

Introdução à Prática de Química Medicinal

Fabio C. Tucci

Epigen Biosciences, Inc.

ftucci@cox.net, ftepigen@gmail.com

Outubro/2010

Estratégias para exploração da relação estrutura-atividade (SAR)

Introdução

- Um ativo (hit) foi identificado. Agora, o que fazer? Depende!
- No geral, deve-se utilizar as seguintes etapas:
 - Estabelecer objetivos do programa
 - Análise da estrutura
 - Complexidade?
 - Grupos reativos ou indesejáveis?
 - Propriedades gerais da molécula ($\log P$, pK_a , solubilidade, H-doadores e aceptores)
 - Pode ser inédita?
 - Métodos sintéticos – potencial para síntese paralela e coleções focadas
 - Identificar áreas para modificação
 - Estabelecer plano
 - Execução

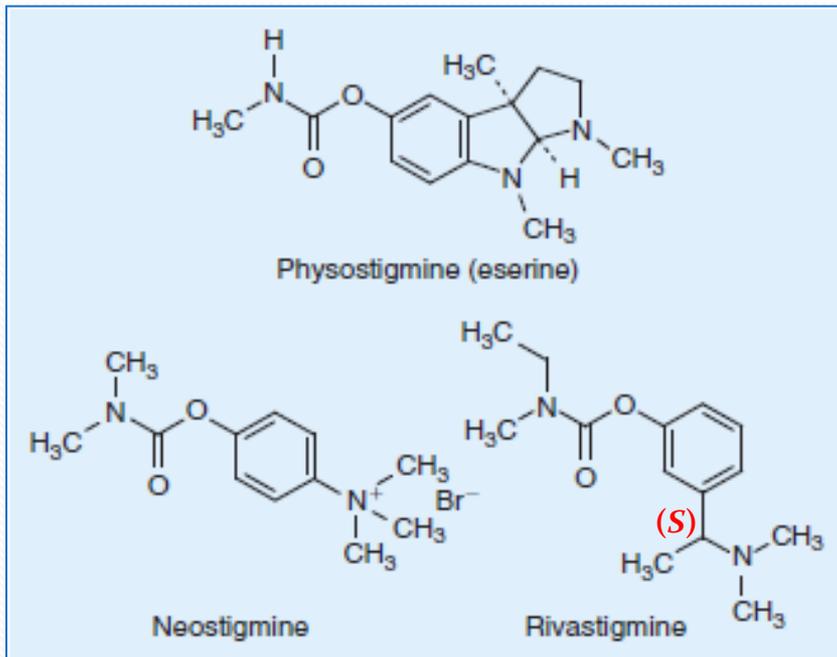
Estratégias de análise

- Quando o hit (ponto de partida) foi identificado, pode-se utilizar as seguintes abordagens:
 - Simplificação (abordagem disjuntiva)
 - Manutenção do mesmo nível de complexidade (abordagem analógica)
 - Aumento da complexidade através da introdução de novos grupos funcionais (abordagem conjuntiva)

Simplificação

- Quando o 'hit' é uma substância natural complexa, peptídeo, ou molécula de MM alta
- Objetivo é dissecar grupos e/ou funcionalidades para verificar quais partes da molécula são essenciais para a atividade biológica, e quais não são

Exemplo:

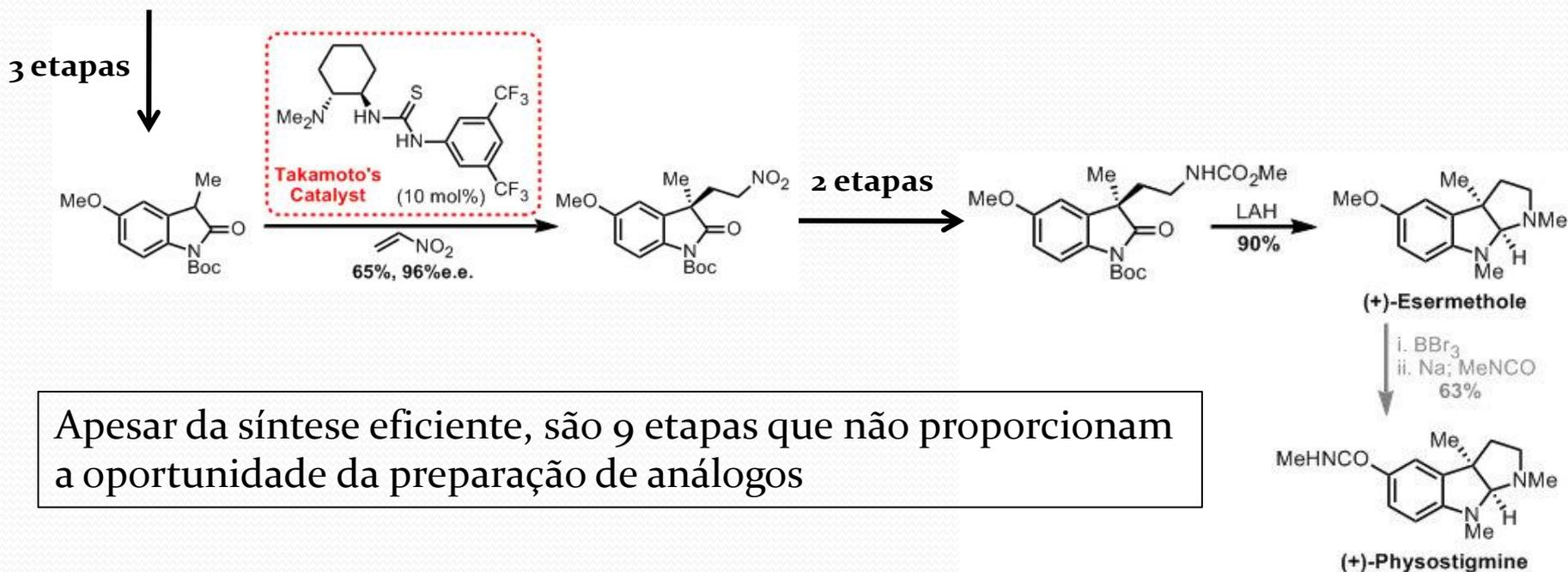


Rivastigmina é um agente colinérgico (inibidor da enzima acetil-colinesterase).

