



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA**

ARTHUR GABRIEL CORRÊA DE FARIAS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO *in silico* DE DERIVADOS N-FENILACETAMÍDICOS
COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIASMÁTICA**

**CAMPINA GRANDE
2024**

ARTHUR GABRIEL CORRÊA DE FARIAS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO *in silico* DE DERIVADOS N-FENILACETAMÍDICOS
COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIASMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em farmácia.

Área de concentração: Química Farmacêutica

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura

**CAMPINA GRANDE
2024**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto em versão impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que, na reprodução, figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

F224s Farias, Arthur Gabriel Correa de.
Síntese e avaliação *in silico* de derivados *N-Fenilacetamídicos* com potencial atividade antiasmática [manuscrito] / Arthur Gabriel Correa de Farias. - 2024.
42 f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)
- Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura,
Departamento de Farmácia - CCBS".

1. Doença respiratória - asma. 2. Docking molecular. 3.
JMPR-01. 4. Farmacológica. I. Título

21. ed. CDD 615.7

ARTHUR GABRIEL CORREA DE FARIAS

SÍNTESE E AVALIAÇÃO IN SILICO DE DERIVADOS N-FENILACETAMÍDICOS
COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIASMÁTICA

Monografia apresentado à
Coordenação do Curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba,
como requisito parcial à obtenção do
título de BACHAREL EM FARMÁCIA

Aprovada em: 21/11/2024.

Documento assinado eletronicamente por:

- **Vanda Lucia dos Santos** (**.424.493-**), em **25/11/2024 14:42:16** com chave **9c9cca38ab5411efb84d06adb0a3afce**.
- **Ricardo Olimpio de Moura** (**.632.134-**), em **25/11/2024 14:01:01** com chave **d995ef88ab4e11ef8bc806adb0a3afce**.
- **Karla Joane da Silva Menezes** (**.401.524-**), em **25/11/2024 14:55:51** com chave **8242a4f8ab5611ef80cb06adb0a3afce**.

Documento emitido pelo SUAP. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QrCode ao lado ou acesse https://suap.uepb.edu.br/comum/autenticar_documento/ e informe os dados a seguir.

Tipo de Documento: Termo de Aprovação de Projeto Final

Data da Emissão: 27/11/2024

Código de Autenticação: 87511e



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu eu do passado, por nunca ter perdido a fé em mim, e ao meu eu do futuro, pelo profissional brilhante que se tornará. Dedico também à minha família, especialmente à minha irmã.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meus pais por terem me concebido e por sempre terem feito o melhor que podiam por mim. Agradeço imensamente a minha irmã, Gabriela Corrêa de Farias, que tanto amo, por toda a ajuda, apoio e carinho.

Agradeço aos meus amigos, em especial Adrian Lima Roberto, Naelly Lays Monteiro Florêncio e Tatiana Duarte Pereira, que foram cruciais nesses últimos momentos, por toda a companhia, amizade e apoio. A graduação não teria sido a mesma sem vocês.

Agradeço ao meu orientador, prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura, uma grande inspiração para mim, por ter me dado a oportunidade de trabalhar com o que amo, a química, e também por todo o incentivo, o suporte e os conhecimentos compartilhados.

Agradeço também a prof. Dra. Vanda Lucia dos Santos e à mestra Karla Joane da Silva Menezes, por aceitarem fazer parte da minha banca e também por terem contribuído para a minha formação acadêmica.

Agradeço a todos os meus colegas do Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos (LDSF), minha segunda casa, em especial a Misael de Azevedo Teotônio Cavalcanti, por toda a paciência e por todos os ensinamentos.

Finalmente, agradeço a minha instituição, a UEPB, em nome do profissional que me tornarei em breve, por todo o conhecimento técnico-científico e por proporcionar ensino de qualidade.

***"I am the master of my fate; I am the
captain of my soul."***

(William Ernest Henley; poema Invictus, 1875)

RESUMO

A asma é uma doença inflamatória crônica caracterizada por estreitamento das vias aéreas. A terapia atual comumente envolve a administração de corticosteroides e broncodilatadores, os quais apresentam efeitos adversos e baixa capacidade de controle dos sintomas a longo prazo. A busca por novas estruturas direcionadas a novos alvos pode melhorar esse perfil. Os derivados *N*-fenilacetamídicos são um grupo versátil de moléculas com inúmeras atividades farmacológicas, a exemplo do JMPR-01, o qual demonstrou significativa atividade anti-inflamatória *in vitro* e *in vivo*. Desse modo, este trabalho teve como objetivo explorar o JMPR-01, planejando novos derivados com base em sua estrutura e analisar, através de *docking* molecular, sua interação com diferentes alvos relacionados à asma. Para isso, foram propostas modificações nos anéis aromáticos do JMPR-01, obtendo-se uma série congênere que foi docada contra a 5-lipoxigenase (PDB ID: 6NCF), a leucotrieno A₄ hidrolase (PDB ID: 1HS6) e o receptor β₂-adrenérgico (PDB ID: 7DHI). As interações foram analisadas no Discovery Studio. Os compostos mais promissores foram sintetizados e caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas. Além disso, seu perfil farmacocinético foi analisado com o auxílio de ferramentas on-line. Todos os compostos apresentaram bons resultados de *docking* para os alvos 5-lipoxigenase e receptor β₂. Devido à disponibilidade de reagentes e viabilidade sintética das moléculas, foram escolhidos os compostos JMH-04, JMN-04 e JMC-04 para síntese. Estes compostos foram obtidos com rendimento na faixa de 37-42%. Também apresentaram ponto de fusão na faixa de 115-120°C para o JMH-04, 212-214°C para o JMN-04 e 189-192°C para o JMC-04. Os três apresentaram semelhante perfil de solubilidade e fator de retenção (R_f). Quanto ao perfil farmacocinético, os compostos apresentaram uma boa absorção gastrointestinal, sem nenhum descumprimento das regras de *druglikeness* de Lipinski. Sendo assim, estes compostos se mostram promissores do ponto farmacodinâmico e farmacocinético. Contudo, mais estudos são necessários para que estes compostos possam servir de ponto de partida para o desenvolvimento de novos fármacos multialvos mais seguros e eficazes para o tratamento da asma.

Palavras-chave: asma; *docking* molecular; JMPR-01; síntese.

ABSTRACT

Asthma is a chronic inflammatory disease characterized by airway narrowing. The current therapy encompasses administration of corticosteroids and bronchodilators, nevertheless these drugs present side effects and low efficacy in the long-term management of the symptoms. Searching for novel molecules aiming at new targets can improve this scenario. *N*-phenylacetamide derivatives are a versatile group of molecules with a wide range of pharmacological activities reported, as for example JMPR-01, which demonstrated significant *in vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity. Therefore, this study aimed to plan new JMPR-01 derivatives and analyze through molecular docking their interactions with different targets associated with asthma. For this purpose, a congener series was designed from the modification of the aromatic rings on JMPR-01, the molecules were further docked against 5-lipoxygenase (PDB ID: 6NCF), leukotriene A₄ hydrolase (PDB ID: 1HS6) and β_2 -adrenergic receptor (PDB ID: 7DHI). The interactions were visualized by use of Discovery Studio software. The most promising compounds were synthesized and physical-chemically characterized. Furthermore, their pharmacokinetics properties were assessed with the aim of on-line tools. All compounds presented good results of molecular docking for 5-lipoxygenase and β_2 -adrenergic receptor. Due to reagent availability and synthetic accessibility, JMH-04, JMN-04 and JMC-04 were chosen to synthesize. These compounds were obtained in an average yield of 37-42%. They also showed a melting point in the range of 115-120°C for JMH-04, 212-214°C for JMN-04, and 189-192°C for JMC-04. The three molecules showed a similar solubility profile and the same retention factor (R_f). Regarding the pharmacokinetic profile, all the molecules presented a high intestinal absorption, with no violations of the druglikeness rules of Lipinski. Thus, the compounds showed promising pharmacodynamic and pharmacokinetics results. Nevertheless, more studies are needed for these compounds to be the starting point for the development of novel safer and more effective multi-target drugs for the treatment of asthma.

Keywords: asthma; molecular docking; JMPR-01; synthesis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 — Metabolismo do ácido araquidônico (AA) pela 5-lipoxigenase (5-LOX)	17
Figura 2 — Conversão de leucotrieno A ₄ (LTA ₄) em leucotrieno B ₄ (LTB ₄) catalisada pela Leucotrieno A ₄ Hidrolase (LTA ₄ H)	18
Figura 3 — Scaffold <i>N</i> -fenilacetamídico	19
Figura 4 — Estrutura química do (<i>E</i>)-2-ciano- <i>N</i> ,3-difenilacrilamida (JMPR-01)	19
Figura 5 — Rota sintética para obtenção dos compostos da série congênere de derivados <i>N</i> -fenilacetamídicos	21
Figura 6 — Esquema do planejamento para obtenção da série congênere a partir da estrutura do JMPR-01	23
Figura 7 — Complexos da 5-LOX (ID: 6NCF) com a) AKBA, b) JMM-05, c) JMH-04, d) JMN-04 e e) JMC-04	26
Figura 8 — Complexos do R β 2AD (ID: 7DHI) com a) Salbutamol, b) JMN-06, c) JMH-04, d) JMN-04 e e) JMC-04	29
Figura 9 — Mecanismo para obtenção dos intermediários reacionais via substituição nucleofílica acílica	31
Figura 10 — Mecanismo para obtenção dos compostos JMN-04 e JMC-04 via condensação de Knoevenagel	32
Figura 11 — Principais pontos de metabolismo das moléculas sintetizadas	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Dados de <i>redocking</i> dos ligantes cocrystalizados	24
Tabela 2 — Dados de <i>docking</i> molecular da série congênere e dos ligantes cocrystalizados	24
Tabela 3 — Resultados de síntese, faixa de fusão e fator de retenção (Rf) dos compostos	33
Tabela 4 — Principais propriedades farmacocinéticas previstas <i>in silico</i> para os compostos sintetizados	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Asma	15
3.2 Tratamento da asma	15
3.2.1 Anti-Inflamatórios Esteroidais (AIEs)	15
3.2.2 Broncodilatadores	16
3.3 Alvos relevantes para o desenvolvimento de fármacos antiasmáticos	17
3.3.1 5-Lipoxigenase (5-LOX)	17
3.3.2 Leucotrieno A ₄ Hidrolase (LTA ₄ H)	18
3.3.3 Receptor β ₂ -adrenérgico (Rβ ₂ Ad)	18
3.4 Derivados 2-ciano-<i>N</i>-fenilacetamídicos	18
3.5 Ferramentas <i>in silico</i> e desenvolvimento de fármacos	20
4 METODOLOGIA	20
4.1 Planejamento das moléculas	20
4.2 <i>Docking</i> molecular	20
4.3 Síntese e caracterização físico-química	21
4.3.1 Síntese de JMH-04	22
4.3.2 Síntese de JMN-04	22
4.3.3 Síntese de JMC-04	22
4.4 Perfil farmacocinético	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
5.1 Planejamento das moléculas	23
5.2 <i>Docking</i> molecular	24
5.3 Síntese e caracterização físico-química	31
5.4 Predição de perfil farmacocinético <i>in silico</i>	34

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
7 PERSPECTIVAS FUTURAS	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

A asma é considerada uma doença respiratória heterogênea de caráter multifatorial que afeta mais de 260 milhões de pessoas em todo o mundo. Uma grande variedade de fatores genéticos e ambientais estão envolvidos com a inflamação crônica das vias aéreas, que persiste com remodelação e hiperresponsividade brônquica. Há a participação conjunta de componentes de ambos os sistemas imune, inato e adaptativo (Gans; Gavrilova, 2020). Na asma alérgica ou extrínseca, destaca-se a ativação exacerbada de células T auxiliaadoras (Th, do inglês *helper*), que respondem a presença de alérgenos através da produção de citocinas, mediadores químicos da inflamação (Habib; Pasha; Tang, 2022).

