INIBIDORES DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA (ECA)

REDSHAW, S. *Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor and the design of cilazapril*. In: GANELLIN, C. R & ROBERTS, S. M. (eds) "Medicinal chemistry: the role of organic chemistry in drug research", Academic Press, 2nd. ed., p. 163-185, **1993**.

SILVERMAN, R. B. "The organic chemistry of drug design and drug action", Academic Press, p. 162-174, **1992**.

HARROLD, M. *Agents affecting the renin-angiotensin pathway and calcium blockers.* In: LEMKE, T.L. & WILLIAMS, D.A. (Eds.) "Foye's principles of medicinal chemistry", Lippincott Williams & Wilkins, 5th ed., p. 815-840 (Cap.25), **2013**.

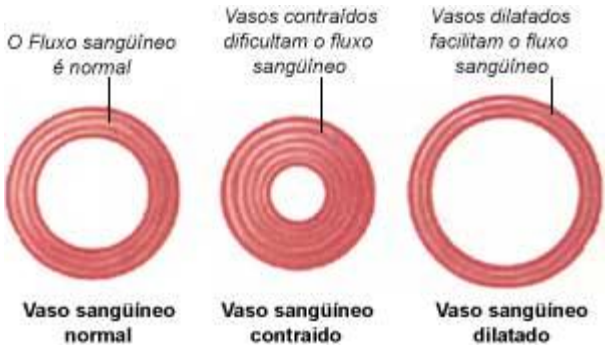
HARROLD, M. *Angiotensin converting enzyme inhibitors, antagonists and calcium blockers.* In: LEMKE, T.L. & WILLIAMS, D.A. (Eds.) In: "Foye's principles of medicinal chemistry", Lippincott Williams & Wilkins, 6th ed., p. 738-768, **2008**.

NATESH, R., SCHUWAGER, S.L.U., EVANS, H.R., STURROCK, E.D., ACHARYA, K.R. Structural details on the binding of antihypertensive drugs captopril and enalaprilat to human testicular angiotensin I-converting enzyme. *Biochemistry* **2004**, *43*, 8718-8724.

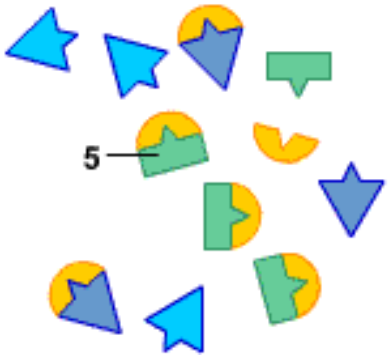
NATESH, R., SCHUWAGER, S.L.U., STURROCK, E.D., ACHARYA, K.R. Crystal structure of the human angiotensin-converting enzyme-lisinopril complex. *Nature* **2003**, *421*, 551-554.

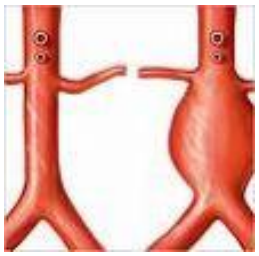
ACHARYA, K.R.; STURROCK, E.D.; RIORDAN, J.F.; EHLERS, M. R.W. ACE revisited: a new target for structure based drug design. *Nature Reviews Drug Discovery* **2003**, *2*, 891-902.

Em situações estressantes, as artérias que suprem funções não essenciais se contraem, causando aumento da pressão arterial.

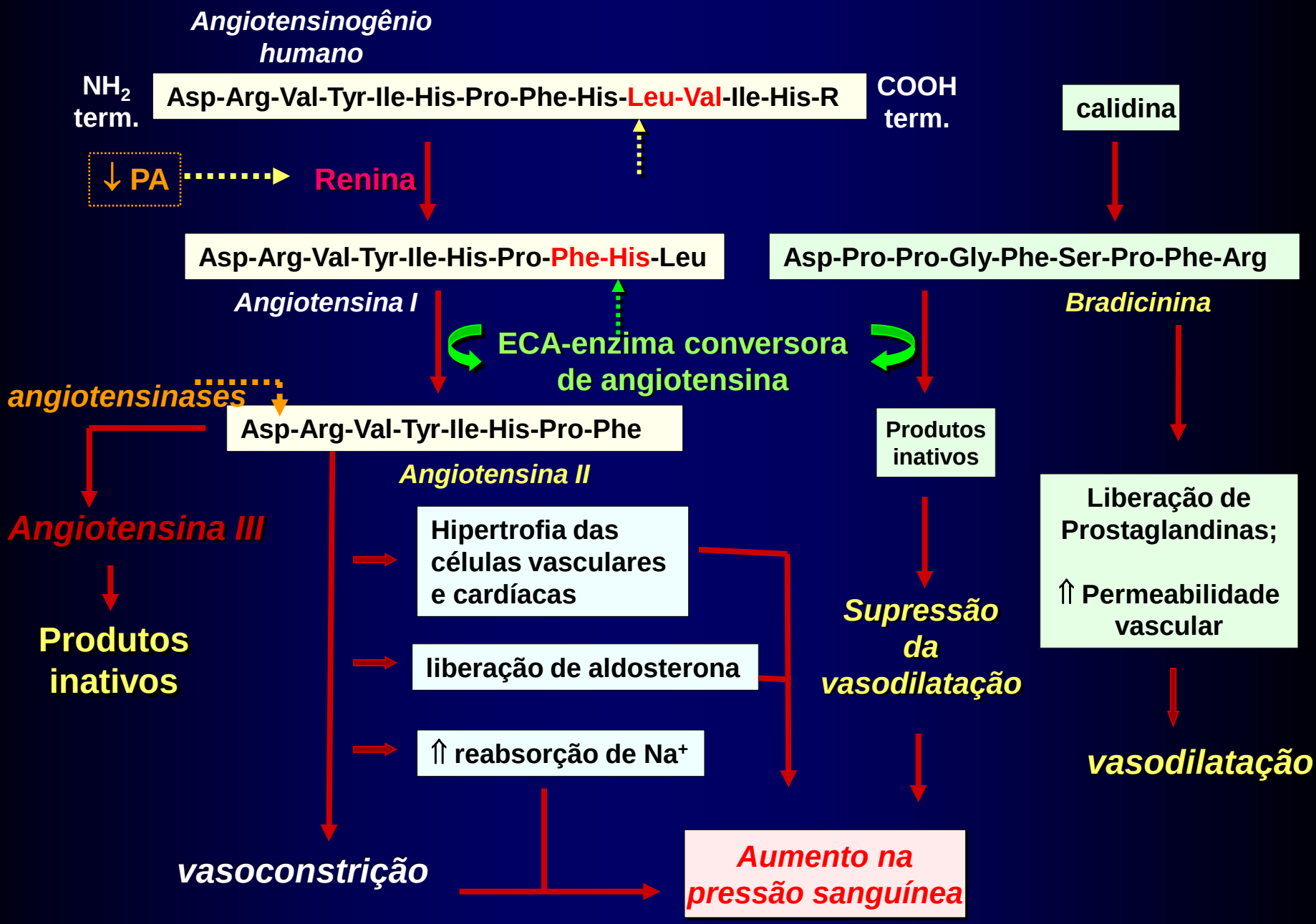


A enzima conversora de angiotensina (ECA) leva à formação de angiotensina II, que provoca a constrição dos vasos sangüíneos



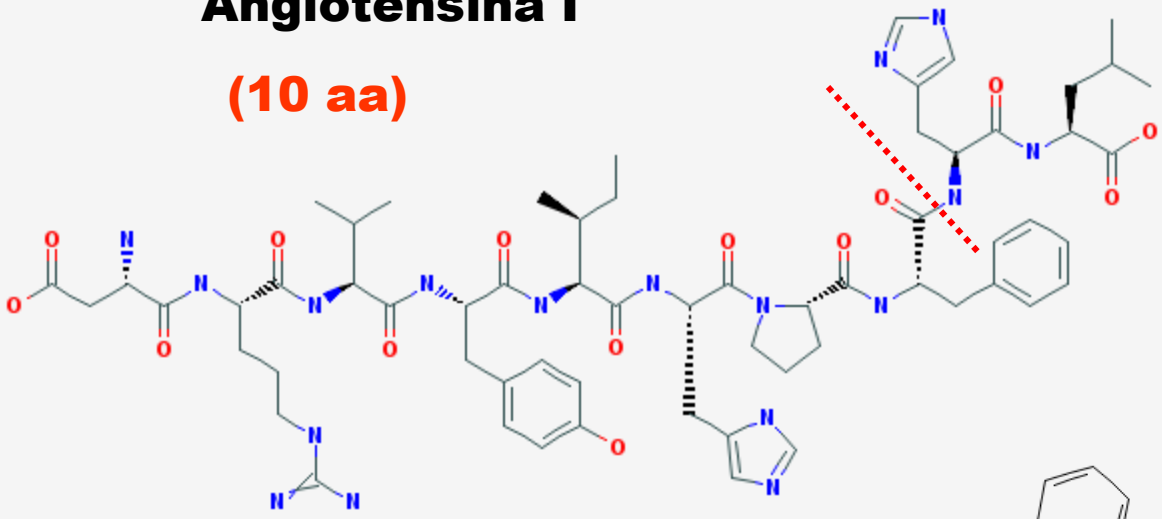


Os inibidores da ECA também previnem a expansão e ruptura da aorta em modelos com animais. Esses fármacos reduzem o risco de ruptura em pacientes com aneurismas da aorta abdominal

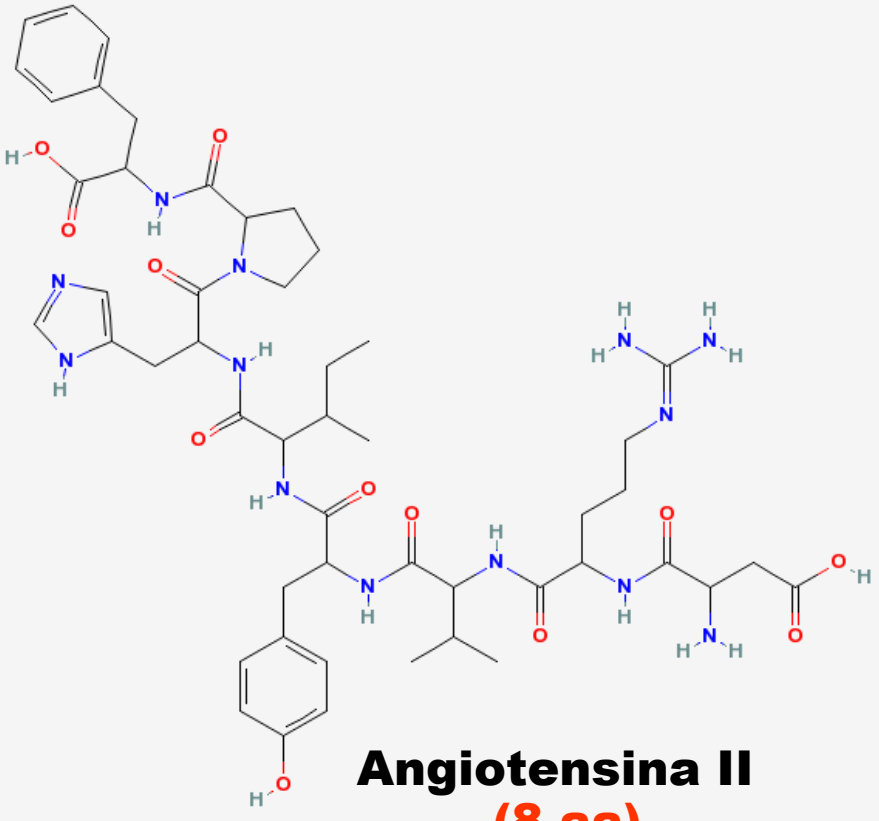

Angiotensinogênio humano
NH2 term.
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-His-R
COOH term.
calidina
↓ PA
Renina
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu
Asp-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg
Angiotensina I
Bradicinina
ECA-enzima conversora de angiotensina
angiotensinases
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe
Produtos inativos
Angiotensina II
Angiotensina III
Hipertrofia das células vasculares e cardíacas
liberação de aldosterona
⇑ reabsorção de Na+
Produtos inativos
Supressão da vasodilatação
Liberação de Prostaglandinas;
⇑ Permeabilidade vascular
vasodilatação
vasoconstrição
Aumento na pressão sanguínea

Angiotensina I

(10 aa)



ECA



Angiotensina II

(8 aa)

ECA

- glicoproteína ligada à membrana das células endoteliais vasculares

- estrutura determinada em 1988 (metaloproteinase)

Busca de inibidores da ECA

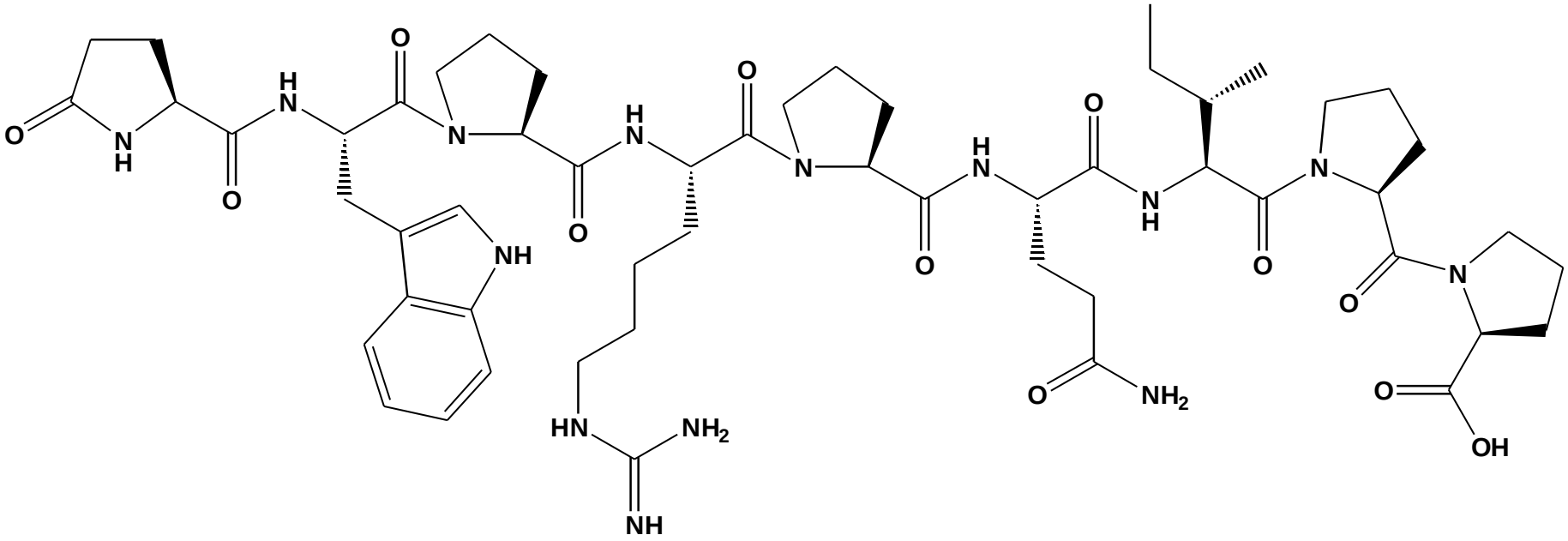
1. Descoberta do protótipo

1965 - prof. Dr. Sérgio H. Ferreira - relatou que uma mistura de peptídeos (5-13 aa) da cobra *Bothrops jararaca* potencializava a ação da bradicinina pela inibição de alguma bradicininase

