

Artigo

Aspectos Fisiopatológicos da Inflamação e o Planejamento de Fármacos: uma Visão Geral Atualizada

Etienne, R.; Viegas, F. P. D.; Viegas Jr., C.*

Rev. Virtual Quim., 2021, 13 (1), no prelo. Data de publicação na Web: 17 de Novembro de 2020

<http://rvq.s bq.org.br>

Pathophysiological Aspects of Inflammation and Drug Design: an Updated Overview

Abstract: Inflammation is a natural response of the organism to damage, injury or tissue lesions caused by foreign matter, trauma, infection, immune reactions and tissue necrosis. As being a protection response, inflammation onset and progression involve immune cells, blood vessels and a number of molecular mediators. Once the inflammatory process begins, it is associated to the release of chemical substances, such as cytokines and chemokines (e.g. TNF- α , lipoxynes, kinins, prostaglandins, leukotrienes) and cellular signaling proteins in the tissue environment and migration cells. As a result of a wealth knowledge through decades of research in fields like physiology, pharmacology and molecular biology, since 1980's a more comprehensive vision emerges, recognizing the inflammatory process as a complex result of an interconnected biochemical and cellular events, acting as a driving force associated to many chronic diseases, including obesity, diabetes, arteriosclerosis, cancer and neurodegenerative disorders such as Parkinson's (PD) and Alzheimer's diseases (AD), responsible by severe social-economic impacts in population worldwide. During the last decades, the therapeutics and research of new drugs have been focused on the search and development of lower toxic non-steroidal anti-inflammatory agents, that could act mainly towards the arachidonic acid cascade, more specifically in the inhibition of COX-1, COX-2 and 5-LOX enzymes and modulating the production of prostaglandins, thromboxane and leukotrienes. More recently, the urge of more efficient, low toxic and more specific drugs to certain inflammatory conditions has directing the research for the development of novel drugs capable to act towards other inflammatory mediators, such as interleukins, TNF- α , nitric oxide, kinase proteins, PPARs, endocannabinoid system, opioid receptors and proteins related to apoptosis, leading to the discovery of new drug candidates with different mechanisms of action, could also act in multiple inflammatory targets.

Keywords: Inflammation; rational drug design; medicinal chemistry; non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs

Resumo

A inflamação é uma reação natural do organismo a danos, injúria ou lesões teciduais devidas à presença de um corpo estranho, trauma, infecções, reações imunológicas e necrose tecidual. Por ser uma resposta protetora, a instalação e progressão da inflamação envolve células imunes, vasos sanguíneos e uma série de mediadores moleculares. Uma vez iniciado, o processo inflamatório está associado à liberação de substâncias químicas como as citocinas e quimiocinas (e.g. TNF- α , lipoxinas, cininas, prostaglandinas, leucotrienos) e proteínas de sinalização celular no ambiente tecidual e células migratórias. Como resultado de um vasto conhecimento acumulado em áreas como a fisiologia, farmacologia e biologia molecular, a partir da década de 1980 surge uma visão mais abrangente do processo inflamatório, passando a reconhecê-lo como decorrente de uma complexa rede eventos bioquímicos e celulares interconectados, atuando como força motriz associada a várias doenças crônicas, incluindo a obesidade, diabetes, arteriosclerose, câncer e distúrbios neurodegenerativos, como as doenças de Parkinson (DP) e de Alzheimer (DA), responsáveis atuais por severos impactos sócio-econômicos na população mundial. Ao longo dos anos, a intervenção medicamentosa e a pesquisa por novos fármacos tem sido focadas na busca por anti-inflamatórios não-esteroidais de menor toxicidade e que atuem, principalmente, sobre a cascata do ácido araquidônico, mais especificamente na inibição das enzimas COX-1, COX-2 e 5-LOX, modulando a produção de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. Mais recentemente, a necessidade de fármacos mais eficazes, menos tóxicos e específicos para determinados quadros inflamatórios vem direcionando as pesquisas para o desenvolvimento de fármacos capazes de atuarem sobre outros mediadores inflamatórios como as interleucinas, o TNF- α , óxido nítrico, proteínas quinases, PPARs, sistema endocanabinoide, receptores opioides e proteínas relacionadas à apoptose, levando à descoberta de novos candidatos a fármacos com diferentes mecanismos de ação, podendo ainda atuarem em múltiplos alvos na inflamação.

Palavras-chave: Inflamação; planejamento racional de fármacos; química medicinal; anti-inflamatórios não-esteroidais.

* Universidade Federal de Alfenas, Laboratório de Pesquisa em Química Medicinal (PeQuiM), Instituto de Química, Avenida Jovino Fernandes Sales 2600, sala E107, CEP 37133-840, Alfenas-MG, Brasil.

 cvjviegas@gmail.com
DOI: [10.21577/1984-6835.20200138](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200138)

Aspectos Fisiopatológicos da Inflamação e o Planejamento de Fármacos: uma Visão Geral Atualizada

Rachelle Etienne,^{a,b} Flávia Pereira Dias Viegas,^a Claudio Viegas Jr.^{a,*} 

^a Universidade Federal de Alfenas, Laboratório de Pesquisa em Química Medicinal (PeQuiM), Instituto de Química, Avenida Jovino Fernandes Sales 2600, sala E107, CEP 37133-840, Alfenas-MG, Brasil.

^b Universidade Federal de Alfenas, Programa de Pós-Graduação em Química, CEP 37133-840, Alfenas-MG, Brasil.

*cvjviegas@gmail.com

Recebido em 26 de Junho de 2020. Aceito para publicação em 26 de Outubro de 2020.

1. Introdução
2. Inflamação: um pouco de História
3. Aspectos Conceituais e Fisiopatológicos do Processo Inflamatório
4. Mediadores Químicos na Inflamação
 - 4.1. Citocinas
 - 4.2. Aminas vasoativas
 - 4.3. Óxido Nítrico (NO) e Fator de Ativação Plaquetária (FAP)
 - 4.4. Eicosanoides: prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos
5. Um pouco sobre a Pesquisa e a Evolução dos Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais (AINEs)
6. Alguns Aspectos e Tendências Atuais no Planejamento de Novos Fármacos Anti-Inflamatórios
7. Conclusão

1. Introdução

A inflamação faz parte da resposta biológica natural do organismo a danos teciduais e estímulos prejudiciais, como invasão por patógenos e injúria celular e tecidual, além de ser uma resposta protetora que envolve células imunes, vasos sanguíneos e mediadores moleculares. Nesse sentido, a inflamação é definida como uma consequência natural de algumas doenças que envolvem diferentes tipos de células e mediadores químicos interconectados,¹ com o objetivo principal de limitar e eliminar as causas de danos celulares, além de eliminar células atrofiadas e de tecidos necróticos, iniciando, assim, o reparo tecidual.² A

inflamação é classificada de acordo com seu grau de intensidade como inflamação aguda autolimitada, de curta duração e benéfica ao hospedeiro e inflamação crônica, que ocorre no caso de doenças crônicas e complexas, de longa duração e que pode surgir em decorrência da infiltração direta e abundante de células imunes mononucleares, como monócitos, macrófagos, linfócitos e células plasmáticas, bem como a produção de citocinas inflamatórias, em um processo redundante.³

2. Inflamação: um pouco de História

Dados da literatura apontam que já em 1478 o médico romano Aulus Cornelius Celsus havia

descrito o processo inflamatório por sinais característicos, que passaram a ser conhecidos como os quatro sinais cardinais da inflamação: dor, rubor, edema e calor⁴(Figura 1). Na história mais recente, Henri Dutrochet, Rudolph Wagner, Rudolf Virchow, Julius Cohnheim e Carl Weigert foram os primeiros pesquisadores a estudarem as bases celulares da inflamação e a confirmarem suas manifestações cardinais. Em 1858, Rudolf Virchow, um médico patologista radicado em Berlim, identificou um quinto sinal cardinal, atribuído à perda de função (Figura 1). Em 1882, Ilya Metchnikoff, um bacteriologista russo, descreveu o processo de fagocitose, sugerindo que a inflamação não seria apenas um “evento líquido”, mas que tinha intensa presença de células.⁵

Neste contexto, os diferentes eventos da inflamação foram observados por primeira vez pelo patologista alemão Julius Cohnheim (1839–1884), que identificou, ao microscópio, características e alterações singulares nos vasos sanguíneos e membranas transparentes, em razão de lesões e resposta inflamatória. Além disso, foram observados outros eventos inter-relacionados, como o extravasamento de líquidos e a consequente formação de edema, e a migração de células de defesa e a resposta dessas células à agressão sofrida. Em 1910, uma série de estudos foram voltados ao entendimento dos fatores envolvidos na resposta inflamatória, os quais foram esclarecidos em 1927 por Thomas Lewis, que comprovou que substâncias químicas,

tais como a histamina induzida localmente pela lesão, era um mediador das alterações vasculares que ocorrem na inflamação. A partir deste primeiro passo, outros mediadores químicos foram identificados e caracterizados por sua atuação na resposta inflamatória, servindo de base para a descoberta dos primeiros agentes anti-inflamatórios e seu uso clínico.⁶

A partir de um vasto conhecimento acumulado por décadas de pesquisa e descobertas nos campos da fisiologia e biologia molecular, surge a partir da década de 1980 uma visão mais abrangente do processo inflamatório, passando a ser reconhecido como uma força motriz associada a diversas patologias, incluindo doenças crônicas, como a obesidade, diabetes, arteriosclerose, câncer e distúrbios neurodegenerativos, como as doenças de Parkinson (DP) e de Alzheimer (DA), que são, atualmente reconhecidas como grandes desafios e potencialmente responsáveis pela morte em larga escala da humanidade.⁷⁻⁸

3. Aspectos Conceituais e Fisiopatológicos do Processo Inflamatório

O processo inflamatório é uma reação natural do organismo a danos, injúria ou lesões teciduais devidas à presença de um corpo estranho, trauma (mecânico, químico ou térmico), infecções, reações imunológicas e necrose tecidual. Esta

