

# 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.<sup>1,2</sup> 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.<sup>3</sup>

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.<sup>4-6</sup> 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).<sup>5-7</sup>

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](#)).<sup>6,8</sup>

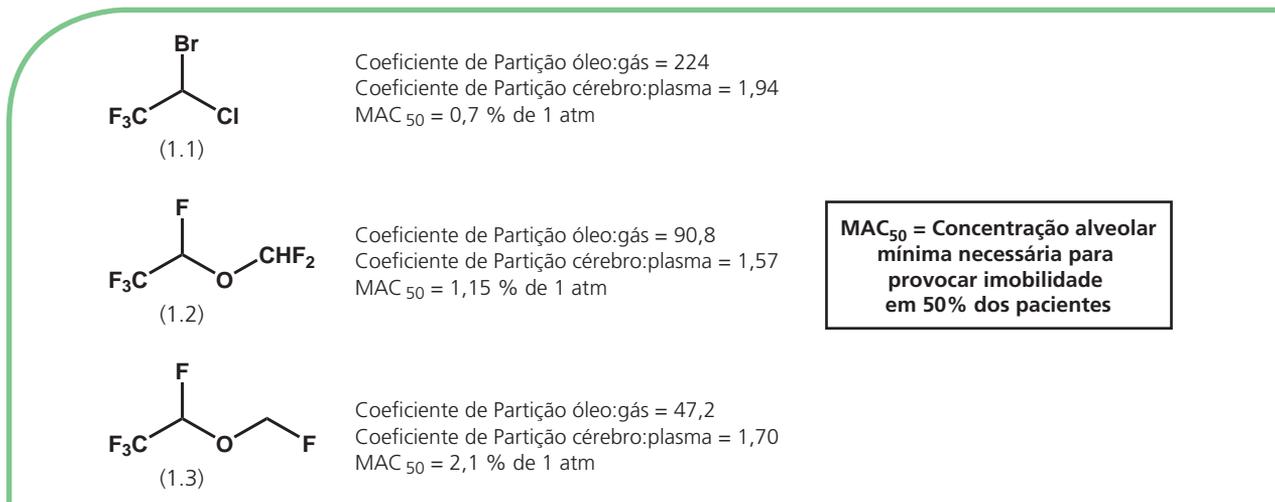


FIGURA 1.1 ► CORRELAÇÃO ENTRE AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E A ATIVIDADE ANESTÉSICA DOS FÁRMACOS ESTRUTURALMENTE INESPECÍFICOS (1.1), (1.2) E (1.3).

Por outro lado, durante o desenvolvimento de uma família de antagonistas de receptores de adenosina A<sub>1</sub>, 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.<sup>9</sup> Modificações estruturais visando à redução de sua permeabilidade pela barreira hematoencefálica 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).<sup>10</sup>

## 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.

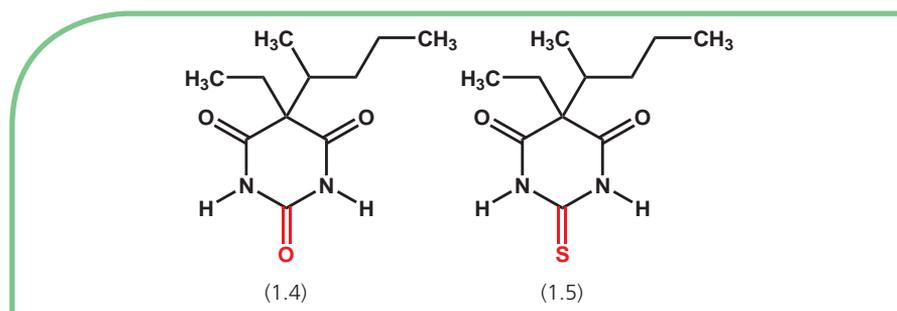


FIGURA 1.2 ► INFLUÊNCIA DA MODIFICAÇÃO MOLECULAR NO MECANISMO DE AÇÃO DOS BARBITURATOS (1.4) E (1.5).

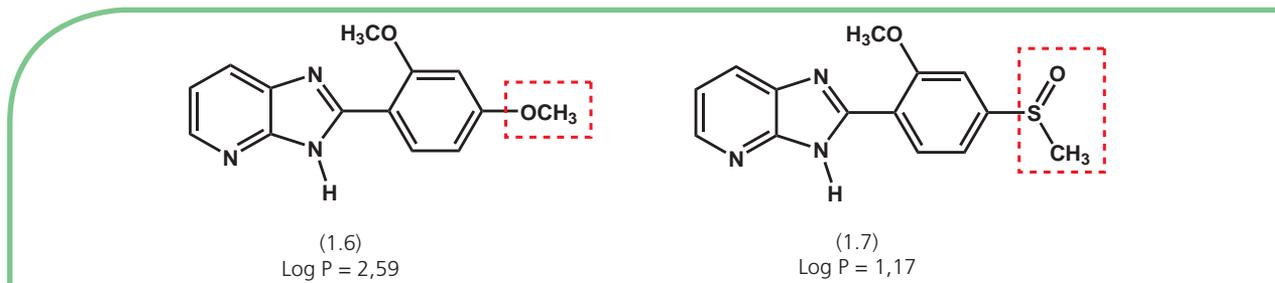


FIGURA 1.3 ► INFLUÊNCIA DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (P) NOS EFEITOS CENTRAIS INESPECÍFICOS DOS PROTÓTIPOS CANDIDATOS A FÁRMACOS CARDIOTÔNICOS (1.6) E (1.7).

A complementaridade molecular necessária para a interação da micromolécula com a biomacromolécula receptora pode ser simplificada ilustrativamente pelo modelo *chave-fechadura* (Figura 1.4).<sup>11,12</sup> Neste modelo, proposto pelo químico alemão Emil Fischer para explicar a especificidade da interação enzima-substrato,<sup>11</sup> 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*.<sup>11,12</sup> A análise da Figura 1.4 permite evidenciar-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.

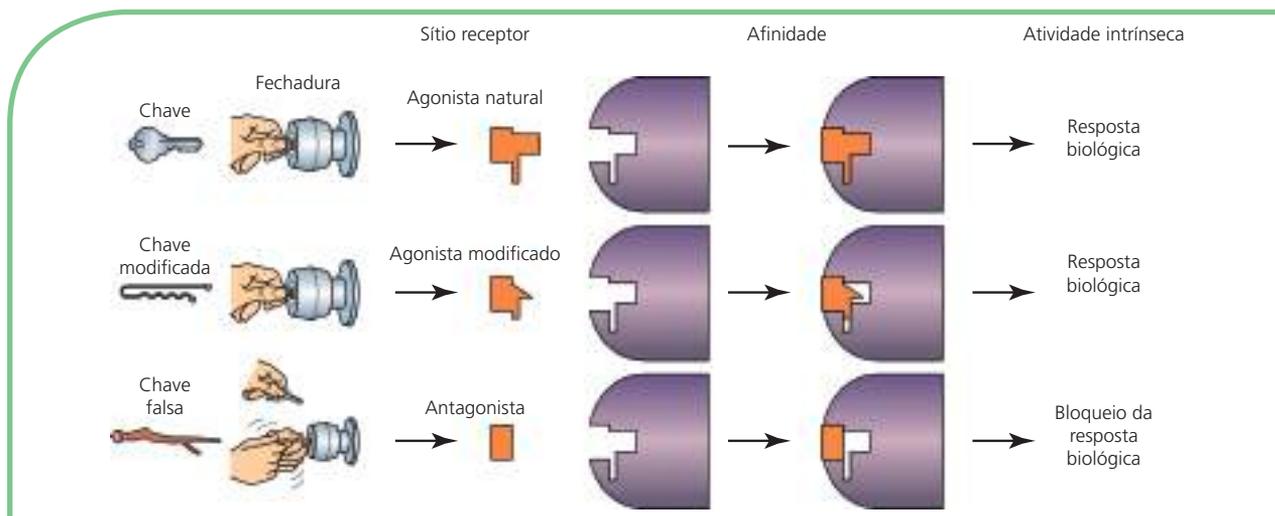


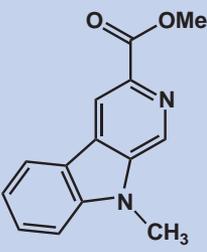
FIGURA 1.4 ► MODELO CHAVE-FECHADURA E O RECONHECIMENTO LIGANTE-RECEPTOR.

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,<sup>13</sup> 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.<sup>14</sup> Cabe destacar que as substâncias (1.8-1.11) são ligantes com afinidades distintas, uma vez que são reconhecidas diferentemente pelos sítios complementares de interação localizados no biorreceptor-alvo. Neste caso, o composto imidazolobenzodiazepínico flumazenil (1.10) é aquele que apresenta maior afinidade pelo receptor benzodiazepínico, seguido do derivado  $\beta$ -carbólico (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

			
diazepam (1.8)	midazolam (1.9)	flumazenil (1.10)	$\beta$ -CCM (1.11)
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 colaboradores<sup>13</sup> e Fryer.<sup>14</sup>

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

## FORÇAS ELETRÓSTÁTICAS

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,  $\sim 5$  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 cicloxigenase (COX),<sup>8</sup> 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).<sup>15,16</sup> 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,  $\sim 10$  kcal/mol.

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

- íon-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.

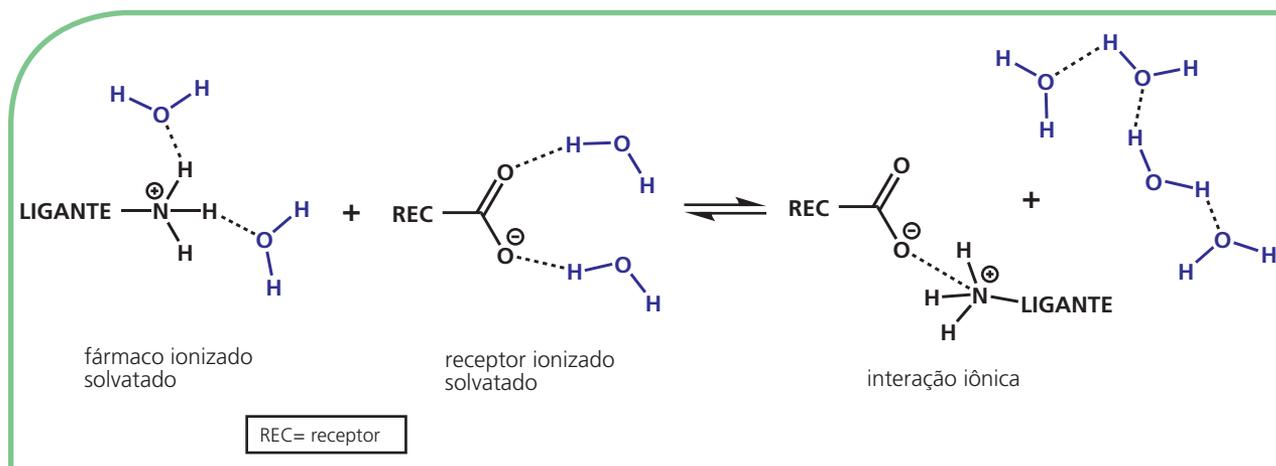


FIGURA 1.5 ► INTERAÇÕES IÔNICAS E O RECONHECIMENTO FÁRMACO-RECEPTOR.

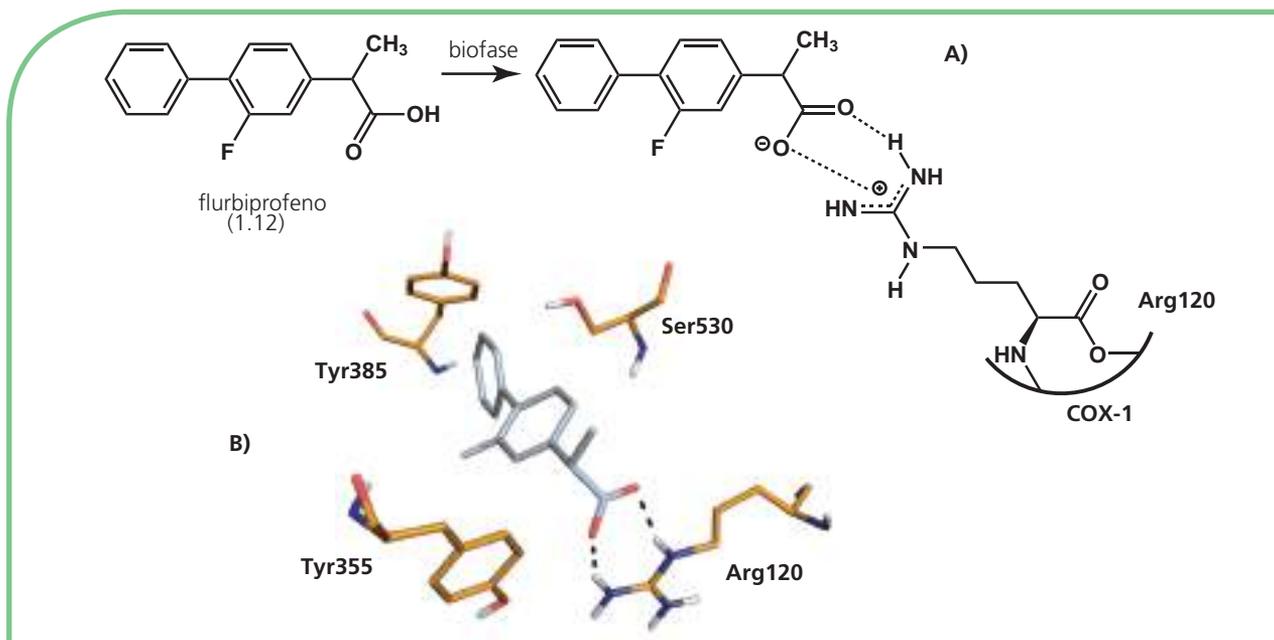


FIGURA 1.6 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DO FLURBIPROFENO (1.12) PELO RESÍDUO ARG120 DO SÍTIO ATIVO DA COX-1 (PDB ID 3N8Z), VIA INTERAÇÃO IÔNICA. (A) VISÃO BIDIMENSIONAL; (B) VISÃO TRIDIMENSIONAL.