O tratamento de primeira linha na asma consiste na administração de anti-inflamatórios esteroidais (corticoides), especialmente em formulações destinadas à via inalatória. Outras classes de fármacos, úteis no alívio dos sintomas da asma, são os broncodilatadores e os antagonistas de receptores de leucotrienos, esta última classe age bloqueando os receptores de cisteinil-leucotrienos, importantes sinalizadores químicos do processo inflamatório asmático (Gans; Gavrilova, 2020; Pelaia *et al.*, 2015). Contudo, estes tratamentos têm suas limitações, como os efeitos adversos, a dependência e a resistência mediante o uso prolongado, principalmente dos glicocorticoides (Patel *et al.*, 2023).

Diante disso, a busca por novos tratamentos para a asma, que sejam mais eficazes e com menos efeitos adversos, é incessante. A química medicinal e as ferramentas *in silico* são essenciais nesse processo, auxiliando no desenho de moléculas direcionadas a alvos já conhecidos ou para novos alvos terapêuticos. Através de triagens de bibliotecas químicas, estruturas privilegiadas são selecionadas como potenciais *hits*, que podem seguir posterior processo de otimização para obtenção de novos fármacos (Koeberle; Werz, 2014).

A *N*-fenilacetamida (acetanilida) tem sido um ponto de partida versátil para o planejamento de muitos potenciais candidatos a fármaco, incluindo muitos antipiréticos e analgésicos como o paracetamol (Barbosa *et al.*, 2009; Vastag *et al.*, 2014). O núcleo *N*-fenilacetamida também tem sido associado a compostos *hit* com inúmeras atividades farmacológicas, tais como atividade anti-inflamatória (Rani *et al.*, 2014), antidepressiva (Suryawanshi *et al.*, 2022), antidiabética (Sayahi *et al.*, 2024) e antimicrobiana (Lu; Zhou; Jin, 2020).

O (*E*)-2-ciano-*N*,3-difenilacrilamida (JMPR-01) é um exemplo de composto *hit* com atividade anti-inflamatória, o qual reduziu a produção de óxido nítrico e citocinas inflamatórias em macrófagos ativados, bem como reduziu o edema de pata nos animais tratados no estudo de Silva *et al.* (2022). Sendo assim, visando a importância desse *scaffold* e considerando a asma uma doença inflamatória cuja terapia apresenta limitações, este trabalho visa planejar novos derivados 2-ciano-*N*-fenilacetamídicos baseados no JMPR-01 e analisar, através de *docking* molecular, seu potencial antiasmático.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Planejar, a partir de um promissor derivado 2-ciano-*N*-fenilacetamídico uma série congênere de compostos e avaliar sua ligação a diferentes alvos associados a asma *in silico*.

2.2 Objetivos específicos

- a) Planejar uma série congênere de compostos a partir do JMPR-01.
- b) Analisar por *docking* molecular seu modo de ligação a diferentes alvos associados a asma.
- c) Sintetizar e caracterizar as propriedades físico-químicas de pelo menos três compostos.
- d) Avaliar o perfil farmacocinético *in silico* dos derivados sintetizados com o auxílio de ferramentas on-line.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Asma

A asma é uma doença respiratória heterogênea e multifatorial caracterizada por inflamação e estreitamento das pequenas vias aéreas. Em 2019 foram contabilizados mais de 260 milhões de indivíduos acometidos por asma e 455 mil mortes foram registradas. Além disso, a asma é a doença crônica mais comum entre as crianças (OMS, 2024). A resposta inflamatória em conjunto com a obstrução e hiperresponsividade brônquica são responsáveis pelos sintomas de tosse, sibilos, dificuldade para respirar e cansaço que são comumente observados em pacientes asmáticos (Patel *et al.*, 2023).

Inúmeros fatores genéticos e ambientais estão envolvidos na fisiopatologia da asma, como alérgenos, obesidade, mudanças climáticas, tabaco, hormônios e mutações genéticas. Há a ativação conjunta da resposta imune inata e adaptativa, que evocam os mecanismos associados à inflamação crônica e hipersensibilidade, com a infiltração de leucócitos, fibrose subepitelial, hiperplasia glandular com aumento da secreção de muco e aumento na espessura do músculo liso das vias aéreas, contribuindo com graves episódios de broncoconstrição aguda e reversível (Gans; Gavrilova, 2020; Habib; Pasha; Tang, 2022).

3.2 Tratamento da asma

3.2.1 Anti-Inflamatórios Esteroidais (AIEs)

Os anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) ou corticosteroides, como a hidrocortisona, a prednisona e a prednisolona, fazem parte do tratamento de primeira linha para todos os tipos de asma. Estes fármacos exercem suas ações através de mecanismos ainda não totalmente esclarecidos. A sua ação anti-inflamatória é, em parte, atribuída a sua ação em receptores de glicocorticoides (RG) citoplasmáticos. Esses receptores são responsáveis por modular a expressão de genes no núcleo, tais genes estão associados com a síntese de diferentes proteínas, incluindo enzimas e fatores de transcrição importantes para a resposta inflamatória,

como o fator nuclear Kappa B (NF- κ B) (Brunton; Hilal-Dandan; Knollmann, 2018; Ramamoorthy; Cidlowski, 2016).

Os múltiplos efeitos dos corticosteroides na ativação e supressão de genes anti-inflamatórios e pró-inflamatórios, respectivamente, os tornam úteis no tratamento de uma grande variedade de doenças inflamatórias, incluindo a asma. Nas exacerbações dos sintomas da asma, podem ser utilizados corticosteroides sistêmicos, contudo, o uso prolongado destes medicamentos está associado a efeitos adversos relacionados à supressão do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. Sendo assim, os corticosteroides inalatórios são preferíveis no tratamento de manutenção e controle, auxiliando na redução do infiltrado de células inflamatórias e na hiperresponsividade brônquica (Gans; Gavrilova, 2020).

3.2.2 Broncodilatadores

Além dos corticosteroides, os broncodilatadores constituem uma importante classe de fármacos utilizados no manejo dos sintomas da asma, especialmente os agonistas do receptor β_2 -adrenérgico, como o salbutamol, formoterol e o salmeterol. Esse receptor é acoplado à proteína G (GPCR) e sua via de sinalização leva ao aumento da concentração intracelular de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) e ativação da proteína cinase dependente de AMPc (PKA), resultando no relaxamento do músculo liso brônquico (Brunton; Hilal-Dandan; Knollmann, 2018). Apesar de sua eficácia, estes fármacos estão associados a efeitos adversos cardiovasculares, especialmente em pacientes com histórico de risco cardiovascular (Cazzola *et al.*, 2019).

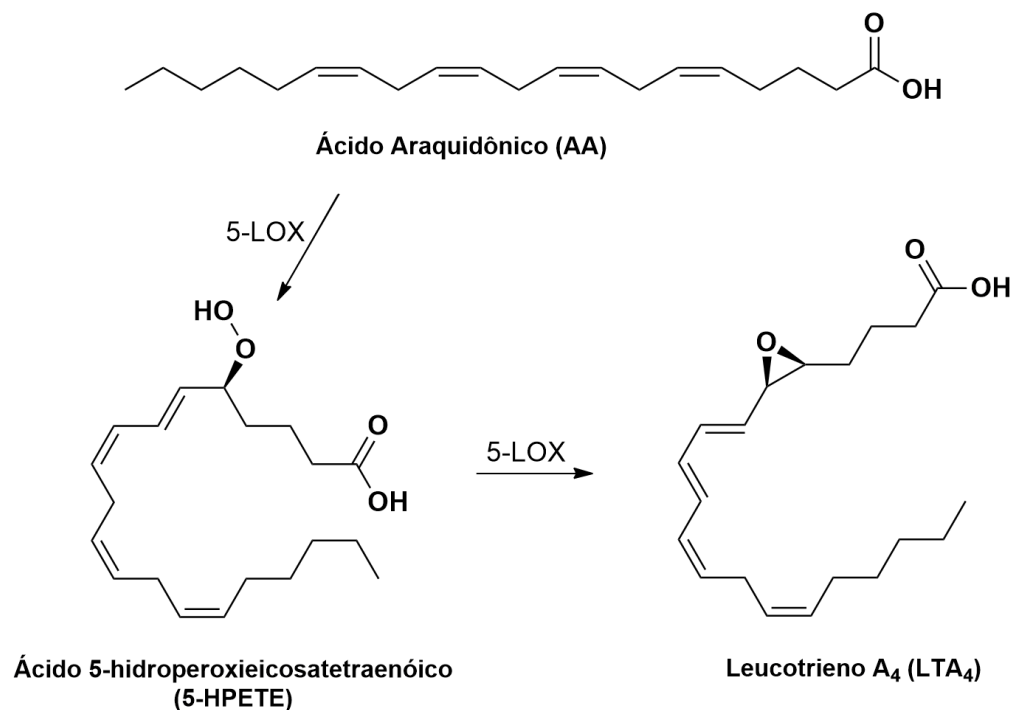
Um outro grupo de fármacos broncodilatadores são os inibidores da fosfodiesterase 4 (PDE4), como o roflumilaste e as metilxantinas. A PDE4 é a enzima responsável pelo metabolismo do AMPc, mensageiro químico importante em inúmeras vias de transdução de sinais, incluindo a do receptor β_2 -adrenérgico. O desenvolvimento destes fármacos se iniciou com a descoberta da atividade inibidora de PDE de derivados metilxantínicos, como a teofilina. Contudo, estes fármacos estão associados a baixa tolerabilidade, baixo índice terapêutico e baixa eficácia na resposta aguda da doença (Phillips, 2020).

