

Contribuição do LASSBio® no Desenvolvimento de Novos Candidatos a Protótipos de Fármacos Antiasmáticos

Lima, Lidia M.; * de Lima, Natália M.

Rev. Virtual Quim., 2009, 1 (1), 35-48. Data de publicação na Web: 2 de Fevereiro de 2009

<http://www.uff.br/rvq>

LASSBio®'s Contribution in the Development of Novel Antiasthmatic Prototypes Drug Candidates

Abstract: In this paper will be described the physiopathological aspects of asthma and the main results obtained by the *Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio®)* in the discovery of novel antiasthmatic prototypes drug candidates, using physiological approach as an strategy to rational drug design.

keywords: asthma, physiological approach, LASSBio-552, LASSBio-596, symbiotic

Resumo

Neste artigo serão tratados os aspectos fisiopatológicos da asma e descritos os principais resultados obtidos pelo Laboratório de *Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio®)* na descoberta de novos candidatos a protótipos de fármacos antiasmáticos, através do emprego da abordagem fisiológica como estratégia de planejamento racional.

palavras-chave: asma, abordagem fisiológica, LASSBio-552, LASSBio-596, simbiótico

*Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas ([LASSBio](http://www.farmacia.ufrj.br/lassbio/), <http://www.farmacia.ufrj.br/lassbio/>), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, PO Box 68024, RJ 21944-970, Brasil

E-mail para correspondência: lidia@pharma.ufrj.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20090006](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20090006)

Contribuição do LASSBio® no Desenvolvimento de Novos Candidatos a Protótipos de Fármacos Antiasmáticos

Lidia M. Lima* e Natália M. de Lima

Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, PO Box 68024, RJ 21944-970, Brasil
lidia@pharma.ufrj.br

Recebido em 22 de dezembro de 2008

1. Asma: Mecanismo, definição, epidemiologia e tratamento
2. LASSBio®: Mini-histórico, objetivos e metas
3. LASSBio-552: Protótipo antiasmático anti-leucotrieno
4. LASSBio-596: Protótipo antiasmático simbiótico
5. Comentários Finais

1. Asma: Mecanismo, definição, epidemiologia e tratamento

A prevalência das doenças alérgicas e da asma observou considerável aumento nas últimas décadas, afetando cerca de 20% da população dos países desenvolvidos. Estas doenças são resultado de uma resposta exagerada do sistema imunológico a determinado antígeno (Ag). Entende-se por antígeno toda partícula ou substância (de origem biológica, química ou física) capaz de iniciar uma resposta imune, deflagrada a partir do reconhecimento do antígeno pelos linfócitos, levando a produção de anticorpos (Ac) específicos. Este processo envolve a participação de células apresentadoras de antígenos (*e.g.* macrófagos, mastócitos, linfócitos B e células dendríticas) que possuem em sua superfície proteínas codificadas pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês: *major histocompatibility complex*) e que reconhecem o antígeno apresentando-o aos linfócitos T, através da interação com receptores CD4⁺ (Figura 1). Os linfócitos são os principais

leucócitos responsáveis pela resposta imune e subdividem-se em linfócitos T (principal efetor da imunidade celular) e linfócitos B (com papel central na imunidade humoral). Os linfócitos T ativados durante a resposta alérgica se diferenciam em linfócitos T_H2 capazes de coordenar e amplificar a resposta antígeno-específica, através da síntese de citocinas pró-inflamatórias, a exemplo da interleucina (IL)-4, IL-5, IL-9 e IL-13. O reconhecimento destas citocinas por seus receptores específicos desencadeia uma série de respostas intracelulares que culminam com fenômenos de proliferação, quimiotaxia, imunomodulação, apoptose e diferenciação celular. A liberação de IL-4 e IL-13, a partir das células T_H2, promovem a ativação dos linfócitos B conduzindo a secreção de imunoglobulina E (IgE). Enquanto, a liberação de IL-9 e IL-5 resulta na proliferação e diferenciação de mastócitos e eosinófilos, respectivamente.^{1,2} A ligação do anticorpo IgE aos receptores de alta afinidade para IgE (*i.e.* FcεR1),³ presentes na membrana de mastócitos, induz condição ideal para o reconhecimento posterior do complexo IgE-mastócito pelo alérgeno, iniciando

alterações na unidade Fc da molécula de IgE, resultando em alterações bioquímicas intracelulares que culminam com o processo de degranulação e

liberação de diversos mediadores químicos, responsáveis pelos sintomas clínicos da doença.⁴⁻⁶

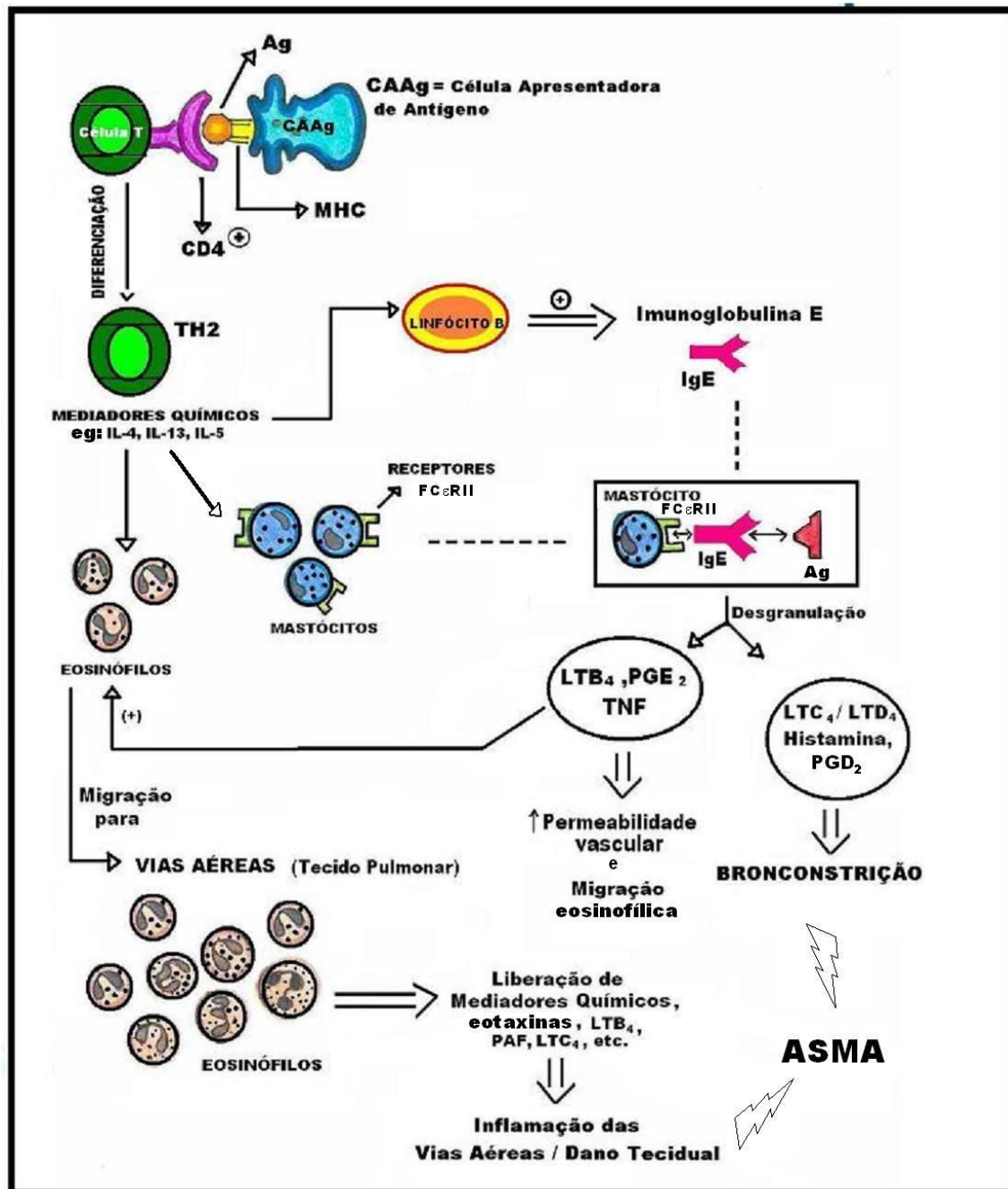


Figura 1. Esquema representativo das principais células e mediadores envolvidos com a resposta asmática

