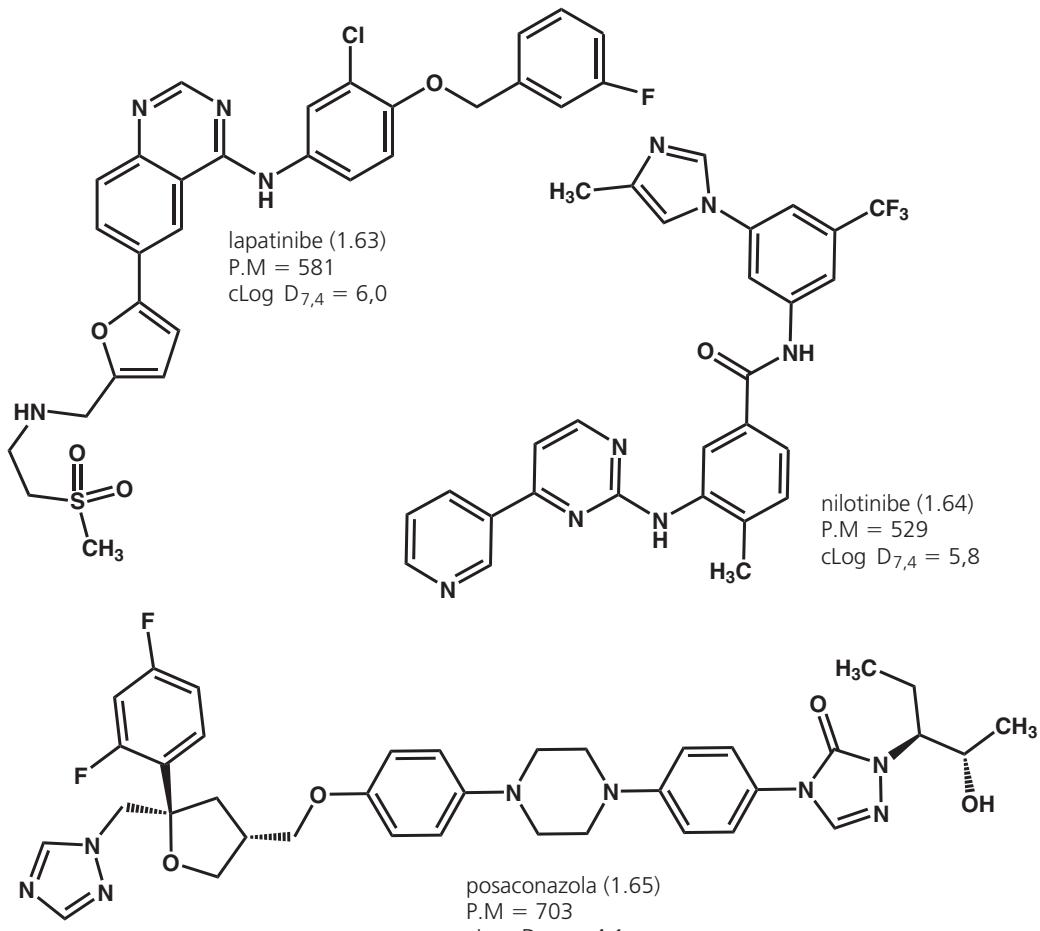


FIGURA 1.48 ▶ ALGUNS EXEMPLOS DE FÁRMACOS ATIVOS POR VIA ORAL, RECENTEMENTE LANÇADOS NO MERCADO FARMACÊUTICO, QUE VIOLAM UM OU MAIS REQUISITOS DA REGRA DOS CINCO DE LIPINSKI.

o perfil de permeabilidade intestinal, como a técnica conhecida como PAMPA^{100,101} (do inglês *Parallel Artificial Membrane Permeability Assay*) ou com a utilização de cultura de células de adenocarcinoma colorretal humano^{102,103} (CACO-2). Nesses casos, o perfil de permeabilidade de substâncias-protótipos por estas barreiras, artificiais ou naturais, tem boa correlação com o seu perfil de biodisponibilidade oral, auxiliando a minimizar o risco de insucesso durante a etapa de desenvolvimento de novos candidatos a fármacos.

REFERÊNCIAS

- Pratt WB, Taylor P, editors. Principles of drug action: the basis of pharmacology. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1990.
- Carrupt PA, el Tayar N, Karlén A, Testa B. Molecular electrostatic potentials for characterizing drug-biosystem interactions. *Methods Enzymol.* 1991;203:638-77.
- Silverman RB. The organic chemistry of drug design and drug action. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier Academic; 2004.
- Roth SH, Miller KW, editors. Molecular and cellular mechanisms of anesthetics. New York: Plenum Medical Book; 1986.
- Urban BW, Bleckwenn M. Concepts and correlations relevant to general anaesthesia. *Br J Anaesth.* 2002;89(1):3-16.
- Gupta SP. QSAR studies on drugs acting at the central nervous system. *Chem Rev.* 1989;89(8):1765-1800.
- Yasuda N, Targ AG, Eger EI 2nd. Solubility of I-653, sevoflurane, isoflurane, and halothane in human tissues. *Anesth Analg.* 1989;69(3):370-3.
- McNamara JO. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 461-86.
- Parsons WJ, Ramkumar V, Stiles GL. The new cardiotonic agent sulmazole is an A1 adenosine receptor antagonist and functionally blocks the inhibitory regulator, Gi. *Mol Pharmacol.* 1988;33(4):441-8.

10. Kutter E, Austel V. Application of the theory of sets to drug design. Development of a new cardiotonic drug AR-L 115 BS. *Arzneimittelforschung*. 1981;31(1a):135-41.
11. Fischer E. Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. 1984;27(3):2985-93.
12. Farber E, Fischer E. *Dictionary of scientific biography*. New York: Scribner; 1972. v.5, p. 1-5.
13. Ogris W, Pöltl A, Hauer B, Ernst M, Oberto A, Wulff P, et al. Affinity of various benzodiazepine site ligands in mice with a point mutation in the GABA_A receptor gamma2 subunit. *Biochem Pharmacol*. 2004;68(8):1621-9.
14. Fryer RI. Benzodiazepine ligands. In: Hansch C. *Comprehensive medicinal chemistry: the rational design, mechanistic study & therapeutic applications of chemical compounds*. New York: Pergamon; 1990. v. 3, p. 539-66.
15. Bayly CI, Black WC, Léger S, Ouimet N, Ouellet M, Percival MD. Structure-based design of COX-2 selectivity into flurbiprofen. *Bioorg Med Chem Lett*. 1999;9(3):307-12.
16. Sidhu RS, Lee JY, Yuan C, Smith WL. Comparison of cyclooxygenase-1 crystal structures: cross-talk between monomers comprising cyclooxygenase-1 homodimers. *Biochemistry*. 2010;49(33):7069-79.
17. Kato K, Ohkawa S, Terao S, Terashita Z, Nishikawa K. Thromboxane synthetase inhibitors (TXSI) - Design, synthesis, and evaluation of a novel series of omega-pyridylalkenoic acids. *J Med Chem*. 1985;28(3):287-94.
18. Nakazawa M, Iizuka K, Ujije A, Hiraku S, Ohki S. Research and development of ozagrel, a highly selective inhibitor of TXA₂ synthase. *Yakugaku Zasshi*. 1994;114(12):911-33.
19. Cockroft SL, Perkins J, Zonta C, Adams H, Spey SE, Low CM, et al. Substituent effects on aromatic stacking interactions. *Org Biomol Chem*. 2007;5(7):1062-80.
20. Harel M, Schalk I, Ehret-Sabatier L, Bouet F, Goeldner M, Hirth C, et al. Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(19):9031-5.
21. Zhong W, Gallivan JP, Zhang Y, Li L, Lester HA, Dougherty DA. From ab initio quantum mechanics to molecular neurobiology: a cation-pi binding site in the nicotinic receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(21):12088-93.
22. Wilcken R, Zimmermann MO, Lange A, Joerger AC, Boeckler FM. Principles and applications of halogen bonding in medicinal chemistry and chemical biology. *J Med Chem*. 2013;56(4):1363-88.
23. Scholfield MR, Vander Zanden CM, Carter M, Shing Ho P. Halogen bonding (X-bonding): a biological perspective. *Protein Sci*. 2013;22(2):139-52.
24. Hardegger LA, Kuhn B, Spinnler B, Anselm L, Ecabert R, Stihle M, et al. Halogen bonding at the active sites of human cathepsin L and MEK1 kinase: efficient interactions in different environments. *ChemMedChem*. 2011;6(11):2048-54.
25. Kaur N, Kaur A, Bansal Y, Shah DL, Bansal G, Singh M. Design, synthesis, and evaluation of 5-sulfamoyl benzimidazole derivatives as novel angiotensin II receptor antagonists. *Bioorg Med Chem*. 2008;16(24):10210-5.
26. Bhuiyan MA, Ishiguro M, Hossain M, Nakamura T, Ozaki M, Miura S, et al. Binding sites of valsartan, candesartan and losartan with angiotensin II receptor 1 subtype by molecular modeling. *Life Sci*. 2009;85(3-4):136-40.
27. Godfroid JJ, Braquet P. PAF-acether specific binding sites: 1. quantitative SAR of PAF-acether isosteres. *Trends Pharmacol Sci*. 1986;7:368-73.
28. Braquet P, Godfroid JJ. PAF-acether specific binding sites: 2. design of specific antagonists. *Trends Pharmacol Sci*. 1986;7:397-403.
29. Erickson JA, McLoughlin JL. Hydrogen bond donor properties of the difluoromethyl group. *J Org Chem*. 1995;60(6):1626-31.
30. Liu F, Kovalevsky AY, Tie Y, Ghosh AK, Harrison RW, Weber IT. Effect of flap mutations on structure of HIV-1 protease and inhibition by saquinavir and darunavir. *J Mol Biol*. 2008;381(1):102-15.
31. Leung D, Abbenante G, Fairlie DP. Protease inhibitors: current status and future prospects. *J Med Chem*. 2000;43(3):305-41.
32. Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res*. 2003;110(5-6):255-8.
33. Blobaum AL, Marnett LJ. Structural and functional basis of cyclooxygenase inhibition. *J Med Chem*. 2007;50(7):1425-41.
34. Fisher JF, Meroueh SO, Mobsahery S. Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chem Rev*. 2005;105(2):395-424.
35. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science*. 2001;292(5519):1160-4.
36. Teague SJ. Implications of protein flexibility for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*. 2003;2(7):527-41.
37. Koshland DE Jr. The key-lock theory and the induced fit theory. *Angew Chem Int Ed Engl*. 1994;33(23-24):2375-8.
38. Verli H, Barreiro EJ. Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores. *Quím Nova*. 2005;28(1):95-102.
39. Barreiro EJ, Camara CA, Verli H, Brazil-Más L, Castro NG, Cintra WM, et al. Design, synthesis, and pharmacological profile of novel fused pyrazolo[4,3-d]pyridine and pyrazolo[3,4-b][1,8]naphthyridine isosteres: a new class of potent and selective acetylcholinesterase inhibitors. *J Med Chem*. 2003;46(7):1144-52.
40. Rockwell A, Melden M, Copeland RA, Hardman K, Decicco CP, DeGrado WF. Complementarity of combinatorial chemistry and structure-based ligand design: application to the discovery of novel inhibitors of matrix metalloproteinases. *J Am Chem Soc*. 1996;118(42):10337-8.
41. Kubinyi H. Combinatorial and computational approaches in structure-based drug design. *Curr Opin Drug Discov Dev*. 1998;1(1):16-27.
42. Davis AM, Teague SJ, Kleywegt GJ. Application and limitations of X-ray crystallographic data in structure-based ligand and drug design. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2003;42(24):2718-36.
43. Borea PA, Dalpiaz A, Varani K, Gilli P, Gilli G. Can thermodynamic measurements of receptor binding yield information on drug affinity and efficacy? *Biochem Pharmacol*. 2000;60(11):1549-56.
44. Merighi S, Simioni C, Gessi S, Varani K, Borea PA. Binding thermodynamics at the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Biochem Pharmacol*. 2010;79(3):471-7.
45. Borea PA, Dalpiaz A, Varani K, Gessi S, Gilli P, Gilli G. Binding thermodynamics at A1 and A2A adenosine receptors. *Life Sci*. 1996;59(17):1373-88.
46. Dalpiaz A, Borea PA, Gessi S, Gilli P, Gilli G. Binding thermodynamics of 5-HT1A receptor ligands. *Eur J Pharmacol*. 1996;312(1):107-14.
47. Harper EA, Black JW. Histamine H3-receptor agonists and imidazole-based H3-receptor antagonists can be thermodynamically discriminated. *Br J Pharmacol*. 2007;151(4):504-17.
48. Wittmann HJ, Seifert R, Strasser A. Contribution of binding enthalpy and entropy to affinity of antagonist and agonist binding at human and guinea pig histamine H(1)-receptor. *Mol Pharmacol*. 2009;76(1):25-37.
49. Strasser A, Wittmann H-J. Binding of ligands to GPCRs - how valid is a thermodynamic discrimination of antagonists and agonists? *J Physic Chem Biophys*. 2012;Suppl 1:1-6.
50. Millership JS, Fitzpatrick A. Commonly used chiral drugs: a survey. *Chirality*. 1993;5(8):573-6.
51. Gal J. The discovery of stereoselectivity at biological receptors: Arnaldo Piutti and the taste of the asparagine enantiomers--history and analysis on the 125th anniversary. *Chirality*. 2012;24(12):959-76.
52. Barreiro EJ, Ferreira VF, Costa PRR. Pure enantiomeric substances: the question of chiral drugs. *Quím Nova*. 1997;20(6):647-56.
53. Lima VLE. Drugs and chirality: a brief overview. *Quím Nova*. 1997;20(6):657-63.
54. Jamali F, Mehvar R, Pasutto FM. Enantioselective aspects of drug action and disposition therapeutic pitfalls. *J Pharm Sci*. 1989;78(9):695-715.
55. McConathy J, Owens MJ. Stereochemistry in drug action. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2003;5(2):70-73.
56. Kim JH, Scialli AR. Thalidomide: the tragedy of birth defects and the effective treatment of disease. *Toxicol Sci*. 2011;122(1):1-6.
57. Knoche B, Blaschke G. Stereoselectivity of the in vitro metabolism of thalidomide. *Chirality*. 1994;6(4):221-4.
58. Mohan SJ, Mohan EC, Yamsani MR. Chirality and Its importance in pharmaceutical field - an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*. 2009;1(4):309-16.
59. Agrawal YK, Bhatt HG, Raval HG, Oza PM, Gogoi PJ. Chirality: a new era of therapeutics. *Mini Rev Med Chem*. 2007;7(5):451-60.
60. Ariëns EJ. Nonchiral, homochiral and composite chiral drugs. *Trends Pharmacol Sci*. 1993;14(2):68-75.