3.3 Alvos relevantes para o desenvolvimento de fármacos antiasmáticos

3.3.1 5-Lipoxigenase (5-LOX)

De acordo com Radmark *et al.* (2015), existem 6 isoformas de lipoxigenase que podem ser expressas pelas células humanas, sendo a 5-lipoxigenase (5-LOX) a responsável por catalisar a transformação do ácido araquidônico (AA) em ácido 5-hidroperoxieicosatetraenóico (5-HPETE) pela inserção de um grupo hidroperóxido no carbono 5, conforme demonstrado na Figura 1. A proteína ativadora da 5-LOX (FLAP) é uma proteína de membrana nuclear responsável por transportar AA e ativar a 5-LOX (Mashima; Okuyama, 2015). Em seguida, a 5-LOX converte o 5-HPETE em leucotrieno A₄ (LTA₄), o precursor imediato de outros leucotrienos pró-inflamatórios. Os leucotrienos estão envolvidos na fisiopatologia de muitas doenças inflamatórias, especialmente as doenças respiratórias como a asma e a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). O Zileuton é o único medicamento aprovado para tratamento de asma que tem como alvo a 5-LOX, mas apresenta hepatotoxicidade e um tempo de meia-vida muito curto (Bruno *et al.*, 2018; Gilbert; Newcomer; Werz, 2021).

Figura 1 — Metabolismo do ácido araquidônico (AA) pela 5-lipoxigenase (5-LOX)

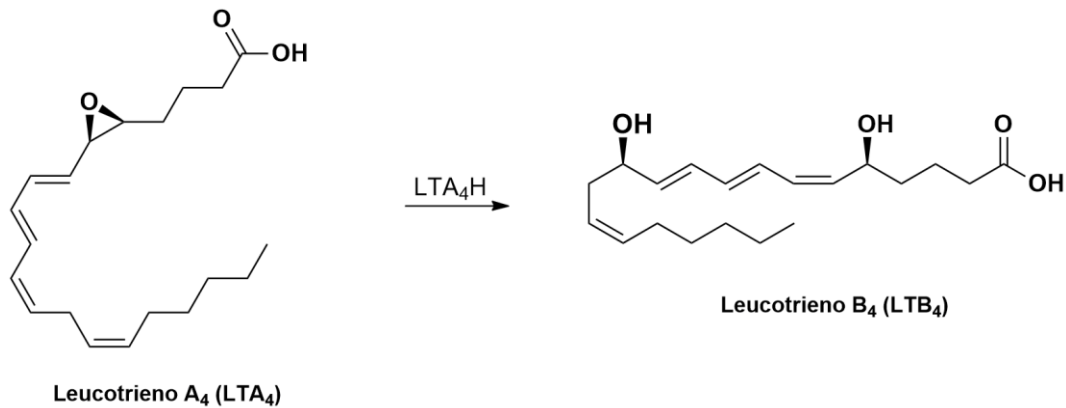


Fonte: Aatoria (2024).

3.3.2 Leucotrieno A₄ Hidrolase (LTA₄H)

A LTA₄H é uma epóxido hidrolase responsável por converter o LTA₄ em LTB₄ (Figura 2), um potente mediador inflamatório. O LTB₄ atua no receptor BLT1, promovendo o recrutamento e a ativação de leucócitos mieloides, ativação de células T e de células apresentadoras de antígenos. A LTA₄H também possui atividade de aminopeptidase e é classificada como uma metalopeptidase, pois contém zinco em sua estrutura (Luo *et al.*, 2022; Wan *et al.*, 2017).

Figura 2 — Conversão de leucotrieno A₄ (LTA₄) em leucotrieno B₄ (LTB₄) catalisada pela Leucotrieno A₄ Hidrolase (LTA₄H)



Fonte: Aatoria (2024).

3.3.3 Receptor β₂-adrenérgico (Rβ₂Ad)

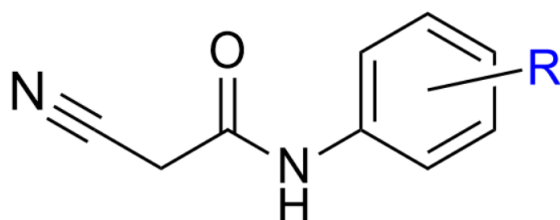
Como mencionado anteriormente, o receptor β₂-adrenérgico é um receptor acoplado à proteína G (GPCR), especificamente à proteína G_s. Após ligação de agonistas endógenos ou exógenos, a ativação da proteína G_s leva a ativação da adenilato ciclase (AC), que converte o monofosfato de adenosina (AMP) em AMP cíclico (AMPc). Em seguida, ocorre ativação da proteína cinase dependente de AMPc (PKA), a qual fosforila diversos substratos, levando a broncodilatação dentre outros efeitos (Brunton; Hilal-Dandan; Knollmann, 2018).

3.4 Derivados 2-ciano-*N*-fenilacetamídicos

Os derivados 2-ciano-*N*-fenilacetamídicos são compostos que contêm em sua estrutura uma cianoacetamida cujo nitrogênio carrega um anel benzeno substituído

ou não (Figura 3). A estrutura da 2-ciano-*N*-fenilacetamida permite uma variedade de modificações químicas, especialmente, no carbono metilênico vizinho à nitrila e ao grupo amida, o qual permite a obtenção de derivados por condensação, expandindo a cadeia (Hamed *et al.*, 2020; Marinkovic *et al.*, 2013).

Figura 3 — Scaffold *N*-fenilacetamídico

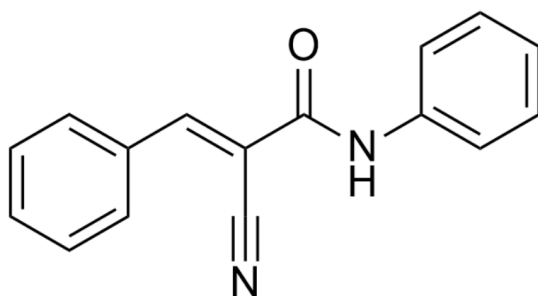


2-ciano-*N*-fenilacetamida

Fonte: Autoria (2024).

O (*E*)-2-ciano-*N*,3-difenilacrilamida (JMPR-01) (Figura 4) é um exemplo de derivado 2-ciano-*N*-fenilacetamídico, obtido pela condensação da 2-ciano-*N*-fenilacetamida com benzaldeído. O composto foi capaz de reduzir significativamente a produção de nitrito, interleucina-1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) em ensaio utilizando linhagem de macrófagos ativados. Na dose de 50 mg/kg de peso, reduziu a migração leucocitária em 90,5% em ensaio de peritonite induzida por zimosan. Na mesma dose e na de 100 mg/kg, reduziu significativamente o edema de pata nas primeiras 6h de tratamento, de maneira similar a dexametasona, sem diferença estatística entre as doses (Silva *et al.*, 2022).

Figura 4 — Estrutura química do (*E*)-2-ciano-*N*,3-difenilacrilamida (JMPR-01)



JMPR-01

Fonte: Autoria (2024).

3.5 Ferramentas *in silico* e desenvolvimento de fármacos

O avanço tecnológico e o advento dos estudos *in silico* foram cruciais para a química medicinal, reduzindo o custo e o tempo envolvido com o processo de desenvolvimento de novos fármacos. Diversas técnicas computacionais podem ser aplicadas na triagem de bibliotecas químicas, selecionando os compostos com maior potencial de interação para determinado alvo. É possível também prever as interações intermoleculares entre moléculas e diferentes alvos biológicos através de técnicas como o *docking* e a dinâmica molecular. Estas técnicas também permitem prever características, como as distâncias das ligações, a conformação e as contribuições estereoeletrônicas de diferentes fragmentos da molécula na sua interação com o alvo. Por fim, técnicas *in silico* também são úteis na predição de propriedades farmacocinéticas, como absorção gastrointestinal, as quais são cruciais na definição de um potencial candidato a fármaco (Rognan, 2017).

4 METODOLOGIA

4.1 Planejamento das moléculas

A série de derivados 2-ciano-*N*-fenilacetamídicos foi planejada através da inserção de diferentes substituintes nos anéis aromáticos do (*E*)-2-ciano-*N*,3-difenilacrilamida (JMPPR-01), visando avaliar a contribuição dos efeitos lipofílico e estereoeletrônicos desses substituintes na interação dessas moléculas com os alvos no *docking* molecular.

4.2 *Docking* molecular

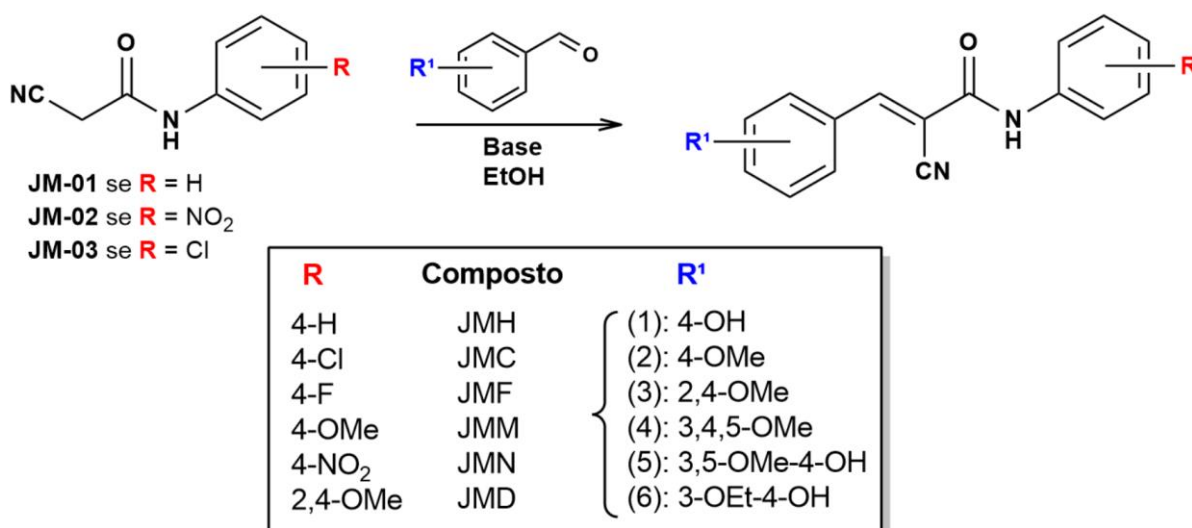
A análise por *docking* molecular foi previamente validada através de *redocking* com o ligante cocrystalizado de cada alvo, sob as 4 diferentes funções de *score* do Gold e considerando o Desvio Quadrático Médio (RMSD) ≤ 2.0 Å como parâmetro de validação (Bell; Zhang, 2019). A estrutura dos derivados foi desenhada no programa MarvinSketch 23.16.0 e, posteriormente, submetida à otimização de geometria no ArgusLab 4.0.1 para minimizar a energia conformacional através do método semi-empírico PM3.

