

## Espectralina, Cassina e Análogos Semissintéticos como Potenciais Candidatos a Fármacos para o Tratamento da Doença de Alzheimer

Silva, D. H. S.;\* Viegas Jr., C.; Santos, L. A.; Castro-Gamboa, I.; Cavalheiro, A. J.; Bolzani, V. da S.; Pivatto, M.; Young, M. C. M.; Castro, N. G.; Rocha, M. S.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.

Rev. Virtual Quim., 2010, 2 (1), 38-46. Data de publicação na Web: 30 de agosto de 2010

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

### Spectaline, Cassine and Semi-Synthetic Analogues as Potential Candidate Drugs for the Treatment of Alzheimer Disease

**Abstract:** This paper describes the main steps in the study of *Senna spectabilis*, as part of our bioprospection studies, with the isolation of spectaline, cassine and other piperidine alkaloids, as well as the preparation of semi-synthetic analogues, and the studies of their pharmacological and toxicological properties, which led to the establishment of two candidate drugs for the treatment of Alzheimer disease.

**Keywords:** spectaline; cassine; *Senna spectabilis*; acetylcholinesterase inhibitor; bioprospection.

### Resumo

Este artigo descreve o estudo fitoquímico de *Senna spectabilis* que conduziu ao isolamento de espectralina, cassina e outros alcaloides piperidínicos, a obtenção de análogos semi-sintéticos da espectralina e cassina, e a avaliação de suas propriedades farmacológicas e toxicológicas que resultaram no estabelecimento de dois candidatos a fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer (DA).

**palavras-chave:** espectralina; cassina; *Senna spectabilis*; inibidor de acetilcolinesterase; bioprospecção.

\* NuBBE, Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, Instituto de Química, UNESP, Rua Prof. Francisco Degni s/n, 14800-900, Araraquara, SP, Brasil.

✉ [dhsilva@iq.unesp.br](mailto:dhsilva@iq.unesp.br)

DOI: [10.5935/1984-6835.20100005](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20100005)

## Espectralina, Cassina e Análogos Semissintéticos como Potenciais Candidatos a Fármacos para o Tratamento da Doença de Alzheimer

Dulce H. S. Silva,<sup>a\*</sup> Claudio Viegas Jr,<sup>b</sup> Luciana de A. Santos,<sup>a</sup> Ian Castro-Gamboa,<sup>a</sup> Alberto J. Cavalheiro,<sup>a</sup> Vanderlan da S. Bolzani,<sup>a</sup> Newton G. de Castro,<sup>c</sup> Marcos Pivatto,<sup>a</sup> Maria Claudia M. Young,<sup>d</sup> Monica S. Rocha,<sup>e</sup> Carlos A. M. Fraga,<sup>f</sup> Eliezer J. Barreiro<sup>f</sup>

<sup>a</sup>NuBBE, Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 14800-900, Araraquara, SP, Brasil.

<sup>b</sup>Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal (LFQM), Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), 37130-000, Alfenas, MG, Brasil.

<sup>c</sup>Laboratório de Farmacologia Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21944-910, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>d</sup>Instituto de Botânica de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Caixa-Postal 4005, 04301-012, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>e</sup>Laboratório de Farmacologia da Neuroplasticidade e do Comportamento, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21944-910, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>f</sup>Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CP 68023, 21944-971, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

\*[dhsilva@iq.unesp.br](mailto:dhsilva@iq.unesp.br)

*Recebido em 24 de Junho de 2009. Aceito para publicação em 30 de março de 2010*

1. Bioprospecção e a descoberta de substâncias bioativas
2. Alcaloides piperidínicos bioativos de *Senna spectabilis*
3. Perspectivas de desenvolvimento de produto farmacêutico
4. Considerações finais

### 1. Bioprospecção e a descoberta de substâncias bioativas

O Brasil é, certamente, o país com maior diversidade biológica do mundo, abrigando cerca de 15% de todas as espécies, mas isto dificilmente pode ser quantificado com precisão devido às dimensões continentais, e à gama de ecossistemas complexos que abriga, incluindo alguns dos biomas mais referenciados no mundo, em que se destacam a Floresta Amazônica, o Cerrado e a Mata Atlântica. Parte considerável destes biomas foi

irreversivelmente devastada para dar lugar à urbanização desorganizada, agricultura e pastagens praticadas de maneira extensiva cedendo às pressões econômicas vigentes ao longo dos últimos três séculos e acentuada, de maneira alarmante, nas últimas décadas.<sup>1,2</sup>

Mais recentemente, a forte demanda por fontes alternativas de energia e a situação momentaneamente privilegiada do Brasil no desenvolvimento da produção de álcool combustível vêm fortalecendo ações que não privilegiam a

preservação destes biomas. Assim, dos principais biomas do Estado de São Paulo, com destaque para o Cerrado e a Mata Atlântica, restam menos de 7% da cobertura original, o que, do ponto de vista da exploração sustentável da biodiversidade, fica muito distante de se constituir em modelo a ser seguido.<sup>3,4</sup>

