



1

**BMF 0313**  
**PESQUISA E DESENVOLVIMENTO**  
**(P&D) DE MEDICAMENTOS**

Leticia Veras Costa Lotufo  
Departamento de Farmacologia  
[costalotufo@usp.br](mailto:costalotufo@usp.br)

  
**LaFarMar**



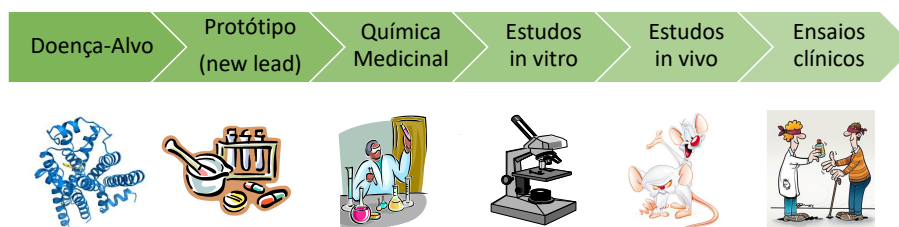
2

## Sumário

- P&D de medicamentos
- Estratégias de prospecção
- Estudos pré-clínicos
  - Ensaio *in-vitro*
  - Ensaio em animais
    - Farmacologia
    - Toxicologia
- Estudos Clínicos
  - Eficácia e segurança
- Reposicionamento de Fármacos

3

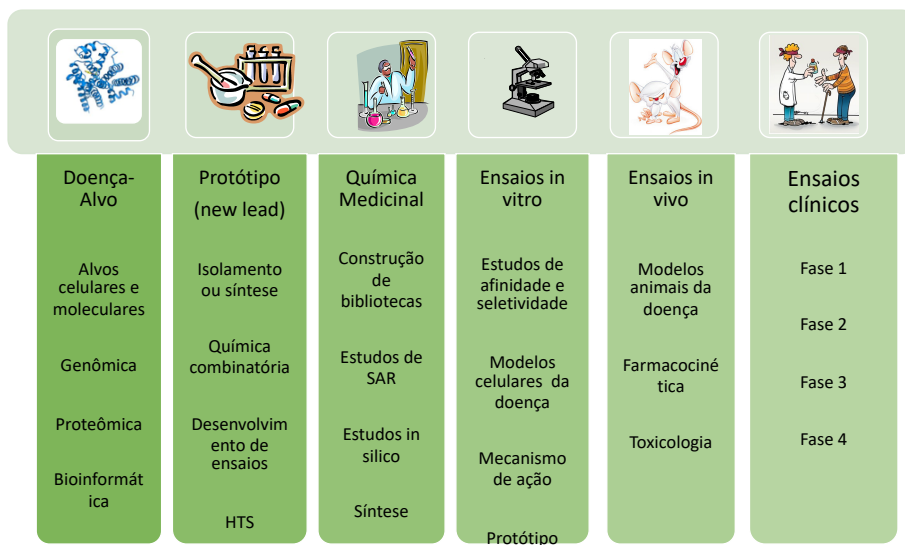
## P&D DE MEDICAMENTOS



- 10.000 compostos = 1 novo medicamento
- O processo dura até 15 anos
- Extremamente caro (pode chegar a 1 bilhão de dólares)

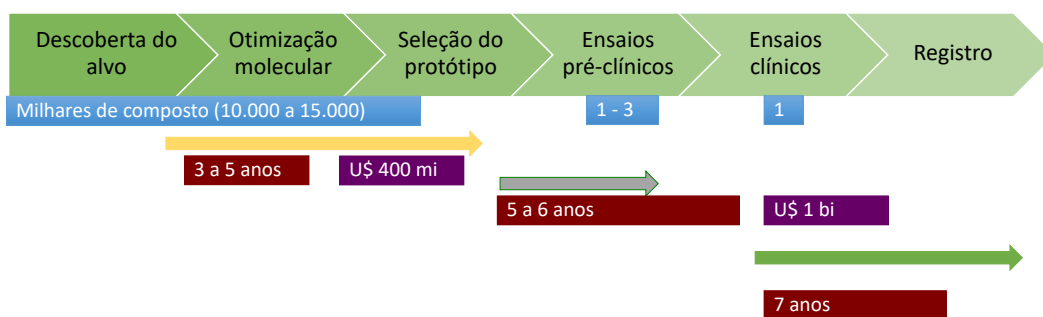
4

## P&D DE MEDICAMENTOS



5

## P&D DE MEDICAMENTOS:



6



Doença-Alvo

Alvos celulares  
e moleculares

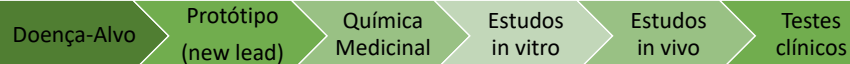
Genômica

Proteômica

Bioinformática

## ALVO MOLECULARES:

- Doença alvo
  - Quais os sintomas?
  - Qual a causa?
  - Qual o órgão alvo?
  - Qual a fisiopatologia?
  - Qual ou quais a(s) rota(s) bioquímica(s) envolvida(s)?
- Determina aplicação terapêutica



7



Doença-Alvo

Alvos celulares  
e moleculares

Genômica

Proteômica

Bioinformática

## ALVO MOLECULARES:

### Distribuição dos fármacos/alvo:

- Receptores acoplados a proteína G – 45%
- Enzimas - 28%
- Hormônios - 11%
- Canais iônicos – 5%
- Receptores nucleares – 2%



8



## ALVO MOLECULARES:

Descoberta de novos alvos:

- Determinação do alvo de ação de moléculas bioativas
- A contribuição de genômica
  - 35000 a 50000 genes
  - Genes envolvidos nas doenças
  - Farmacogenômica – importância dos polimorfismos



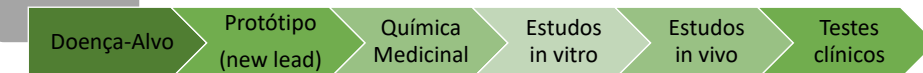
9



## ALVO MOLECULARES:

Descoberta de novos alvos:

- Proteômica
  - Compreensão das interações moleculares
  - Revolução tecnológica
- Bioinformática
  - Viabiliza o estudo de plataformas de dados complexos
  - Integração de dados



10



Protótipo  
(new lead)

Isolamento ou  
síntese

Química  
combinatória

Desenvolvi-  
mento de ensaios

HTS

## PROTÓTIPO:

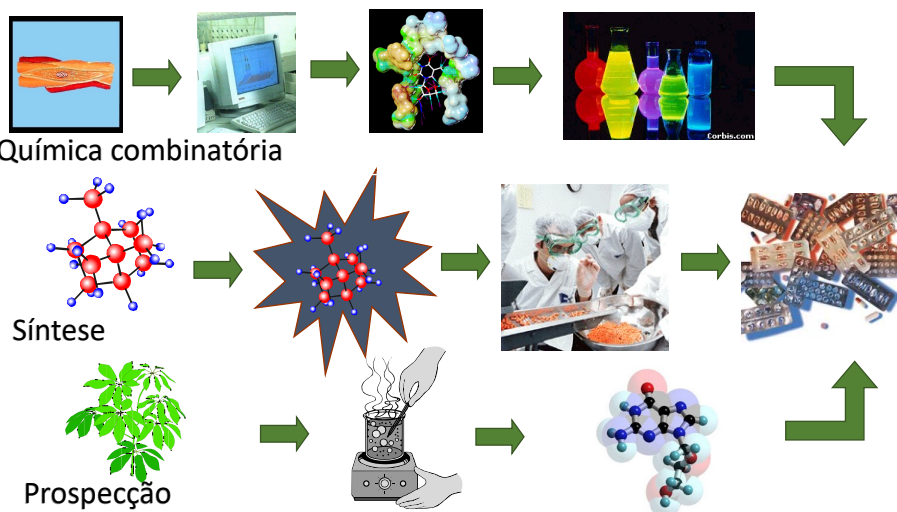
- Screening de bibliotecas (naturais ou sintéticas)
- Modificação molecular
- Desenho racional
- Metabolismo
- Acaso (*Serendipity*)

*De onde vem as moléculas?*



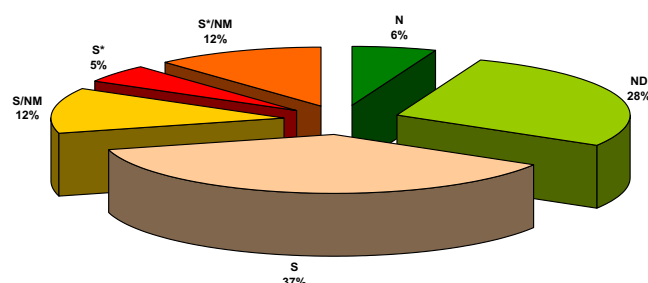
11

## NOVOS PROTÓTIPOS:



12

## FONTES CONVENCIONAIS:



Novas entidades químicas, 01/1981-06/2006 distribuídas pela fonte (N = 974)

**63% DAS MOLÉCULAS DESCOBERTAS SÃO BASEADAS EM PROTÓTIPOS NATURAIS.**

Newman & Cragg, J. Nat. Prod., 2007, 70, 461-477

13

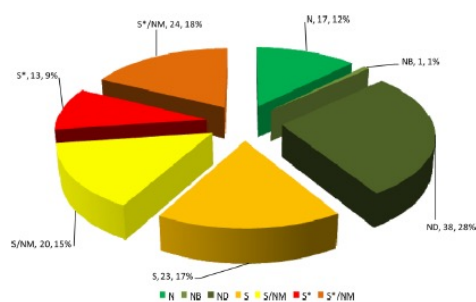


Figure 9. Small-molecule anticancer drugs 1940s–2014; n = 136.

Table 1. Codes Used in Analyses

code	brief definition/year
B	Biological macromolecule, 1997
N	Unaltered natural product, 1997
NB	Botanical drug (defined mixture), 2012
ND	Natural product derivative, 1997
S	Synthetic drug, 1997
S*	Synthetic drug (NP pharmacophore), 1997
V	Vaccine, 2003
/NM	Mimic of natural product, 2003

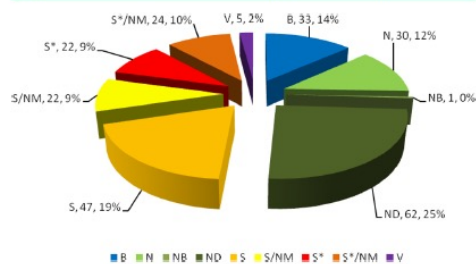


Figure 10. All anticancer drugs 1940s–2014 by source; n = 246.

Newman & Cragg, 2016. J. Nat. Prod., 79:629.

14

## O IMPACTO DOS PRODUTOS NATURAIS NA P&D DE MEDICAMENTOS



- Os PN correspondem 60% do mercado farmacêutico.
- 70% dos antibióticos em uso clínico são PN ou derivados (U\$ 32 bilhões)
- Novas entidades químicas (52% são PN ou derivadas de PN);
- PN e fármacos relacionados são usados para tratamento de 80% de todas as doenças (48/55);
- 84 de 150 das drogas mais prescritas são PN ou fármacos relacionados.

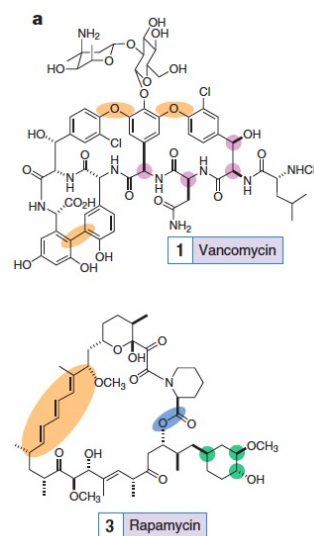
Singh and Macdonalds, 2010. Drug Discovery Today 15 (17/18). Chin *et al.*, 2006. AAPS Journal 8 (2): article 28

15

## Propriedades Estruturais:

- ❖ Presença de centros estereogênicos e maior complexidade estrutural que as moléculas sintéticas;
- ❖ Maior quantidade de relativa de carbono, hidrogênio e oxigênio que as moléculas sintéticas;
- ❖ Tamanho (massa molecular > 500Da) e polaridade (maior solubilidade em água).
- ❖ Não seguem a lei de Lipinski (lei dos cinco)

Clardy & Walsh. Nature, 432: 829.



