

Planejamento, Síntese e Avaliação Farmacológica de Novos Compostos Híbridos para o Tratamento dos Sintomas da Anemia Falciforme

por Nailton M. Nascimento-Júnior e Thaís R. F. de Melo

Data de publicação na Web: 24 de Janeiro de 2012

Recebido em 17 de Janeiro de 2012

Aceito para publicação 22 de Janeiro de 2012

DOI: [10.5935/1984-6835.20110049](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20110049)

A anemia falciforme é uma das doenças de origem genética mais comuns no mundo, sendo causada por mutação do ácido glutâmico (Glu6) em valina (Val6) da cadeia β da hemoglobina, resultando em vários efeitos colaterais, como por exemplo, hipertensão pulmonar e infarto, que reduzem a expectativa de vida dos pacientes acometidos pela doença. Um dos maiores problemas da anemia falciforme está no fato de ainda não existir um fármaco específico para o seu tratamento, apenas fármacos para aliviar os seus sintomas da doença. O mais importante é a hidroxiureia (HU), que é um inibidor de ribonucleotídeo redutase e atualmente o único fármaco aprovado pelo FDA (*Food and Drug Administration*, que é uma agência reguladora dos EUA responsável pela aprovação de substâncias utilizadas como medicamentos) para o tratamento sintomático da anemia falciforme.¹

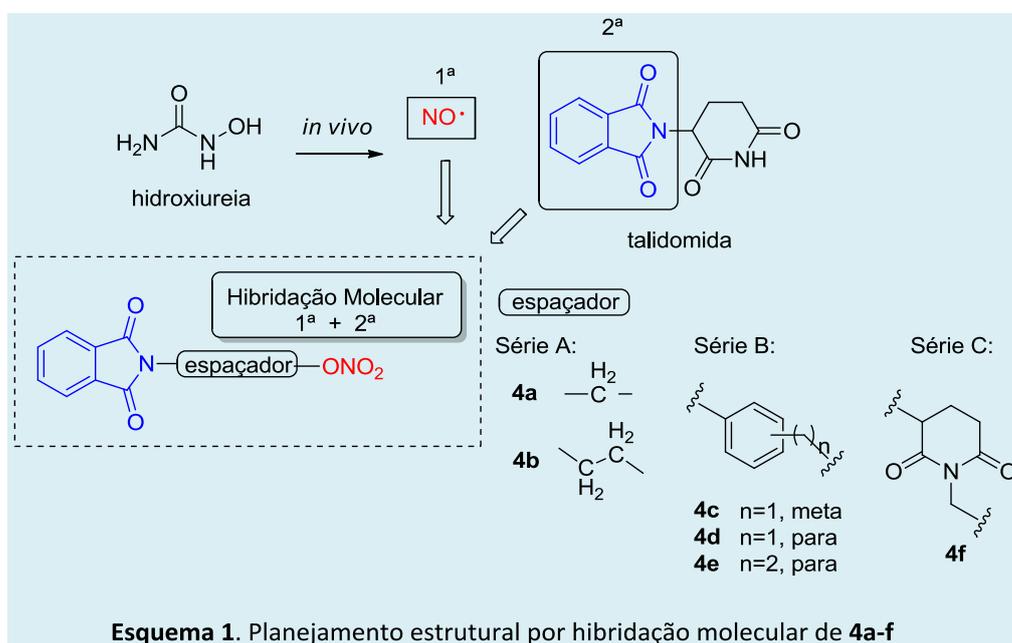
A HU é geralmente usada no tratamento de desordens mieloproliferativas e seu efeito na anemia falciforme está relacionado à sua capacidade de produzir hemoglobina fetal (HbF). Após sua metabolização, a HU pode atuar como doadora exógena de óxido nítrico (NO), o qual é responsável por

inúmeros benefícios, tais como: indução da expressão do gene da γ -globina, vasodilatação e inibição da agregação plaquetária. Como indivíduos com anemia falciforme apresentam baixos níveis de NO em seu endotélio vascular, vários esforços têm sido feitos para a melhor compreensão dos efeitos positivos de substâncias doadoras de NO para o tratamento da anemia falciforme.²