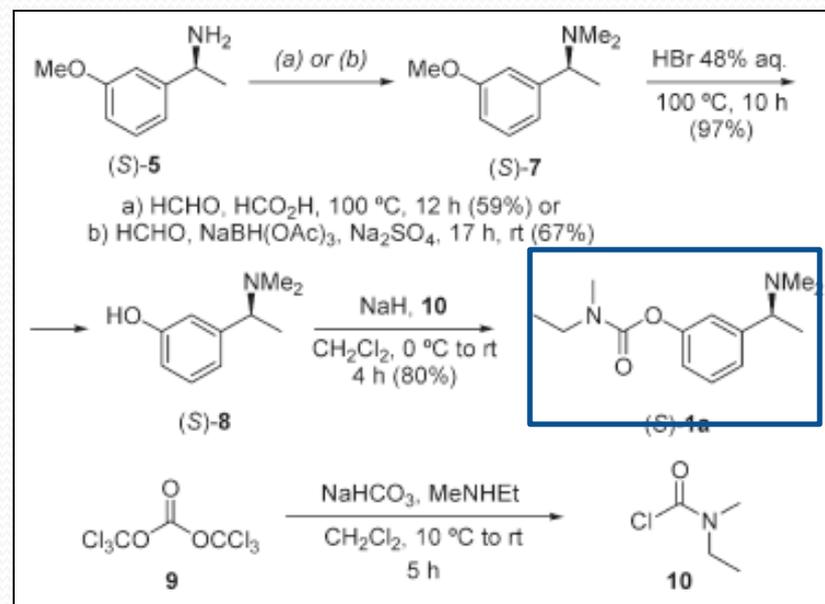
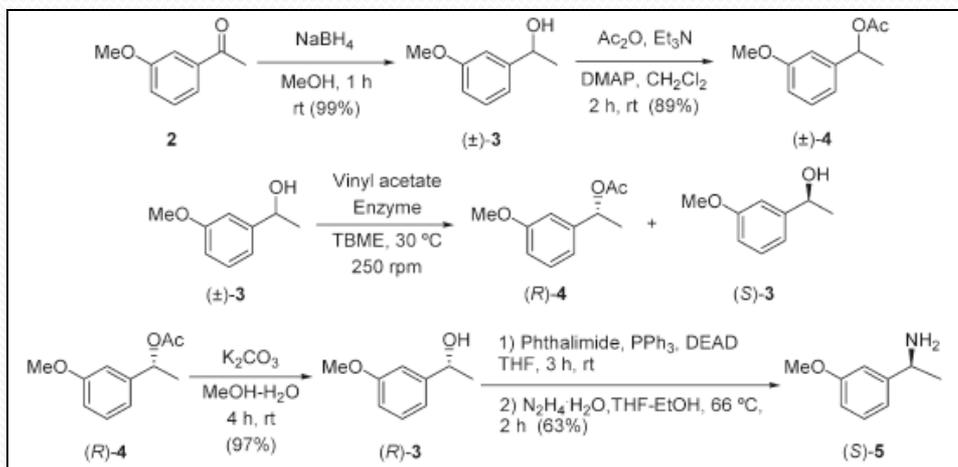
É usado para melhorar os efeitos cognitivos de pacientes de Alzheimer's e Parkinson's

Síntese assimétrica da Physostigmina

Material comercial



Síntese assimétrica da Rivastigmina



- Síntese assimétrica foi otimizada para a preparação da Rivastigmina
- Para fins de SAR, a preparação de racematos deve ser feita
- Nesse caso, a estrutura simples permite a modificação rápida da molécula

Manutenção

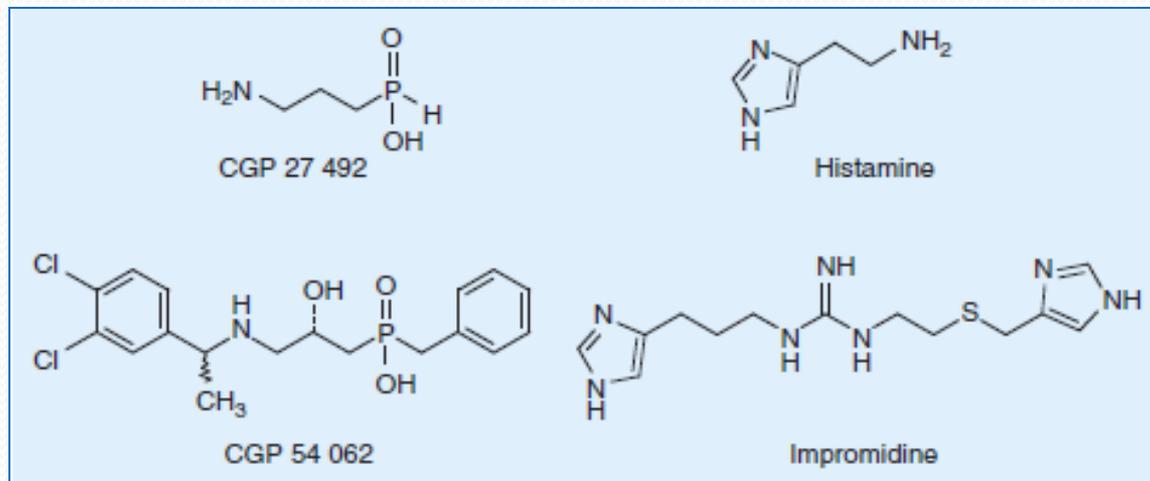
- Otimização da atividade através de substituições isostéricas
- Caso haja informação estrutural sobre o receptor e a interação ligante-receptor no início do projeto, a otimização do hit pode incorporá-las desde o início
 - Métodos computacionais de planejamento de fármacos
 - Structure-based drug design (SBDD)
- Normalmente, com alvos biológicos novos e inéditos, há pouca informação estrutural disponível
 - Modificações baseadas nos resultados dos ensaios biológicos

Aumento da complexidade

- Estratégia típica quando hits são “pequenos” ou fragmentos – MM > 300
- Objetivo é aumentar a potência