Em contraposição, é cada vez mais perceptível no Brasil a organização de grupos de pesquisa em Produtos Naturais, de forma a constituírem redes integradas capacitadas para contribuir com atividades de uso sustentável de nossa biodiversidade, em especial, a bioprospecção. Dentre várias iniciativas desta natureza iniciadas no Brasil, merece destaque neste artigo, o Programa Biota-FAPESP. Criado há 10 anos, foi considerado um dos mais bem sucedidos programas brasileiros dedicados ao estudo da biodiversidade, concebido originalmente para catalogar todas as espécies remanescentes dos biomas Cerrado e Mata Atlântica do Estado de São Paulo. O programa se diversificou em 2003, criando uma linha dedicada à pesquisa de bioprospecção, contando atualmente com vários projetos que visam à busca racional de bioprodutos, com destaque para substâncias biologicamente ativas de importância para a indústria farmacêutica. Dentro desta abordagem, podemos visualizar etapas-chave, como a coleta das espécies a serem investigadas, preparo de extratos e avaliação de bioatividade, que caracterizam a pesquisa multidisciplinar. Este esforço conjunto demanda botânicos, químicos e farmacólogos, dentre outros que, de maneira coordenada, contribuem para agregar valor aos processos e produtos oriundos da biodiversidade.

A história do Brasil esteve sempre fortemente ligada à exploração de substâncias naturais, desde as disputas pela extração de pau-brasil (*Cesalpinia echinata*, Fabaceae), produto de alto valor agregado em função do seu corante vermelho brasileiro, um catecol, e seu derivado brasileiro, uma dienona fenólica. Outras espécies brasileiras de Fabaceae importantes do ponto de vista econômico e/ou terapêutico incluem a *Indigofera suffruticosa* e *Indigofera arrecta*, produtoras do corante índigo (anil), *Copaifera langsdorffii* (copaíba), cuja resina é extensivamente usada no Brasil para cicatrização e inflamação, e *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) por suas propriedades adstringentes e antifúngicas.<sup>5-8</sup>

Na última década, diversos grupos de pesquisa em Produtos Naturais no Brasil vêm se esforçando para desenvolver pesquisas fundamentadas nestes conceitos, de forma a agregar valor a nossa biodiversidade, visando novos agentes terapêuticos oriundos de plantas ou outras fontes naturais.<sup>9</sup> A

persistência de programas de bioprospecção em nível mundial pode também ser constatada com vários exemplos de sucesso como o taxol®. Apesar do custo-benefício ser aparentemente baixo, novas estratégias para a condução de pesquisas nesta área vêm sendo otimizadas, resultando na descoberta de protótipos úteis para o desenvolvimento de agentes terapêuticos de sucesso.<sup>10-13</sup>

Com este enfoque, foi selecionada a espécie *Senna spectabilis* (Fabaceae, Figura 1), em função de estudos preliminares terem evidenciado potencial atividade citotóxica seletiva dos alcaloides piperidínicos espectralina, espectralinina e carnavalina, constituintes do extrato etanólico das folhas, frutos e ramos desta espécie, constatada pelo bioensaio específico com linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*, indicativo de substâncias com potencial para atuar no reparo do DNA.<sup>14</sup>

Vale destacar a importância do espírito investigativo aguçado nas etapas iniciais do trabalho, em que, apesar da atividade observada, as características espectrais em Ressonância Magnética Nuclear (RMN) não foram suficientemente atrativas para decidir pelo prosseguimento do estudo, já que os intensos sinais para hidrogênios metilênicos ( $\delta \sim 1.2$ ) sugeriam a presença de ácidos graxos, cujo interesse para busca de protótipos de fármacos praticamente inexistente. A insistência numa abordagem conjunta, com a consideração de outros dados espectrais, inicialmente de difícil atribuição, comparação com dados da literatura, bem como dos dados de atividade biológica, levaram à elucidação estrutural da (-)-espectralina (**7**) (Figura 2), um alcaloide piperidínico com extensa cadeia metilênica, além de outros alcaloides 2,6-dialquil-piperidin-3-óis isolados desta espécie, a carnavalina (**2**), 6-iso-carnavalina (**3**), (-)-espectralinina (**4**), leptofilina-A (**8**), 3-acetil-leptofilina-A (**9**) e leptofilina-B (**10**).<sup>14</sup> Dentre estas, as substâncias **2**, **4** e **7** mostraram inibição do desenvolvimento de linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*, deficientes no reparo de DNA, demonstrando atividade citotóxica seletiva, e poderiam ser modelos para a descoberta de anticancerígenos potenciais.<sup>14</sup>