Apesar de a HU ser eficiente para o tratamento sintomático da anemia falciforme, seu uso em esquemas terapêuticos prolongados e/ou continuados estão associados a vários efeitos deletérios, os quais contribuem para a diminuição da expectativa de vida dos pacientes.³ Buscando novas alternativas para o tratamento da anemia falciforme, Santos *et al.* planejaram 6 compostos, para os quais o processo de hibridação molecular

foi realizado considerando como protótipos os fármacos: talidomida (conhecido modulador de TNF- α , visando o tratamento do componente inflamatório da anemia falciforme) e HU (a fim de explorar seu efeito doador de óxido nítrico) (Esquema 1).⁴

A rota de síntese desenvolvida, em no máximo 3 etapas, para a obtenção dos 6 compostos propostos mostrou-se adequada, visto que os rendimentos globais variaram entre 49 e 80%, envolvendo síntese linear e sem utilização de reagentes de custo elevado (Esquema 2). Os derivados **4c-e** foram obtidos a partir do anidrido ftálico, o qual foi condensado com anilinas funcionalizadas em piridina sob refluxo, seguido de interconversão do grupo funcional hidroxila em éster de nitrato (-ONO₂), utilizando HNO₃/Ac₂O em diclorometano (CH₂Cl₂) a temperatura ambiente



(Esquema 2)⁵.

O derivado simplificado **4a** foi obtido a partir da condensação entre o anidrido ftálico e a uréia a 140 °C por 20 minutos, seguido de reação da ftalimida correspondente com formaldeído em aquecimento sob refluxo, durante 1h. A *N*-hidroximetil ftalimida obtida foi esterificada com HNO₃/Ac₂O em diclorometano (CH₂Cl₂) a temperatura ambiente, ao produto desejado. Esta mesma rota também foi aplicada para a obtenção de **4b**. Após *N*-funcionalização e interconversão de grupo funcional (-NO em -ONO₂), o fármaco talidomida foi convertido, em duas etapas, no derivado **4f** (Esquema 2).

Após obtenção e caracterização dos derivados **4a-4f**, estes foram submetidos a uma série de ensaios farmacológicos, dentre eles: a avaliação da capacidade dos compostos em atuarem como doadores de óxido nítrico (Reação de Griess); atividade anti-inflamatória (inibição do edema em orelha de camundongo induzido por capsaicina); atividade antinociceptiva (diminuição das contorções abdominais induzidas