Alvos relevantes para asma foram obtidos a partir do *Research Collaboratory of Structure Bioinformatics Protein Data Bank* (RCSB PDB). O estudo *in silico* contemplou os alvos: 5-lipoxigenase (PDB IB: 6NCF), leucotrieno A4 hidrolase (PDB ID: 1HS6) e o receptor β_2 -adrenérgico (PDB ID: 7DHI). O *docking* molecular foi realizado utilizando o *software* Gold 5.8.1. Finalmente, os complexos ligante-proteína correspondentes à conformação (pose) com melhor pontuação foram extraídos e as interações intermoleculares analisadas com o auxílio do *software* Discovery Studio 2024 Client.

4.3 Síntese e caracterização físico-química

Os compostos mais promissores para os alvos testados foram sintetizados no Laboratório de Desenvolvidos e Síntese de Fármacos (LDSF) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). A rota sintética e as condições reacionais estão descritas na Figura 5. Foi calculado para cada composto sintetizado o seu rendimento, sua faixa de fusão, ponto de retenção, solubilidade aparente e foram analisadas as características do cristal.

Figura 5 — Rota sintética para obtenção dos compostos da série congênere de derivados *N*-fenilacetamídicos



Fonte: Aatoria (2024).

4.3.1 Síntese de JMH-04

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 100 mg de 2-ciano-*N*-fenilacetamida (JM-01) e 8 mL de etanol. Manteve-se sob agitação constante e, após completa dissolução do JM-01, foram adicionadas 8 gotas do catalisador básico morfolina. Em seguida, adicionou-se 122,5 mg (1 eq.) de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído. Após 3h de refluxo, a temperatura foi desligada e a reação foi deixada para esfriar até temperatura ambiente. O consumo dos reagentes e a formação do produto foram acompanhados por cromatografia em camada delgada (CCD). A finalização se deu pela adição de gelo seguida de filtração do precipitado formado.

4.3.2 Síntese de JMN-04

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 100 mg de 2-ciano-*N*-(4-nitrofenil)acetamida (JM-02) e 8 mL de etanol. Manteve-se sob agitação constante e, após completa dissolução do JM-02, foram adicionadas 6 gotas de morfolina. Em seguida, adicionou-se 95,63 mg (1 eq.) de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído. Após 3h de refluxo, a temperatura foi desligada e a reação foi deixada para esfriar até temperatura ambiente. Houve a formação de precipitado no meio reacional, sendo assim a finalização se deu apenas por refrigeração seguida de filtração.

4.3.3 Síntese de JMC-04

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 50 mg de 2-ciano-*N*-(4-clorofenil)acetamida (JM-03) e 4 mL de etanol. Manteve-se sob agitação constante e, após completa dissolução do JM-03, foram adicionadas 5 gotas de morfolina. Em seguida, adicionou-se 50,4 mg (1 eq.) de 3,4,5-trimetoxibenzaldeído. Após 3h de refluxo, a temperatura foi desligada e a reação foi deixada para esfriar até temperatura ambiente. A reação foi finalizada da mesma forma descrita anteriormente para o JMN-04 e JMH-04.

4.4 Perfil farmacocinético

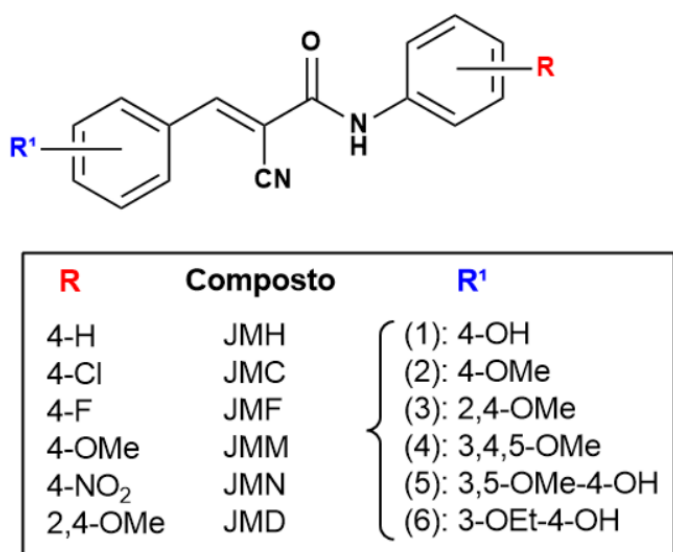
O perfil farmacocinético de ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) e toxicológico dos compostos mais promissores foi analisado através das ferramentas on-line SwissADME e XenoSite. Foram observados parâmetros como absorção através do trato gastrointestinal, capacidade de permeação pela barreira hematoencefálica (BHE), solubilidade aquosa (Log S), lipofilicidade (Wlog P e Mlog P), pontos de metabolismo e possibilidade de inibição de enzimas do citocromo P450. Finalmente, estes compostos foram analisados quanto ao cumprimento dos critérios de *druglikeness* de acordo com a “regra dos 5” de Lipinski.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Planejamento das moléculas

Foram planejados 36 compostos variando os substituintes ligados aos anéis aromáticos do JMPR-01. Esses substituintes incluíram átomos de halogênio, grupo nitro, alcóxilas e hidroxilas, como esquematizado na Figura 6.

Figura 6 — Esquema do planejamento para obtenção da série congênere a partir da estrutura do JMPR-01



Fonte: Autoria (2024).

5.2 Docking molecular

A metodologia foi validada por *redocking* dos ligantes cocrystalizados, considerando um RMSD ≤ 2.0 Å. Com exceção da 5-lipoxigenase, onde somente a função GoldScore obteve RMSD ≤ 2.0 Å, foi possível validar a metodologia para todos os alvos utilizando a função ChemPLP, a função de pontuação padrão do Gold. Na Tabela 1 estão os resultados do *redocking* molecular.

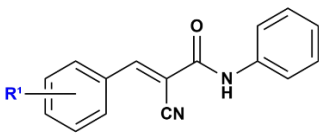
Tabela 1 — Dados de *redocking* dos ligantes cocrystalizados

ALVO (PDB)	LIGANTE	FUNÇÃO DE PONTUAÇÃO	RMSD (≤ 2.0 Å)	FITNESS SCORE
5-LOX (6NCF)	AKBA	GoldScore	1,8988	55,6112
LTA ₄ H (1HS6)	Bestatina	ChemPLP	0,6879	99,7702
R β ₂ Ad (7DHI)	Salbutamol	ChemPLP	0,4542	63,1676

Fonte: Aatoria (2024).

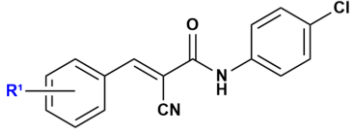
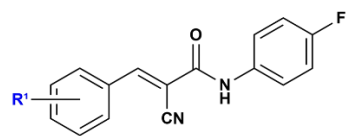
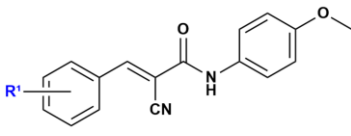
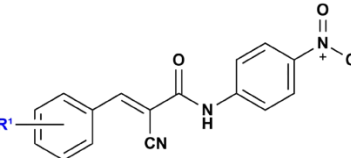
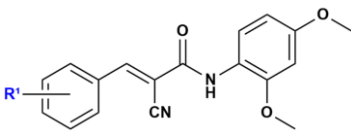
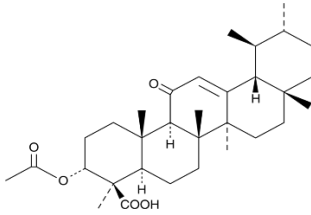
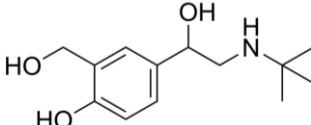
Os compostos apresentaram resultados promissores para a 5-lipoxigenase e o receptor β_2 -adrenérgico, com valores de *fitness score* próximos ou superior ao valor dos ligantes cocrystalizados. Na Tabela 2 estão os resultados de *docking* dos compostos da série congênere. O objetivo do *docking* molecular é avaliar a interação das moléculas com determinado sítio de um alvo de interesse. A pose de menor energia livre ou a que apresenta melhor encaixe (*fitness*) é aquela conformação que forma o complexo mais estável com o alvo (Kothandan; Ganapathy, 2014; Xiao *et al.*, 2024).

Tabela 2 — Dados de *docking* molecular da série congênere e dos ligantes cocrystalizados

SÉRIE	R ¹	COMPOSTO	5-LOX	R β ₂ AD
	4-OH	JMH-01	53,9183	64,7293
	4-OMe	JMH-02	59,7176	65,7318
	2,4-OMe	JMH-03	61,6122	64,4446
	3,4,5-OMe	JMH-04	62,0526	65,1591
	3,5-OMe-4-OH	JMH-05	65,8728	71,1888
	3-OEt-4-OH	JMH-06	63,5595	70,4431

Continua

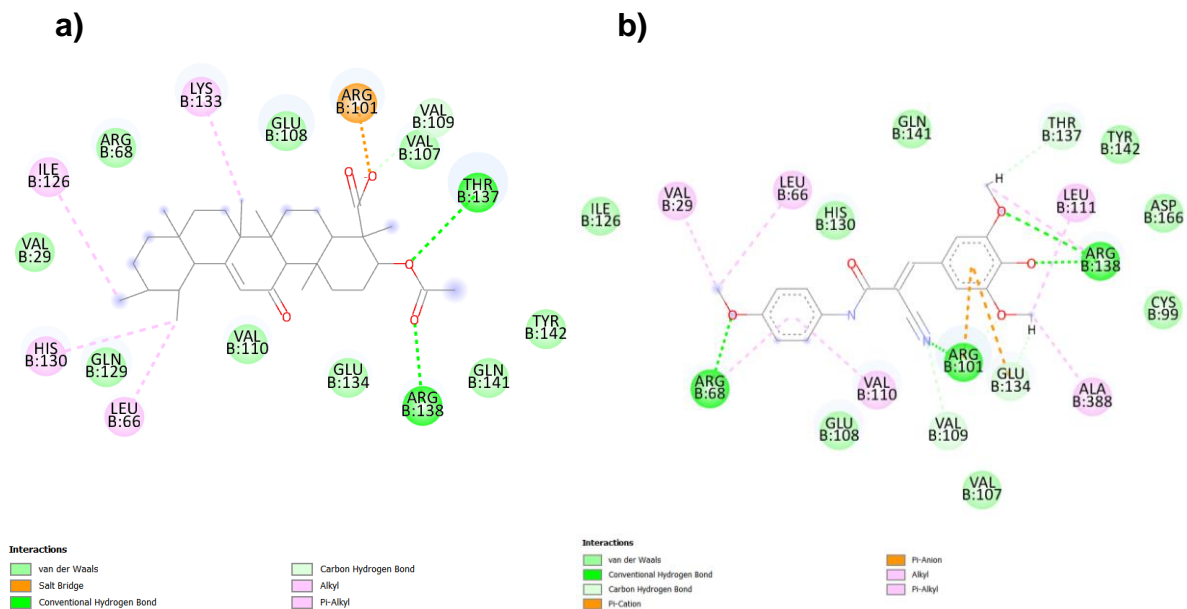
Tabela 3 — Dados de *docking* molecular da série congênere e dos ligantes cocrystalizados (continuação)