Agonista do receptor GABA_B

Agonista do receptor H₂



Estratégias para a otimização de hits

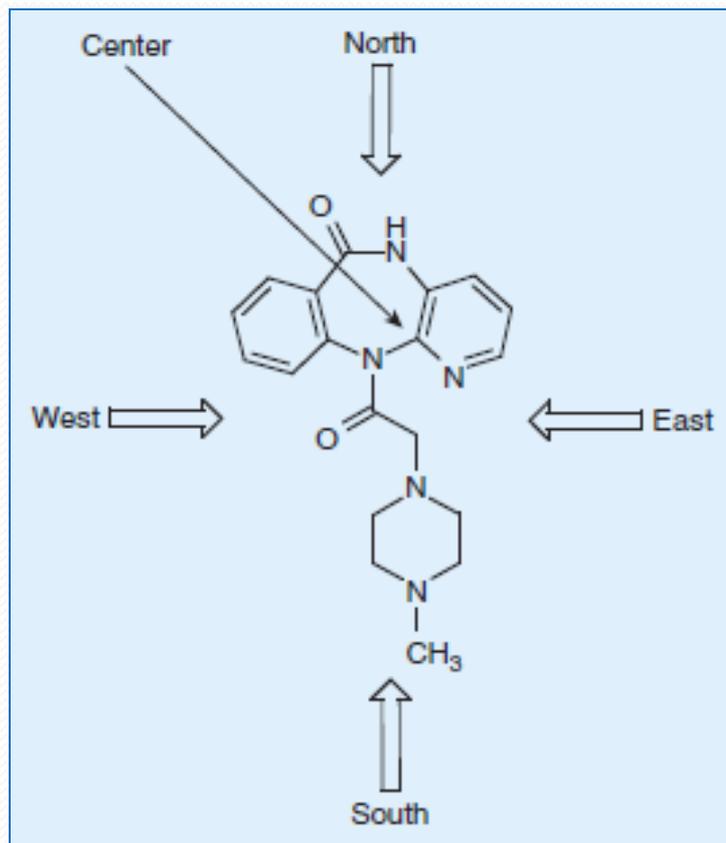
- O objetivo inicial é aumentar a potência!
- Mas não podemos esquecer de outras propriedades:
 - Seletividade
 - ADME satisfatório (absorção, distribuição, metabolismo, excreção)
 - Propriedades físico-químicas
 - Estabilidade química
 - Solubilidade
 - Patente, entre outros

Exemplo de critérios adotados na Astra-Zeneca

- Critérios genéricos. Cada programa estabelece seus critérios específicos de acordo com suas necessidades e desafios.

Parameter	Values
Potency	100 nM
Molecular weight	<450
C log P	<3
Log D	<3
Solubility	>10 µg/mL
Clear SAR around the potential lead	
Structure must provide patent opportunities	
Selectivity – Use PanLabs/Cerep batteries	
Need <i>in vivo</i> biological validation	
HERG screening	
Early toxicity <i>in vivo</i> screening	
<i>Metabolism</i>	
P450 inhibition IC ₅₀	10 µM for 5 major isoenzymes
Rat hepatocyte intrinsic clearance	<14 µL/min/mg
Human microsome intrinsic clearance	<23 µL/min/mg
Rat IV clearance	<35 mL/min/mg
Volume	>0.5 L/kg
t _{1/2}	>0.5 h
<i>Pharmacokinetics</i>	
Rat PO bioavailability	>10%
Plasma protein binding	<99.5

Exploração topológica do 'hit'

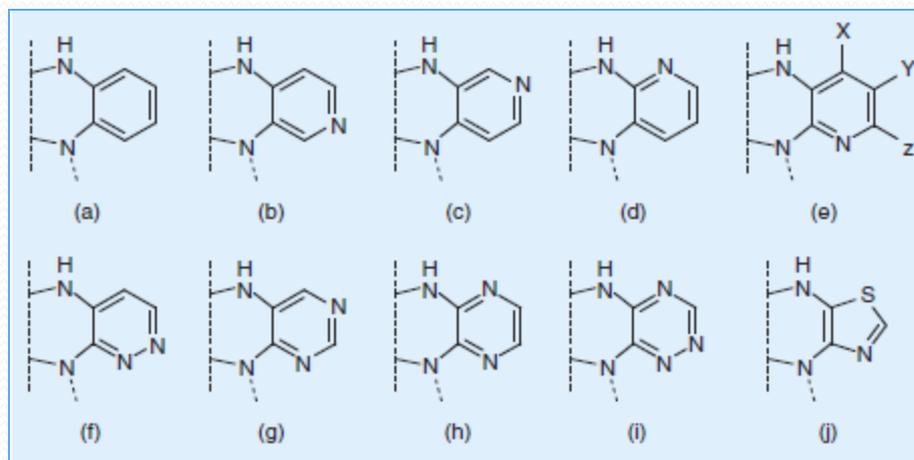
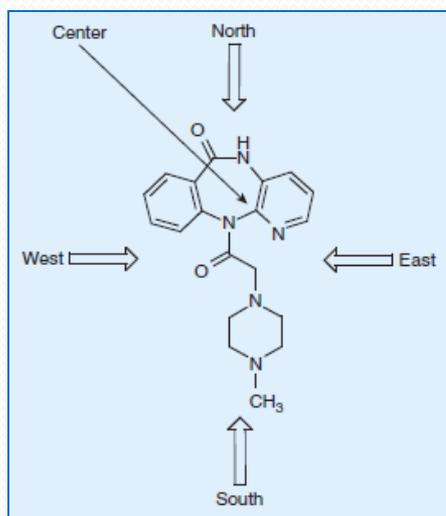


Pirenzapina – agente muscarínico para o tratamento de úlceras

- Divide-se a molécula em seções, e várias hipóteses são formuladas
- Cada uma dessas hipóteses tem que ser testada através da síntese e teste de atividade

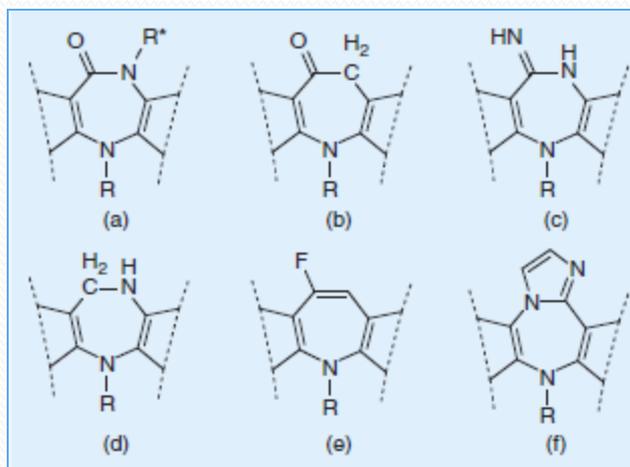
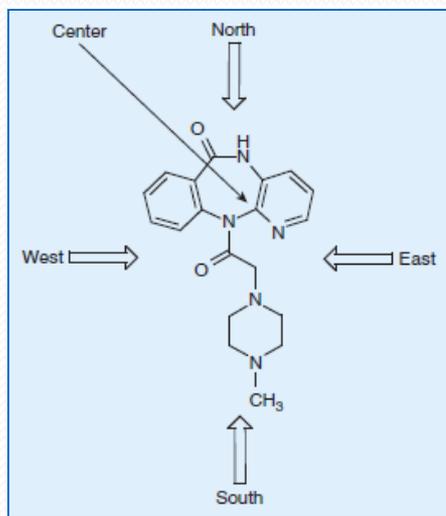
Hipóteses – exemplos (I)

- Parte leste (east)
 - O nitrogênio da piridina é necessário?
 - Pode-se mover o nitrogênio para outras posições?
 - Qual a influência de substituintes na piridina? (efeitos estéricos, eletrônicos, lipofilicidade, ligação de H, etc.)
 - Pode-se substituir a piridina por outros heterociclos?