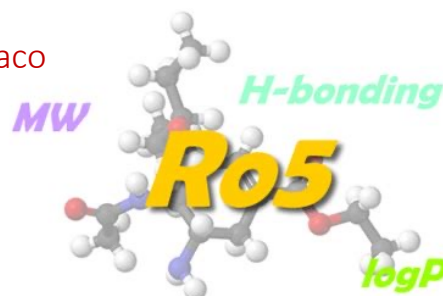
16



REGRA DE LIPINSKI (REGRA DOS 5):

Relacionada a biodisponibilidade oral do fármaco

- Não mais do que 5 doadores de ligações de hidrogênio
- Não mais do que 10 aceptores de ligação de hidrogênio
- Uma massa molecular inferior a 500 daltons
- Um coeficiente de partição octanol-água (log P ) que não exceda 5



17



Química Medicinal

Construção de bibliotecas

Estudos de SAR

Estudos in silico

Síntese

## QUÍMICA MEDICINAL:

- “Domesticação” das moléculas - Otimização molecular – Hits to leads
- Grupos farmacofóricos
  - Construção de bibliotecas
  - Relação estrutura atividade
  - Estudos in silico
- Obtenção da moléculas em larga escala – *scale up*



18

## De onde vem os fármacos?

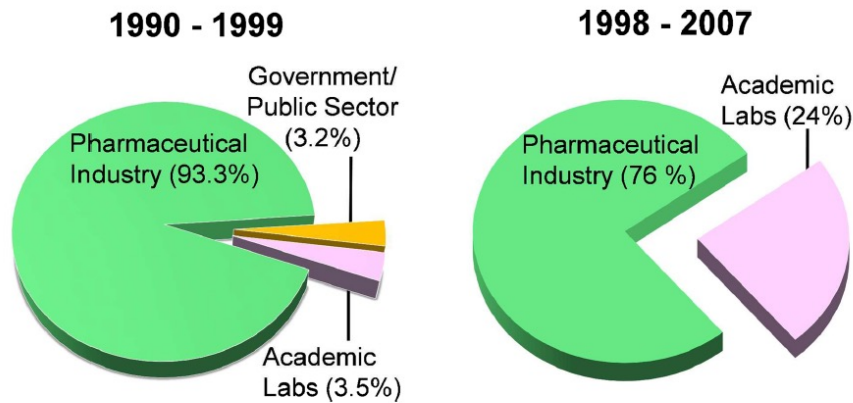
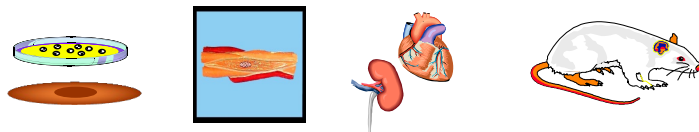


Figure 7. Estimates on the origin of new drugs. Left: data taken from DiMasi et al, 2003.<sup>59</sup> Right: Data taken from Kneller, 2010.<sup>60</sup>

19



## Desenvolvimento Pré-Clínico



### Farmacologia pré-clínica:

Eficácia, alvo terapêutico e mecanismo de ação

### Toxicologia pré-clínica:

Efeitos adversos, órgãos-alvo, reversibilidade

20

## ESTUDOS *In vitro*:



Ensaio in vitro

Estudos de afinidade e seletividade

Modelos celulares da doença

Mecanismo de ação

Protótipo

- Cultura de células
- Frações sucelulares
- DNA e proteínas
- Extratos celulares e subcelulares



21

## ESTUDOS *In vitro*:



Ensaio in vitro

Estudos de afinidade e seletividade

Modelos celulares da doença

Mecanismo de ação

Protótipo

- Vantagens:
  - Simplificação do sistema biológico (**limitação**)
  - Ensaio rápidos
  - Muitos componentes podem ser avaliados
  - Reduz uso de animais de experimentação



22



Ensaio in vitro

Estudos de afinidade e seletividade

Modelos celulares da doença

Mecanismo de ação

Protótipo

## ESTUDOS *In vitro*:

- Avaliação de afinidade e seletividade
- Afinidade: habilidade da droga se ligar ao seu alvo (receptor) farmacológico
- Seletividade: habilidade de reconhecer seletivamente um alvo

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)

Química  
Medicinal

Estudos  
in vitro

Estudos  
in vivo

Testes  
clínicos

23



Ensaio in vitro

Estudos de afinidade e seletividade

Modelos celulares da doença

Mecanismo de ação

Protótipo

## ESTUDOS *In vitro*:

- Otimização do protótipo
- Finalidade:
  - Aumentar potência
  - Aumentar seletividade
  - Aumentar disponibilidade (oral)
  - Melhorar propriedades farmacocinéticas

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)

Química  
Medicinal

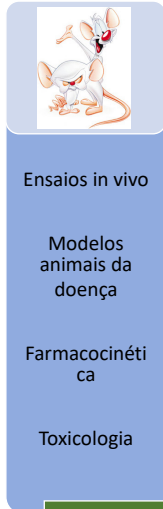
Estudos  
in vitro

Estudos  
in vivo

Testes  
clínicos

24

## ESTUDOS *In vivo*:

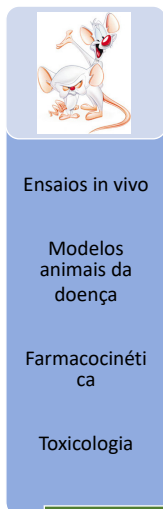


- Ensaio em modelos animais
- Aprovação por Comitê de Ética em Pesquisa em Animais das Instituições Responsáveis
- Princípios éticos (3R's):
  - Redução (Reduction)
  - Substituição (Replacement)
  - Refino (Refinement)
- Avaliação da Eficácia/Segurança e Farmacocinética



25

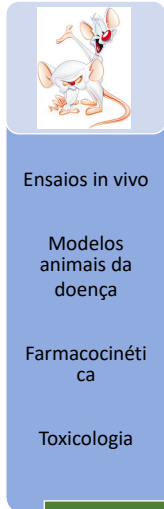
## ESTUDOS *In vivo*:



- Eficácia
  - Desenvolvimento de modelos da doença-alvo em animais de experimentação
    - Animais SHR
    - Modelos xenográficos
    - Animais geneticamente modificados
    - Uso de substâncias químicas (lesão por 6-OH-Dopamina e Parkinson)



26



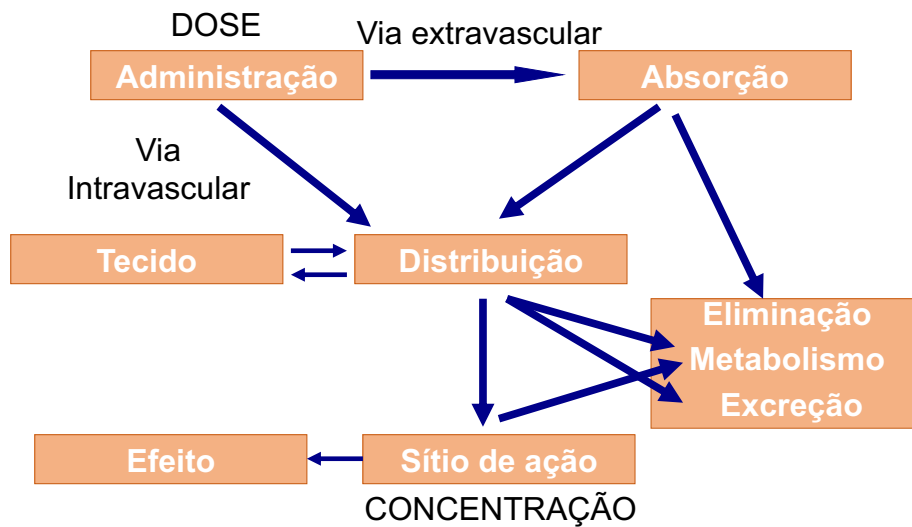
## ESTUDOS *In vivo*:

- Farmacocinética
  - Avaliação de concentração plasmática após a administração ( $C_p$ ), concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ), tempo máximo entre a administração e  $C_{max}$  ( $T_{max}$ ), volume de distribuição ( $V_D$ ) e taxa de depuração ou clearance (CL)
  - Importância das vias de metabolização



27

## FARMACOCINÉTICA



28



Ensaio in vivo

Modelos animais da doença

Farmacocinética

Toxicologia

## ESTUDOS *In vivo*:

- Toxicologia – princípios fundamentais:
  1. Demonstrar os efeitos tóxicos de uma droga e as circunstâncias onde eles ocorrem;
  2. Demonstrar quais efeitos tóxicos não ocorrem;
  3. Sugerir os mecanismos envolvidos na toxicidade.

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)Química  
MedicinalEstudos  
in vitroEstudos  
in vivoTestes  
clínicos

29



**Toxicidade** - Efeito adverso produzido por um agente químico.

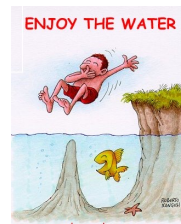


**Exposição** – Tempo de contato com o agente químico.

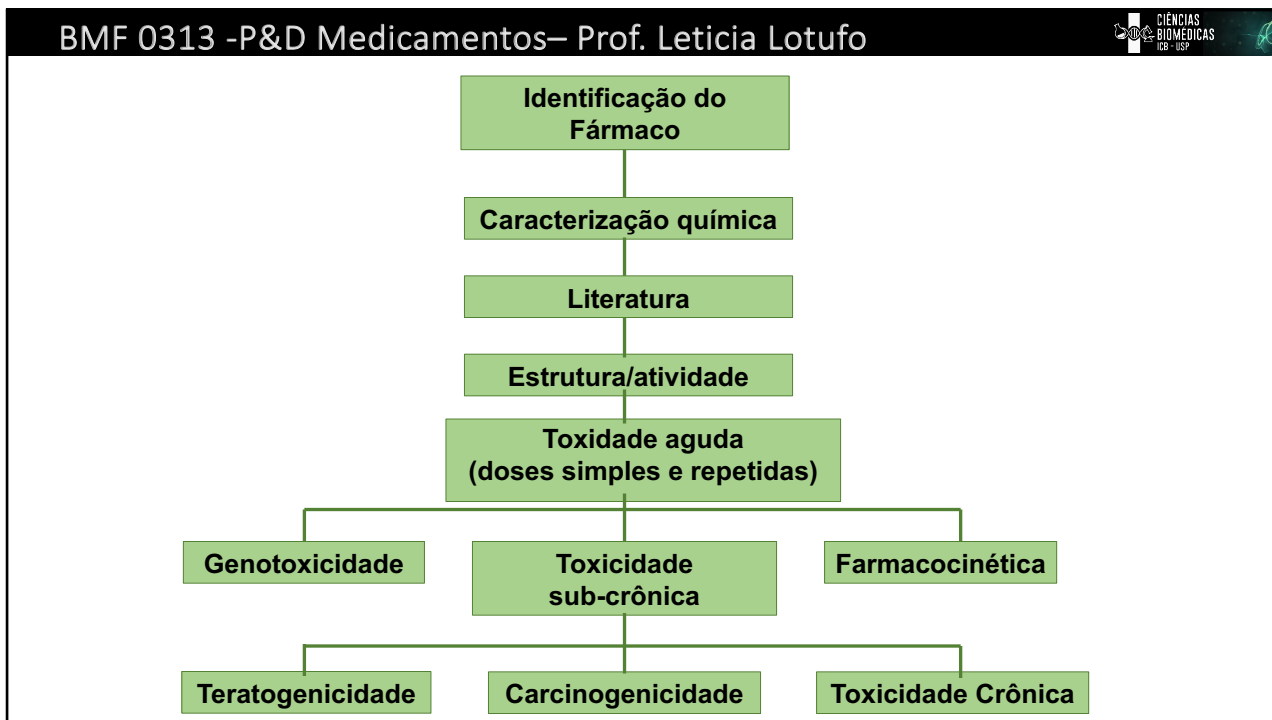
**Dose** - Quantidade do agente químico que entra no organismo.