61. Núñez MC, García-Rubíño ME, Conejo-García A, Cruz-López O, Kimatral M, Gallo MA, et al. Homochiral drugs: a demanding tendency of the pharmaceutical industry. *Curr Med Chem.* 2009;16(16):2064-74.
62. Easson LH, Stedman E. Studies on the relationship between chemical constitution and physiological action: molecular dissymmetry and physiological activity. *Biochem J.* 1933;27(4):1257-66.
63. Testa B. Mechanisms of chiral recognition in pharmacology: the Easson-Stedman model revisited. *Acta Pharm Nord.* 1990;2(3):137-44.
64. McMahon FG, Achecar FA, Murray MJ, Poole J. The importance of chirality to antihypertensive drug effects. *Curr Ther Res.* 1992;52(1):89-97.
65. Dror RO, Pan AC, Arlow DH, Borhani DW, Maragakis P, Shan Y, et al. Pathway and mechanism of drug binding to G-protein-coupled receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(32):13118-23.
66. Wermuth CG, Ganellin CR, Lindberg P, Mitscher LA. Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC recommendations 1998). *Pure Appl Chem.* 1998;70:1129-43.
67. Baker ME, Chang DJ, Chandsawangbhuwana C. 3D model of lamprey estrogen receptor with estradiol and 15 α -hydroxy-estradiol. *PLoS One.* 2009;4(6):e6038.
68. Casy AF, Dewar GH. The steric factor in medicinal chemistry: dissymmetric probes of pharmacological receptors. New York: Plenum; 1993.
69. Schwyzer R. In search of the 'bio-active conformation': is it induced by the target cell membrane? *J Mol Recognit.* 1995;8(1-2):3-8.
70. Moss GP. Basic terminology of stereochemistry. *Pure Appl Chem.* 1996;68(12):2193-2222.
71. Santos AR, Pinheiro AC, Sodero ACR, Cunha AS, Padilha MC, Sousa PM, et al. Atropoisomerismo: o efeito da quiralidade axial em substâncias bioativas. *Quím Nova.* 2007;30(1):125-35.
72. Clayden J. Atropoisomerism. *Tetrahedron.* 2006;60:4335-42.
73. Clayden J, Moran WJ, Edwards PJ, LaPlante SR. The challenge of atropoisomerism in drug discovery. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2009;48(35):6398-401.
74. Ma N, Jia Y, Liu Z, Gonzalez-Zamora E, Bois-Choussy M, Malabarba A, et al. Design and synthesis of macrocycles active against vancomycin-resistant enterococci (VRE): the interplay between d-Ala-d-Lac binding and hydrophobic effect. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005;15(3):743-6.
75. Eveleigh P, Hulme EC, Schudt C, Birdsall NJ. The existence of stable enantiomers of telenzepine and their stereoselective interaction with muscarinic receptor subtypes. *Mol Pharmacol.* 1989;35(4):477-83.
76. Schuster D, Laggner C, Langer T. Why drugs fail--a study on side effects in new chemical entities. *Curr Pharm Des.* 2005;11(27):3545-59.
77. Fraga CAM, Barreiro EJ. Cardiotônicos: histórico e perspectivas de uma antiga e importante classe de agentes terapêuticos. *Quím Nova.* 1996;19(2):182-9.
78. Kubinyi H. Quantitative structure: activity relationships. 7. The bilinear model, a new model for nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character. *J Med Chem.* 1977;20(5):625-9.
79. Kubinyi H. Nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character: the bilinear model. *Farmaco Sci.* 1979;34(3):248-76.
80. Kubinyi H. Current problems in quantitative structure-activity relationships. In: Sunkel J, editor. *Physical property prediction in organic chemistry.* Berlin: Springer-Verlag; 1988. p. 235-47.
81. Kimura T. Analysis of factors governing drug absorption and their improvement. *Yakugaku Zasshi.* 2009;129(8):911-23.
82. Hansch C. A quantitative approach to biochemical structure-activity relationships. *Acc Chem Res.* 1969;2(8):232-9.
83. Hansch C, Leo A, Unger SH, Kim KH, Nikaitani D, Lien EJ. "Aromatic" substituent constants for structure-activity correlations. *J Med Chem.* 1973;16(11):1207-16.
84. Mannhold R, Rekker RF. The hydrophobic fragmental constant approach for calculating Log P in octanol/water and aliphatic hydrocarbon/water systems. *Perspectives in Drug Discovery and Design.* 2000;18:1-18.
85. Hammett LP. *Physical organic chemistry: reaction rates, equilibria and mechanisms.* New York: McGraw-Hill; 1940.
86. Craig PN. Interdependence between physical parameters and selection of substituent groups for correlation studies. *J Med Chem.* 1971;14(8):680-4.
87. Po HN, Senozan NM. The Henderson-Hasselbalch equation: its history and limitations. *J Chem Educ.* 2001;78:1499-503.
88. Tsai R-S, Carrupt P-A, El Tayar N, Giroud Y, Andrade P, Testa B, et al. Physicochemical and structural properties of non-steroidal anti-inflammatory oxicams. *Helv Chim Acta.* 1993;76(2):842-54.
89. Lombardino JG, Wiseman EH, McLamore WM. Synthesis and antiinflammatory activity of some 3-carboxamides of 2-alkyl-4-hydroxy-2H-1,2-benzothiazine 1,1-dioxide. *J Med Chem.* 1971;14(12):1171-5.
90. Kerns EH, Di L. Part 2: physicochemical properties. In: Kerns EH, Di L. *Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization.* Amsterdam: Academic; 2008. p. 35-99.
91. Chaturvedi D, Goswami A, Saikia PP, Barua NC, Rao PG. Artemisinin and its derivatives: a novel class of anti-malarial and anti-cancer agents. *Chem Soc Rev.* 2010;39(2):435-54.
92. Barradell LB, Fitton A. Artesunate. A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of malaria. *Drugs.* 1995;50(4):714-41.
93. Vacca JP, Dorsey BD, Schleif WA, Levin RB, McDaniel SL, Darke PL, et al. L-735,524: an orally bioavailable human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(9):4096-4100.
94. Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res.* 1995;12(3):413-20.
95. Ku MS. Use of the biopharmaceutical classification system in early drug development. *AAPS J.* 2008;10(1):208-12.
96. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 1997;23(1-3):3-25.
97. Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem.* 2002;45(12):2615-23.
98. Avdeef A. Physicochemical profiling (solubility, permeability, and charge state). *Curr Top Med Chem.* 2001;1(4):277-351.
99. Boni JE, Bricki RS, Dressman J, Pfefferle ML. Instant FaSSIF and FeSSIF - biorelevance meets practicality. *Dissolution Technologies.* 2009;16:41-5.
100. Bermejo M, Avdeef A, Ruiz A, Nalda R, Ruell JA, Tsinman O, et al. PAMPA--a drug absorption in vitro model 7. Comparing rat *in situ*, Caco-2, and PAMPA permeability of fluoroquinolones. *Eur J Pharm Sci.* 2004;21(4):429-41.
101. Avdeef A, Strafford M, Block E, Balogh MP, Chambliss W, Khan I. Drug absorption in vitro model: filter-immobilized artificial membranes. 2. Studies of the permeability properties of lactones in *Piper methysticum* Forst. *Eur J Pharm Sci.* 2001;14(4):271-80.
102. Artursson P, Palm K, Luthman K. Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46(1-3):27-43.
103. Sambuy Y, De Angelis I, Ranaldi G, Scarino ML, Stammati A, Zucco F. The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. *Cell Biol Toxicol.* 2005;21(1):1-26.

LEITURA SUPLEMENTAR

Avdeef A. Absorption and drug development: solubility, permeability, and charge state. 2nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons; 2012.

Brooks WH, Guida WC, Daniel KG. The significance of chirality in drug design and development. *Curr Top Med Chem.* 2011;11(7):760-70.

Dahan A, Miller JM, Amidon GL. Prediction of solubility and permeability class membership: provisional BCS classification of the world's top oral drugs. *AAPS J.* 2009;11(4):740-6.

Di L, Fish PV, Mano T. Bridging solubility between drug discovery and development. *Drug Discov Today.* 2012;17(9-10):486-95.

- Eliel EL, Wilen SH. *Stereochemistry of organic compounds*. New York: John Wiley & Sons; 1994.
- Gad SC, editor. *Preclinical development handbook: ADME and biopharmaceutical properties*. New Jersey: John Wiley & Sons; 2008.
- Gill AL, Verdonk M, Boyle RG, Taylor R. A comparison of physicochemical property profiles of marketed oral drugs and orally bioavailable anti-cancer protein kinase inhibitors in clinical development. *Curr Top Med Chem*. 2007;7(14):1408-22.
- Gleeson MP, Hersey A, Montanari D, Overington J. Probing the links between in vitro potency, ADMET and physicochemical parameters. *Nat Rev Drug Discov*. 2011;10:197-208.
- Hamelin BA, Turgeon J. Hydrophilicity/lipophilicity: relevance for pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Trends Pharmacol Sci*. 1998;19(1):26-37.
- Hann MM, Oprea TI. Pursuing the leadlikeness concept in pharmaceutical research. *Curr Opin Chem Biol*. 2004;8(3):255-63.
- Hartmann T, Schmitt J. Lipophilicity - beyond octanol/water: a short comparison of modern technologies. *Drug Discov Today Technol*. 2004;1(4):431-9.
- Jówiak K, Lough WJ, Wainer IW, editors. *Drug stereochemistry: analytical methods and pharmacology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare; 2012.
- Karolak-Wojciechowska J, Fruzinski A. Spacer conformation in biologically active molecules. *Pure Appl Chem*. 2004;76(5):959-64.
- Leeson PD, Davis AM. Time-related differences in the physical property profiles of oral drugs. *J Med Chem*. 2004;47(25):6338-48.
- Leeson PD, Springthorpe B. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6:881-90.
- Lipinski CA. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol*. 2004;1(4):337-41.
- Morphy R, Rankovic Z. The physicochemical challenges of designing multiple ligands. *J Med Chem*. 2006;49(16):4961-70.
- Morphy R. The influence of target family and functional activity on the physicochemical properties of pre-clinical compounds. *J Med Chem*. 2006;49(10):2969-78.
- Pfeiffer CC. Optical isomerism and pharmacological action, a generalization. *Science*. 1956;124(3210):29-31.
- Teague SJ. Learning lessons from drugs that have recently entered the market. *Drug Discov Today*. 2011;16(9-10):398-411.
- van De Waterbeemd H, Smith DA, Beaumont K, Walker DK. Property-based design: optimization of drug absorption and pharmacokinetics. *J Med Chem*. 2001;44(9):1313-33.

FUNDAMENTOS DO METABOLISMO DE FÁRMACOS

LÍDIA MOREIRA LIMA

ASPECTOS GERAIS DO METABOLISMO DE FÁRMACOS

O metabolismo compreende o parâmetro farmacocinético diretamente ligado à depuração (do inglês *clearance*) dos fármacos, contribuindo para evitar seu acúmulo indesejado na biofase. O papel fisiológico do metabolismo de fármacos pode ser medido por meio dos parâmetros farmacocinéticos de biodisponibilidade (*F*) e *clearance* (*Cl*). O primeiro é influenciado pelo metabolismo pré-sistêmico e o segundo, pelo metabolismo pós-sistêmico. Combinados, eles afetam a quantidade total de fármaco no sangue, medida através da área sob a curva (AUC) resultante da variação da concentração plasmática *versus* o tempo (Figura 2.1). A estabilidade metabólica de um determinado composto (p. ex., fármacos) é inversamente proporcional à sua *clearance*. A relação entre *clearance* (*Cl*) e volume de distribuição (*Vd*) permite estabelecer a meia-vida ($t_{1/2} = 0,693 \times Vd/Cl$), indicando a frequência necessária para a administração do fármaco.