O gênero *Senna*, pertencente à família Fabaceae, teve sua taxonomia recentemente revisada. Várias espécies de *Cassia*, que eram tidas como sinônimas de *Senna*, foram reclassificadas passando para o gênero *Senna*, considerado morfologicamente distinto de *Cassia*.<sup>16</sup> *Cassia* e *Senna* constituem dois dos maiores gêneros de Fabaceae, com muitas espécies utilizadas na medicina popular. São espécies com perfil químico bastante diversificado, apresentam flavonoides, antraquinonas,

estilbenoides, dentre outros, como constituintes químicos de maior ocorrência, associados às atividades antibacteriana, citotóxica, antifúngica, antioxidante e hepatoprotetora relatadas.<sup>17-21</sup> O

gênero *Senna* se diferencia quimicamente pela ocorrência de alcaloides piperidínicos tipo alcaloides 2,6-dialquil-piperidin-3-óis, raros na natureza.<sup>17</sup>



Figura 1. *Senna spectabilis*: detalhes da planta, flores e folhas (fotos dos autores)

## 2. Alcaloides piperidínicos bioativos de *Senna spectabilis*

As espécies de *Senna* ocorrentes no Brasil, como *Senna spectabilis*, *S. carnaval* e *S. excelsa*, apresentam alcaloides piperidínicos como constituintes majoritários, os quais se têm mostrado atrativos para a pesquisa de bioprospecção, em função das atividades biológicas apresentadas, especialmente sobre o sistema nervoso central. As propriedades farmacológicas e tóxicas dos extratos e substâncias puras destas espécies de *Senna* foram avaliadas em ensaios *in vitro* e *in vivo*. Nestas espécies, as substâncias de maior interesse são os alcaloides 2,6-dialquil-piperidin-3-óis, dos quais a (-)-cassina (**1**), isolada originalmente de *Cassia excelsa*, teve sua estrutura e estereoquímica discutidas em diferentes publicações.<sup>22-24</sup>

Investigações adicionais mostraram a cocorrência de (-)-cassina (**1**) e (-)-espectalina (**7**) nos extratos de *S. spectabilis*, além de outros componentes de uma série homóloga, através de técnicas de espectrometria de massas com ionização por *electrospray* sequencial (ESI-MS e ESI-MS/MS), contribuindo para o estabelecimento do perfil metabolômico desta espécie com destacada importância farmacológica. Foi ainda demonstrada a atividade potencialmente antitumoral dos alcaloides (-)-3-*O*-acetil-espectalina (**11**), (-)-7-hidróxi-espectalina, *iso*-6-espectalina (**3**), (-)-espectalina (**7**), obtidos das flores e de frutos verdes de *Senna spectabilis*, por meio do bioensaio usando linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* com deficiência para atuar no reparo do DNA.<sup>25,26</sup>