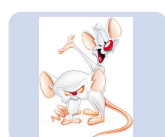
**Risco** – Probabilidade de manifestar efeito tóxico.



30



31



Ensaio in vivo

Modelos  
animais da  
doença

Farmacocinética

Toxicologia

## ESTUDOS *In vivo*:

- Toxicidade aguda – metodologias preconizadas:
  - DOSES FIXAS (protocolo 420)
  - Método clássico (protocolo 423)
  - “UP AND DOWN” (protocolo 425)



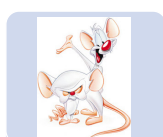
32



## PRINCÍPIOS DOS MÉTODOS

	420 (Doses fixas)	423 (Método clássico)	425 (up and down)
Metodologia	Dose única. Ratos jovens mesmo sexo. Administração por gavagem. Observações clínicas, peso corpóreo, mortalidade em até 14 dias. Necrópsia.		
Estudo preliminar	Sim	Não	Não
Doses	Fixas - 5, 50, 300, 2000(5000) mg/kg 5 animais/dose	Fixas - 5, 50, 300, 2000(5000) mg/kg 3 animais/dose	Início no valor estimado da DL50 (ou 175 mg/kg) - fator de progressão 3.2
Número de animais utilizados	5 a 7	Média de 7	6 a 9
Objetivo	Identificar menor dose que causa toxicidade evidente	Identificar menor dose que causa mortalidade	Estimar DL50
Output	Faixa de DL50 Sinais de toxicidade aguda Órgão alvo	Faixa de DL50 Sinais de toxicidade aguda Órgão alvo	DL50 com intervalo de confiança Sinais de toxicidade aguda Órgão alvo

33



Ensaio in vivo

Modelos animais da doença

Farmacocinética

Toxicologia

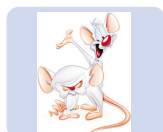
## ESTUDOS *In vivo*:

- Toxicidade aguda – Escolha do método
- Deve ser considerado:
  - Tipo de substância testada (pesticida, medicamento, etc.);
  - Necessidade de registro regulatório;
  - Dados apenas para testes de toxicidade sub-aguda (“*in house*”).

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)Química  
MedicinalEstudos  
in vitroEstudos  
in vivoTestes  
clínicos

34



Ensaio in vivo

Modelos  
animais da  
doença

Farmacocinética

Toxicologia

## ESTUDOS *In vivo*:

### Toxicidade aguda vs. Crônica:

- O efeito agudo de uma droga não prevê o efeito crônico;
- Ocorrem em doses diferentes;
- Os efeitos crônicos podem ser mascarados com doenças aleatórias

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)Química  
MedicinalEstudos  
in vitroEstudos  
in vivoTestes  
clínicos

35

## TOXICIDADE CRÔNICA

### OBJETIVOS:

- Determinar efeitos tóxicos em doses sub-letais;
- Determinar efeitos tóxicos após uma exposição mais longa;
- Determinar:
  - Maior dose que não causa efeito.
  - Menor dose que causa efeito.
- Identificar órgão alvos;
- Sensibilidade.



36

## DESENHO EXPERIMENTAL:

- 2 Espécies:
  - Roedor
  - Não-roedor
- Via de administração recomendada: oral
  - (Água ou alimentação)
- 3 doses
  - Mínima: 3-5x a dose terapêutica
  - Máxima: 100-200x dose terapêutica ou “máxima dose tolerada” (efeitos tóxicos não letais)
- Determinação da dose de efeito não-observado
- Janela terapêutica ( $IT = DL_{50}/DE_{50}$ )
- Duração do experimentos;
  - Subcrônico: 30 a 90 dias
  - Crônico: 3 meses a 1 ano

37

## DURAÇÃO DO TRATAMENTO:

Animal	Tratamento em humanos
2 semanas	1 dose
1 mês	Até 10 dias
Até 30 dias	4 semanas (ANVISA)
Acima de 30 dias/ano	12 semanas (ANVISA)
6 mês	Crônico (CEC e Japão)*
1 ano	Crônico (EUA)*

\* Testes de carcinogenicidade

38

## OBSERVAÇÕES:

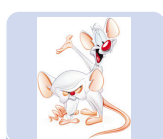
### *In vivo:*

- Física
- Peso
- Consumo de alimento
- Oftalmológicas
- Exames clínicos
- Parâmetros bioquímicos e hematológicos (início e fim do experimento)

### *Post mortem:*

- Autópsia geral
- Peso dos órgãos
- Coleta de tecidos
- Análise histopatológica

39



Ensaio in vivo

Modelos animais da doença

Farmacocinética

Toxicologia

## ESTUDOS *In vivo*:

### Toxicidade reprodutiva:

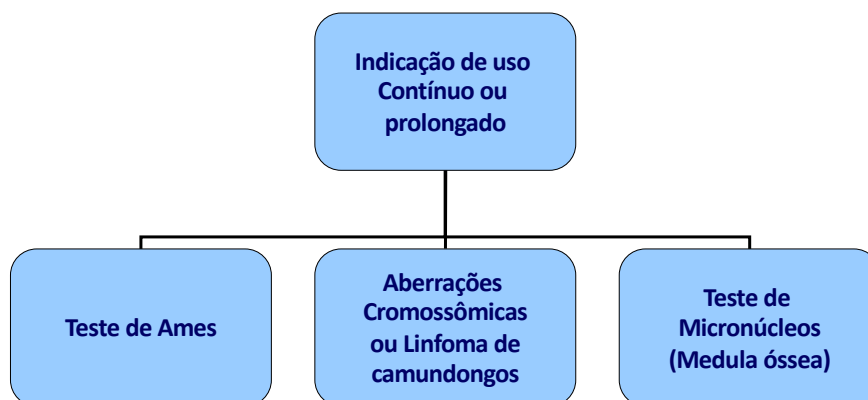
- Fertilidade e desenvolvimento embrionário inicial;
- Desenvolvimento pré e pós-natal, incluindo função materna;
- Desenvolvimento embrio-fetal.