A fração de fármaco livre (não complexada a proteínas) é depurada majoritariamente a partir do fígado e dos rins. Em linhas gerais, a depuração de fármacos lipofílicos ocorre por metabolismo hepático (*clearance hepática* ou *hepatobiliar*), enquanto os hidrofílicos são substratos de depuração renal (*clearance renal*).

Fármacos lipofílicos são reabsorvidos após filtração glomerular, retornando à circulação sistêmica e impedindo sua depuração renal, que passa a ser estreitamente dependente da transformação do fármaco em metabólitos hidrofílicos, por meio de reações catalisadas por enzimas.

Os processos enzimáticos capazes de produzir modificações estruturais no fármaco são em conjunto conhecidos por *metabolismo de fármacos*. O metabolismo é tradicionalmente dividido – de acordo com a classificação de Williams¹ – em: metabolismo de fase 1 ou biotransformação e metabolismo de fase 2. Mais recentemente, foi incluída nessa classificação o metabolismo de fase 3, representado por proteínas transportadoras de efluxo² (p. ex., glicoproteína-P; proteínas associadas à resistência a multifármacos e polipeptídeo transportador de ânions orgânicos), que auxiliam no processo de detoxificação, exportando ou transferindo para circulação sistêmica fármacos e seus metabólitos para posterior eliminação renal ou biliar (Figura 2.2).

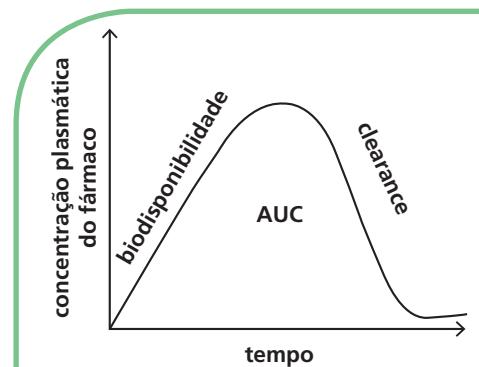


FIGURA 2.1 ▶ ÁREA SOB A CURVA (AUC) VERSUS O TEMPO E A INFLUÊNCIA DA BIODISPONIBILIDADE E CLEARANCE.

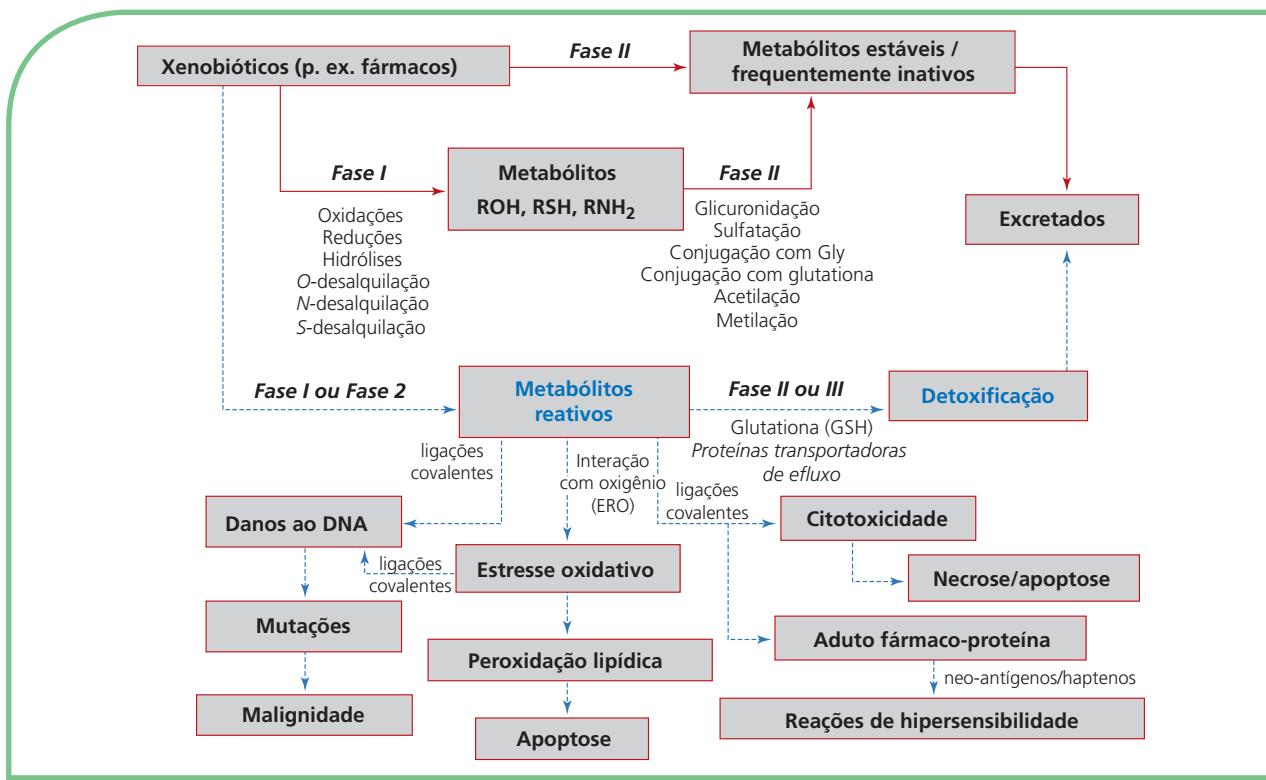


FIGURA 2.2 ▶ FLUXOGRAMA ESQUEMÁTICO DO METABOLISMO DE FÁRMACOS. SETAS VERMELHAS INDICAM PROCESSO CLÁSSICO DE BIOINATIVAÇÃO; SETAS AZUIS DENOTAM PROCESSO DE BIOATIVAÇÃO, COM CONSEQUENTE FORMAÇÃO DE METABÓLITOS POTENCIALMENTE TÓXICOS.

Raramente uma substância orgânica, fármaco ou não, sobrevive à ação catalítica dos diversos sistemas enzimáticos característicos do metabolismo de fase 1 e/ou metabolismo de fase 2, que são sumarizados no *Quadro 2.1*.³

A utilidade terapêutica de um fármaco é medida em função da ação benéfica que exerce sobre um dado sistema biológico, como decorrência de sua potência (i.e., afinidade) e eficácia (i.e., atividade intrínseca), frutos da etapa de complementaridade molecular com o biorreceptor-alvo. Esta, por sua vez, depende da quantidade do fármaco administrado capaz de atingir, na concentração necessária, o sítio de ação desejado. Parâmetros como biodisponibilidade oral (%F) e meia-vida ($t_{1/2}$) são diretamente influenciados pelo metabolismo, de modo que seu estudo torna-se essencial para o completo conhecimento dos fatores farmacocinéticos relevantes ao uso adequado e seguro dos fármacos – haja vista que as transformações promovidas pelo metabolismo de fase 1 e/ou fase 2 influenciam a natureza, a intensidade e a duração dos efeitos terapêuticos e/ou tóxicos dos fármacos e seus eventuais metabólitos bioativos.

O estudo do *metabolismo de fármacos* é uma etapa imprescindível no processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos. Pode ser realizado por meio de métodos *in vivo* e *in vitro*, os quais exigem o emprego de técnicas analíticas sensíveis e eficazes, aliadas a procedimentos de extração eficientes e quantitativos – de ínfimas quantidades de substâncias a partir de fluidos biológicos ou de frações subcelulares (p. ex., S9 e microssomos) ou cultura de células (p. ex., hepatócitos) – conjugados a métodos de caracterização estrutural, de modo a permitir a elucidação inequívoca da estrutura química dos metabólitos formados, inclusive quanto à definição de centros estereogênicos, quando presentes.⁴

Métodos de predição metabólica *in silico* vêm sendo incorporados ao estudo do metabolismo de fármacos e possuem como vantagens o custo e a agilidade. A principal desvantagem é a baixa correlação entre o resultado predito e o determinado experi-

QUADRO 2.1 ► COMPLEXOS ENZIMÁTICOS ENVOLVIDOS COM O METABOLISMO DE FASE 1 E FASE 2 E SUA PRINCIPAL LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR

METABOLISMO DE FASE 1	
COMPLEXO ENZIMÁTICO	LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR PRINCIPAL
Citocromo P450 monoxigenases	Retículo endoplasmático
Flavina monoxigenase	Retículo endoplasmático
Aldeído desidrogenase	Citosol
Álcool desidrogenase	Citosol
Monoaminoxidase	Mitocôndria
Xantina oxidase	Citosol
Azo ou nitroreduases	Citosol
Aldocetoredutases	Citosol
Oxidoredutase	Citosol
Epóxido hidrolase	Retículo endoplasmático
Hidrolases (esterases, amidases, lipases)	Citosol

METABOLISMO DE FASE 2	
COMPLEXO ENZIMÁTICO	LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR PRINCIPAL
Glicuroniltransferase	Retículo endoplasmático
Glutationatransferase	Citosol
Sulfotransferase	Citosol
Metiltransferases não específicas	Citosol
Catecol <i>o</i> -metiltransferase	Citosol
Acetiltransferase	Citosol

mentalmente. Os métodos *in silico* empregados para o estudo do *metabolismo de fármacos* são divididos em: métodos baseados na estrutura do receptor (p. ex., *docking*) e métodos baseados na estrutura do ligante (QSAR, CoMFA, Volsurf, Meteor, etc.).⁵⁻⁷ Estes métodos compreendem estratégias computacionais capazes de predizer os sítios estruturais lábeis ao metabolismo, prever o metabólito potencial e pressagiar a interação de um determinado fármaco com a enzima metabolizadora alvo. Diversos programas comerciais para predição do metabolismo *in silico* foram desenvolvidos, e exemplos de programas gratuitos serão comentados ao longo deste capítulo.

Independentemente da opção do método empregado no estudo do *metabolismo de fármacos* (*in vivo*, *in vitro* ou *in silico*), o conhecimento prévio sobre a reatividade química de um determinado substrato (i.e., fármaco), frente às diferentes enzimas metabólicas, consiste em condição *sine qua non* para o sucesso do estudo. Não raramente, os metabólitos, para serem adequadamente isolados e terem suas estruturas elucidadas, precisam ser teoricamente previstos, em termos estruturais, antecipando informações sobre suas propriedades físico-químicas. Tais dados permitem racionalizar a escolha do método de isolamento (quali e quantitativamente) e de elucidação estrutural inequívoca.⁸ Do mesmo modo, tais informações permitem antecipar dados sobre a provável estabilidade do metabólito frente ao método de isolamento escolhido, garantindo sua eficiência em termos quantitativos e evitando falsos-positivos. A predição da estrutura do metabólito, com base em dados de reatividade química, é igualmente útil na análise dos resultados obtidos a partir de estudos do metabolismo *in silico*, permitindo uma análise crítica dos dados gerados e a detecção precoce de eventuais erros.

Em termos moleculares, as reações metabólicas de fase 1 e fase 2 têm como principal objetivo transformar fármacos lipofílicos ($\uparrow \text{Log P}$; $\text{Log D}_{7,4} > 0$; $\downarrow \text{PSA}$) em metabólitos hidrofílicos ($\downarrow \text{Log P}$; $\text{Log D}_{7,4} < 0$; $\uparrow \text{PSA}$), favorecendo a eliminação por via renal.⁹

CONSEQUÊNCIAS DO METABOLISMO DE FÁRMACOS

As transformações químicas, metabolismo-dependentes, promovidas na estrutura dos fármacos podem acarretar profundas alterações na resposta biológica, uma vez que modificações moleculares, ainda que singelas, podem alterar significativamente o farmacóforo e/ou os grupos auxofóricos, dificultando ou impedindo a interação com o biorreceptor original (p. ex., celecoxibe, 2.1; [Figura 2.3](#)). Desta forma, um fármaco originalmente ativo pode gerar metabólitos inativos, em um processo conhecido por bioinativação ([Quadro 2.2](#)).¹⁰

Em outras circunstâncias, as modificações introduzidas com as reações metabólicas de fase 1 (majoritariamente) ou de fase 2 (minoritariamente) podem gerar metabólitos ativos, em um processo conhecido por bioativação. Este processo pode aumentar a afinidade do metabólito pelo biorreceptor do fármaco original (p. ex., tamoxifeno, 2.2; [Figura 2.3](#))¹¹ ou favorecer o reconhecimento por biomacromoléculas receptoras distintas do alvo molecular inicial, acarretando distintos efeitos biológicos, algumas vezes responsáveis pelos efeitos adversos e/ou tóxicos, metabolismo-dependente, de alguns fármacos (p. ex., paracetamol, 2.3; [Figura 2.3](#)).¹² O processo metabólico de bioativação é a base fundamental do desenvolvimento de pró-fármacos, no qual uma substância desprovida de atividade (i.e., inativa) é convertida em metabólito ativo, responsável pelo efeito farmacológico desejado ([Quadro 2.2](#)).

Por estas razões, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que o estudo do metabolismo de fármacos seja parte integrante obrigatória de todos os programas de avaliação pré-clínica e clínica de quaisquer novos medicamentos.

