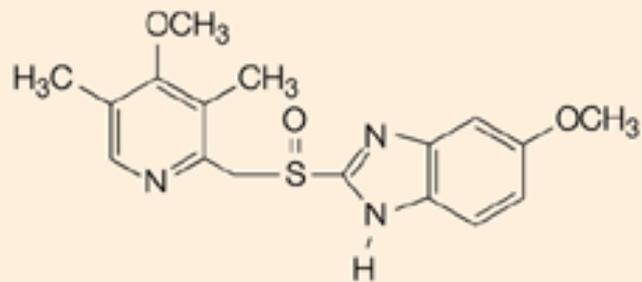
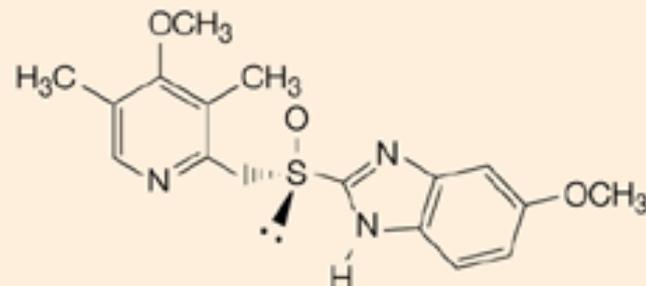


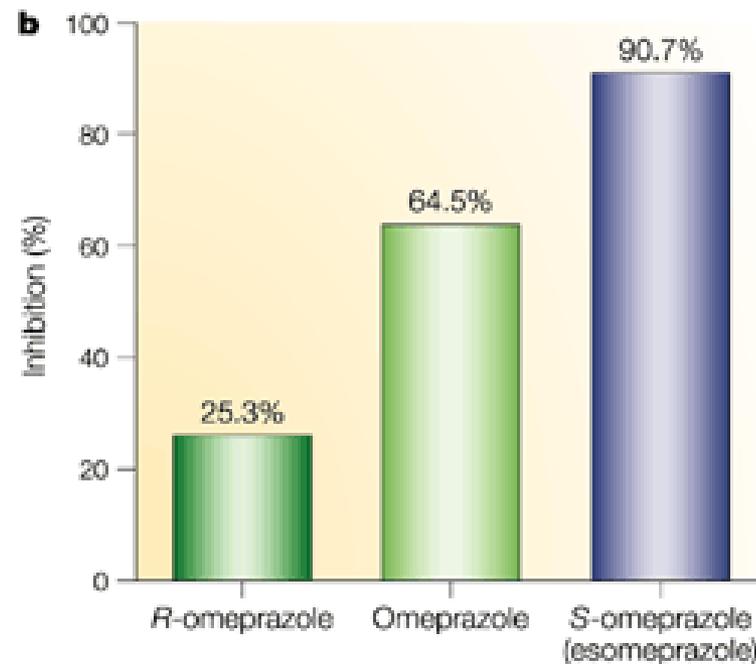
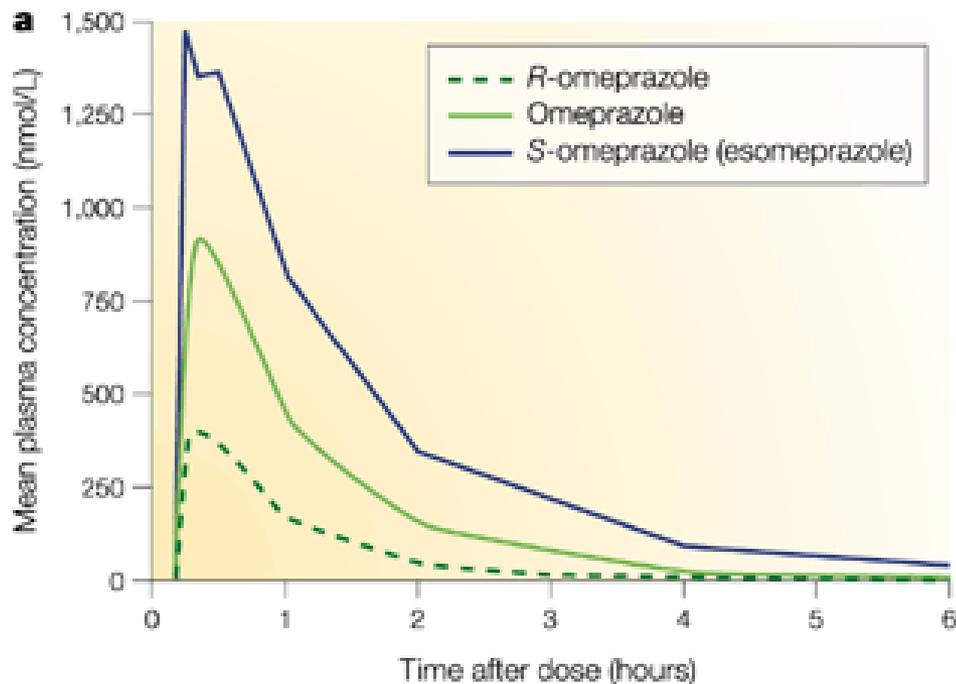
Algumas considerações da  
aula anterior e Interações  
moleculares



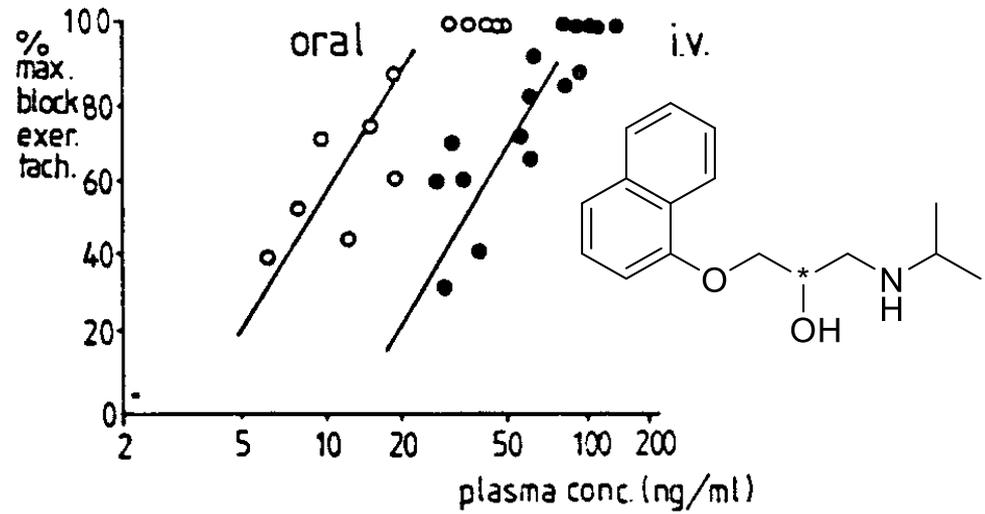
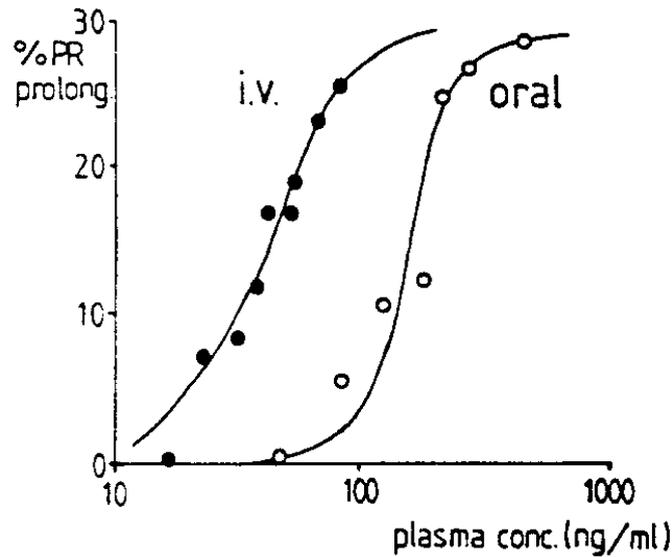
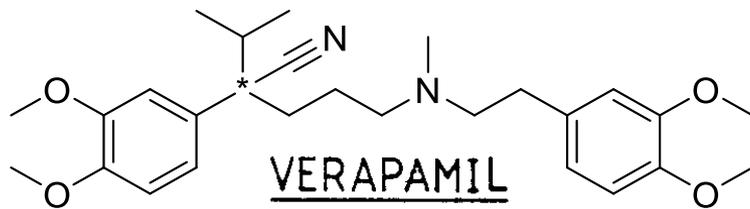
**Omeprazole**  
[H 168/68] (1979)



**Esomeprazole**  
(1983)



From: Olbe et al, *Nat Rev Drug Discovery* 2:132, 2003



Effect of route of administration on plasma-concentration-response relationships based upon measurement of unresolved verapamil and propranolol. The shifts in the data following oral and i.v. administration may be explained by stereoselective first-pass metabolism. (Data from Eichelbaum *et al.* (1984); Vogelgesang *et al.* (1984); Coltart and Shand (1970).) from: Tucker GT, Lennard MS. *Pharmacol Ther* 45:309-329, 1990.