A interação do substrato natural da enzima ferro-heme dependente tromboxana sintase (TXS),<sup>17</sup> isto é, endoperóxido cíclico de prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>, 1.13), envolve a formação de uma interação íon-dipolo regioseletiva entre o átomo de ferro do grupo 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 PGH<sub>2</sub> (1.13) no autacoide trombogênico e vasoconstritor tromboxana A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). 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<sup>++</sup> do grupo protético heme (Figura 1.8B), como o ozagrel<sup>18</sup> (1.14).

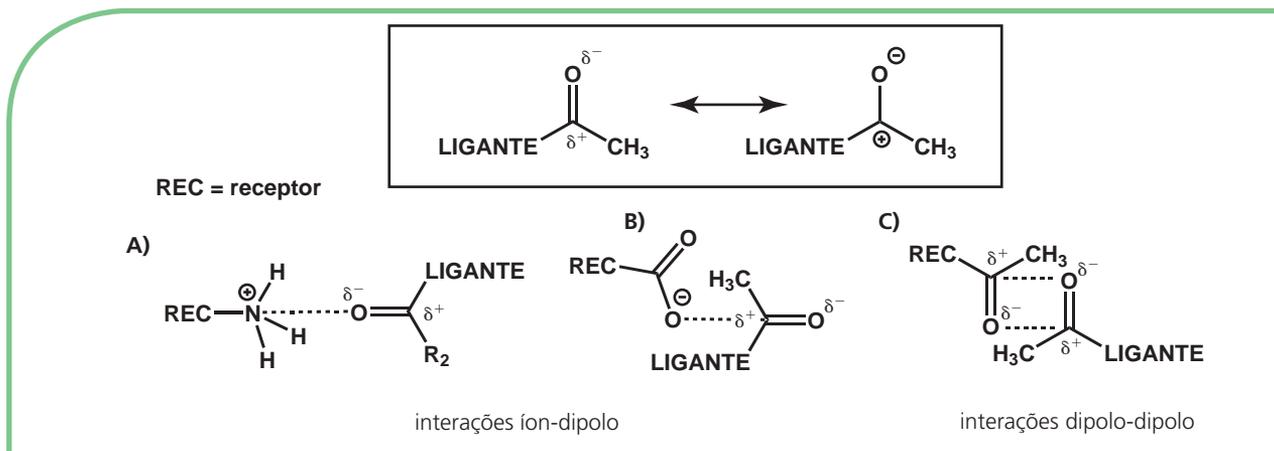
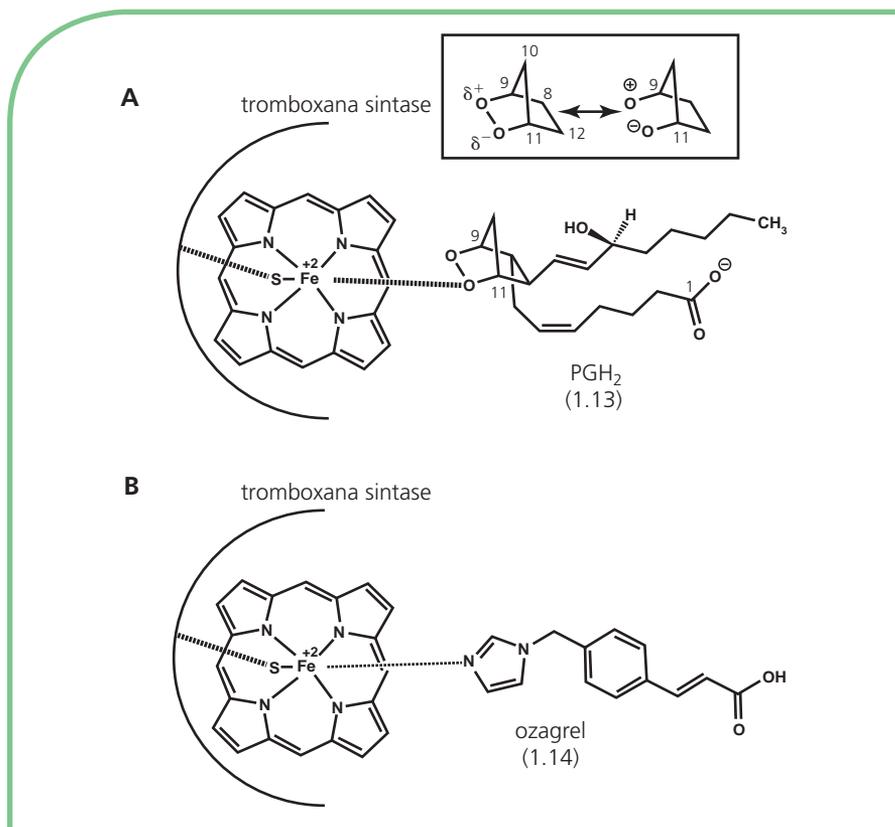


FIGURA 1.7 ► INTERAÇÕES ÍON-DIPOLO (A e B); DIPOLO-DIPOLO (C) E O RECONHECIMENTO FÁRMACO-RECEPTOR.



**FIGURA 1.8** ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DA PGH<sub>2</sub> (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- $\pi$ , empilhamento-T, ou alternativamente interações íon-dipolo denominadas de cátion- $\pi$ . As interações de empilhamento, que apresentam magnitudes variadas dependendo da orientação e variação dos momentos dipolo dos sistemas aromáticos,<sup>19</sup> são decorrentes da aproximação paralela (empilhamento- $\pi$ ) 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- $\pi$  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- $\pi$  entre seu anel quinolínic e os resíduos de aminoácidos triptofano e fenilalanina nas posições 84 (Trp84) e 330 (Phe330),<sup>20</sup> respectivamente (Figura 1.10A). Ademais, os estudos de Zhong e colaboradores<sup>21</sup> demonstraram que as interações cátion- $\pi$  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  $\alpha$  do biorreceptor (Trp149) são capazes de afetar a energia da interação com o grupo trimetilamônio do neurotransmissor (Figura 1.10B).

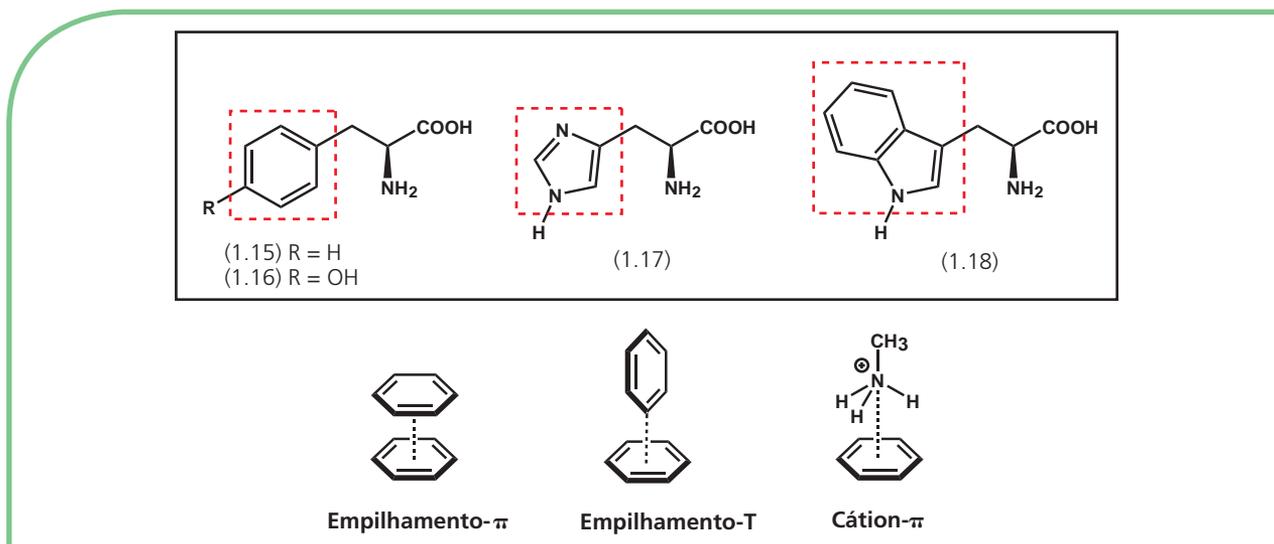


FIGURA 1.9 ► PRINCIPAIS AMINOÁCIDOS AROMÁTICOS E A REPRESENTAÇÃO DE INTERAÇÕES ELETRÔSTÁTICAS DE EMPILHAMENTO  $\pi$ , EMPILHAMENTO T E CÁTION- $\pi$ .

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.<sup>22</sup> 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

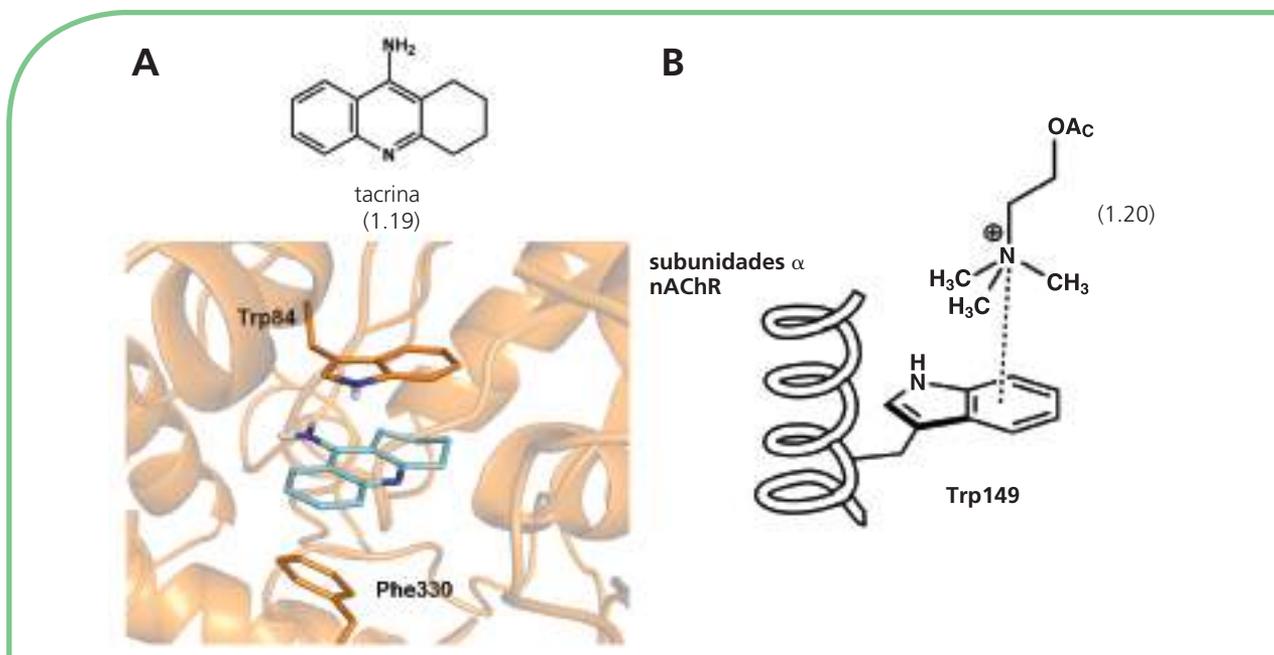


FIGURA 1.10 ► A) RECONHECIMENTO MOLECULAR DA TACRINA (1.19) POR INTERAÇÕES DE EMPILHAMENTO- $\pi$  COM AMINOÁCIDOS TRP84 E PHE330 DO SÍTIO ATIVO DA ACETILCOLINESTERASE (PDB ID 1ACJ); B) REPRESENTAÇÃO DA INTERAÇÃO CÁTION- $\pi$  ENVOLVIDA NO RECONHECIMENTO MOLECULAR DO NEUROTRANSMISSOR ACETILCOLINA (1.20)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

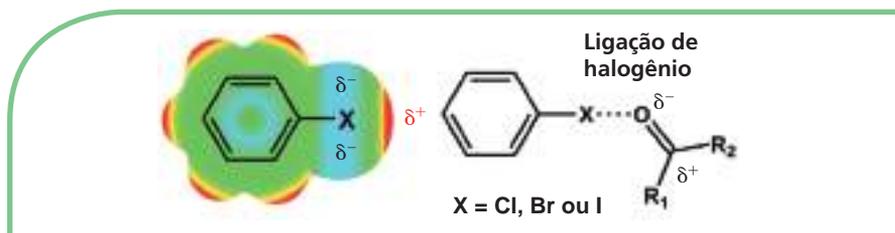


FIGURA 1.11 ► POLARIZAÇÃO DA LIGAÇÃO CARBONO-HALOGÊNIO E A REPRESENTAÇÃO DE INTERAÇÕES DE HALOGÊNIO COM GRUPOS FUNCIONAIS CAPAZES DE ATUAR COM BASES DE LEWIS, COMO O ÁTOMO DE OXIGÊNIO DA SUBUNIDADE CARBONILA.

átomo de halogênio (cloro, bromo ou iodo) do lado oposto do eixo da ligação carbono-halogênio<sup>23</sup> (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 halogenado<sup>24</sup> (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).