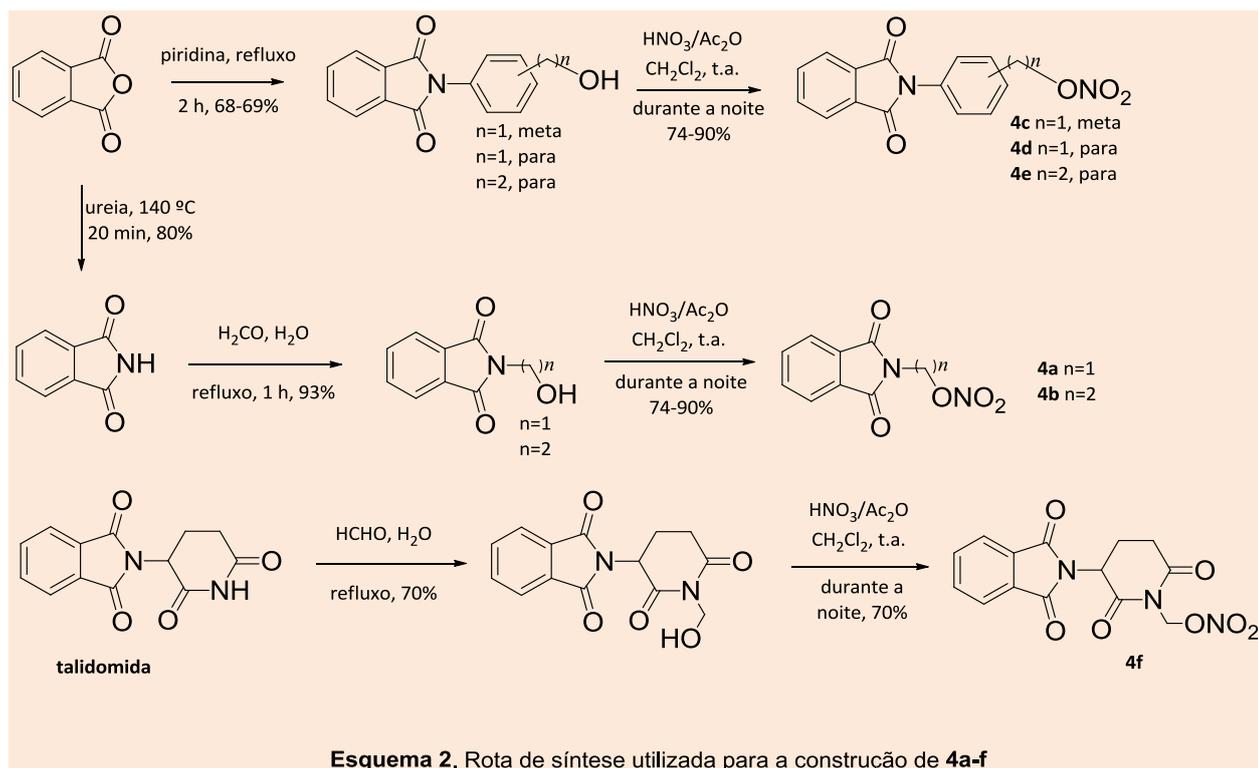
por ácido acético em camundongos) e capacidade em reduzir os níveis de TNF-α no sobrenadante de cultura de monócitos.

Todos os seis compostos apresentaram atividade como doadores de NO, com destaque para os derivados **4b**, **4c** e **4e**. Além disso, **4a-4f** também foram capazes de inibir o edema em orelha de camundongo induzido por capsaicina, com destaque para **4c** (aprox. 65%, 300 μmol/kg, *v.o.*), que foi capaz de inibir os níveis de TNF-α *in vitro* (91%, 300 μM), assim como **4d**, que foi o composto com atividade antinociceptiva mais proeminente (inibição de 66% a 100 μmol/kg, *v.o.*).

Por conta dos resultados observados para a redução dos níveis de TNF-α, assim como a atividade anti-inflamatória e doadora de NO, os compostos **4c** e **4d** podem ser destacados como novos protótipos para o tratamento dos sintomas da anemia falciforme.

Referências bibliográficas

- ¹ Bonds, D. R. *Blood Rev.* **2005**, *19*, 99. [CrossRef] [PubMed]
- ² Rodgers, G. P.; Dover, G. J.; Noguchi, C. T.; Schechter, A. N.; Nienhuis, A. W. *N. Engl. J. Med.* **1990**, *322*, 1037. [CrossRef] [PubMed]
- ³ Haywood, C., Jr.; Beach, M. C.; Bediako, S.; Carroll, C. P.; Lattimer, L.; Jarrett, D.; Lanzkron, S. *Am. J. Hematol.* **2011**, *86*, 85. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴ Ribeiro, R. A.; Vale, M. L.; Ferreira, S. H.; Cunha, Q. F. *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, *391*, 97. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵ dos Santos, J. L.; Lanaro, C.; Lima, L. M.; Gambero, S.; Franco-Penteado, C. F.; Alexandre-Moreira, M. S.; Wade, M.; Yerigenahally, S.; Kutlar, A.; Meiler, S. E.; Costa, F. F.; Chung, M. C. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5811. [CrossRef] [PubMed]



Entrevista com os autores do trabalho *Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Novel Hybrid Compounds To Treat Sickle Cell Disease Symptoms*

