

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E TOXICIDADE GÁSTRICA DE DERIVADOS SINTÉTICOS DO NAPROXENO

Arthur Henrique Pereira Lobato (PIC/UEM), Luiz Alexandre Marques Wiirzler (Coorientador), Roberto Kenji Nakamura Cuman (Orientador), e-mail: rkncuman1@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde / Departamento de Farmacologia e Terapêutica / Maringá, PR.

Ciências da Saúde / Farmácia

Palavras-chave: naproxeno, modificação estrutural, ciclo-oxigenase.

Resumo

Entre as drogas utilizadas para tratar condições inflamatórias, dor e febre podemos citar os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), que configuram o grupo de drogas mais prescritas no mundo. Apesar da consolidada atividade anti-inflamatória, o uso destes fármacos se torna limitado por conta de seus efeitos adversos, sendo as lesões gastrintestinais a maior limitação no uso destas drogas. Sabe-se que o grupamento carboxílico (-COOH) presente nos AINEs clássicos é parcialmente responsável pela toxicidade gástrica associada à administração a longo prazo dos mesmos. O objetivo deste trabalho foi determinar se novos derivados de AINEs desprovidos deste grupamento manteriam a atividade anti-inflamatória do composto parental, porém, com grau mais baixo de toxicidade gástrica em comparação aos seus equivalentes. Para testar este conceito, substituímos o grupo ácido carboxílico do naproxeno gerando dois derivados sintéticos (13a e 13b), que foram testados quanto à atividade anti-inflamatória e ulcerogênica *in vitro* e *in vivo*. Observamos que ao menos um dos derivados (13b) manteve atividade anti-inflamatória equivalente ao naproxeno, sem promover ulceração do estômago quando administrado oralmente em ratos. O mecanismo de ação envolveu, principalmente, a inibição de isoformas da enzima ciclo-oxigenase. Estes resultados sugerem que o grupo ácido nos AINEs comerciais (-COOH) pode não ser requisito essencial para a atividade anti-inflamatória, e fornece evidência complementar que suporta a futura substituição dos AINEs clássicos por derivados com menor toxicidade gástrica.

Introdução

A inflamação é uma resposta de tecidos vivos vascularizados frente a injúria tecidual ou agente infeccioso, envolvendo uma ação coordenada do sistema imunológico e do tecido danificado. A finalidade do processo inflamatório é a eliminação do agente agressor e das consequências oriundas desta agressão, além do reestabelecimento da função tecidual. No processo de formação de mediadores inflamatórios, podemos destacar as fosfolipases A2, cujos produtos resultantes da catálise são ácidos

graxos livres, como o ácido araquidônico, que é convertido em prostaglandinas (PGs) e tromboxanas pelas enzimas ciclo-oxigenase 1 e 2 (COX).

A classe de fármacos denominados anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) inclui diversos ácidos orgânicos, que compartilham propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas. O principal mecanismo de ação farmacológico exercido pelos AINEs é a inibição das enzimas COX-1 e COX-2, resultando na diminuição da produção sistêmica de PGs. Contudo, a COX-1 é considerada uma enzima constitutiva presente na maioria dos tecidos, estando envolvida na produção de PGs fisiológicas incluindo às que conferem proteção gástrica.

Neste contexto, as lesões e ulcerações gastrintestinais e o sangramento da mucosa gástrica estão entre os efeitos colaterais mais comuns associados à administração de AINEs, limitando o uso destas drogas.

Recentemente, foi relatado que a toxicidade gastrintestinal dos AINEs é, em parte, devido a presença do grupamento carboxílico (BHANDARI, 2008) presente na estrutura química dos mesmos. Tal fato sugere que seja possível desenvolver AINEs mais seguros se a remoção desse grupamento ácido não diminuir ou abolir a atividade anti-inflamatória dos fármacos. Sendo assim, este trabalho propõe a modificação estrutural e o desenvolvimento de agentes anti-inflamatórios efetivos e seguros, com base na retirada do grupamento carboxílico da estrutura química de AINEs clássicos.