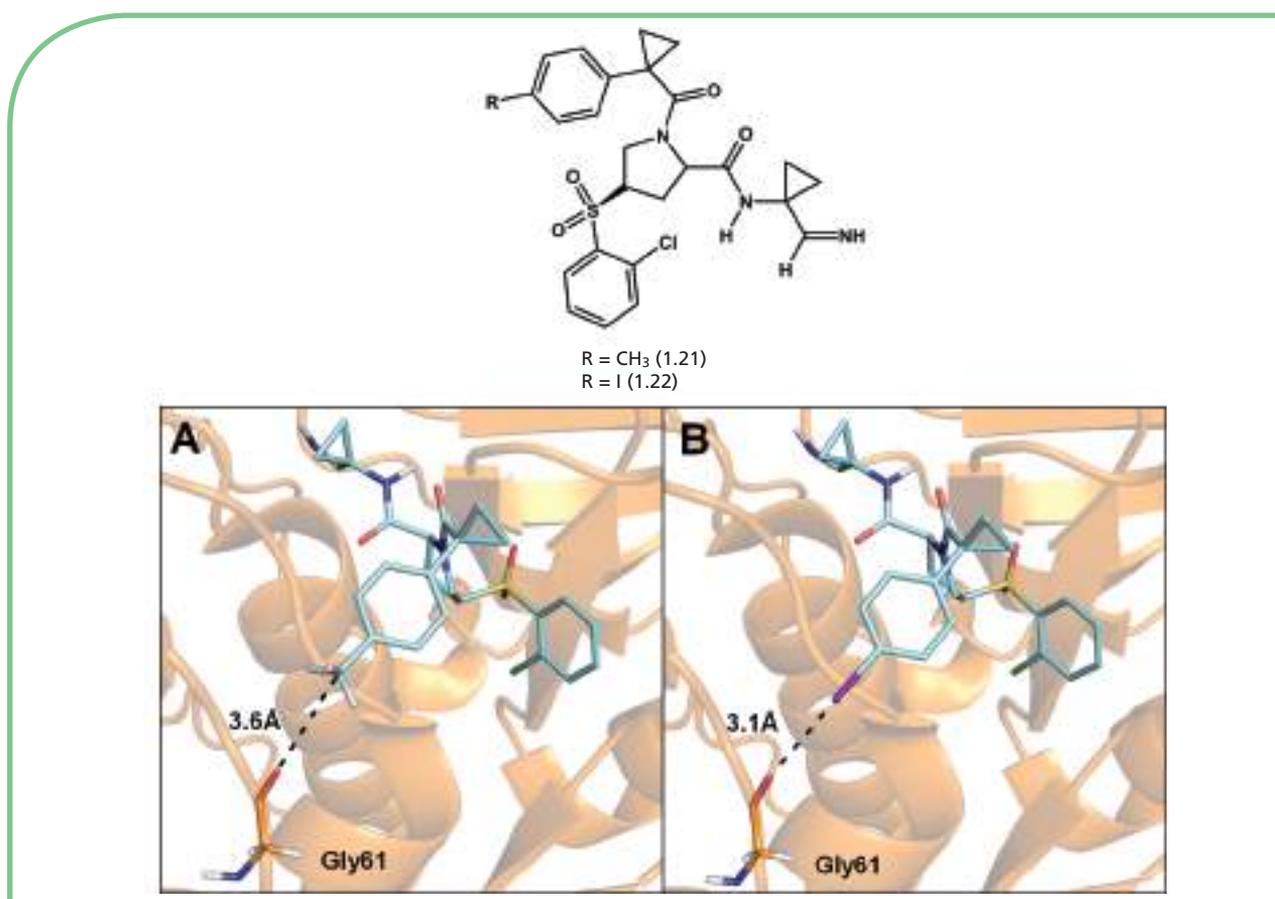


FIGURA 1.12 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DIFERENCIADO DE INIBIDORES DE CATEPSINA L APRESENTADO GRUPO METILA (1.21) (A, PDB ID 2XU5) OU ÁTOMO DE IODO (1.22) (B, PDB ID 2YJ8) PELO RESÍDUO GLY81 DO SÍTIO ATIVO, VIA INTERAÇÃO DE HALOGÊNIO.

## 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 transiente 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 ( $AT_1R$ ), 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<sup>25,26</sup> (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.<sup>27,28</sup>

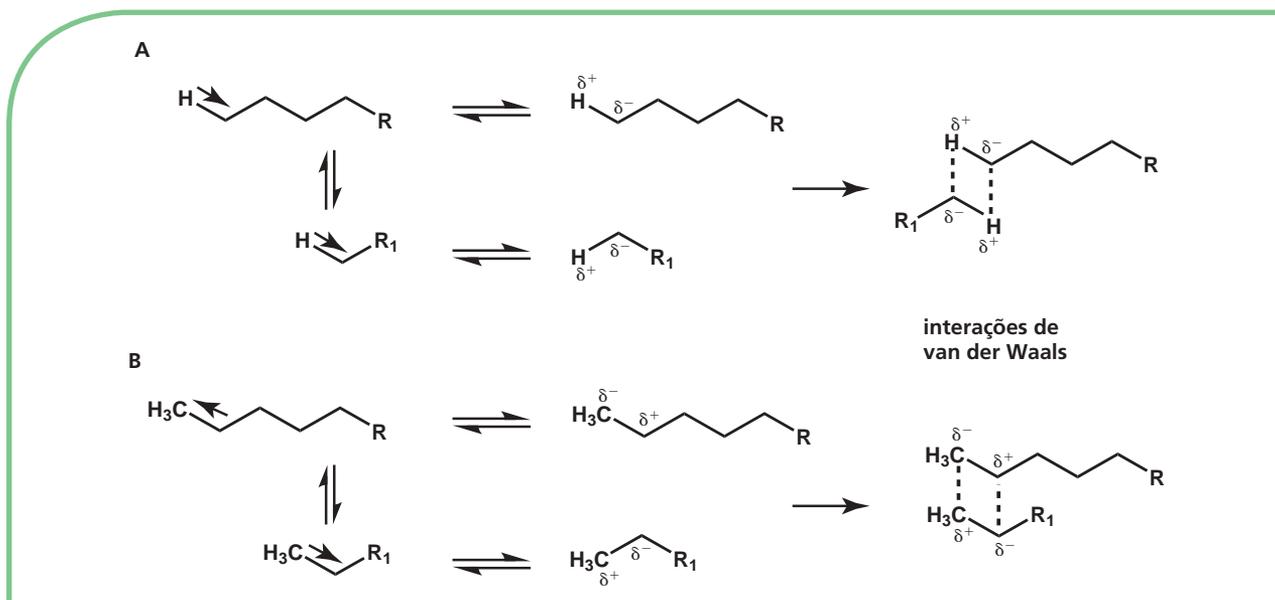


FIGURA 1.13 ► INTERAÇÕES DIPOLO-DIPOLO PELA POLARIZAÇÃO TRANSIENTE DE LIGAÇÕES CARBONO-HIDROGÊNIO (A) OU CARBONO-CARBONO (B).

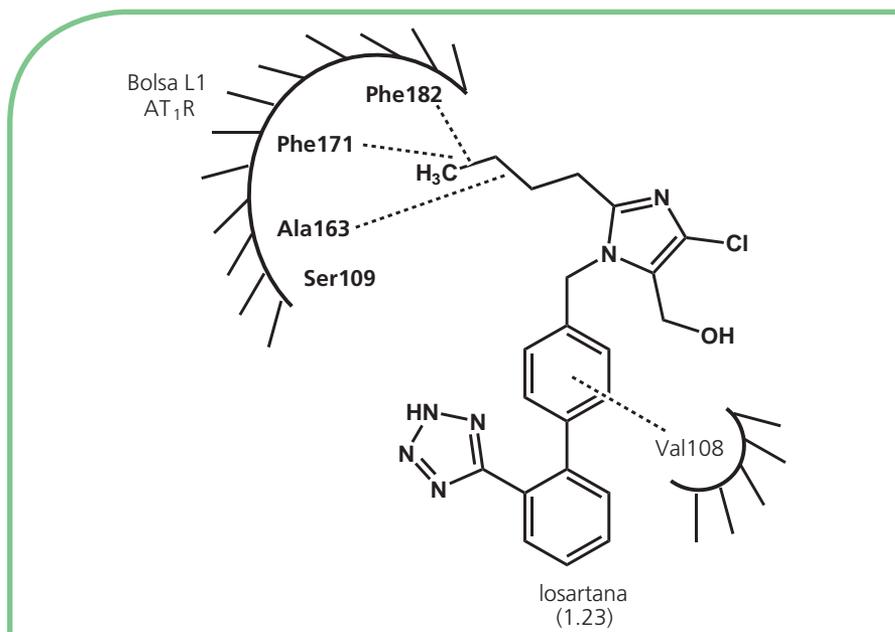


FIGURA 1.14 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DA CADEIA LATERAL E SUBUNIDADE BIFENILA DA LOSARTANA (1.23) POR MEIO DE INTERAÇÕES DE VAN DER WAALS COM RESÍDUOS DE AMINOÁCIDOS HIDROFÓBICOS DO RECEPTOR DE ANGIOTENSINA II DO SUBTIPO AT<sub>1</sub>.

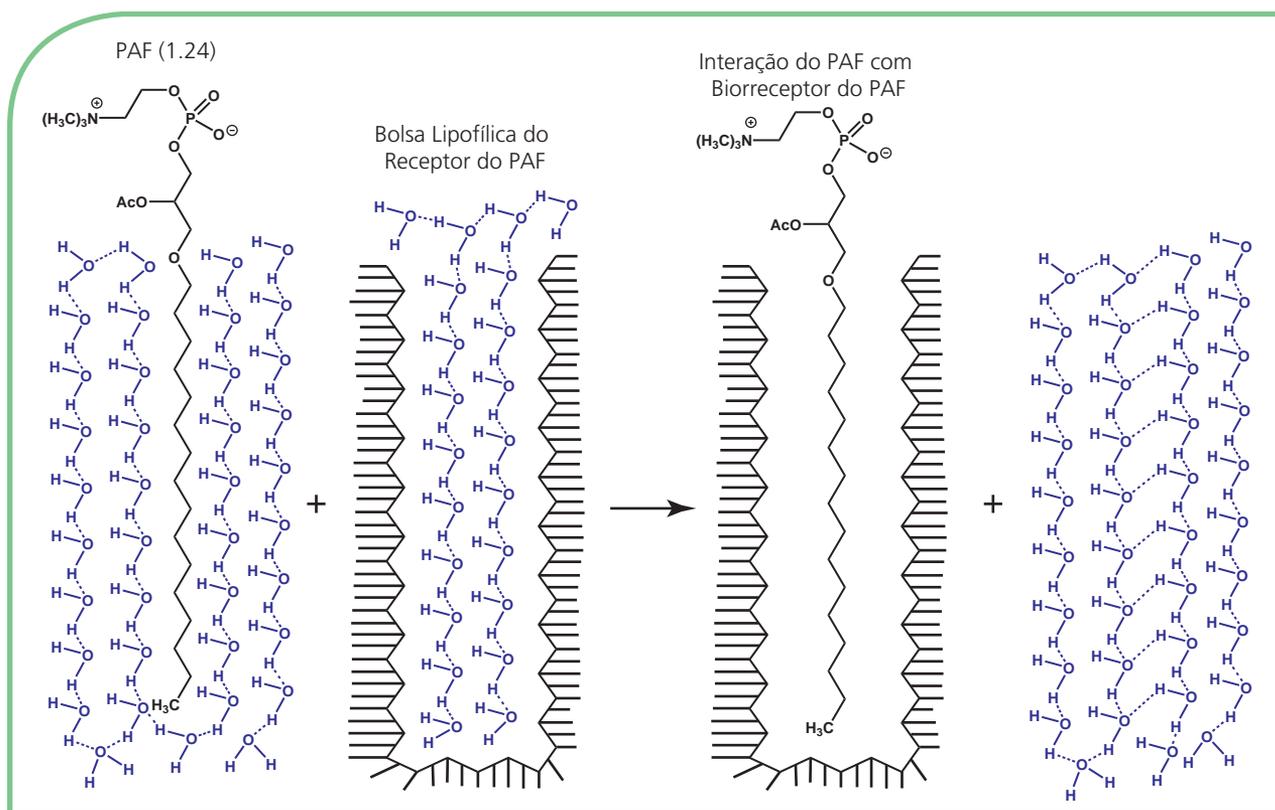


FIGURA 1.15 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DO PAF (1.24) VIA INTERAÇÕES HIDROFÓBICAS COM A BOLSA LIPOFÍLICA DE SEU BIORRECEPTOR.

## 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:  $\alpha$ -hélices e folhas  $\beta$  das proteínas (Figura 1.16) e das bases purinas-pirimidinas dos ácidos nucleicos (Figura 1.17).