A ativação dos mastócitos tem papel central na fase imediata ou aguda da asma atópica e não-atópica, levando a respostas localizadas envolvendo formação de edema, inchaço tecidual e broncoconstrição. Fenômenos decorrentes da liberação de mediadores químicos tais como:

histamina, PGD_2 , leucotrienos cisteínicos (*i.e.* LTC_4 , LTD_4 e LTE_4), PGE_2 , LTB_4 , $TNF-\alpha$ e $IL-1$. Simultaneamente, ocorre a diferenciação de eosinófilos, catalisada pela liberação de $IL-5$, e posterior migração para o tecido pulmonar, em decorrência a estímulos quimiotáticos tais como:

eotaxina, IL-4, IL-13, LTB₄, TGFβ, e TNFα.⁷ Os eosinófilos constituem a célula predominante no infiltrado inflamatório da resposta asmática imediata e tardia. Possuem vias de sinalização múltiplas e quando ativados liberam proteínas citotóxicas responsáveis por danos ao epitélio pulmonar e distúrbios da função ciliar. Sintetizam mediadores lipídicos, a exemplo do LTC₄ – que no espaço extracelular é convertido a LTD₄ por ação da glutamil transpeptidase – LTB₄ e PAF. Os leucotrienos cisteínicos (LTC₄ e LTD₄) promovem a contração do músculo liso bronquial, produção de muco, redução do transporte mucociliar, descamação do epitélio bronquial, alteram a permeabilidade vascular contribuindo para a formação do edema das vias aéreas. Ademais, os eosinófilos ampliam a resposta inflamatória através da produção de agentes quimiotáxicos, que mobilizam novos eosinófilos para o foco inflamatório, a exemplo do PAF, LTD₄, LTB₄, eotaxinas e MCP-4.^{5,8-9}

Inicialmente descrita por Hipócrates (460-377 aC), a asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas, de origem multifatorial, caracterizada pela hiperresponsividade brônquica, obstrução e remodelamento das vias aéreas, acarretando episódios de broncoespasmo, sibilos, dispnéia, sensação de aperto no peito e tosse.¹⁰⁻¹¹ Constitui uma das doenças crônicas de maior incidência no mundo contemporâneo e sua prevalência vem aumentado significativamente nos últimos 30 anos.¹² Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) foram diagnosticados em 2006 a existência de 300 milhões de pacientes asmáticos no mundo, com relatos de 255.000 óbitos no ano anterior.¹³ No Brasil estima-se que a doença acometa 10% da população, representando cerca de 16 milhões de asmáticos, com óbito anual de 2.200 pessoas, constituindo a quinta causa de internações hospitalares e representando o terceiro maior gasto do Sistema Único de Saúde (SUS) com hospitalizações.¹⁴

A asma é uma fisiopatologia genericamente classificada em asma atópica e não atópica. Esta classificação decorre da participação ou não de mecanismos alergênicos mediados pela presença de IgE.¹⁵⁻¹⁶ A resposta asmática é comumente dividida em duas fases: imediata ou aguda, envolvendo componente de broncoconstrição, e tardia ou crônica – associada a reações inflamatórias das vias aéreas. Durante a fase tardia – observada em tempo

variável após a exposição ao estímulo antigênico – ocorre a cronificação da resposta inflamatória das vias aéreas, caracterizando um dos principais sintomas associado à asma, *i.e.* a hiperresponsividade brônquica.¹⁷ A hiperresponsividade brônquica refere-se à sensibilidade anormal das vias aéreas a vários estímulos exógenos, tais como substâncias químicas irritantes, ar frio, alérgenos, poluentes atmosféricos, fármacos, entre outros.¹⁸ A presença de inflamação crônica – decorrente da falta de reparo adequado à resposta inflamatória – induz a liberação constante de diversos mediadores químicos, enzimas proteolíticas e radicais livres de oxigênio, promovendo danos teciduais progressivos, ocasionando alterações de caráter anatômico e funcional das vias aéreas, caracterizando o processo de remodelamento brônquico.¹⁹⁻²¹



Figura 2. Esquema ilustrativo de criança asmática antes e após o tratamento farmacológico

O tratamento da asma é baseado no emprego de fármacos de duas classes terapêuticas: broncodilatadores – eficazes no controle da resposta asmática de fase aguda ou imediata – e anti-inflamatórios – responsáveis pelo controle da fase tardia ou crônica da asma (Figura 2). Dentre a classe dos broncodilatadores destacam-se os agonistas β₂ adrenérgicos, antagonistas dos receptores de leucotrienos cisteínicos (CysLTant), anticolinérgicos e metilxantinas. Os corticosteróides, anti-histamínicos estabilizadores de membrana de mastócitos, inibidores de 5-lipoxigenase e CysLTant constituem classes de fármacos anti-inflamatórios utilizados no tratamento da asma (Figura 3).²²

Embora, a grande maioria dos pacientes asmáticos possam ser adequadamente tratados pelo

uso regular da associação entre corticóides e agonistas β_2 adrenérgicos inalados, cerca de 5-10% da população mundial desenvolvem a chamada asma crônica severa e não respondem ao tratamento farmacológico disponível, contribuindo para o elevado índice de mortalidade associado a esta enfermidade.²³⁻²⁵ Ao longo das duas últimas décadas inúmeros esforços de pesquisa foram dedicados à identificação de novas alternativas

terapêuticas, mais eficazes e seguras, para o tratamento da asma.^{22,26}

Neste artigo será apresentado de forma resumida a contribuição do LASSBio® na busca por novos candidatos a fármacos antiasmáticos, representada pela descoberta dos protótipos LASSBio-552 e LASSBio-596.