Por meio desses estudos – e em conjunto com dados sobre o volume de distribuição, *clearance* e absorção – é possível determinar a meia-vida e a biodisponibilidade oral de um determinado fármaco, prevendo o melhor esquema posológico (dose e frequência de administração). Esses estudos permitem, ainda, identificar a presença de metabólitos ativos, os quais obrigatoriamente deverão ser estudados quanto a seu perfil de atividade e segurança.

De forma sumária, o estudo do *metabolismo de fármacos* permite:

- determinar a estabilidade metabólica;
- estabelecer a cinética de formação e as estruturas químicas dos metabólitos;
- determinar os níveis de concentração e depósito, plasmático e tissular, tanto do fármaco como de seus metabólitos, permitindo estabelecer sua meia vida na biofase;
- determinar a principal via de eliminação;
- determinar os sítios moleculares metabolicamente vulneráveis (i.e., lábeis) e correlacioná-los com grupos farmacofóricos e auxofóricos do fármaco original;

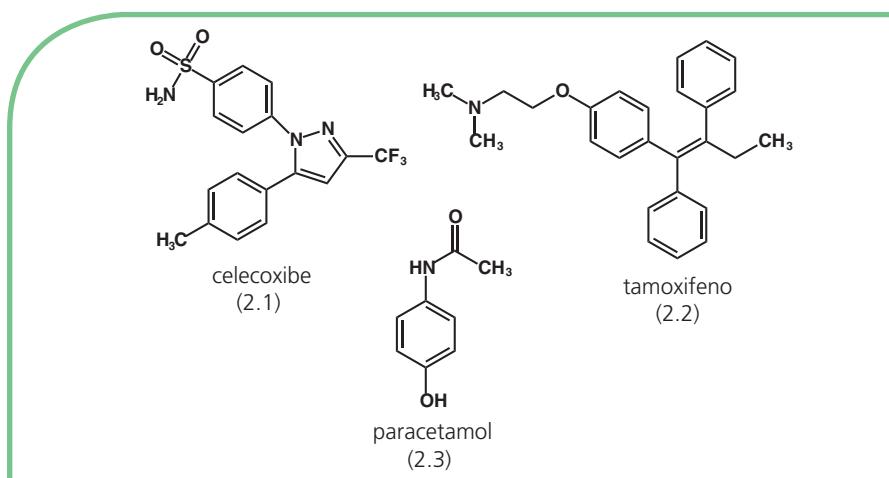


FIGURA 2.3 ► ESTRUTURAS DO CELECOXIBE (2.1), TAMOXIFENO (2.2) E PARACETAMOL (2.3).

QUADRO 2.2 ▶ METABOLISMO DE FÁRMACOS

Fármaco ativo	Metabólito inativo (<i>Bioinativação</i>)
Fármaco ativo	Metabólito ativo (<i>Bioativação</i> ou <i>Toxificação</i>)
Fármaco inativo (Pró-fármaco)	Metabólito ativo (<i>Bioativação</i>)

- f) estabelecer a eventual capacidade indutora ou inibidora do fármaco e seus metabólitos sobre enzimas do metabolismo, antecipando eventuais problemas de interações medicamentosas;
- g) determinar a atividade e a toxicidade dos metabólitos e correlacioná-los com a estrutura química;
- h) fornecer bases racionais para o desenho e novos protótipos de fármacos;
- i) fornecer bases racionais para a otimização das propriedades farmacocinéticas de fármacos e compostos-protótipos.

METABOLISMO DE FASE 1 OU BIOTRANSFORMAÇÃO

Os fármacos, assim como outros xenobióticos (p. ex., solventes industriais, pesticidas, corantes, flavorizantes, aromatizantes, poluentes atmosféricos, etc.), são metabolizados por distintos sistemas enzimáticos, visando assegurar seu processo de inativação e eliminação.

As reações metabólicas de fase 1 ou biotransformação caracterizam-se por envolver reações de oxidação, redução e hidrólise, as quais frequentemente resultam na obtenção de metabólitos hidroxilados. As desalquilações, por sua vez, constituem um tipo especial de reação oxidativa e contribuem para a formação de metabólitos com a inclusão de radicais OH, NH₂ e SH. Embora as transformações metabólicas de fase 1 conduzam à geração de metabólitos de maior polaridade em comparação aos fármacos originais, frequentemente elas são insuficientes para assegurar o aumento da hidrofilia e a consequente eliminação pela via renal. Por esta razão, em linha gerais, o metabolismo de fase 1 tem como objetivo funcionalizar a estrutura do fármaco, de modo a torná-lo substrato para as reações metabólicas de fase 2. No entanto, dependendo da funcionalização prévia da estrutura do fármaco, essa situação ideal (fase 1 → fase 2) não será observada, sendo o fármaco um substrato direto das reações metabólicas de fase 2, que serão comentadas posteriormente (Figura 2.2).

CITOCROMO P450 (CYP540)

A análise da natureza dos complexos enzimáticos envolvidos no metabolismo de fase 1 (Quadro 2.1) revela o predomínio de enzimas oxidativas, entre as quais o citocromo P450 (CYP450 ou CYP) tem lugar de destaque, dado seu papel fundamental no metabolismo hepático de fármacos das mais diversas classes terapêuticas.

CYP450 é o nome genérico dado a uma superfamília de hemeproteínas encontradas em células procariontes (p. ex., bactérias) e eucariontes (animais, plantas, fungos, insetos). Quando associadas a uma flavoproteína redutase (i.e., NADPH-citocromo-P450 redutase), formam o sistema oxidase de função mista (MFO, do inglês *mixed function oxidase*). Do ponto de vista bioquímico, são monoxigenases que promovem oxidação a partir da inserção de um átomo de oxigênio em um substrato orgânico (RH), a exemplo da estrutura do fármaco, enquanto o outro átomo de oxigênio é reduzido à água (Quadro 2.3).^{13,14}

QUADRO 2.3 ▶ EXEMPLO ESQUEMÁTICO DE REAÇÃO CATALISADA POR MONOXIGENASES



Em humanos, 57 genes funcionais de CYP450 foram identificados, codificando 18 famílias e 44 subfamílias de CYP (Quadro 2.4). A nomenclatura oficial para este importante complexo enzimático foi proposta em 1987 e recomenda a abreviação CYP para designar proteína citocromo P450; uso de um algarismo arábico para indicar a família genética; emprego de uma letra para assinalar a subfamília genética; e finalmente outro numeral para designar gene específico ou isoenzima. São consideradas da mesma família genética proteínas CYP que possuam > 40 % de identidade na sequência de aminoácidos; enquanto valores de identidade > 55% codificam proteínas da mesma subfamília.¹⁴

A despeito da diversidade, apenas três entre as 18 famílias de CYP estão relacionadas ao metabolismo de fármacos (Figura 2.4). A CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 e CYP3A4, em conjunto, correspondem a cerca de 90% do metabolismo oxidativo dos fármacos disponíveis no mercado farmacêutico mundial (Figura 2.5).^{15,16} As principais características destas isoenzimas encontram-se sumarizadas no Quadro 2.5.

As CYPs de células eucarióticas possuem comprimento variável entre cerca de 480-560 aminoácidos e são agrupadas, com base em sua localização subcelular, em três grandes categorias: a) microsomal, encontrada na membrana do retículo endoplasmático; b) mitocondrial, inserida na membrana de mitocôndrias; c) citossólica, única categoria conhecida para CYPs de procariontes, porém, rara em eucariontes.¹³

QUADRO 2.4 ► FAMÍLIAS, SUBFAMÍLIAS (E SUAS ISOENZIMAS) E AS PRINCIPAIS FUNÇÕES DAS PROTEÍNAS CYP HUMANA

FAMÍLIAS DE CYP450 HUMANA	MEMBROS FUNCIONAIS	PRINCIPAIS FUNÇÕES
CYP1	1A1, 1A2, 1B1	Metabolismo de xenobióticos
CYP2	2A6, 2A7, 2A13, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6, 2E1, 2F1, 2J2, 2R1, 2S1, 2U1, 2W1	Metabolismo de xenobióticos e metabolismo de esteroides
CYP3	3A4, 3A5, 3A7, 3A43	Metabolismo de xenobióticos
CYP4	4A11, 4A22, 4B1, 4F2, 4F3, 4F8, 4F11, 4F12, 4F22, 4V2, 4X1, 4Z1	Metabolismo de ácidos graxos e ácido araquidônico
CYP5	5A1	Síntese de tromboxana A2 (tromboxana sintase)
CYP7	7A1, 7B1	Esteróide 7 α -hidroxilase
CYP8	8A1, 8B1	Síntese de prostaciclina (prostaglandina sintase) e biossíntese de ácidos biliares
CYP11	11A1, 11B1, 11B2	Biossíntese de esteroides
CYP17	17A1	Biossíntese de testosterona e estrogênio (esteróide 17 α -hidroxilase)
CYP19	19A1	Biossíntese de estrogênio (aromatase)
CYP20	20A1	Desconhecidas
CYP21	21A2	Biossíntese de esteroides
CYP24	24A1	Metabolismo da vitamina D
CYP26	26A1, 26B1, 26C1	Metabolismo do ácido retinoico (hidroxilase de ácido retinoico)
CYP27	27A1, 27B1, 27C1	Biossíntese de ácidos biliares e ativação da vitamina D3
CYP39	39A1	Metabolismo do colesterol
CYP46	46A1	Metabolismo do colesterol (colesterol 24-hidroxilase)
CYP51	51A1	Metabolismo do colesterol (lanosterol 14 α -desmetilase)

Fonte: Adaptada de Danielson¹³ e McKinnon e colaboradores.¹⁴

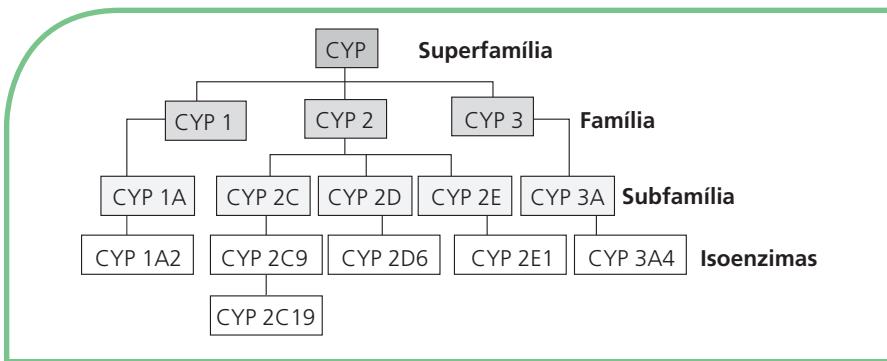


FIGURA 2.4 ► PRINCIPAIS FAMÍLIAS, SUBFAMÍLIAS E ISOENZIMAS DE CYP ENVOLVIDAS NO METABOLISMO DE FÁRMACOS.

As CYPs microsómicas correspondem, majoritariamente, às enzimas de mamíferos localizadas na membrana do retículo endoplasmático de hepatócitos e estão envolvidas com o metabolismo de fármacos e outros xenobióticos. A atividade enzimática das CYPs microsómicas depende da ação de uma flavoproteína, contendo quantidade equimolar de FMN (flavina mononucleotídeo) e FAD (flavina adenina dinucleotídeo), denominada NADPH-CYP450 redutase. Esta enzima é responsável pela transferência de elétrons do NADPH (fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo) para o CYP450, promovendo sua redução.¹⁷

Elas se anoram à membrana do retículo endoplasmático através de subunidade hidrofóbica (20-25 aa) presente na cadeia N-terminal da sequência conhecida por *signal-anchor domain* (domínio de sinais de ancoragem). Este domínio também é caracterizado pela presença de resíduos de aminoácidos altamente básicos na cadeia C-terminal e de um aminoácido carregado negativamente próximo à sequência N-terminal. Os resíduos carregados possuem função de facilitar o empacotamento das CYPs microssomais e garantir a correta orientação do domínio de ancoragem à membrana do retículo endoplasmático¹⁷ (Figura 2.6).

Em nível molecular, o CYP é constituído por um grupo prostético (o heme) e por uma parte proteica (Figura 2.7). O heme consiste em macrociclo tetrapirrólico conectado por grupos CH, contendo como substituintes quatro radicais metila, dois radicais vinila e dois ácidos propiônicos. No centro do macrociclo encontra-se o átomo de Fe (II ou III), coordenado aos quatro nitrogênios do anel pirrólico e a um quinto ligante axial, que define o

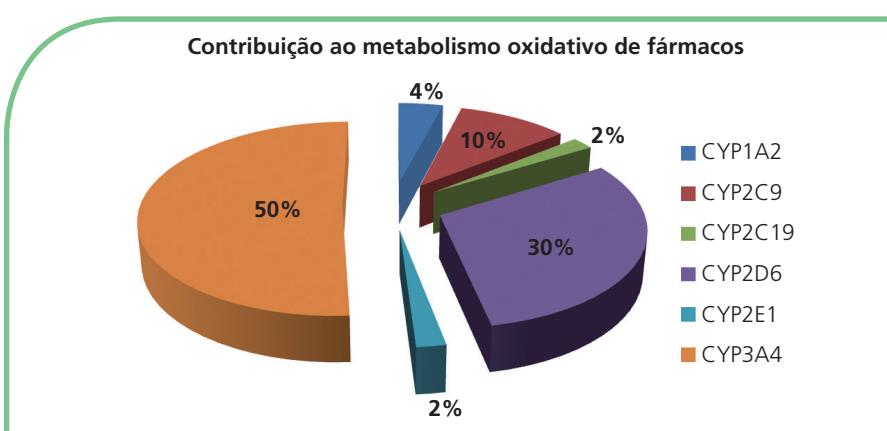


FIGURA 2.5 ► CONTRIBUIÇÃO DAS PRINCIPAIS ISOENZIMAS DA SUPERFAMÍLIA CYP NO METABOLISMO OXIDATIVO DE FÁRMACOS.