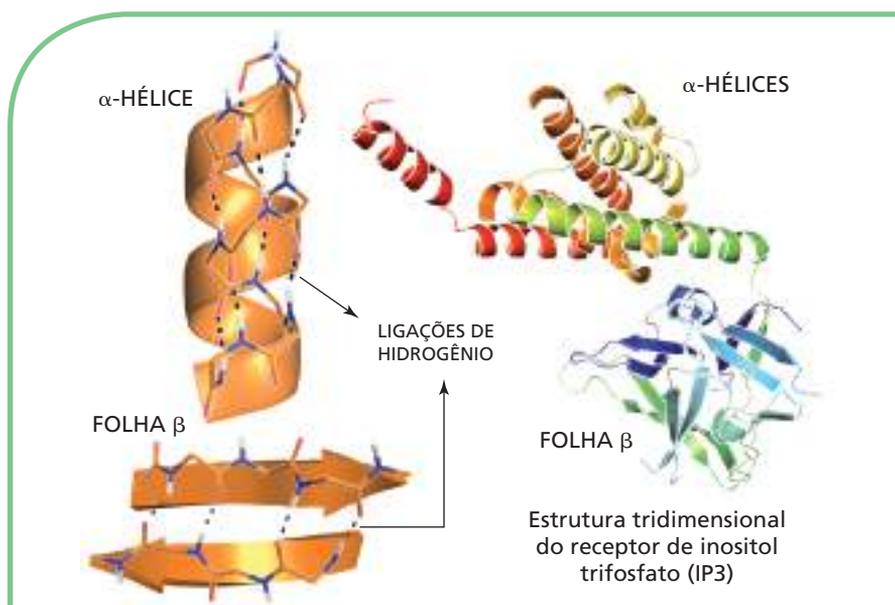
Essas interações são formadas entre heteroátomos eletronegativos, como oxigênio, nitrogênio, flúor, e o átomo de hidrogênio de ligações **O-H**, **N-H** e **F-H**, como resultado de suas polarizações (Figura 1.18). Cabe destacar que, apesar de normalmente a ligação C-H não apresentar polarização suficiente 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 difluorometila (**F<sub>2</sub>C-H**) um bom doador de ligações de hidrogênio<sup>29</sup> (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).<sup>30,31</sup> 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 fármacos



**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).

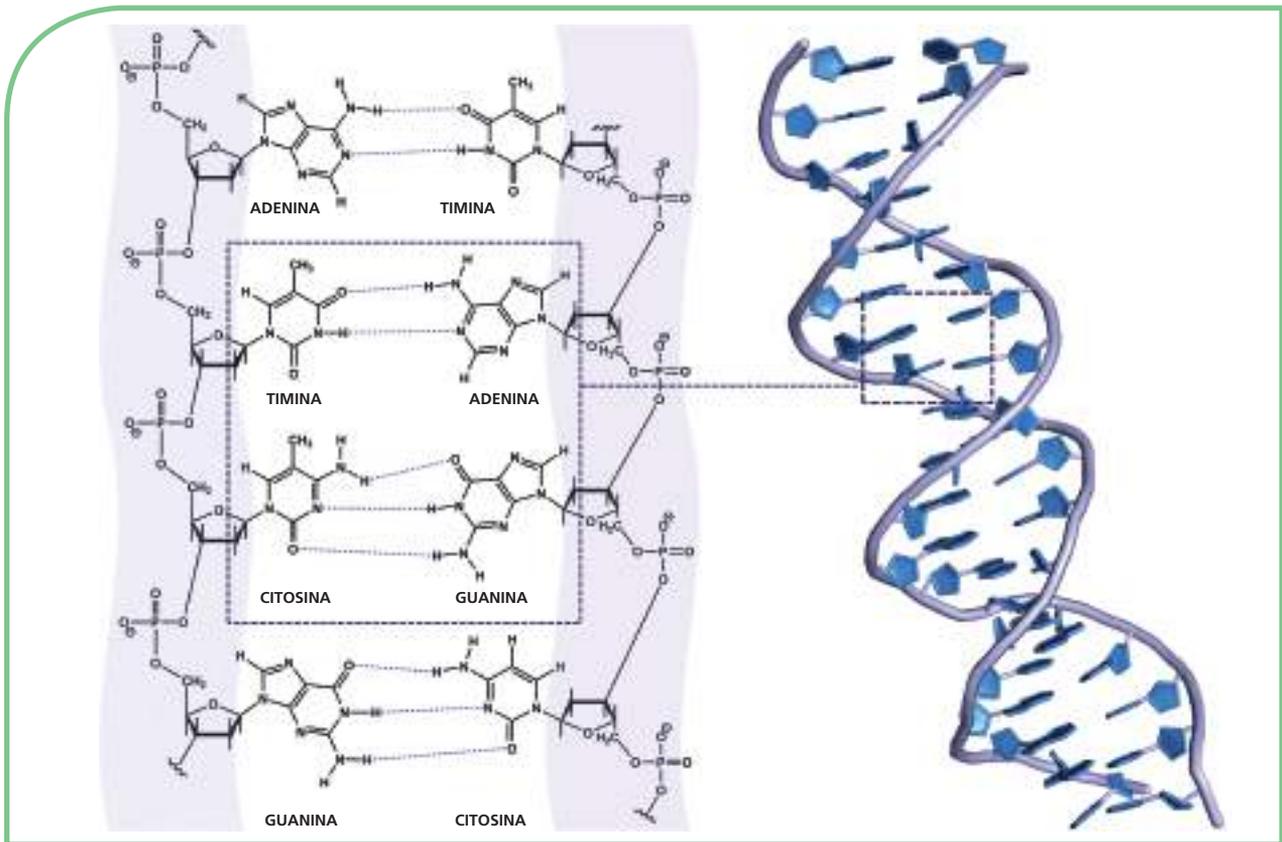


FIGURA 1.17 ► LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO E A MANUTENÇÃO DA ESTRUTURA DUPLA FITA DO DNA.

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-algênicas, devido à inibição da enzima prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS).<sup>32</sup>

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

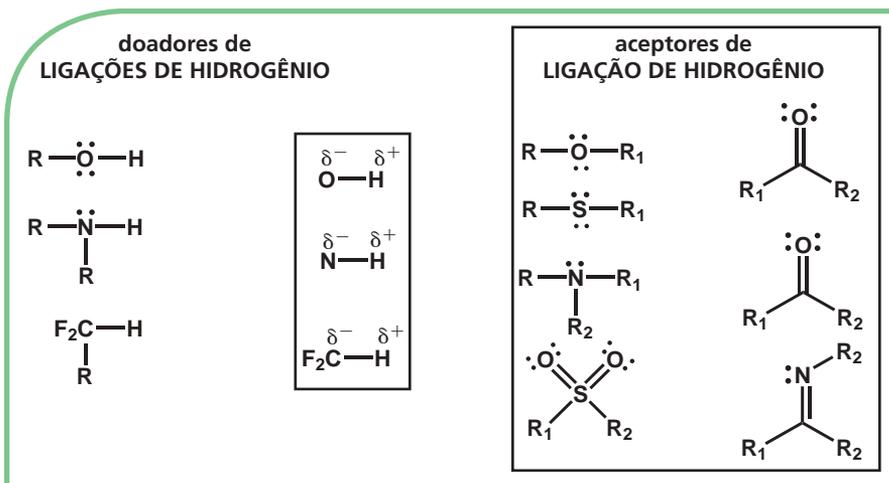
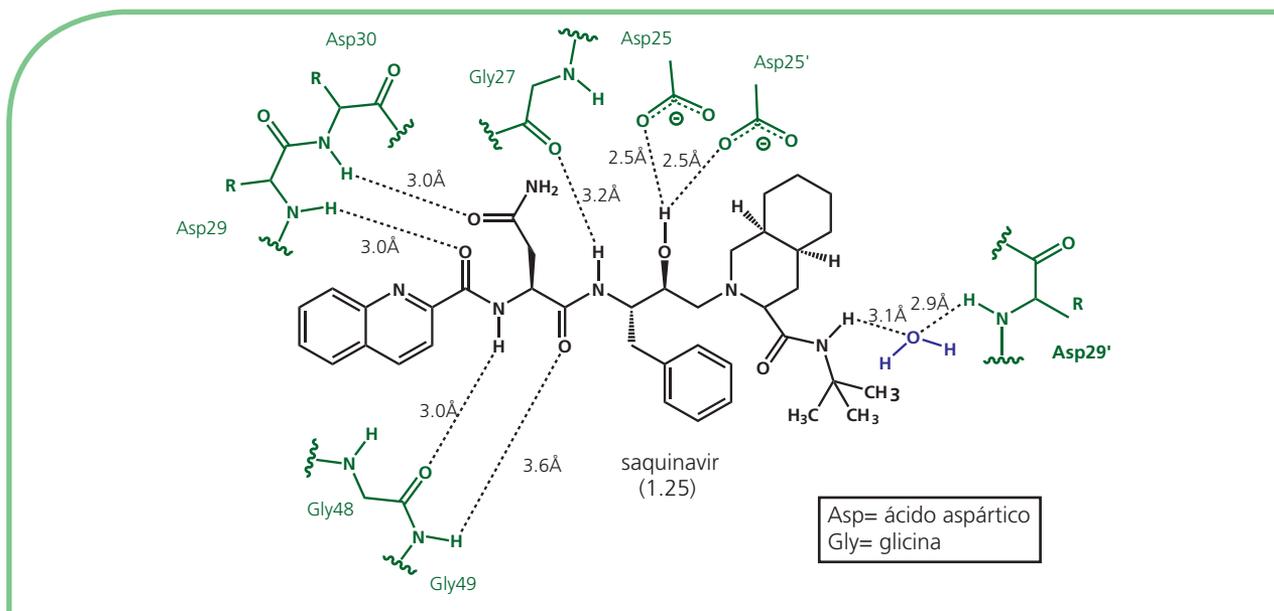


FIGURA 1.18 ► EXEMPLOS DE GRUPOS FUNCIONAIS CAPAZES DE ATUAR COMO DOADORES E ACEPTORES DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO.



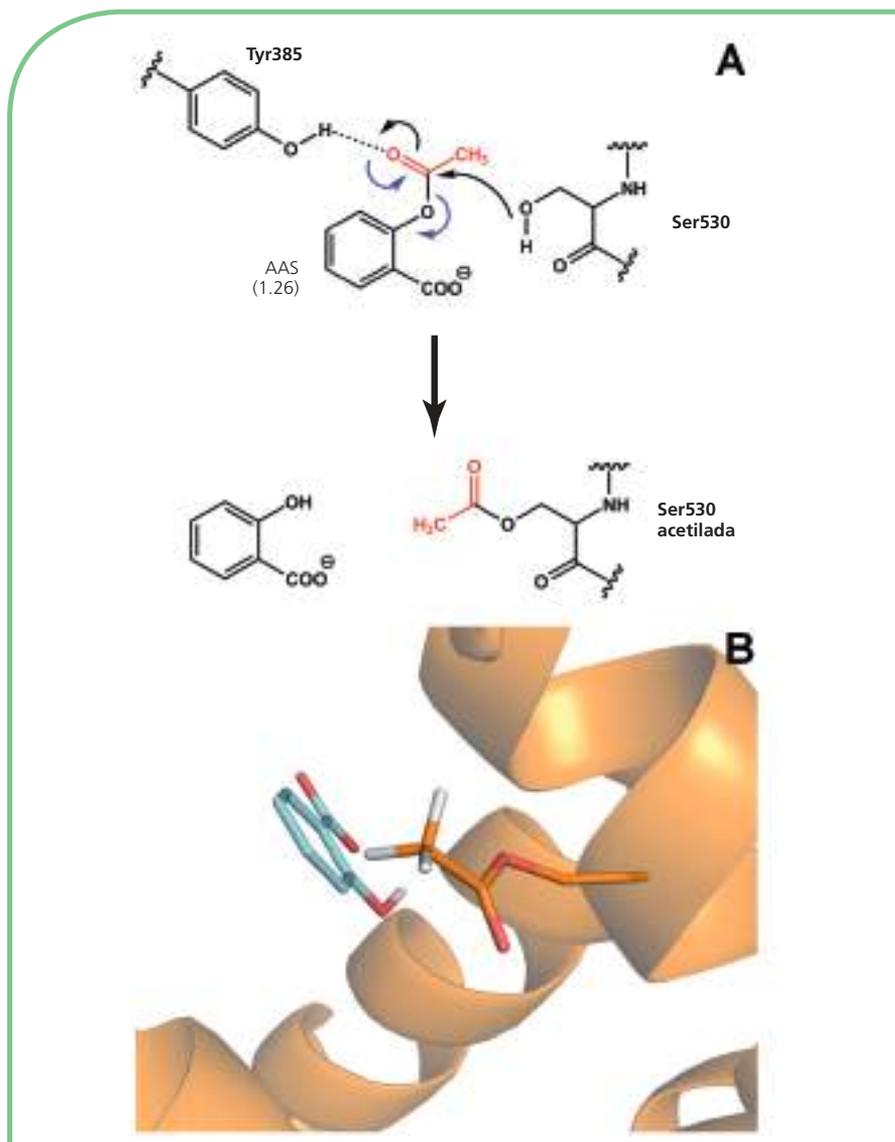
**FIGURA 1.19** ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DO ANTIVIRAL SAQUINAVIR (1.25) PELO SÍTIO ATIVO DA ASPARTIL PROTEASE DO HIV-1, VIA INTERAÇÕES DE HIDROGÊNIO. AS DISTÂNCIAS EM ANGSTROM (Å) ENTRE OS ÁTOMOS ENVOLVIDOS ESTÃO REPRESENTADAS NAS LINHAS TRACEJADAS QUE INDICAM A INTERAÇÃO.

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.<sup>33</sup> 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  $\beta$ -lactâmicos, que atuam inibindo a *D,D*-carboxipeptidase, enzima responsável pela formação de ligações peptídicas cruzadas no peptidoglicano da parede celular bacteriana, por meio de processos de transpeptidação<sup>34</sup> (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 peptidoglicano. Entretanto, a ligação peptídica inclusa no anel  $\beta$ -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 tríade 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 SÍTIO ATIVO DA PGHS INIBIDA PELA ACETILAÇÃO DO RESÍDUO DE SERINA 530 (SER530) (PDB ID 1PTH).