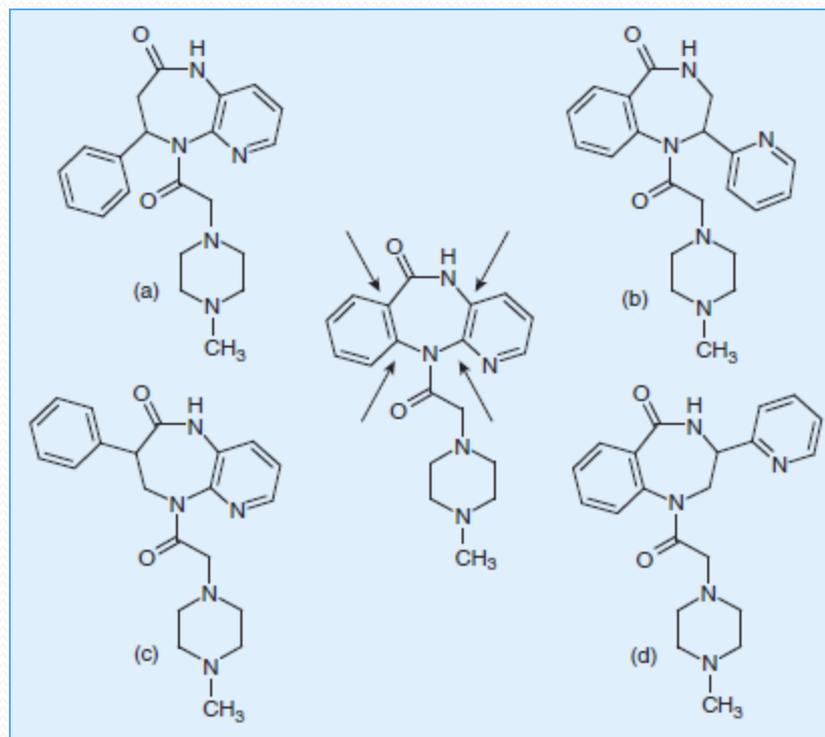
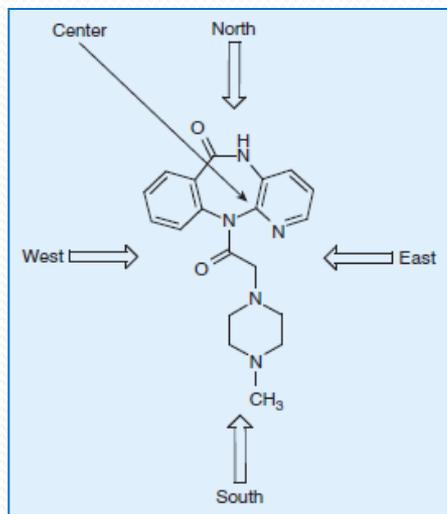
Hipóteses – exemplos (II)

- Parte norte
 - É possível substituir o NH? (investigar a importância de H-doador nessa posição)
 - É possível substituir o NH por CH_2 , ou outro grupo bioisostérico?
 - A carbonila é necessária?
 - A amida pode ser substituída por um grupo bioisostérico? (c, e, f)



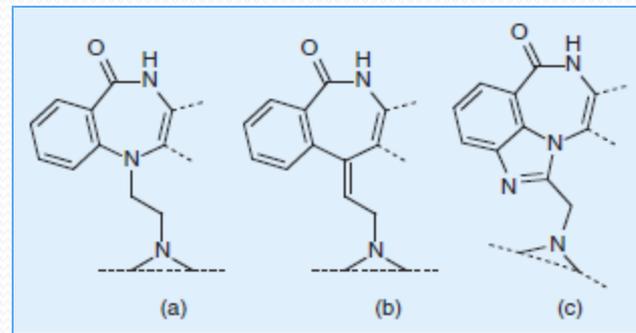
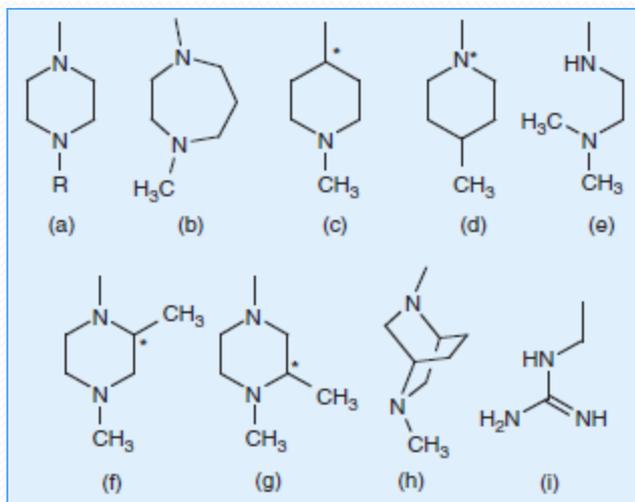
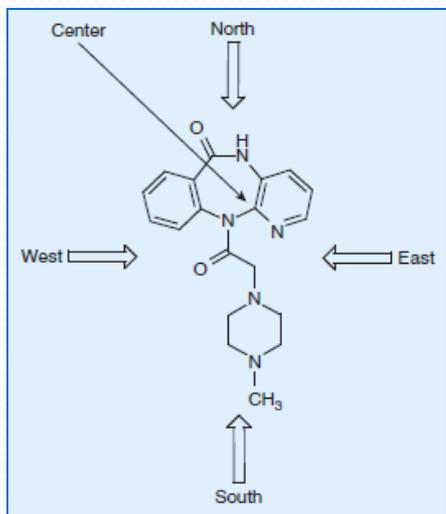
Hipóteses – exemplos (III)

- Parte oeste (west)
 - Devido à pseudo-simetria da molécula, as mesmas hipóteses formuladas no lado leste podem ser usadas aqui.
 - Pode-se também eliminar o sistema tricíclico e “transpor” uma das arilas