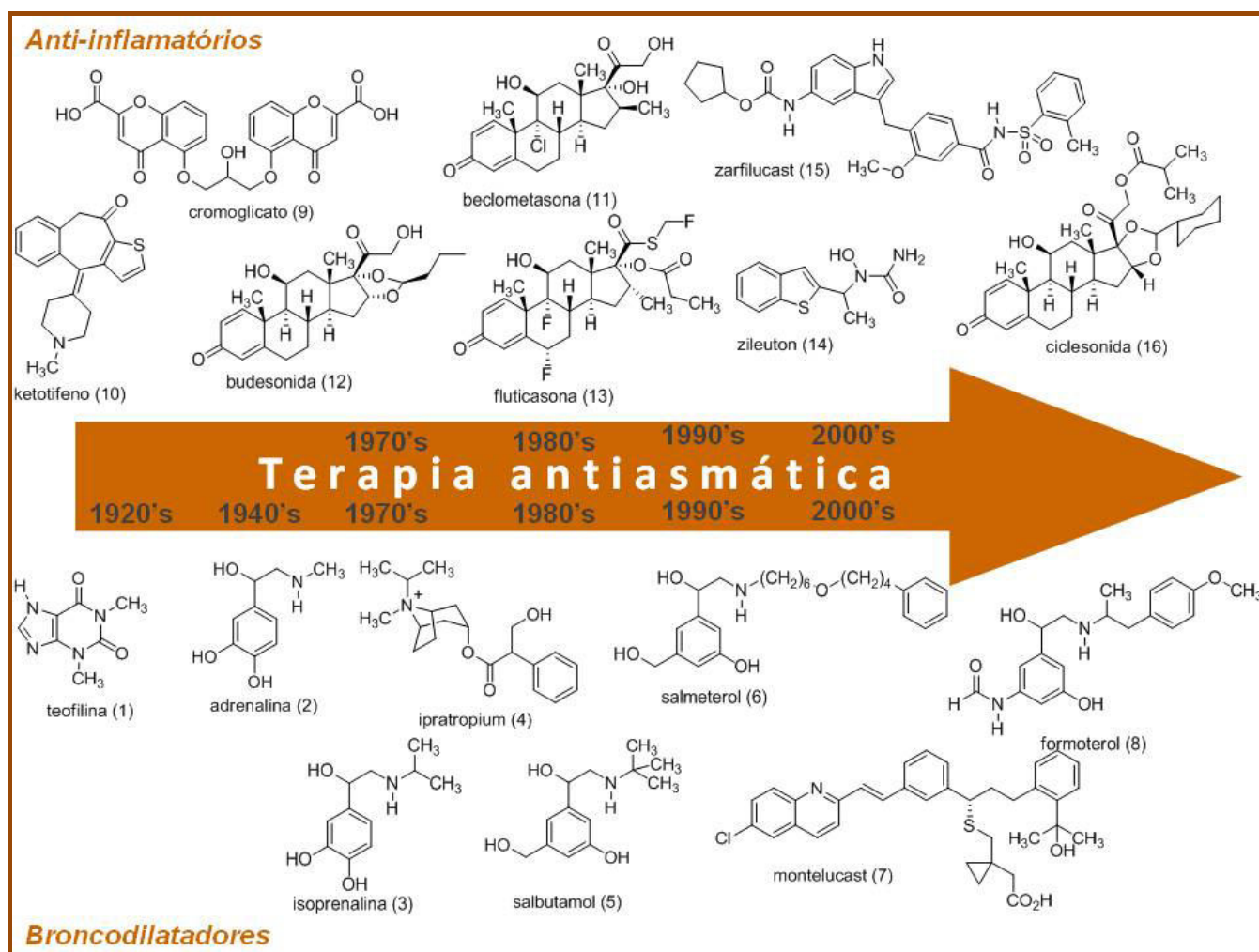


Figura 3. Esquema representativo dos principais fármacos antiasmáticos (broncodilatadores e anti-inflamatórios) utilizados na terapêutica no período de 1920's a 2000's.

2. LASSBio®: Mini-histórico, objetivos e metas

O Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio®) da Universidade Federal do Rio de Janeiro constitui um laboratório de pesquisa multidisciplinar na área da Química Medicinal, criado e coordenado pelo Professor

Titular Eliezer J. Barreiro. Congregam-se neste laboratório os setores de Síntese Orgânica Medicinal, Modelagem Molecular e Farmacologia, que trabalham integrados de forma harmônica. O LASSBio® tem como meta central à formação de recursos humanos qualificados na área de Química Medicinal, ainda insipiente no país,²⁷ e como objetivo principal contribuir para a descoberta de

novos fármacos. Os projetos de pesquisa – objetivando a descoberta e desenvolvimento de novos protótipos candidatos a fármacos para o tratamento de desordens crônicas degenerativas (eg. artrite, asma, câncer, Doença de Chagas e Alzheimer) – são pautados na aplicação da estratégia de planejamento molecular baseado no mecanismo de ação pretendido, também conhecido como abordagem fisiológica.²⁸ Nesta estratégia eleger-se inicialmente a doença seguida do melhor alvo molecular para controle e tratamento da enfermidade selecionada. Com base nas informações disponíveis para o alvo identificado procede-se a etapa de planejamento racional, aplicando-se as estratégias de desenho estrutural dependente ou independente do biorreceptor. À estrutura do (s) ligante (s) desenhado (s) aplicam-se estratégias de modificação molecular características da Química Medicinal – a exemplo das estratégias de bioisosterismo, anelação, simplificação e hibridação molecular – visando à construção de uma série congênere de derivados originais.^{27,29-30} A série planejada é sintetizada – empregando-se

metodologia clássica da química orgânica sintética – e avaliada farmacologicamente empregando-se bioensaios *in vitro* e *in vivo*, que visam à determinação da atividade sobre o alvo molecular selecionado e a aferição de eficácia em modelos animais da doença alvo inicialmente eleita (Figura 4). Não obstante, etapas subsequentes de otimização são necessárias para ajustes das propriedades farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas. Para o cumprimento destas atividades o LASSBio® conta com uma equipe constituída de 4 docentes permanentes, 2 docentes colaboradores, 3 pesquisadores post-doc, 16 estudantes de pós-graduação – de diferentes programas de pós-graduação da UFRJ – 13 estudantes de graduação e diversas colaborações inter-institucionais e inter-departamentais, incluindo colaboração com grupos de excelência da área da Química Medicinal na Europa e América Latina.