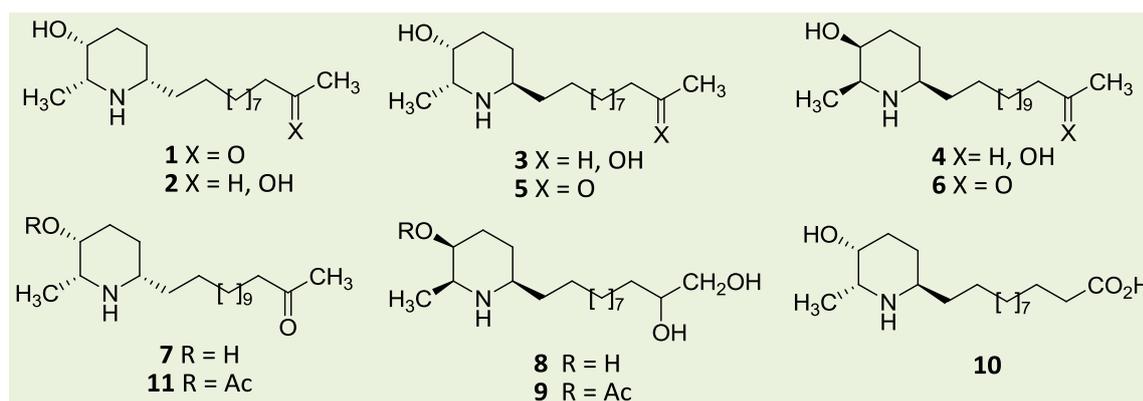


Figura 2. Estruturas de alcaloides piperidínicos isolados de *S. spectabilis*

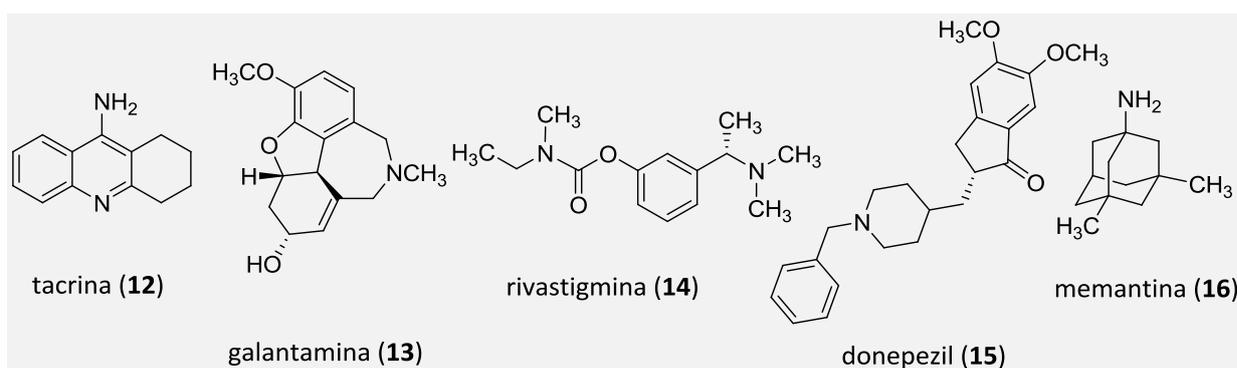
*Senna spectabilis* é a espécie nativa do Brasil que biossintetiza a maior diversidade de alcaloides piperidínicos bioativos, sendo que algumas dessas substâncias apresentaram efeitos farmacológicos de interesse. A importância biológica de alguns tipos de alcaloides piperidínicos hidroxilados pode estar associada à sua semelhança estrutural com carboidratos, sendo, por isso, denominados aza-açúcares. Sua ação, por vezes capaz de mimetizar monossacarídeos, ocorre em função de sua similaridade estrutural, em que o oxigênio é substituído por nitrogênio; e sua ocorrência é ampla em microrganismos e plantas. Em virtude de suas características estruturais, incluindo aspectos estereoquímicos, e ainda por sua semelhança com a esfingosina, lipídio de membrana, os piperidínicos vêm recebendo atenção especial no planejamento de novos candidatos a fármacos seletivos, sendo classificados como substâncias híbridas carboidrato-lipídicas.<sup>27-29</sup>

Estudos independentes com espécies de *Senna spectabilis* oriundas do Brasil, África e Tailândia levaram ao isolamento de novos alcaloides piperidínicos bioativos, o que reforçou o interesse nesta classe de substâncias.<sup>24,25,30-33</sup> A (-)-espectralina, 3-*O*-feruloil-cassina e 3-*O*-acetil-espectralina foram avaliadas em modelos farmacológicos *in vitro*, que evidenciaram ação inibitória moderada sobre as enzimas inflamatórias ciclo-oxigenases 1 e 2, bem como em modelos *in vivo*, que confirmaram sua potente atividade antinociceptiva periférica. A espectralina apresentou potência comparável à dipirona em modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético, apesar de não exibir ação central, evidenciada pelos ensaios “hot plate” e “tail flick”. No modelo de dor neurogênica induzida por capsaicina, a espectralina mostrou importante efeito inibitório, também comparável ao obtido pelo controle dipirona. Esse conjunto de resultados permitiu classificar a espectralina como substância analgésica, sugerindo um modo de ação envolvendo

sistemas de receptores vaniloides, bem como a necessidade de estudos adicionais para confirmar seu mecanismo de ação e otimizar o perfil de atividade observado.<sup>30,31</sup>

Foram então preparados alguns derivados semissintéticos da espectralina, para estudos de relação estrutura-atividade analgésica e anti-inflamatória. Os estudos de analgesia em modelos de contorção abdominal mostraram maior atividade da espectralina em comparação aos derivados sintetizados, e no teste de hiperalgesia induzida por formalina, o derivado LASSBio-755 (3-*O*-acetil-espectralina, **11**) também se mostrou bastante ativo, enquanto no teste de inflamação induzida por carragenina, apenas a espectralina exibiu atividade significativa, com ED<sub>50</sub> de 56 μmol/kg.<sup>33</sup>

A demanda por novos agentes terapêuticos para a doença de Alzheimer (DA), aliada ao padrão estrutural singular, sugeriu a investigação da espectralina como potencial inibidor da acetilcolinesterase (AChE), enzima importante na fisiopatologia da DA, cuja atividade nas fendas sinápticas está associada à hidrólise da acetilcolina e consequente diminuição de sua concentração naquele local. Inibidores de AChE provocam, portanto, a persistência de maior concentração de acetilcolina garantindo extensão de seus efeitos e diminuindo os sintomas da DA.<sup>33,35</sup> Os fármacos em uso para diminuir os sintomas ou retardar o progresso da DA como a tacrina (**12**), galantamina (**13**), rivastigmina (**14**), donepezil (**15**) ou memantina (**16**) (Figura 3) apresentam eficácia modesta e provocam diversos efeitos indesejáveis, o que torna urgente a busca por novas alternativas de tratamento. A análise detalhada da estrutura da espectralina permitiu a identificação de uma subunidade correspondente à acetilcolina internalizada no anel piperidínico, o que poderia representar um ponto de reconhecimento molecular da AChE e uma possível atividade inibitória da enzima por derivados da (-)espectralina (**7**) e (-)-3-*O*-acetil-espectralina (**11**) (Figura 4).