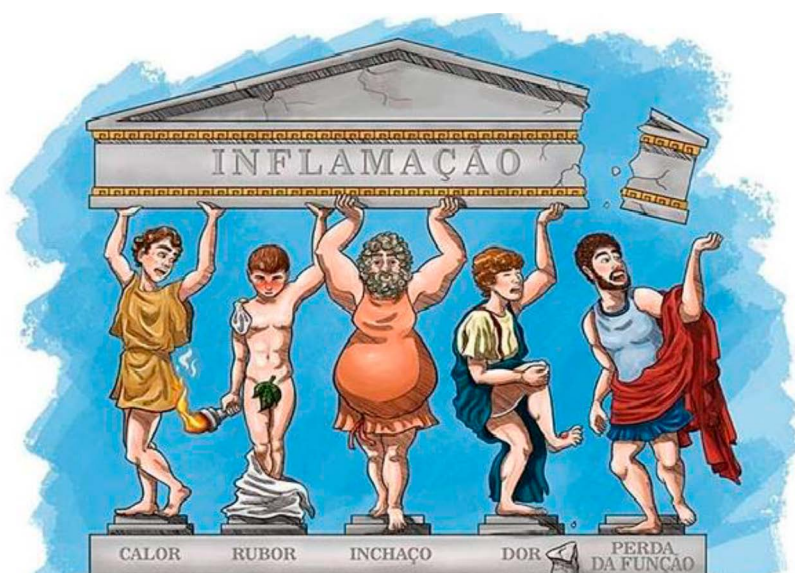


Figura 1. Sinais cardinais da inflamação. Fonte: Adaptado de figura da internet. Acesso em: <https://gramho.com/explore-hashtag/sinaiscardinais>

resposta está associada à liberação de substâncias químicas como as citocinas e quimiocinas (e.g. TNF- α , lipoxinas, cininas, prostaglandinas, leucotrienos) e proteínas de sinalização celular no ambiente tecidual e células migratórias com a função de bloquear, inativar ou eliminar o agente causador.⁹ O processo inflamatório é caracterizado pela produção de fluidos, substâncias químicas e células lesadas, com alterações vasculares, recrutamento e ativação de leucócitos para induzir o reparo celular, levando à alterações teciduais e funcionais que configuram os cinco sinais principais no processo inflamatório: calor, vermelhidão, inchaço (edema), dor e perda de função (Figura 1). O calor e a vermelhidão são consequências da vasodilatação, que aumenta a circulação sanguínea na área inflamada (hiperemia), devido à concentração de sangue e ao aumento da temperatura pelo maior fluxo sanguíneo. Já o inchaço é consequência do aumento da permeabilidade vascular que permite o extravasamento vascular de líquidos e, portanto, a formação do edema. A dor aparece, tanto pela compressão de terminações nervosas pelo edema, quanto pelas substâncias químicas (citocinas, quimiocinas e prostaglandinas) liberadas no corpo como resposta à injúria tecidual. Por último, surge a perda de função, que pode ser total ou parcial, em decorrência do edema e da dor, principalmente em articulações e tecidos ou membros relacionados ao movimento, limitando ou impedindo a rotina do indivíduo e dificultando atividades de maneira geral.¹⁰

A inflamação aguda (Figura 2A)^{2,11} é classificada de acordo com as características do exsudato, de acordo com o tipo, duração e intensidade da agressão. Os mediadores envolvidos no processo agudo são as aminas vasoativas, metabólitos do ácido araquidônico, que incluem as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, o fator de ativação plaquetária (FAP), quimiocinas, fator de necrose tumoral (TNF), e citocinas, com as interleucinas (IL) IL-1 β , IL-6 e IL-18. Este processo é, na realidade, uma complexa resposta fisiológica do organismo para neutralizar, inativar e eliminar o agente causador da inflamação, substituindo os tecidos danificados por fibrose, culminando com o reparo tecidual e bloqueio da resposta inflamatória.² Por outro lado, a inflamação crônica (Figura 2B) é caracterizada pela ocorrência simultânea da ativação inflamatória e destruição tecidual. Em geral, o processo inflamatório crônico evolui

gradualmente, sendo dependendo do tempo da injúria, permanência do agressor e persistência de sucessivas inflamações agudas e da dificuldade do organismo em eliminar o dano tecidual ou celular, evoluindo e exacerbando a congestão, o aumento da permeabilidade vascular e a produção de exsudato inflamatório, juntamente com a produção de linfócitos.¹¹ O processo crônico também pode envolver interações complexas entre diferentes células e seus mediadores secretados, tais como as citocinas IL-17, IL-12 e IL-23. Neste contexto, os macrófagos, que são células teciduais derivadas de monócitos circulantes no sangue e dominantes na inflamação crônica, desempenham papel central, estando dispersos em vários tecidos conjuntivos, além do fígado, baço, linfonodos e no sistema nervoso central (SNC). Os macrófagos constituem o sistema de fagócitos mononucleares, que atua como um filtro para materiais particulados, microrganismos e células senescentes, com função de eliminar microrganismos nas respostas imunes humorais e celulares.¹²

Durante uma resposta inflamatória, os macrófagos são ativados por duas vias diferentes: uma clássica e outra alternativa. Na via clássica, a ativação é induzida por endotoxinas, no caso de uma injúria por patógeno (bactérias, fungos, vírus, etc.). Uma vez ativados, os macrófagos produzem enzimas lisossomais como a NADPH-oxidase, aumentando sua capacidade de destruir organismos por fagocitose e secretar outras citocinas que estimulam a inflamação, sendo, portanto, células especialmente importantes na defesa do hospedeiro contra infecções microbianas. A ativação alternativa de macrófagos é induzida por citocinas, como as interleucinas IL-4 e IL-3, sintetizadas por linfócitos T. Os linfócitos são células sinalizadoras e os principais fatores de inflamação em várias doenças autoimunes e inflamatórias crônicas. A ativação dos linfócitos B e T ocorre como parte da resposta imune adaptativa em infecções e doenças imunológicas, sendo que linfócitos B são abundantes no plasma e secretam anticorpos, enquanto que as células T CD4⁺ são ativadas para secreção de citocinas.¹² No contexto da inflamação, o aumento de linfócitos, de células fagocíticas

infectadas, a instalação de doenças autoimunes ou a incapacidade de amortecer a resposta imune, além da malignidade, são consideradas consequências das diferentes modalidades de programas de morte celular, tais como apoptose, necrose, necroptose, autofagia e piroptose (Figura 3).^{5,13-14}

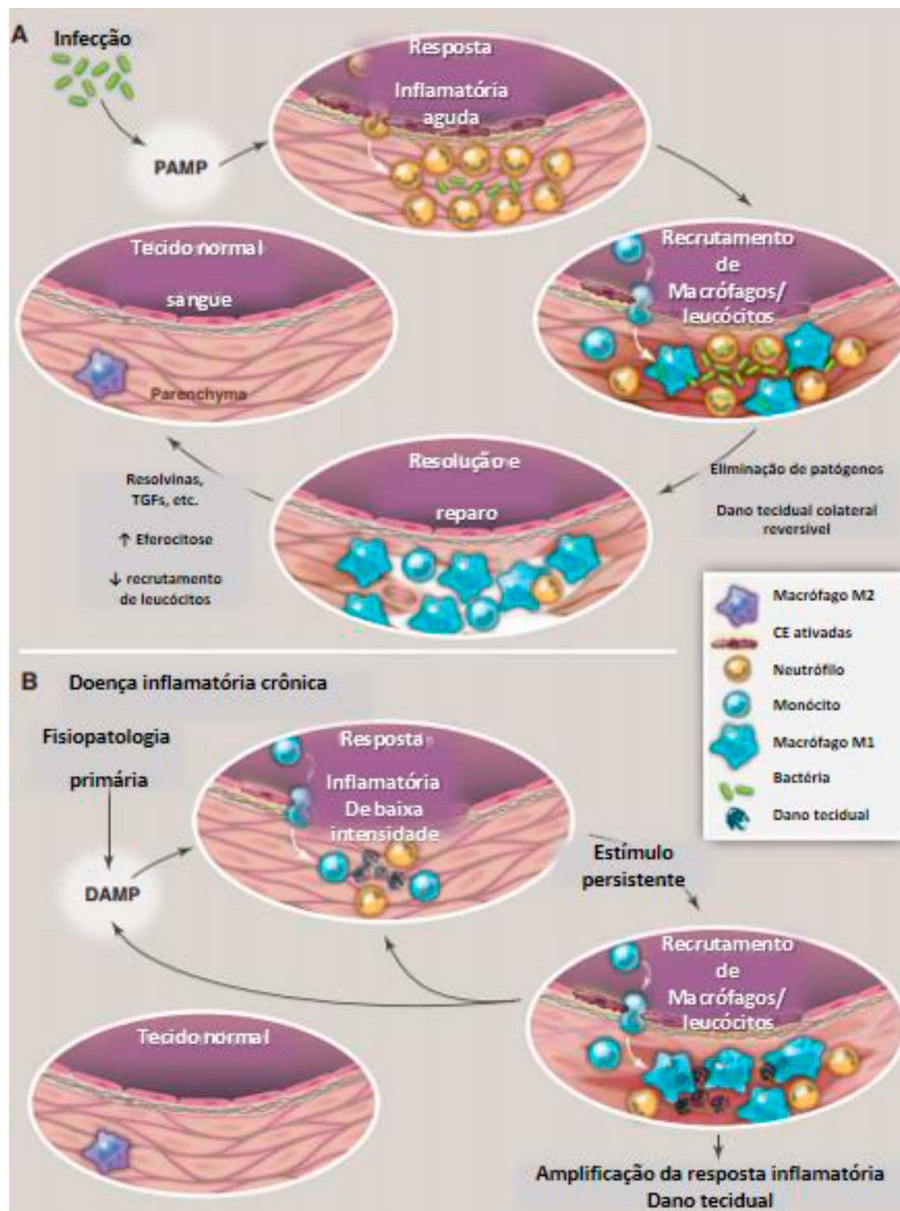


Figura 2. Características do processo inflamatório agudo (A) e crônico (B)^{2,11}

4. Mediadores Químicos na Inflamação

No SNC, as microglias são células de defesa, capazes de regular a homeostase, a defesa imunológica e a fagocitose de agentes nocivos aos neurônios. Quando as microglias estão em repouso, podem ser ativadas para produzir mediadores inflamatórios, como citocinas, quimiocinas e prostanoídes (Figura 4).¹⁵ Uma vez ativada a produção de mediadores inflamatórios, inicia-se uma resposta inflamatória considerada como um estado pró-inflamatório no SNC³ (Figura 4), que pode se manifestar com febre,

mal-estar e fadiga.¹⁶ No SNC, a progressão da inflamação acarreta em maior quantidade de células neuronais danificadas, alterando substancialmente as funções cognitivas e motoras, afetando diferentes áreas do cérebro e diferentes tipos de neurônios, o que explica o processo neuroinflamatório reconhecido como uma das características mais marcantes e comuns nas doenças neurodegenerativas (DNs), a exemplo das doenças de Parkinson (DP), Alzheimer (DA) e Huntington (DH) e das escleroses múltipla (EM) e Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA).^{15,17} Além disso, muitas outras doenças crônicas são atualmente compreendidas por seu marcante componente inflamatório, como a diabetes tipo 2,