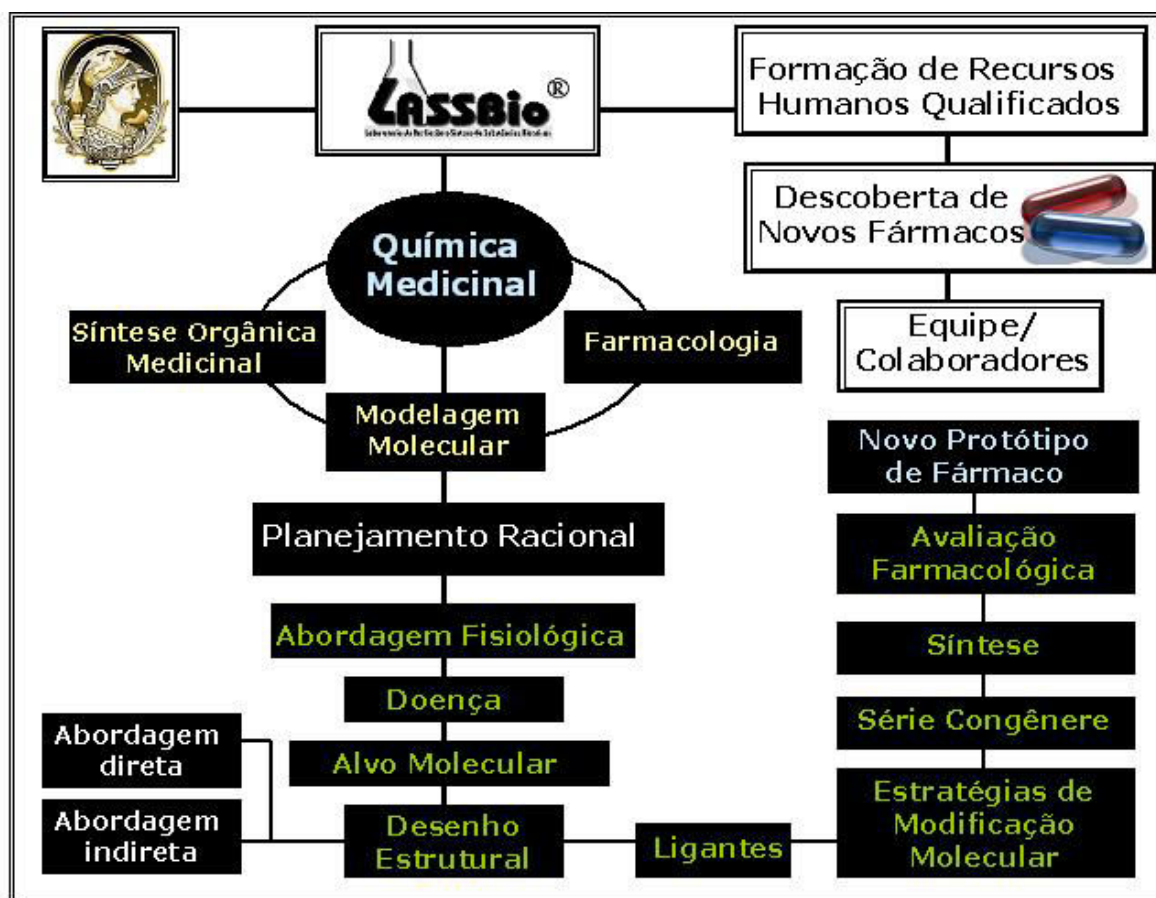


Figura 4. Sumário das atividades de Pesquisa do LASSBio®

3. LASSBio-552: Protótipo antiasmático antileucotrieno

Ao longo das últimas décadas avanços significativos foram realizados na compreensão da etiologia e patogênese da asma, permitindo o mapeamento das principais células e alvos moleculares envolvidos com a resposta asmática. A elucidação da participação do componente inflamatório como evento chave do processo de hiperresponsividade brônquica e remodelamento das vias aéreas consagrou a relevância terapêutica de fármacos anti-inflamatórios no controle da resposta asmática de fase tardia ou crônica. Os principais representantes desta classe são os fármacos anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) ou corticosteróides, a exemplo da beclometasona (Figura 3), primeiro AIEs empregado como agente antiasmático, introduzido na terapêutica nos anos 1970's. A constatação de vários efeitos adversos associados ao uso sistêmico dos AIEs levou inicialmente a busca por novos AIEs de uso inalatório, com rápido *onset* de ação e curta meia-vida sistêmica (e.g. fluticasona e ciclesonida, Figura 3), e posteriormente a busca por novos anti-inflamatórios com mecanismo de ação distinto aos corticosteróides.

Neste contexto, os receptores de leucotrienos cisteínicos (CysLT) surgem como alvo promissor para o desenvolvimento de novos antiasmáticos. Estes receptores subdividem-se em dois tipos: CysLT₁ e CysLT₂,³¹ e controlam as atividades biológicas do LTC₄, LTD₄ e LTE₄, conhecidos como substância lenta da anafilaxia. O reconhecimento do LTC₄ e LTD₄ – liberados a partir de mastócitos e eosinófilos ativados (Figura 1) – pelos receptores CysLT₁ induzem aumento da permeabilidade vascular, produção de muco, redução do transporte mucociliar e broncoconstrição – com potência 1000 vezes superior a histamina –³²⁻³³ e evidenciam a potencialidade terapêutica do bloqueio seletivo destes receptores para o desenvolvimento de novos antiasmáticos. Vários antagonistas de receptores de leucotrienos cisteínicos (CysLTant) foram descobertos nos últimos anos, entretanto, a consagração dos receptores CysLT₁ como alvo promissor para o desenvolvimento de fármacos

antiasmáticos decorre da aprovação, no final dos anos 1990's, pela agência americana FDA, dos fármacos antileucotrienos zafirlucast (**15**) e montelucast (**7**) (Figura 3).

Pautados na importância do desenvolvimento de novos antiasmáticos que congregam na mesma estrutura propriedades anti-inflamatória e broncodilatadora, a exemplo do zafirlucast (**15**) e montelucast (**7**), e aplicando a estratégia de planejamento racional baseada na abordagem fisiológica (Figura 6), o LASSBio® identificou os receptores CysLT₁ como alvo atraente para o desenho de novos protótipos de fármacos antiasmáticos logrando na descoberta de LASSBio-552 (2-4-[3-(1*H*-1,2,3,4-tetrazol-5-il)propoxi]fenil-1,3-isoindolinadiona).³⁴ Este protótipo tetrazólico foi identificado a partir de uma série congênere de derivados ftalimídicos funcionalizados (**18-24**, Figura 5), planejados a partir de modificações – baseadas na aplicação de estratégias bioisostéricas e de simplificação molecular – sobre a estrutura dos protótipos montelucast (**7**) e **17** (Figura 5).

A série foi inicialmente testada *in vitro* quanto sua capacidade de inibir a contração induzida por LTD₄ em anéis de traquéia de cobaias, utilizando o zafirlucast (**15**) como fármaco de referência. Na dose de *screening* de 100 µM LASSBio-552 apresentou propriedade músculo relaxante semelhante ao zafirlucast sendo selecionado para estudo de concentração resposta (CI₅₀). Neste estudo foi evidenciado a menor potência e a maior eficácia de LASSBio-552 quando comparado ao fármaco zafirlucast (**15**).³⁵ O efeito anti-inflamatório comparativo de LASSBio-552 e **15** foi determinado no modelo de pleurisia alérgica em ratos. Neste modelo foi demonstrada a capacidade de LASSBio-552 inibir de forma expressiva a migração de eosinófilos e células mononucleares para a cavidade pleural, de forma análoga ao fármaco de referência, evidenciando importante perfil anti-inflamatório. Posteriormente, foi demonstrada a capacidade de LASSBio-552 em inibir a produção de leucotrienos cisteínicos a partir de mastócitos ativados por estímulo alérgico.³⁶ Em conjunto, estes resultados caracterizaram LASSBio-552 como legítimo agente antileucotrieno, com propriedades anti-inflamatórias e músculo relaxante, ratificando-o como autêntico protótipo antiasmático.