**Figura 3.** Fármacos para tratamento da doença de Alzheimer



Figura 4. Similaridade estrutural da acetilcolina e 3-O-acetil-espectalina

Cinco alcaloides piperidínicos (**17-21**) foram então planejados utilizando-se **7** e **11**, obtidos das flores de *S. spectabilis*, como substratos de partida (Figura 5). Os análogos semissintéticos LASSBio-767 (**17**) e LASSBio-822 (**21**) inibiram a AChE de cérebro de ratos com  $IC_{50}$  7,3 e 15,1  $\mu$ M, respectivamente. Além disso, demonstraram também ação sobre a butirilcolinesterase com potência 21 e 9,5 vezes

menor, evidenciando a seletividade pela AChE. Adicionalmente, a substância **21** (1 mg/kg), aplicada por via intraperitoneal, foi completamente eficaz em reverter a amnésia induzida por escopolamina em camundongos (Figura 6), e, tanto LASSBio-767 (**17**) como LASSBio-822 (**21**) não apresentaram efeitos indesejáveis nas doses testadas *in vivo*.<sup>35</sup>

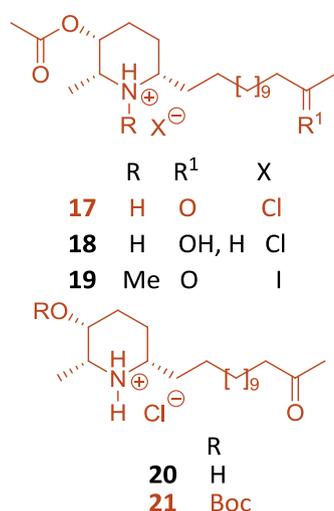


Figura 5. Alcaloides piperidínicos semissintéticos

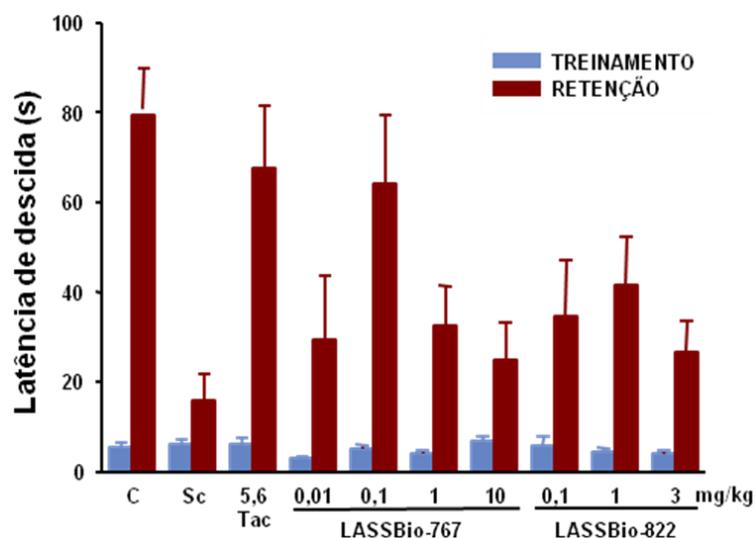


Figura 6. Efeito de tacrina (Tac) e de diferentes concentrações de LASSBio-767 (**17**) e LASSBio-822 (**21**) na reversão da amnésia induzida por escopolamina (1mg.Kg<sup>-1</sup>) no teste de esquila inibitória em comparação ao grupo controle (C) e tratado com escopolamina (Sc). Tempo em segundos de latência de escape da plataforma seguida de estímulo aversivo, na sessão de Treinamento (azul), e após 24h, na sessão de teste de Retenção do treinamento (marrom); ( $p < 0,05$ ; teste de Mann-Whitney).

Estudos complementares com os derivados LASSBio-767 (**17**) e LASSBio-822 (**21**) evidenciaram seus mecanismos de inibição de AChE e sua eficácia na reversão da amnésia induzida por escopolamina. Ensaio de competição com o substrato acetilcolina mostraram inibição da colinesterase dependente da concentração, com melhor adequação dos dados cinéticos das substâncias **17** e **21** com o modelo de inibição não competitiva linear simples. Além disso, ambas as substâncias foram capazes de reverter a amnésia induzida por escopolamina em labirinto aquático, e não mostraram efeitos colaterais colinérgicos significativos, em doses superiores às necessárias para a ação terapêutica. Esses resultados

reforçam o potencial dos derivados da espectalina, com perfil farmacológico único, por associarem a ação inibidora de AChE não competitiva e seletividade no SNC, com efeitos colaterais periféricos insignificantes.<sup>36</sup>