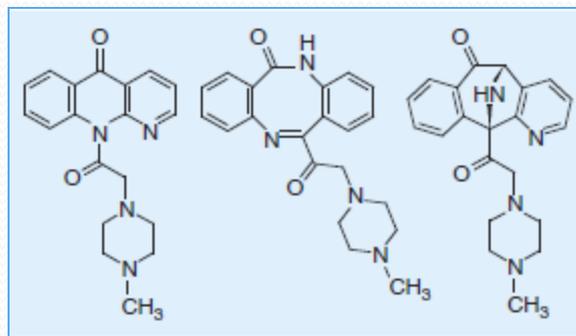
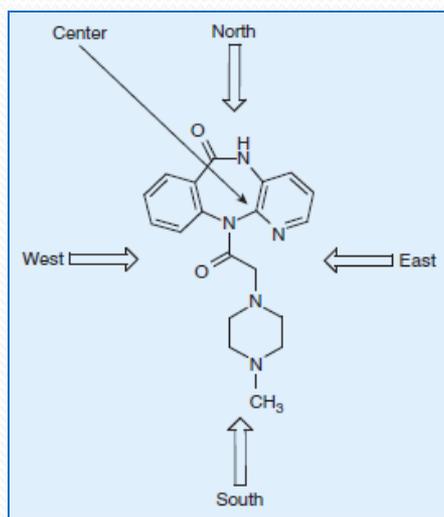
Hipóteses – exemplos (IV)

- Parte sul
 - No anel piperazina
 - Metila pode ser substituída por outros grupos (alquila, arila)?
 - Outros tipos de anel? Pode-se ‘quebrar’ o anel?
 - Substituição? Eliminação completa do centro básico?
 - Na carboxamida
 - Pode-se reduzir a carbonila a CH_2 ?
 - Pode-se substituir a carbonila por uma olefina?
 - Pode-se incluir o H-acceptor em um anel bioisostérico de conformação restrita?



Hipóteses – exemplos (V)

- Esqueleto central
 - A literatura de fármacos psicotrópicos tricíclicos tem muitos exemplos de esqueletos centrais que podem ser aplicados aqui (métodos sintéticos já desenvolvidos). Entretanto, deve-se ter atenção com a propriedade intelectual (PI)
 - Contração e extensão do anel
 - Mudança na natureza dos átomos



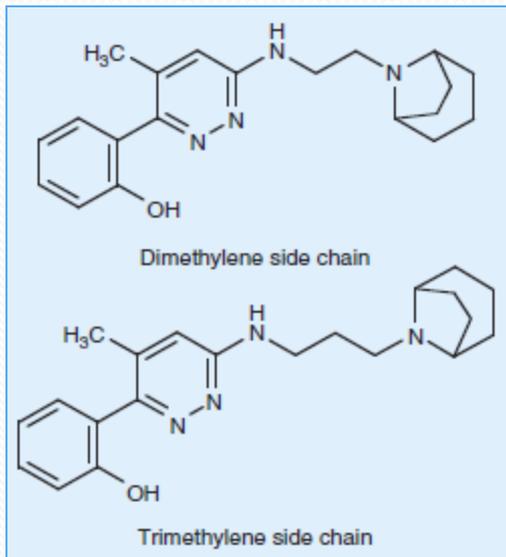
Regras básicas – bom senso!

- Na otimização de um ‘hit’ é necessário estabelecer prioridades no trabalho
- Programas de descoberta de drogas tem recursos finitos e cronogramas agressivos
- Tempo e dinheiro são importantes
- Portanto, nem todas as idéias geradas podem ser levadas à prática
- Entretanto, é impossível saber qual o melhor caminho a seguir!

Regra nº 1

- Faça modificações discretas inicialmente
 - Hidrogenação, hidroxilação, metilação, acetilação, homologação, substituição isostérica
 - Essas modificações podem melhorar a potência, seletividade ou até mesmo suprimir um efeito tóxico

Exemplo:



Agonistas parciais do receptor muscarínico M₁

- Análogo dimetileno - IC₅₀ = 3 nM, mas é mutagênico
- O homólogo trimetileno - IC₅₀ = 15 nM, mas é seguro

Regra nº 2

- A lógica biológica

- O químico medicinal não pode se preocupar somente com a síntese de compostos
- Além da afinidade do composto pelo alvo de interesse em um ensaio de ligação, é necessário descobrir o efeito bioquímico do composto.
- O efeito bioquímico pode ser resultado não somente da afinidade pelo receptor, mas também de propriedades físico-químicas, relacionadas com a estrutura
- Deve-se identificar esses fatores o quanto antes em um programa de descoberta de drogas