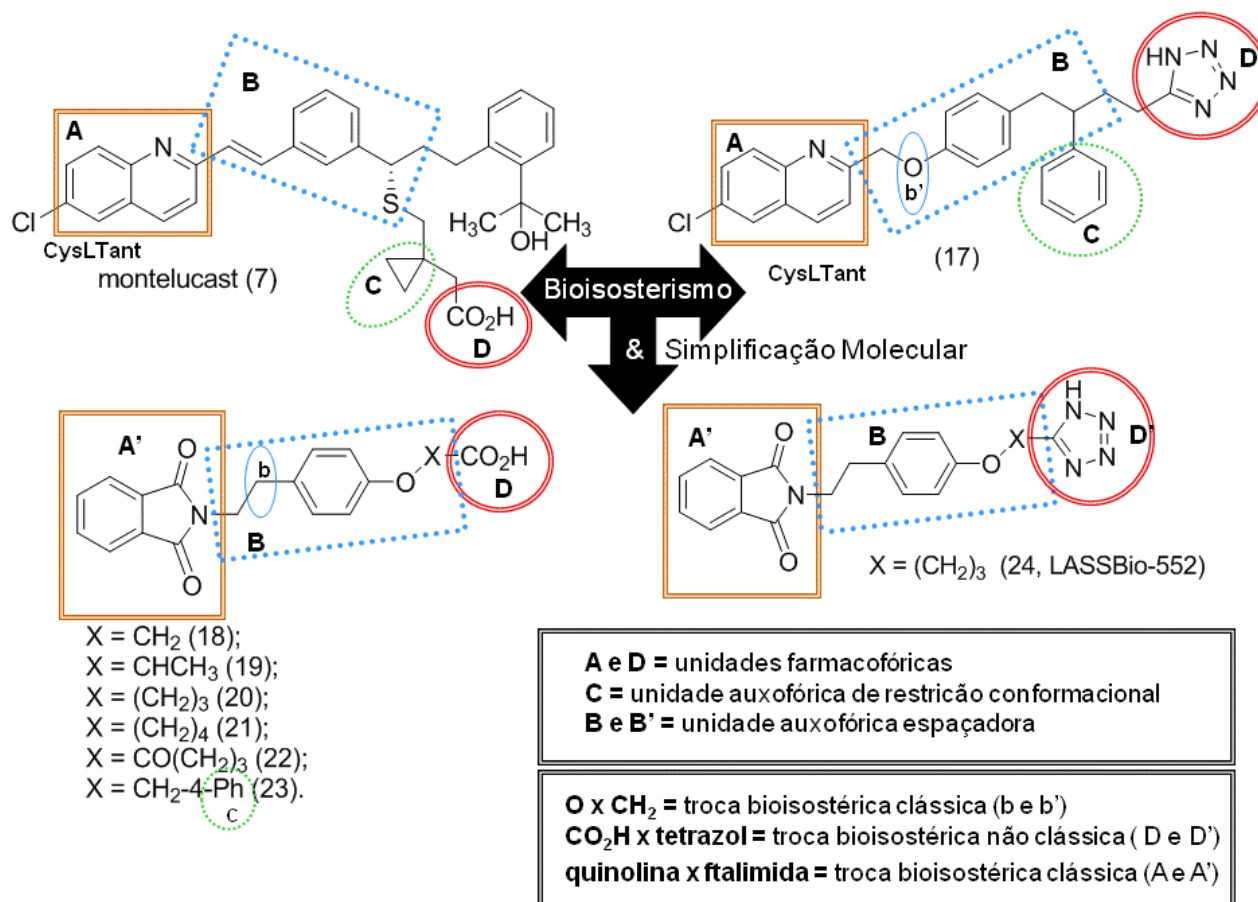


Figura 5. Gênese de LASSBio-552

4. LASSBio-596: Protótipo antiasmático simbiótico

As doenças crônicas degenerativas de origem multifatorial – a exemplo da asma – são inadequadamente tratadas com fármacos mono-alvo (“*magic bullets*”). Os melhores resultados no tratamento do paciente asmático são alcançados pela associação de fármacos com atuação nos receptores β_2 adrenérgicos e sobre os receptores de glicocorticóides, a exemplo do salbutamol e fluticasona, respectivamente. Estas constatações clínicas evidenciam que o tratamento adequado da asma é dependente de uma intervenção farmacológica em mais de um alvo molecular, o que pode ser alcançado pelos chamados fármacos/agentes simbióticos. Entende-se por agente simbiótico protótipo desenhado para atuar em no mínimo dois alvos moleculares, pertencentes a janelas bioquímicas distintas, porém, envolvidos

em uma mesma resposta fisiopatológica.³⁷ O desenho do agente simbiótico é baseado no método de combinação de farmacóforos pré-selecionados, a partir de protótipos seletivos para os alvos eleitos, constituindo o desafio da etapa de planejamento assegurar potência comparável sobre os alvos moleculares previamente selecionados.³⁷⁻³⁸

Dentre os alvos passíveis de intervenção farmacológica para o tratamento da asma o fator de necrose tumoral-alfa (TNF α) e a fosfodiesterases serão brevemente tratadas neste artigo.³⁹⁻⁴⁰

O TNF α é uma citocina pleiotrópica possuindo atividades pró-inflamatória e imunomoduladora. Em baixa concentração plasmática exerce seu potencial farmacológico através de ações do tipo parácrina e autócrina, regulando a ativação de células endoteliais e de diferentes leucócitos. Em altas concentrações o TNF α exerce ações do tipo endócrina, estando associado a patogênese de

várias enfermidades de natureza auto-imune e inflamatória, a exemplo da asma.⁴¹⁻⁴³ É biossintetizado na forma de proteína precursora inativa, ancorada a membrana plasmática (26 kDa),

e liberado por clivagem proteolítica regioselectiva catalisada pela enzima conversora de fator de necrose tumoral alfa (*i.e.* TACE).⁴⁴

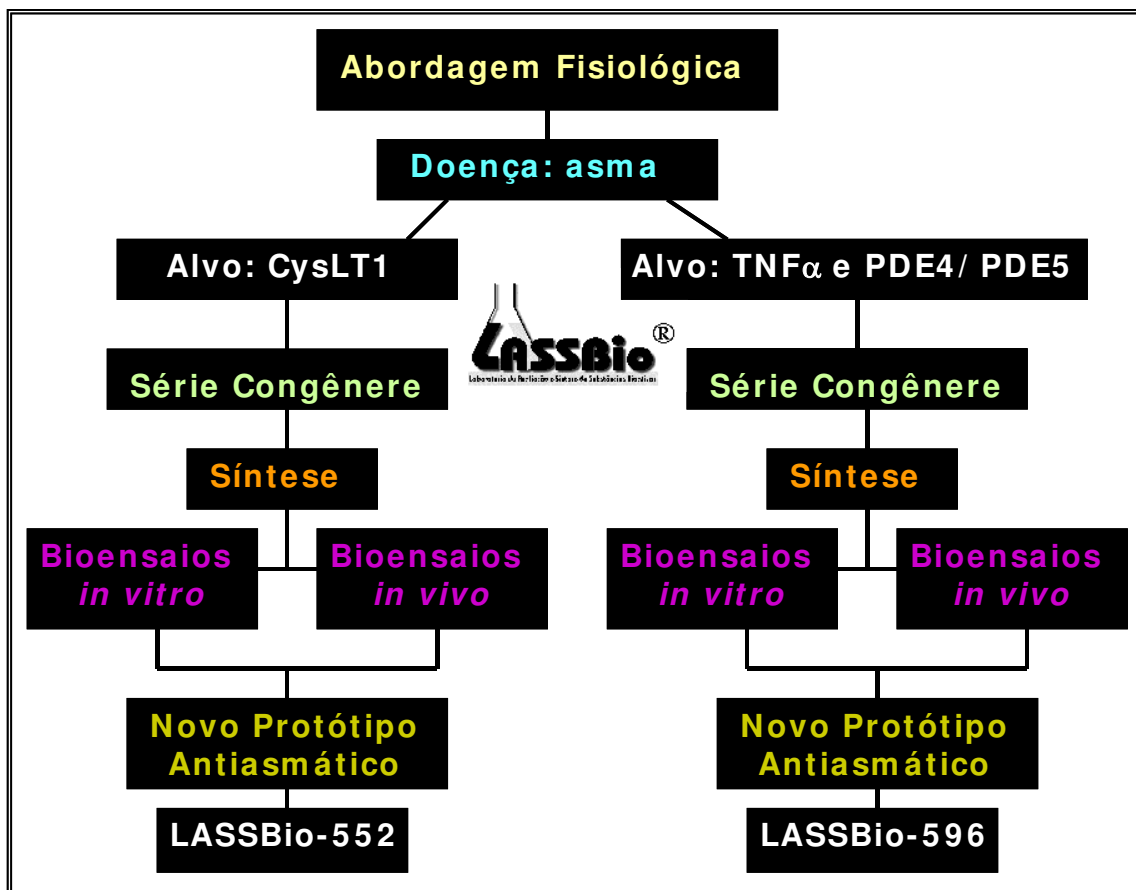


Figura 6. Descoberta dos protótipos antiasmáticos LASSBio-552 e LASSBio-596

O reconhecimento do TNF α por seus receptores de membrana (*i.e.* TNF-R1 ou TNF-p55 e TNF-R2 ou TNF-p75) induz uma série de eventos – parte mediados pela participação do *nuclear factor- κ -binding* (NF κ B) como segundo mensageiro⁴⁵⁻⁴⁶ incluindo proliferação de fibroblastos, indução da expressão de moléculas de adesão (*e.g.* VCAM e ICAM) síntese de PGE₂, migração leucocitária, entre outros. Em situações normais, os níveis plasmáticos de TNF α são finamente regulados pelos receptores solúveis de TNF. Estes receptores, gerados a partir da clivagem proteolítica do domínio extracelular dos receptores TNF-R1 e TNF-R2, competem pela ligação do TNF α a seus receptores de membrana, permitindo a manutenção de mecanismo efetivo de

feedback controlador das atividades deflagradas por esta citocina.⁴⁷⁻⁴⁸

As fosfodiesterases (PDEs) constituem superfamília de enzimas responsáveis pela degradação – via hidrólise da ligação 3'-éster de fosfato – de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPC) e guanosina 3',5'-monofosfato cíclico (GMPc), importantes segundos mensageiros envolvidos com respostas de sinalização e homeostasia celular, incluindo produção e liberação de mediadores inflamatórios, relaxamento muscular, vasodilatação e apoptose.⁴⁹ Elas diferem-se quanto à especificidade pelo substrato, modulação da atividade enzimática e distribuição celular e tecidual. São conhecidas 11 isoformas (PDE1-PDE11), sendo as PDEs 4, 7 e 8 específicas

para o reconhecimento e clivagem do AMPc; PDEs 5, 6 e 9 GMPc específicas e PDEs 1, 2, 3, 10 e 11 não seletivas.⁵⁰⁻⁵¹ Nas células e tecidos envolvidos com a resposta asmática há predomínio das isoformas PDE-1, PDE-3, PDE-4 e PDE-5.⁵²