Nailton: *O que inspirou o projeto que originou o artigo?*

Jean Leandro dos Santos: Um aluno do laboratório, que tem anemia falciforme, chegou com essa proposta para a professora Chung Man Chin e conversou com ela que tinha o sonho de desenvolver uma substância, candidata a fármaco, para o tratamento da doença dele. Só que ele não tinha ideia do que poderia fazer. O aluno comentou que a substância que ele tomava, a hidroxiureia, o único fármaco disponível para o tratamento sintomático da sua doença, era muito tóxica e que ele queria desenvolver substâncias que não tivessem a toxicidade da hidroxiureia. Partindo dessa ideia geral, que começamos a pensar em trabalhar com novas moléculas para o tratamento da anemia falciforme. Depois de estudarmos a fisiopatologia da doença, iniciamos este trabalho.

Nailton: *Comente sobre o planejamento estrutural dos compostos publicados no artigo:*

Jean Leandro dos Santos: O desenho das estruturas químicas foi feito em colaboração, e discutido entre a Dr^a Lídia M. Lima (LASSBio/UFRJ), a professora Chung Man Chin (Lapdesf/UNESP) e eu. Eu desenvolvia outro projeto em colaboração com a Dr^a Lídia, especificamente com alguns derivados ftalimídicos. Havia sido publicado um trabalho do uso da talidomida em anemia e imaginando isso nós fizemos a hibridação molecular entre a subunidade estrutural que a gente tinha visto como responsável pelo efeito benéfico da talidomida com a hidroxiureia. Baseado no mecanismo de ação benéfico da hidroxiureia, relacionado com a doação de óxido nítrico, nós propusemos que os novos derivados da talidomida também funcionassem como doadores de óxido nítrico.

Nailton: *Gostaria que você comentasse, no contexto das doenças negligenciadas, o aspecto mais relevante desse artigo:*

Jean Leandro dos Santos: Eu acredito que o aspecto mais relevante seria a possibilidade de fomentar pesquisa na área da anemia falciforme, porque tratar uma doença com um único fármaco que não é específico para esta doença é um problema muito sério. A hidroxiureia é usada atualmente como antineoplásico e sabemos que ela pode induzir câncer. A busca de novos compostos para doenças que são extremamente negligenciadas, como é o caso da anemia falciforme, é muito importante, pois necessitamos criar perspectivas para melhoria de qualidade de vida do paciente com um tratamento mais adequado.

Nailton: *Gostaria que você comentasse sobre a característica multialvo dos compostos do artigo.*

Jean Leandro dos Santos: O desenho de compostos com múltiplos mecanismos de ação, usando a ferramenta de hibridação molecular, é muito importante para o tratamento de algumas doenças. Principalmente doenças envolvendo diversos mecanismos. No caso da artrite reumatoide, por exemplo: Se conseguíssemos tratar a doença com uma molécula capaz de atuar por vias diferentes, a possibilidade de curar ou melhorar a vida do paciente é maior do que se atuarmos num simples alvo terapêutico. Considerando a complexidade da anemia falciforme, se nós conseguirmos desenhar substâncias que tenham essa possibilidade de atuar em diferentes alvos terapêuticos o sucesso para encontrar um composto promissor pode ser maior.

Nailton: *E o que você destacaria como vantagens e desafios em se planejar moléculas multialvo?*

Jean Leandro dos Santos: A vantagem seria você conseguir uma multiplicidade de ação com um único composto. Em analogia com o modelo chave-fechadura proposto por Fischer, ter uma única chave sendo capaz de abrir diversas portas é algo mais interessante do que andar com um molho de chaves. Até porque a possibilidade de desenhar uma estrutura química com ação benéfica múltipla diminui uma série de problemas, como a interação medicamentosa, ajuste de dose, adesão do paciente àquele medicamento, etc. Ter uma estrutura que faz “tudo” é muito mais prático do que ter três medicamentos que você tem que tomar pela manhã, à tarde e à noite. Ter um composto com ação multialvo aumenta a adesão do paciente e isso facilita o tratamento.