1968 - *Bakhle* e colaboradores – mostraram que estes peptídeos também inibiam a conversão de angiotensina I em angiotensina II

1979 - *Ondetti* e colaboradores - isolamento de 9 peptídeos desta mistura – nonapeptídeo (TEPROTÍDEO) ⇒ apresentou a maior potência *in vivo* e foi efetivo na diminuição da pressão sanguínea (inativo por via oral)

TEPROTÍDEO (SQ 20.881)



O TEPROTÍDEO e outros peptídeos foram usados para estudar as propriedades enzimáticas da ECA

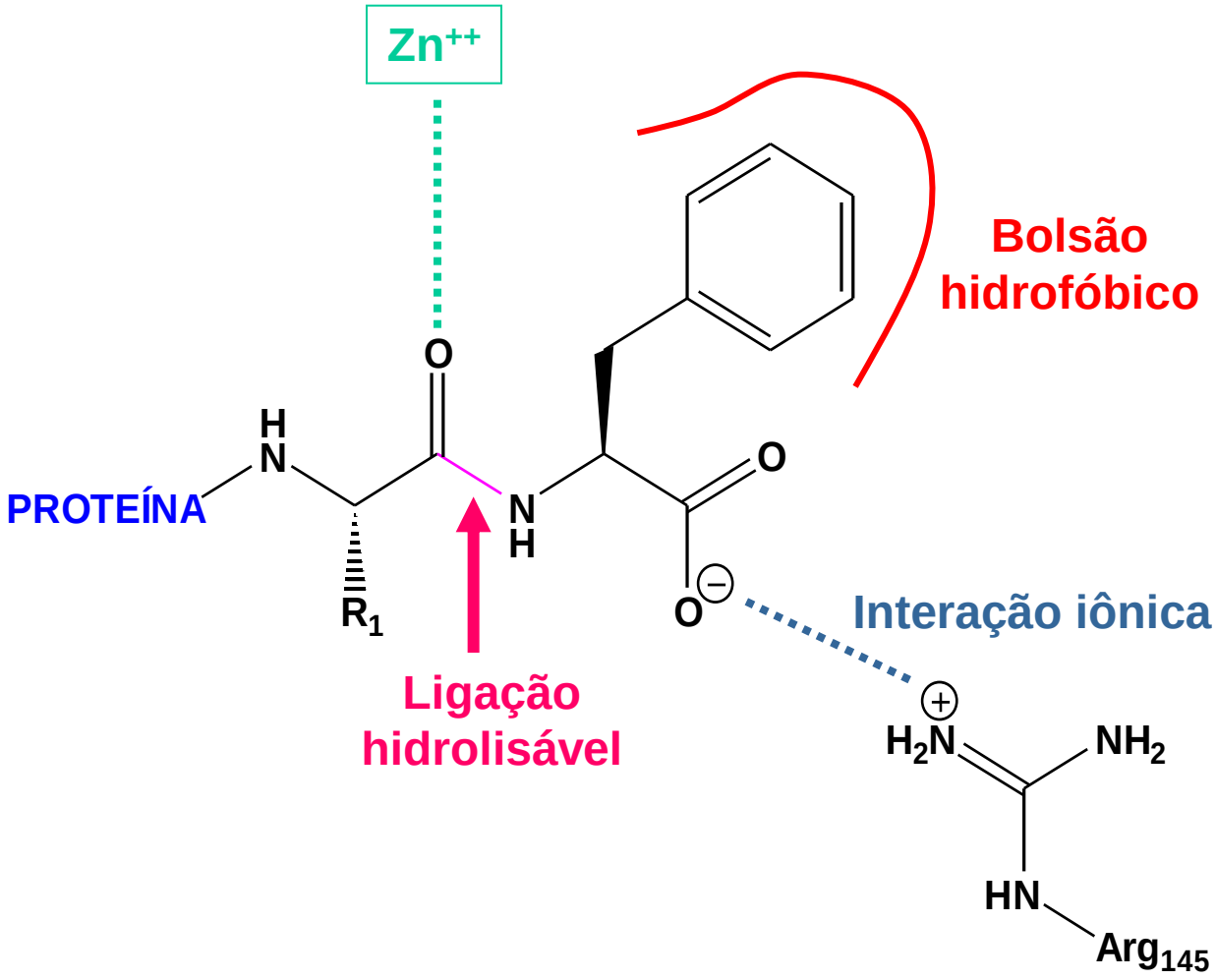
⇓

propriedades semelhantes de outras carboxipeptidases

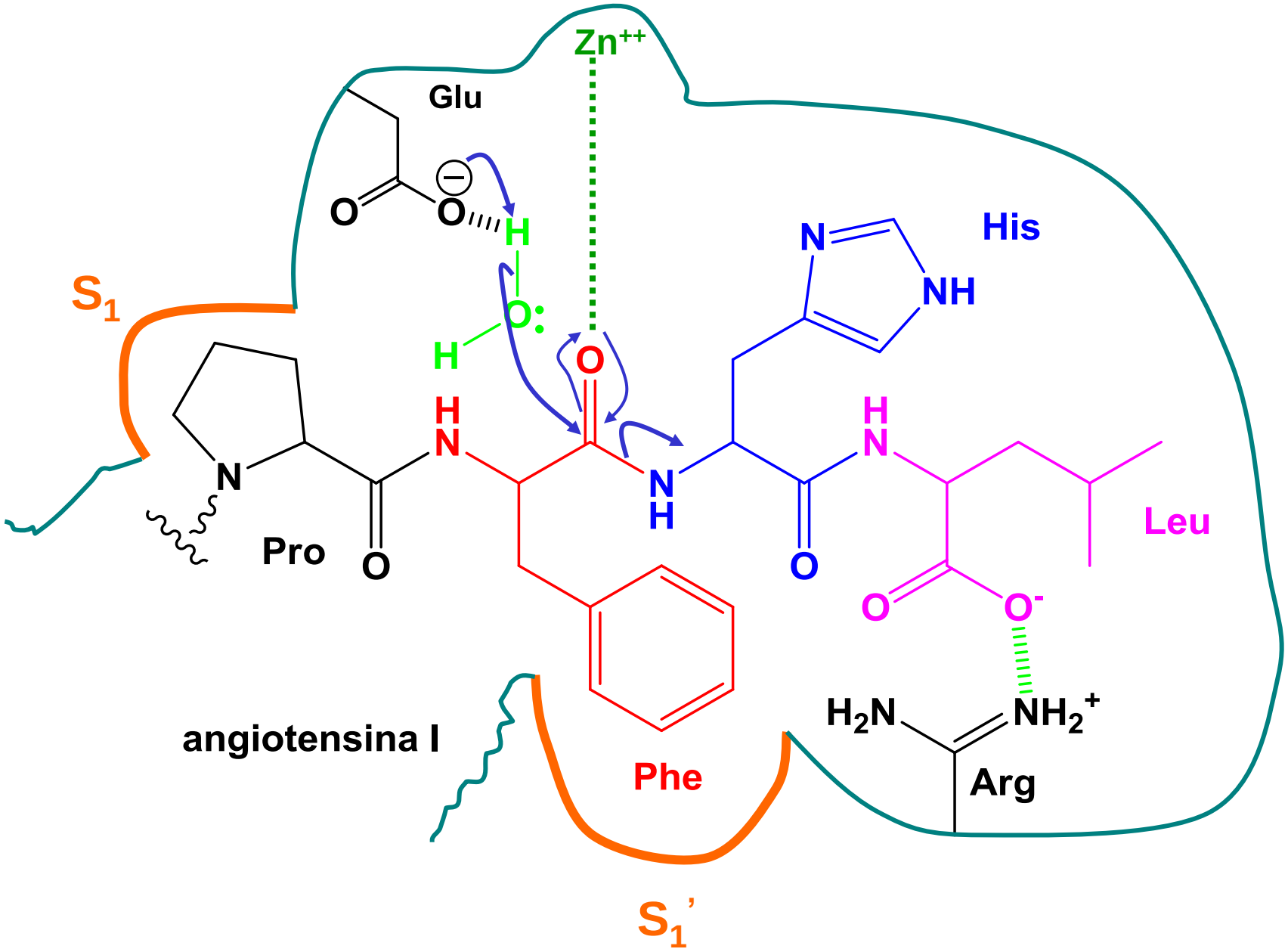
⇓

MODELO HIPOTÉTICO DO SÍTIO ATIVO DA ECA

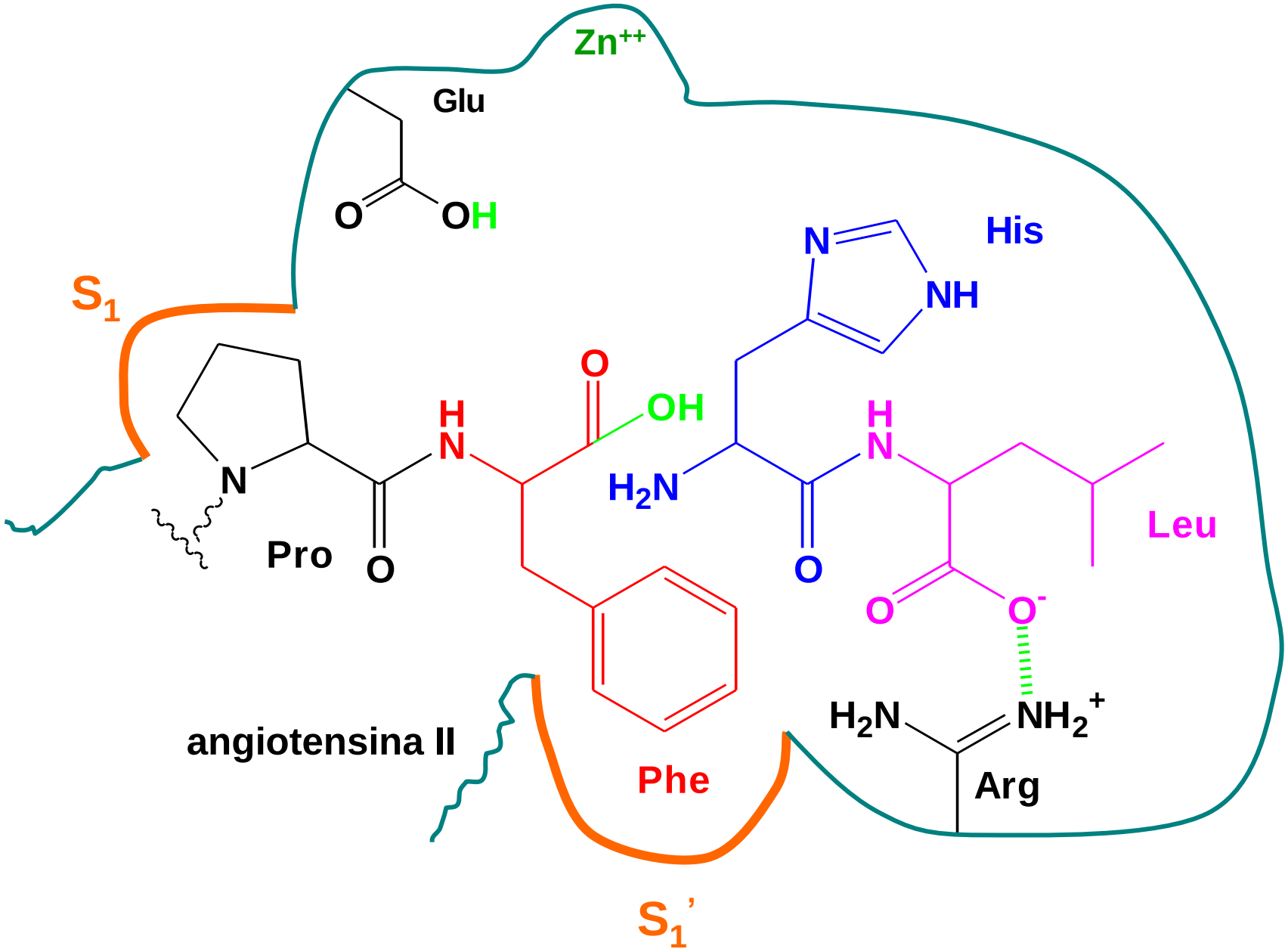
Modelo de ligação da carboxipeptidase



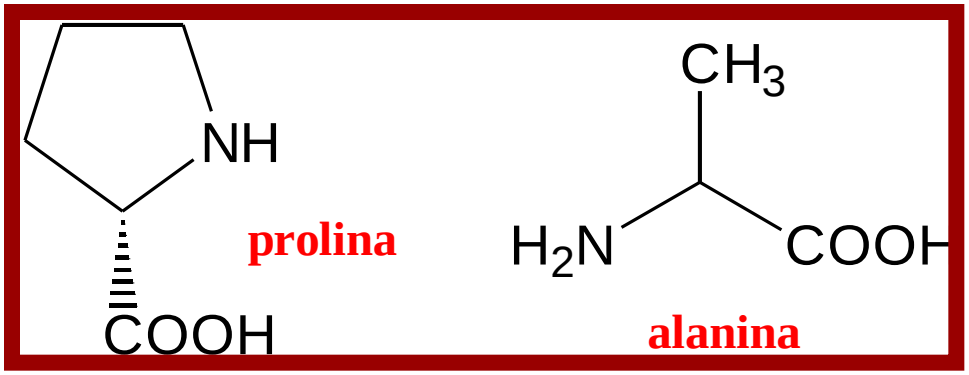
Reação catalisada pela ECA



Produtos da reação catalisada pela ECA



Requerimento estrutural mínimo para ligação e quebra pela ECA: ser tripeptídeo com COO^- livre ⇒ vários inibidores pequenos foram preparados