O primeiro inibidor PDE utilizado na terapêutica da asma foi a teofilina (Figura 3), inibidor não seletivo das isoformas PDE-3 e PDE-4 com ações paralelas sobre os receptores de adenosina.⁵³ Em linhas gerais a inibição das ações mediadas pelas PDEs 3, 4 e 5 nas vias aéreas resulta em efeito vasodilatador e músculo relaxante, enquanto que, as atividades mediadas pela inibição da PDE-4 conduzem a efeitos anti-inflamatórios.

Em continuidade aos esforços de pesquisa do LASSBio® na busca por novos candidatos a protótipos de fármacos antiasmáticos, a aplicação da abordagem fisiológica como estratégia de planejamento racional, permitiu identificar a citocina TNF α e as enzimas PDE-4 e PDE-5 como alvos promissores para o desenho de novos

protótipos antiasmáticos simbióticos (Figura 6). A etapa de planejamento estrutural dos novos agentes antiasmáticos simbióticos iniciou-se pela seleção – a partir de dados da literatura científica e patentária – de protótipos com adequada potência e seletividade sobre os alvos moleculares eleitos (*i.e.* TNF, PDE-4 e PDE-5). A partir destes estudos foram selecionados a talidomida (**25**)⁵⁴ – como protótipo modulador das ações do TNF α – sildenafil (26), como inibidor seletivo de PDE-5, e a arilsulfonamida (**27**) – como protótipo inibidor seletivo de PDE-4 (Figura 7). Em seguida, com base em dados da relação estrutura química atividade biológica, de cada um dos protótipos selecionados e de seus análogos estruturais, foi realizado o processo de dissecação molecular, com subsequente mapeamento das unidades farmacofóricas e auxofóricas dos protótipos em estudo. Após a identificação das subunidades farmacofóricas procedeu-se etapa de combinação dos farmacóforos selecionados, empregando-se a estratégia de hibridação molecular (Figura 7).⁵⁶

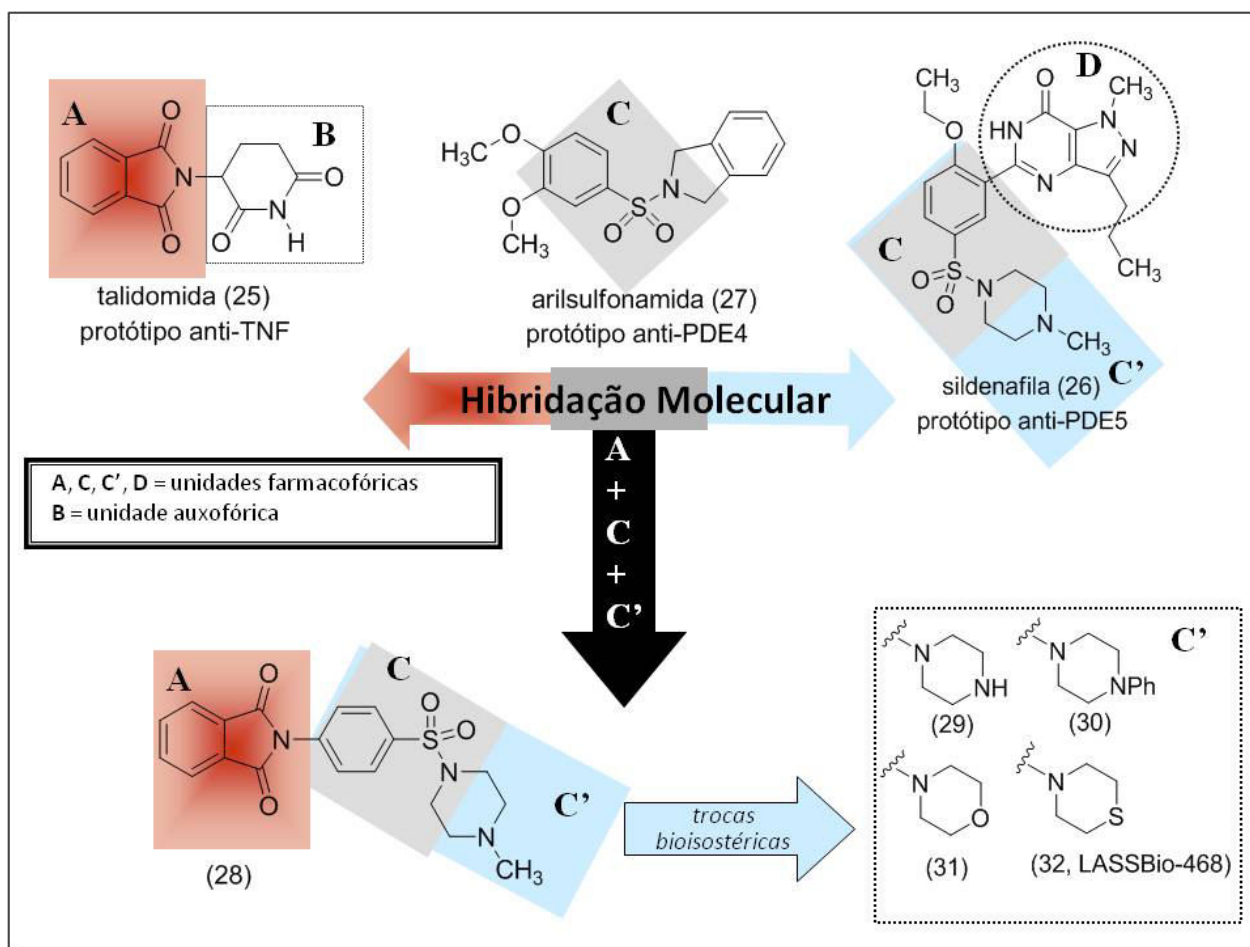


Figura 7. Gênese dos protótipos simbióticos (28-32)

O híbrido planejado (**28**) foi modificado a partir de trocas bioisostéricas da unidade *N*-metilpiperazina, visando a construção de série congênere, permitindo o desenho das sulfonamidas (**29-32**). Após etapas seguintes de síntese, purificação e caracterização estrutural, os compostos foram inicialmente ensaiados em modelo de inflamação pulmonar aguda induzida por inalação de LPS. Neste modelo a resposta inflamatória é observada pelo aumento do número de neutrófilos no lavado bronco alveolar (LBA) dos animais tratados com LPS, sendo este processo de migração dependente da participação da citocina TNF α .⁵⁷ Os resultados obtidos revelaram a capacidade dos híbridos (**28-32**) inibirem o processo de migração celular e diminuírem os níveis de TNF α no LBA, sendo LASSBio-468 (2-[4-(1,4-tiazinan-4-ilsulfonil)fenil]-1,3-isoindolinadiona) o mais potente com DE₅₀ = 2,5 mg/Kg.⁵⁸ Posteriormente, foi determinada a habilidade de LASSBio-468 (**32**) inibir *in vitro* as enzimas PDE-4 e PDE-5. Os resultados obtidos revelaram baixa potência inibitória sobre as enzimas alvos com valores de CI₅₀ de 82 μ M e 152 μ M para as isoformas PDE-4 e PDE-5, respectivamente.⁵⁸ A ação anti-inflamatória e imunomoduladora de LASSBio-468 foi confirmada

em outros modelos animais dependentes da produção do TNF α e do aumento de nucleotídeos cíclicos.⁵⁹