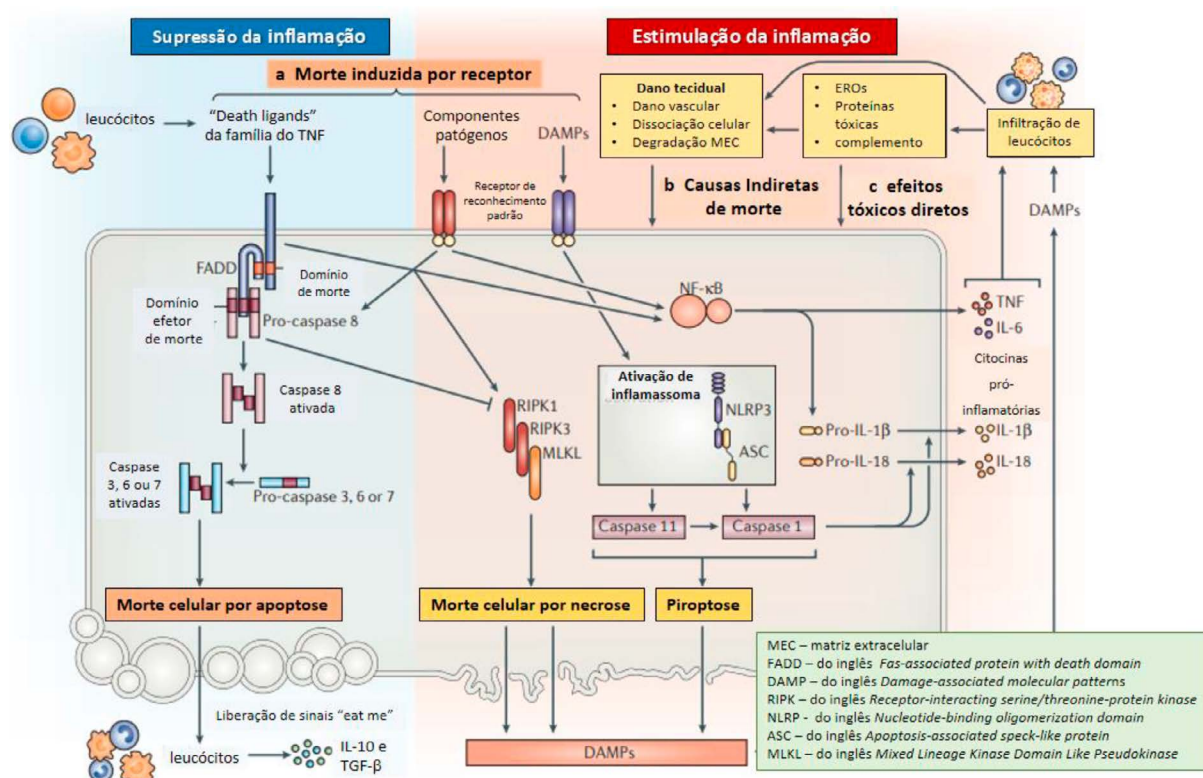


Figura 3. Diferentes programas de morte celular associados ao estímulo e supressão da resposta inflamatória ^{5,13-14}

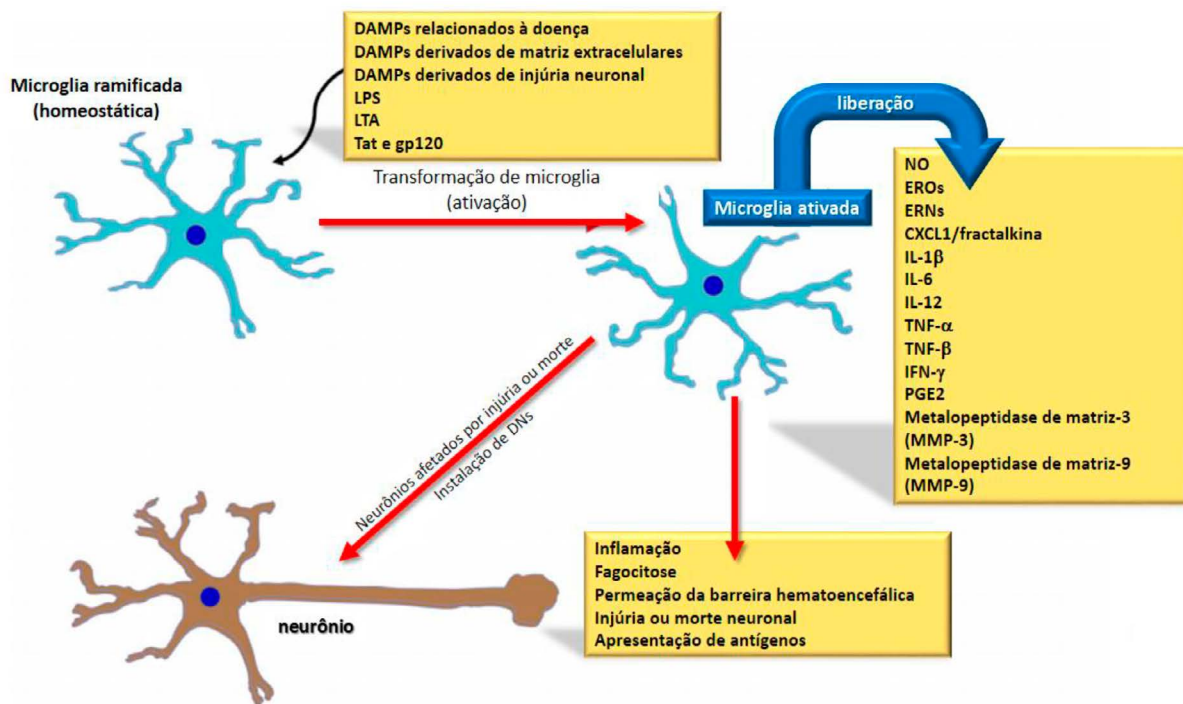


Figura 4. Processo neuroinflamatório com ativação e transformação de micróglia e dano neuronal.¹⁵
 DAMPs: padrões moleculares associados a danos; LPS: lipopolissacarídeos; LTA: ácido lipoteicoico; Tat: transativador de transcrição viral; gp120: glicoproteína 120; NO: óxido nítrico; EROs: espécies reativas de oxigênio; ERNs: espécies reativas de nitrogênio; IL-1β/6/12: interleucina 1-beta/6/12; TNF-α/β: fator de necrose tumoral alfa/beta; INF-γ: interferon gama; PGE2: prostaglandina E2

arteriosclerose e câncer, com muitos aspectos de sua origem e progressão ainda desconhecidos e de tratamento ainda pouco eficiente e de controle terapêutico desafiador.¹⁸

No sistema periférico, a produção e liberação de mediadores químicos responsáveis pelas características da área inflamada podem suceder quando as células de defesa, (e.g. macrófagos, monócitos) são expostas a lesões teciduais e, ou a patógenos. Nesta condição, os principais mediadores envolvidos no processo inflamatório são a histamina, metabólitos do ácido araquidônico (e.g. prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), FAP, bradicinina, óxido nítrico (NO), neuropeptídeos e citocinas (Figura 4).^{11,15,18} Ademais, o fator de transcrição NF-κβ pode ser ativado em decorrência de estresse oxidativo (EO) pró-inflamatório, levando à superprodução de citocinas (Figura 5).³ Uma vez instalado, o EO desempenha papel-chave na exacerbação da inflamação, modulando a atividade de enzimas quinase e a consequente fosforilação da Iκβ pela ativação da Iκβ quinase (IKK). O complexo Iκβ quinase (IKK) é constituído por 2 subunidades, IKKα e IKKβ, que possuem a capacidade de diferenciar o Iκβ complexado do Iκβ livre, sendo que o IKK fica ativado nas células, onde a Iκβ pode ser expresso. Portanto, a Iκβ pode atuar como um inibidor de NF-κβ, ativando a via jusante e liberando os heterodímeros p50 e p65 que são responsáveis pela atividade transcricional. Por este motivo, estes fatores heterodímeros são considerados a forma de ligação mais comum para o complexo do NF-κβ. Assim sendo, a via de sinalização do NF-κβ desempenha função

central na regulação da expressão de genes que são encontrados na maioria das células animais envolvidas nos processos de inflamação, apoptose e reposta imune, sendo ainda responsáveis pela produção de enzimas como óxido nítrico sintase (NOS), COX, superóxido dismutase e produção de interleucinas.¹⁹

4.1. Citocinas

As citocinas são proteínas associadas às doenças inflamatórias e são liberadas por células como os monócitos e macrófagos, linfócitos T, linfócitos B e mastócitos, além de células endoteliais, fibroblastos e adipócitos. Existem citocinas que exercem ações pró-inflamatórias (Th1) que são responsáveis pela eliminação das lesões e citocinas anti-inflamatórias, (Th2) que são capazes de inibir o agravamento do processo inflamatório e os consequentes resultados indesejados do processo de cicatrização.¹²

As quimiocinas pertencem a uma família de citocinas pró-inflamatórias e são classificadas em 4 subfamílias: Subfamília α (CXC), β (CC), δ (CX3C) e subfamília γ (XC). As quimiocinas exercem atividade de sinalização, atraindo células de defesa como leucócitos, monócitos, neutrófilos e outras células efetoras, com a função principal de orientação da migração de células inflamatórias.³ Além disso, as quimiocinas exercem funções no controle da circulação homeostática dos leucócitos nos tecidos, modulando a circulação de linfócitos no sangue e tecidos linfáticos até os linfonodos, onde ocorre a transformação dos antígenos. A partir de então, os linfócitos de memória migram