Materiais e métodos

Síntese de compostos derivados do naproxeno

Os derivados foram sintetizados na University of Alberta (Edmonton, Alberta, Canadá). As especificações dos procedimentos de síntese e purificação dos compostos constituem propriedade intelectual da University of Alberta, não acessível no momento devido a procedimentos referentes à aquisição de patente pela mesma. Foram utilizados dois derivados de naproxeno (13a e 13b) nos testes biológicos, com pureza mínima especificada maior que 99%.

Ensaio de inibição das isoformas de ciclo-oxigenase

Os derivados sintéticos foram avaliados quanto à capacidade de inibir a atividade das isoformas COX-1 e COX-2 utilizando um kit comercial (COX Inhibitor Screening Kit, Cayman Chemical Company, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. Foram determinadas as concentrações dos derivados sintéticos capazes de inibir 50% da atividade enzimática (IC₅₀), utilizando como controle o celecoxibe.

Avaliação da formação de edema de pata induzido por carragenina

Foram utilizados ratos Wistar (160-200 g), provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, mantidos em condições padrão de biotério, antes dos experimentos. Os animais, em jejum de quatro horas, foram divididos em grupos (n = 6) e tratados, oralmente, com os derivados sintéticos (dose equimolar a 5 mg/kg de naproxeno), veículo (metilcelulose 1%) ou naproxeno (5 mg/kg), como droga de

referência. Após 30 minutos, todos os animais foram injetados, na região subplantar, com 0,1 mL de carragenina 1%, na pata traseira direita. O volume das patas foi medido em pletismômetro, imediatamente após a administração do agente flogístico (tempo zero), e a cada 60 minutos, durante um período de quatro horas. Os resultados foram calculados como aumento do volume da pata com relação ao valor inicial e expressos em função do tempo.

Avaliação de toxicidade gástrica

Foram utilizados ratos Wistar (160-200 g), provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, mantidos em condições padrão de biotério, antes dos experimentos. A atividade ulcerogênica dos compostos-teste (dose equimolar a 40 mg/kg de naproxeno) foi avaliada após a administração oral de uma dose única da droga correspondente, suspensa em 1,0 mL de solução de metilcelulose 1%. O grupo controle recebeu administração oral de veículo. Seis horas após a administração oral dos compostos, os ratos foram eutanasiados e os estômagos foram removidos. O número e o comprimento das úlceras observadas em cada estômago foram determinados usando lentes de aumento. O “índice ulcerogênico” (UI) para cada composto de teste foi calculado adicionando o comprimento total (L, em mm) de úlceras individuais em cada estômago e calculando a média do número de animais em cada grupo (n = 6): $(L1 + L2 + L3 + L4 + L5 + L6) / 6$.

Resultados e Discussão

A Figura 1 ilustra a rota sintética utilizada na produção dos dois derivados sintéticos do naproxeno. O primeiro, denominado de 13a, apresenta uma substituição do grupamento carboxila do naproxeno por um anel pirrolidínico. Já o segundo, denominado de 13b, apresenta uma substituição do grupamento carboxila do naproxeno por uma amina.