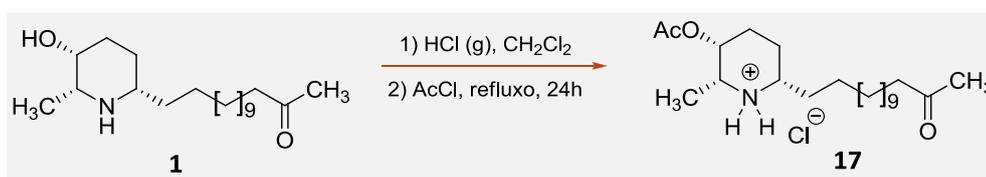
### 3. Perspectivas de desenvolvimento de um novo produto farmacêutico

O planejamento de substâncias semissintéticas a partir da espectalina e da cassina levou aos derivados LASSBio-767 (**17**) e LASSBio-822 (**21**), potentes

inibidores de AChE, com alta seletividade e baixa toxicidade.<sup>35,36</sup>

Os resultados promissores evidenciados para ação sobre o SNC atraíram a atenção do setor privado possibilitando o desenvolvimento de etapas subsequentes de pesquisa em parceria com a Apsen Farmacêutica. Nessa etapa, foram planejados experimentos para a obtenção da espectralina em maior escala a partir das flores de *Senna spectabilis*, além da obtenção dos homólogos espectralina e cassina para avaliação da contribuição farmacofórica do tamanho da cadeia lateral em C-2. Em seguida, a produção dos derivados LASSBio-767 (**17**) e LASSBio-822 (**21**), também em maior escala, usando a

espectralina e a cassina como substratos, foi realizada atendendo à demanda dos novos protótipos para os ensaios farmacológicos e toxicológicos. Etapas de escalonamento foram antecedidas por experimentos de otimização das condições reacionais de semissíntese com vistas a melhores rendimentos, imprescindíveis frente à demanda potencial das etapas de avaliação *in vivo* subsequentes (Esquema 1). Variações de solvente, tempo e temperatura de reação foram realizadas para a produção do cloridrato do acetato de espectralina (**17**, LASSBio-767) em maior grau de pureza e rendimento.



**Esquema 1.** Preparação do cloridrato de (-)-3-O-acetil-espectralina (LASSBio-767, **17**)

O desenvolvimento em paralelo das atividades relativas ao preparo dos derivados de espectralina e dos experimentos de farmacologia/toxicologia permitiu o avanço das pesquisas de maneira integrada, convergindo para a confirmação dos protótipos em estudo como potenciais candidatos a fármacos para o tratamento da DA. A realização desta primeira fase de estudo pré-clínico com os derivados semissintéticos só foi possível devido à pesquisa colaborativa envolvendo os laboratórios NuBBE-UNESP/LASSBIO-UFRJ/Laboratório de Farmacologia Molecular-UFRJ/Apsen, numa parceria Apsen/FINEP, em resposta ao edital FINEP “bioprodutos”, cujo financiamento foi importante para a primeira etapa de desenvolvimento dos protótipos. Os dados bastante promissores apontam para a continuidade desta pesquisa, cujo prosseguimento para uma fase clínica dependerá exclusivamente de financiamento da empresa Apsen, que no momento detém contrato de participação nas patentes depositadas em vários países.<sup>37,38</sup>

Os eventos recentes de instabilidade econômica em nível mundial provocaram reflexos também no Brasil, principalmente no setor farmacêutico nacional, resultando numa possível interrupção do desenvolvimento deste projeto. Dado este, atualmente em análise, por parte da Apsen e setores jurídicos das Universidades envolvidas na pesquisa, que procuram formas alternativas para viabilização da conclusão da pesquisa de fase pré-clínica. Os dados toxicológicos aliados às análises farmacocinéticas dos

derivados em estudo são forte apoio à continuidade da pesquisa, cuja alternativa é a passagem para uma empresa de base tecnológica tipo *spin off*. A demanda por novas alternativas para o prosseguimento das atividades fica evidente, num cenário em que predominam incertezas.

Nesta etapa do desenvolvimento é importante que exista uma política mais agressiva e perene, com investimentos governamentais, de forma que empresas nacionais sejam suficientemente estimuladas ao desafio da produção de um fármaco nacional.

A adequada aplicação de competências científicas de diversos grupos de pesquisa aliada ao uso da biodiversidade como fonte inspiradora, fornecendo substratos que, após exaustivas etapas de planejamento e desenvolvimento experimental, revelaram-se potenciais agentes terapêuticos, configura-se numa situação muito atrativa, propícia para o envolvimento do setor empresarial, cuja contribuição é fundamental para a viabilização e concretização deste projeto.

#### 4. Considerações Finais

Avançar na caracterização do protótipo do LASSBio-767 (**12**), como candidato a fármaco para a doença de Alzheimer especificamente, buscando efeitos independentes da inibição da atividade

catalítica da AChE e parâmetros funcionais de ADMET, é o principal objetivo das pesquisas de continuidade com este derivado semissintético, em parceria com o setor farmacêutico. É também uma meta posterior desta pesquisa, cujo sucesso já não depende apenas dos esforços da academia, já que a fase de desenvolvimento de um novo fármaco compete ao setor industrial, que na atual conjuntura se ressentida da crise econômica internacional. Aliado a esta realidade momentânea existe, por parte do setor industrial nacional, um grande conservadorismo no que diz respeito ao investimento na pesquisa por novos medicamentos, considerado de altíssimo risco.