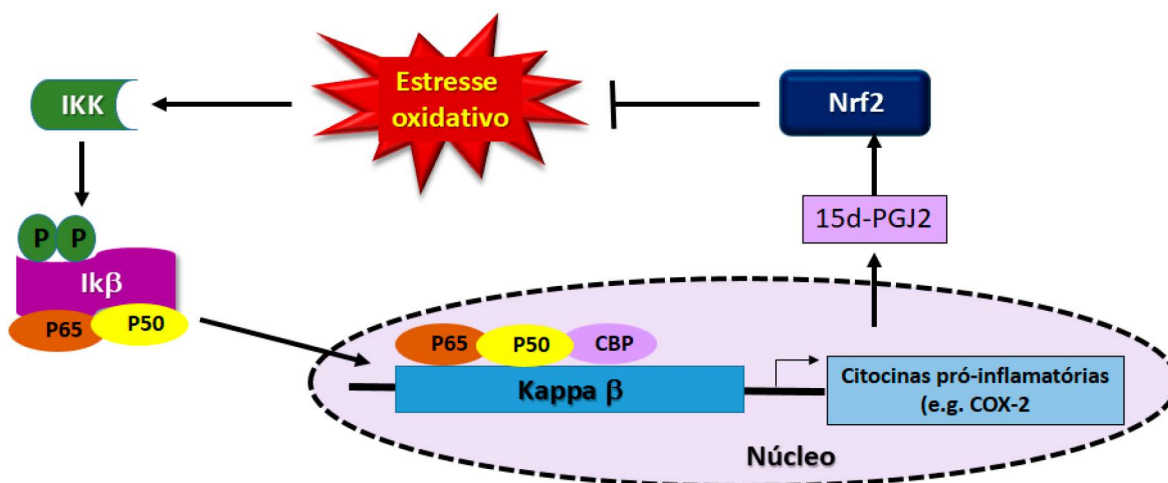


Figura 5. O papel do estresse oxidativo na modulação de vias de sinalização do processo inflamatório³

para o tecido inflamado de modo a garantir a imunidade. Por esta função, as quimiocinas são consideradas potentes quimioatratores de eosinófilos e fatores liberadores de histamina, que são de grande importância em manifestações inflamatórias alérgicas.²⁰

O fator de necrose tumoral (TNF) é outra citocina pró-inflamatória, reconhecido como um dos principais membros da família das citocinas, com importantes funções patogênicas na progressão de processos inflamatórios crônicos, a exemplo da artrite reumatoide (AR). Devido à presença altos níveis de TNF- α em pacientes com AR, uma estratégia terapêutica em uso é baseada na interrupção do processo inflamatório com a inibição da ativação de células T, macrófagos e fibroblastos pelo TNF- α .²¹ Além disso, esta citocina exerce função importante na regulação da resposta de hospedeiros aos desafios microbianos em combate a infecções, amplificando e coordenando sinais pró-inflamatórios pela expressão de moléculas efetoras, podendo provocar a expressão de quimiocinas e moléculas de adesão fundamentais para o recrutamento de neutrófilos ao tecido danificado. Outra função do TNF- α é o favorecimento da regulação positiva das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), da produção de interferon γ (IFN- γ) e da expressão de receptores de IL-2 (IL-2R).²²

A IL-17 é uma vasta família de citocinas pró-inflamatórias, constituída por IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25) e IL-17F, sendo todas moléculas estruturalmente relacionadas, variando em grau de homologia. Em particular, as IL-17A e IL-17F são produzidas por células imunológicas, especialmente por células T, enquanto que as outras IL-17 são produzidas por outras células não-T ativadas. Um exemplo desta especificidade são as IL-17 produzidas por Th17, que são células identificadas como subclasse de células T CD4 + auxiliares, que exercem funções importantes na proliferação de fibroblastos, na produção de colágeno e, também, na patogênese de muitas doenças inflamatórias mediadas por autoimunidade, incluindo a esclerose sistêmica (ES).²³ A IL-1 β , pertencente a outra família de citocinas, é capaz de ativar alguns tipos de células como os astrócitos e microglias, ativando a liberação de outras citocinas como IL-1 β , IL-6 e IL-18, que implicam na alteração funcional e na integridade neuronal.²⁴ Em especial, a IL-1 β

que é produzida principalmente por neutrófilos, quando superexpressa, exerce função em processos de autoinflamação,²⁵ além de efeitos na instalação e progressão de várias outras doenças inflamatórias, incluindo DNs como a DA e DP.²⁴ em um estudo recente, evidenciou-se que citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 β , IL-6 e IL-12, exercem diferentes funções nas células Th1 e Th17, as quais exercem papel importante no desenvolvimento de doenças autoimunes humanas. Além disso, dados experimentais indicam que a IL-12 atua na diferenciação de células Th1, enquanto que IL-1 β , IL-6 e IL-23 estão particularmente envolvidas no desenvolvimento, proliferação e sobrevivência de células Th17.²⁶

A bradicinina é outra citocina inflamatória (ou pró-inflamatória), com estrutura nonapeptídica e que conta com 2 receptores: B1 e B2. Os receptores B1 são estimulados por qualquer lesão tecidual, enquanto que os receptores B2, localizados na superfície das células endoteliais, liberam prostaglandinas e NO, quando ativados. A bradicinina atua como um potente vasodilatador, aumentando também a permeabilidade vascular, podendo contrair a musculatura brônquica com uma menor intensidade. Porém, a ativação destes receptores pode induzir inflamação pela liberação de citocinas pró-inflamatórias e aumento da permeabilidade vascular.²³

4.2. Aminas vasoativas

As aminas vasoativas constituem famílias de mediadores inflamatórios, caracterizadas basicamente pela histamina e pela serotonina. Ambas apresentam efeitos semelhantes e são encontradas pré-formadas em grânulos citoplasmáticos, sendo conhecidas como os primeiros mediadores inflamatórios liberados, responsáveis, em parte, pela vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. A histamina se diferencia da serotonina por ser uma molécula liberada por mastócitos, basófilos e plaquetas com objetivo de auxiliar o organismo na resposta direta a um agente nocivo, em meio à liberação de outros mediadores químicos como as citocinas. Já a serotonina, também conhecida como 5-hidroxitriptamina (5-HT), é produzida em grânulos plaquetários e sua liberação pelas plaquetas sanguíneas pode ocorrer durante o processo de agregação plaquetária.²⁷⁻²⁸

4.3. Óxido Nítrico (NO) e Fator de Ativação Plaquetária (FAP)

O óxido nítrico (NO) é uma espécie radicalar, sintetizada em macrófagos, no músculo cardíaco e em células endoteliais por ação da enzima do NO sintase, a partir da biotransformação de *L*-arginina em *L*-citrulina. O NO, além de atuar como neurotransmissor e exercer várias outras funções fisiológicas, incluindo o relaxamento vascular dependente do endotélio, citotoxicidade mediada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária, relaxamento do corpo cavernoso peniano, regulação da pressão sanguínea basal, pode atuar durante o processo inflamatório no relaxamento do músculo liso vascular e na diminuição do recrutamento de leucócitos para os sítios inflamatórios.²⁹⁻³⁰

Já o fator de ativação plaquetária (FAP) é um potente mediador inflamatório lipídico, sintetizado na maioria das células do corpo, mas com expressão relevante em células relacionadas à inflamação, como granulócitos, basófilos, mastócitos, macrófagos, plaquetas e células endoteliais. O FAP atua como outro mediador químico da inflamação diretamente nas células alvo, que além de famílias de lipídeos do tipo FAP, inclui muitas moléculas que tem menor atividades biológicas semelhantes.^{2,11} O FAP exerce funções na patogênese de vários processos inflamatórios, incluindo aterogênese, alergias, asma, inflamações dérmicas e distúrbios autoimunes como a esclerose múltipla. Sua atuação pode ser autócrinas e parácrina, quando liga-se a um receptor acoplado à proteína G (FAPR), mobilizando Ca^{2+} e ativando várias vias de sinalização, como a sinalização mediada pela fosfolipase C17. O FAP também parece exercer papel importante na fisiologia vascular pela estimulação das plaquetas, participando da modulação na vasoconstrição e na broncoconstrição.³¹⁻³²

4.4. Eicosanoides: prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos

A membrana celular é constituída, fundamentalmente, por fosfolipídios, além da presença estrutural de colesterol e proteínas. Na ocorrência de uma lesão à estrutura da membrana, os fosfolipídios são degradados pela ação da enzima fosfolipase A2, presente nos leucócitos e plaquetas, e ativadas pelas citocinas pró-inflamatórias, a exemplo da IL-1.

Uma vez instalada a lesão tecidual, a liberação de mediadores inflamatórios e a degradação dos fosfolipídios de membrana ativam a produção de ácido araquidônico (AA), que passa a ser o substrato de diferentes enzimas, gerando as diferentes famílias de eicosanoides, por duas vias distintas. Em uma primeira via, o AA é substrato das prostaglandina-H sintases (PGHS), também conhecidas como cicloxigenases (COX), sofrendo ciclização e levando à formação em cascata de diversas prostaglandinas (PGs), além dos tromboxanos A2 e B2. Em uma segunda via metabólica, o AA é alvo da ação da lipoxigenase (LOX), gerando uma série de leucotrienos (Figura 6).^{1-2,33}

A principal função das prostaglandinas está relacionada à geração da resposta inflamatória, cuja produção é exacerbada pela ativação da cascata do ácido araquidônico (AA), oriundo da degradação fosfolipídica. Uma vez produzidos, os eicosanoides participam do aparecimento e progressão dos sinais cardinais da inflamação aguda, condição em que as prostaglandinas exercem uma vasta gama de funções em diferentes processos fisiológicos e patológicos, incluindo vasodilatação ou vasoconstrição, contração ou relaxamento da musculatura brônquica ou uterina, hipotensão, ovulação, metabolismo ósseo, aumento do fluxo sanguíneo renal, inibição da secreção gástrica, resposta imunológica, hiperalgesia, regulação da atividade quimiotática celular, resposta endócrina e angiogênese.³⁴ Até o momento são conhecidas três isoformas de PGHS (ou COX), sendo elas COX-1, COX-2 e COX-3. A COX-1 é uma enzima constitutiva, expressa em vários tecidos e formada por 17 aminoácidos na porção aminoterminal, que, sob condições fisiológicas, produz PGs necessárias à modulação das funções citoprotetores gastrintestinais, renais e a homeostase vascular, sendo a fonte dominante de prostanoídes, nome dado aos mediadores inflamatórios derivados de COX. A COX-2, por sua vez, apresenta 18 aminoácidos na porção carbóxi-terminal e está presente, predominantemente, no cérebro e medula espinhal. Atualmente, a maioria dos autores concordam que a COX-2 é uma enzima induzida na maioria dos tecidos, à exceção dos rins e no epitélio, ou seja, sua produção é dependente da reação de células inflamatórias, tais como fibroblastos, macrófagos, monócitos e células sinoviais, quando ativadas em resposta a vários agentes que incluem as