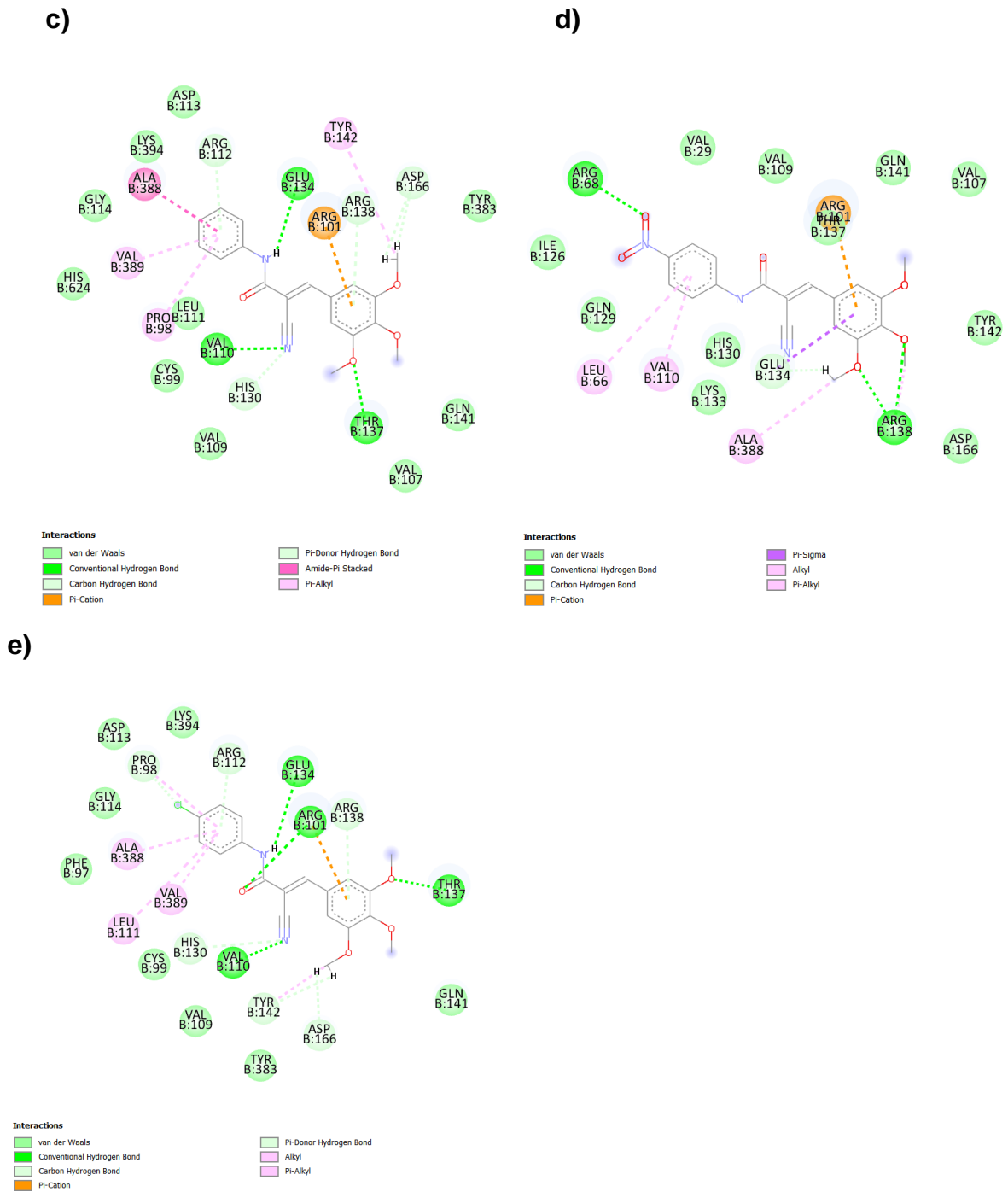
SÉRIE	R ¹	COMPOSTO	5-LOX	R β ₂ AD
	4-OH	JMC-01	57,9559	66,5873
	4-OMe	JMC-02	57,9102	67,0063
	2,4-OMe	JMC-03	63,4255	67,9746
	3,4,5-OMe	JMC-04	63,9509	69,7469
	3,5-OMe-4-OH	JMC-05	67,0010	71,6300
	3-OEt-4-OH	JMC-06	64,0676	69,9660
	4-OH	JMF-01	58,8509	64,8722
	4-OMe	JMF-02	57,8711	66,7684
	2,4-OMe	JMF-03	67,4515	70,5447
	3,4,5-OMe	JMF-04	69,8716	69,9591
	3,5-OMe-4-OH	JMF-05	66,3654	69,2334
	3-OEt-4-OH	JMF-06	65,7789	70,3611
	4-OH	JMM-01	59,6801	68,0732
	4-OMe	JMM-02	63,4707	66,8587
	2,4-OMe	JMM-03	67,5411	66,5540
	3,4-OMe	JMM-04	67,9126	66,6021
	3,5-OMe-4-OH	JMM-05	73,0167	68,4721
	3-OEt-4-OH	JMM-06	66,7607	68,1801
	4-OH	JMN-01	57,9816	67,7340
	4-OMe	JMN-02	58,5268	67,8283
	2,4-OMe	JMN-03	61,5772	70,1930
	3,4,5-OMe	JMN-04	65,0540	74,2588
	3,5-OMe-4-OH	JMN-05	67,9335	71,8776
	3-OEt-4-OH	JMN-06	64,1429	76,2316
	4-OH	JMD-01	58,2621	71,5469
	4-OMe	JMD-02	59,5920	67,4800
	2,4-OMe	JMD-03	66,7717	69,9669
	3,4,5-OMe	JMD-04	65,0284	71,1207
	3,5-OMe-4-OH	JMD-05	64,2199	71,2443
	3-OEt-4-OH	JMD-06	62,4384	74,7074
		AKBA	55,6112	
		Salbutamol		63,1676

Fonte: Aatoria (2024).

Dentre todas as moléculas da série congênere, destacam-se o JMM-05 e o JMN-06, pois foram os compostos com maior valor de *fitness score* no *docking* com a 5-lipoxigenase e o receptor β_2 -adrenérgico, respectivamente. Primeiramente, a 5-LOX é a enzima responsável pela síntese de leucotrieno A₄ (LTA₄), o precursor imediato dos leucotrienos biologicamente ativos (SMITH; MURPHY, 2016, p. 276). O JMM-05 interagiu com a 5-LOX de maneira similar ao inibidor alostérico seletivo para a isoforma 5-lipoxigenase, o AKBA (Figura 7). Da mesma forma fizeram os compostos sintetizados JMH-04, JMN-04 e JMC-04, os quais interagiram com a 5-LOX, apresentando um *fitness* também superior ao do AKBA.

Figura 7 — Complexos da 5-LOX (ID: 6NCF) com a) AKBA, b) JMM-05, c) JMH-04, d) JMN-04 e e) JMC-04





Fonte: Aatoria (2024).

Nas cinco moléculas, foram observadas interações de caráter iônico com o resíduo de Arg¹⁰¹, um resíduo importante para atividade enzimática (Gilbert *et al.*, 2020), sendo que o AKBA interagiu por ponte salina, e as demais estruturas por π -cátion. O grupo acetiloxi do AKBA realizou ligações de hidrogênio com Thr¹³⁷, assim como um dos grupos metóxi na posição meta do anel trimetoxifenílico dos compostos JMH-04 e JMC-04. O mesmo resíduo acetiloxi do AKBA também realizou

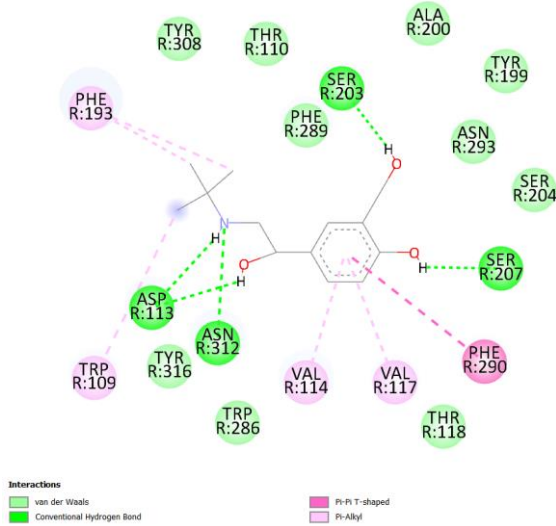
ligação de hidrogênio com Arg¹³⁸, assim como o JMM-05 e o JMN-04. Estas últimas moléculas também realizaram interações de empilhamento π -ânion e π -sigma, respectivamente, com o resíduo ácido de Glu¹³⁴. As interações de empilhamento representam um grupo de interações dipolares essenciais nos sistemas biológicos, contribuindo para o reconhecimento e estabilidade do complexo ligante-proteína (Freitas; Schapira, 2017; Persch; Dumele; Diederich, 2015; Polshakov; Batuev; Mantsyzov, 2019).

Por fim, outras interações importantes foram observadas, como ligação de hidrogênio dos compostos JMM-05 e JMN-04 e o resíduo básico Arg⁶⁸. O grupo ciano do JMH-04 e do JMC-04 realizou ligação de hidrogênio com Val110. O JMH-04 também realizou interação de empilhamento π -amida com Ala³⁸⁸. Essas interações propõem fortemente a 5-LOX como um alvo potencial para estas moléculas, uma vez que interações semelhantes foram observadas para os outros compostos da série congênere.