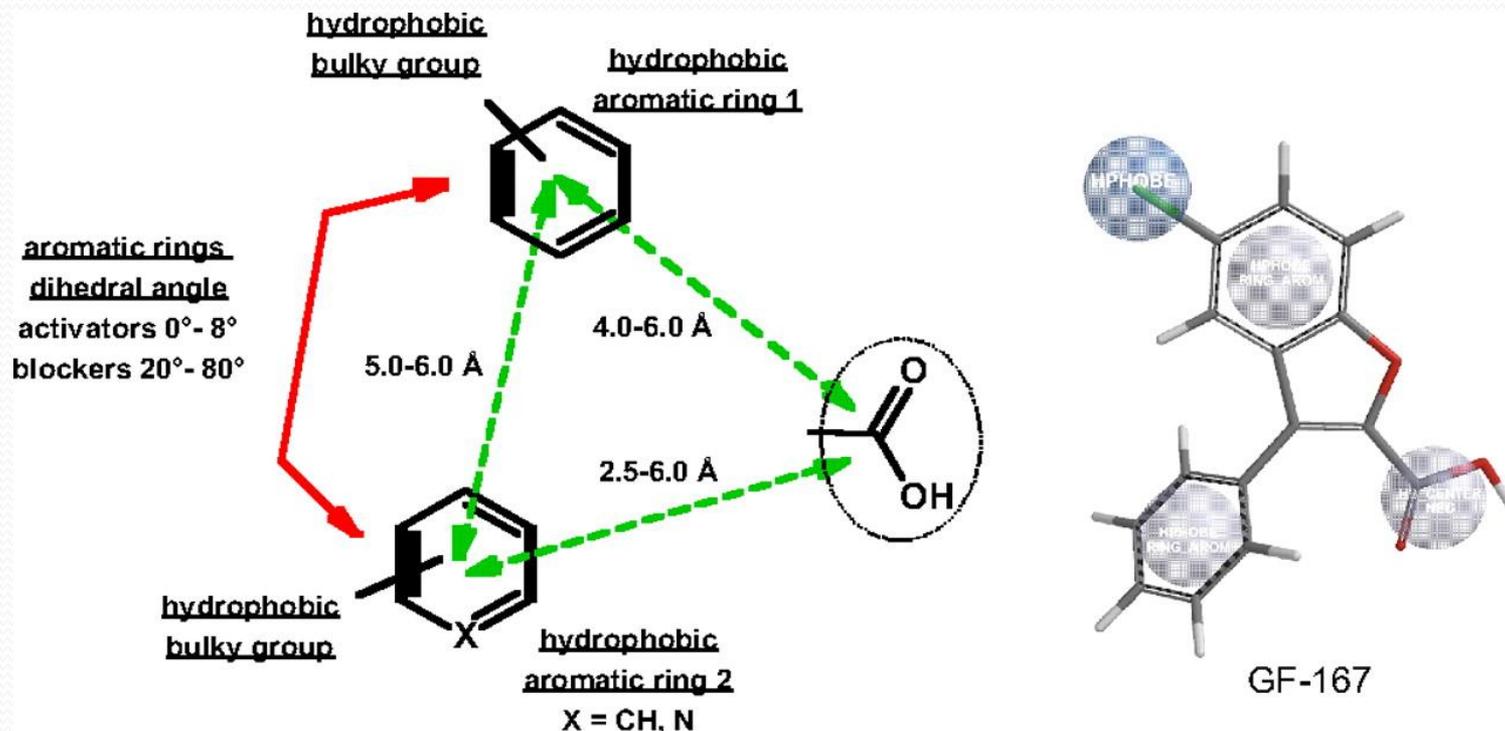
Regra nº 3

- A lógica estrutural

- Assim que certos requerimentos estruturais forem descobertos (distância entre grupos farmacofóricos, configuração E ou Z, substituintes axiais ou equatoriais, etc.) esses têm que ser incorporados na fase de planejamento racional.
- Modelo farmacofórico – definição da IUPAC:
 - *“Um farmacóforo é um conjunto de características eletrônicas e estéricas que é necessária para garantir a interação supramolecular ideal com um alvo molecular específico, e eliciar a resposta biológica.”*

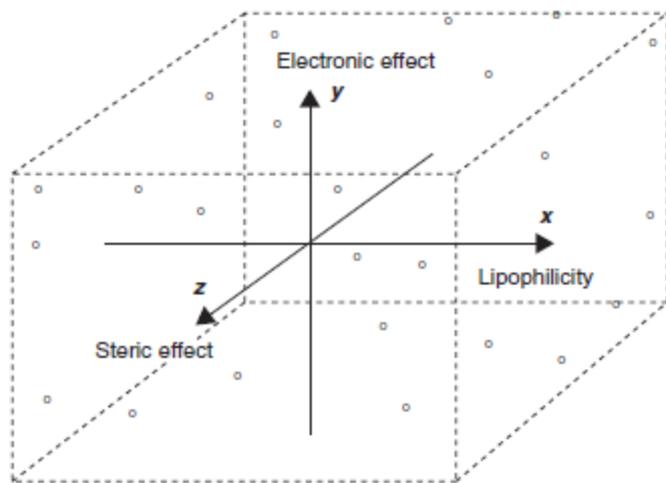
Modelo Farmacofórico

- Exemplo



Regra nº 4

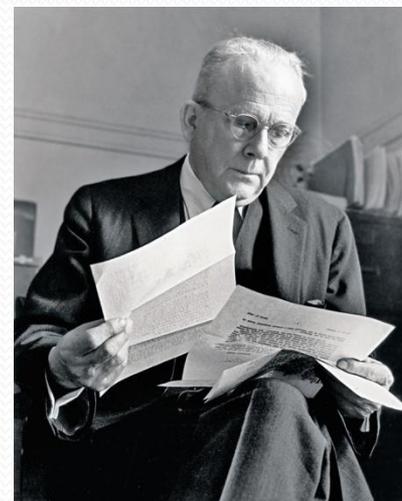
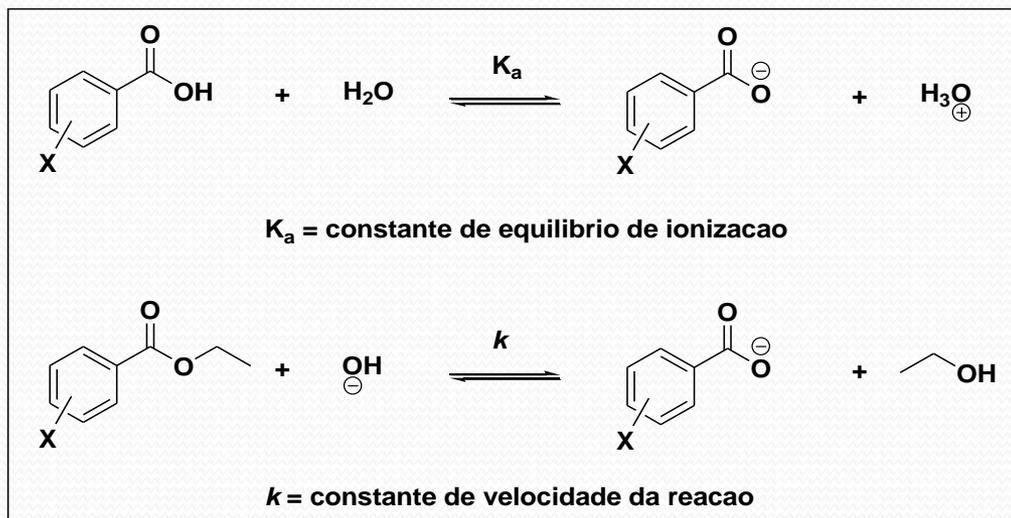
- A escolha apropriada do substituinte
 - Metade das drogas existentes contém anéis aromáticos substituídos
 - A substituição do H desses anéis por outros grupos (fluoro, cloro, alquila, metoxila, ciano, etc.) pode ter consequências biológicas dramáticas (alterar a intensidade, duração, e até mesmo a natureza do evento biológico)
 - Portanto, é importante explorar o substituinte ideal com o menor número possível de análogos que cubram o espaço 3D formado por coordenadas de parâmetros lipofílicos, eletrônicos e estéricos.



QSAR
quantitative structure-activity relationship

Equação de Hammett (I)

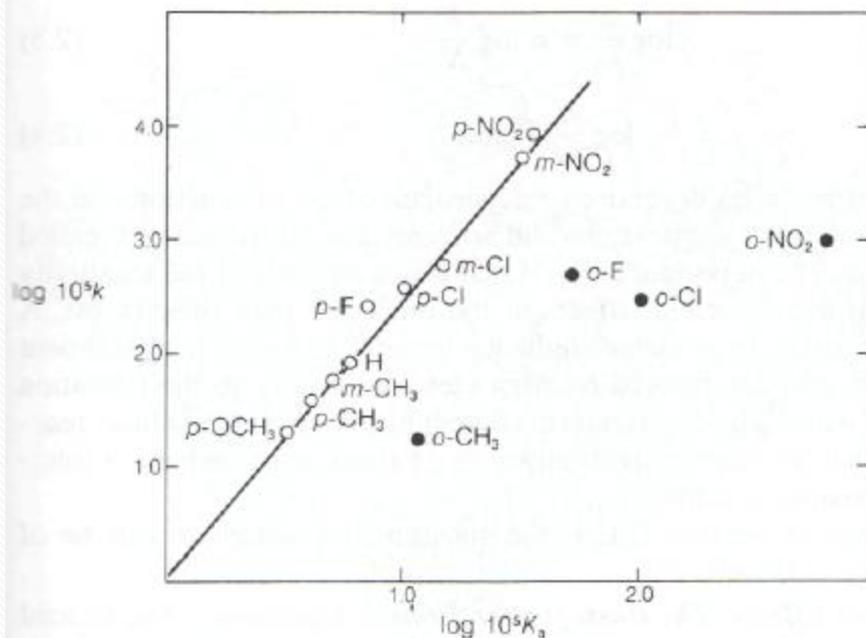
- L.P. Hammett – *efeitos eletrônicos (indutivo e de ressonância) de um grupo de substituintes no anel aromático deve ser similar em reações diferentes.*
- Duas reações:



Relação linear de Energia Livre

- Gráfico logarítmico

- Ionização de ácidos benzoicos – água, 25 °C
- Hidrólise alcalina de benzoatos de etila – EtOH/H₂O, 30 °C



- Quando X = *meta* ou *para*, a relação é linear
 - EDG - Grupos doadores de e- retardam as reações
 - EWG - Grupos removedores de e- aceleram as reações
- X = *orto*, pontos estão dispersos no gráfico
 - Interferência de efeitos estéricos e polares
- Relação similar é observada para uma variedade de outras reações
- Gráfico expresso por: $\log k = \rho \log K + C$
 - ρ = coeficiente angular
 - C = coeficiente linear

Equação de Hammett (II)

- Do gráfico anterior: $\log k = \rho \log K + C$
- No caso do substituinte = H: $\log k_o = \rho \log K_o + C$
- Subtração das equações fornece: $\log k/k_o = \rho \log K/K_o$
- $\log K/K_o$ é definido como σ

- **Equação de Hammett:** $\log k/k_o = \rho \sigma$
- σ - constante do substituinte
 - Quanto mais EWG, mais *positivo* (H é zero)
 - Quanto mais EDG, mais *negativo*
 - σ_{meta} relacionada com efeitos indutivos
 - σ_{para} é a soma de efeitos indutivos e de ressonância
- ρ - constante de reação
 - Mede a sensibilidade da reação à efeitos de substituintes *meta* e *para*
 - Reações favorecidas por alta densidade eletrônica no estado de transição (carbocátions) tem ρ negativos
 - Reações favorecidas por EWG (carbânions) tem ρ positivos
 - Magnitude de ρ (negativo ou positivo) indica a sensibilidade a efeitos de substituintes

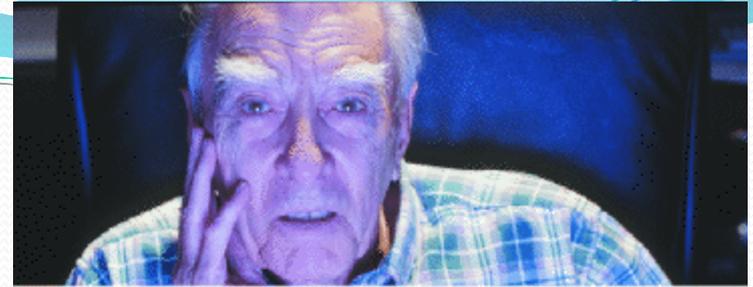
Constante de substituinte - σ

Substituent constants

Substituent	para effect	meta effect
Amine	-0.66	-0.161
Methoxy	-0.268	+0.115
Ethoxy	-0.25	+0.15
Dimethylamino	-0.205	-0.211
Methyl	-0.170	-0.069
None	0	0
Fluor	+0.062	+0.337
Chlorine	+0.227	+0.373
Bromine	+0.232	+0.393
Iodine	+0.276	+0.353
Nitro	+0.778	+0.710
Cyano	+1.000	+0.678

Source: Hammett 1937

C. Hansch



Hansch

- Hansch - correlação entre a atividade estimulatória do crescimento de plantas de derivados do ácido fenóxi-acético
 - Compostos com densidade eletrônica reduzida na posição *orto* causavam maior atividade
- Hansch notou que a ação de drogas dependem de dois processos:
 - A viagem desde o ponto de entrada até o sítio ativo (farmacocinética)
 - Interação da droga com o sítio específico do receptor (farmacodinâmica)
- Para que droga atinja o sítio ativo, esta precisa interagir com dois ambientes diferentes:
 - Lipofílico (membranas celulares)
 - Aquoso

Coeficiente de Partição



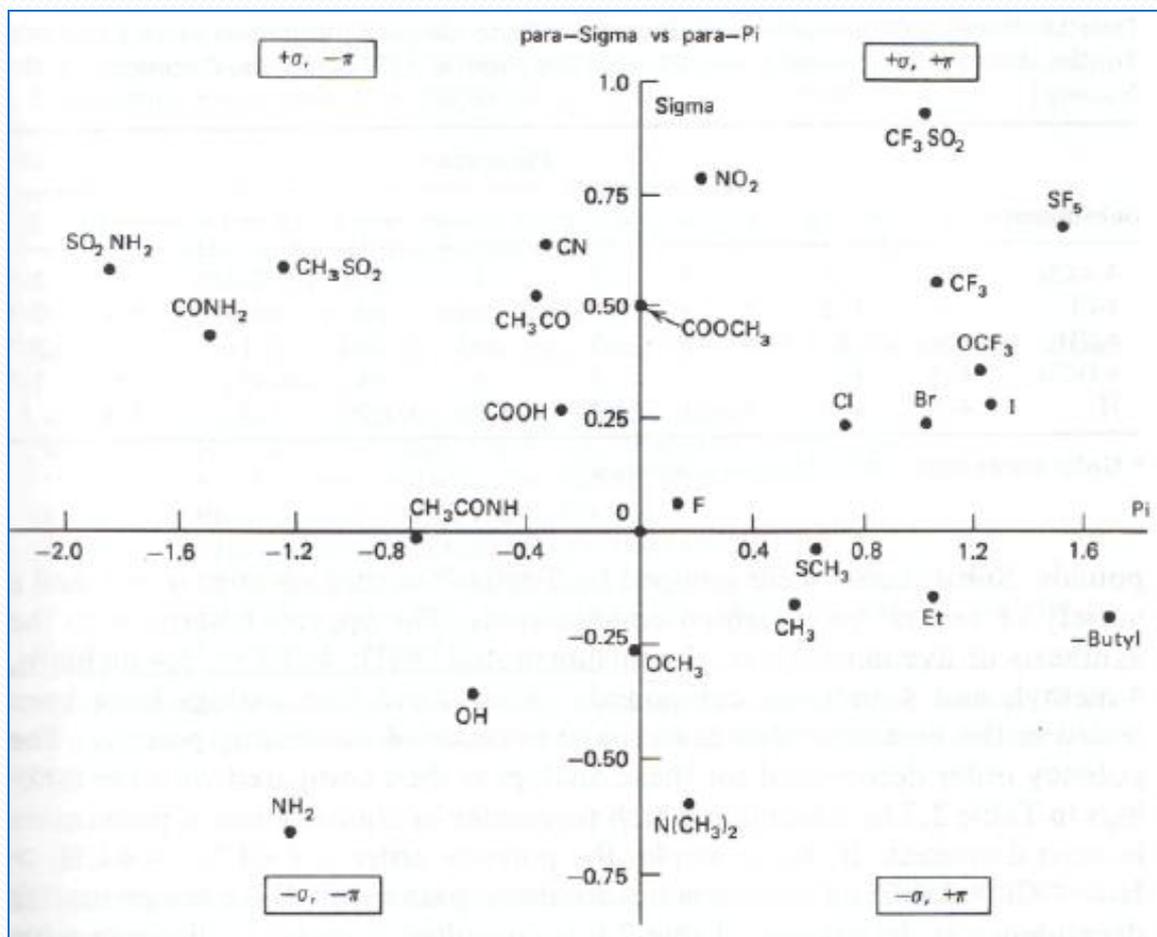
- Hansch – relação linear de energia livre entre lipofilicidade e atividade biológica
- Coeficiente de partição – medida de lipofilicidade de um composto
 - Partição entre 1-octanol e água:
 - $P = [\text{composto}]_{\text{oct}} / [\text{composto}]_{\text{aq}} \times (1 - \alpha)$
 - α = grau de ionização do composto em água
 - Medido experimentalmente pelo método do “shake-flask” ou HPLC
 - Geralmente expresso $\log P$
 - Composto mais solúvel em água – $\log P < 1$
 - Composto mais solúvel em 1-octanol – $\log P > 1$
 - Existem vários programas de computador para calcular $\log P$ com bons resultados