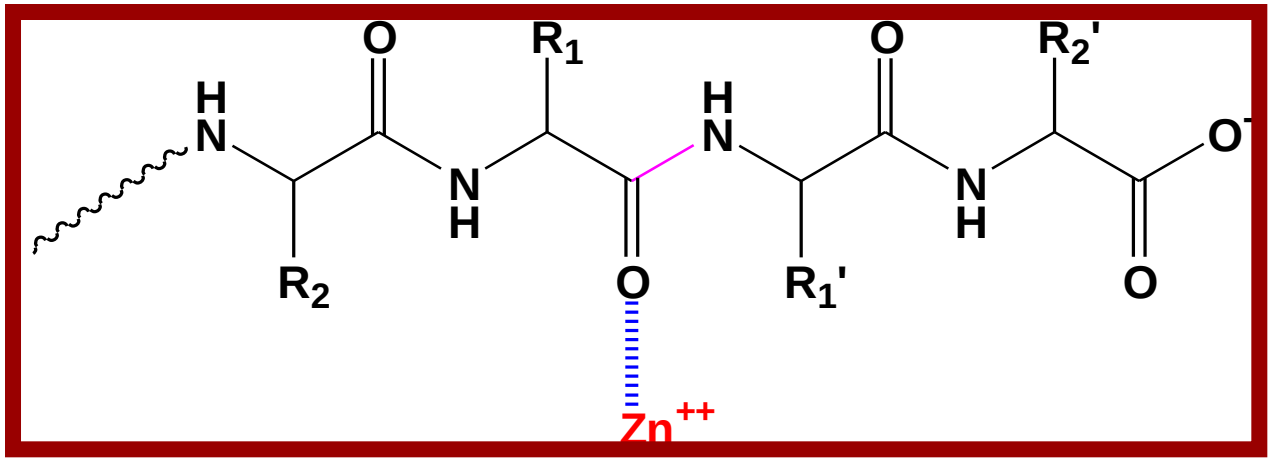


Melhor C terminal: prolina

Penúltima posição: alanina

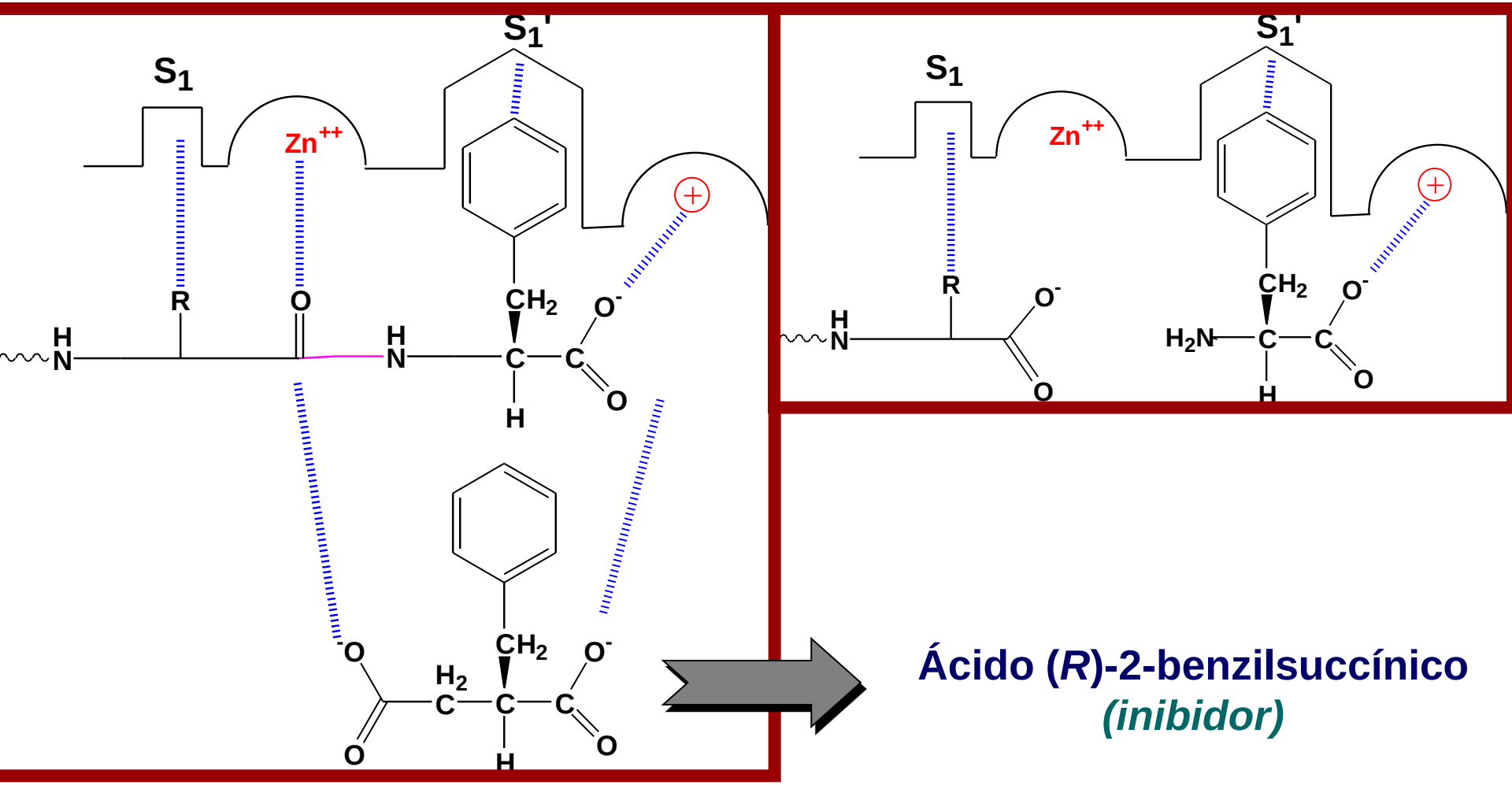
Antepenúltima posição: aminoácido aromático

Presença do Zinco é essencial para atividade da ECA



Comparação com carboxipeptidase A

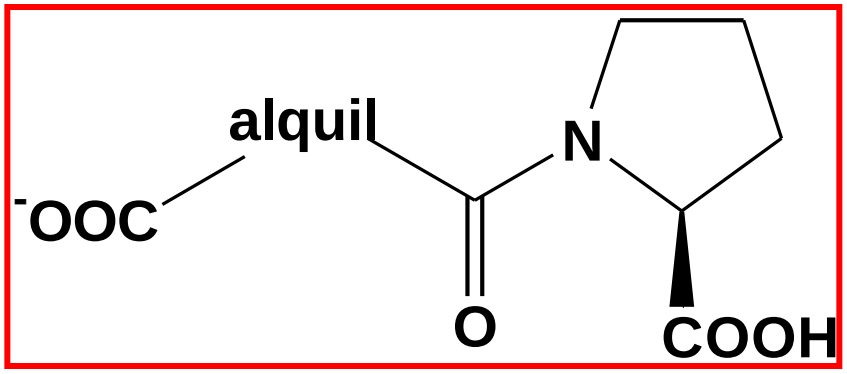
hidrólise



Ácido-(*R*)-2-benzilsuccínico (modelo)

Eficiência de uma prolina no C terminal na inibição da ECA

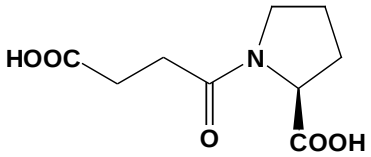
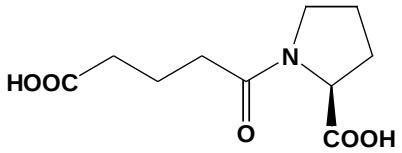
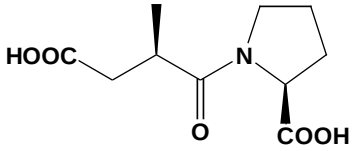
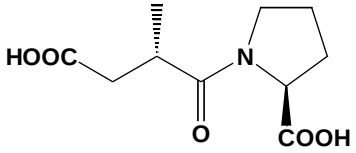
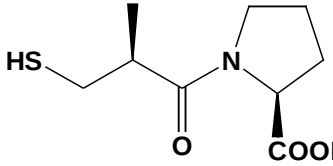
Testes de várias carboxialquilprolinas como inibidores da ECA



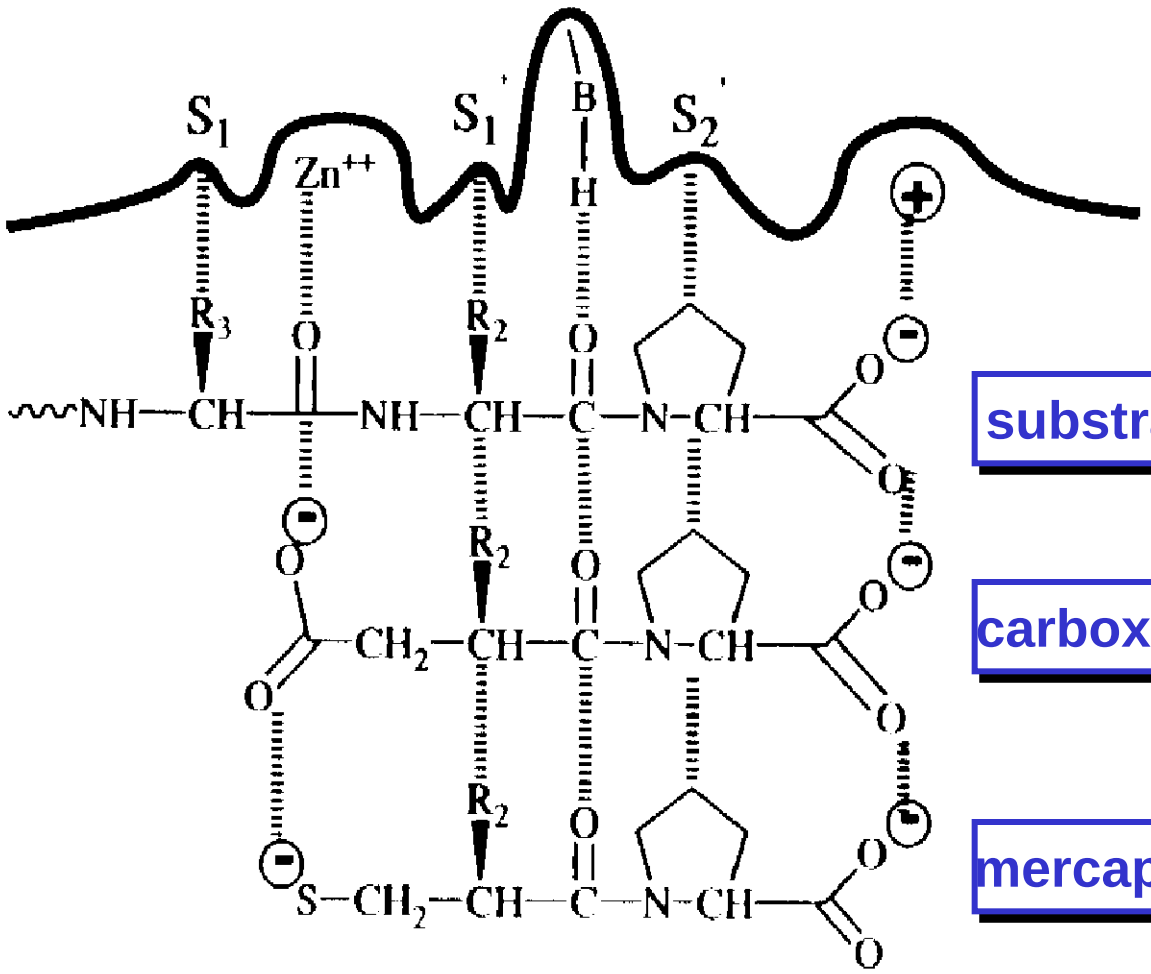
Atividade oral

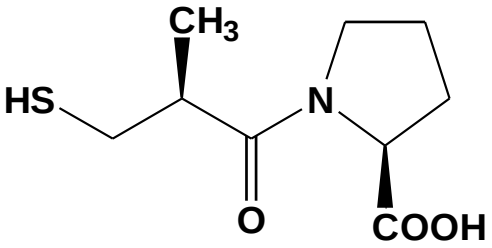
Atividades *in vitro* de inibidores da ECA

Estratégia:
aumentar a potência
a partir da estrutura
da
(*S*)-succinilprolina (2)

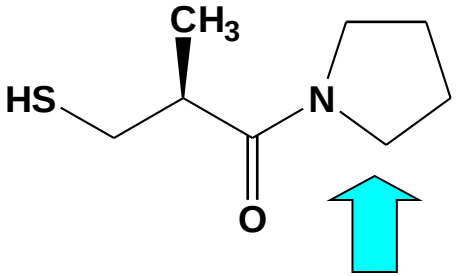
	Estrutura	IC_{50} (μM)
1	<Glu-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro (*teprotídeo*)	0,56
2		630
3		70
4		52
5		1470
6		0,023

captopril

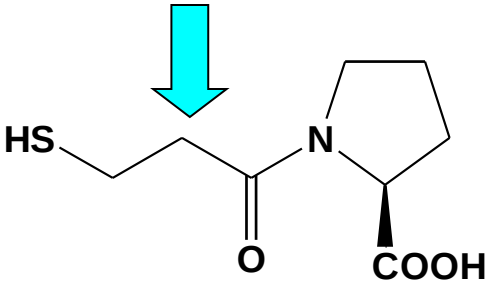

S1
S1'
S2'
Zn++
B
H
R3
R2
R2
R2
NH—CH—NH—CH—C—N—CH
CH2—CH—C—N—CH
S—CH2—CH—C—N—CH
substrato
carboxialquilprolina
mercaptoalquilprolina