Fonte: Adaptada de Jenner e Testa.⁸

QUADRO 2.5 ► CARACTERÍSTICAS DAS SEIS PRINCIPAIS ISOENZIMAS DE CYP ENVOLVIDAS COM O METABOLISMO DE FÁRMACOS

CYP 1A2	CYP 2C9	CYP 2C19
Preferência por substratos planares lipofílicos, neutros ou básicos. Substrato: fenacetina (2.4) e cafeína (2.5) Inibidor: teofilina (2.6)	Preferência por substratos que contenham grupo doador de ligação hidrogênio (comumente de natureza aniónica) próximo à região lipofílica labil. Substrato: tolbutamida (2.7), naproxeno (2.8), varfarina (2.9) Inibidor: sulfafenazol (2.10)	Preferência por substratos lipofílicos, neutro e de tamanho intermediário. Substrato: diazepam (2.11), imipramina (2.12) Inibidor: ticlopidina (2.13)
CYP 2D6	CYP 2E1	CYP 3A4
Preferência por substratos aril-quinolaminas com sítio de oxidação localizado a 5-7 Å do N-básico. Substrato: fluoxetina (2.14), metoprolol (2.15) Inibidor: quinidina (2.16)	Preferência por substratos lipofílicos cílicos ou lineares pequenos ($PM \leq 200$ Da). Substrato: paracetamol (2.3), halotano (2.17) Inibidor: disulfiram (2.18)	Preferência por substratos lipofílicos, neutros, básicos ou ácidos. Oxidação dependente da reatividade química do substrato. Substrato: terfenadina (2.19), diltiazem (2.20) Inibidor: cetoconazol (2.21)

Fonte: Adaptada de Smith.¹⁶

tipo de hemeproteína. A mioglobina, por exemplo, é caracterizada pelo ferro em estado de oxidação +2 e pela coordenação com o nitrogênio imidazólico de resíduos de histidina, enquanto o CYP450 distingue-se pela coordenação com o átomo de enxofre do resíduo de aminoácido cisteína e pela presença do ferro em estado de oxidação +3 (Figura 2.8).

Em condição de inatividade (i.e., estado de repouso), o grupo heme das enzimas da superfamília CYP450 apresenta, além das cinco coordenações características (4 nitrogênios pirrólicos e o enxofre da cisteína), um sexto ligante axial, representado por uma molécula de água (A, Figura 2.9). No estágio de hexacoordenação, o complexo assume geometria octaédrica e estado de baixo *spin* ($S = \frac{1}{2}$). A entrada do substrato (p. ex., fármaco) no sítio ativo dispara modificações conformativas, que resultam no desloca-

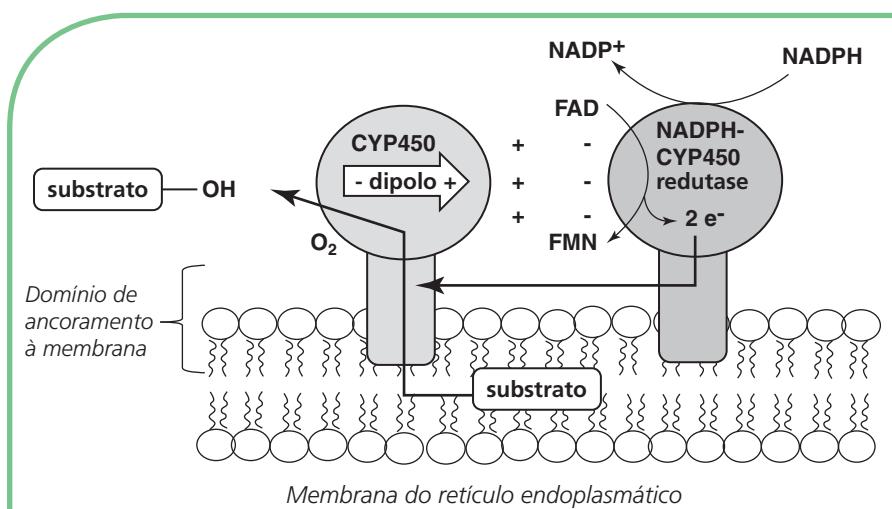
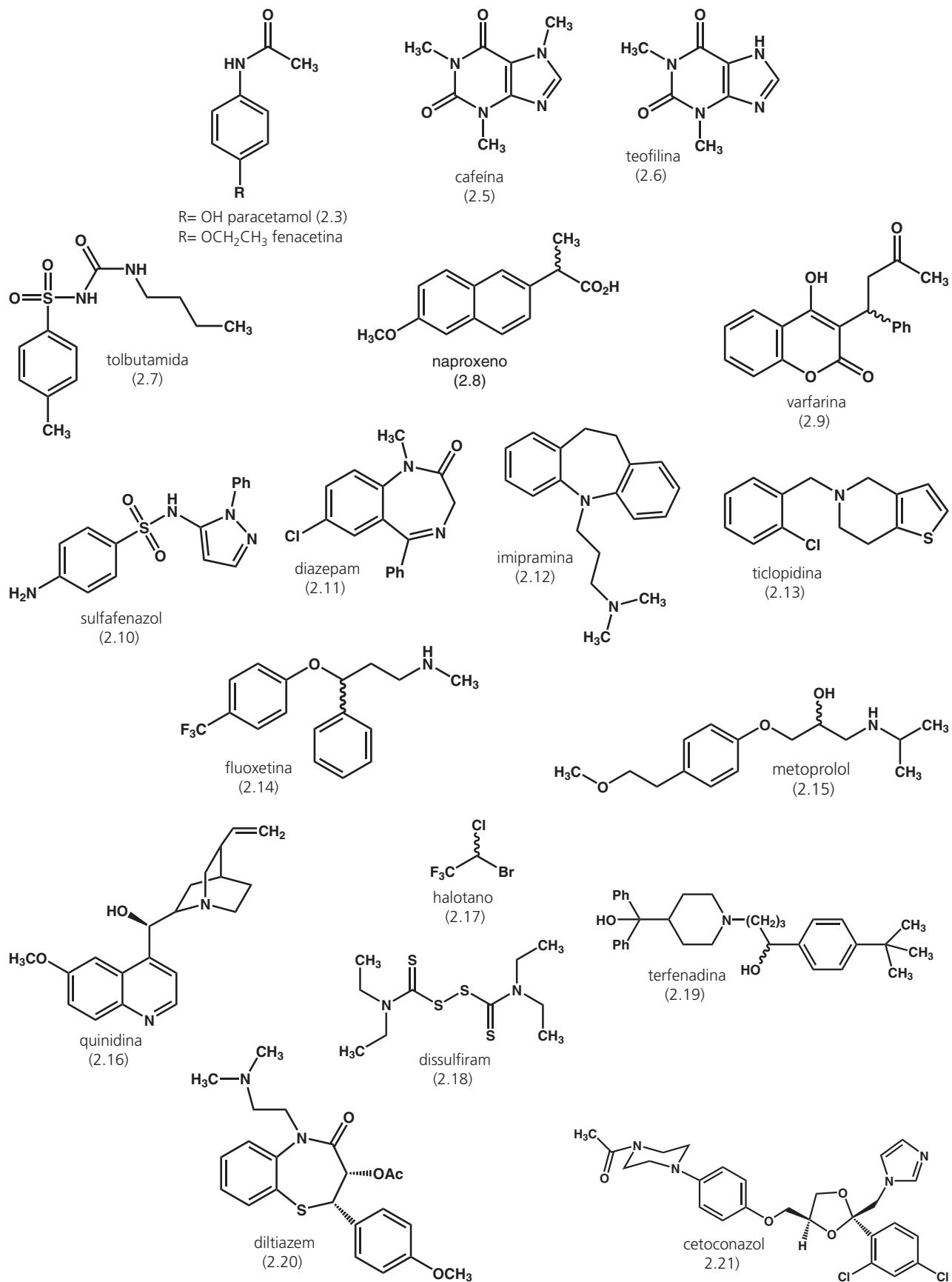


FIGURA 2.6 ► REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO COMPLEXO CYP MICROSSOMAL/NADPH-CYP450 REDUTASE E SEU DOMÍNIO DE ANCORAMENTO À MEMBRANA DO RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO.



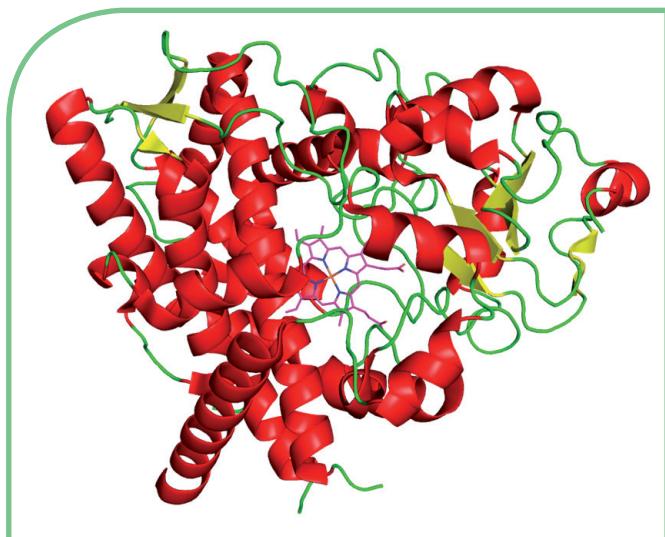


FIGURA 2.7 ► ESTRUTURA CRYSTALOGRÁFICA DO CYP3A4 (PDB 4K9W). UNIDADE PROSTÉTICA REPRESENTADA PELO GRUPO HEME (EM MAGENTA), PARTE PROTEICA REPRESENTADA PELAS ALFA-HÉLICES (EM VERMELHO), FOLHAS BETA (EM AMARELO) E ALÇAS (EM VERDE).

substrato, da energia necessária para dissociar a ligação C-H (Quadro 2.6) e consequente estabilização do intermediário radicalar formado.

As enzimas da superfamília de CYP microssomais são encontradas em altas concentrações no retículo endoplasmático de órgãos como fígado, rins, vias nasais, cérebro, pele e intestino. As seis isoenzimas identificadas como essenciais ao metabolismo de fármacos (Figura 2.4) catalisam uma série de reações oxidativas, características do metabolismo de fase 1, incluindo hidroxilações (p. ex., aromáticas, alílicas, benzílicas, alquílicas e α -heteroátomo); oxidação de heteroátomos; epoxidações e desalquilações. Tais reações ocorrem majoritariamente em nível hepático, com exceção da CYP3A4, que, em face de sua abundância no intestino, catalisa o metabolismo oxidativo hepático e intestinal de xenobióticos.

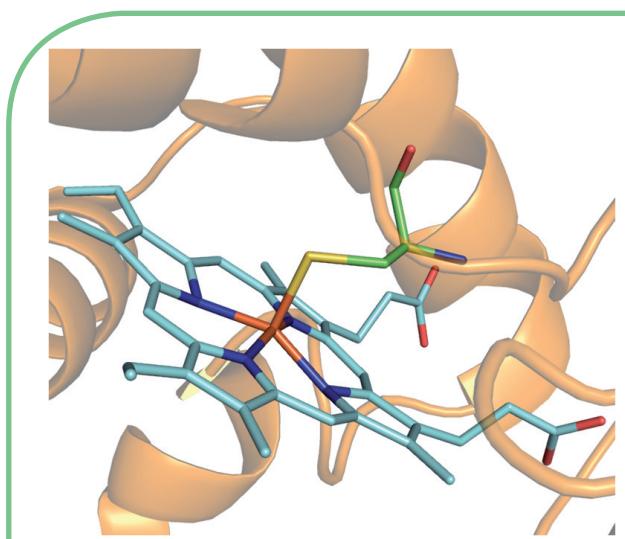


FIGURA 2.8 ► ESTRUTURA DO GRUPO HEME DO CYP450.

mento da molécula de água, culminando na obtenção de um complexo pentacoordenado com geometria bipiramidal trigonal e/ou bipiramidal quadrada e alto *spin* ($S= 5/2$) (B, Figura 2.9). Neste estágio de coordenação, o complexo encontra-se apto a receber um elétron doado pela NADPH-CYP450 redutase, promovendo a redução do Fe^{+3} em Fe^{+2} . O complexo reduzido (C, Figura 2.9) reage com oxigênio molecular formando o radical D (Figura 2.9), que é novamente reduzido para gerar o ânion Fe(III) -peróxido (E, Figura 2.9), que sofre protonação conduzindo à espécie Fe(III) -hidroperóxido (F, Figura 2.9). Este complexo de característica nucleofílica é rapidamente protonado, conduzindo à perda de uma molécula de água com consequente geração de espécie eletrofílica, altamente reativa, com o ferro em estado de oxidação +4 (G, Figura 2.9). Finalmente, esta espécie reage com o substrato (fármaco) promovendo a cisão homolítica da ligação carbono-hidrogênio (C-H), resultando na formação de um intermediário radicalar ($\text{R}\cdot$), que sofre, posteriormente, a adição do grupo hidroxila (OH), regenerando a enzima em seu estado inicial de repouso (Figura 2.9).¹⁸ Desta forma, uma maior ou menor reatividade de um substrato frente às reações oxidativas catalisadas pelas diferentes CYP depende do reconhecimento da proteína (CYP) pelo

HIDROXILAÇÕES

As hidroxilações constituem um tipo clássico de reação metabólica oxidativa catalisada pelas CYPs. De acordo com a natureza do carbono oxidado, elas são classificadas em: aromática; benzílica; alílica; α -heteroátomo e alifática (Quadro 2.7).