Nailton: *Comente sobre os desafios enfrentados durante o trabalho:*

Jean Leandro dos Santos: A nossa maior dificuldade não foi do ponto de vista sintético, mas sim em relação a alguns ensaios biológicos que a gente precisava realizar visando à validação da nossa estratégia de modificação. Temos tentado fazer todos os ensaios farmacológicos em colaboração. Por exemplo, o ensaio para a caracterização da atividade *in vitro* foi feito em Campinas e os ensaios para a caracterização da atividade *in vivo* foi feito com colaboração com um grupo dos Estados Unidos.

Nailton: *Gostaria que você comentasse sobre as colaborações relacionadas ao trabalho. Como aconteceram, a importância no contexto do artigo, etc.*

Jean Leandro dos Santos: Colaborar para a realização do trabalho foi fundamental. Se a gente não tivesse tido as colaborações, o trabalho não teria acontecido. A primeira colaboração importante foi com a Dr^a Lídia (LASSBio/UFRJ), que foi quem nos auxiliou na questão do desenho das novas moléculas. Em seguida, viemos para o laboratório e sintetizamos os compostos. Aí entra a segunda colaboração, que foi com a Dr^a Magna Suzana (UFAL), sendo ela responsável pela realização de alguns ensaios biológicos que caracterizaram a atividade analgésica e anti-inflamatória desses compostos. Um terceiro colaborador foi do Grupo de Pesquisa do Hemocentro da UNICAMP, que foi responsável pela caracterização da atividade *in vitro* desses compostos. Se não houvesse essa colaboração com essas diferentes pessoas o trabalho não teria acontecido.

Nailton: *Você considera a anemia falciforme como uma possível área de interesse para a indústria farmacêutica?*

Jean Leandro dos Santos: Até um tempo atrás a indústria farmacêutica não tinha interesse neste tipo de doença, mas parece que hoje está um pouco diferente. Há possibilidades de convênios com empresas interessadas em mercados de nicho pequeno. Se eu estiver pensando, por exemplo, numa doença como a beta talassemia, que não tem muita pesquisa sobre o assunto. A indústria detentora de uma substância que trate essa doença vai vender para o mundo todo. Atualmente, essa estratégia é interessante para a indústria farmacêutica em alguns aspectos.

Nailton: Qual você espera que seja a repercussão desse artigo na área de química medicinal?

Jean Leandro dos Santos: Eu gostaria que a partir deste trabalho aumentasse a preocupação em fomentar a pesquisa para o tratamento da anemia falciforme. Esta doença acomete cada vez mais brasileiros, principalmente por conta da miscigenação racial.

Nailton: Como você imagina que esse artigo contribuirá para sua carreira de pesquisador?

Jean Leandro dos Santos: Acho que ele poderá abrir portas para novos contatos com pesquisadores interessados, dentro e fora do Brasil, em trabalhar na área, que tenham interesse em pesquisas sobre o assunto anemia falciforme, inclusive com novos ensaios.

Nailton: Gostaria que você comentasse sobre as dificuldades e desafios enfrentados por jovens pesquisadores na área de química medicinal:

Jean Leandro dos Santos: Um dos maiores desafios para um jovem pesquisador na área da química medicinal é lidar com o anseio de querer ver concluído seu trabalho, não só na síntese, mas na pesquisa pré-clínica, clínica, etc. O trabalho do químico medicinal é muito árduo. Esse projeto especificamente vem sendo desenvolvido há aproximadamente 7 anos. Esse fato associado à exigência por um número de publicações adequado talvez seja um dos maiores desafios para quem está iniciando a carreira científica. Temos que ter em mente que os trabalhos da química medicinal levam mais tempo no processo de desenvolvimento, quando comparados com outros trabalhos. Acho que essa é a grande dificuldade para as pesquisas que a gente desenvolve na área.

Nailton: De um modo geral, quais são as perspectivas deste trabalho?