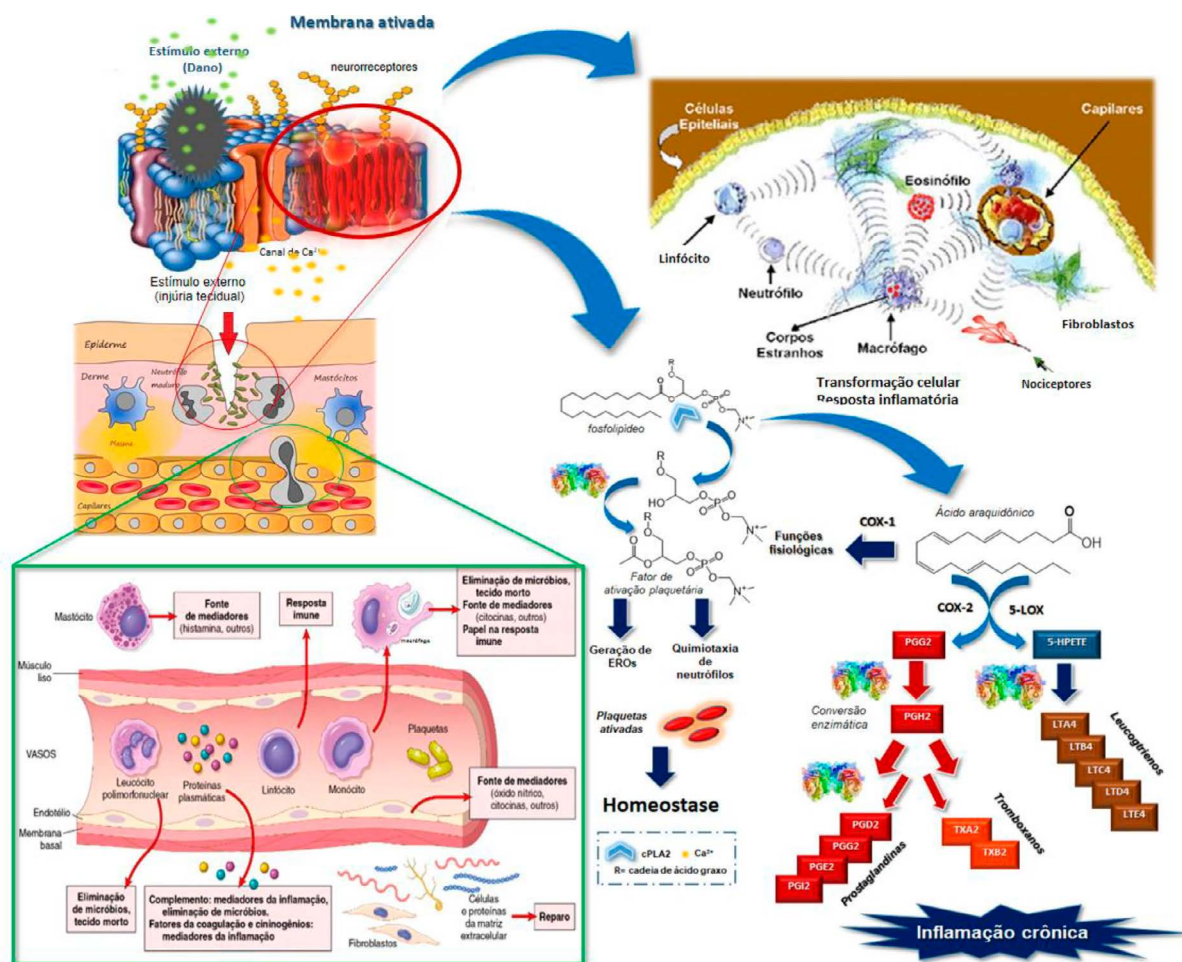


Figura 6. Esquema representativo da lesão tecidual, alteração da estrutura de membrana e instalação e progressão do processo inflamatório, com a transformação de células de defesa e produção de mediadores inflamatórios^{1-2,33}

citocinas, endotoxinas, fatores de crescimento e promotores de tumor. Desta forma, o processo inflamatório agudo ativa a expressão dos genes regulados pela NF- κ B de COX-2, que se soma à COX-1 na produção de outros prostanoídeos que atuam como potentes agentes vasodilatadores, aumentando a permeabilidade vascular. Neste processo de indução da COX-2, a bradicinina e a histamina desempenham papel-chave, exercendo seus efeitos por meio de receptores acoplados à proteína G e ativando diferentes vias de sinalização intracelular. Portanto, ambas isoformas, COX-1 e COX-2, podem participar na liberação de prostanoídeos durante a inflamação, contribuindo para a geração de prostanoídeos autoreguladores e homeostáticos.³⁴⁻³⁵

Em 2002, Simmons e cols. Descreveram a COX-3³⁶ última isoforma de COX descoberta, como uma variante do gene da COX-1, sendo

predominantemente expressa no cérebro, coração e medula espinhal. Esta enzima é inibida por fármacos analgésicos e antipiréticos como o acetaminofeno (paracetamol), fenacetina, antipirina, dipirona e tem sido descrita como alvo particular de agentes anti-inflamatórios não-esteroidais, como o paracetamol. Entretanto, alguns estudos de metabolismo do paracetamol sugerem que este possa sofrer uma reação de desacetilação por ação de uma hidrolase de ácidos graxos, gerando um metabólito amino, que sofreria conjugação com AA no cérebro e na medula para produzir o *N*-aracdonoil-fenolamina (AM404), identificado como um potente agonista de receptores transientes de potencial vaniloide 1 (TRPV1, do inglês *Transient receptor potential vanilloid 1*). Foi descoberto que este metabólito pode ainda atuar no sistema endocanabinoide que, juntamente com a COX-1 e TRPV1, está presente

em vias modulatórias da dor e de termorregulação, sugerindo ser este um mecanismo mais provável de ação analgésica e antipirética do paracetamol.^{37,38} Outros estudos sugerem que outros fármacos, como a dipirona, possam atuar sobre a COX-3 e que este represente o mecanismo preferencial de seus efeitos analgésicos e antitérmicos, embora seja ainda controverso.³⁶⁻³⁹

De todas as prostaglandinas conhecidas, a PGE₂, PGI₂ (prostaciclina), PGD₂ e PGF₂α (Figura 7) são particularmente relevantes pelo seu papel na inflamação.³³ A produção destes prostanoides é onipresente nos tecidos, mas são especialmente abundantes nos sítios de inflamação, agindo como mediadores lipídicos autócrinos (atuando na própria célula produtora) e parácrinos (atuando em células próximas), visando manter a homeostase local.⁴⁰⁻⁴¹

Os tromboxanos (TX) são eicosanoides que, estruturalmente, resultam da substituição do anel ciclopentano encontrado nas prostaglandinas por um anel oxano de seis membros. Esta classe de metabólitos do AA é derivada da PGH₂, pela ação da TXA₂ sintase, enzima presente no retículo endoplasmático e que é expressa,

especialmente, nos pulmões e nas plaquetas. Os tromboxanos podem ser subdivididos em duas famílias dependendo dos substituintes do anel oxano: tromboxanos A (TXA) e tromboxanos B (TXB, Figura 7). Os TXA são sintetizados por várias células, incluindo os neutrófilos, plaquetas, macrófagos e fibroblastos pulmonares e células epiteliais.⁴¹⁻⁴² Uma vez formados, os TXA₂ exercem função central na ativação e proliferação de células T, facilitando o desenvolvimento de células T citolíticas efectoras, além de atuarem como potentes agentes vasoconstritores e de agregação plaquetária. Sobre as plaquetas, os TXA₂ induzem mudanças morfológicas, que levam à extensão de pseudópodes e adesão a outras plaquetas na superfície celular danificada, regulando o tônus vascular, além de contribuir para a formação de trombos. De forma semelhante às prostaglandinas, os TXA₂ têm uma meia-vida muito curta, de cerca de 30 segundos, sendo rapidamente metabolizado a TXB₂ (Figura 7), que constitui sua forma inativa. Além deste, são conhecidos outros tromboxanos derivados do TXA₂, mas de menor relevância fisiológica.⁴³⁻⁴⁴ Em uma segunda via de metabolização do AA, paralela à via das COXs, a enzima lipoxigenase (LOX) promove a

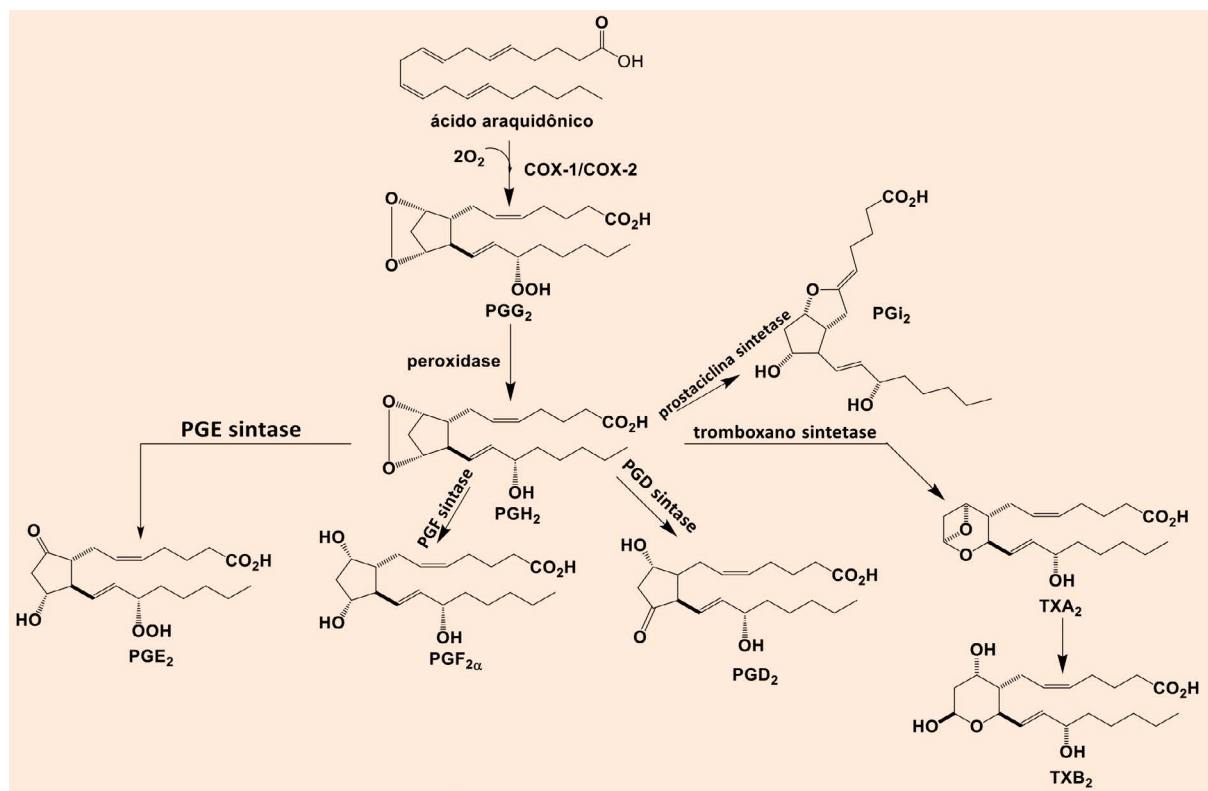


Figura 7. Biossíntese das Prostaglandinas e dos Tromboxanos pela ação da enzima cicloxigenases (COX), na cascata do ácido araquidônico³³