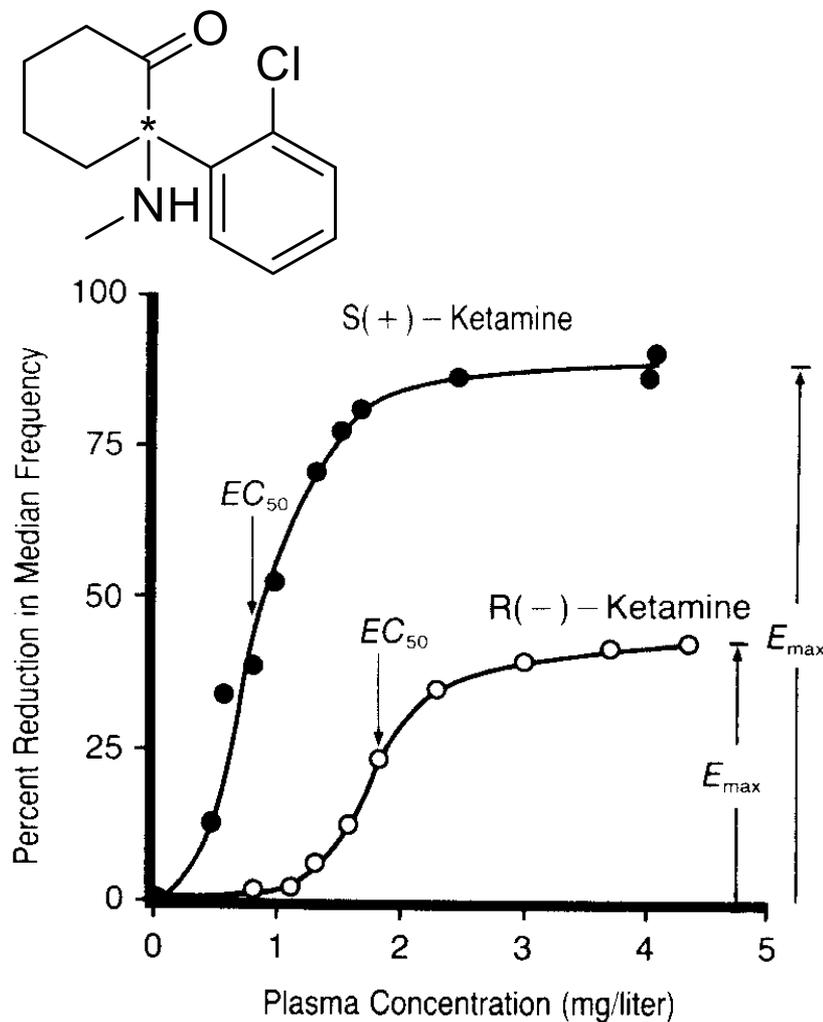
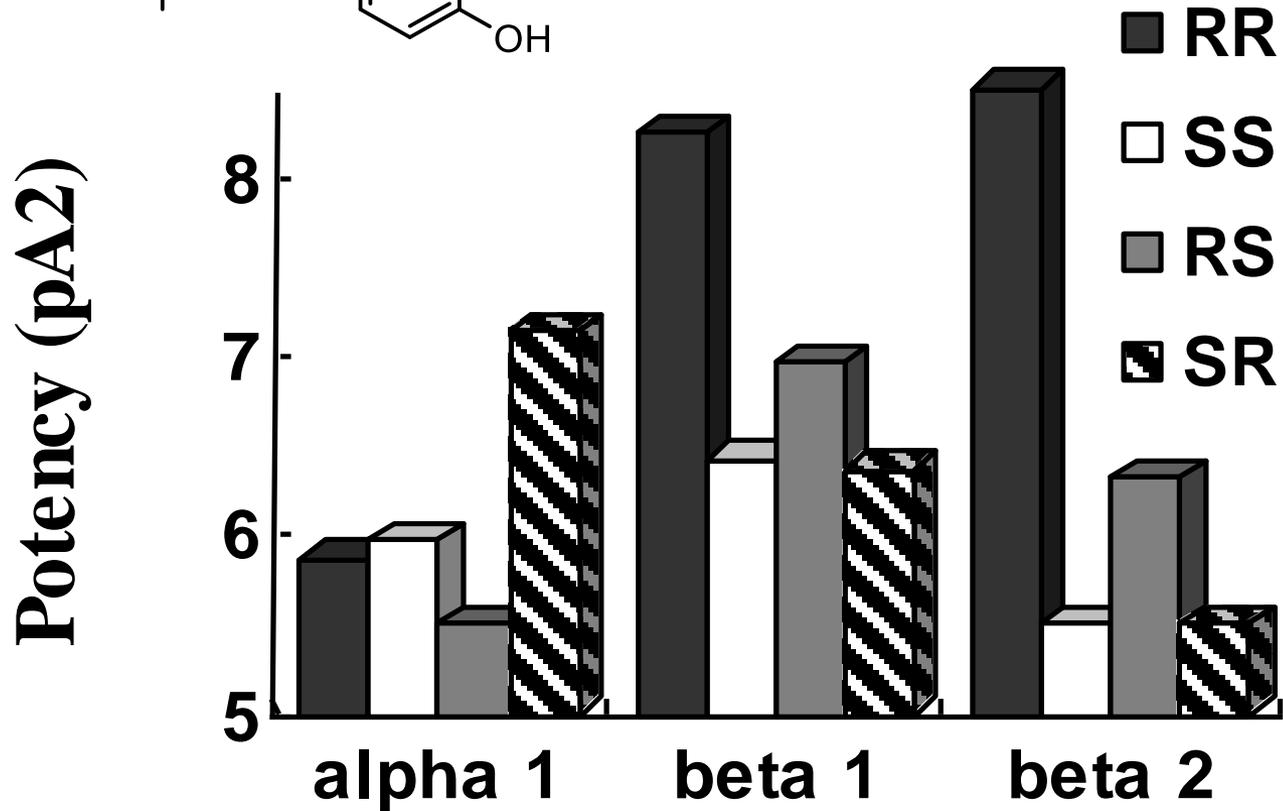
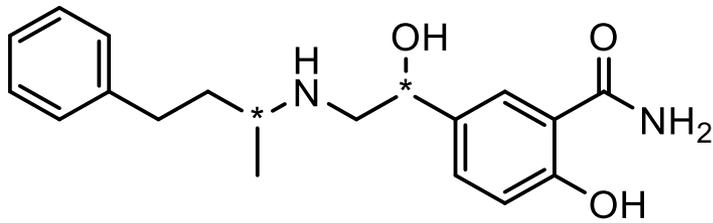


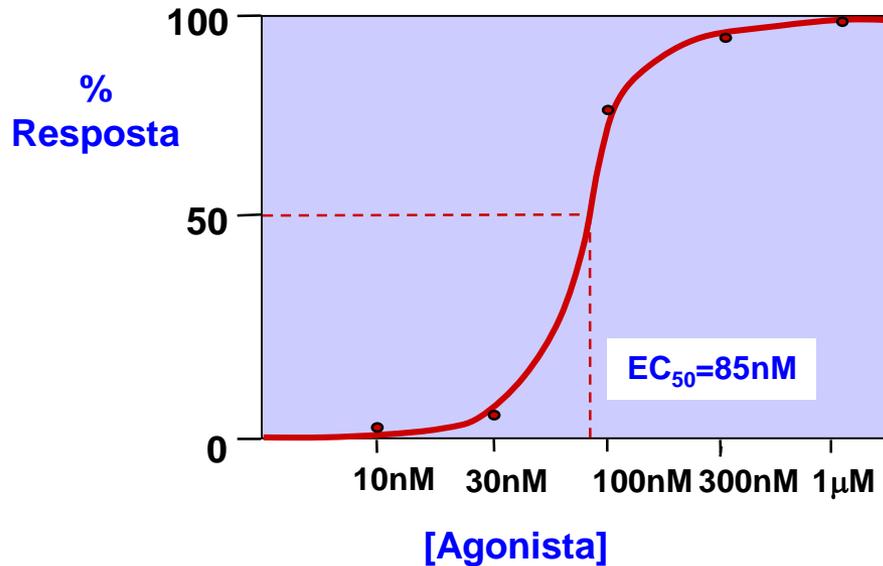
Fig. 20-1. Changes in the electroencephalographic median frequency were followed to quantify the anesthetic effect of R(-) – ketamine and S(+)-ketamine in a subject who received an infusion of these two optical isomers on separate occasions. Shown is the percent reduction in the median frequencies *versus* plasma concentration. Although characteristic S-shaped, or sigmoidal, curves are seen with both compounds, they differ in both the maximum effect achieved,  $E_{max}$ , and the concentration needed to produce 50 percent of  $E_{max}$ , the  $EC_{50}$ . These relationships may be considered direct ones as no significant time delay was found between response and concentration. (One mg/liter = 4.2 micromolar.) (Redrawn from Schuttler, J., Stoeckel, H., Schweilden, H., and Lauvan, P.M.: Hypnotic drugs. In Quantitation, modeling and control in anaesthesia. Edited by H. Stoeckel. George Thieme Verlag, Stuttgart, 1985, pp. 196–210.)