HIDROXILAÇÃO AROMÁTICA

A hidroxilação aromática constitui uma das transformações metabólicas mais comuns de fase 1, haja vista a presença de no mínimo um anel aromático na estrutura dos fármacos disponíveis na terapêutica. O mecanismo de hidroxilação aromática, ilustrado na Figura 2.10, inicia-se pela formação de complexo- π entre a nuvem eletrônica do anel aromático e o CYP450, em sua forma reativa (G, Figura 2.9), ocorrendo a transferência de um elétron e a formação de complexo- σ (etapa A') ou complexo- σ radical (etapa A) (Figura 2.10). Ambos os complexos originam o intermediário óxido de areno (etapas C e C') e posterior

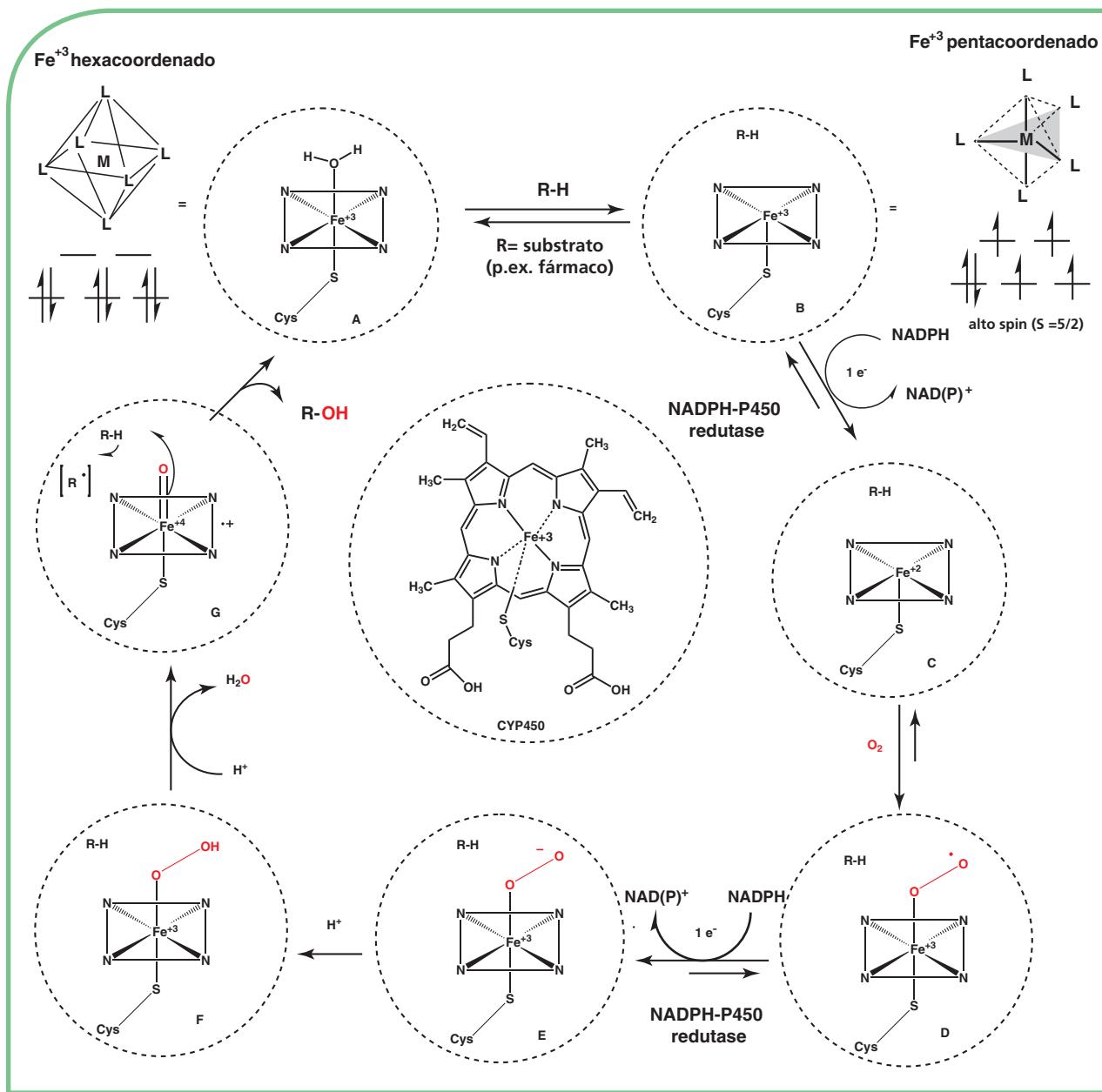


FIGURA 2.9 ► PROPOSIÇÃO DO MECANISMO DE MONOXIGENAÇÃO CATALISADA PELAS ENZIMAS DA SUPERFAMÍLIA CYP450.

formação do fenol correspondente. Mecanismo alternativo (etapa D) pressupõe a migração 1,2 de hidreto (*NIH shift*) e rearranjo para formação do fenol (etapa E).¹⁹

A regiosseletividade do processo de hidroxilação depende da natureza do(s) substituinte(s) ligado(s) ao anel aromático e da interação substrato-enzima (i.e. fármaco-CYP). Varfarina (2.9), fenitoína (2.23), buspirona (2.26) e anfetamina (2.28) são exemplos de fármacos substratos de hidroxilações aromáticas (Figura 2.11).

A previsão da regiosseletividade do processo de hidroxilação aromática deve considerar fatores eletrônicos, decorrentes da característica do anel a ser hidroxilado (substrato), e fatores estéricos – provenientes da interação enzima-substrato. A posição do anel mais suscetível à hidroxilação aromática pode ser antecipada com base na estrutura do substrato, determinando-se, por exemplo, a estabilidade relativa do radical formado nas diferentes posições do anel aromático. A oxidação da *S,R*-varfarina (2.9) ilustra bem esta abordagem com

QUADRO 2.6 ► ENERGIA DE DISSOCIAÇÃO DE LIGAÇÕES C-H SELECIONADAS

LIGAÇÃO C-H	TIPO DE LIGAÇÃO	ENERGIA DE DISSOCIAÇÃO EM KJ/MOL
H-C ₆ H ₅	fenila	464
H-CH ₃	metano	438
H-CH ₂ CH ₃	alquila primário	420
H-CH ₂ CH ₂ CH ₃	alquila primário	417
H-CH ₂ C(CH ₃) ₃	alquila primário	418
H-CH(CH ₃) ₂	alquila secundário	401
H-C(CH ₃) ₃	alquila terciário	390
H-CH ₂ Ph	benzílica primária	368
H-CH(CH ₃)Ph	benzílica secundária	357
H-CH(CH ₃) ₂ Ph	benzílica terciária	353
H-CH ₂ CH=CH ₂	alílica primária	361
H-CH(CH ₃)CH=CH ₂	alílica secundária	345

QUADRO 2.7 ► PROCESSOS MICROSSOMAIS DE FASE 1 CATALISADOS POR CYP

OXIDAÇÕES			
Carbono			
Hidroxilação aromática	ArH		ArOH
Hidroxilação benzílica	Ar-CH ₃		Ar-CH ₂ OH ou Ar-CO ₂ H
Hidroxilação alílica	R-CH=CH-CH ₃		R-CH=CH-CH ₂ OH
Hidroxilação alifática	CH ₃ (CH ₂) _n CH ₃		CH ₃ (CH ₂) _n OHCH ₃
Epoxidação	R-CH=CH-R		R-CH-(O)-CH-R
Hidroxilação α -heteroátomo	R-X-CH ₂ CH ₃		R-X-CHOHCH ₃
Nitrogênio			
Aminas primárias	RNH ₂		RNHOH ou RN=O
Aminas secundárias	R ₁ R ₂ NH		R ₁ R ₂ NOH
Aminas terciárias	R ₁ R ₂ R ₃ N		R ₁ R ₂ R ₃ N ⁺ -O ⁻
Amidas 1 ^a e 2 ^a	RCONHR'		RCON(R')OH ou RCON(=O)R'
Enxofre			
Sulfetos	RSR'		RSOR'
Sulfóxidos	RSOR'		RSO ₂ R'
Tióis	RSH		RSOH ou RS-SR ou RSO ₂ H ou RSO ₃ H
Tiocetona ou Tioamida	R-C(=S)R' ou R-C(=S)NHR'		R-C(=O)R' ou R-C(=O)NHR'
Oxigênio			
Álcool primário	R-CH ₂ OH		R-CO ₂ H
Álcool secundário	RR ₁ -CH-OH		R-COR ₁
X-desalquilação			
N-desalquilação	R-NH-CH ₂ -R		R-NH ₂ + R'CHO
O-desalquilação	R-O-CH ₂ R		R-OH + R'CHO
S-desalquilação	R-S-CH ₂ R		R-SH + R'CHO

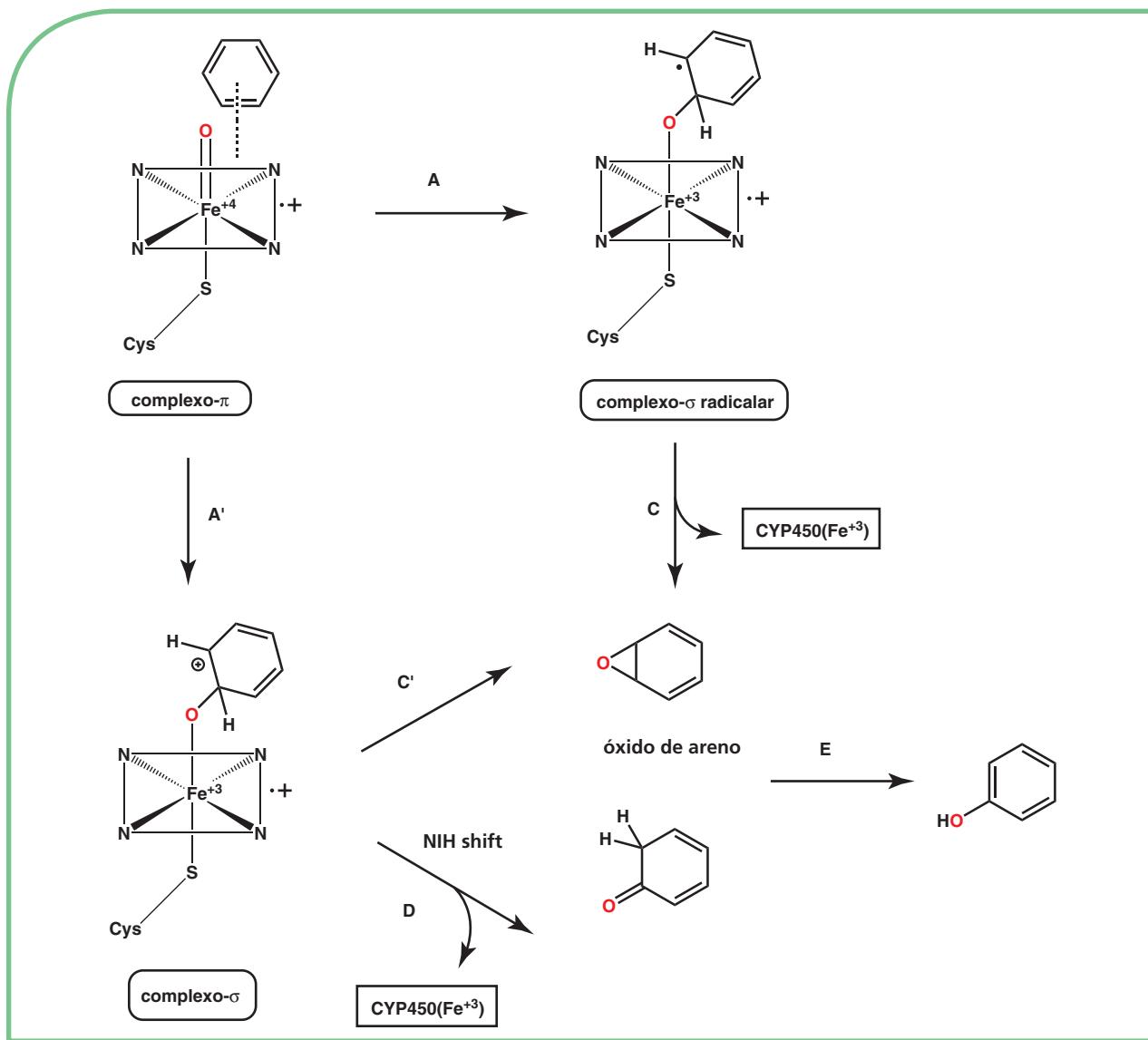


FIGURA 2.10 ► PROPOSTA DE MECANISMO DE HIDROXILAÇÃO AROMÁTICA CATALISADA PELAS ENZIMAS DA SUPERFAMÍLIA CYP450.

a maior estabilidade comparativa do radical formado na posição 6 do anel cromeno, permitindo prever a formação preferencial do metabólito-6-hidroxi-varfarina (2.22) (Figura 2.12).