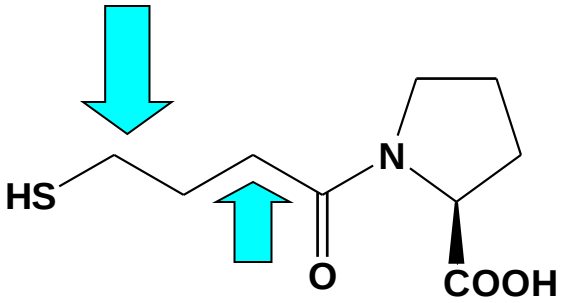
captopril **Ki = 1**



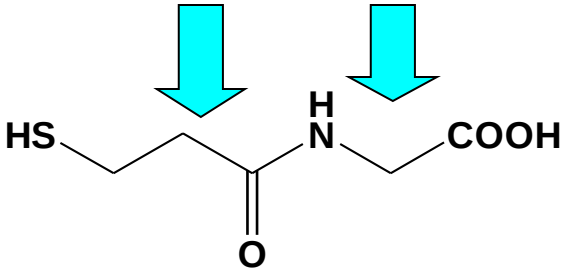
Ki = 12.500



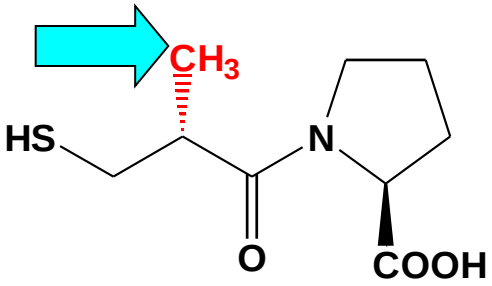
Ki = 10



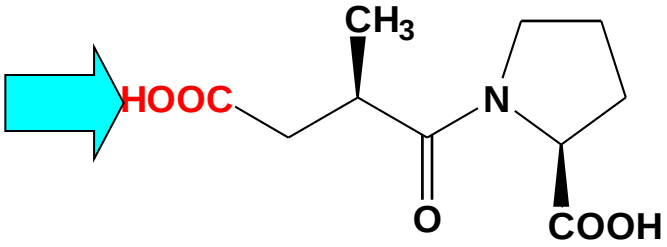
Ki = 12.000



Ki = 120

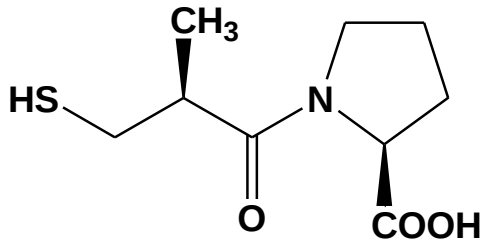


Ki = 120



Ki = 1.100

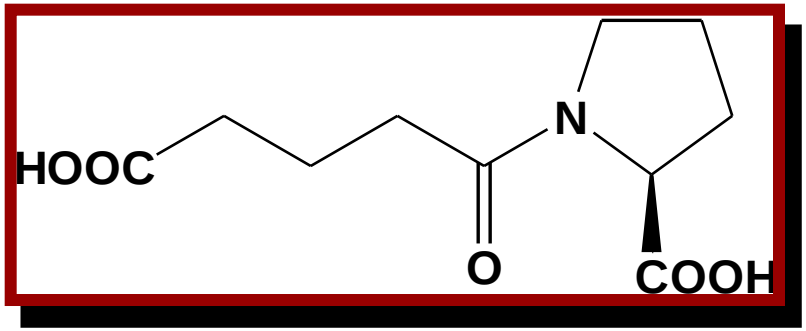
CAPTOPRIL
(Squibb)



- **Primeiro inibidor da ECA a ser comercializado**
- **Efeito contra hipertensão e ICC**
- **Normaliza 50% dos casos de hipertensão como monoterapia**
- **Efeitos adversos: erupções cutâneas, diminuição do paladar**
- **Hipertensão é assintomática: difícil adesão ao tratamento devido aos efeitos adversos**

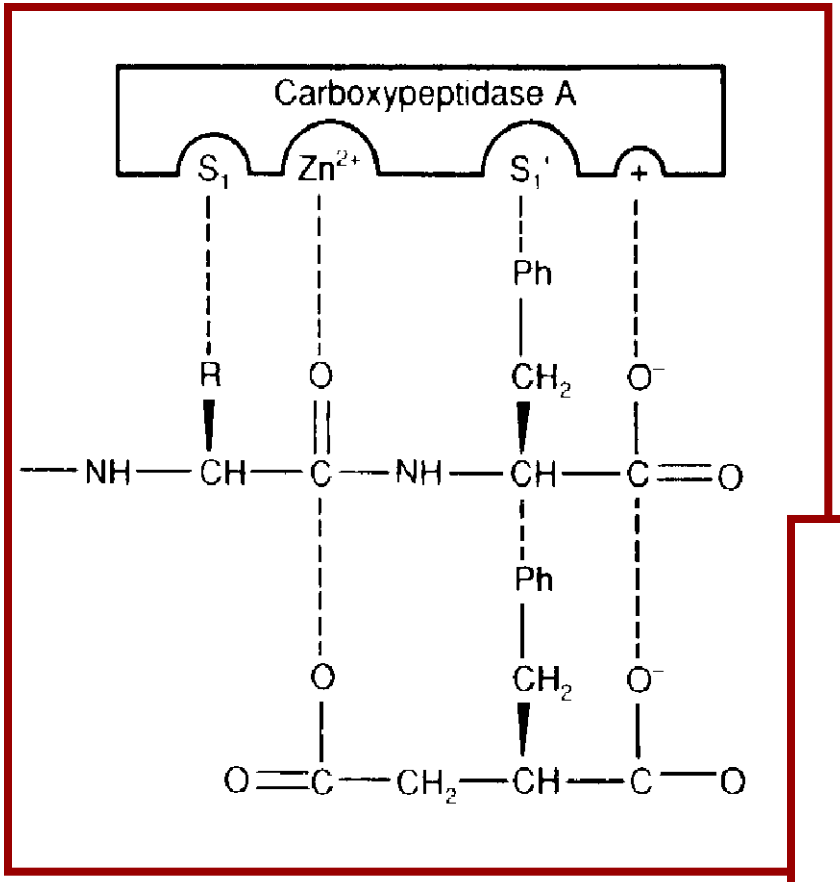
MERCK

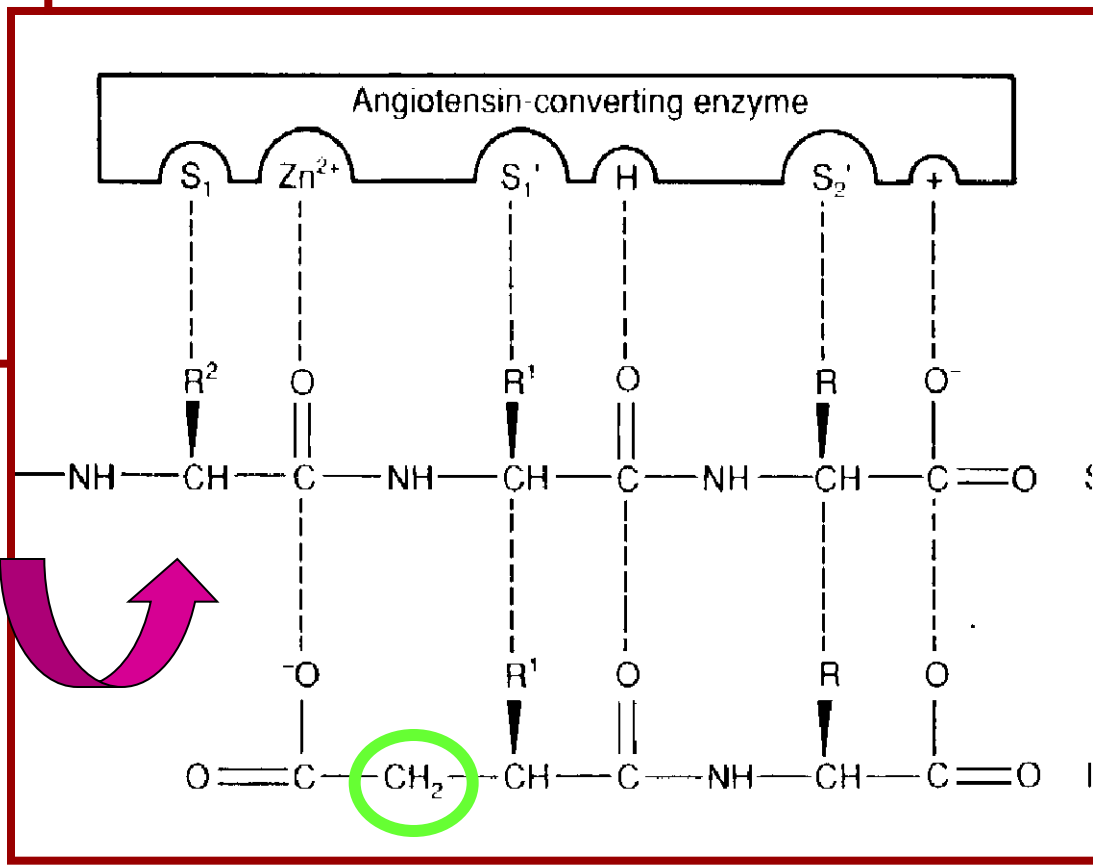
- **Efeitos adversos do captopril relacionados ao grupo tiol (-SH)**
- **Compostos com grupo -SH sofrem oxidação *in vivo* a dissulfetos**
- **Estratégia: aumentar a potência da glutarilprolina**

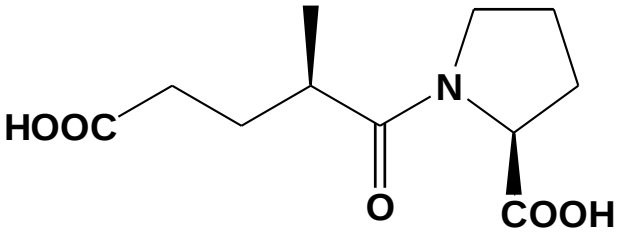


IC_{50} = 70 μM

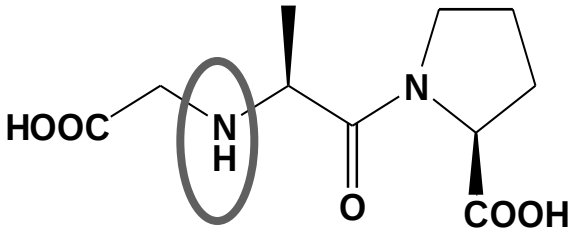
Elaborar uma molécula com maior número de interações com a ECA


Carboxypeptidase A
S1
Zn2+
S1'
+
Ph
R
O
CH2
O−
NH
CH
C
NH
CH
C
O
Ph
O
CH2
O−
O
C
CH2
CH
C
O

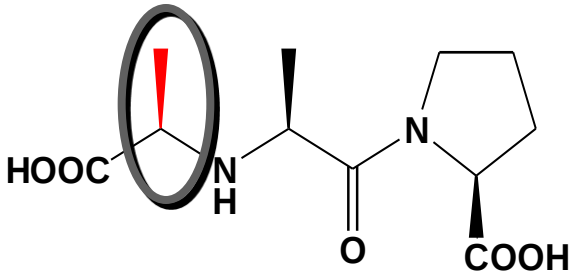

Angiotensin-converting enzyme
S1
Zn2+
S1'
H
S2'
+
R2
O
R1
O
R
O−
NH
CH
C
NH
CH
C
NH
CH
C
O
−O
R1
O
R
O
O
C
CH2
CH
C
NH
CH
C
O



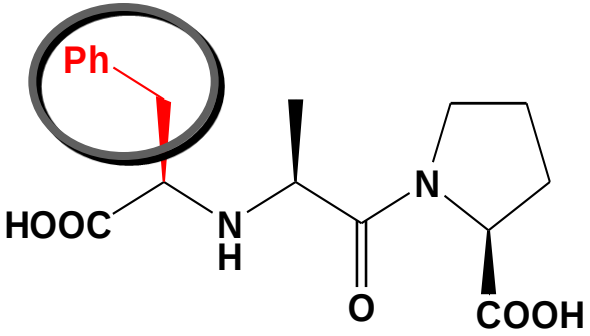
IC_{50} = 4,9 μM



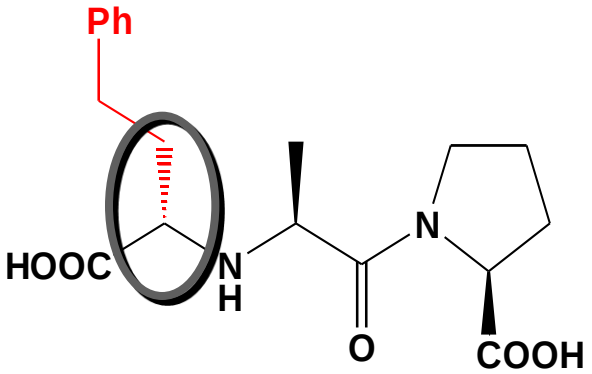
IC_{50} = 2,4 μM



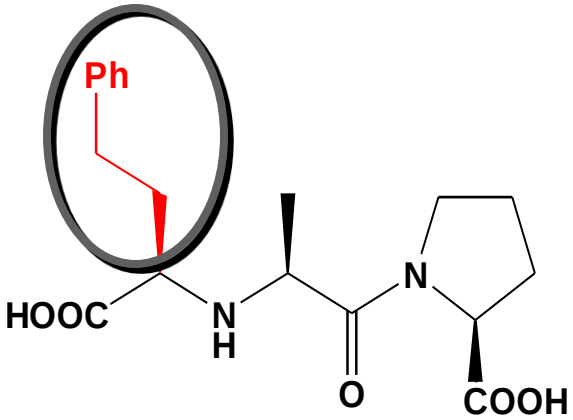
IC_{50} = 0,09 μM



IC_{50} = 0,04 μM



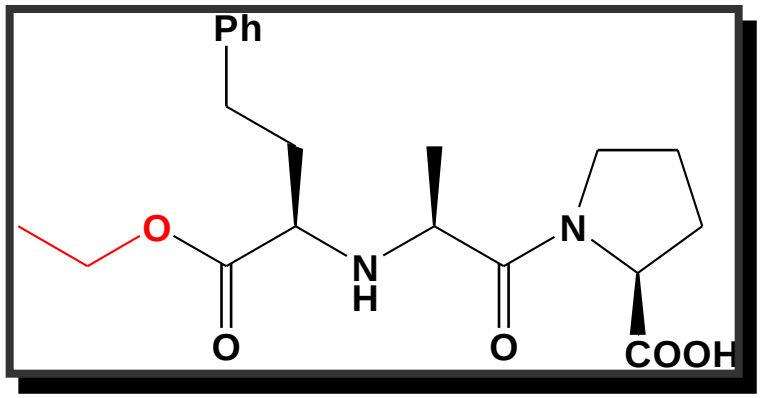
IC_{50} = 0,08 μM



IC_{50} = 0,001 μM

Fracamente absorvido
administração i.v.