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)Química  
MedicinalEstudos  
in vitroEstudos  
in vivoTestes  
clínicos

40

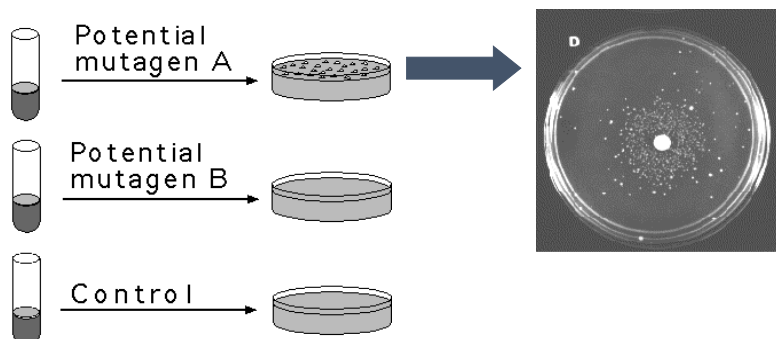
## ESTUDO ESPECIAL - GENOTOXICIDADE



41

## TESTE DE AMES (1971)

Bactéria: *Salmonella Typhimurium* (mutante – não sintetiza histidina)

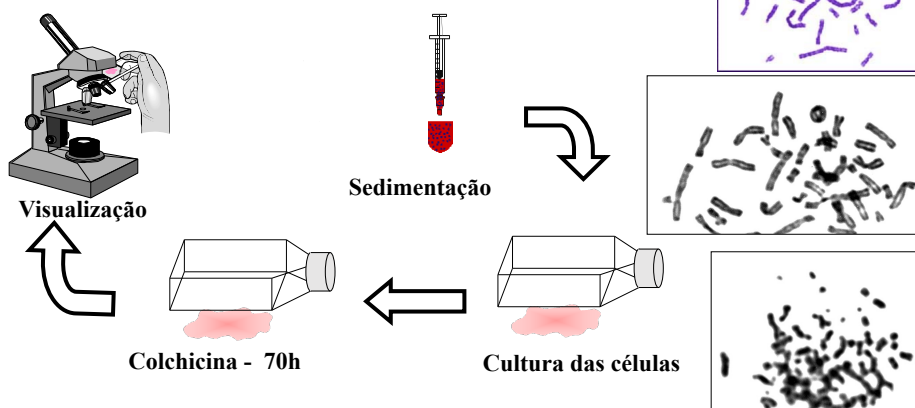


Os testes são realizados *in vitro*, acrescidos de uma fonte exógena de **metabolização** visando mimetizar parcialmente as condições de metabolização de mamíferos.

O teste não fornece informação direta sobre a potência mutagênica em mamíferos, apesar da **boa concordância dos resultados com o teste de Ames e ensaios de carcinogenicidade com roedores** (61%, de acordo com o último estudo realizado pelo National Toxicology Program com 446 compostos)

42

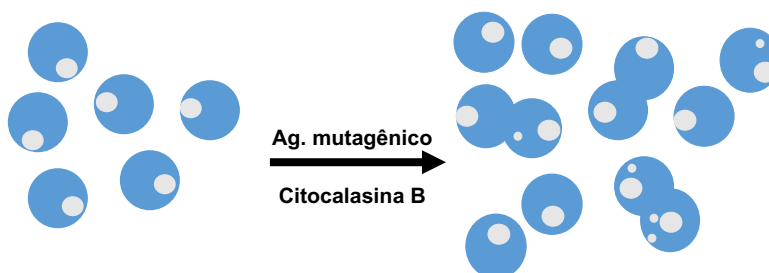
## ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS:



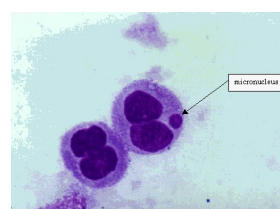
O teste de aberrações cromossômicas em cultura de células de mamíferos é um dos métodos mais sensíveis para a detecção de agentes mutagênicos e/ou carcinogênicos presentes no ambiente, sendo complementar ao teste de Ames. Para suprir o problema de metabolização, utiliza-se a fração S9 microsomal de fígado de ratos tratados com Aroclor 1254.

43

## MICRONÚCLEOS:

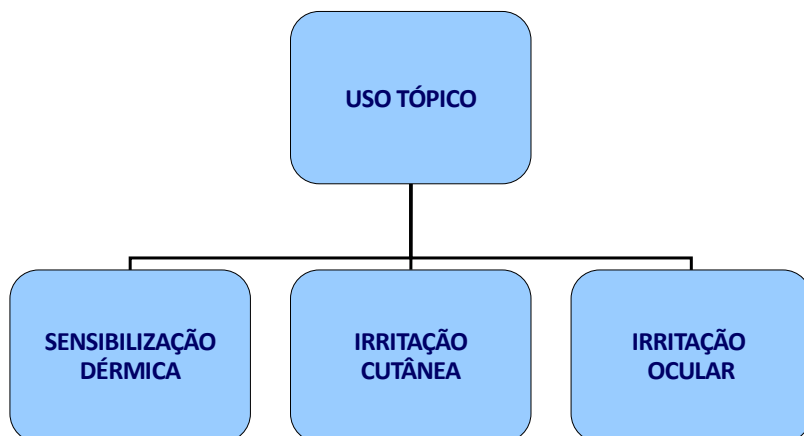


A presença de micronúcleos (MN) é analisada em eritrócitos policromáticos (PCE, eritrócitos jovens) de medula óssea de camundongos, mas pode, também, ser analisada em eritrócitos normocromáticos (NCE, eritrócitos maduros).