adição de uma função hidroperóxido à molécula de AA, gerando o ácido monoidroperóxido eicosotetraenoico (HPETE, Figuras 6 e 8), além do ácido hidróxi-eicosatetraenoico (HETE), que exerce função quimiotática, e dos leucotrienos (LTs), que, à semelhança dos prostanoídeos, são mediadores lipídicos, porém eminentemente de ação pró-inflamatória. Uma vez formado, o HPETE pode ser alvo da ação de 3 isoformas de LOX, (e.g. 5-LOX, 10-LOX e 12-LOX) que funcionalizam o substrato em diferentes posições da cadeia oriunda do AA. No contexto da inflamação, o 5-HPETE tem merecido especial atenção, uma vez que é o principal produto em basófilos, leucócitos polimorfonucleados, macrófagos, mastócitos e qualquer tecido envolvido em uma resposta inflamatória. À semelhança do que ocorre com a COX, a enzima 5-LOX tem uma função dupla, sendo capaz de reagir tanto como desoxigenase, convertendo o AA em 5-HPETE, quanto como oxidase, gerando os leucotrienos A₄ (LTA₄), como primeiros membros da série de LTs produzidos pela 5-LOX. Uma vez formado, o LTA₄ passa a ser substrato da LTB₄ sintetase (ou LTA₄ hidrolase) para ser convertido no derivado dihidroxilado LTB₄, ou na presença de glutatona S-transferase 2 microsossomal (MGST2, ou LTC₄ sintetase) é bioconvertido em LTC₄. Adicionalmente, enzimas com ação de dipeptidase podem atuar sobre o LTC₄, removendo um fragmento glutamato e

produzindo LTD₄, que, por sua vez, pode ter uma unidade de glicina removido para gerar o LTE₄. No entanto, existem 2 classes de leucotrienos: cisteinil-leucotrienos (LTC₄, LTD₄, LTE₄) e leucotrieno B₄. Estes 2 tipos de leucotrienos são, em geral, substâncias pró-inflamatórias, atuando como comunicadores celulares, sendo reconhecidos por receptores acoplados à proteína G, receptores nucleares e proteínas que facilitam a transferência de intermediários de uma célula a outra, podendo, também, atuar em receptores PPARs (do inglês *peroxisome proliferator-activated receptors*). Suas funções estão associadas à estimulação de leucócitos, em complemento à ação dos HETEs, à contração do músculo liso e ao aumento da permeabilidade vascular, contribuindo para a formação dos edemas característicos da resposta inflamatória.⁴⁵⁻⁴⁶

Os leucotrienos mais investigados são aqueles presentes e mais ativos em células inflamatórias, como leucócitos polimorfonucleares, neutrófilos, monócitos, basófilos, mastócitos, eosinófilos e macrófagos em diferentes órgãos como pulmão, baço, coração e no cérebro. De todos os leucotrienos conhecidos, o LTB₄ é o mais estudado como alvo terapêutico na inflamação, ocupando posição de destaque na literatura e descrito como o LT de papel central na patogênese de várias doenças inflamatórias, com destaque para as doenças alérgicas. O LTB₄ é produzido pelos leucócitos por

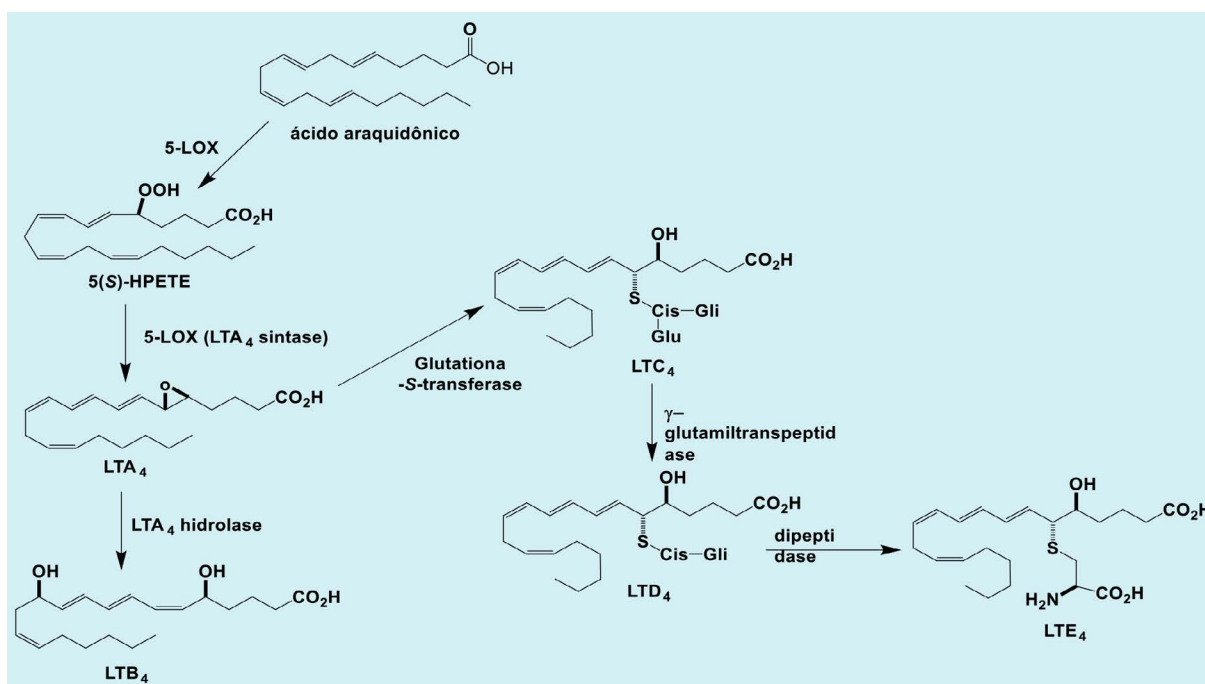


Figura 8. Biossíntese de leucotrienos pela ação de lipoxigenase na cascata do ácido araquidônico⁴⁵

ação de mediadores inflamatórios e é capaz de promover a adesão e ativação de outros leucócitos do endotélio, facilitando sua ligação e passagem pelos tecidos. Nos neutrófilos, o LTB₄ é reconhecido pelos receptores BLT1 e BLT2, atuando como potente agente quimiotático e promovendo a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a liberação de enzimas lisossomais.⁴⁶⁻⁴⁷ Ademais, foi possível detectar o LTB₄ no fluido de lavado broncoalveolar de indivíduos asmáticos após estimulação com antígeno específico, porém sem uma conclusão clara do seu papel no processo asmático, uma vez que sua inalação não produziu alteração na função pulmonar, nem alteração na hiper-responsividade brônquica. Desta forma, a função do LTB₄ permanece, ainda desconhecida. Ao contrário, os LTC₄ e LTD₄ estão muito bem caracterizados por seus efeitos broncoconstritores de alta potência, que juntamente com LTE₄, menos potente, são descritos como os responsáveis pelas ações biológicas da substância de reação lenta da anafilaxia (SRS-A). Além disso, estes 3 LTs são direcionados ao receptor LC1, presente na musculatura lisa do brônquio, podendo ser bloqueado pela maioria dos antagonistas de receptores de LTs (MK571, ONO1078, ICI-204-219).⁴⁸⁻⁴⁹

5. Um pouco sobre a Pesquisa e a Evolução dos Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais (AINEs)

Atualmente, sabe-se que, ao contrário da COX-1 constitutiva, a COX-2 é uma enzima induzida, produzida em resposta à instalação de um processo inflamatório, mediada por sinalização química e associada a disfunções patológicas diversas, como carcinogênese, neoplasias, injúria tecidual, infecções diversas, reações a agentes químicos e biológicos, manifestações alérgicas, coágulos sanguíneos dentre outros. Porém existem relatos

que apontam que a COX-2 também é uma enzima constitutiva, principalmente em tecidos do sistema cardiovascular.^{50,51} Portanto, muitas estratégias e regimes terapêuticos são baseados no uso de fármacos anti-inflamatórios que impedem ou controlam a fisiopatologia destas doenças pela inibição da COX-2. Neste contexto, os fármacos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), são considerados menos tóxicos e mais seguros do que os anti-inflamatórios esteroidais, sobretudo em tratamentos por longos períodos, sendo, portanto, considerados a classe terapêutica de primeira escolha visando à inibição da COX-2 e a consequente diminuição da formação de mediadores do processo inflamatório, principalmente prostaglandinas e tromboxanos.^{9,35,52}

Na ótica da Química Medicinal, o ácido acetilsalicílico (AAS, **1**) representa o primeiro fármaco racionalmente planejado e obtido por otimização molecular, visando à modulação das propriedades adversas de seu precursor, o ácido salicílico (AS, **2**). Além do AAS, a salicina (**3**), o ibuprofeno (**4**) e o diclofenaco (**5**, Figura 9) são exemplos clássicos de fármacos utilizados na terapêutica para o tratamento da inflamação.^{35,40,53} No entanto, a maior desvantagem clínica desses fármacos está relacionada aos efeitos colaterais, que incluem ulceração gástrica e duodenal, hipersensibilidade, além da possibilidade de recorrência.³⁴

A busca por novos anti-inflamatórios, mais potentes, eficientes e menos tóxicos, estimulada pelo interesse de mercado da Indústria Farmacêutica Mundial, despertou vários estudos acadêmicos e na indústria voltados ao desenvolvimento de novos candidatos a fármacos, culminando com a descoberta de várias classes químicas, grupos e atributos funcionais e possíveis mecanismos de ação alternativos, desejáveis ao perfil terapêutico desejado. Um exemplo representativo deste desafio científico foi a descoberta da indometacina (**6**, Figura 10), lançada no mercado em 1963, sendo prescrita