ENALAPRILATO



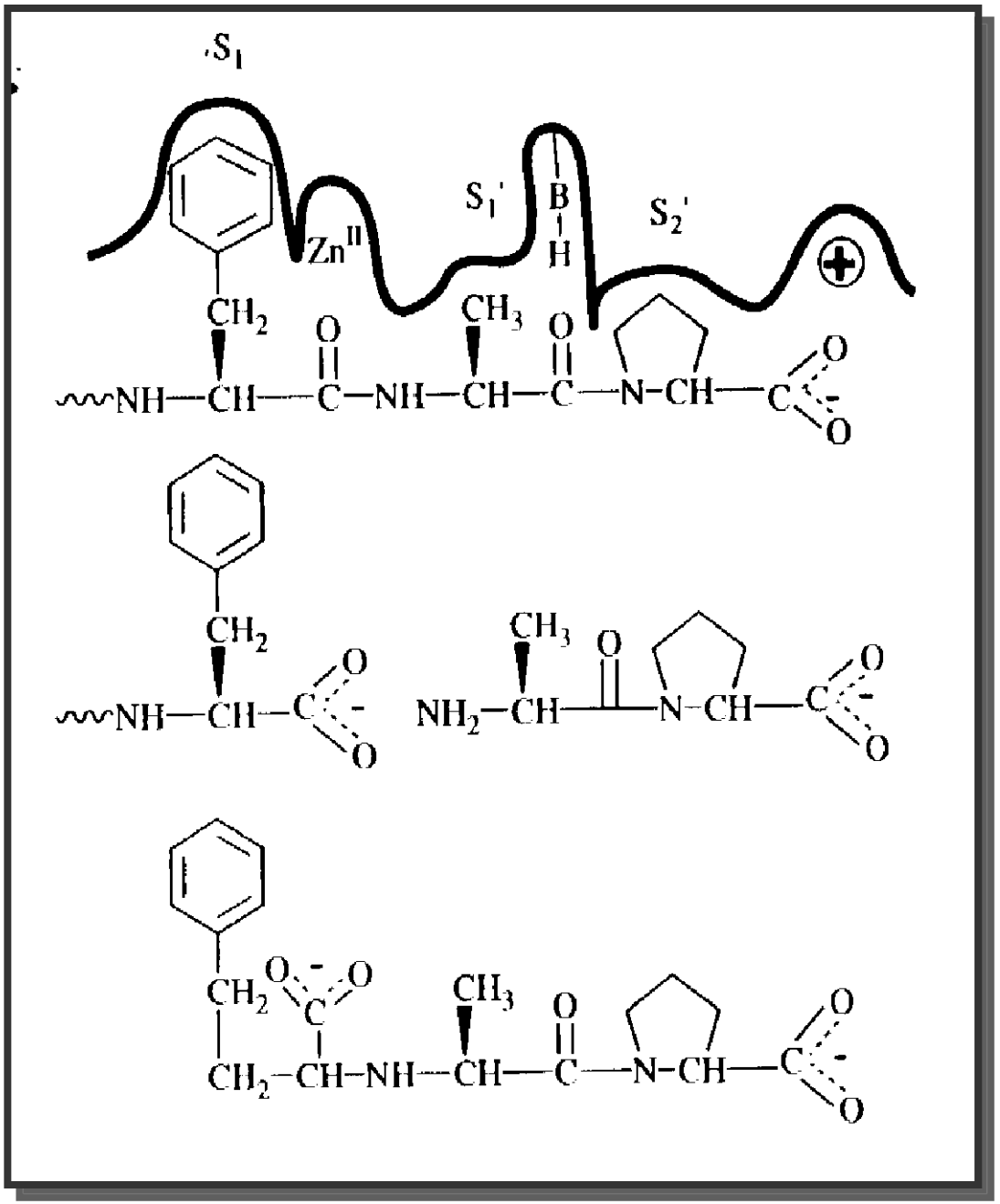
ENALAPRIL

PRÓ-FÁRMACO

excelente atividade oral

atravessa mais facilmente as membranas

enalapril
dose única diária (20-40mg)
captopril
doses 25-50 mg (2-3 X / dia)

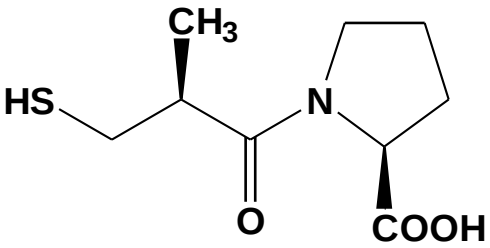


Modelo 2D do sítio ativo → captopril (Squibb) e enalapril (Merck)

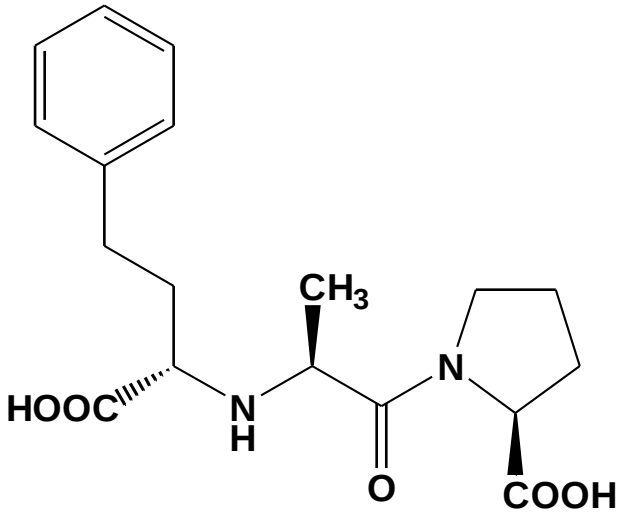
Roche → Possível melhorar a potência dos inibidores da ECA se a conformação bioativa pudesse ser usada numa molécula mais rígida

COOH
amida
Ligante do Zn^{++} → Grupos chave na atividade

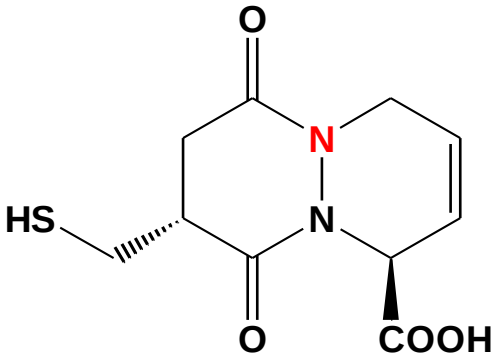
Planejamento de modelos rígidos, onde a orientação espacial destes grupos pudesse ser variada sistematicamente



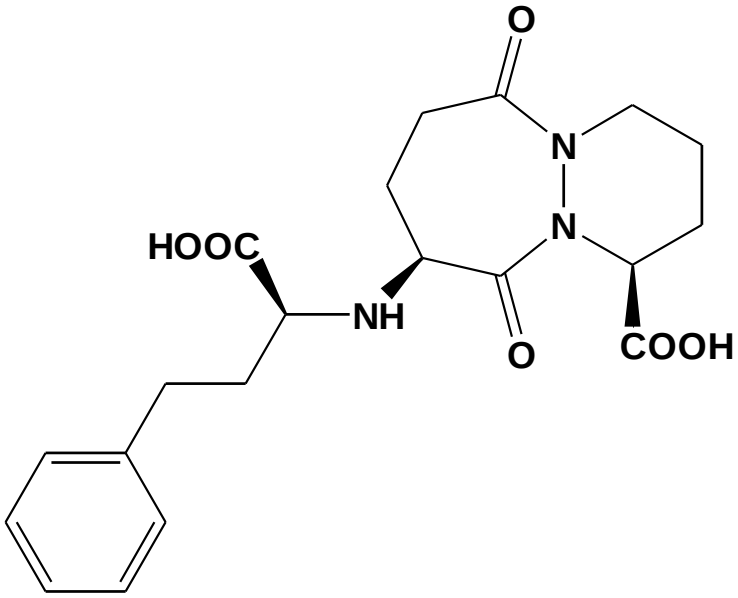
captopril
IC_{50} = 23,0 nM



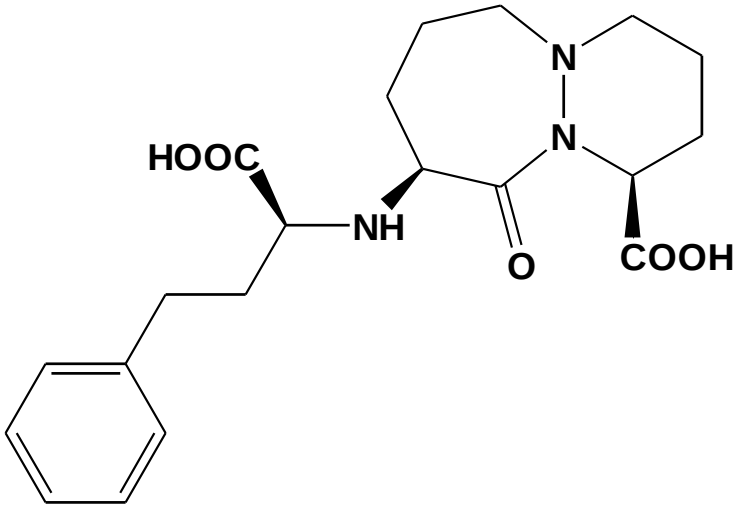
enalaprilato
IC_{50} = 1,0 nM



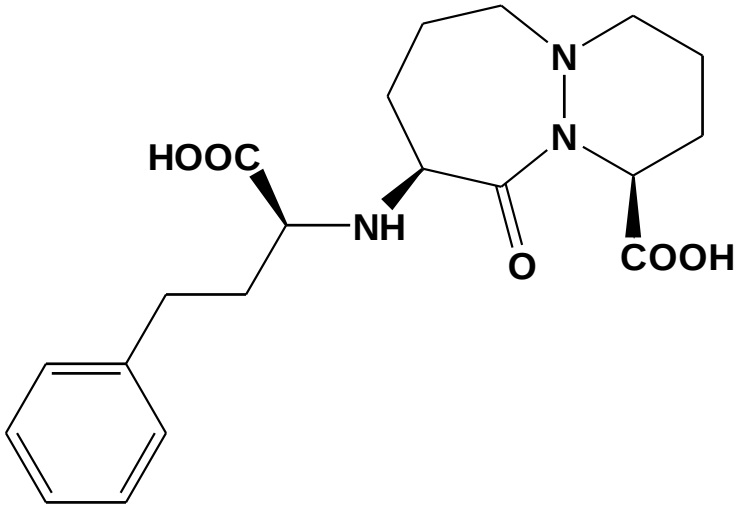
IC_{50} = 40,0 nM



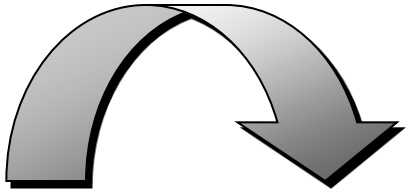
IC_{50} = 4,0 nM



cilazaprilato
IC_{50} = 1,6 nM

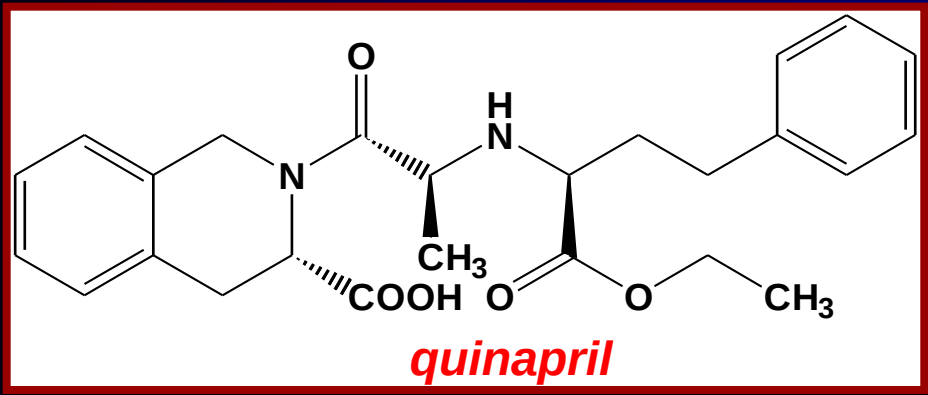


cilazaprilato

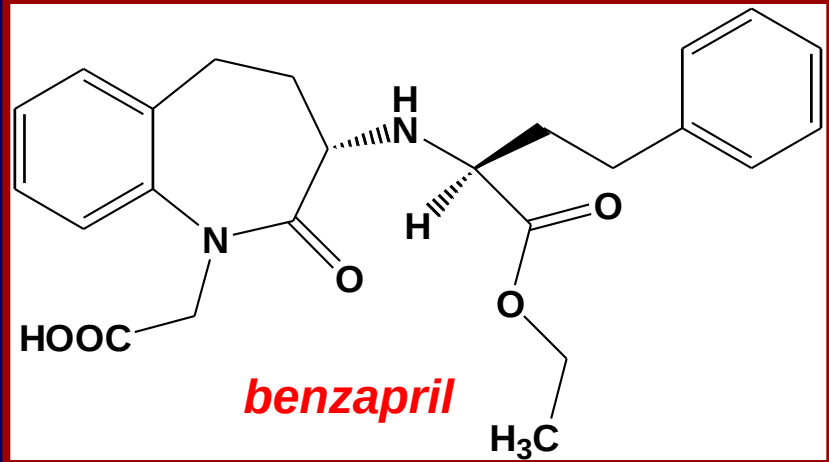


Maior especificidade pela ECA
Menor afinidade por outras neuropeptidases
Diminui incidência de tosse seca