Reproduced from: Rowland M, Tozer TN. *Clinical Pharmacokinetics – Concepts and Applications*, 3<sup>rd</sup> edition, 1995, p. 341.



Relationship between steric structure and the biological activity of labetalol. From: Ariens EJ. *Eur J Clin Pharmacol* 26:663, 1984.

# Curvas dose-resposta



**Inibidores enzimáticos (competitivos):**

Medida de inibição em diferentes concentrações de fármacos.

**IC<sub>50</sub>** - Concentração inibitória que causa 50% de redução na atividade intrínseca da enzima

$$pIC_{50} = -\log_{10}(IC_{50})$$

$$IC_{50} \ 1\mu M = pIC_{50} \ 6.0$$

$$IC_{50} \ 1nM = pIC_{50} \ 9.0$$

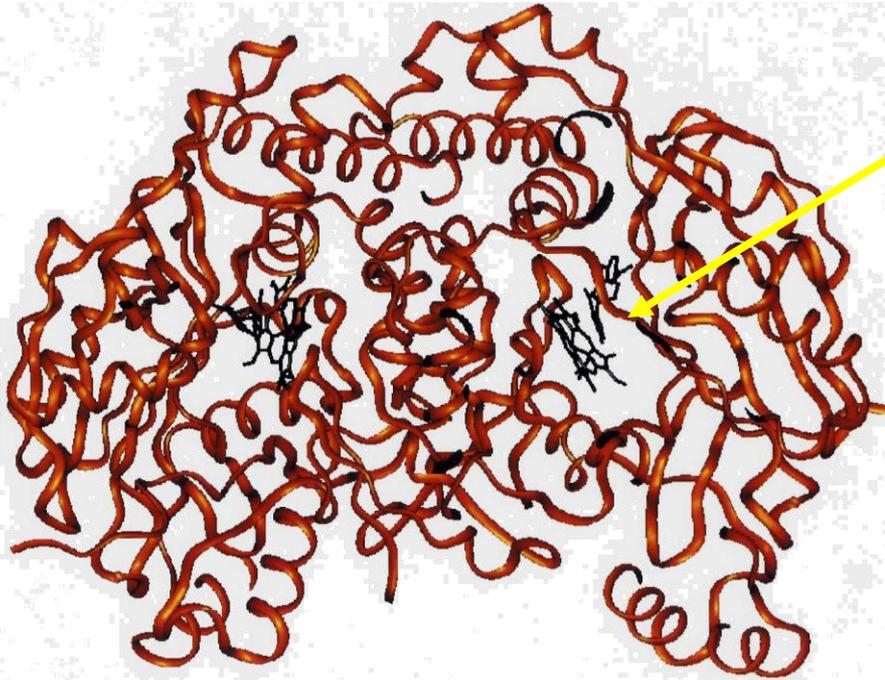
**Agonistas:** Medida % Resposta vs concentração de Agonista

**EC<sub>50</sub>** – A concentração de agonista que causa 50% da resposta máxima.  $pEC_{50} = -\log_{10}(EC_{50})$

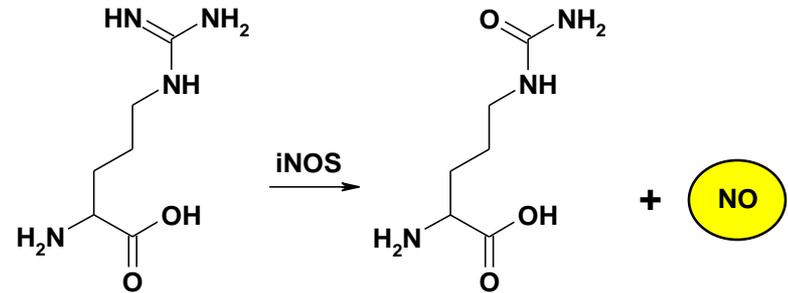
**Antagonistas:** Situação mais complexa. Antagonistas deslocam o agonista e a curva dose-resposta para a direita – medida mais correta de potência é (**pA<sub>2</sub>**) requer medida de ligação do agonista sob múltiplas concentrações do antagonista

Para um fármaco, tipicamente o valor de afinidade ao alvo é de  $pIC_{50} \geq 8$  (<10 nM)

# iNOS – Um exemplo



Sítio ativo, Heme e inibidor

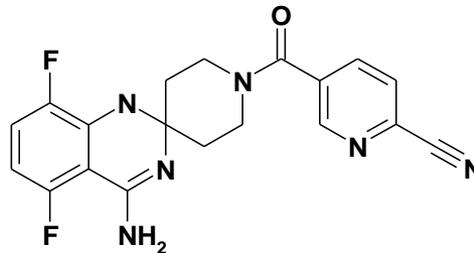


Óxido Nítrico sintase – catalisa a produção de NO a partir de arginina – envolvido em condições inflamatórias: p. exemplo artrite reumatóide

AZ10896372

pIC<sub>50</sub> 7.5

Potente, seletivo inibidor de iNOS



# Como os fármacos se ligam aos alvos terapêuticos?

Fármacos se ligam a alvos particulares em enzimas, receptores, etc. No caso de enzima – **sítio ativo**. Receptores tem **bolsos de ligação** formada entre hélices transmembranares, onde os fármacos normalmente se ligam (nem sempre é o ponto de ligação de agonistas).

Estes sítios compreendem uma variedade grande de ácidos aminados, que proporcionam características específicas de forma 3-D e propriedades moleculares:

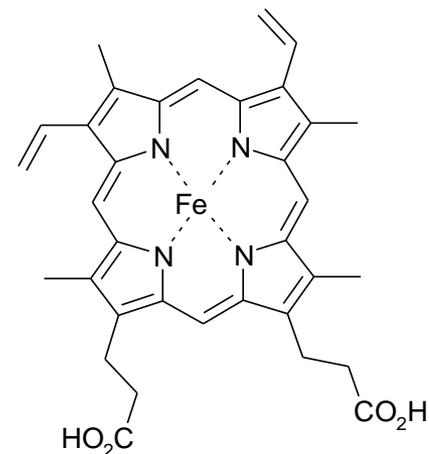
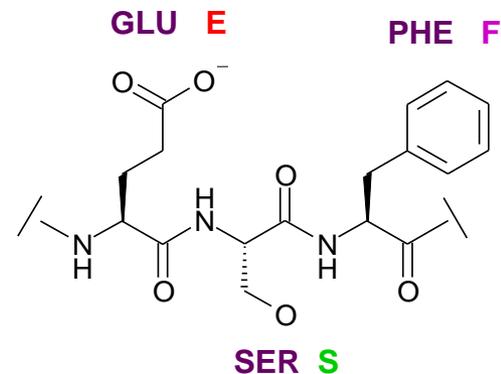
- Carregados:  $\text{CO}_2^-$ ,  $\text{NH}_3^+$ ,  $=\text{NH}^+$
- Grupos polares:  $\text{OH}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{CONH}$
- Grupos hidrofóbicos: Ph, Alkyl, SMe

Em enzimas, centro de reações são também presentes:

- **Asp-His-Ser** em estearases
- **SH** em proteases
- Íons metálicos (CYP-450, iNOS).

Pequenas moléculas se ligam a estes bolsos de ligação através de uma combinação de:

- Complementaridade
- Interações favoráveis

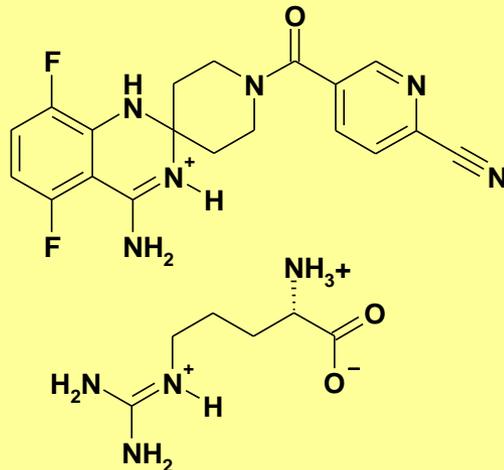


Grupo Heme – iNOS, CYP-450

# Complementaridade

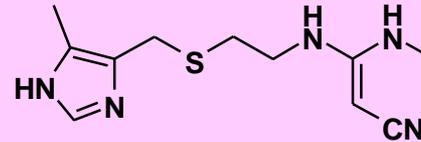
Inibidor de iNOS

AZ10896372

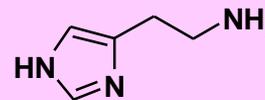


Arginina

Antagonista de Receptor H<sub>2</sub>



Cimetidina



Histamina

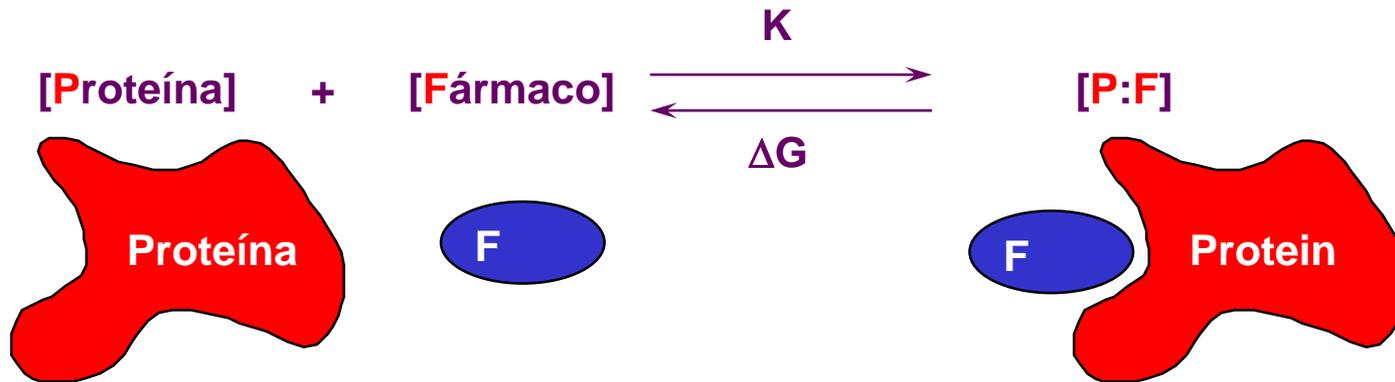
O fármaco deve encaixar no **Sítio de ligação** e a complementaridade é uma importante característica da molécula de fármaco. Inibidor enzimático competitivo normalmente se assemelha ao substrato, visto que se ligam ao mesmo **Sítio ativo**. O que é verdade para **alguns** antagonistas de receptores, **mas nem todos**.

A força de interação depende da complementaridade das propriedades físico-químicas de átomos ligantes – superfície de proteína e estrutura do ligante.

Os Sítios de ligação não são rígidos. A cadeia lateral de ácidos aminados proporcionam mobilidade ao alvo macromolecular. Uma variedade de estruturas correlacionadas podem então ser acomodados por movimentos que mudam a forma do sítio ativo. Isto é conhecido por **'Hipótese do Encaixe Induzido'**.

# Energias de ligação Fármaco-Proteína

Para o equilíbrio de ligação entre a **Proteína** & **Fármaco**



$$K = \frac{[P:F]}{[P] \times [F]}$$

Alterações na Energia Livre de Gibbs

$$\Delta G = -RT \ln K \quad \text{e} \quad \Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Mudanças em Entalpia ( $\Delta H$ ) e Entropia ( $\Delta S$ ) afetam a força de ligação

# Interações Fármaco-Proteína

Ligação (Interação)	Example	kJ/mol
Van der Waal	Xe...Xe, alkyl groups	2
Hidrofóbica	Ph...Ph ( $\pi$ -stacking)	5
Dipolo - Dipolo	C=O...HN-R ( $\delta+$ / $\delta-$ )...( $\delta+$ / $\delta-$ )	5
Hidrogênio	H <sub>2</sub> O...H <sub>2</sub> O (X-H) ...(Y-R)	35
Íon - Dipolo	F <sup>-</sup> ...H <sub>2</sub> O (+/-ve)...( $\delta+$ / $\delta-$ )	170
Íon - Íon	H <sup>+</sup> ...Cl <sup>-</sup> (+ve)...(-ve)	450
Covalente	C-O	350

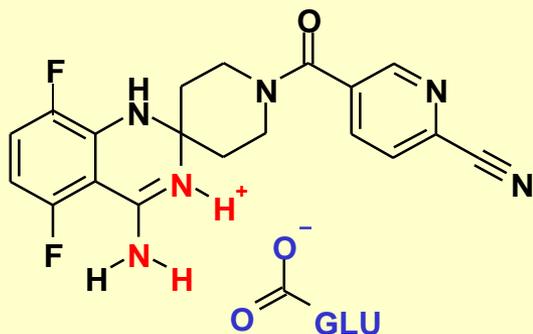
Quando o fármaco se desloca do meio aquoso para dentro do sítio de ligação ocorre uma quebra de ligações-H com a água, desolvatação, etc.

Este processo requer energia, então a ligação de energia total é apenas uma fração das energias acima

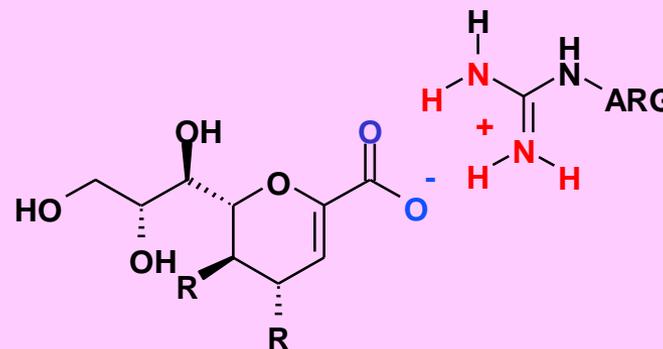
# Interações eletrostáticas

- Resultado da atração entre moléculas com cargas eletrônicas opostas.
- Interações iônicas fortes podem contribuir muito para ligação ao alvo.
- Proteínas contendo resíduos de  $\text{CO}_2^-$  e  $\text{NH}_3^+$  podem estar presentes no sítio de ligação para interagir com cargas opostas no fármaco.

Inibidor de iNOS AZ-10896372

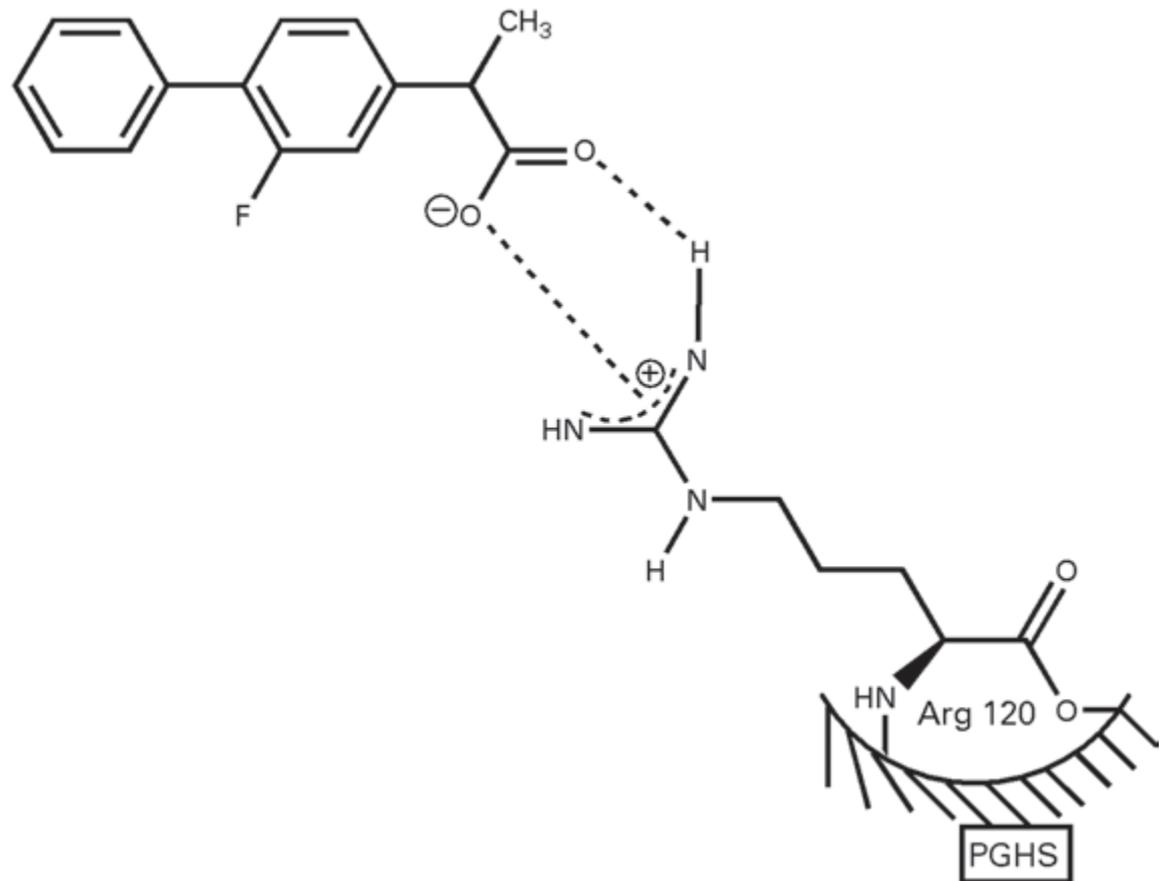
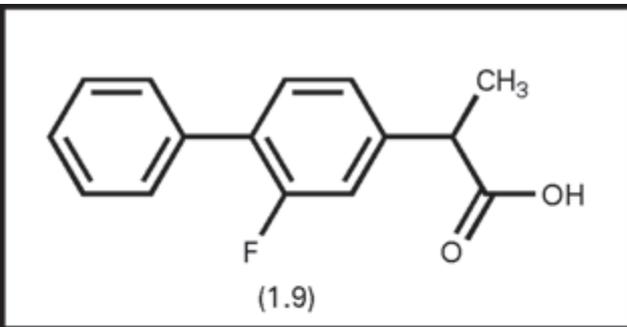