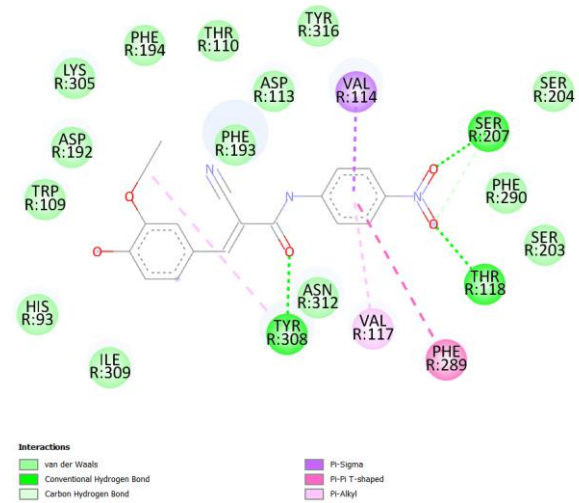
No receptor β_2 -adrenérgico, o JMN-06 e o JMN-04 realizaram ligações de hidrogênio, através do grupo nitro, com os resíduos de Ser²⁰⁷ e Thr¹¹⁸, mimetizando as duas ligações de hidrogênio realizadas pelos átomos de oxigênio do grupamento 3-hidroximetil-4-hidroxifenílico do salbutamol. De maneira similar ao modo de ligação do ligante de referência, o anel nitrofenílico do JMN-06 e do JMN-04 é estabilizado por uma interação de empilhamento π - π em forma de T com Phe²⁸⁹ e por interações de empilhamento π -alquil e π -sigma com Val¹¹⁷ e Val¹¹⁴, respectivamente, o que possivelmente explica seus significativos valores de *fitness score* (Figura 8).

Figura 8 — Complexos do R β 2AD (ID: 7DHI) com a) Salbutamol, b) JMN-06, c) JMH-04, d) JMN-04 e e) JMC-04

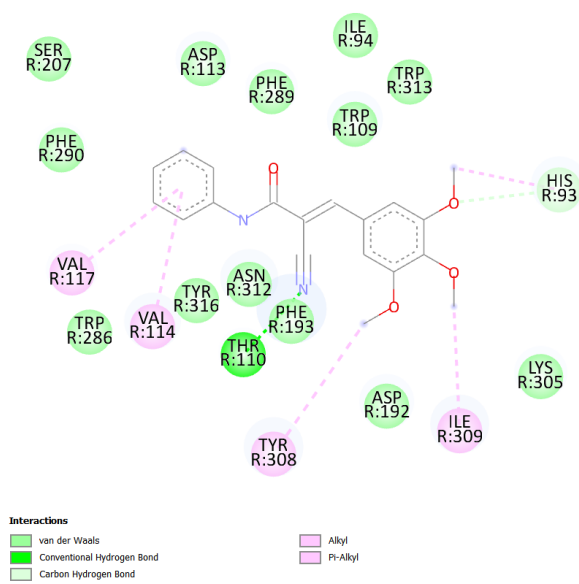
a)



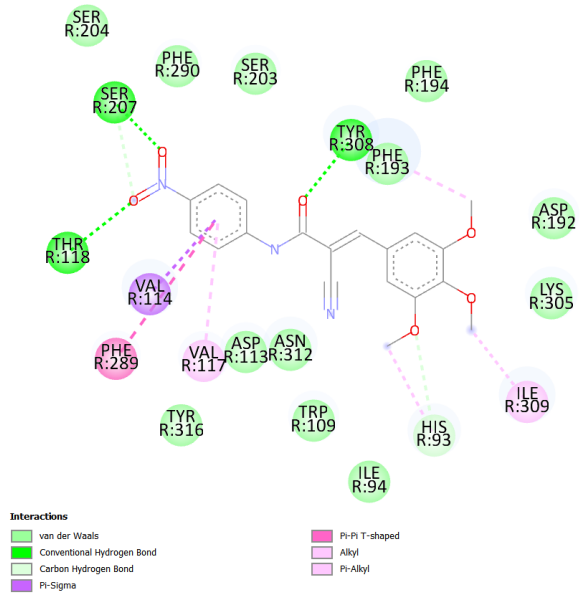
b)



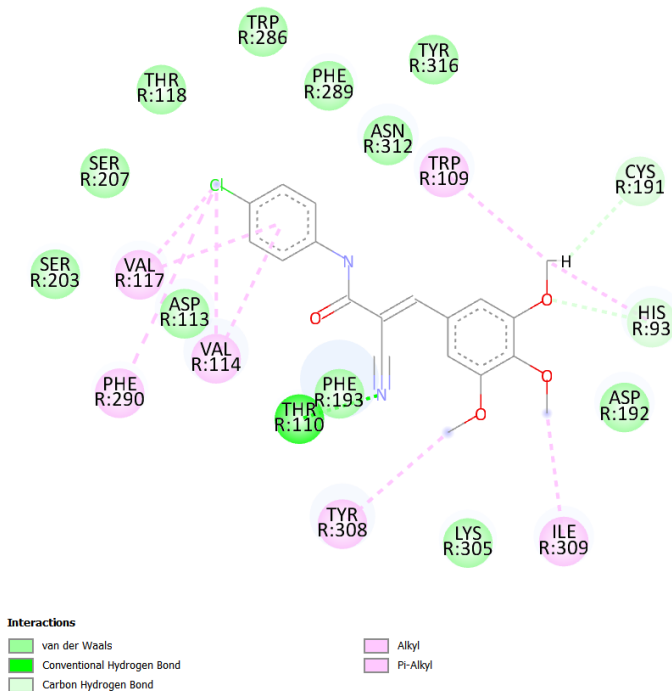
c)



d)



e)



Fonte: Aatoria (2024).

O JMH-04 e o JMC-04 apresentaram um perfil de interações com o receptor β_2 -adrenérgico bastante semelhante. A presença do átomo de cloro no lugar de um hidrogênio no anel aromático possibilitou um maior número de interações fracas de empilhamento π -alquil e alquila, o que se correlaciona com o *fitness* levemente superior do JMC-04 (69,7469) em relação ao do JMH-04 (65,1591). Contudo, estes compostos realizaram menos interações fortes com o receptor em relação às moléculas com grupo nitro. Ambos realizaram apenas uma ligação de hidrogênio com Thr¹¹⁰ em detrimento das três ligações de hidrogênio realizadas pelo JMN-04 e JMN-06. Portanto, grupos polares, como o grupo nitro, parecem ser importantes para a interação com o receptor β_2 -adrenérgico, visto que estes grupos realizam interações fortes, como ligações de hidrogênio, com resíduos importantes no sítio ativo.

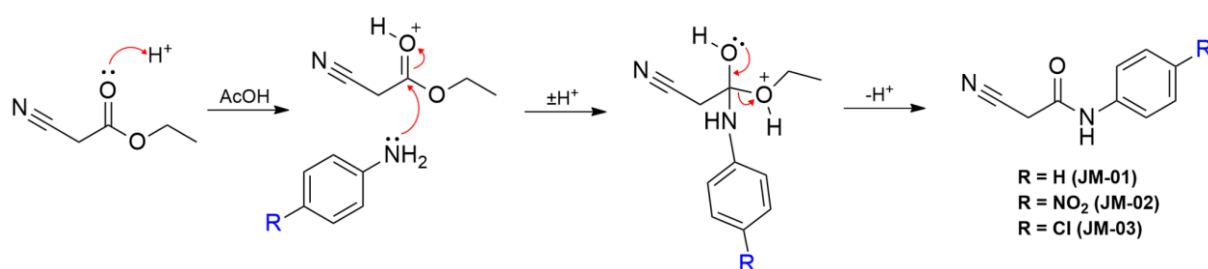
Os valores de *fitness score* indicam que estes compostos tem um grande potencial para o tratamento da asma, almejando duas vias importantes para a fisiopatologia da doença, a inflamação mediada por leucotrienos das vias aéreas e a broncoconstrição. Esses resultados sugerem, portanto, o potencial multialvo dessas moléculas, o que poderia trazer vantagens para o tratamento da asma, como redução de efeitos adversos e do risco de interações medicamentosas pelo uso de

mais de um fármaco, redução do desenvolvimento de tolerância ou resistência ao tratamento e comodidade, culminando no aumento da adesão ao tratamento (Talevi, 2015).

5.3 Síntese e caracterização físico-química

Todos os compostos apresentaram bons resultados no *docking* molecular, contudo, devido à disponibilidade de reagentes e pensando na viabilidade sintética das moléculas, foram escolhidos os compostos JMH-04, JMN-04 e JMC-04 para sintetizar. A primeira etapa para obtenção desses compostos consiste na obtenção dos intermediários reacionais, os precursores JM-01 (2-ciano-*N*-fenilacetamida), JM-02 (2-ciano-*N*-(4-nitrofenil)acetamida) e JM-03 (2-ciano-*N*-(4-clorofenil)acetamida), respectivamente. Esses intermediários já estavam disponíveis no laboratório onde o estudo foi desenvolvido, os mesmos são obtidos pela reação de substituição nucleofílica (adição-eliminação) acílica entre cianoacetato de etila e uma anilina substituída conforme mecanismo demonstrado na Figura 9.

Figura 9 — Mecanismo para obtenção dos intermediários reacionais via substituição nucleofílica acílica

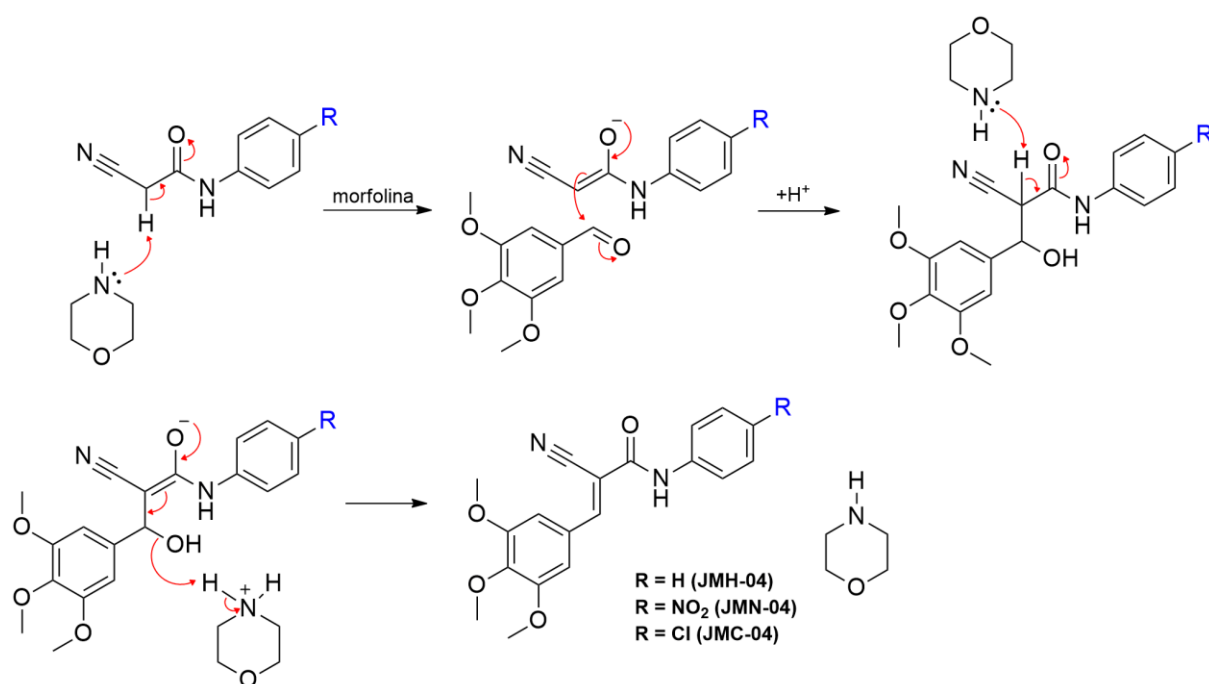


Fonte: Aatoria (2024).