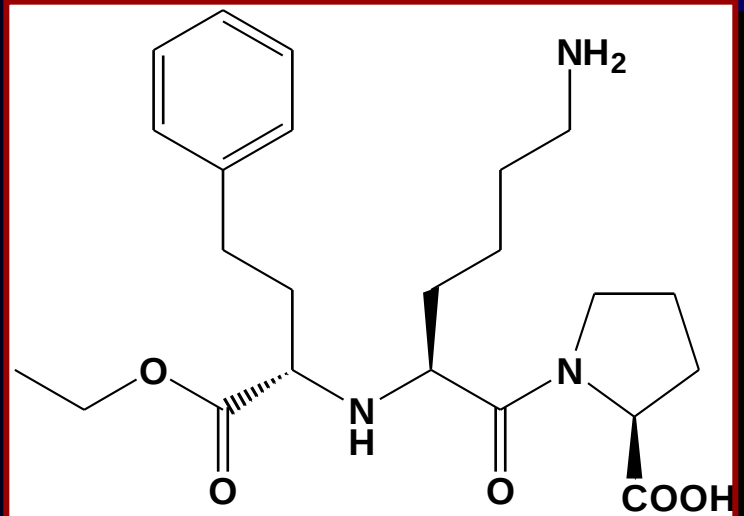
Outros dicarboxilatos inibidores da ECA (*S,S,S*)



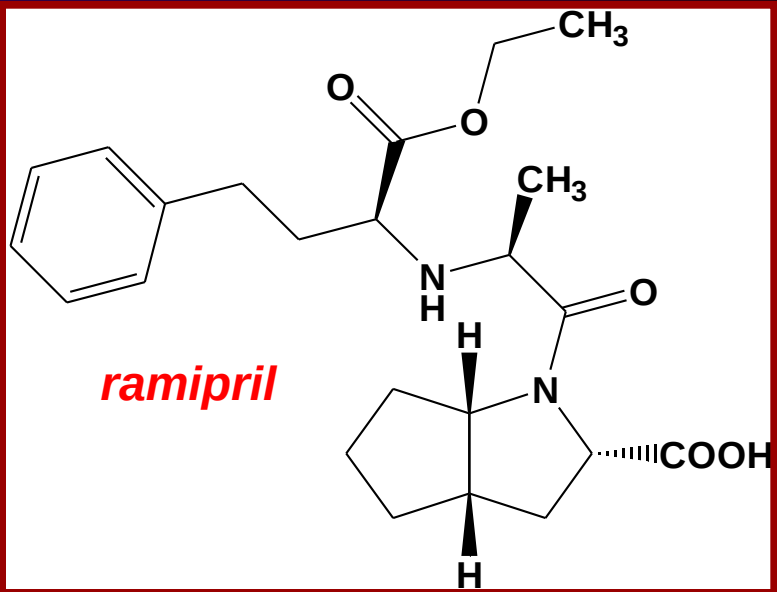
quinapril



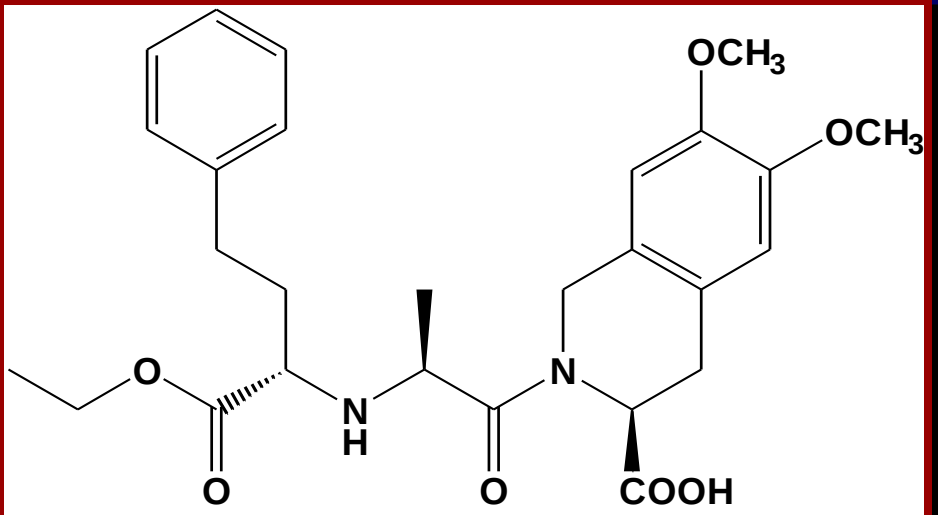
benzapril



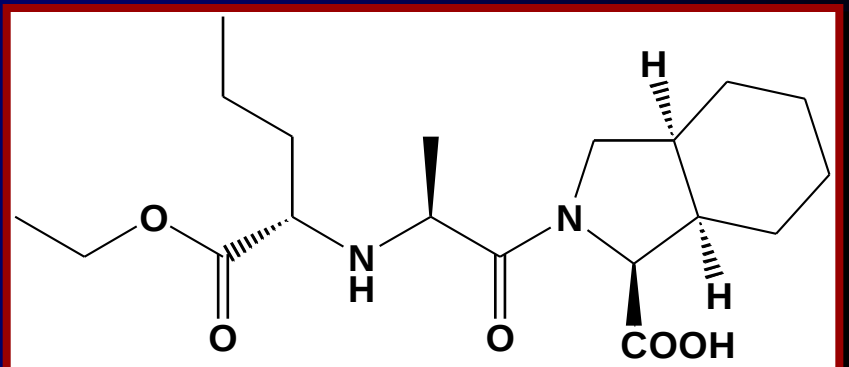
lisinopril



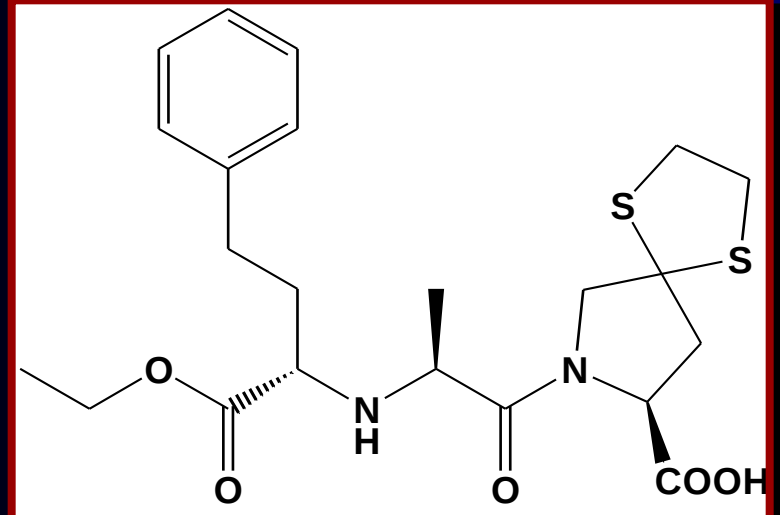
ramipril



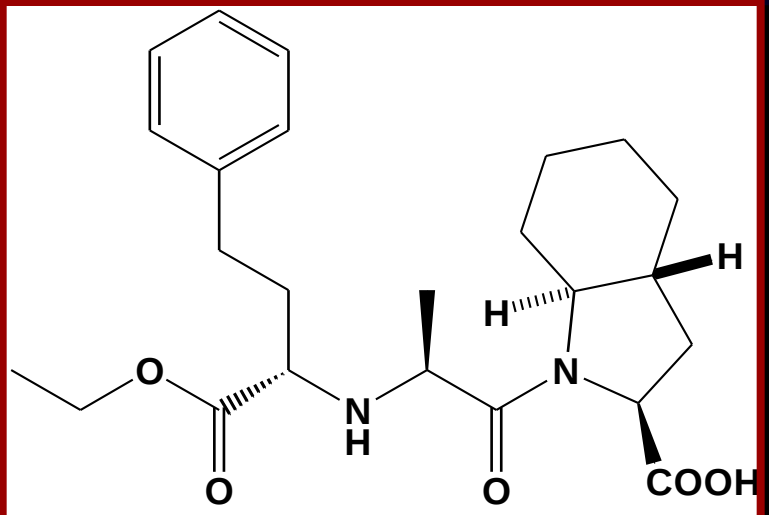
Moexipril



Perindopril

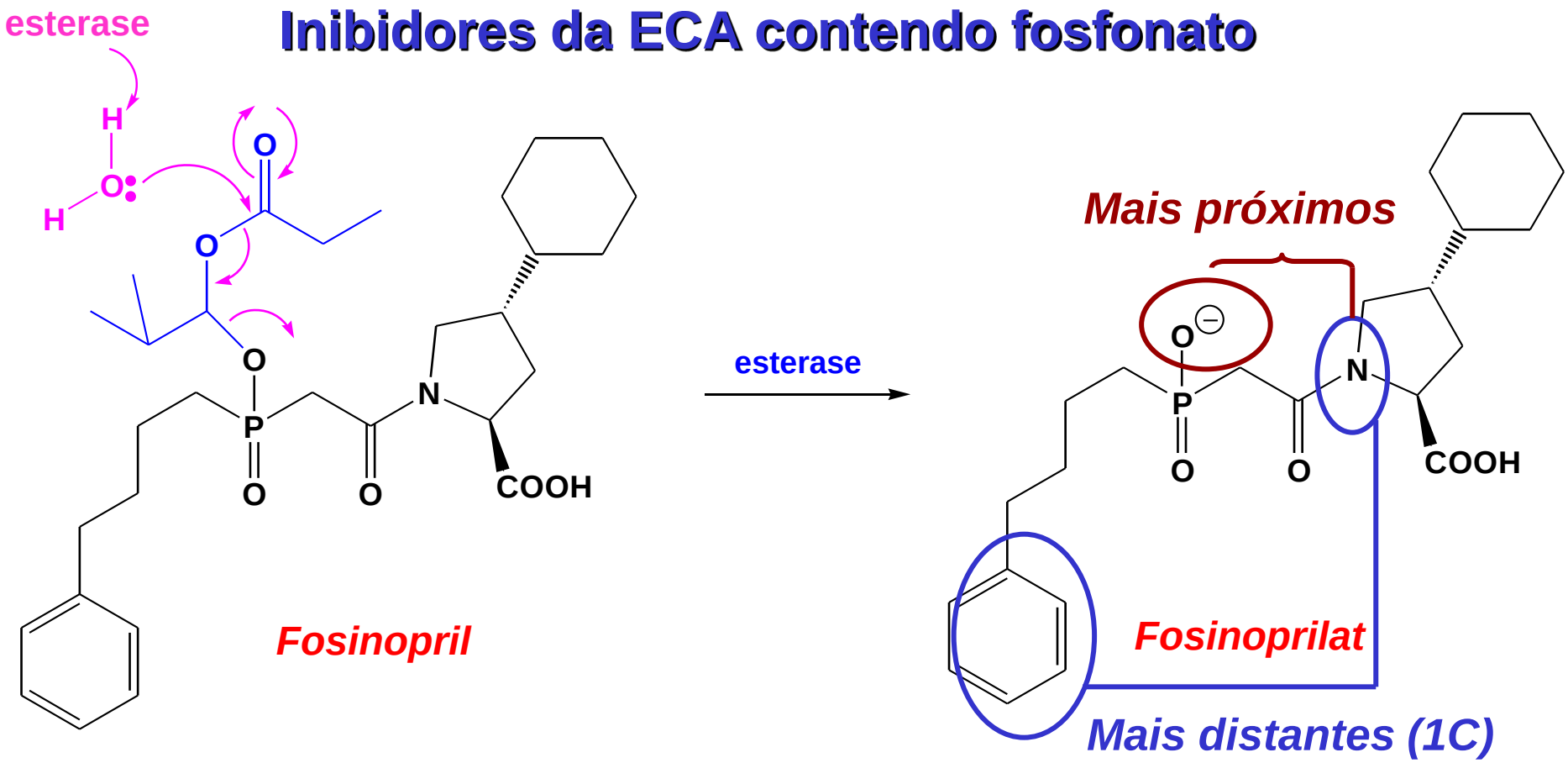


Espirapril



Trandolapril

Inibidores da ECA contendo fosfonato



Mais potente que captopril e menos potente que enalaprilato

ECA

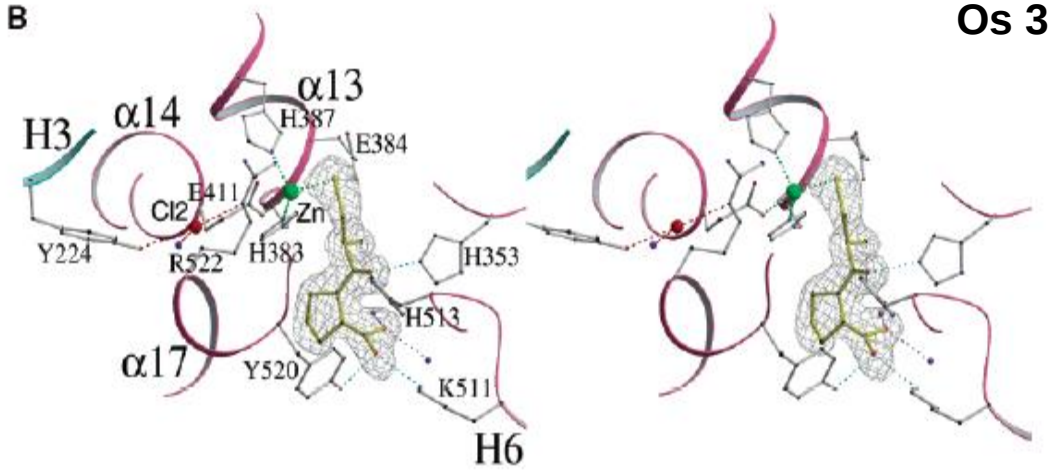
Domínio C – envolvido na regulação da pressão sanguínea – a inibição deste domínio é suficiente para tratamento de certas doenças cardio-renais