Para LASSBio-767 chegar à fase clínica, ainda são necessários altos investimentos que contemplem as etapas experimentais para estabelecimento dos parâmetros farmacocinéticos (de absorção, distribuição, metabolismo e eliminação – ADME) e a duração do efeito do LASSBio-767 *in vivo*. Estes dados, obtidos em animais, são imprescindíveis como parte da avaliação do candidato a fármaco. Ainda que os parâmetros de ADME devam ser obtidos pelos métodos clássicos de análise química da substância em fluídos e tecidos biológicos, é importante ainda obter informações que integram os dados de ADME com farmacodinâmica, medindo o grau de inibição das colinesterases *ex vivo*, após administração sistêmica do LASSBio-767. Outro aspecto que precisa ser investigado é a interação do LASSBio-767 com as células e seu metabolismo, compondo o conjunto de dados fundamentais para permitir o avanço das pesquisas e confirmação de seu potencial terapêutico. Considerando o perfil favorável apresentado pelo LASSBio-767, de baixa toxicidade colinérgica *in vivo* e capacidade de transpor a barreira hematoencefálica, bem como as possibilidades de interações com alvos que podem acrescentar efeitos independentes da inibição da AChE, este protótipo tem um grande potencial para passar pelo complexo funil da inovação farmacêutica – tornar-se um fármaco útil para o tratamento de distúrbios cognitivos como a DA.

#### Referências Bibliográficas

- 1 Silva, D. H. S.; Castro-Gamboa, I.; Bolzani, V. da S. em *Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology*; Mander, L., Lui, H.-W., Eds.; Elsevier: Oxford, 2010; volume 3, PP.95-133.
- 2 Oliveira, M., A força da colaboração-Conferência internacional para tecnologias e políticas públicas para a produção de etanol. Disponível em: <<http://www.revistapesquisa.fapesp.br/?art=3705&bd=1&pg=1&lg>>. Acesso em: 13 junho 2009.
- 3 Joly, C. A.; Casatti, L.; de Brito, M. C. W.; Menezes, N. A.; Rodrigues, R. R.; Bolzani, V. da S. em *Diretrizes para a conservação e Restauração da Biodiversidade no Estado de São Paulo*; Rodrigues, R. R., Bononi, V. L., eds; Imprensa oficial do Estado de São Paulo: São Paulo, 2008, cap. 4.
- 4 Marques, F., A idade da razão-Frutos do Biota-FAPESP são repartidos entre universidades e ganham perenidade. Disponível em: <<http://www.revistapesquisa.fapesp.br/?art=3335&bd=1&pg=1&lg>>. Acesso em: 10 junho 2009.
- 5 Pinto, A. C. *O pau-brasil e um pouco da história brasileira*. Disponível em: <[http://www.s bq.org.br/filiais/Subsbqregional\\_previe w.php?id=158&action=subconteudo\\_ilustrado](http://www.s bq.org.br/filiais/Subsbqregional_previe w.php?id=158&action=subconteudo_ilustrado)>. Acesso em: 12 junho 2009.
- 6 Barros, G. M. C. C.; Teixeira, S. P. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2008**, *18*, 287. [CrossRef]
- 7 Veiga Jr, V. F.; Pinto, A. C. *Quím. Nova*, **2002**, *25*, 273. [CrossRef]
- 8 Fenner, R.; Betti, A. H.; Mentz, L. A.; Rates, S. M. K. *Rev. Bras. Ciên. Farm.* **2006**, *42*, 369. [CrossRef]
- 9 Pinto, A. C.; Silva, D. H. S.; Bolzani, V. S.; Lopes, N. P.; Epifânio, R. A. *Quím. Nova*, **2002**, *25*, 45. [CrossRef]
- 10 Cragg, G. M.; Newmann, D. J.; Snader, K. M. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 52. [CrossRef]
- 11 Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1022. [CrossRef]
- 12 Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461. [CrossRef]
- 13 Newman, D. J. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2589. [CrossRef]
- 14 Bolzani V. S.; Gunatilaka A. A. L.; Kingston D. G. I. *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 5929. [CrossRef]
- 15 Lorenzi, H.; *Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*, 4a ed., Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.
- 16 Rodrigues, R. S.; Flores, A. S.; Miotto, T. S.; Baptista, L. R. M. *Acta Bot. Bras.* **2005**, *19*, 1. [CrossRef]
- 17 Viegas Jr, C.; Rezende, A.; Silva, D. H. S.; Castro-Gamboa, I.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J.; Miranda, A. L. P.; Alexandre-Moreira, M. S.; Young, M. C. M. *Quím. Nova*, **2006**, *29*, 1279. [CrossRef]
- 18 Chantong, B.; Wongtongtair, S.; Nusuetrong, P.; Sotanaphun, U.; Chaichantipyuth, C.; Meksuriyen, D., *Planta Med.*, **2009**, *75*, 346. [CrossRef]