### FATORES ESTEREOQUÍMICOS E CONFORMACIONAIS ENVOLVIDOS NO RECONHECIMENTO MOLECULAR LIGANTE-SÍTIO 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

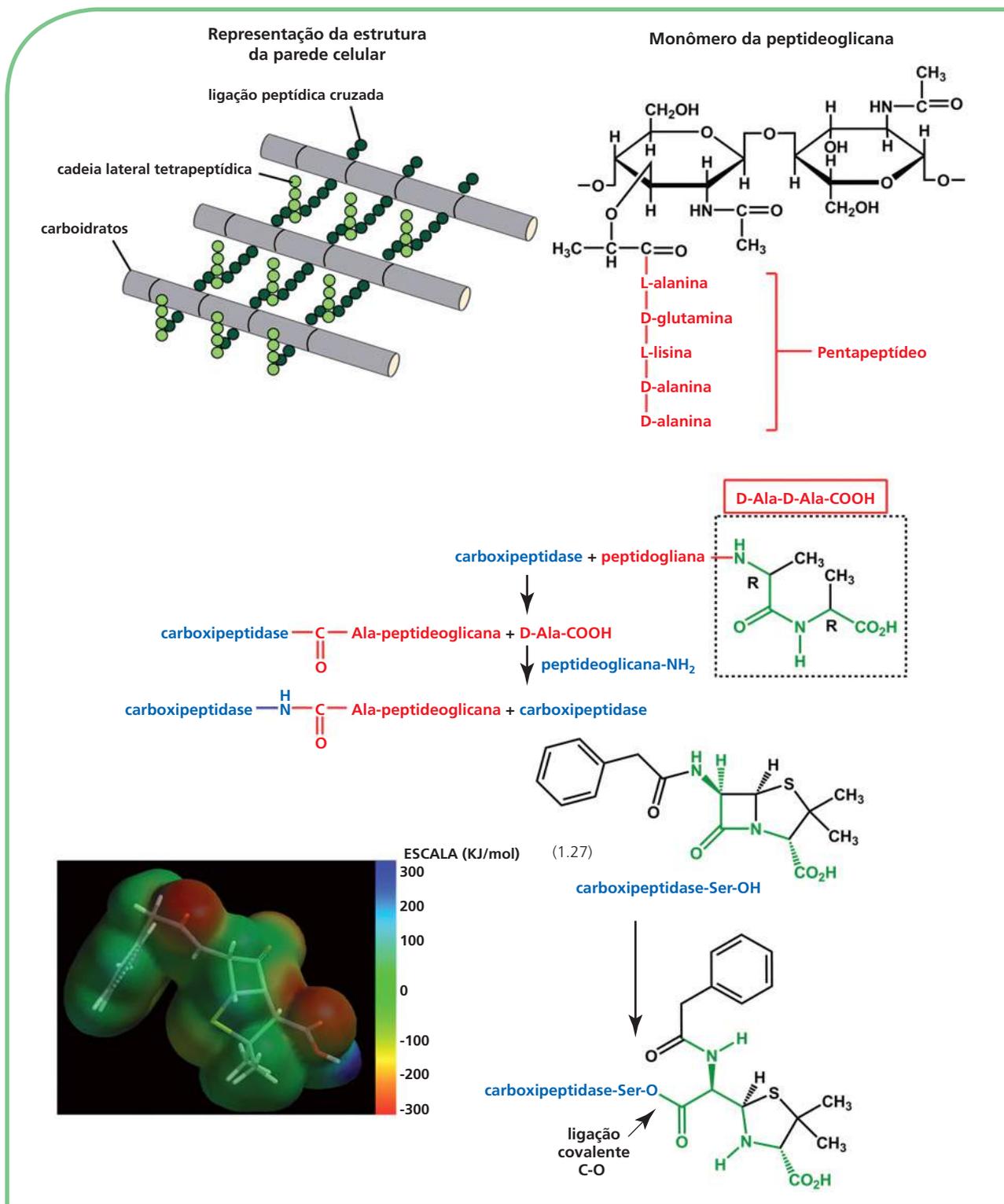
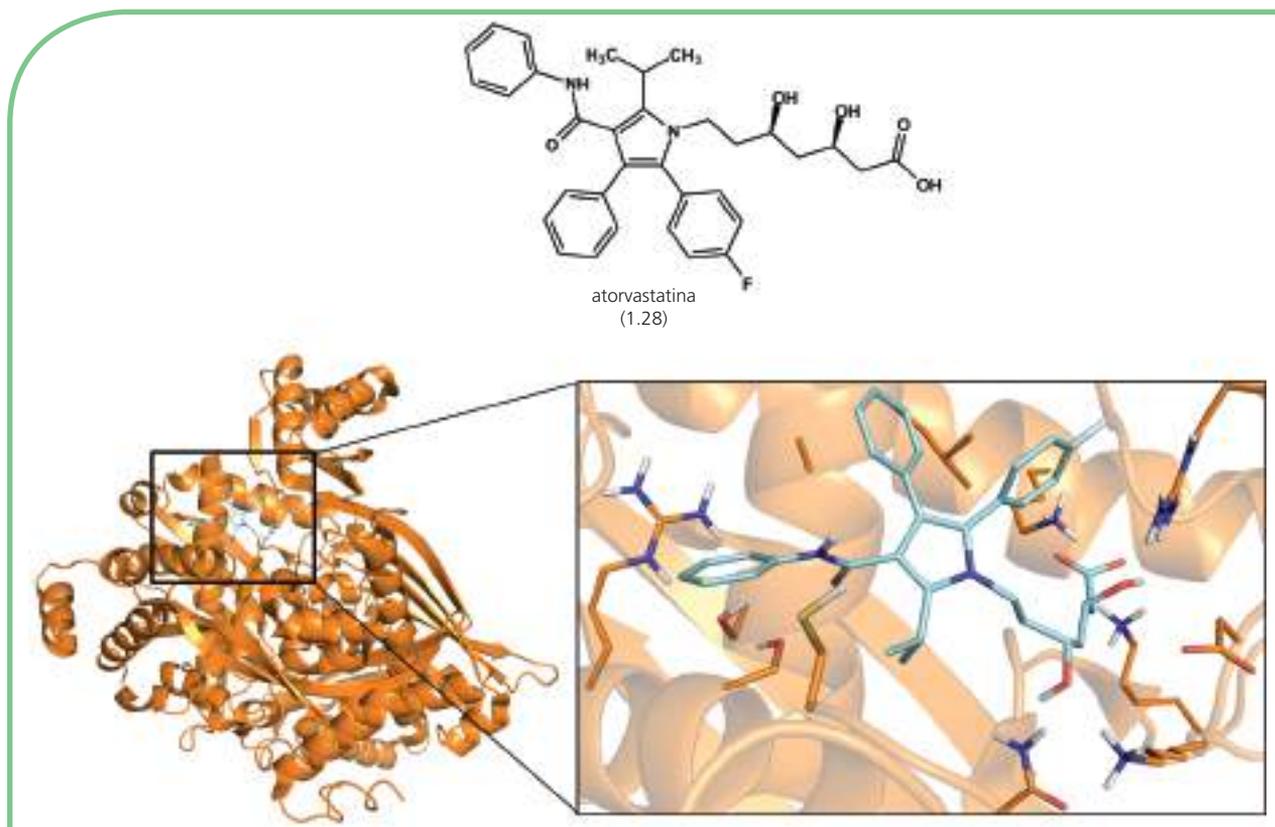


FIGURA 1.21 ► ESTRUTURA GERAL DA PAREDE CELULAR BACTERIANA E O MECANISMO DE INIBIÇÃO IRREVERSÍVEL DA CARBOXIPEPTIDASE PELA BENZILPENICILINA (1.27), VIA FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO COVALENTE. À ESQUERDA, MAPA DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO DE 1.27.



**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.<sup>35</sup>

### 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.<sup>36</sup> Nesse contexto, Koshland introduziu os aspectos dinâmicos que governam o reconhecimento molecular de uma micromolécula por uma biomacromolécula, na sua teoria do encaixe induzido,<sup>37</sup> 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).<sup>38</sup>

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 tacrina<sup>39</sup> (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 conseqüentemente 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

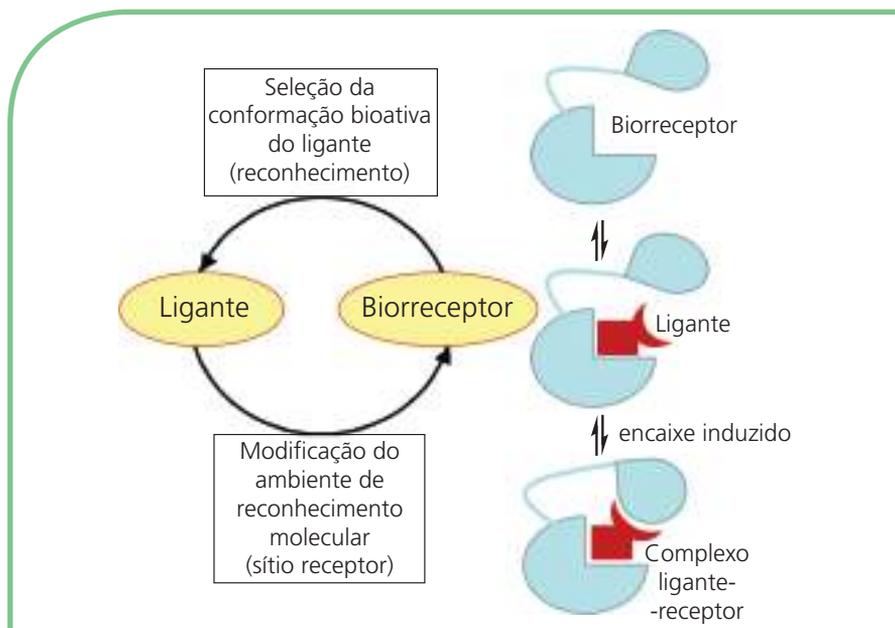


FIGURA 1.23 ► REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE INDUÇÃO E SELEÇÃO DA CONFORMAÇÃO BIOATIVA DE LIGANTES E RECEPTORES.

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 estereoelétrico de grupos funcionais para a atividade farmacológica evidenciada.

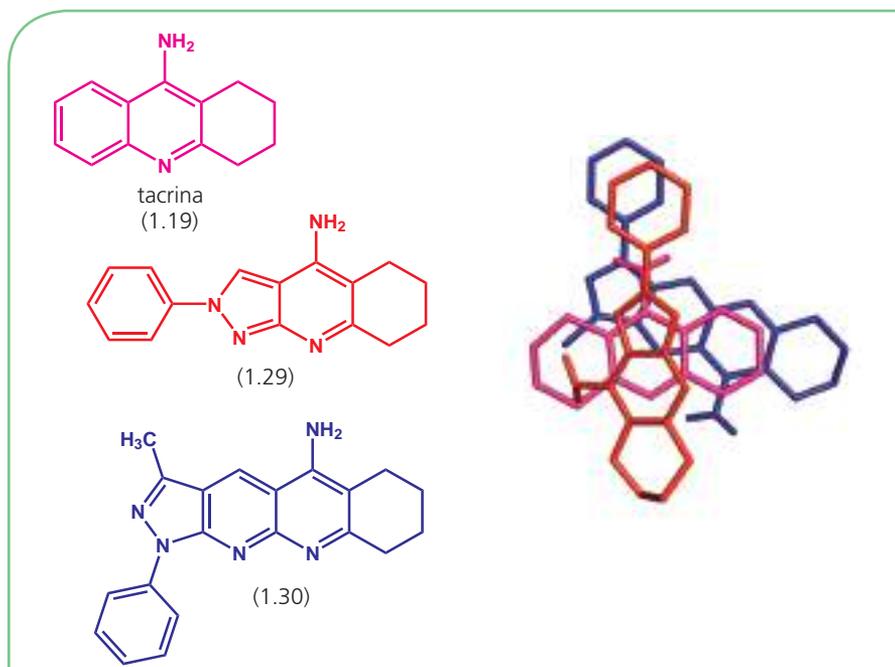


FIGURA 1.24 ► SOBREPOSIÇÃO DAS CONFORMAÇÕES BIOATIVAS DOS COMPOSTOS (1.29, VERMELHO) E (1.30, AZUL), ANÁLOGOS ESTRUTURAS DA TACRINA (1.19, ROSA), APÓS RECONHECIMENTO MOLECULAR PELO SÍTIO ATIVO DA ACETILCOLINESTERASE (ACHE).

Por outro lado, ao analisar as interações envolvidas no reconhecimento molecular do derivado peptóide (1.31), capaz de inibir a metaloproteínase-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.<sup>40</sup> 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).<sup>40</sup>

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.<sup>36,41,42</sup> Ademais, alguns estudos termodinâmicos ( $\Delta G$ ) 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,<sup>43</sup> com o seu perfil agonista e antagonista, como, por exemplo, foi descrito para ligantes de receptores canabinoides dos subtipos CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub>,<sup>44</sup> de adenosina dos subtipos A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub>,<sup>45</sup> de serotonina do subtipo 5-HT<sub>1A</sub>,<sup>46</sup> e de histamina

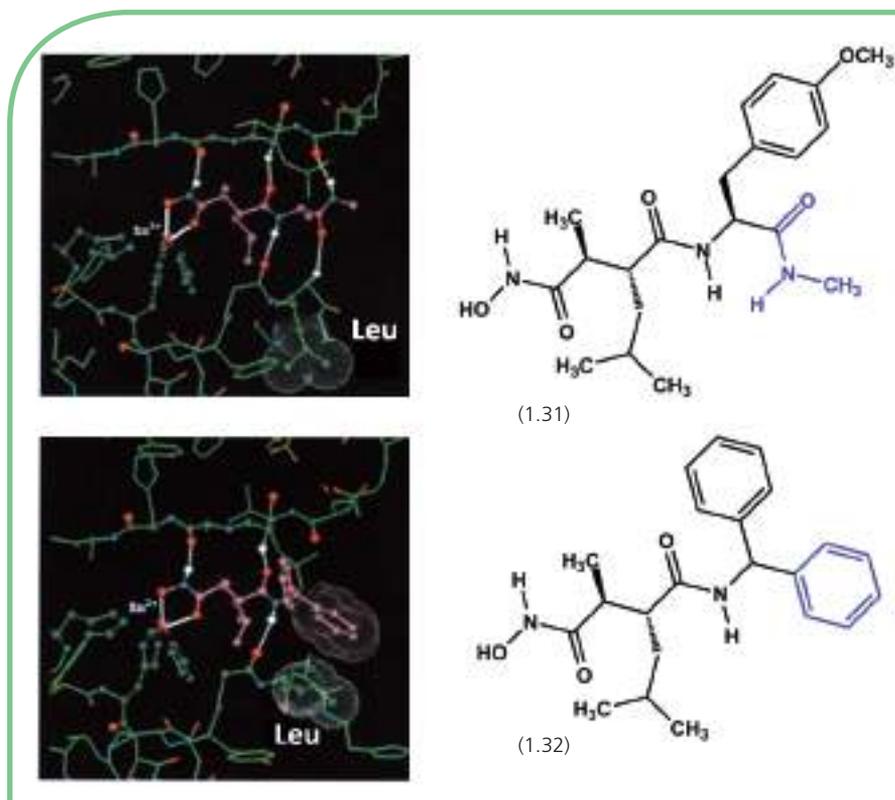


FIGURA 1.25 ► ESTRUTURA CRISTALOGRÁFICA DOS COMPLEXOS ENTRE OS INIBIDORES PEPTÓIDES (1.31) E (1.32) COM A METALOPROTEASE-3 [MMP-3] DE MATRIZ.