Confirmado o caráter simbiótico de LASSBio-468 e considerando a labilidade química do núcleo ftalimídico, frente à hidrólise pH dependente, experimentalmente demonstrada para o protótipo talidomida,⁶⁰ foi ponderada a hipótese de bioconversão de LASSBio-468 em seu derivado carboxi-amídico corresponde (**33**). Para tanto, o produto hidrolisado foi preparado resultando no composto LASSBio-596 (ácido 2-[4-(1,4-tiazinan-4-ilsulfonil)fenil]carbamoil]benzóico) (Figura 8). Este derivado foi testado em modelo de injúria pulmonar aguda, sendo capaz de modular o processo inflamatório pulmonar, revertendo as alterações mecânicas, bloqueando a fibroproliferação, inibindo o recrutamento de neutrófilos e a produção de TNF α .⁶¹⁻⁶² Quando ensaiado em modelo de asma crônica murina, LASSBio-596 foi capaz de prevenir as alterações morfométricas e mecânicas do pulmão induzida pelo quadro de asma, bloqueando o processo de fibroproliferação e diminuindo a resistência das vias aéreas, configurando-se como legítimo protótipo antiasmático simbiótico.⁶³⁻⁶⁴

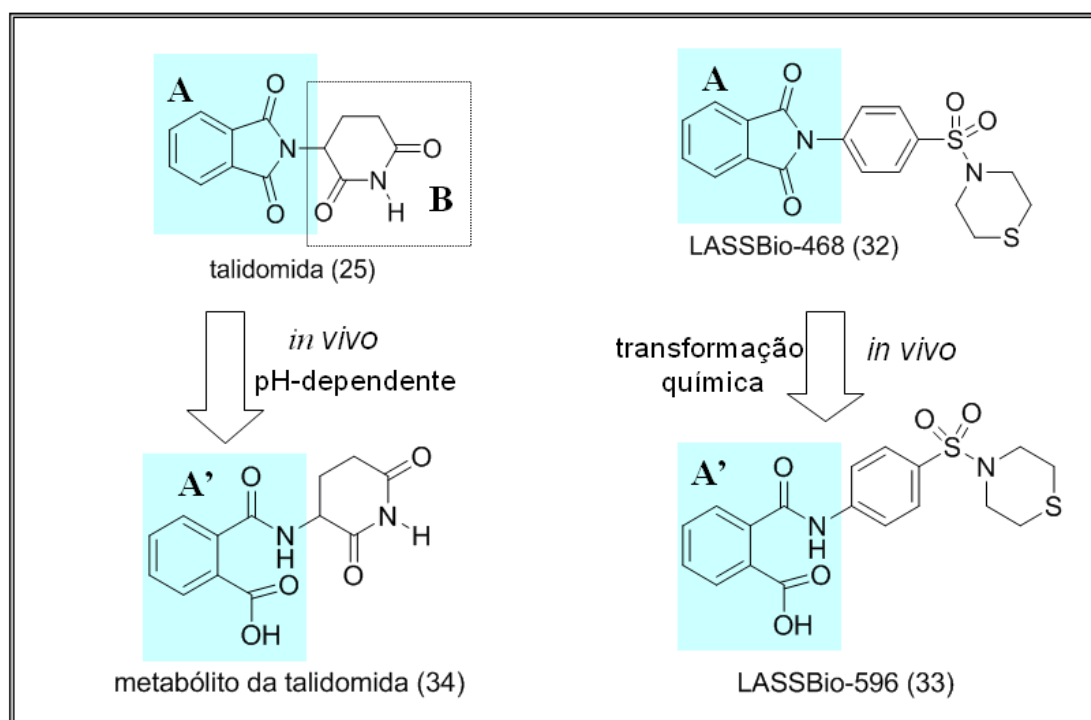


Figura 8. Talidomida, LASSBio-468 e seus produtos de hidrólise

5. Comentários Finais

Dentre as distintas áreas temáticas de interesse do LASSBio® as doenças pulmonares, a exemplo da asma, vem sendo estudadas de forma sistemática em âmbito de projetos de colaboração inter-institucionais e inter-departamentais. A aplicação da abordagem fisiológica como estratégia de planejamento racional constitui ferramenta importante no desenho de protótipos de diversas classes terapêuticas e ao longo dos últimos sete anos vem sendo empregada com êxito na descoberta de novos candidatos a protótipos de fármacos antiasmáticos, a exemplo de LASSBio-552 e LASSBio-596. O último estudado em âmbito do projeto Instituto do Milênio: Inovação e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos (IM-

INOFAR, CNQq #420015/05-1), envolvendo pesquisadores da UFRJ, Fiocruz, UFRGS, UFPb e UFC, congregando etapas de escalonamento, estudo do mecanismo de ação, embriotoxicidade, citotoxicidade, ensaios toxicológicos e farmacocinéticos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao coordenador do Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas, Professor Titular Eliezer J. Barreiro, ao IM-INOFAR (#420015/05-1) e ao Editor do 1º número da Revista Virtual de Química, Professor Titular Angelo da Cunha Pinto.

Referências Bibliográficas

¹ Barnes, P. J. *Nat. Rev. Immunol.* **2008**, *8*, 183. [CrossRef] [PubMed]

²Disponível em: <http://www.asma-bronquica.com.br/medical/resposta_tardia_linfocitos.html>. Acesso em: 17 dezembro 2008.

³ Gould, H. J.; Sutton, B. J. *Nat. Rev. Immunol.* **2008**, *8*, 205. [CrossRef] [PubMed]

⁴ Williams, C. M. M.; Galli, S. J. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2000**, *105*, 847. [PubMed]

⁵ Malbec, O.; Daron, M. *Immunol. Rev.* **2007**, *217*, 206. [CrossRef] [PubMed]

⁶ Corrigan, C. *Medicine* **2008**, *36*, 177. [CrossRef]

⁷ Rosenberg, H. F.; Phipps, S.; Foster, P. S. *J Allergy Clin. Immunol.* **2007**, *119*, 1303. [CrossRef] [PubMed]

⁸ Disponível em: <http://www.asma-bronquica.com.br/medical/inflamacao_alergica.html>. Acesso em: 19 dezembro 2008.

⁹ Nauta, A. J.; Engels, F.; Knippels, L. M.; Nijkamp, F. P.; Redegeld, F. A. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *585*, 354. [CrossRef] [PubMed]

¹⁰ Aguiar Filho, A. S.; Lopes Neto, E. P. A.; Sarinho E. S. C.; Vasconcelos, M. M.; Accioly, L. S.; Leão, M. J. C.

C.; Lima, D. S. T.; Wirtsbiki, P. M. *Rev. Port. Pneumol.* **2004**, *X*, 319. [Link]

¹¹ Berend, N.; Salome, C. M.; King, G. G. *Respirology* **2008**, *13*, 624. [CrossRef] [PubMed]

¹² Laitinen, L. A.; Altraja, A.; Karjalainen, E-M.; Latinen, A. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2000**, *105*, S582. [CrossRef] [PubMed]

¹³Disponível em: <<http://www.who.int/features/factfiles/asthma/en/index.html>>. Acesso em: 17 dezembro 2008.

¹⁴Disponível em: <http://www.lincx.com.br/lincx/saude_a_z/problem as/asma.asp>. Acesso em: 17 dezembro 2008.

¹⁵ Rabinovitch, N.; Gelfand, E. W.; Leung, D. Y. M. *Allergy* **1999**, *54*, 662. [CrossRef] [PubMed]

¹⁶ Ritz, S. A.; Gajewska, B. U.; Stampfli, M. R.; Jordana, M. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2000**, *106*, S206. [PubMed]

¹⁷ Berend, N.; Salome, C. M.; King, G. G. *Respiratory* **2008**, *13*, 624.