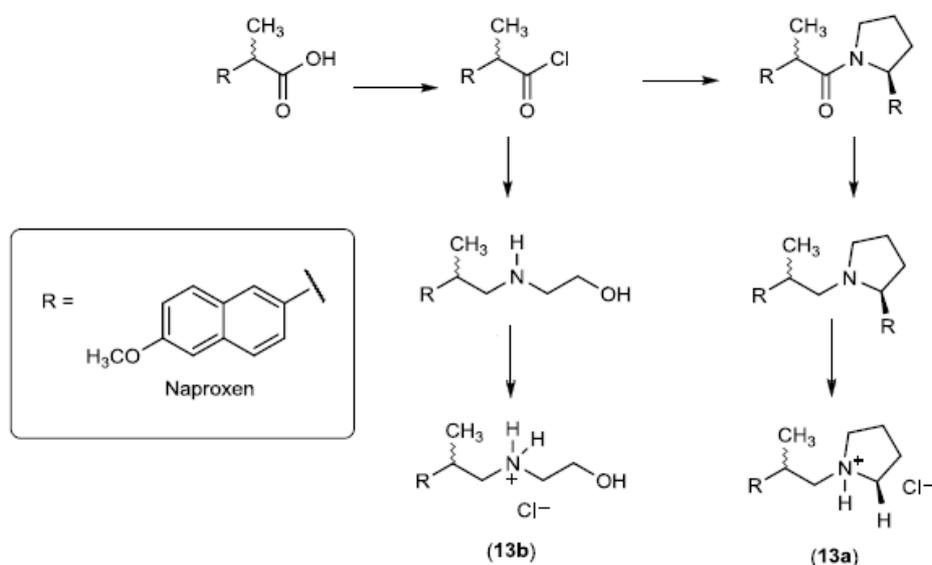


Figura 1. Ilustração da rota sintética para obtenção dos dois derivados (13a e 13b) do naproxeno.

Quanto a concentração inibitória média (IC_{50}) dos derivados sintéticos do naproxeno frente às isoformas 1 e 2 da enzima ciclo-oxigenase, o composto 13b apresentou um perfil inibitório significativo quando incubado com a COX-2 humana recombinante ($IC_{50} = 8,1 \mu\text{M}$). Já o composto 13a apresentou discreta inibição desta enzima ($IC_{50} = 60,4 \mu\text{M}$). Mediante esses resultados, observamos a possível manutenção de atividade anti-inflamatória para o composto 13b, enquanto observa-se relativa perda desta atividade para o composto 13a.

O edema provocado pela carragenina ocorre em três fases. A fase de maior intensidade do edema ocorre três horas após a injeção de carragenina e caracteriza a ação de prostaglandinas sobre a permeabilidade capilar (DI ROSA; WILLOUGHBY, 1971). Os resultados obtidos em nosso estudo demonstram a perda de atividade anti-inflamatória pelo composto 13a. Ainda, fica evidenciada a atividade anti-inflamatória do composto 13b, sendo esta equivalente à do composto de origem, o naproxeno (edema após 3h: naproxeno -8,4%; 13a +9,5%; 13b -11,6; edema após 4h: naproxeno -14,6%; 13a +1,1%; 13b -12,4%; *comparados ao grupo controle).

Demonstrada a manutenção de atividade anti-inflamatória, nosso maior interesse reside na possibilidade de menor toxicidade gástrica desenvolvida pelos compostos-teste. Foi evidente a redução na toxicidade gástrica dos compostos-teste se comparados ao naproxeno, demonstrada através do índice ulcerogênico de cada composto (naproxeno: UI = 48; 13a: UI = 0; 13b: UI = 0). Contudo, lembramos que o composto 13a apresentou perda da atividade inibidora da COX – mecanismo conhecidamente responsável pela indução de úlceras gástricas.

Conclusões

Observamos que ao menos um dos derivados (13b) manteve atividade anti-inflamatória equivalente ao naproxeno, sem promover ulceração do estômago quando administrado oralmente em ratos. O mecanismo de ação envolveu, principalmente, a inibição de isoformas da enzima ciclo-oxigenase. Estes resultados sugerem que o grupo ácido nos AINEs comerciais do ácido pode não ser requisito essencial para a atividade anti-inflamatória, e fornece evidência complementar que suporta a futura substituição dos AINE clássicos utilizados clinicamente por derivados com menor toxicidade gástrica.

Referências

BHANDARI, S. V. Design, Synthesis and Evaluation of Antiinflammatory, Analgesic and Ulcerogenicity studies of Novel S-Substituted phenacyl-1,3,4-oxadiazole-2-thiol and Schiff bases of Diclofenac acid as Nonulcerogenic Derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 4, p. 1822–1831, fev. 2008.

DI ROSA, M.; WILLOUGHBY, D. A. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **Journal of Pathology**, v. 104, n. 1, p. 15–29, 1971.