Inibidor de Neuraminidase  
(Antiviral GSK)



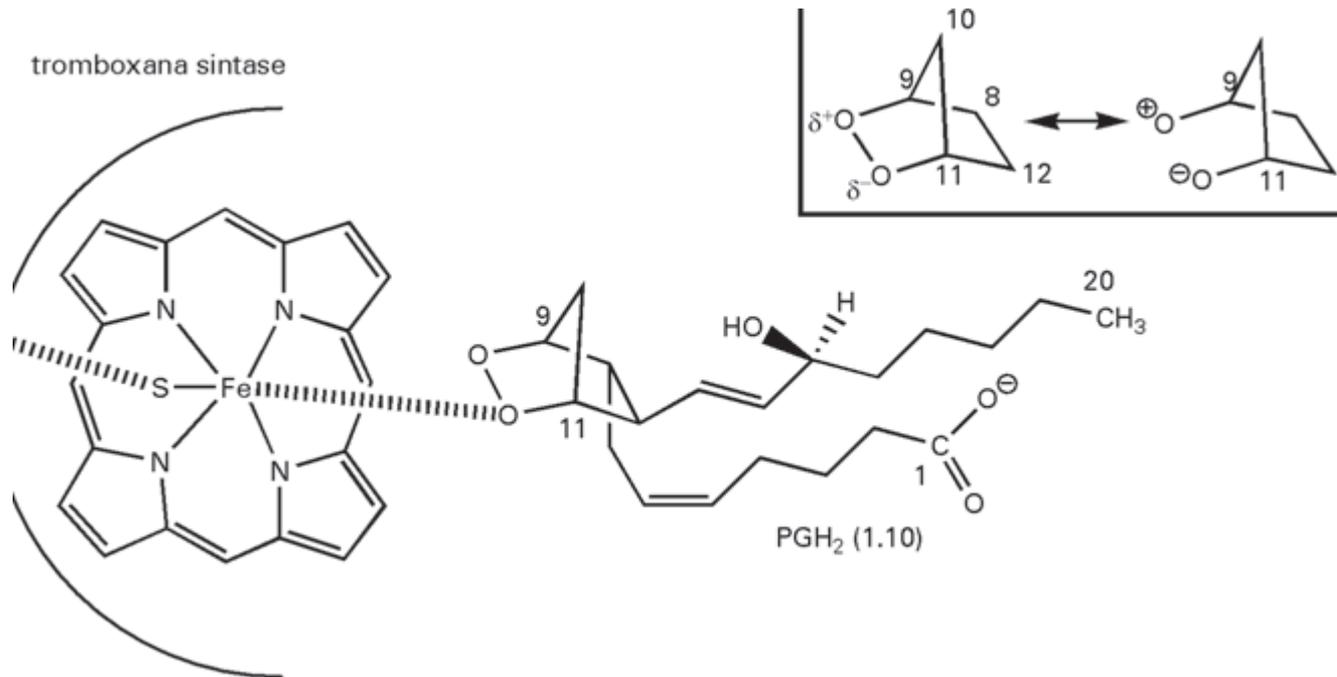
- As energias envolvendo uma 'ponte de sal' pode ser da ordem de  $>30$  kJ/mol
- Isto pode acarretar em aumento de  $>10^6$  vezes na ligação observada

# Interações eletrostáticas



# Interações eletrostáticas

- Interação íon-dipolo

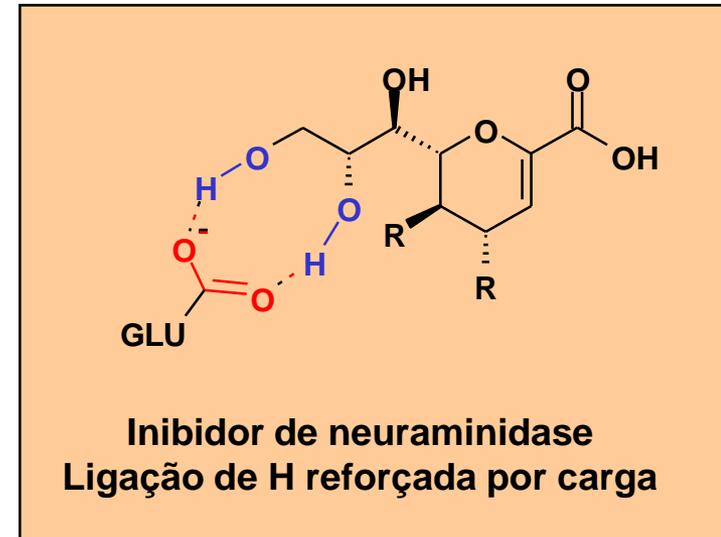
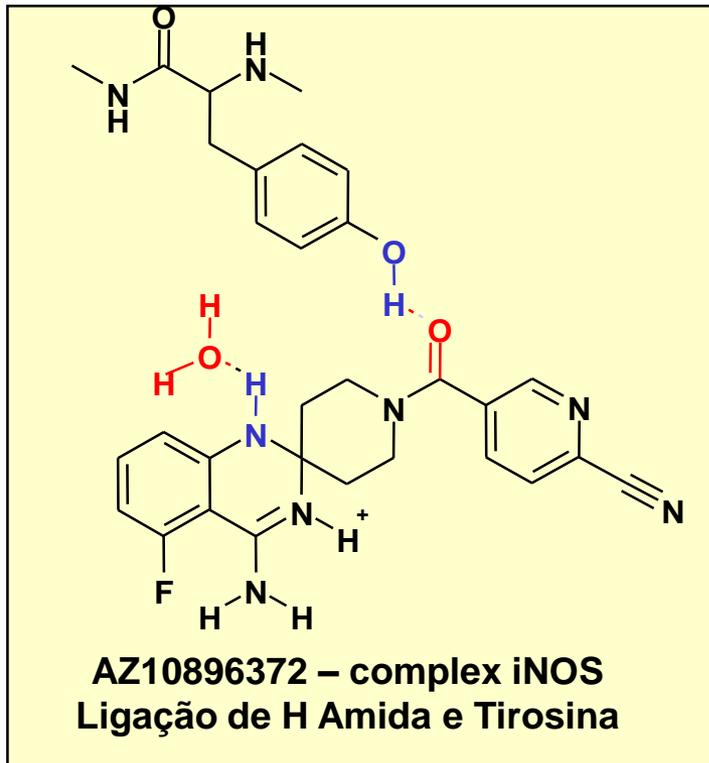


# Interações de Ligação de Hidrogênio

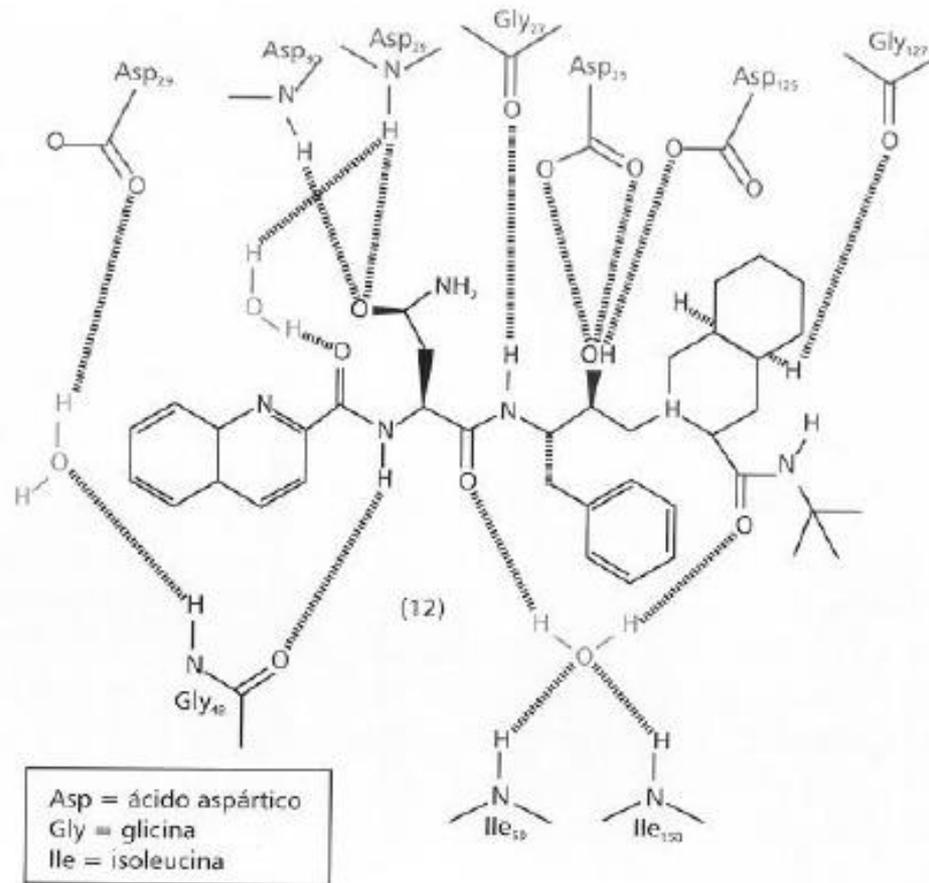
Uma interação de hidrogênio acontece quando o átomo de hidrogênio é compartilhado por dois átomos eletronegativos