¹⁸ Schmidt, D.; Rabe, K. F. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2000**, *105*, 673. [CrossRef] [PubMed]

¹⁹ Mauad, T.; Lopes de Souza, A. S.; Saldiva, P. H. N.; Dolhnikoff, M. *J. Pneumol.* **2000**, *26*, 91. [CrossRef]

²⁰ Van Hove, C. L.; Mães, T.; Joos, G. F.; Tournoy, K. G. *Allergy* **2008**, *63*, 1095. [CrossRef] [PubMed]

- ²¹ Broide, D. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2008**, *122*, 475. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² a) Diamant, Z.; Boot, J. D.; Virchow, J. C. *Respiratory Medicine* **2007**, *101*, 378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]; b) Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. *Quím. Nova* **2002**, *25*, 825. [[CrossRef](#)]
- ²³ Barnes, P. J.; Woolcock, A. J. *Eur. Respir. J.* **1998**, *12*, 1209. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Polosa, R. *Intern. Med. J.* **2008**, *38*, 190. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁵ Hanania, N. A. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2007**, *20*, 483. [[CrossRef](#)]
- ²⁶ Adcock, I. M.; Caramori, G.; Chung, K. F. *Lancet* **2008**, *372*, 1073. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Lima, L. M. *Quím. Nova* **2007**, *30*, 1456. [[CrossRef](#)]
- ²⁸ Barreiro, E.J.; Fraga, C. A. M.; *Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*, 2nd ed., Art Med Editora Ltda: Porto Alegre, **2008**.
- ²⁹ Lima, L. M.; Barreiro, E. J. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 23. [[PubMed](#)]
- ³⁰ Barreiro, E. J. *Quim. Nova*, **2002**, *25*, 1172. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Takasaki, J.; Kamohara, M.; Matsumoto, M.; Saito, T.; Sugimoto, T.; Ohishi, T.; Ishii, H.; Ota, T.; Nishikawa, T.; Kawai, Y.; Masuho, Y.; Isogai, T.; Suzuki, Y.; Sugano, S.; Furuichi, K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *274*, 316. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² Samuelsson, B. *Science* **1983**, *220*, 568. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³³ Samuelsson, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1982**, *21*, 902. [[CrossRef](#)]
- ³⁴ Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. *Anti-Inflamm. Anti-Allergy Agents Med. Chem.* **2004**, *3*, 9. [[CrossRef](#)]
- ³⁵ Lima, L. M.; de Brito, F. C. F.; de Souza, S. D.; Miranda, A. L. P.; Rodrigues, C. R.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *12*, 1533. [[CrossRef](#)]
- ³⁶ Neves, J. S.; Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Miranda, A. L. P.; Diaz, B. L.; Balduino, A.; Siqueira, R. A.; Silva, P. M. R.; Martins, M. A. *Eur. J. Pharmacol.* **2005**, *511*, 219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁷ Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Curr. Drug Ther.* **2008**, *3*, 1. [[Link](#)]
- ³⁸ Morphy, R.; Rankovic, Z.; *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6523. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁹ Berry, M.; Brightling, C.; Pavord, I.; Wardlaw, A. J. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2007**, *7*, 279. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ a) Karlsson, J. A.; Aldous, D. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* **1997**, *7*, 989; [[Link](#)]; b) Barnes, P. J. *Nature Rev. Drug Discov.* **2004**, *3*, 831. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴¹ Tracey, K., Cerami, A. *Annu. Rev. Med.* **1994**, *45*, 491. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴² Lykouras, D.; Sampsonas, F.; Kaparianos A.; Karkoulas, K.; Spiropoulos, K. *Mini Rev Med Chem.* **2008**, *8*, 934. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴³ Russo, C.; Polosa, R. *Clin. Sci. (Lond)* **2005**, *109*, 135. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁴ Black, R. A.; Rauch, C. T.; Kozlosky, C. J.; Peschon, J. J.; Slack, J. L.; Wolfson, M. F.; Castner, B. J.; Stocking, K. L.; Reddy, P.; Srinivasan, S.; Nelson, N.; Boiani, N.; Schooley, K. A.; Gerhart, M.; Paxton, R. J.; March, C. J.; Pat Cerret, D. *Nature* **1997**, *385*, 729. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Mercúrio, F.; Manning, A. M. *Curr. Opin. Cell Biol.* **1999**, *11*, 226. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁶ Barnes, P. J.; Adcock, I. M. *Trends Pharmacol. Sci.* **1997**, *18*, 46. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁷ Engelmann, H.; Novick, D.; Wallach, D. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 1531. [[PubMed](#)]
- ⁴⁸ Rink, L., Kirchner, H. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **1996**, *111*, 199. [[PubMed](#)]
- ⁴⁹ Perry, M. J.; Higgs, G. A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 472. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁰ Essayan, D. M. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2001**, *108*, 671. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵¹ Dal Piaz, V.; Giovannoni, M. P.; Castellana, C. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵² Schudt, C.; Tenor, H.; Hatzelmann, A. *Eur. Respir. J.* **1995**, *8*, 1179. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵³ Hendeles, L.; Weinberg, M. *Pharmacotherapy* **1983**, *3*, 2. [[PubMed](#)]
- ⁵⁴ Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. *Quim. Nova* **2001**, *24*, 683. [[CrossRef](#)]

Lima, L. M. & Lima N. M.

⁵⁵ Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Koatz, Vera Lucia G.; Barreiro, E. J. *Anti-Inflamm. Anti-Allergy Agents Med. Chem.* **2006**, *5*, 79. [[CrossRef](#)]

⁵⁶ Lima, L. M.; Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2001.

⁵⁷ Gonçalves de Moraes, V. L.; Vargaftig, B. B.; Lefort, J.; Meager, A.; Chignard, M. *Br. J. Pharmacol.* **1996**, *117*, 1792. [[PubMed](#)]

⁵⁸ Lima, L. M.; Castro, Paulo ; Machado, A. L.; Fraga, C. A. M. ; Lugnier, C. ; Koatz, V. L. G.; Barreiro, E. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3067. [[CrossRef](#)]

⁵⁹ Alexandre-Moreira, M. S.; Takiya, C. M.; Arruda, L. B. P.; Pascarelli, B.; Gomes, R. N.; Faria-Neto, H. C. C.; Lima, L. M.; Barreiro, E. J. *Int. Immunopharmacol.* **2005**, *5*, 485. [[CrossRef](#)]

⁶⁰ Schumacher, H.; Smith, R. L.; Williams, R. T. *Br. J. Pharmacol.* **1965**, *25*, 324. [[PubMed](#)]

⁶¹ Rocco, P. R. M.; Momesso, D.P.; Figueira, R.C.; Ferreira, H.C.; Cadete, R.A.; Légora-Machado, A.; Koatz, V. L. G.; Barreiro, E. J.; Lima, L. M.; Zin, W. A. *Eur. Respir. J.* **2003**, *21*, 1. [[PubMed](#)]

⁶² Barreiro, E. J.; Rocco, P. R. M.; Zin, W. A.; Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Koatz, V. L. G. **2003** (Patente, # PI0208767-7).

⁶³ Campos, H. S.; Xisto, D. G.; Oliveira, M. B. C.; Teixeira, I.; Negri, E. M.; Mauad, T.; Carnielli, D.; Lima, L. M.; Barreiro, E. J.; Faffe, D. S.; Zin, W. A.; Lapa e Silva, J. R.; Rocco, P. R. M. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2006**, *39*, 283. [[CrossRef](#)]

⁶⁴ Barreiro, E. J.; Rocco, P. R. M.; Zin, W. A.; Lima, L. M.; Fraga, C. A. M. **2004** (Patente, # PI0401660-2).