Jean Leandro dos Santos: Ultimamente temos feito derivatizações no sentido de tentar otimizar a atividade que foi observada para os compostos-protótipos. Além disso, não sabemos qual é a exata relação da doação de óxido nítrico com a atividade e o aumento da expressão gênica das hemoglobinas, por isso queremos traçar essa relação. Qual é o nível de doação de NO mais adequado para conseguir o efeito desejado? Dentre as próximas etapas, observaremos através de um estudo farmacocinético o comportamento dessas substâncias com relação às características de absorção, distribuição, metabolismo e excreção e tentaremos modificar as nossas moléculas para que elas tenham um perfil farmacodinâmico e farmacocinético adequados, para se tornem no futuro, possíveis fármacos.

Nailton: Como você avalia os recentes avanços em pesquisas para o tratamento de doenças negligenciadas? O cenário está melhorando?

Chung Man Chin: Quando se trata de doenças negligenciadas, as políticas públicas voltadas para P&D de medicamentos de interesse nacional dos países em desenvolvimento são ainda insuficientes e um dos grandes fatores é a falta de mercado, provocada pelo baixo interesse econômico que esses pacientes representam para a indústria farmacêutica. Porém, o cenário de investimento está mudando de forma muito lenta, pois algumas companhias farmacêuticas multinacionais vêm demonstrando interesse em auxiliar pesquisadores brasileiros com disponibilização de laboratórios para ensaios de compostos com atividade potencial, principalmente de origem natural (Na prática, observa-se que não é tão simples assim conseguir este espaço). As organizações sem fins lucrativos têm merecido crédito nesses últimos anos com investimentos na área de doenças negligenciadas, como a OMS, Fundação Bill & Melinda Gates e Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas (DNDi, da sigla em inglês). Porém, as respostas ou resultados efetivos em relação a fármacos inovadores efetivos no mercado para estas doenças ainda são muito escassos, pois a pesquisa é lenta. Em relação à anemia falciforme, com grande surpresa, uma indústria nacional posicionou-se positivamente na proposta para o avanço das pesquisas e essa atitude já demonstra uma mudança de cenário.

Nailton: Além da anemia falciforme, quais outras doenças negligenciadas carecem de mais grupos de pesquisa engajados para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos?

Chung Man Chin: Dengue, esquistossomose, leishmaniose e hanseníase.

Nailton: Quais são as subáreas que necessitam de maiores avanços/investimentos para consolidar a química medicinal brasileira?

Chung Man Chin: É muito difícil responder a esta questão, pois vejo a química medicinal brasileira em expansão e ela é muito ampla. Vou desviar a resposta para a área do desenvolvimento de fármacos, que está com um buraco: o escalonamento de síntese e os estudos toxicológicos dos potenciais candidatos a fármaco. Sem estas áreas, não há continuidade do que planejamos. Outro problema que enfrentamos, mais do que os financiamentos dos projetos, é a falta dos recursos humanos que consolidam os grupos. A formação de doutores e pós-doutores que permaneçam no grupo de pesquisa é essencial (o que não acontece). A criação de centros de pesquisa em desenvolvimento de fármacos seria uma das soluções.

Nailton: Quais são os maiores desafios para os pesquisadores na área de química medicinal no Brasil hoje?

Chung Man Chin: O maior desafio é conseguir que um composto se torne um fármaco na terapêutica. Para isso, não basta apenas planejar a molécula, mas saber se este composto é viável sinteticamente, seguro e mais do que isso, conseguir um parceiro comercial. Vale lembrar que o pesquisador tem a experiência no laboratório e não tem habilidade nem disponibilidade para realizar esta tarefa. Ter alguém que busque os parceiros e permita esta ligação da universidade (pesquisador) e indústria farmacêutica é também essencial para o sucesso.

Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel Hybrid Compounds to Treat Sickle Cell Disease Symptoms

Abstract: This overview relates the design, synthesis and pharmacological evaluation of six compounds designed by molecular hybridization that showed relevant effects for the treatment of sickle cell disease symptoms, as could be evidenced by *in vivo* and *in vitro* assays. These results were published by Santos, J. L.; Lanaro, C.; Lima, L. M.; Gambero, S.; Franco-Penteado, C. F.; Alexandre-Moreira, M. S.; Wade, M.; Yerigenahally, S.; Kutlar, A.; Meiler, S. E.; Costa, F. F.; Chung, M. C. in the Journal of Medicinal Chemistry. After a brief biography we show an interview with Jean Leandro dos Santos and Chung Man Chin.

Keywords: Sickle cell disease; thalidomide derivatives; molecular hybridization.

Resumo: Esta resenha descreve o planejamento, a síntese e a avaliação farmacológica de seis compostos, planejados por hibridação molecular, que apresentaram efeitos relevantes no tratamento dos sintomas da anemia falciforme, como pode ser evidenciado por ensaios biológicos *in vitro* e *in vivo*. Estes resultados foram publicados por Santos, J. L.; Lanaro, C.; Lima, L. M.; Gambero, S.; Franco-Penteado, C. F.; Alexandre-Moreira, M. S.; Wade, M.; Yerigenahally, S.; Kutlar, A.; Meiler, S. E.; Costa, F. F.; Chung, M. C. no Journal of Medicinal Chemistry. A seguir a resenha é apresentada uma breve biografia de Jean Leandro dos Santos, Chung Man Chin e uma entrevista com eles sobre o artigo.

palavras-chave: Anemia falciforme; derivados da talidomida; hibridação molecular.



nailtonjr@gmail.com

Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio®), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Nailton M. Nascimento-Jr graduou-se em Química Industrial pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ, 2007) e realizou o Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IQ-UFRJ, 2009). Desde 2009, desenvolve trabalho de tese em Química Medicinal no Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio) no planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos a fármacos para o tratamento da asma sob orientação do prof. Dr. Carlos Alberto Manssour Fraga. Tem experiência em modelagem molecular, síntese de derivados heterocíclicos, *N*-acilidrazônicos e síntese orgânica com o auxílio de micro-ondas. Atualmente é bolsista FAPERJ nota 10.

Thaís R. Ferreira de Melo cursou Farmácia-Bioquímica na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP-Araraquara, 2011) e realizou estágio de iniciação científica no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos (Lapdesf) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (UNESP-Araraquara) no tema "Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de compostos híbridos potencialmente úteis como preventivos de ateroscleroses" sob orientação do prof. Dr. Jean Leandro dos Santos.



trfmelo@gmail.com

Resumo da biografia dos autores de *Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Novel Hybrid Compounds To Treat Sickle Cell Disease Symptoms*



Jean Leandro dos Santos é Graduado em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (2004). Possui Mestrado (2007) e Doutorado (2009) em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual Paulista (UNESP). Atualmente é Professor Assistente Doutor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, ministrando as disciplinas de Atenção Farmacêutica, Introdução ao Planejamento de Fármacos e Desenvolvimento de Fármacos. Tem experiência na área de Farmácia, com ênfase em Desenvolvimento de Fármacos, Assistência e Atenção Farmacêutica. Atua também no desenvolvimento de novos candidatos a fármacos principalmente para doenças negligenciadas. [Link para CV Lattes](#)



Chung Man CHin é graduada em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", mestrado em Ciências Biológicas (Farmacologia) pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP) e doutorado em Fármacos e Medicamentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP-SP. Atualmente é "Professor Assistente Doutor" da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP-Araraquara. É coordenadora do Lapdesf - Laboratório de Desenvolvimento de Fármacos da FCF/UNESP. Participa do projeto Rede Nanobiotec 2008. Possui projetos de pesquisa de cooperação Indústria Farmacêutica/Universidade desde 2003, no planejamento de novos fármacos, patentes depositadas e concedidas nacional e internacionalmente. É orientadora (mestrado e doutorado) no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da FCF-Unesp e vice-presidente da Associação Farmacêutica de Araraquara (AFAR). [Link para CV Lattes](#)