O **Doador** fornece o H, enquanto o **Aceptor** fornece o par de elétron

**D-X-H.....Y-A** Por exemplo: **R-O-H.....O=C**



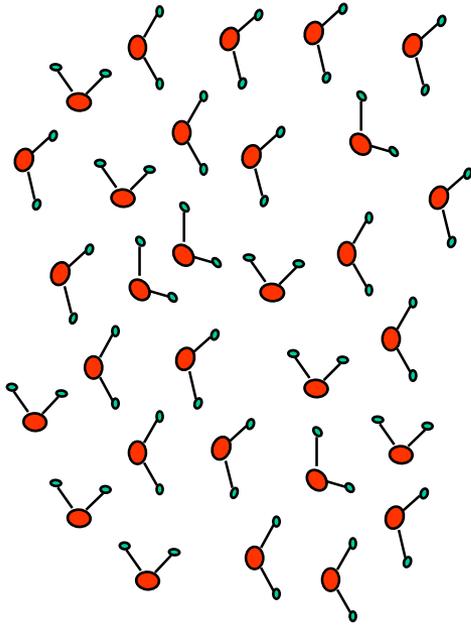
# Saquinavir e HIV-1-protease



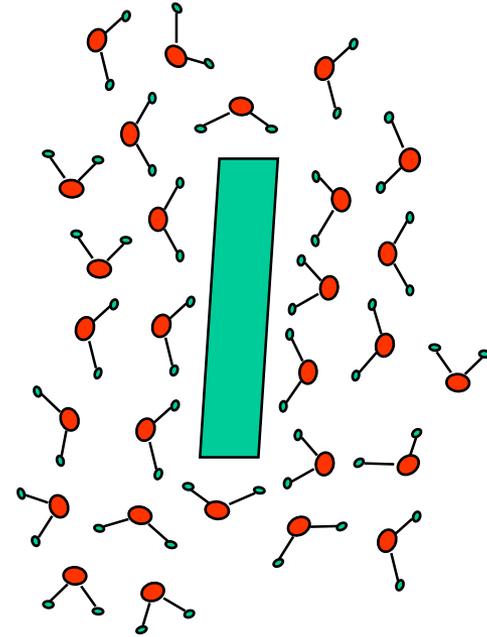
# Interações hidrofóbicas

- Fármacos, em geral, são moléculas hidrofóbicas
- Os Sítios de Interação de proteínas também tem características hidrofóbicas
- Atração mútua resultante.
  
- O que direciona esta atração?
  
- Ganhos de Entalpia resultantes de ligações de **van der Waals**:
  - **Entre Alquil, Aril e Halogênios**
  - **$\pi$ - $\pi$  Stacking é um tipo importante**
  
- Ganhos de Entropia alcançado quando a molécula de água é deslocada **do Sítio Ativo, e retorna a um estado mais aleatório (alta S)**.
  
- Cada **-(CH<sub>2</sub>)-** pode contribuir **>1 kJ/mol** para a ligação
- Cada **-Ph** pode contribuir **>2 kJ/mol** para a ligação
- Estes efeitos são aditivos e gera **Interação hidrofóbica**  
Pode ter alta contribuição para a ligação

# Interação Hidrofóbica: $\Delta$ Entropia

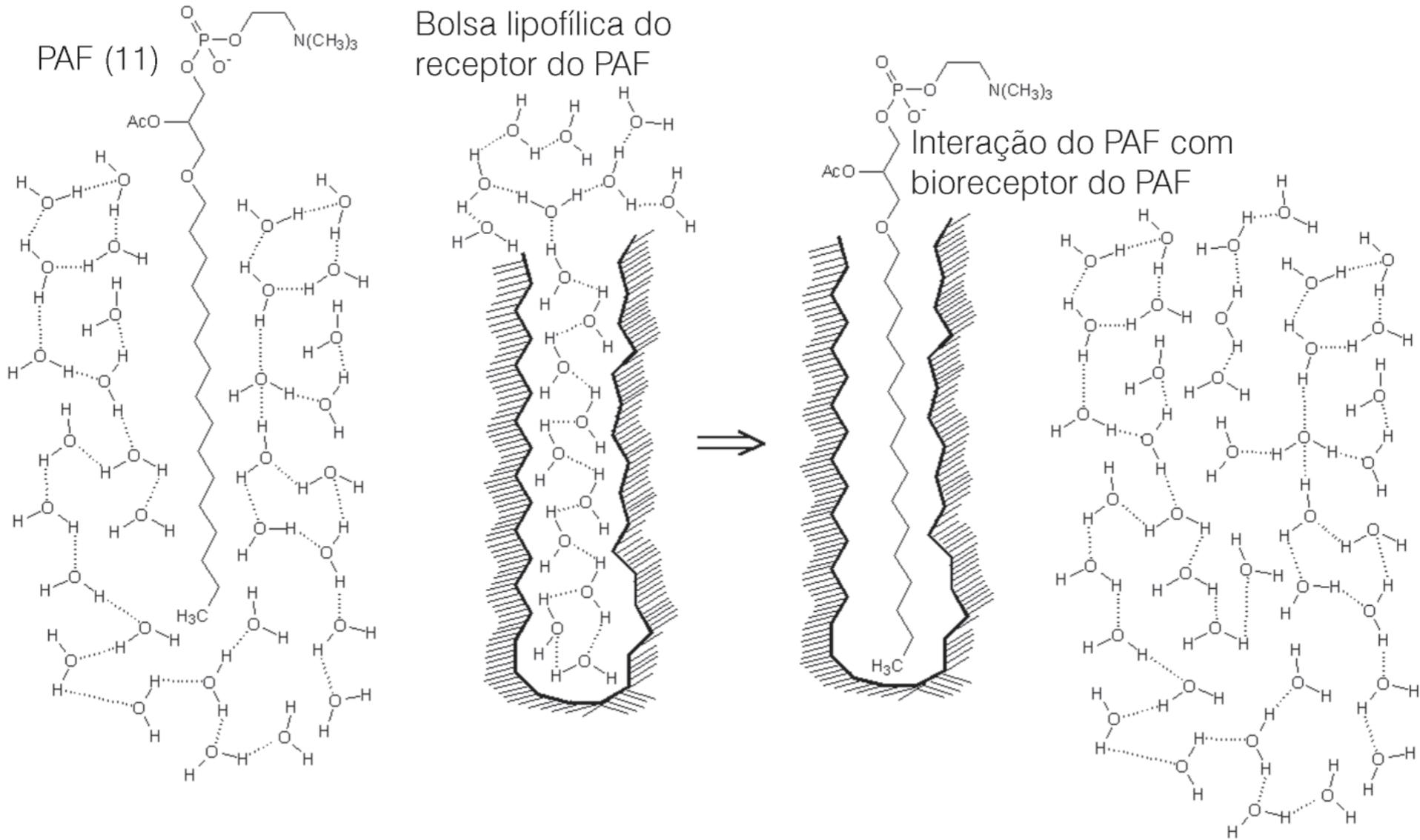


Moléculas de água estão em alto estado de desorganização. Cada molécula maximiza as Ligações-H com outras moléculas de água