O metabolismo oxidativo do diclofenaco (2.30) frente a diferentes CYP recombinantes de humanos é um exemplo clássico de como a regiosseletividade do processo de hidroxilação aromática pode depender preferencialmente da interação enzima-substrato. Do ponto de vista eletrônico, a hidroxilação da posição C5 é preferencial a C4', permitindo prever a formação do metabólito 5-hidroxi-diclofenaco (2.31) – formado pela ação catalítica do CYP3A4 e de outras isoenzimas recombinantes, à exceção da CYP2C9. Sob catálise da CYP2C9, o metabólito formado é o 4'-hidroxi-diclofenaco (2.32). Foi demonstrado que a oxidação da posição C4' depende da interação realizada entre o carboxilato e os resíduos básicos do sítio ativo enzimático, orientando o anel fenila diclorado para o grupo heme. A redução do ácido carboxílico gera o derivado 2.33, que perde a interação com os resíduos de aminoácidos básicos e, portanto, ao contrário do diclofenaco, é oxidado pela CYP2C9 na posição eletronicamente mais favorável (C5), gerando o metabólito 2.34 (Figura 2.13).²⁰

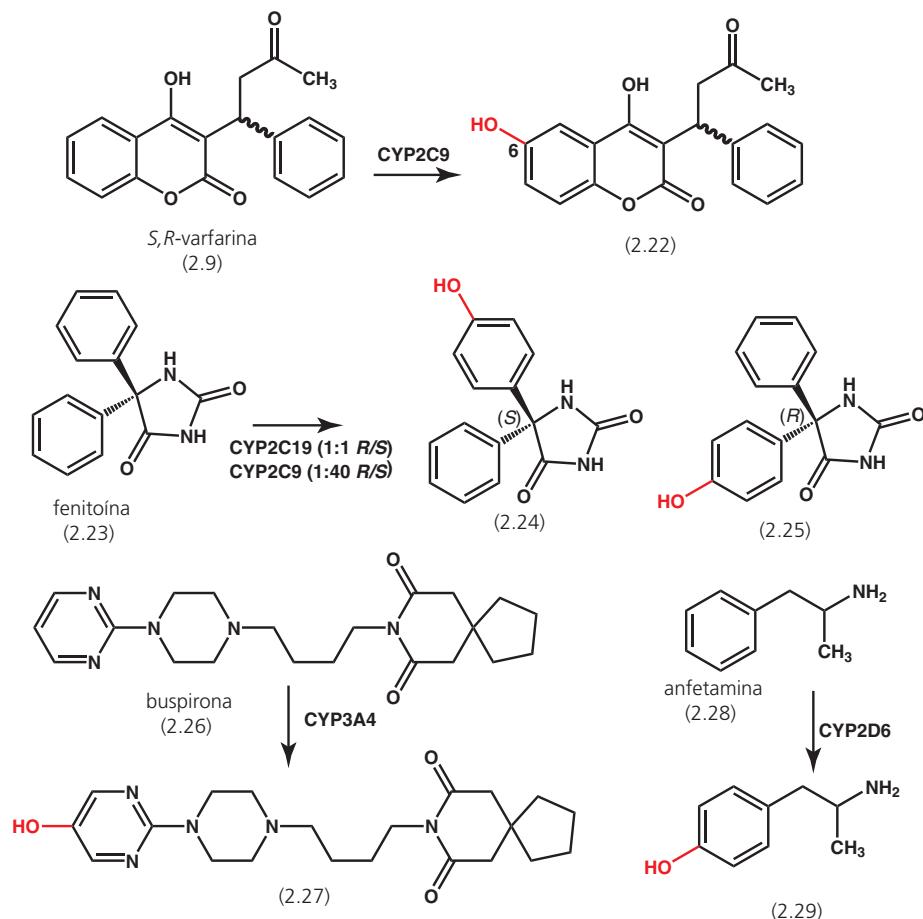


FIGURA 2.11 ► EXEMPLOS DE FÁRMACOS METABOLIZADOS POR HIDROXILAÇÃO AROMÁTICA: VARFARINA (2.9); FENITOÍNA (2.23); BUSPIRONA (2.26) E ANFETAMINA (2.28).

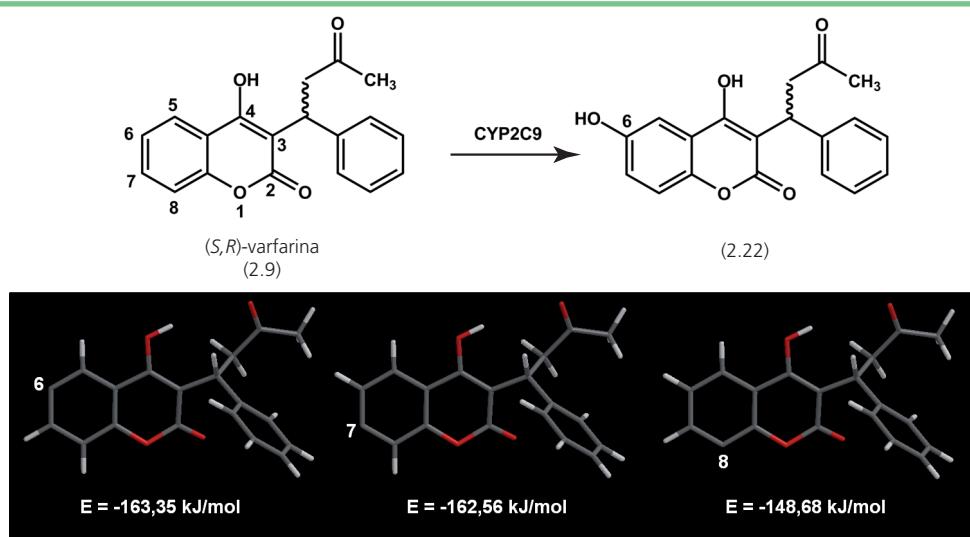


FIGURA 2.12 ► VARFARINA (2.9) E SEU METABÓLITO 6-HIDROXIVARFARINA (2.22) E A ENERGIA COMPARATIVA DOS RADICais FORMADOS NAS POSIÇÕES C6, C7 E C8 DO ANEL CROMENO.

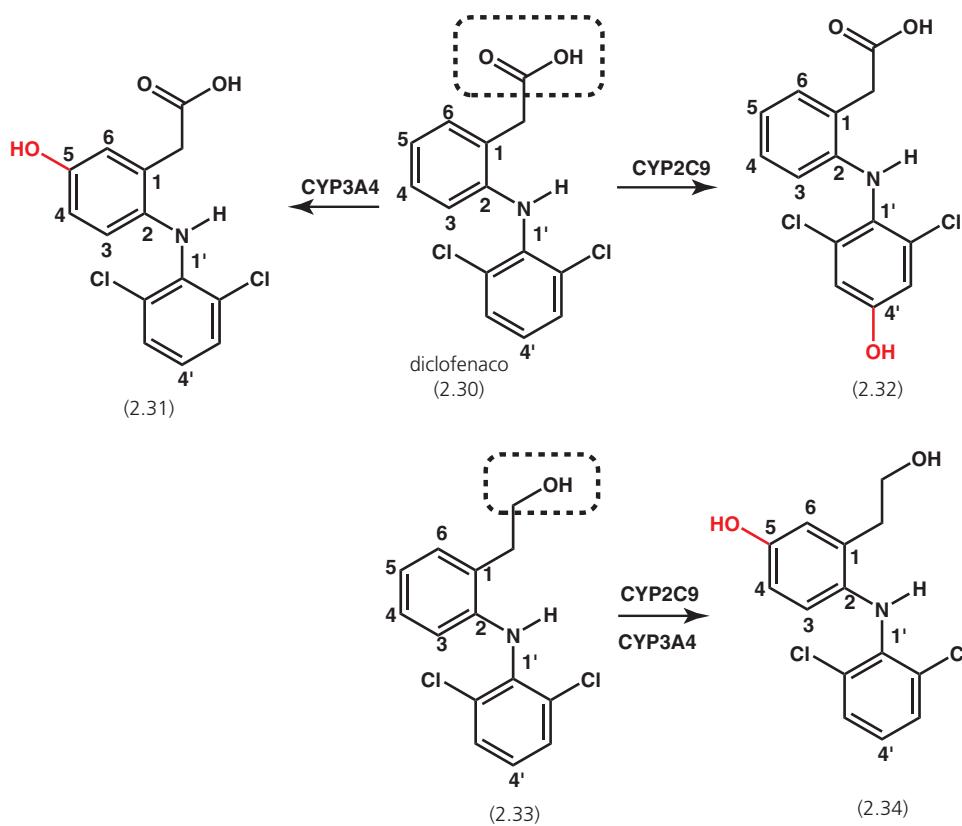


FIGURA 2.13 ► DICLOFENACO (2.30) E SEUS METABÓLITOS (2.21 E 2.22) E O PAPEL DA SUBUNIDADE ÁCIDO-CARBOXÍLICO NA REGIOSSELEVTIVIDADE DA HIDROXILAÇÃO, CATALISADA PELA CYP2C9 E EVIDENCIADA ATRAVÉS DO METABOLISMO DO ANÁLOGO 2.23.

HIDROXILAÇÃO BENZÍLICA

A presença de metila(s) ou carbono(s) benzílico(s) na estrutura de fármacos frequentemente resulta em labilidade metabólica, por meio de reação oxidativa conhecida por hidroxilação benzílica. A hidroxilação benzílica é comandada por efeitos eletrônicos de estabilização do radical benzílico formado durante o processo de oxidação com a espécie oxidante eletrofílica (G) ilustrada na [Figura 2.9](#). Embora o processo oxidativo conduza inicialmente ao álcool benzílico ([2.35](#), [Figura 2.14](#)), raramente este metabólito é isolado, haja vista sua rápida metabolização ao ácido carboxílico correspondente, por ação das enzimas CYPs ou álcool desidrogenase (ADH). Celecoxibe ([2.1](#)), zolpidem ([2.37](#)), tolazamida ([2.40](#)), indacaterol ([2.42](#)) e losartana ([2.44](#)) são exemplos de fármacos substratos de hidroxilação benzílica catalisada por diferentes isoenzimas do CYP450 ([Figura 2.14](#)).

HIDROXILAÇÃO ALÍLICA

Semelhante às posições benzílicas, a presença de carbonos alílicos confere à estrutura do substrato susceptibilidade oxidativa. A cisão homolítica da ligação C-H de uma subunidade alílica, decorrente da ação oxidativa do CYP450, resulta na formação de radical estabilizado, viabilizando sua hidroxilação. Quinina ([2.46](#)) e naloxona ([2.48](#)) são exemplos de fármacos substratos de hidroxilação alílica CYP catalisada ([Figura 2.15](#)).

HIDROXILAÇÃO ALIFÁTICA

A hidroxilação alifática, embora eletronicamente menos favorável que as hidroxilações benzílica e alílica, é comum em substratos contendo subunidades isopropila ([2.50](#) e