Fonte: Adaptada de Rockwell e colaboradores.<sup>40</sup>

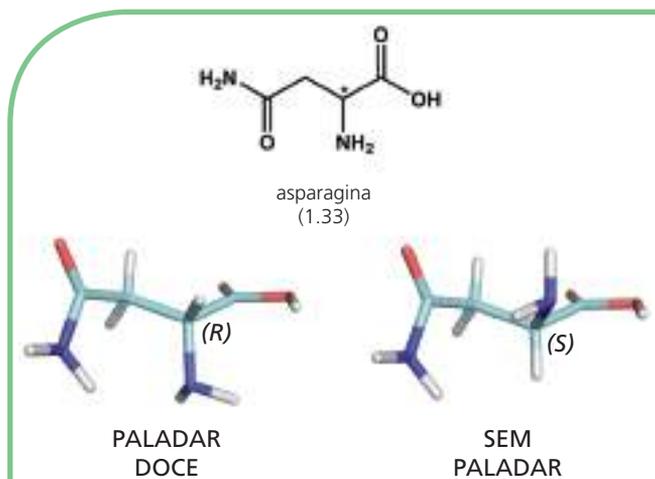


FIGURA 1.26 ► PALADAR DOS ESTEREISÔMEROS DA ASPARAGINA (1.33).

do subtipo  $H_3$ .<sup>47</sup> 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  $H_1$ ,<sup>48</sup> 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.<sup>49</sup>

### 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,<sup>50</sup> 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.<sup>51</sup>

Entretanto, a importância da configuração absoluta na atividade biológica<sup>52-55</sup> permaneceu obscura até a década de 60, quando, infelizmente, ocorreu a tragédia da talidomida<sup>56</sup> (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,<sup>57</sup> 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<sup>58,59</sup> ou homoquirais<sup>60,61</sup> frente a processos capazes de

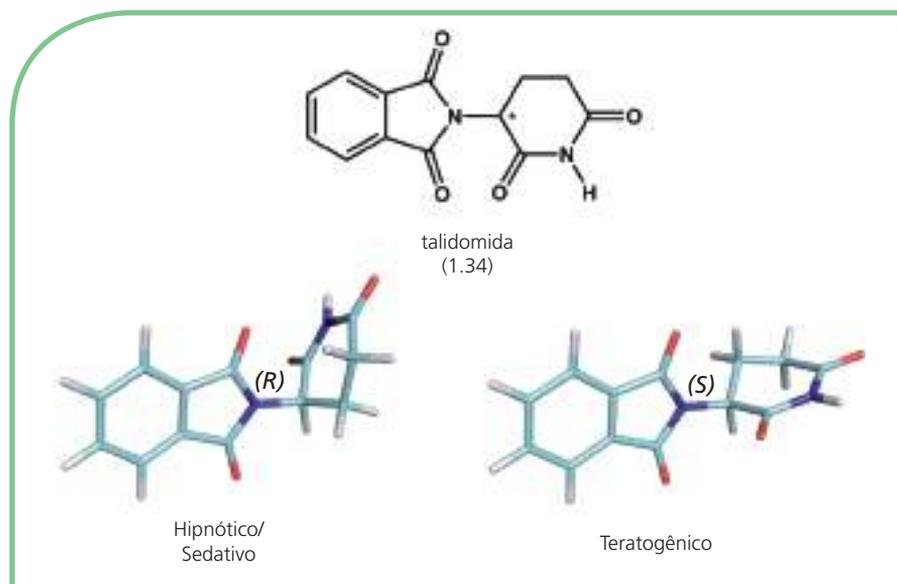
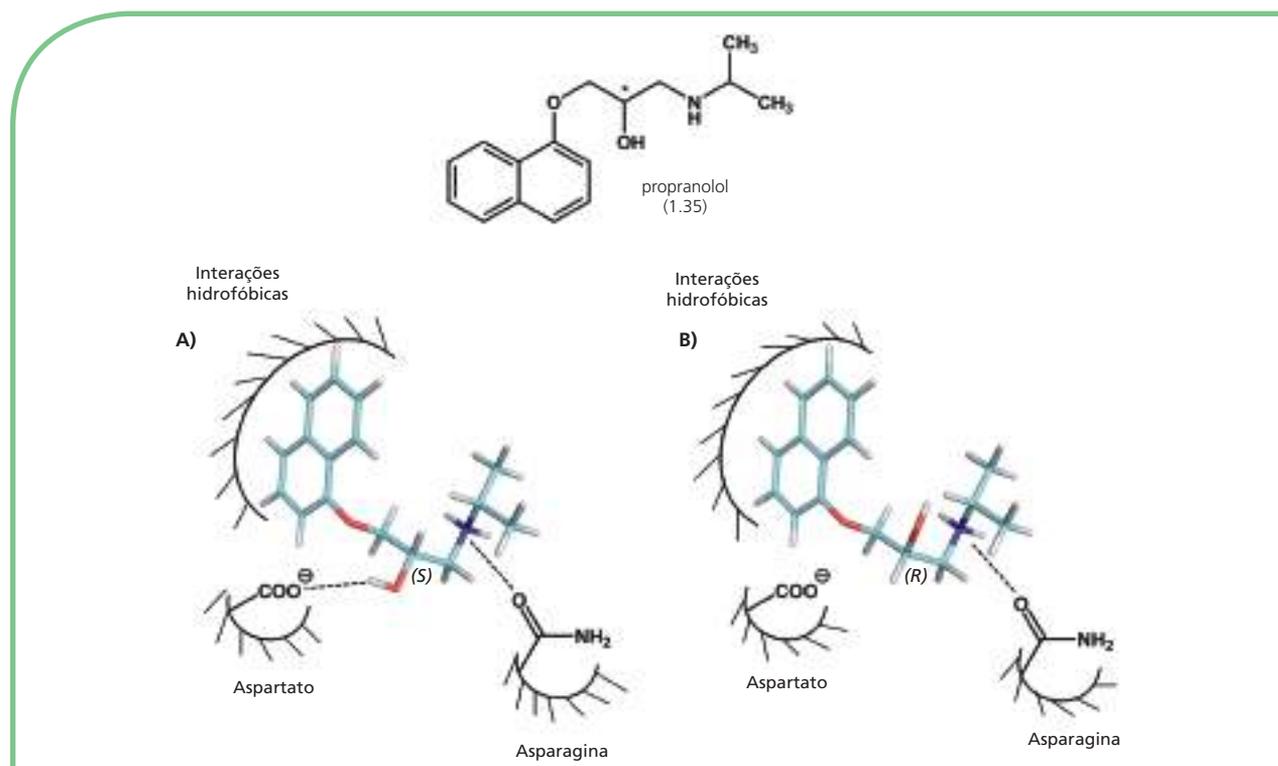


FIGURA 1.27 ► PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DOS ESTEREISÔMEROS DA TALIDOMIDA (1.34).

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.<sup>62</sup> 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.<sup>63</sup> 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  $\beta$ -adrenérgicos.<sup>64</sup> O enantiômero (*S*)-(1.35) é reconhecido por esses receptores por meio de três principais pontos de interação:<sup>65</sup> 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  $\beta$ -bloqueadoras terapêuticamente 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 terapêuticamente 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, denomina-se distômero.<sup>66</sup>



**FIGURA 1.28** ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DOS GRUPAMENTOS FARMACOFÓRICOS DOS ENANTIÔMEROS DO PROPRANOLOL (1.35) PELOS RECEPTORES  $\beta_1$ - E  $\beta_2$ -ADRENÉRGICOS. (A) RECONHECIMENTO DO ENANTIÔMERO *S* ENVOLVENDO 3 PONTOS DE INTERAÇÃO; (B) ANTÍPODA *R* ENVOLVENDO 2 PONTOS DE INTERAÇÃO COM O BIORRECEPTOR.

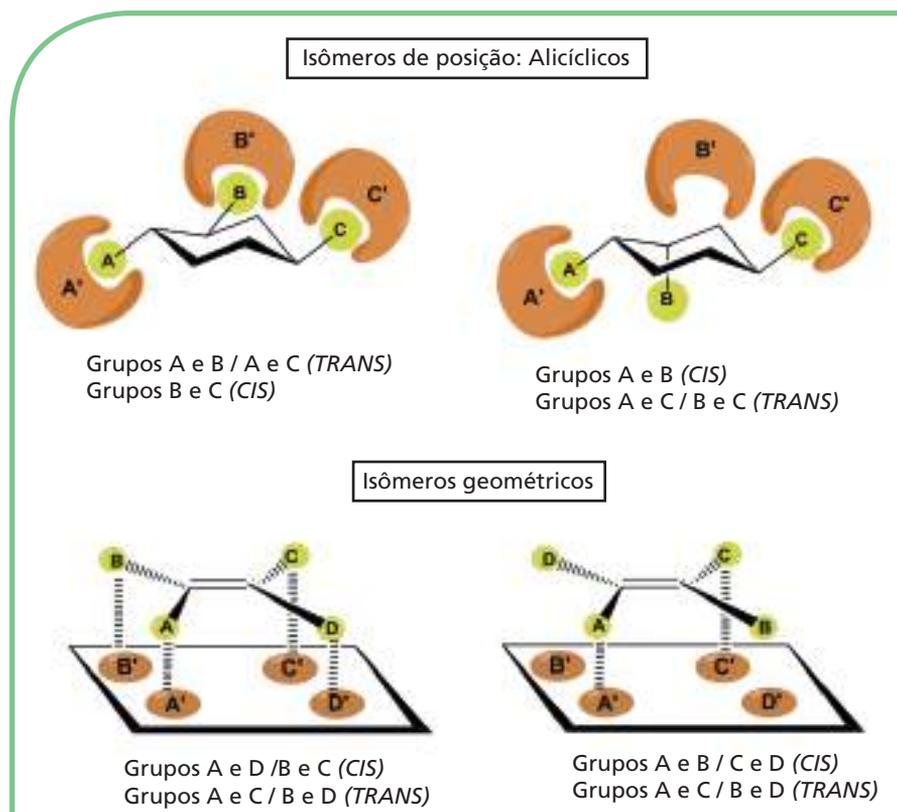
As diferenças de atividade intrínseca de fármacos enantioméricos, possuindo as mesmas propriedades físico-químicas, excetuando-se o desvio do plano da luz polarizada, é função da natureza quiral dos aminoácidos, que constituem a grande maioria de biomacromoléculas receptoras e que se caracterizam como alvos terapêuticos "oticamente ativos". Dessa forma, a interação entre os antípodos 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.

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

### CONFIGURAÇÃO RELATIVA E ATIVIDADE BIOLÓGICA\*

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](#).<sup>67</sup> O estereoisômero *Z* do dietilestilbestrol ([1.38](#)) possui distância entre estes grupamentos farmacofóricos (7,7 Å) inferior àquela necessária ao reconhecimento pelo biorreceptor e, conseqüentemente, 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.

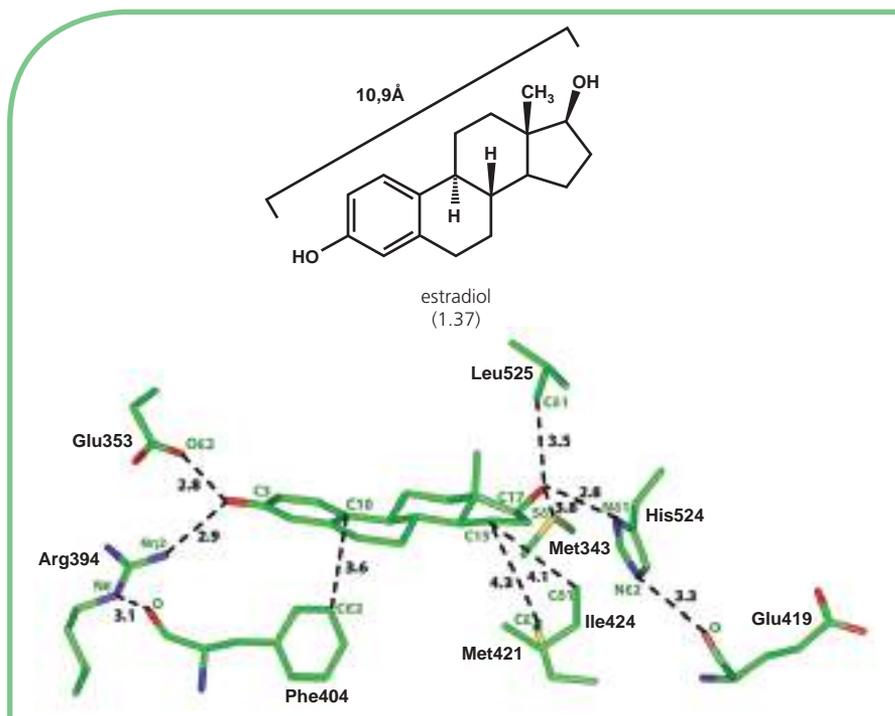


FIGURA 1.30 ► RECONHECIMENTO MOLECULAR DO ESTRADIOL (1.37) PELOS RECEPTORES DE ESTROGÊNIO HUMANOS.