Inicialmente, o cianoacetato de etila (eletrófilo acílico) é protonado pelo catalisador ácido acético (AcOH), formando uma espécie carbonílica protonada. O objetivo do catalisador é aumentar a eletrofilicidade da carbonila, facilitando o ataque posterior pela anilina substituída (nucleófilo). O intermediário tetraédrico formado sofre um prototropismo e se rearranja para restaurar a ligação π carbono-oxigênio da carbonila, eliminando uma molécula de etanol (grupo de saída) nesse processo. Finalmente, um próton é liberado, restaurando o catalisador ácido.

A próxima etapa consiste na condensação de Knoevenagel entre o JM (-01, 02 ou 03) e o 3,4,5-trimetoxibenzaldeído, formando, respectivamente, JMH-04, JMN-04 e JMC-04. O mecanismo (Figura 10) começa com a desprotonação de um dos hidrogênios do carbono metilênico do JM na presença de um catalisador básico (morfolina). A acidez desses hidrogênios é explicada pela formação de um carbânion que pode ser estabilizado por conjugação com os grupos elétron-retiradores vizinhos, a carbonila e a nitrila. Diferentes estruturas de ressonância podem ser desenhadas para representar essa estabilização, porém escolheu-se representar a estrutura de um enolato no mecanismo, devido ao maior caráter retirador de elétrons da carbonila e à maior capacidade do oxigênio em estabilizar uma carga negativa.

Figura 10 — Mecanismo para obtenção dos compostos JMN-04 e JMC-04 via condensação de Knoevenagel



Fonte: Autoria (2024).

Em seguida, o enolato formado age agora como nucleófilo e ataca uma molécula de aldeído (eletrófilo), como numa adição nucleofílica acíclica. O intermediário aniônico formado pode receber um próton do solvente ou da própria morfolina protonada, restaurando o catalisador. O produto formado é um composto β -hidroxicarbonílico, o qual é instável e pode sofrer eliminação para formar uma dupla ligação carbono-carbono. A eliminação se dá por um mecanismo E1cB (eliminação unimolecular promovida pela base conjugada). A morfolina remove o

próton α à carbonila e à nitrila, formando mais um enolato estabilizado por conjugação, o qual se rearranja eliminando água (Clayden; Greeves; Warren, 2012, p. 400).

A reação para obtenção do JMH-04 durou 24h, enquanto que a do JMN-04 e JMC-04 durou 48h. O JMH-04 se apresentou como um cristal marrom claro e os outros dois compostos como um cristal amarelado. Uma vez sintetizados, os compostos foram isolados e submetidos à caracterização físico-química, assim foram determinados o rendimento da reação, a faixa de fusão e o fator de retenção dos compostos (Tabela 3).

Tabela 4 — Resultados de síntese, faixa de fusão e fator de retenção (Rf) dos compostos

COMPOSTO	RENDIMENTO	FAIXA DE FUSÃO (°C)	FATOR DE RETENÇÃO (RF) ¹
JMH-04	41,7%	115-120	0,57
JMN-04	37,0%	212-214	0,57
JMC-04	41,8%	189-192	0,57

Fonte: Aatoria (2024). ¹O fator de retenção foi determinado pela razão da distância percorrida pelo composto e a distância percorrida pela fase móvel (sistema hexano/acetato de etila 7:3) na CCD.

O rendimento das reações foi relativamente baixo em comparação ao rendimento da síntese de JMPR-01 (72,36%) obtido anteriormente por Silva *et al.* (2022), possivelmente devido às mudanças nas condições reacionais, como catalisador, temperatura e solvente. A faixa de fusão do JMN-04 e do JMC-04 foi superior à do JMH-04, devido a maior polaridade do grupo nitro e ao aumento no peso molecular com a introdução do átomo de cloro, possibilitando a formação de forças intramoleculares atrativas mais intensas (Yalkowsky; Alantary, 2017). O fator de retenção é calculado dividindo a distância percorrida pelo composto pela distância percorrida pelo solvente na CCD, sendo, portanto, um indicativo de sua polaridade (Ciura *et al.*, 2017). O fator de retenção calculado para os três compostos curiosamente foi o mesmo, o que sugere que estas moléculas não diferem significativamente em polaridade.

Também foi determinado o perfil de solubilidade aparente (qualitativa) dos compostos, em diferentes solventes, o qual se apresenta no Quadro 1. A solubilidade é uma propriedade crucial das moléculas e influencia fortemente sua atividade biológica. De maneira geral, a solubilidade é um parâmetro que necessita ser avaliado já no início do processo de desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que pode impactar desde a eficácia dos ensaios *in vitro* até a elaboração de formulações a serem testadas em ensaios pré-clínicos e clínicos (Barret *et al.*, 2022).

Quadro 1 — Solubilidade aparente dos compostos sintetizados

SOLVENTE	JMH-04	JMN-04	JMC-04
TOLUENO	solúvel	pouco solúvel	pouco solúvel
CLOROFÓRMIO	solúvel	solúvel	solúvel
ACETONA	solúvel	solúvel	solúvel
DIOXANO	solúvel	solúvel	solúvel
DMSO ¹	solúvel	solúvel	pouco solúvel
ACETONITRILA	solúvel	moderadamente solúvel	moderadamente solúvel
PROPANOL	moderadamente solúvel	insolúvel	pouco solúvel
ETANOL	moderadamente solúvel	insolúvel	insolúvel
METANOL	pouco solúvel	insolúvel	insolúvel
ÁGUA	insolúvel	insolúvel	insolúvel

Fonte: Aatoria (2024). ¹DMSO: dimetilsulfóxido.

5.4 Predição de perfil farmacocinético *in silico*

No desenvolvimento de fármacos, as propriedades farmacocinéticas podem ser um grande empasse na descoberta de novos leads, uma vez que moléculas com significativa atividade também precisam apresentar as características necessárias para chegar ao seu local de ação. As ferramentas *in silico* podem auxiliar esse processo, delineando as propriedades físico-químicas e prováveis propriedades farmacocinéticas dos compostos (Rognan, 2017). Nesse estudo, os compostos sintetizados apresentaram um bom perfil farmacocinético *in silico*, com alta absorção

gastrointestinal e nenhuma violação às regras de *druglikeness* de Lipinski (peso molecular ≤ 500 ; MLogP $\leq 4,15$; aceptores de ligação de hidrogênio ≤ 10 ; doadores de ligação de hidrogênio ≤ 5), indicando boa biodisponibilidade oral (Tian *et al.*, 2015).

Os três demonstraram ser prováveis inibidores da isoforma majoritária CYP3A4, porém não demonstraram ser substrato da glicoproteína P, nem atravessar a barreira hematoencefálica (BHE). A inibição/indução de enzimas do citocromo P450, envolvidas com o metabolismo dos fármacos, é acompanhada de potenciais interações medicamentosas com outros fármacos que são metabolizados predominantemente por estas enzimas. Da mesma forma, a interação com a glicoproteína P está associada a interações medicamentosas importantes. Por fim, a não permeação da BHE se mostra como um ponto positivo, uma vez que moléculas que cruzam esta barreira tem o grande potencial de causar efeitos adversos no sistema nervoso central (Li *et al.*, 2019). Na Tabela 4 estão reunidos os resultados de propriedades farmacocinéticas das moléculas sintetizadas.

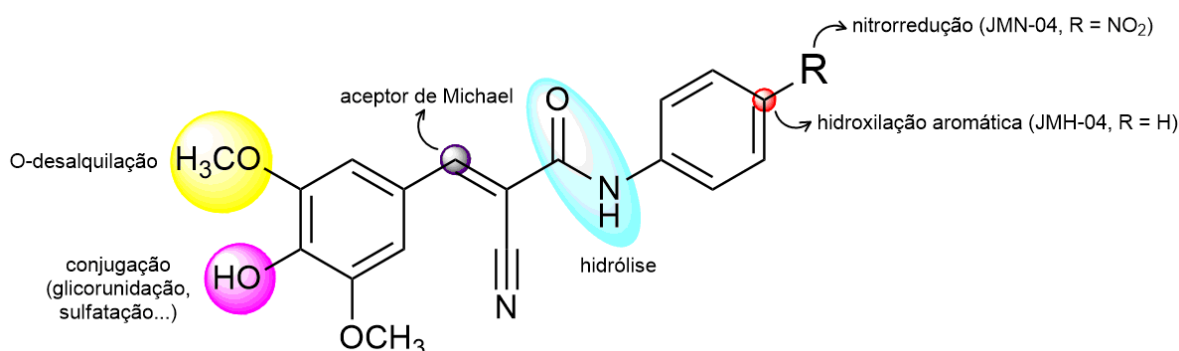
Tabela 5 — Principais propriedades farmacocinéticas previstas *in silico* para os compostos sintetizados

PROPRIEDADES	JMH-04	JMN-04	JMC-04
Peso Molecular	338,36 g/mol	383,35 g/mol	372,80 g/mol
Mlog P	1,50	0,62	2,00
Log S	-3,92	-4,15	-4,68
Absorção Gi	alta	alta	alta
Permeabilidade Pela BHE	não	não	não
Substrato da P-Gp	não	não	não
Inibição de CYP3A4	sim	sim	sim
Inibição De CYP2D6	não	sim	sim
Inibição De CYP2C9	sim	sim	sim
Violação Das Regras De Lipinski	0	0	0

Fonte: Autoria (2024).