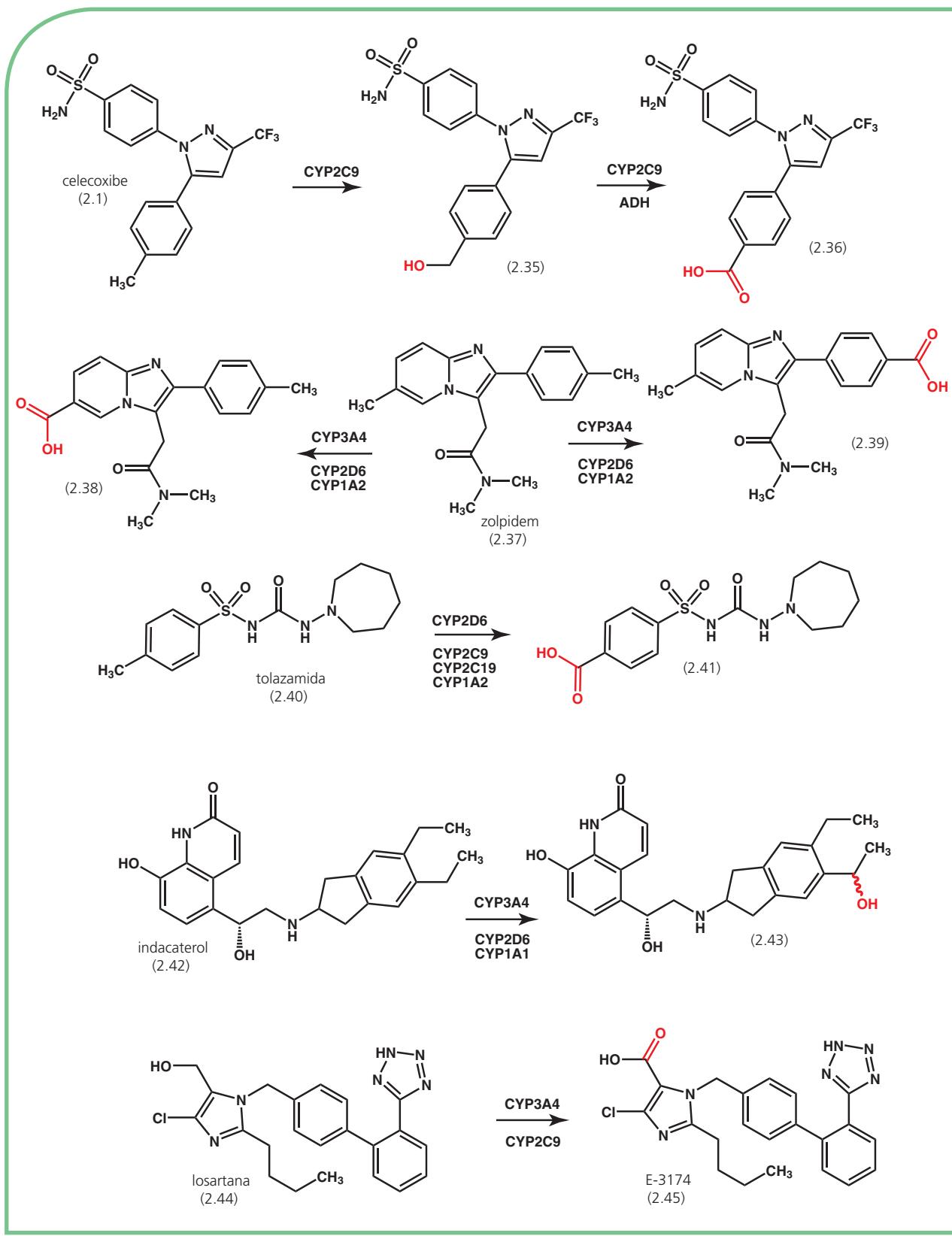


FIGURA 2.14 ▶ EXEMPLOS DE FÁRMACOS METABOLIZADOS POR HIDROXILAÇÃO BENZÍLICA: CELECOXIBE (2.1); ZOLPIDEM (2.37); TOLAZAMIDA (2.40); INDACATEROL (2.42) E LOSARTANA (2.44).

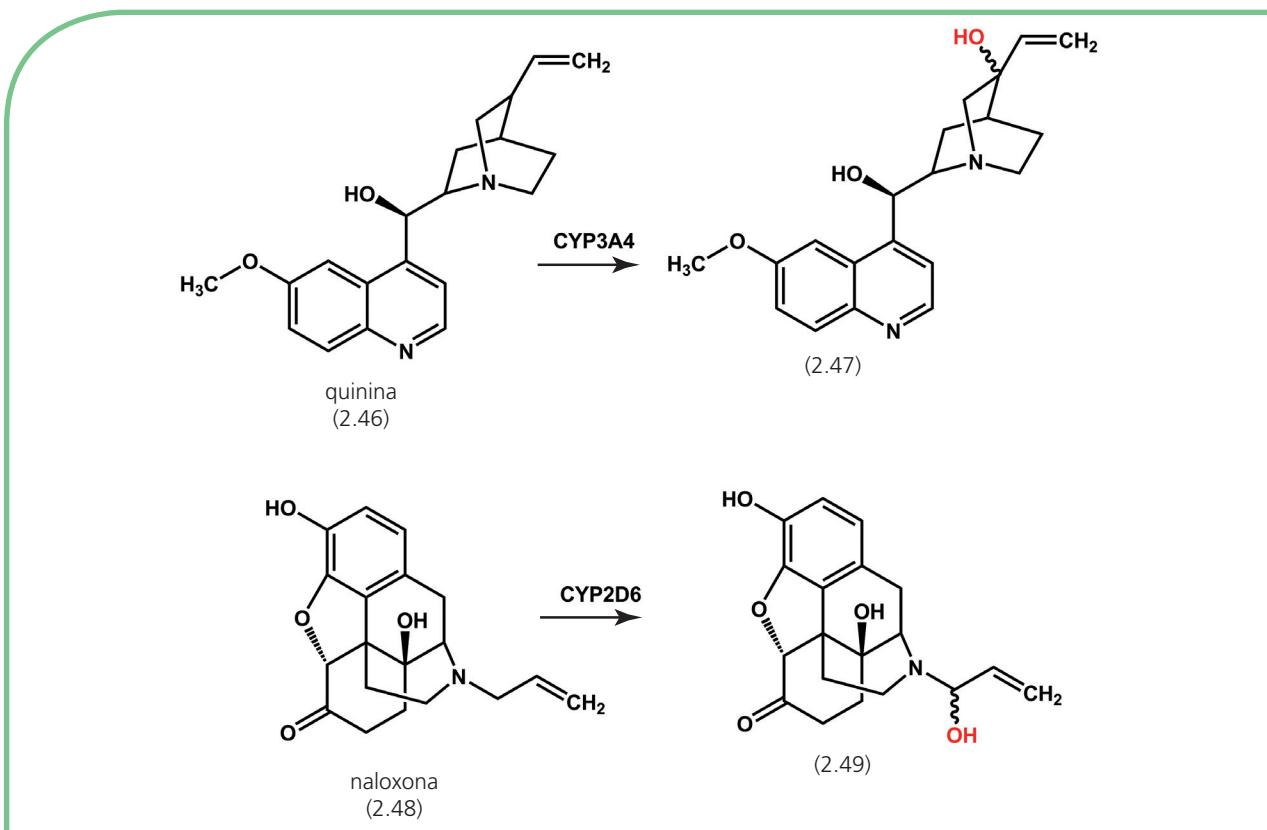


FIGURA 2.15 ▶ EXEMPLOS DE FÁRMACOS METABOLIZADOS POR HIDROXILAÇÃO ALÍLICA: QUININA (2.46) E NALOXONA (2.48).

2.53) e *tert*-butila (2.19). A energia necessária para a dissociação homolítica da ligação C-H e a estabilidade do radical resultante permitem prever a maior probabilidade de oxidação para carbonos terciários > secundários > primários. Ibuprofeno (2.50), nateglinida (2.53), glipizida (2.55) e terfenadina (2.19) são exemplos de fármacos metabolizados por hidroxilação alifática (Figura 2.16).

HIDROXILAÇÃO α -HETEROÁTOMO

Carbonos alfa a heteroátomos (N, O, S) são substratos de oxidação catalisada por CYPs, em processo conhecido como hidroxilação α -heteroátomo. A biotransformação da primidona (2.58) no metabólito 2.59, o qual é posteriormente oxidado por ação de álcool-desidrogenases (ADH) ao fenobarbital (2.23), ilustra esse processo metabólico (Figura 2.17). A hidroxilação α -heteroátomo constitui etapa metabólica comum no metabolismo dos benzodiazepínicos, a exemplo do diazepam (2.11), e no mecanismo de bioativação da ifosfamida (2.61) (Figura 2.17).²¹

EPOXIDAÇÃO

Em mecanismo similar ao da oxidação de anéis aromáticos, as reações de epoxidação envolvem inicialmente a formação de complexo- π entre os elétrons da dupla ligação e a espécie oxidante eletrofílica do ciclo catalítico do CYP450 (G, Figura 2.18). Posterior formação do complexo- σ radicalar é observado com consequente rearranjo para formação do epóxido e regeneração do grupo heme com estado de oxidação Fe+3 (Figura 2.18).¹⁷ Carbamazepina (2.63), ciproheptadina (2.65) e vigabatrina (2.67) são exemplos de fármacos substratos de epoxidação catalisada por CYP (Figura 2.19).

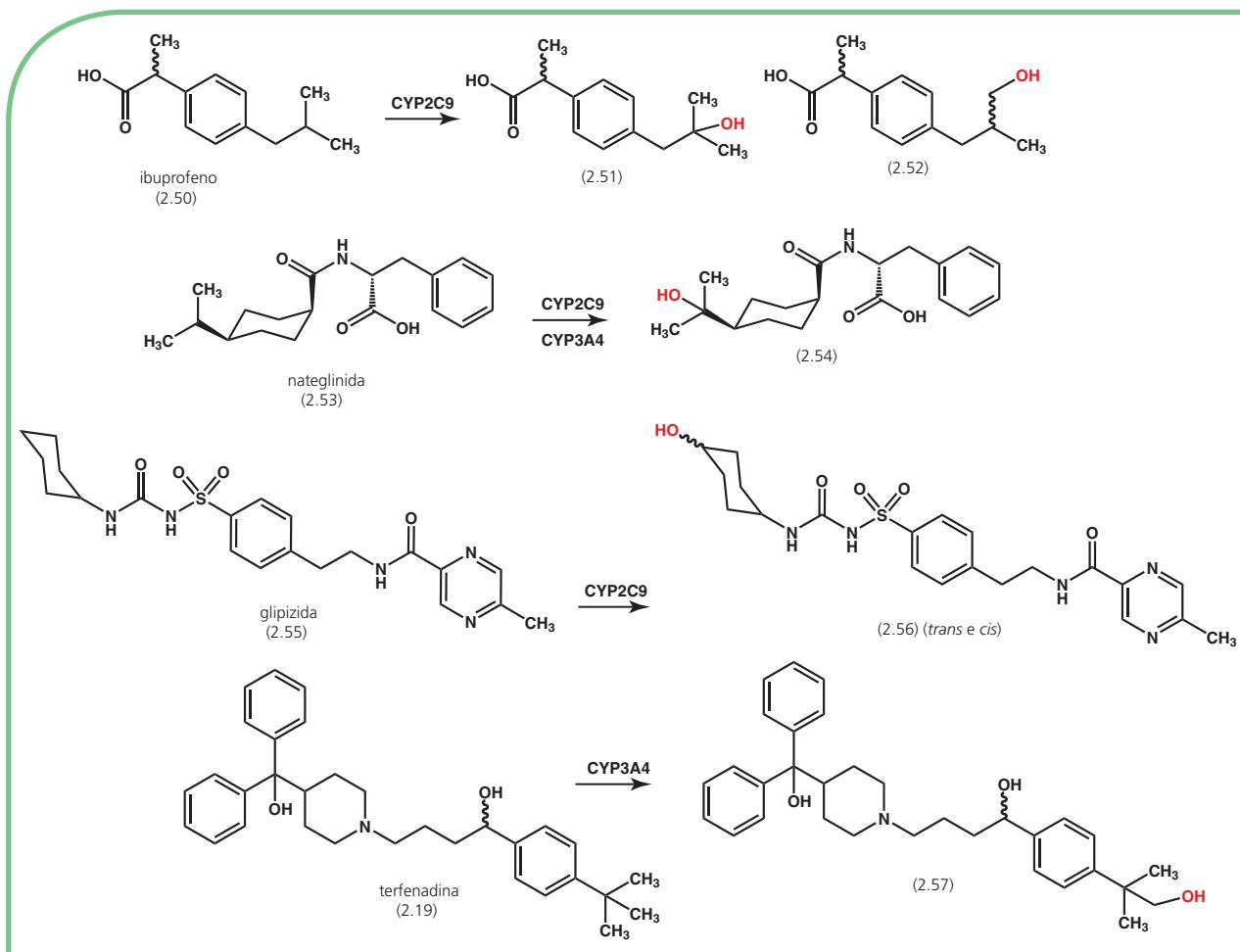


FIGURA 2.16 ▷ EXEMPLOS DE FÁRMACOS METABOLIZADOS POR HIDROXILAÇÃO ALIFÁTICA: IBUPROFENO (2.50); NATEGLINIDA (2.53); GLIPIZIDA (2.55) E TERFENADINA (2.19).

X-DESALQUILAÇÃO (X = N, O, S)

As hidroxilações de carbonos α -heteroátomos (N, O, S), catalisadas por diferentes isoenzimas CYP450, resultam na obtenção de aminoacetais ($\text{RNH-C-OR}'$), tioacetais ($\text{RS-C-OR}'$) e acetais ($\text{RO-C-OR}'$), que, através de rearranjo intramolecular, culminam na perda do grupamento alquila ligado ao heteroátkomo, em processo conhecido por desalquilação (Figura 2.20). Éteres, aminas secundárias ou terciárias e tioéteres são fragmentos moleculares suscetíveis às reações metabólicas de desalquilação. Entre os exemplos de fármacos metabolizados por *N*-desalquilação encontram-se a sertralina (2.69) e a domperidona (2.71). A paroxetina (2.73) e a venlafaxina (2.75) ilustram exemplos de substratos de *O*-desalquilação, e a tioridazina (2.77), de *S*-desalquilação (Figura 2.21).

OXIDAÇÃO DE HETEROÁTOMO (N, S)

A oxidação de heteroátomos (N, S) é uma transformação metabólica, frequentemente reversível (Figura 2.22), comum em substratos contendo aminas terciárias, alifáticas ou aromáticas, resultando na obtenção de metabólitos *N*-óxidos ($\text{R}_3\text{N}^+-\text{O}^-$). A *N*-oxidação de aminas primárias, por sua vez, resulta na formação preferencial de metabólitos hidroxilamina ($\text{R}_1\text{NH}_2\text{-OH}$) em detrimento de metabólitos nitrosos ($\text{R}_1\text{N}=\text{O}$), não sendo detectada *in vivo* a geração de metabólito nitro ($\text{R}_1\text{-NO}_2$). De forma análoga, as hidro-