Fonte: Adaptada de Baker e colaboradores.<sup>67</sup>

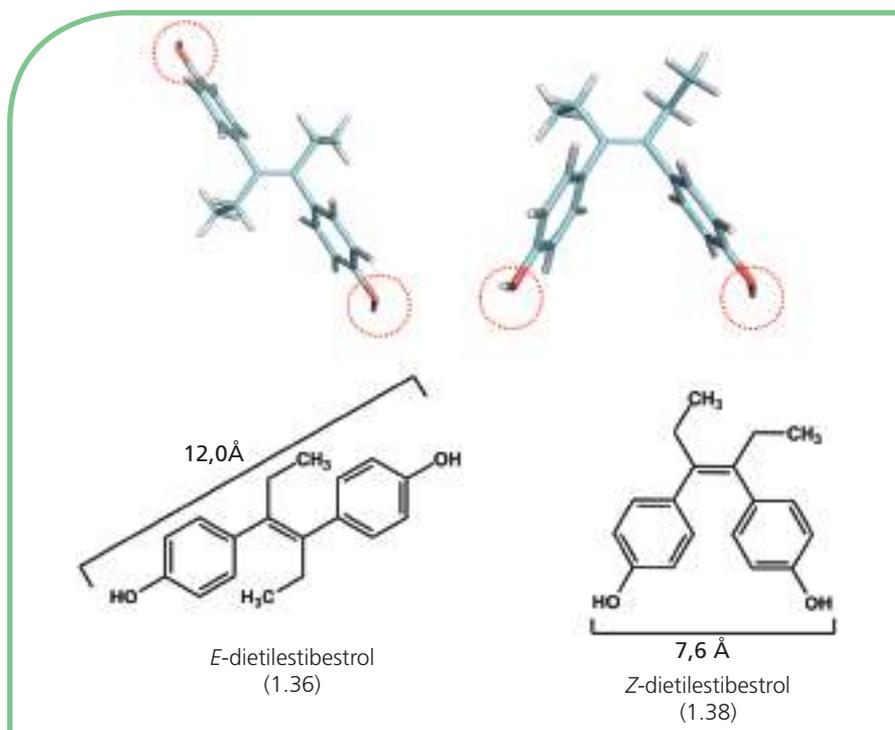


FIGURA 1.31 ► RELAÇÃO ESPACIAL ENTRE OS GRUPAMENTOS FARMACOFÓRICOS DOS ESTEREISÔMEROS (*E*) (1.36) E (*Z*) (1.38) DO DIESTILBESTROL.

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

### CONFORMAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA\*

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).<sup>68</sup> 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.<sup>69</sup> Entretanto, algumas estratégias de modificação molecular que resultam em restrição conformacional, como a anelação e o efeito-orto, 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 autacoide 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).<sup>70</sup> 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.<sup>71,72</sup> Esse tipo particular de estereoisomeria, chamada atropoisomerismo,<sup>66</sup> 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.<sup>73</sup>

Diversos fármacos e substâncias bioativas que apresentam e dependem desta propriedade estrutural para o reconhecimento molecular pelo biorreceptor-alvo são conhecidos,<sup>71,72</sup> 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 vancomicina<sup>74</sup> (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 peptídeoglicano que reforça a membrana externa, impedindo sua formação e provocando a consequente morte bacteriana<sup>74</sup> (Figura 1.34).

Outro importante exemplo de protótipo atropoisomérico é o derivado heterocíclico telenzepina (1.44) (Figura 1.35), cujo enantiômero dextrorrotatório apresenta atividade como antagonista seletivo de receptores muscarínicos do subtipo M<sub>1</sub>, 500 vezes superior

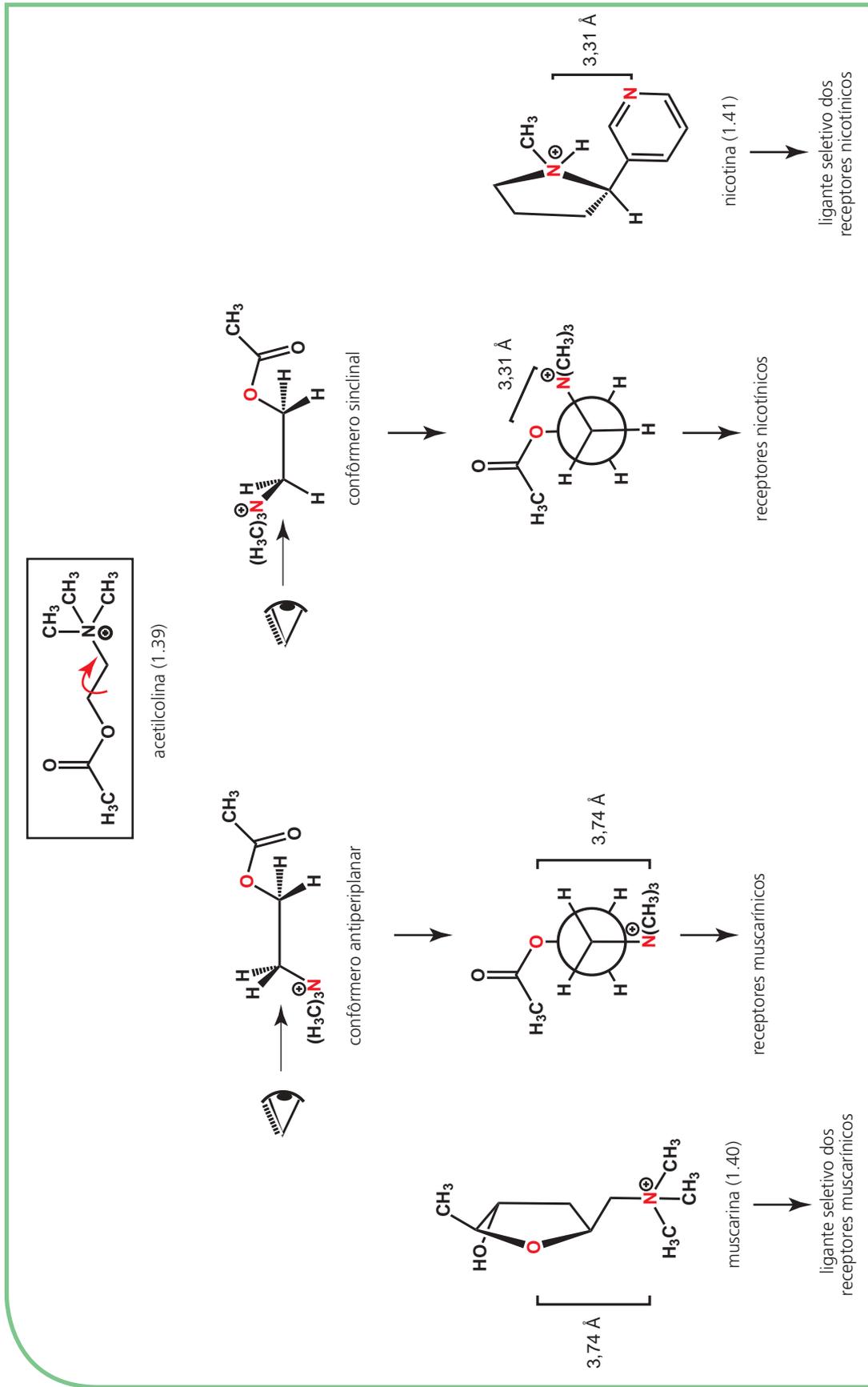


FIGURA 1.32 ▶ VARIÇÕES CONFORMACIONAIS DA ACETILCOLINA (1.39) E O RECONHECIMENTO MOLECULAR SELETIVO DOS GRUPAMENTOS FARMACOFÓRICOS PELOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS E NICOTÍNICOS.

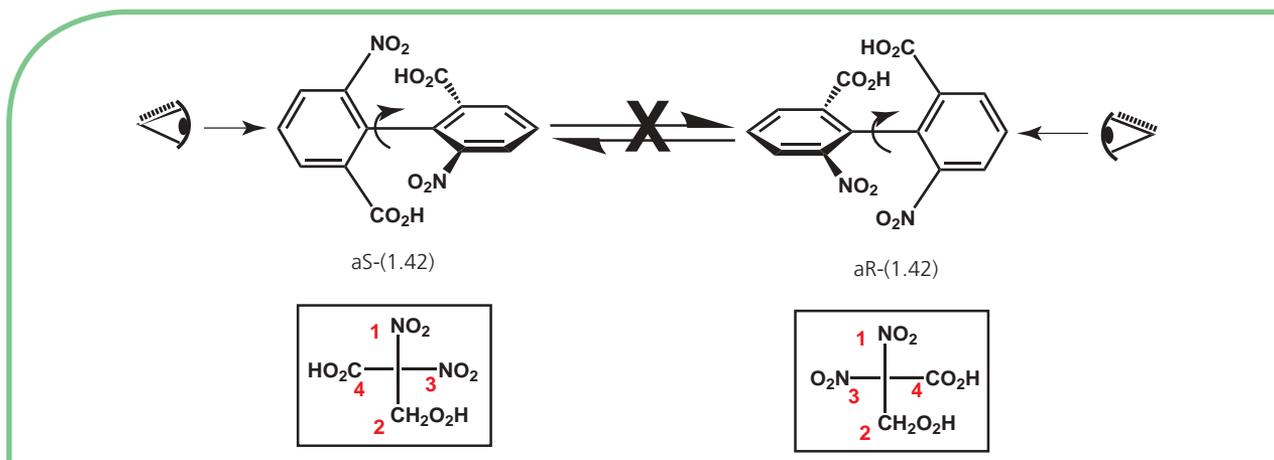


FIGURA 1.33 ► ATROPOISOMERISMO DA BIFENILA *ORTO-FUNCIONALIZADA* (1.42).

ao correspondente antípoda ótico em preparações de córtex cerebral de ratos.<sup>75</sup> Esta relação atropoisomérica é resultante do efeito-*orto* do grupo metila ligado ao anel tioenila 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).

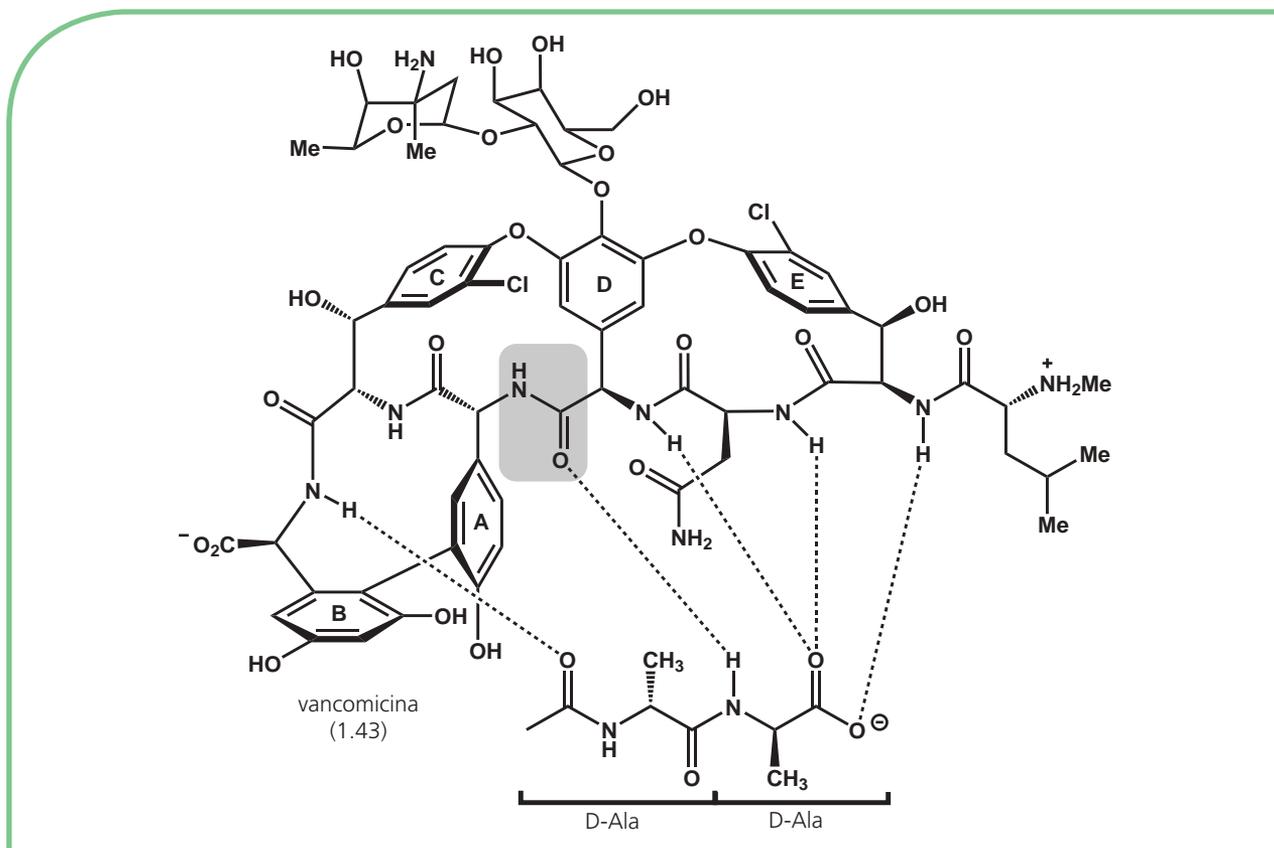
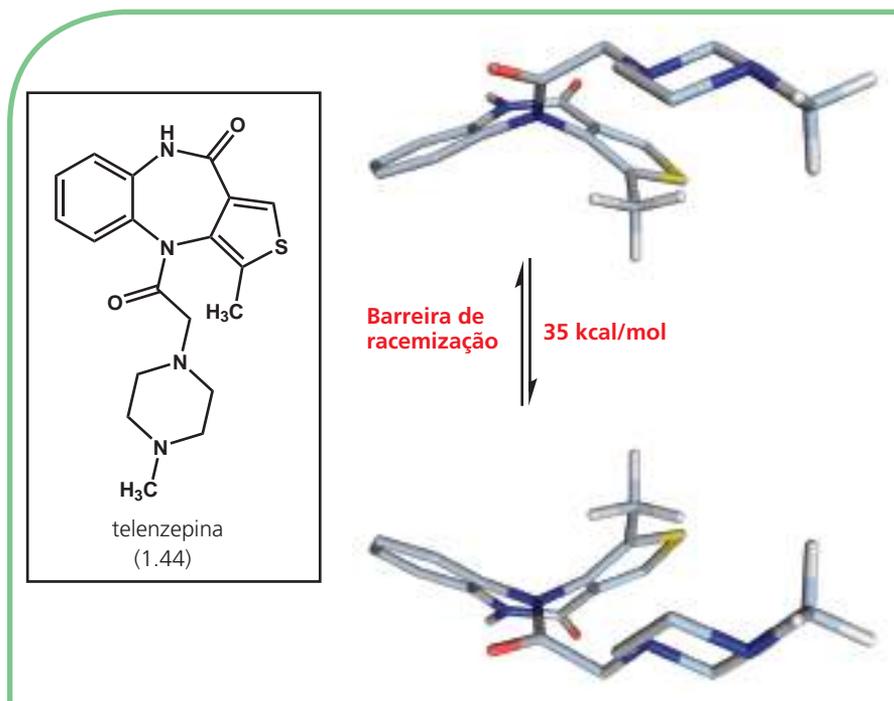