- <sup>19</sup> Guzman, E.; Perez, C.; Zavala, M. A.; Acosta-Viana, K. Y.; Perez, S. *Phytomedicine*, **2008**, *15*, 892. [[CrossRef](#)]
- <sup>20</sup> Graham, J. G.; Zhang, H. J.; Pendland, S. L.; Santarsiero, B. D.; Mesecar, A. D.; Cabieses, F.; Farnsworth, N. R. *J. Nat. Prod.*, **2004**, *67*, 225. [[CrossRef](#)]
- <sup>21</sup> Mena-Rejon, G. J.; Perez-Rivas, K.; Sansorez-Peraza, P.; Rios, T.; Quijano, L. Z. *Naturforsch. C.*, **2002**, *57*, 777. [[CrossRef](#)]
- <sup>22</sup> Christofidis, I.; Welter, A.; Jadot, J. *Tetrahedron*, **1977**, *33*, 977. [[CrossRef](#)]
- <sup>23</sup> Hight, R. J. *J. Org. Chem.*, **1964**, *29*, 471. [[CrossRef](#)]
- <sup>24</sup> Sriphong, L.; Sotanaphun, U.; Limsirichaikul, S.; Wetwitayaklung, P.; Chaichantipyuth, C.; Pummangura, S. *Planta Med.* **2003**, *69*, 1054. [[CrossRef](#)]
- <sup>25</sup> Viegas Jr, C.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J.; Young, M. C. M.; Furlan, M.; Tomazela, D.; Eberlin, M. N. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 908. [[CrossRef](#)]
- <sup>26</sup> Pivatto, M.; Crotti, A. E. M.; Lopes, N. P.; Castro-Gamboa, I.; de Rezende, A.; Viegas Jr., C.; Young, M. C. M.; Furlan, M.; Bolzani, V. S. *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1431. [[CrossRef](#)]
- <sup>27</sup> Cook, G. R.; Beholz, L. G.; Stille, J. R. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1669. [[CrossRef](#)]
- <sup>28</sup> Toyooka, N.; Yoshida, Y.; Momose, T.; *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3715. [[CrossRef](#)]
- <sup>29</sup> Banba, Y.; Abe, C.; Nemoto, H.; Kato, A.; Adachi, I.; Takahata, H. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 817. [[CrossRef](#)]
- <sup>30</sup> Viegas Jr, C.; Silva, D. H. S.; Pivatto, M.; de Rezende, A.; Castro-Gambôa, I.; Bolzani, V. S.; Nair, M. G. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 2026. [[CrossRef](#)]
- <sup>31</sup> Alexandre-Moreira, M. S.; Viegas Junior, C.; Miranda, A. L. P.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J. *Planta Med.* **2003**, *69*, 795. [[CrossRef](#)]
- <sup>32</sup> Kamo, T.; Machara, K.; Sato, K.; Hirota, M.; *Heterocycles* **2003**, *60*, 1303. [[CrossRef](#)]
- <sup>33</sup> Viegas Jr, C.; Alexandre-Moreira, M. S.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Bolzani, V. S.; Miranda, A. L. P. *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, *56*, 407. [[CrossRef](#)]
- <sup>34</sup> Viegas Jr, C.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Mini Rev. Med. Chem.* **2005**, *5*, 915. [[CrossRef](#)]
- <sup>35</sup> a) Viegas Jr, C.; Bolzani, V. S.; Pimentel, L. S. B.; Castro, N. G.; Cabral, R. F.; Costa, R. S.; Floyd, C.; Rocha, M. S.; Young, M. C. M.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4184. [[CrossRef](#)]; b) Viegas Jr, C.; Nicastro, P. C.; Fossaluzza, P. C.; Gomes, C. P.; Santos, L. A.; Bolzani, V. S.; Pivatto, M.; da Silva, D. J. C.; Melo, G. M. A.; da Silva, Y. K. C.; Alexandre-Moreira, M. S.; da Costa, R. S.; Areas, T. F. M.; Castro, N. G. *Rev. Virtual Quím.*, **2009**, *1*, 117. [[Link](#)]
- <sup>36</sup> Castro, N. G.; Costa, R. S.; Pimentel, L. S. B.; Danuello, A.; Romeiro, N. C.; Viegas Jr., C.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; Bolzani, V. S.; Rocha, M. S. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *580*, 339. [[CrossRef](#)]
- <sup>37</sup> Viegas Jr, C.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; Castro, N. G.; Young, M. C. M.; Rocha, M. S.; WO2006039767-A1 **2006**.
- <sup>38</sup> Viegas Jr, C.; Bolzani, V. D. S.; de Lacerda Barreiro, E. J.; Castro, N. G.; Young, M. C. M.; Rocha, M. S.; US2007244137-A1 **2007**.