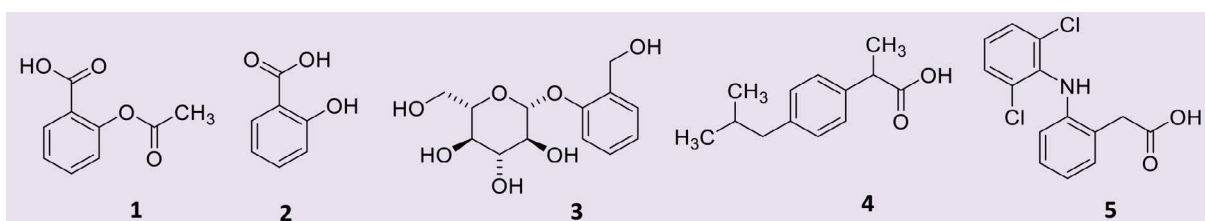


Figura 9. Estruturas do ácido acetilsalicílico (AAS, **1**), ácido salicílico (AS, **2**), salicina (**3**), ibuprofeno (**4**) e do diclofenaco (**5**)

como fármaco antirreumático.^{34,40} Nesta mesma época, foram descobertos os derivados de ácidos antranílicos, ou fenematos, com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, levando ao desenvolvimento de fármacos indicados para o tratamento de artrite, dores musculares e dismenorria, representados pelo ácido meclofenâmico (**7**), ácido flufenâmico (**8**), ácido tolfenâmico (**9**) e ácido mefenâmico (**10**, Figura 10), que atuam como inibidores não-seletivos de COX-1 e COX-2.^{36,54-55} Entretanto, devido aos seus sérios efeitos adversos sobre a mucosa gástrica, muitos destes fármacos foram restritos ao uso humano, sendo mantida sua indicação preferencial para uso veterinário. Desta diversidade química, incluindo derivados indolacéticos, arilacéticos, pirazolonas, arilpropanoides, outros subgrupos de AINEs, com diferentes mecanismos de ação e graus de seletividade COX-1/COX-2, foram lançados no mercado, a exemplo do cetorolaco (**11**), sulindaco (**12**), aceclofenaco (**13**), tolmetina (**14**, Figura 10).^{40,54,56-57} Além destes, os fármacos mais ativos na inibição da COX-1 foram desenvolvidos como o naproxeno (**15**), cetoprofeno (**16**) e

flurbiprofeno (**17**, Figura 10), ganhando destaque na terapêutica.^{36,40,54,58,59}

Uma outra classe de AINEs seletivos para COX-1, com destaque por sua importância terapêutica, foi da família dos oxicans (**18**), exemplificada pelo piroxicam (**19**). Entretanto, a despeito do piroxicam (**19**) e vários de seus derivados apresentarem efeitos analgésicos e antipiréticos pronunciados, foram evidenciados efeitos colaterais gastrointestinais relevantes, estimulando modificações e otimizações em seu padrão estrutural na busca por um perfil terapêutico mais adequado. Como resultado, foram desenvolvidos diversos outros oxicans, mais seguros e eficientes, levando à descoberta de diversos inibidores não-seletivos de COX-1 e COX-2, exemplificados pelo meloxicam (**20**), ampiroxicam (**21**) e droxicam (**22**, Figura 11). À exceção do meloxicam (**20**), que foi identificado como um inibidor preferencial da COX-2, todos estes oxicans foram lançados no mercado com a promessa de maior eficácia e menos efeitos gástricos adversos.^{33-34,40,56-57}

Com objetivo de contornar os efeitos adversos dos inibidores de COX-1, sobretudo sobre a

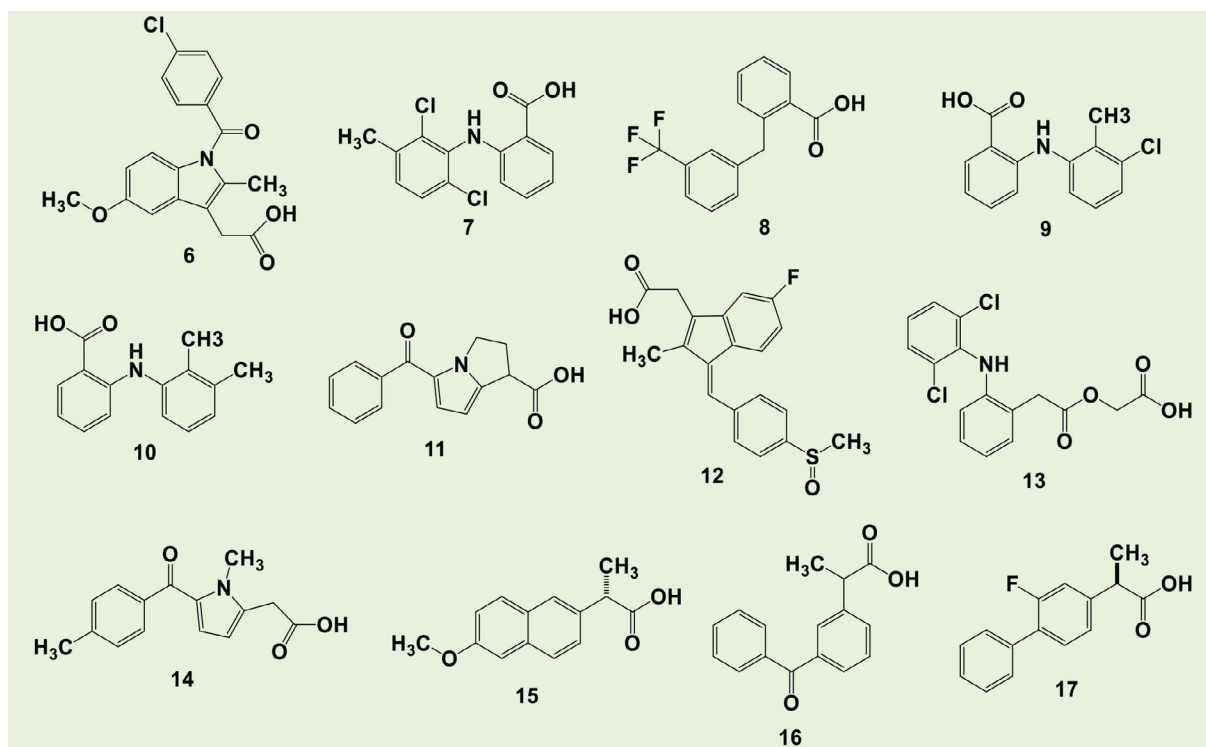


Figura 10. Estruturas químicas da indometacina (**6**), ácido meclofenâmico (**7**), ácido flufenâmico (**8**), ácido tolfenâmico (**9**), ácido mefenâmico (**10**), cetorolaco (**11**), do sulindaco (**12**), aceclofenaco (**13**), tolmetina (**14**), naproxeno (**15**), cetoprofeno (**16**) e do flurbiprofeno (**17**), representantes de diversas classes químicas de AINEs, com diferentes índices de seletividade na inibição de COX-1 e COX-2 utilizados na terapêutica atual

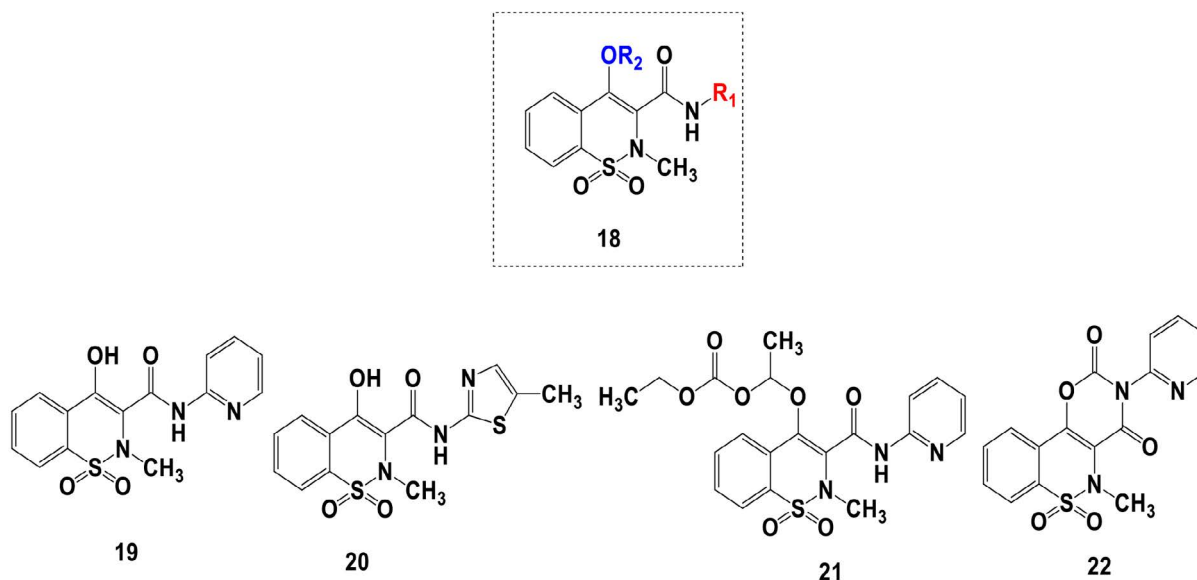


Figura 11. Estrutura química básica dos oxicans (**18**), meloxicam (**19**), piroxicam (**20**), ampiroxicam (**21**) e droxicam (**22**), exemplos de destaque de AINEs inibidores não-seletivos de COX-1 e COX-2

mucosa gástrica, além do melhoramento da eficácia terapêutica, a partir da década de 1970 surgiu um esforço conjunto da academia e da indústria farmacêutica na busca por inibidores seletivos da COX-2. Neste novo panorama, foram descobertos e lançados no mercado novos AINEs, com diferentes graus de seletividade para COX-2, que receberam a classificação geral de COXIBES, exemplificada pelo celecoxibe (**23**, Celebrex[®]), lumiracoxibe (**24**, Prexige[®]) e rofecoxibe (**25**, Vioxx[®]), além da nimesulida (**26**) e do etodolaco (**27**, Figura 12).^{40,46,58,60-61} O desenvolvimento destes novos fármacos, representaram, à época, uma revolução no tratamento da inflamação e no planejamento de novos candidatos a fármacos. Entretanto, a despeito da evolução em termos de controle da inflamação de um modo geral, o monitoramento em fase IV, de farmacovigilância, destes novos inibidores seletivos de COX-2 revelou efeitos tóxicos importantes, principalmente

no sistema cardiovascular e renal, levando a restrições de uso. Em casos mais graves, como ocorreu com o Prexige (**24**), responsável pela maior incidência de várias disfunções adversas como **pancreatite, hepatite, hemorragia**, arritmia e hipertensão, e com o Vioxx (**25**), responsável pela ocorrência de cardiopatias, ambos foram retirados do mercado.³³⁻³⁴