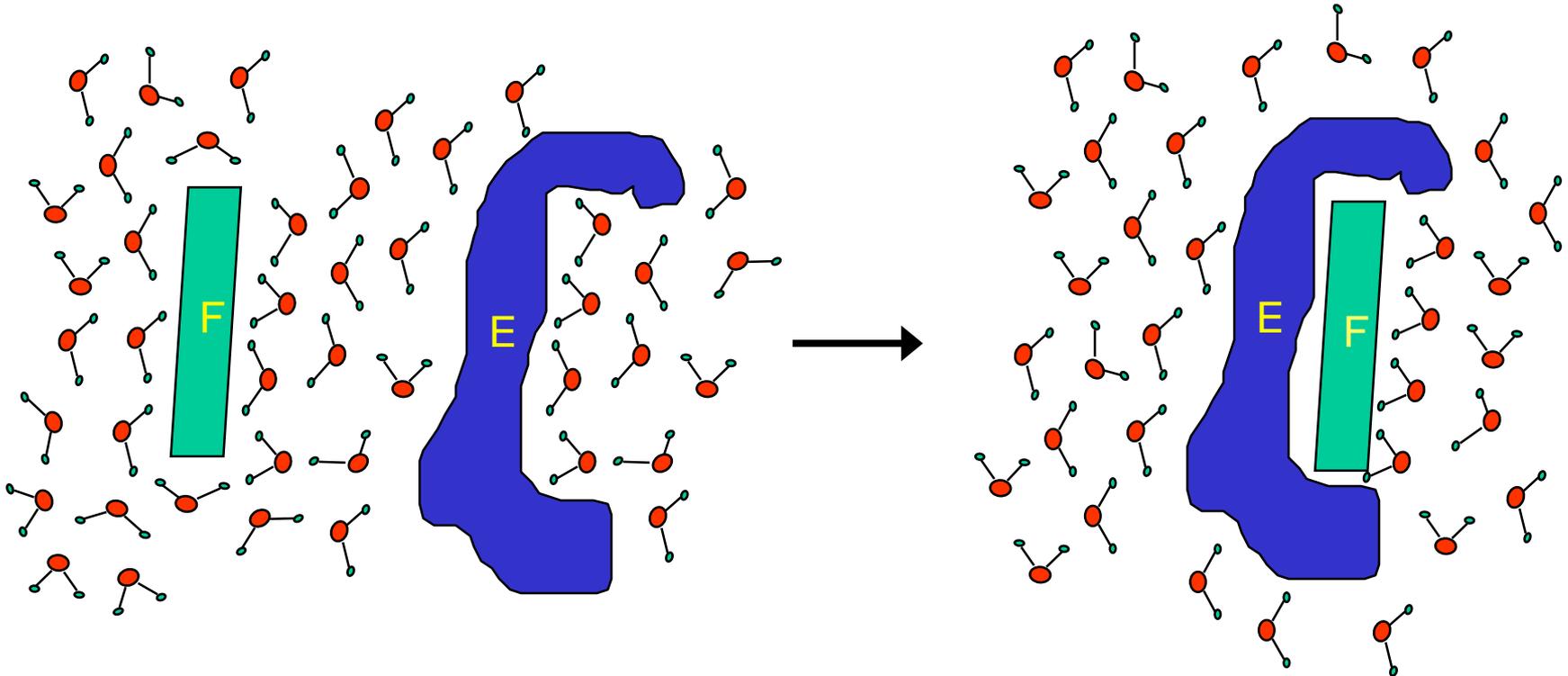


Quando um fármaco hidrofóbico está em água, a estrutura da água em torno do fármaco é mais organizada. Isto permite que as interações de H entre H<sub>2</sub>O-H<sub>2</sub>O sejam mantidas. Isto reduz a **entropia** e não é favorecido.

# Interação Hidrofóbica: $\Delta$ Entropia



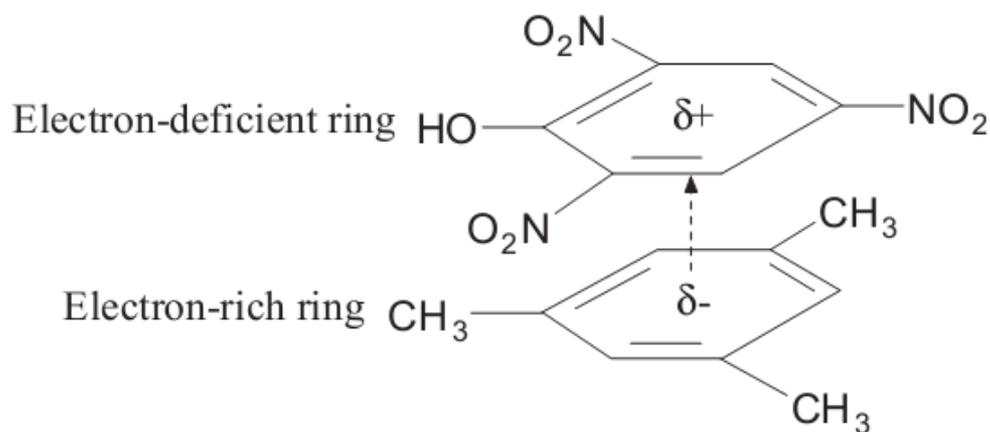
# Interações hidrofóbicas: $\Delta$ Entropia



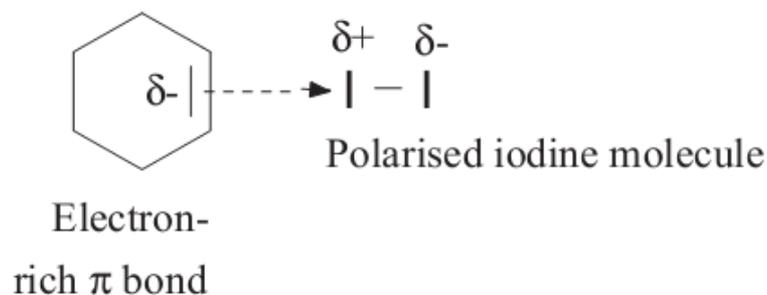
- Interação hidrofóbica entre Fármaco e Proteína é favorecida pelo **ganho de entropia**:
  - Moléculas de água retornam para um estado desorganizado
  - Moléculas de água são repelidas do sítio de interação.
- Além disso, ocorre ganho de **entalpia** devido às novas ligações formadas (por exemplo, interações de van der Waals)

# Complexo de transferência de carga $\pi-\pi$ Stacking

- Complexos entre grupos ricos em elétrons (**doadores**) e grupos pobres em elétrons (**aceptores**)
  - **Doadores**: alcenos, alcinos ou aromáticos com substituintes doadores de elétrons, oxigênio, nitrogênio, etc...
  - **Aceptores**: alcenos, alcino e aromáticos com grupos retiradores de elétrons



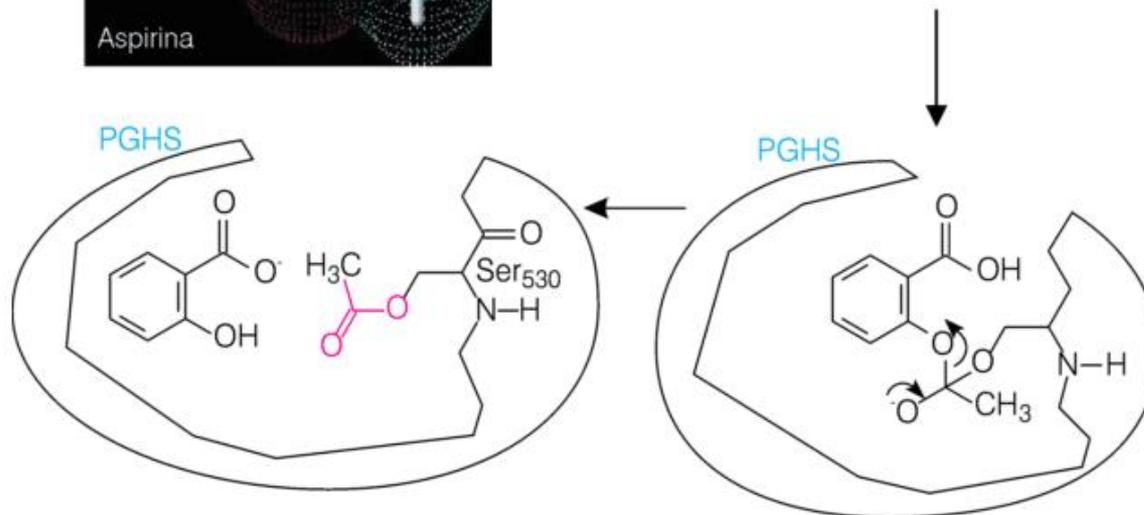
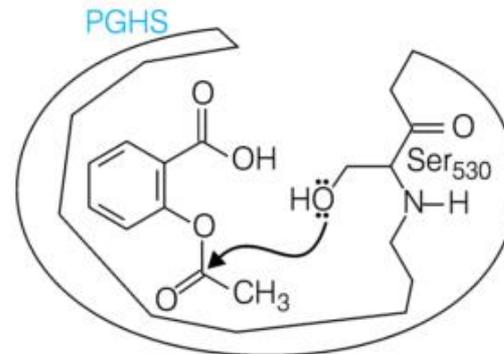
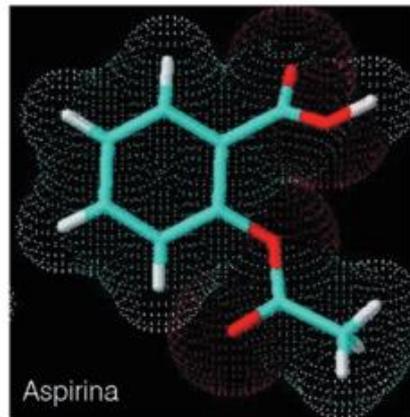
1,3,5-Trimethylbenzene picrate