FIGURA 1.34 ► ANTIBIÓTICO ATROPOISOMÉRICO VANCOMICINA (1.43) COMPLEXADO À SUBUNIDADE *D*-ALA-*D*-ALA DO PEPTIDOGLICANO BACTERIANO.



**FIGURA 1.35** ► BARREIRA ENERGÉTICA DE INTERCONVERSÃO DE ATROPOISÔMEROS DA TELENZEPINA (1.44).

## PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E A ATIVIDADE BIOLÓGICA

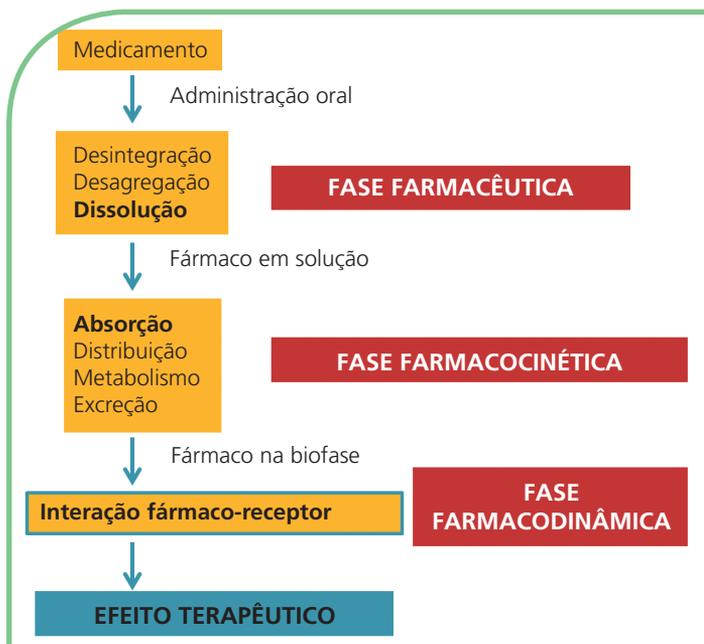
Como mencionado, as propriedades físico-químicas de determinados grupamentos funcionais são de fundamental importância na fase farmacodinâmica da ação dos fármacos, etapa de reconhecimento molecular, uma vez que a afinidade de um fármaco pelo seu biorreceptor é dependente do somatório das forças de interação 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.<sup>76</sup> 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 pKa, 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 pKa, 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).



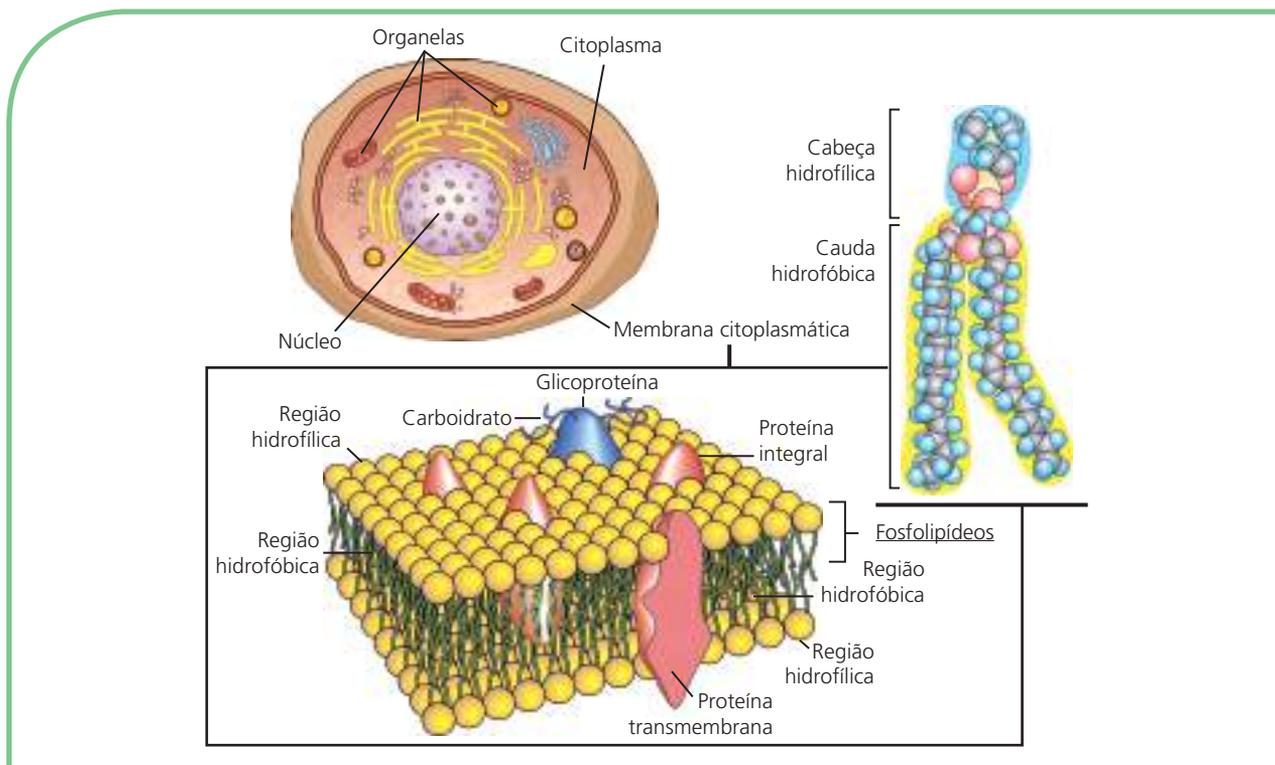
**FIGURA 1.36** ► FASES PERCORRIDAS PELO FÁRMACO NA BIOFASE DESDE SUA ADMINISTRAÇÃO ORAL ATÉ A PRODUÇÃO DO EFEITO TERAPÊUTICO DESEJADO.

*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 relativo. 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, conseqüentemente, a absorção gastrointestinal dos fármacos cardiotônicos digitoxina (1.45) e digoxina (1.46).<sup>77</sup>

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 fosfolípidos 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<sup>78,79</sup> (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.<sup>80,81</sup>

Além da demonstração das correlações entre absorção, atividade farmacológica e parâmetros físico-químicos (p. ex., lipofilicidade), os estudos de Hansch e colaboradores<sup>82,83</sup> 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,  $\pi_x$  (Equação 1.1):

$$\text{Equação 1.1} \quad \pi_x = \text{Log} (P_x / P_H)$$

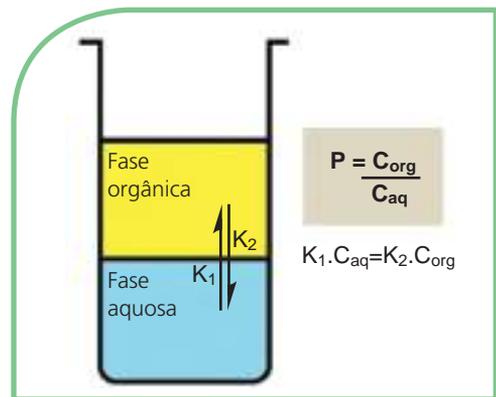
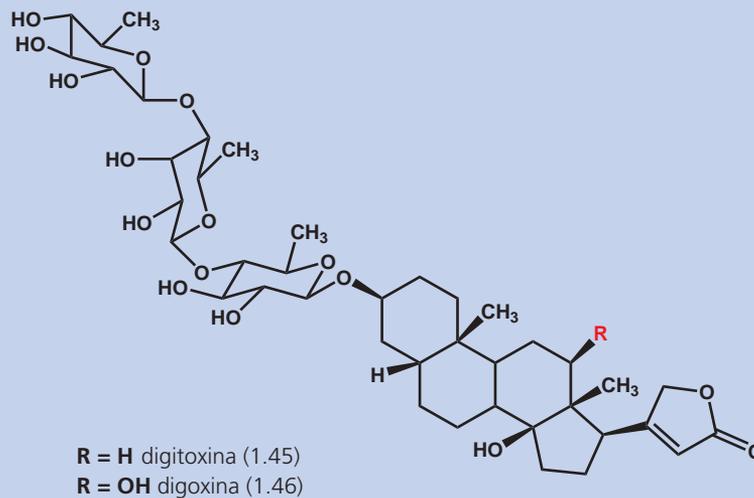
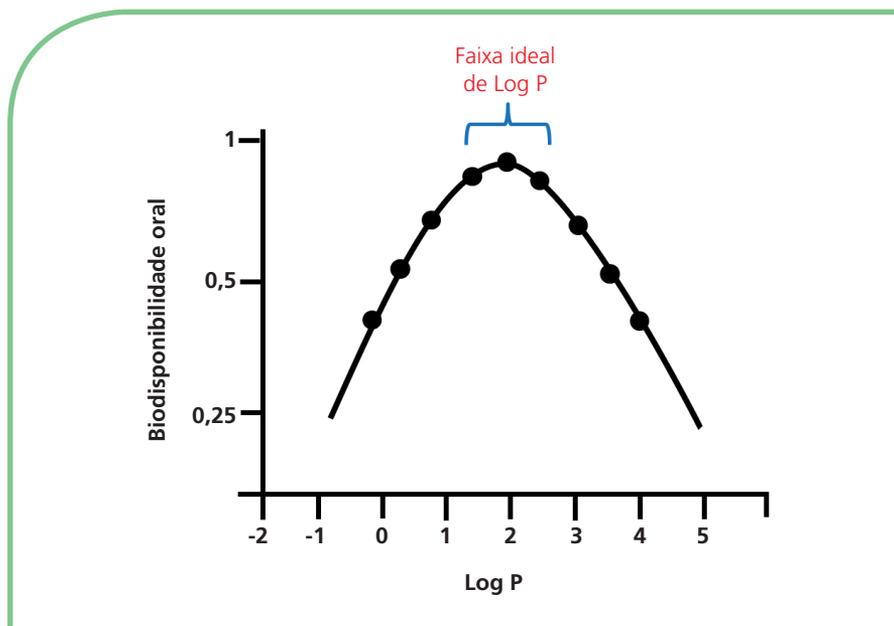


FIGURA 1.38 ► DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO (P) DE UM SOLUTO.  $C_{ORG}$  E  $C_{AQ}$  SÃO AS CONCENTRAÇÕES DO SOLUTO NAS FASES ORGÂNICA E AQUOSA, RESPECTIVAMENTE.

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



FÁRMACO	COEFICIENTE DE PARTIÇÃO P [CHCl <sub>3</sub> /MEOH:H <sub>2</sub> 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 CORRELAÇÕES ENTRE A ATIVIDADE BIOLÓGICA E A LIPOFILICIDADE DE UMA SÉRIE DE FÁRMACOS CONGÊNERES.

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  $\text{Log } P$  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  $\pi_x$  são normalmente menores do que os valores experimentais correspondentes, fato que pode ser contornado pelo emprego das constantes fragmentais ( $f$ ) de Mannhold e Rekker.<sup>84</sup>

Durante o estudo de uma série congênere de substâncias bioativas, o uso dos valores das constantes de hidrofobicidade de Hansch ( $\pi_x$ ) e mesmo das constantes de contribuição eletrônica de Hammett<sup>85</sup> ( $\sigma_x$ ) 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 Craig<sup>86</sup> agrupa em quadrantes os grupos funcionais que apresentam características similares em relação às contribuições hidrofóbicas e aos efeitos eletrônicos, isto é,  $\pi^+/\pi^-$ , grupos que incrementam e reduzem a lipofilicidade, respectivamente;  $\sigma^+/\sigma^-$ , grupos elétron-retiradores e elétron-doadores, respectivamente ([Figura 1.41](#)). Ademais, é possível prever os valores do  $\text{Log } P$  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.