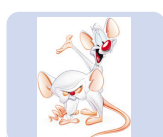


44

## OUTROS TESTES



45



Ensaio in vivo

Modelos animais da doença

Farmacocinética

Toxicologia

## ESTUDOS *In vivo*:

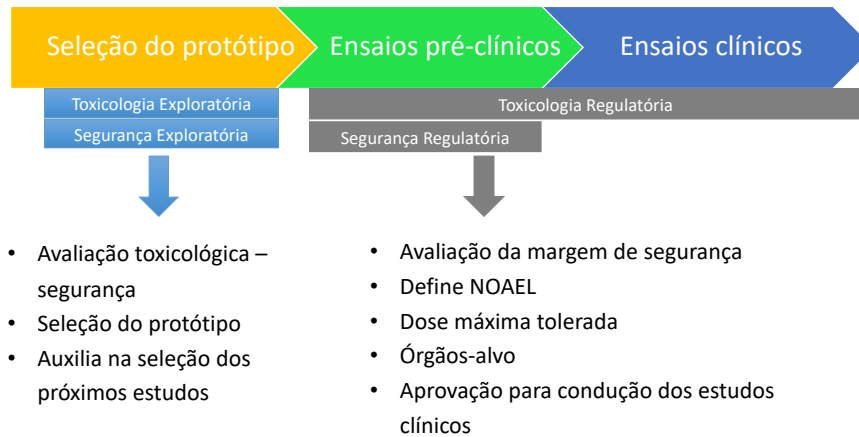
### Segurança Farmacológica:

- Avaliação de efeitos:
  - SNC
  - Cardiovasculares
  - Respiratórios
- Normalmente realizado em cães (1 animal de cada sexo/grupo);



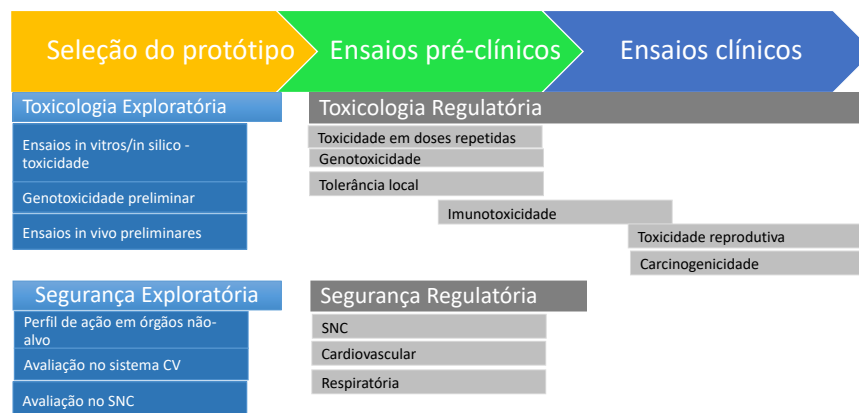
46

## DESENVOLVIMENTO PRÉ-CLÍNICO



47

## DESENVOLVIMENTO PRÉ-CLÍNICO



48



## ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS

### • Limitações:

- O tempo e o volume de recursos consumidos. Normalmente demora pelo menos 6 anos para ser concluída
- O grande número de animais utilizados! Urgência no desenvolvimento de metodologias alternativas
- A extrapolação do índice terapêutico e dos dados de toxicidade de animais a humanos é muito limitada
- Os efeitos raros não são determinados

49

Ensaio  
clínicos

Fase 1

Fase 2

Fase 3

Fase 4

## ENSAIOS CLÍNICOS:

- Estudos com voluntários saudáveis e pacientes
- Declaração de Helsinque (1965) revisada em Tóquio (1975) e Veneza (1983) – zela pelos preceitos éticos da experimentação com seres humanos
- Aprovação por Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos das Instituições Responsáveis
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)Química  
MedicinalEstudos  
in vitroEstudos  
in vivoTestes  
clínicos

50

Ensaio  
clínicos

Fase 1

Fase 2

Fase 3

Fase 4

## ENSAIOS CLÍNICOS:

### • FASE I

- Visam determinar a farmacocinética, tolerabilidade e as ocorrências de efeitos adversos em voluntários saudáveis
- Normalmente 20 a 80 indivíduos
- Para medicamentos como antineoplásicos essa fase pode ser feita diretamente em pacientes.

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)Química  
MedicinalEstudos  
in vitroEstudos  
in vivoTestes  
clínicos

51

Ensaio  
clínicos

Fase 1

Fase 2

Fase 3

Fase 4

## ENSAIOS CLÍNICOS:

### • FASE II

- Visam determinar a eficácia em situações clínicas
- Estabelecer protocolos de fase III
- 100-300 pacientes
- Avaliação clínica geral
- Indicações terapêuticas não previstas

A falta de eficácia nos estudos de fase II é a razão mais comum para interromper o desenvolvimento de um fármaco.

Doença-Alvo

Protótipo  
(new lead)Química  
MedicinalEstudos  
in vitroEstudos  
in vivoTestes  
clínicos

52

Ensaio  
clínicos

Fase 1

Fase 2

Fase 3

Fase 4

## ENSAIOS CLÍNICOS:

### • FASE III

- Ensaio definitivo, duplo cego, multicêntricos
- 1000-6000 pacientes
- Comprovação de eficácia e avaliação de efeitos adversos
- Comparação com tratamento preconizado para a doença em estudo

Ao final da fase III, a documentação deve ser encaminhada para a agência regulatória para análise e eventual aprovação do medicamento.



53

## ENSAIOS CLÍNICOS:

Ensaio  
clínicos

Fase 1

Fase 2

Fase 3

Fase 4

### • FASE IV

- Acompanhamento do medicamento após sua comercialização
- Efeitos adversos raros ou decorrentes do uso prolongado
- Farmacovigilância



54

**BMF 0313 -P&D Medicamentos– Prof. Leticia Lotufo**

**ENSAIOS CLÍNICOS:**

- FASE I**
  - Avaliação da segurança e tolerabilidade
  - 20 – 80 indivíduos
  - PK/PD
  - Determina dose de segurança
- FASE II**
  - Avaliação da eficácia
  - Continua avaliação de segurança
  - Relação dose-resposta
  - 100-300 indivíduos
- FASE III**
  - Confirmação da eficácia
  - Continua avaliação de segurança
  - Comparação com tratamento padrão
  - 1000-6000 indivíduos
- FASE IV**
  - Após comercialização
  - Farmacovigilância
  - Avaliação de segurança na população geral
  - Efeitos adversos raros

55

**BMF 0313 -P&D Medicamentos– Prof. Leticia Lotufo**

**DESCONTINUAÇÃO DOS ESTUDOS**

**a**

Stage	Attrition Rate (%)
Preclinical	~60
Phase I	~25
Phase II	~50
Phase III	~30
Approval	~20

**b 1991**

Reason	Percentage (%)
PK	39%
Efficacy	30%
Toxicology	12%
Clinical Safety	10%
Miscellaneous	5%
Commercial Reasons	5%

**c 2000**

Reason	Percentage (%)
Efficacy	27%
Toxicology	20%
Commercial Reasons	20%
Clinical Safety	12%
Miscellaneous	7%
PK	9%
Formulation	5%

Abou-Gharbia & Childers, 2014. J. Med. Chem. 57: 5525-5553.