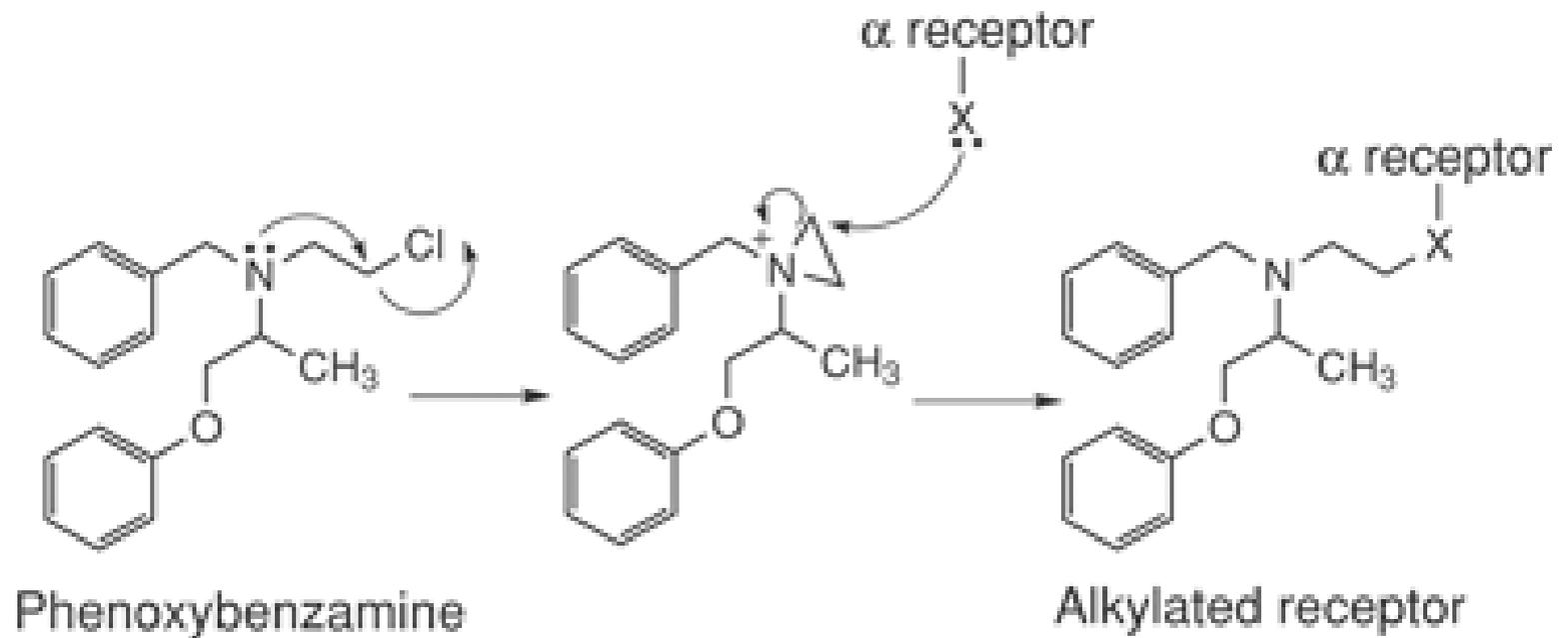
Unstable brown cyclohexene-iodine complex

# Ligação Covalente

- Raramente formado entre fármacos e receptores;
- Quando irreversível – destruição da macromolécula por endocitose ou via química



# Ligação covalente





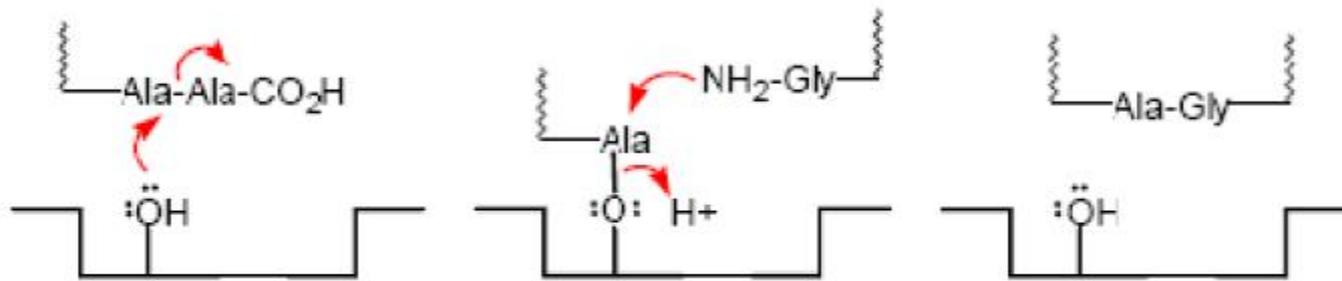
# Ligação Covalente

## Mechanism of action

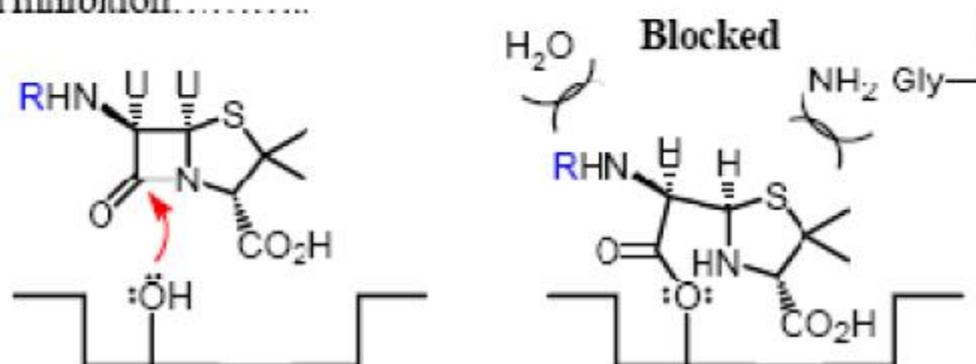
## LIGAÇÕES COVALENTES

- binds irreversibly to transpeptidase enzyme

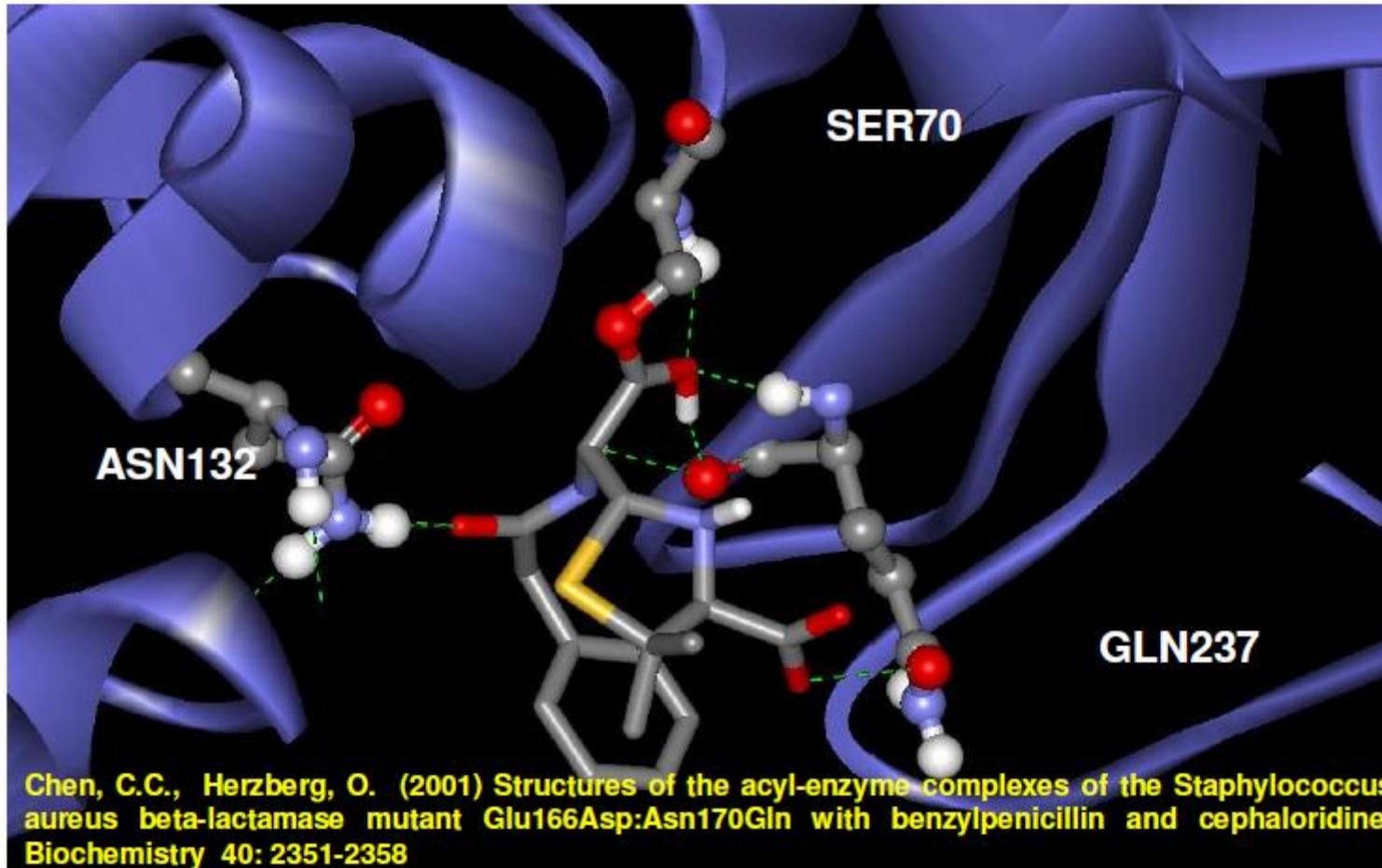
Normal.....



penicillin inhibition.....



# Ligação Covalente



# Exemplo Geral