Constante de lipofilicidade de substituintes - π

- Equação de Hansch
 - $\text{Log } 1/C = -k (\log P)^2 + k' (\log P) + k''$
- Hansch definiu a constante de lipofilicidade de substituintes π para vários substituintes (X)
 - $\pi = \log P_X/P_H$

Diagrama de Craig

- Diagrama $\pi \times \sigma$ para guiar a escolha de substituintes



Árvore de decisão de Topliss

TOPLISS Scheme

J. Topliss, J. Med. Chem. 15, 1007 (1972)

Start with substituents H and 4-Cl

- a) if 4-Cl > H then 3,4-Cl₂
 - if 3,4-Cl₂ > 4-Cl then 3,4-Br₂, I, CF₃
 - if 3,4-Cl₂ < 4-Cl then Br, I, 4-NO₂
- b) if 4-Cl < H then 4-OMe
 - if 4-OMe > H then 4-NMe₂
 - if 4-NMe₂ > 4-OMe then 4-NEt₂
 - if 4-NMe₂ < 4-OMe then NH₂, OH
 - if 4-OMe < H then 3-Cl
- c) if 4-Cl ≈ H then 4-Me
 - if 4-Me > H, 4-Cl then Et, Pr, *i*-Pr, Bu, *t*-Bu
 - if 4-Me < H, 4-Cl then 3-Cl
 - if 3-Cl > 4-Me then 3,5-Cl₂, 3-Br, 3-I
 - if 3-Cl < 4-Me then 3-CH₃, 3-NMe₂, 4-F, 4-NO₂, 4-CN, 4-CONH₂

Realidade

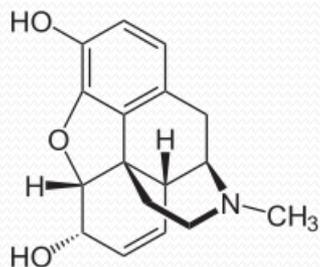
- Métodos de QSAR aqui apresentados úteis para racionalizar resultados
- Pode ser útil no planejamento, quando apenas um número limitado de compostos pode ser estudado
- Devido aos avanços nas técnicas de síntese paralela, purificação de compostos e de triagem biológica rápida, é possível avaliar um grande número de compostos em período curto de tempo
- Substituintes no diagrama de Craig podem ser utilizado na síntese de coleções focadas de compostos - diversidade

Regra nº 5

- Regra da síntese orgânica fácil e eficiente
- Devido ao custo e complexidade do processo de descoberta de drogas, deve-se dar prioridade à síntese dos compostos mais “fáceis”, a partir de reagentes disponíveis comercialmente
- *Regra geral:*
 - 3 – 6 etapas. Não mais do que 3 semanas para preparar uma série
- Por outro lado, os compostos mais “simples” serão mais fáceis de serem copiados...
- Heterociclos:
 - 62 % das drogas contém ao menos um anel heterocíclico
 - Oferecem interações com receptores biológicos que mimetizam a de proteínas e peptídeos
 - Síntese fácil

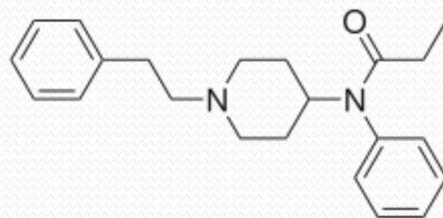
Regra nº 6

- Eliminação dos centros quirais!
- Assimetria não é necessária para atividade biológica:
 - Exemplos



Morfina

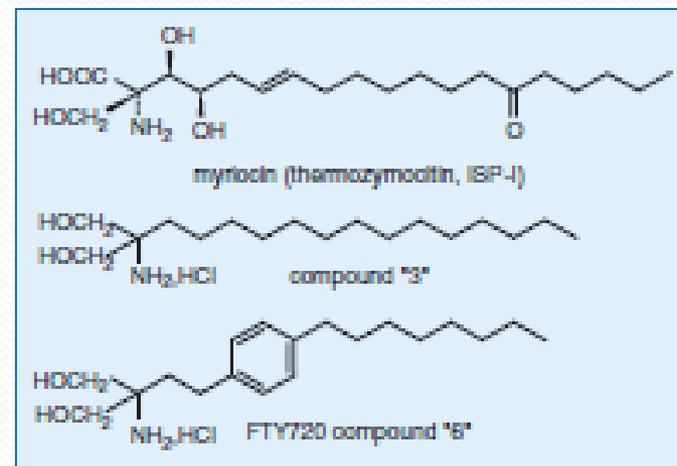
5 centros quirais!



Fentanila

Nenhum centro quiral

Agonista do receptor opióide μ
100 \times mais potente que a morfina!



Gilenya (*fingolimod*)

Aprovado pelo FDA 22/09/2010
Para o tratamento de MS
Nenhum centro quiral