Em relação a pontos de metabolismo, os três compostos apresentam pontos suscetíveis em comum, tais como o aceptor de Michael, o qual pode conjugar com bionucleófilos orgânicos, como a glutatona (Jackson *et al.*, 2017). Também apresentam as metoxilas em anel aromático que podem sofrer O-desalquilação. No caso do JMN-04 e do JMC-04, o bloqueio da posição *para* do anel aromático pelo átomo de cloro e pelo grupo nitro, respectivamente, impede que esta posição seja alvo de hidroxilação aromática, a qual pode ocorrer no JMH-04. Além disso, o grupo nitro do JMN-04 pode sofrer redução catalisada por nitrorredutases. Por fim, todos os compostos possuem o grupo amida, o qual pode sofrer hidrólise, contudo com menos facilidade do que o grupo éster. Na Figura 11 estão destacados os principais pontos de metabolismo dos compostos.

Figura 11 — Principais pontos de metabolismo das moléculas sintetizadas



Fonte: Autoria (2024).

Apesar da provável inibição das CYPs, os compostos sintetizados neste estudo demonstraram uma boa predição de perfil farmacocinético, com ênfase para a alta previsão de absorção gastrointestinal, sem nenhum descumprimento das regras de Lipinski, o que corresponde ao perfil de um fármaco com características desejáveis para administração oral (Chagas; Moss; Alisaraie, 2017).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A série congênere planejada, a partir de um promissor composto *N*-fenilacetamídico com atividade anti-inflamatória, apresentou promissores resultados de perfil farmacodinâmico e farmacocinético *in silico*. Todos os compostos apresentaram afinidade no *docking* molecular com a 5-lipoxigenase e com o receptor β_2 -adrenérgico, importantes alvos relacionados à asma, com perfil de interações intermoleculares semelhante à de fármacos ou moléculas biologicamente ativas já conhecidas. Apesar do rendimento das reações ter sido relativamente baixo, foi possível obter três compostos através de uma rota sintética simples. Na análise das propriedades farmacocinéticas, as moléculas demonstraram características desejáveis, desde alta absorção gastrointestinal a não permeação da barreira hematoencefálica, com apenas algumas observações quanto a inibição de enzimas do metabolismo dos fármacos e presença de aceptor de Michael. Sendo assim, este estudo abre novos caminhos para a exploração do núcleo *N*-fenilacetamídico como potencial *scaffold* para o desenvolvimento de fármacos antiasmáticos multialvos, almejando os dois componentes principais da fisiopatologia da asma, a inflamação e a broncoconstrição. A combinação dessas duas atividades numa só molécula traria benefícios para o tratamento da asma, como maior eficácia terapêutica, menor risco de resistência e maior comodidade.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Explorar mais modificações estruturais e realizar estudos mais sofisticados como dinâmica molecular.
- Explorar novas rotas sintéticas.
- Submeter os compostos à caracterização estrutural (espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear).
- Realizar estudos *in vitro* e *in vivo*.
- Testar novos alvos mais específicos.

REFERÊNCIAS

- BARRETT, J. A. *et al.* Discovery solubility measurement and assessment of small molecules with drug development in mind. **Drug Discovery Today**, v. 27, n. 5, p. 1315–1325, 2022.
- BELL, E. W.; ZHANG, Y. DockRMSD: An open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. **Journal of Cheminformatics**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2019.
- BRUNO, F. *et al.* Recent advances in the search for novel 5-lipoxygenase inhibitors for the treatment of asthma. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 153, p. 65–72, 2018.
- BRUNTON, L. L.; HILAL-DANDAN, R.; KNOLLMANN, B. C. **Goodman and Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics**. 13. ed. McGraw-Hill Education, 2018. 1419p.
- CAZZOLA, M. *et al.* Bronchodilators in subjects with asthma-related comorbidities. **Respiratory Medicine**, v. 151, p. 43–48, 2019.
- CHAGAS, C. M.; MOSS, S.; ALISARAIE, L. Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 549, n. 1–2, p. 133–149, 2018.
- CASTRO BARBOSA, M. L. *et al.* Synthesis and pharmacological evaluation of N-phenyl-acetamide sulfonamides designed as novel non-hepatotoxic analgesic candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 9, p. 3612–3620, 2009.
- CIURA, K. *et al.* Thin layer chromatography in drug discovery process. **Journal of Chromatography A**, v. 1520, p. 9–22, 2017.
- CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WANG, S. **Organic chemistry**. 2. ed. New York: Oxford University Press, 2012.
- FERREIRA DE FREITAS, R.; SCHAPIRA, M. A systematic analysis of atomic protein-ligand interactions in the PDB. **MedChemComm**, v. 8, n. 10, p. 1970–1981, 2017.
- GILBERT, N. C. *et al.* Structural and mechanistic insights into 5-lipoxygenase inhibition by natural products. **Nature Chemical Biology**, v. 16, n. 7, p. 783–790, 2020.
- GILBERT, N. C.; NEWCOMER, M. E.; WERZ, O. Untangling the web of 5-lipoxygenase-derived products from a molecular and structural perspective: The battle between pro- and anti-inflammatory lipid mediators. **Biochemical Pharmacology**, v. 193, n. September, p. 114759, 2021.

GANS, M. D.; GAVRILOVA, T. Understanding the immunology of asthma: Pathophysiology, biomarkers, and treatments for asthma endotypes. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 36, p. 118–127, 2020.

HABIB, N.; PASHA, M. A.; TANG, D. D. Current understanding of asthma pathogenesis and biomarkers. **Cells**, v. 11, n. 17, p. 1–17, 2022.

HAMED, E. O. *et al.* Cyclization of N-benzyl cyanoacetamide: Novel synthesis and biological activity of pyrrole, pyrimidine, and pyran derivatives. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, vol. 57, n. 4, p. 1672-1681, 2020.

JACKSON, P. A. *et al.* Covalent Modifiers: A chemical perspective on the reactivity of α,β -unsaturated carbonyls with thiols via hetero-michael addition reactions. **Journal of Medicinal Chemistry**, vol. 60, p. 839-885, 2017.

KOEBERLE, A.; WERZ, O. Multi-target approach for natural products in inflammation. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 12, p. 1871–1882, 2014.

KOTHANDAN, G.; GONAPATHY, J. A short review on the application of combining molecular docking and molecular dynamics simulations in field of drug discovery. **Journal of Integrative Natural Science**, vol. 7, n. 2, p. 75-78, 2014.

LI, Y. *et al.* Current trends in drug metabolism and pharmacokinetics. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 9, n. 6, p. 1113–1144, 2019.

LU, H.; ZHOU, X.; JIN, L. Synthesis and antibacterial evaluation of N-phenylacetamide derivatives containing 4-arylthiazole moieties. **Molecules**, vol. 25, n. 1772, 2020.

LUO, Y. *et al.* Role of arachidonic acid lipoxygenase pathway in Asthma. **Prostaglandins and Other Lipid Mediators**, v. 158, 2022.

MARINKOVIĆ, A. D. *et al.* Substituent effect on IR, ^1H - and ^{13}C -NMR spectral data in N-(substituted phenyl)-2-cyanoacetamides: a correlation study. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**, v. 19, n. 1, p. 67–78, 2013.

MASHIMA, R.; OKUYAMA, T. The role of lipoxygenases in pathophysiology; new insights and future perspectives. **Redox Biology**, v. 6, p. 297–310, 2015.

PATEL, V. H. *et al.* Current limitations and recent advances in the management of asthma. **Disease-a-Month**, v. 69, n. 7, 2023.

PELAIA, G. *et al.* Cellular mechanisms underlying eosinophilic and neutrophilic airway inflammation in asthma. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 2015.

PERSCH, E.; DUMELE, O.; DIEDERICH, F. Molecular recognition in chemical and biological systems. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 54, n. 11, p. 3290–3327, 2015.

PHILLIPS, J. E. Inhaled phosphodiesterase 4 (PDE4) inhibitors for inflammatory respiratory diseases. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. March, p. 1–7, 2020.

POLSHAKOV, V. I.; BATUEV, E. A.; MANTSYZOV, A. B. NMR screening and studies of target – ligand interactions. **Russian Chemical Reviews**, v. 88, n. 1, p. 59–98, 2019.

RÅDMARK, O. *et al.* 5-Lipoxygenase, a key enzyme for leukotriene biosynthesis in health and disease. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1851, n. 4, p. 331–339, 2015.

RAMAMOORTHY, S.; CIDLOWSKI, J. A. Corticosteroides mechanisms of action in health and disease. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 42, n. 1, p. 15-31, 2016.

RANI, P. *et al.* Anticancer, anti-Inflammatory, and analgesic activities of synthesized 2-(Substituted phenoxy) acetamide derivatives. **BioMed Research International**, vol. 2014, n. 386473, 2014.

ROGNAN, D. The impact of in silico screening in the discovery of novel and safer drug candidates. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 175, p. 47–66, 2017.

SAYAHI, M. H. *et al.* Design, synthesis, in vitro, and in silico anti- α -glucosidase assays of N-phenylacetamide-1,2,3-triazole-indole-2-carboxamide derivatives as new anti-diabetic agents. **Scientific Reports**, vo. 14, n. 15791, 2024.

SILVA, P. R. *et al.* The compound (E)-2-Cyano-N,3-diphenylacrylamide (JMPR-01): a potential drug for treatment of inflammatory diseases. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 1, p. 1–21, 2022.

SMITH, W. L.; MURPHY, R. C. The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase and epoxygenase pathways. In: Ridgway, N. D.; MCLEOD, R. S. **Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes**. 6. ed. Elsevier Science, 2015. p. 259-296.

SURYAWANSHI, M. R. *et al.* Design, synthesis, and computational studies of phenylacetamides as antidepressant agents. **Molecular Diversity**, v. 26, n. 6, p. 3157–3172, 2022.

TALEVI, A. Multi-target pharmacology: Possibilities and limitations of the “skeleton key approach” from a medicinal chemist perspective. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, 2015.

TIAN, S. *et al.* The application of *in silico* drug-likeness predictions in pharmaceutical research. **Advanced Drug Delivery Reviews**, vol. 86, p. 2-10, 2015.

VASTAG, G. *et al.* Application of chemometric methods in examining of the retention behavior and lipophilicity of newly synthesized cyanoacetamide derivatives. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 37, n. 17, p. 2529–2545, 2014.

WAN, M. *et al.* Biosynthesis of leukotriene B4. **Seminars in Immunology**, v. 33, p. 3–15, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Asthma**. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/asthma>. Acesso em: 06 set. 2024.

XIAO, H. *et al.* Multidimensional criteria for virtual screening of PqsR inhibitors based on pharmacophore, docking, and molecular dynamics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 3, 2024.

YALKOWSKY, S. H.; ALANTARY, D. Estimation of Melting Points of Organics. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 5, p. 1211–1227, 2018.