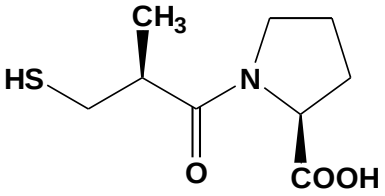
Domínio N – controle hematopoiético da diferenciação e proliferação de células tronco

A inibição de apenas um dos domínios inibe a hidrólise da angiotensina

A inibição dos 2 domínios é necessária para abolir a conversão da bradicinina em produtos inativos

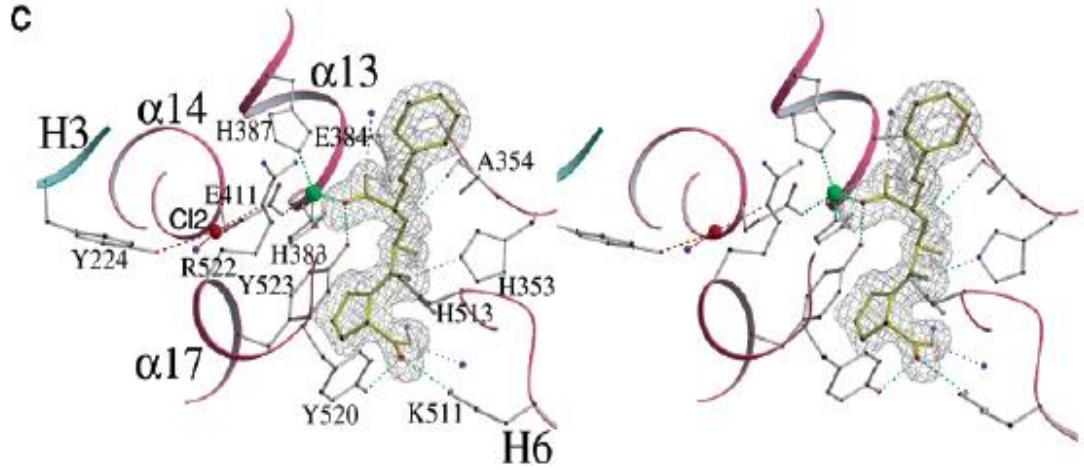
Os 3 são inibidores altamente potentes dos domínios N e C

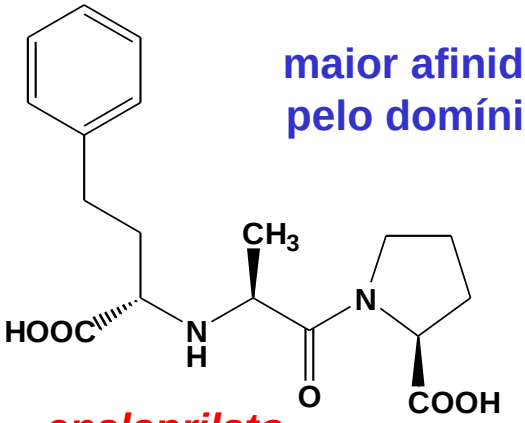




maior afinidade pelo domínio N

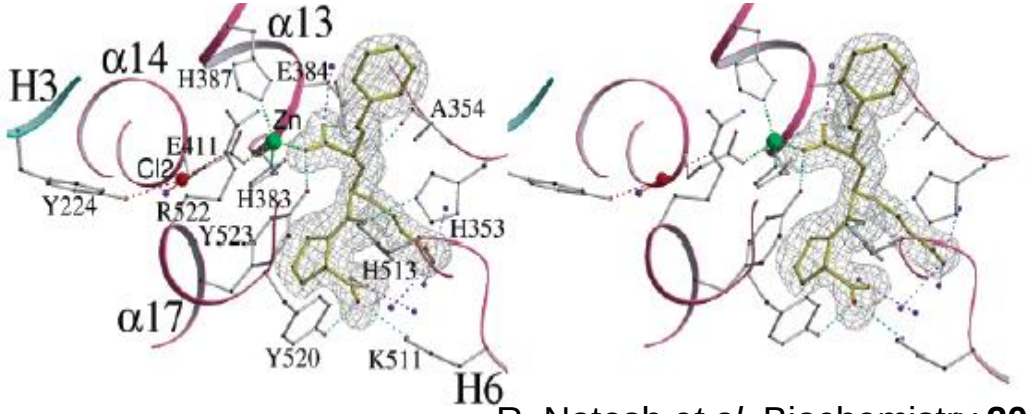
captopril

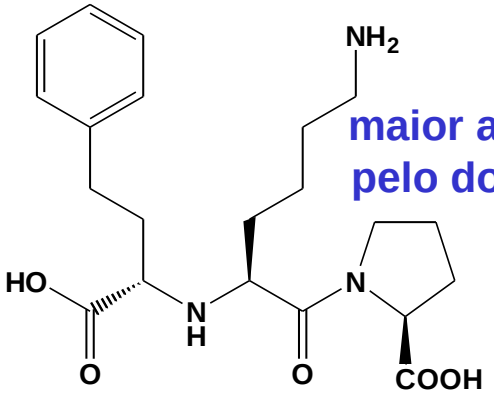




maior afinidade pelo domínio C

enalaprilato



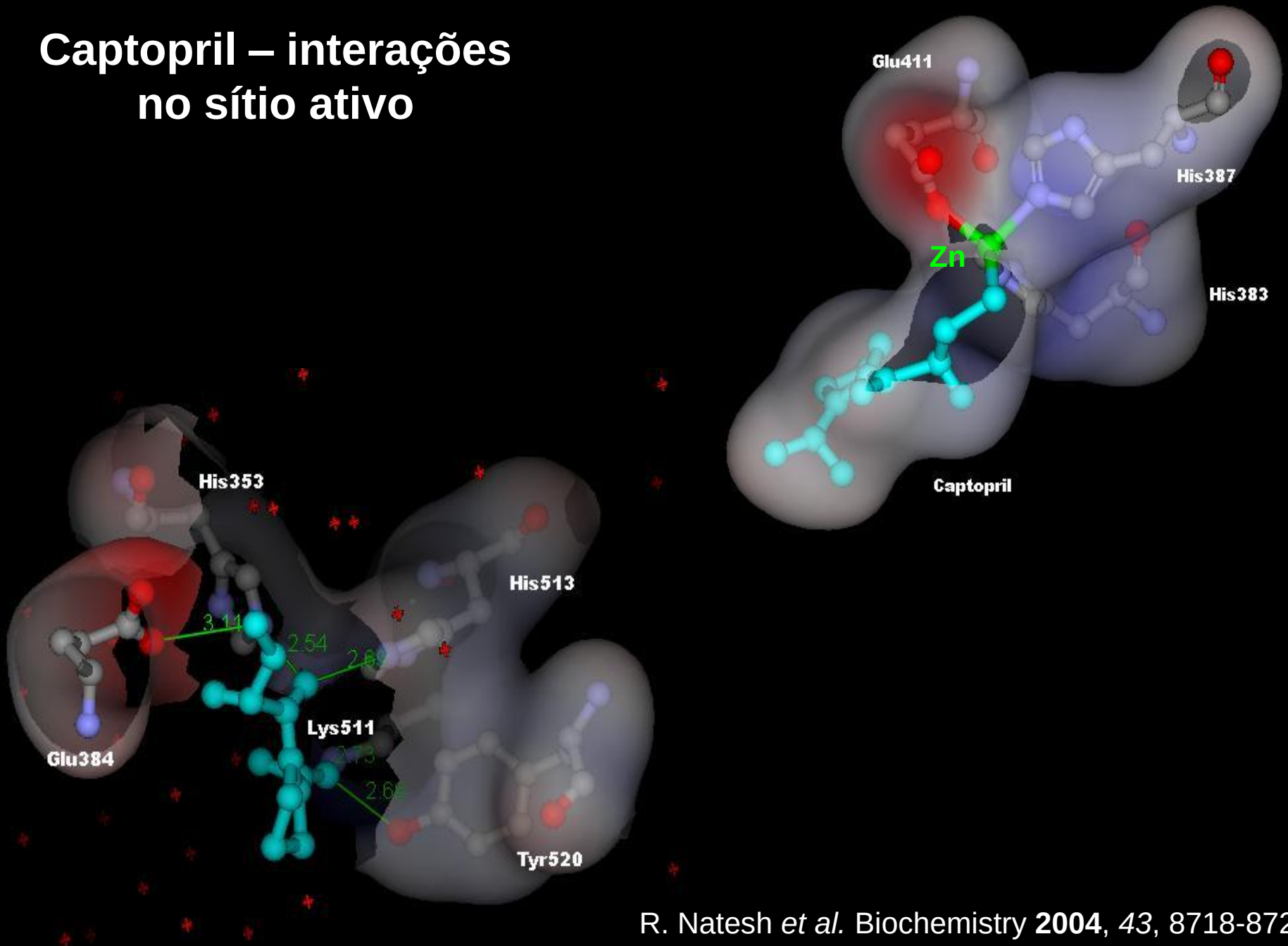


maior afinidade pelo domínio C

lisinopril

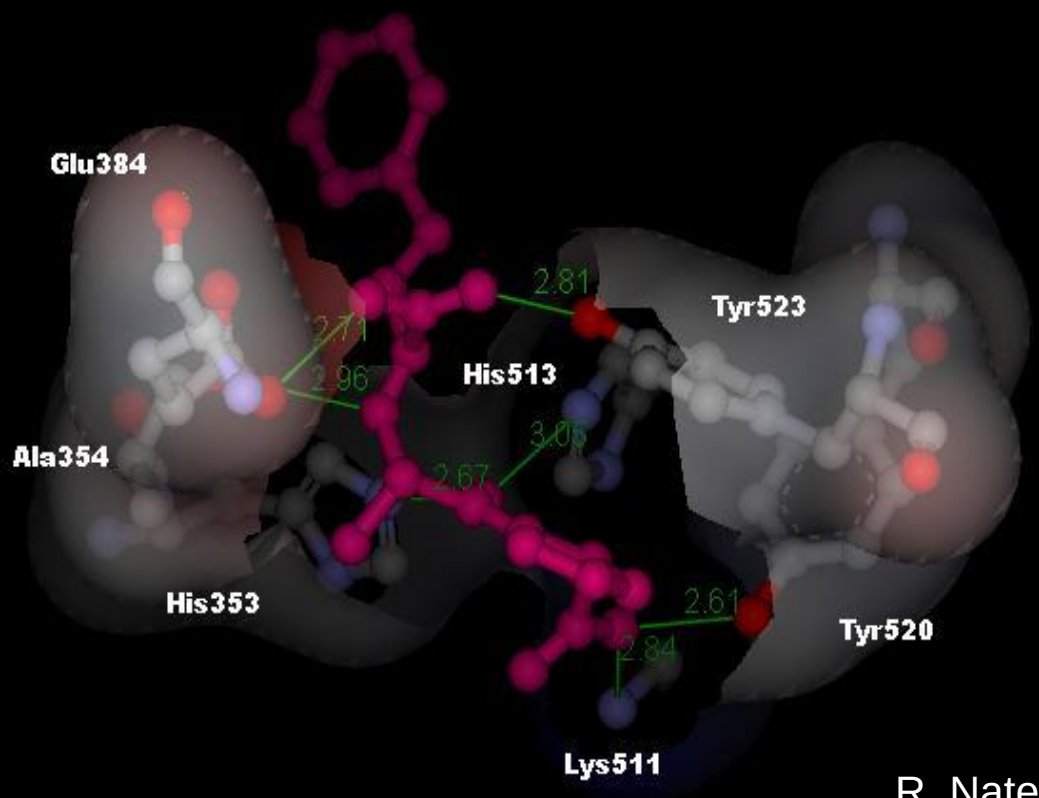
R. Natesh *et al.* Biochemistry **2004**, *43*, 8718-8724.