56

## Reposicionamento de fármacos

“Fármacos velhos para novas doenças”

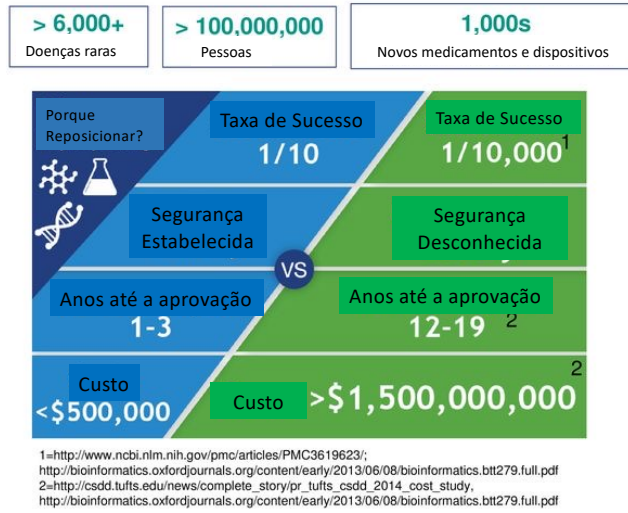
57

## O que significa isso?

- Reposicionamento
  - Novos usos clínicos para fármacos já aprovados para outro uso pelas agências regulatórias
- Resgate
  - Novo uso clínico para uma substância que foi descartada durante seu prévio desenvolvimento
    - Fase 2 em diante – PK, tolerabilidade, e talvez segurança estabelecida

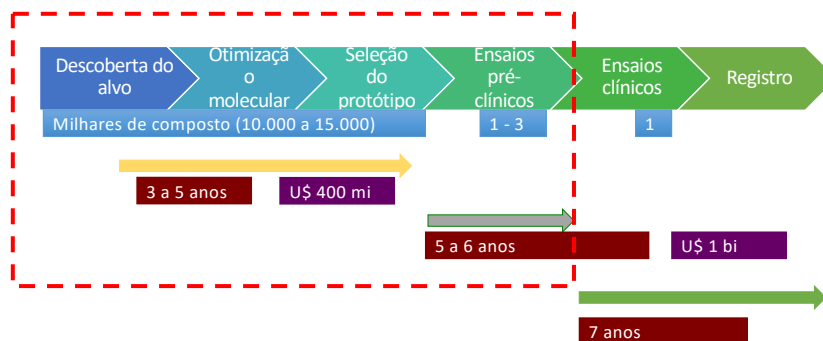
58

## Reposicionamento: Vantagens



59

## P&D DE MEDICAMENTOS:

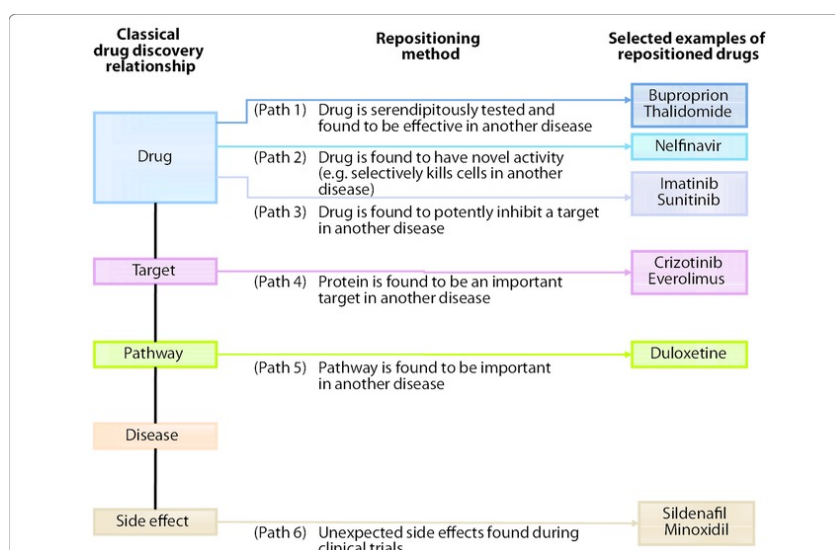


60

## Reposicionamento de Fármacos

- Mesmo alvo de ação (On target)
  - Novos usos baseados no papel do alvo em outras doenças
  - Literatura, estudos ômicos
  - Pode utilizar estimativas de dosagem
- Alvos diferente (Off target)
  - Novos usos a partir da modulação de “novos” alvos/vias
  - Estudos computacionais
  - Como o fármaco não foi estudado para este alvo, a dosagem precisa ser cuidadosamente avaliada

61

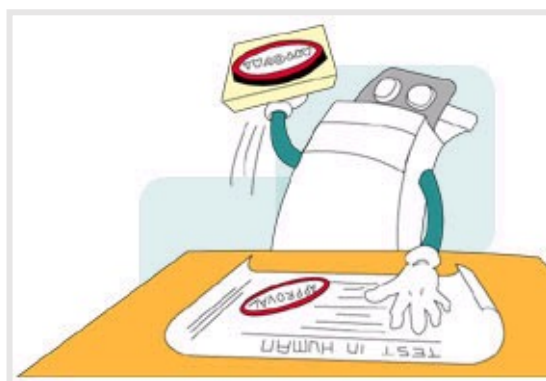


62

## PESQUISA TRANSLACIONAL CRUZANDO O VALE DA MORTE!



64



Muito obrigada!

Perguntas?

65



**EDITAL 01/2020-2021 - PROGRAMA DE ESTÍMULO À  
MODERNIZAÇÃO E REFORMULAÇÃO DAS ESTRUTURAS  
CURRICULARES DOS CURSOS DE GRADUAÇÃO DA USP**

**NOVOS CURRÍCULOS PARA UM NOVO TEMPO**