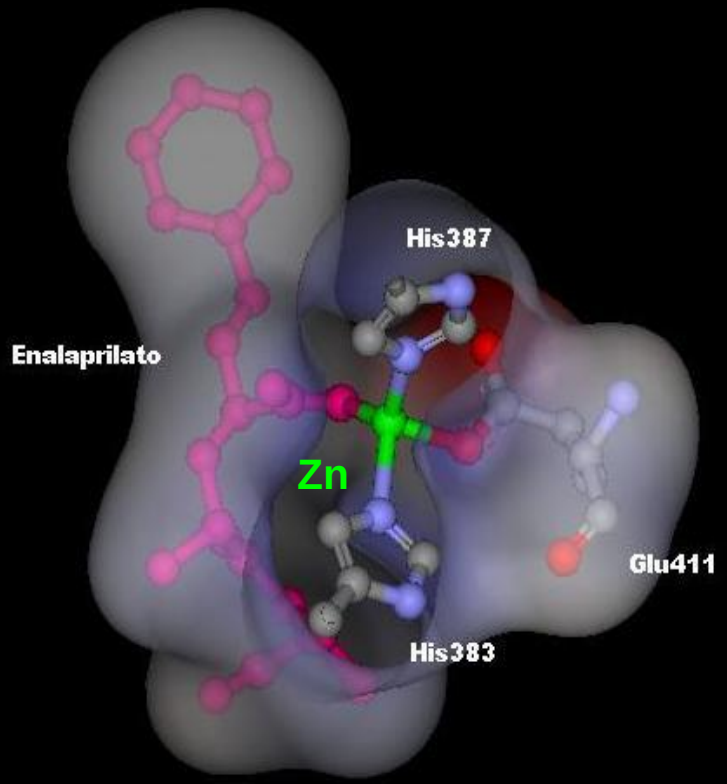
Captopril – interações no sítio ativo



R. Natesh *et al.* Biochemistry **2004**, *43*, 8718-8724

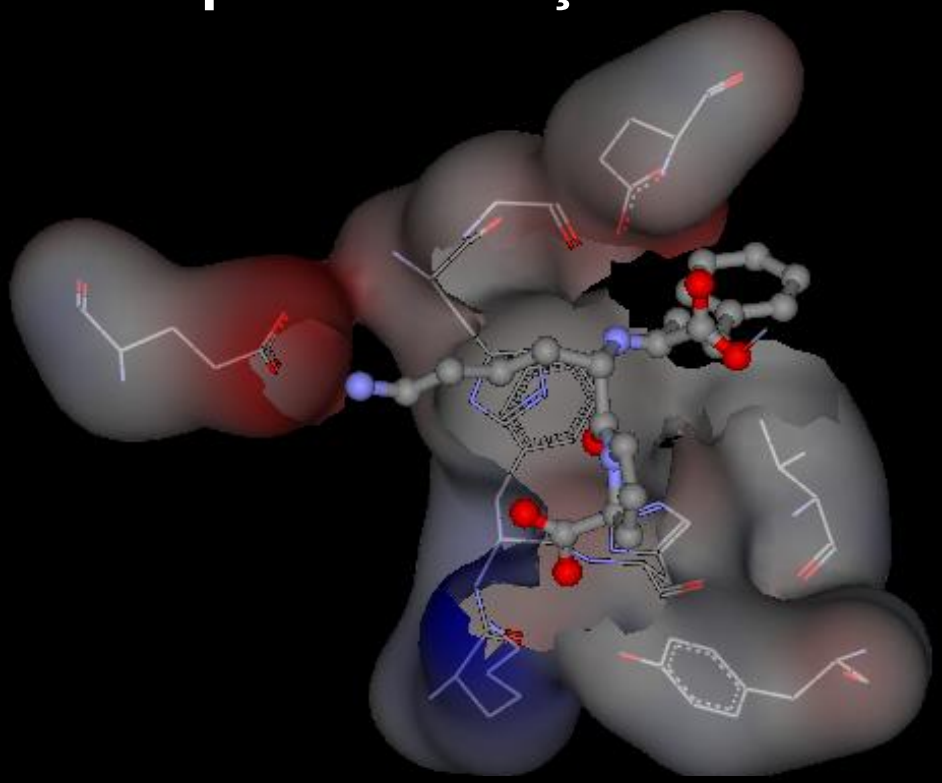
Enalaprilato – interações no sítio ativo

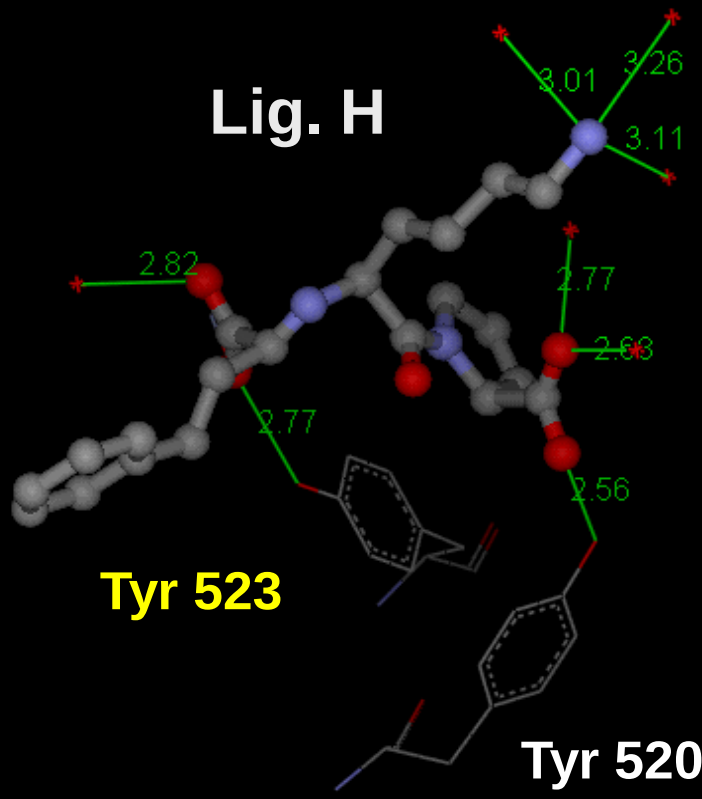




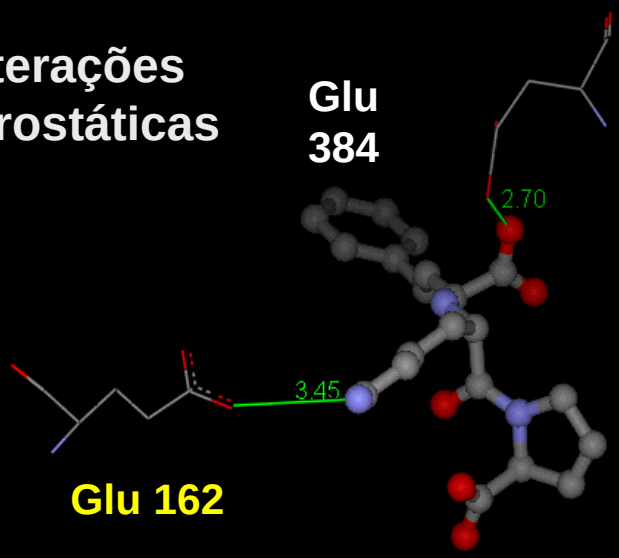
R. Natesh *et al.* Biochemistry **2004**, *43*, 8718-8724.

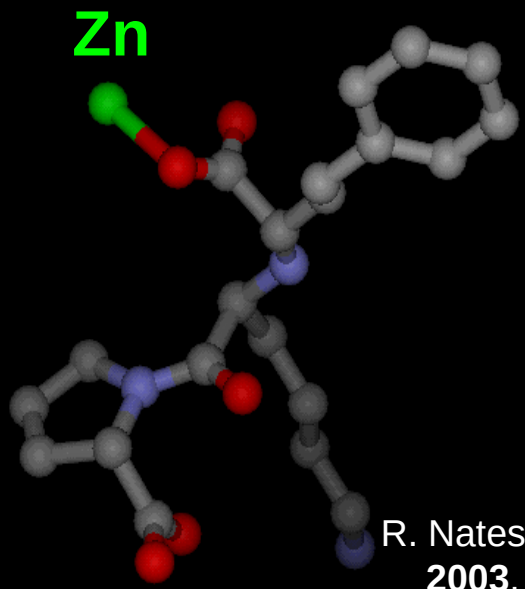
Lisinopril – interações no sítio ativo





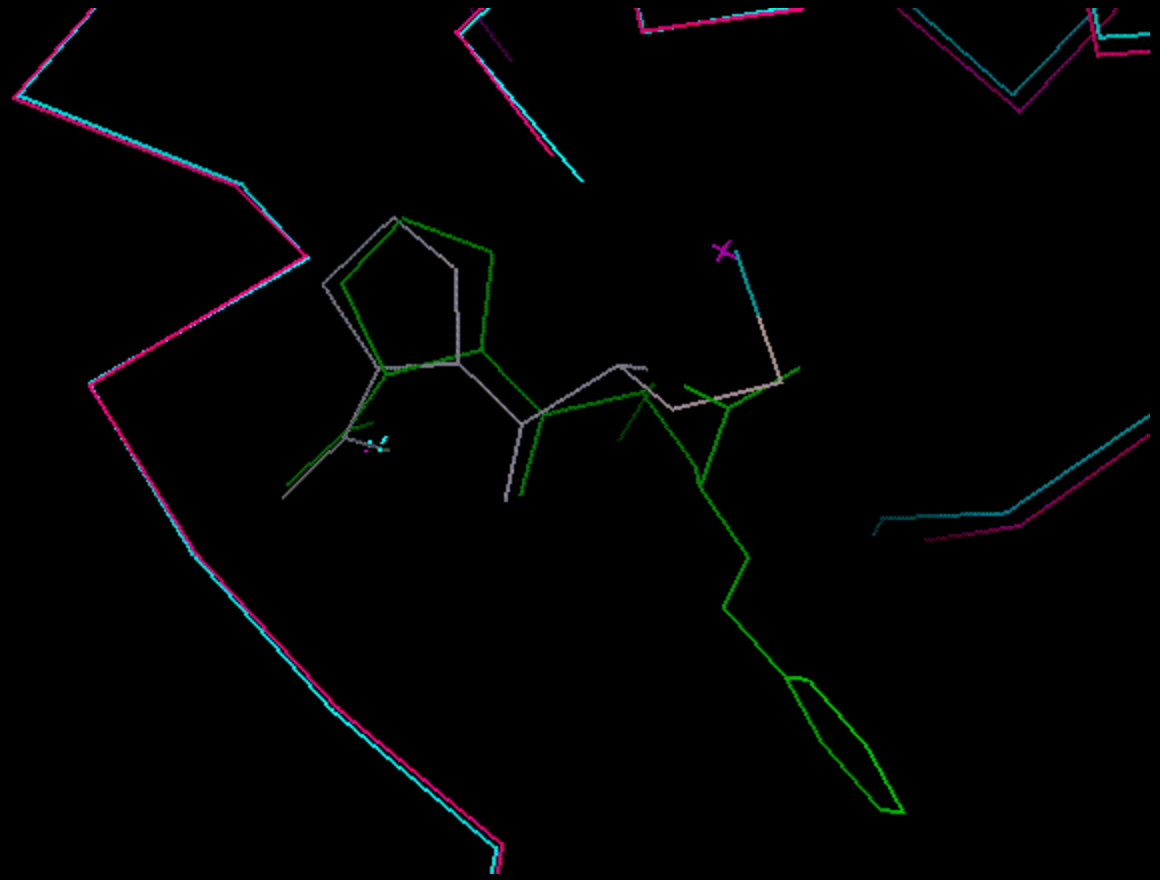
Interações eletrostáticas





R. Natesh *et al.* Nature **2003**, *421*, 551-554.

Sobreposição dos complexos enzima-inibidores



Lisinopril

Captopril

Eca-Captopril

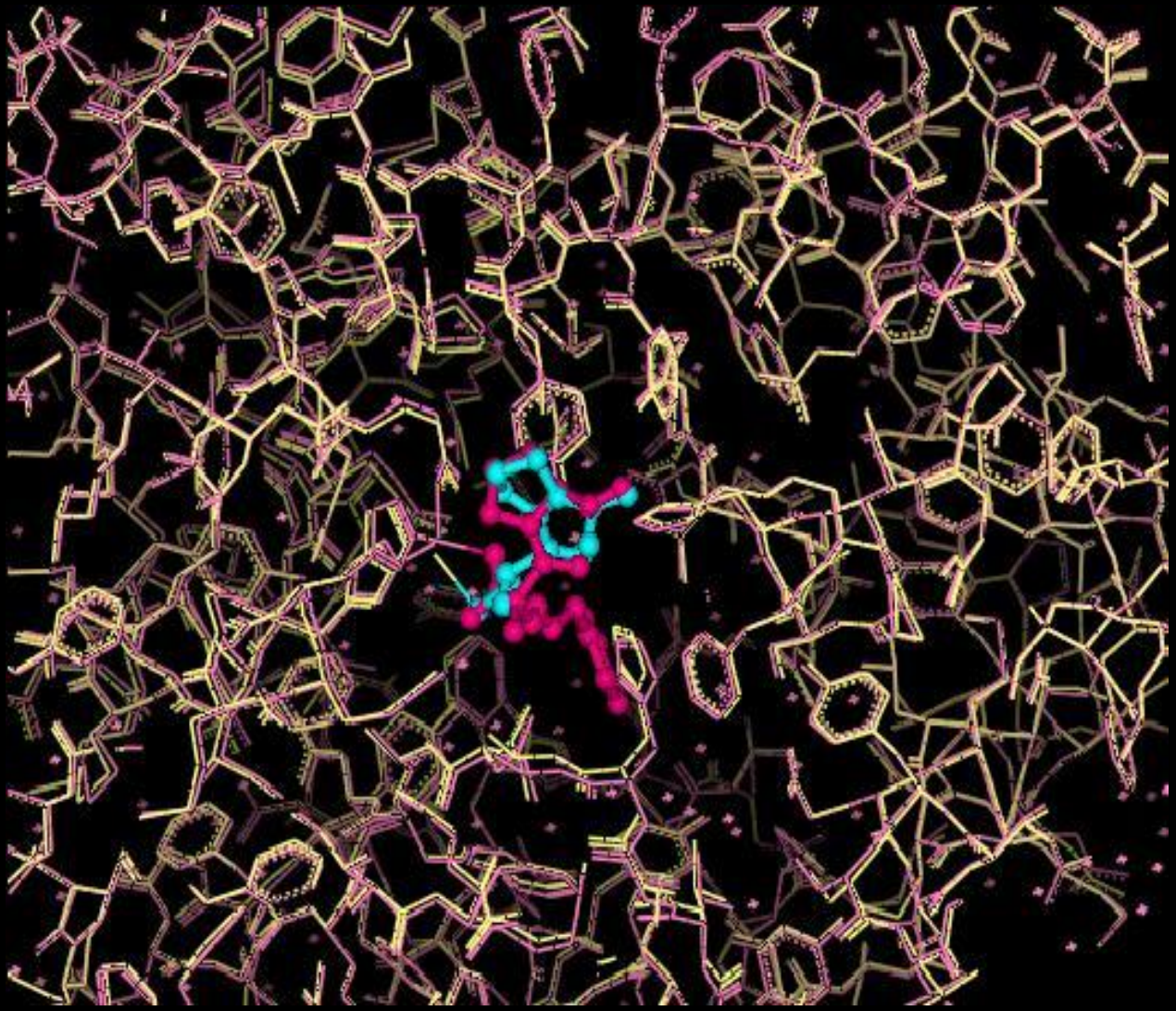
Eca-Lisinopril

R. Natesh *et al.* Nature **2003**, *421*, 551-554.

Sobreposição dos complexos enzima-inibidores

ECA-Enalaprilato

ECA-Captopril



R. Natesh *et al.* Biochemistry **2004**, *43*, 8718-8724.