Alguns Aspectos e Tendências Atuais no Planejamento de Novos Fármacos Anti-Inflamatórios

O reconhecimento dos efeitos adversos associados aos COXIBES, e especialmente ao rofecoxibe (**25**), levou ao aumento no rigor de exigências e na forma de avaliação para a aprovação de novos AINEs seletivos por parte dos órgãos reguladores como o FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos. Além disso, os avanços da fisiologia e biologia molecular ocorridos nas 2 últimas décadas, e de um melhor entendimento da

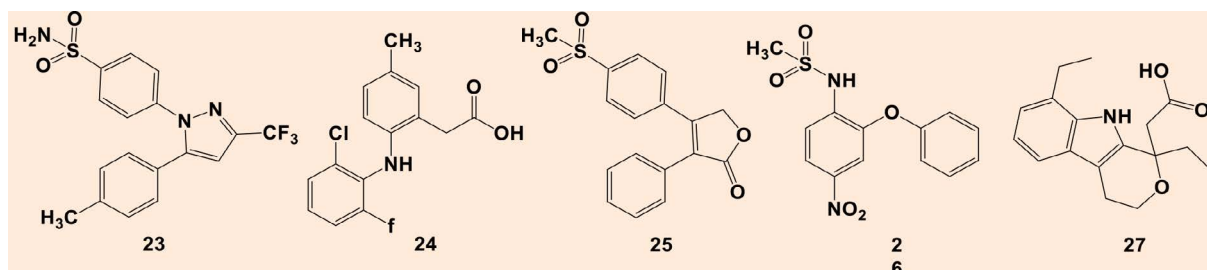


Figura 12. Estruturas químicas do celecoxibe (**23**), lumiracoxibe (**24**), rofecoxibe (**25**), nimesulida (**26**) e etodolaco (**27**), representantes do desenvolvimento dos COXIBES como AINEs inibidores seletivos da COX-2

complexidade e da multifatorialidade de aspectos bioquímicos e celulares que norteiam o processo inflamatório, passaram a pavimentar o caminho para o surgimento de uma nova premissa de planejamento racional de candidatos a fármacos anti-inflamatórios, visando ao estudo de ligantes que fossem capazes de operar por mecanismos de ação novos ou, preferencialmente, em múltiplos alvos, ao contrário da alta seletividade explorada até então. Nesta nova abordagem, passou-se a preconizar ligantes que pudessem atuar, concomitantemente, em mais de um alvo molecular e, preferencialmente, em vias bioquímicas distintas associadas a uma mesma fisiopatologia, como uma forma mais eficiente de se modular a patogênese da inflamação.⁶²⁻⁶⁷ Nesta hipótese, considerando que a inflamação depende de uma série de eventos interconectados e interdependentes, poder-se-ia intervir em múltiplos eventos celulares e moleculares com a ação de uma única molécula bioativa, com maior eficácia terapêutica, menor risco de interação medicamentosa (associada ao uso de coquetéis de fármacos como previsto na polifarmacologia) e menor toxicidade. Desta nova estratégia, surgiram os ligantes anti-inflamatórios de ação dupla, capazes de modular a via das COXs, inibindo a produção de prostaglandinas pró-inflamatórias, concomitantemente à modulação da via da LOX, bloqueando a produção de leucotrienos, mas evitando interferir na produção de lipoxinas, resultando em menor efeito sobre a mucosa gástrica. Um exemplo de sucesso desta nova estratégia é a descoberta da licofelona (**27**, Figura 13), primeiro candidato a fármaco contra a osteoartrite, com propriedades anti-5-LOX e anti-COX-2. Entretanto, apesar dos resultados promissores em comparação aos AINEs já aprovados e do melhor perfil cardiovascular e gastrointestinal nos ensaios clínicos de fase

II e III, até o momento não foi aprovada para comercialização.^{33,68-69}

Um outro exemplo que merece destaque é a 15-desóxi-A12,14-prostaglandina J2 (15d-PGJ2, **28**, Figura 13) descoberta por Fitzpatrick e Wynalda em 1983. Esta prostaglandina é obtida da conversão da PGD2 em PGJ2 pela β -eliminação do grupo hidroxila na posição C-9, seguida de desidratação independente da albumina que, em vários modelos animais, demonstrou atividade anti-inflamatória. Estudos subsequentes evidenciaram os efeitos potenciais desta nova PG sobre doenças inflamatórias, como artrite reumatoide, aterosclerose, infarto do miocárdio, lesão cerebral, pancreatite aguda e lesão gastrointestinal, capaz de reduzir as atividades fagocíticas dos macrófagos da medula óssea *in vitro* e a produção de citocinas secretadas pelos monócitos, regulando o recrutamento de monócitos da medula óssea durante a inflamação crônica do fígado.⁶⁹ Numa abordagem recente, estudos com nanocápsulas carregadas com **28** evidenciaram sua capacidade em reduzir a migração de neutrófilos e modular, concomitantemente, a produção de IL-1 β , TNF- α e IL-12, diminuindo significativamente a inflamação. Já em fase clínica de avaliação, foi demonstrado que **28** é capaz, também, de ligar-se à I κ B quinase (IKK), quinase capaz de fosforilar a I κ B α que é considerada como principal inibidor da ativação de NF- κ B, sugerindo que possa desempenhar um papel importante na inibição da ativação de NF- κ B e em vias de proteínas quinase.⁶⁹⁻⁷⁰

Os PPARs (do inglês *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors*) são um subgrupo da família dos receptores nucleares, com maior atividade nas células cerebrais e imunológicas. De fato, a literatura os descreve como reguladores importantes da fisiologia cerebral, com funções na regulação dos processos inflamatórios e na

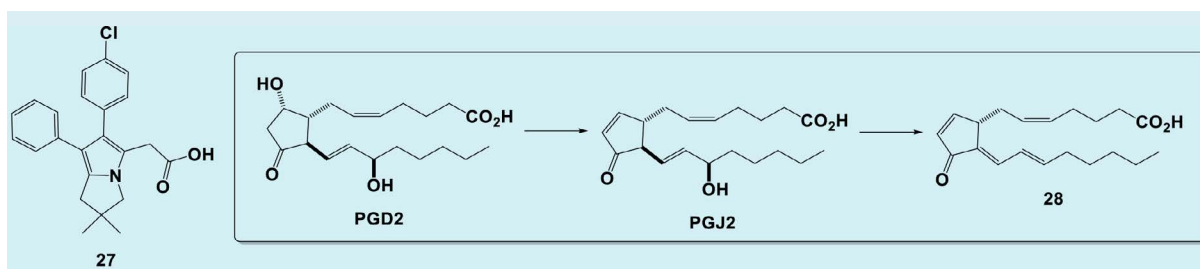


Figura 13. Estruturas químicas da licofelona (**27**) e da 15d-PGJ2 (**28**), formada pela β -eliminação seguida de desidratação da PGD2

expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico e glicêmico, incluindo a diferenciação celular. Pelos dados disponíveis, acredita-se que a combinação dos subtipos gama de PPAR (PPAR γ) e seus ligantes, a exemplo da 15d-PGJ2 (**28**), podem ser considerados alvos terapêuticos para o tratamento da maioria das doenças neuroinflamatórias.^{61,71-72}

Uma busca na literatura científica no período dos últimos 10 anos, revelou numerosos trabalhos envolvendo o planejamento e descoberta de novos candidatos a AINEs sintéticos, porém evidenciou que a maioria destes trabalhos ainda está centrada em inibidores seletivos de alvos clássicos como COX-1, COX-2, 5-LOX, além de inibidores de citocinas e quimiocinas como interleucinas e TNF- α . De fato, estas enzimas e substâncias desempenham papel de destaque numa grande diversidade de eventos inflamatórios patológicos, incluindo doenças neurodegenerativas, câncer, diabetes, arteriosclerose, infecções microbianas e parasitárias, mas poucos trabalhos ainda exploram novos alvos ou perfis de ação multialvo inovadores, a exemplo de inibidores de proteínas quinase, ligantes do sistema endocanabinoide e de receptores opioides, moduladores de estresse oxidativo e produção de espécies radicalares de nitrogênio (ERNS) e oxigênio, modulação da resposta de micróglia e astrócitos no SNC, dentre outros.^{3,63,73-82}

No contexto da constante busca por novos anti-inflamatórios mais seguros e eficazes, foram desenvolvidos novos ligantes sem os inconvenientes de intolerância e toxicidade gástrica característicos

dos AINEs. Estes novos candidatos a fármacos foram racionalmente planejados pela combinação de uma subunidade estrutural capaz de liberar óxido nítrico (NO) às subestruturas clássicas de AINEs não-seletivos. Esta nova classe de ligantes com perfil anti-inflamatório é conhecida como NO-AINEs, em reconhecimento ao NO como um dos agentes mais importantes na mediação do fluxo, neurotransmissão, reações imunes e na contração muscular. A importância do NO foi reconhecida pelo prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina de 1998, concedido a Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro e Ferid Murad por seus estudos sobre o papel do NO na fisiologia do sistema cardiovascular, no controle da resistência periférica vascular, também na inibição da agregação plaquetária impedindo a formação de trombos e, conseqüentemente, prevenindo os processos de trombozes e doenças aterotrombóticas.⁸³ Mais tarde, na década de 2000, os AINEs liberadores de NO sanguíneo passaram a receber especial atenção, batizados como doadores de óxido nítrico inibidores de COX (CINODs, do inglês *COX-inhibiting nitric oxide donors*),⁸⁴⁻⁸⁵ cuja importância terapêutica foi proposta pela primeira vez por Wallace e cols. em 1994.⁸⁴⁻⁸⁶ Dentre os representantes desta classe estão derivados de analgésicos e anti-inflamatórios clássicos como o NO-ácido acetilsalicílico (**29**), NO-paracetamol (**30**), NO-flurbiprofeno (**31**), NO-prednisolona (**32**, Figura 14),⁸⁷ além de outros de estrutura

inédita como o naproxinode⁸⁸⁻⁸⁹ (**33**, Figura 14) que foi desenvolvido para fornecer eficácia semelhante aos AINEs não seletivos e

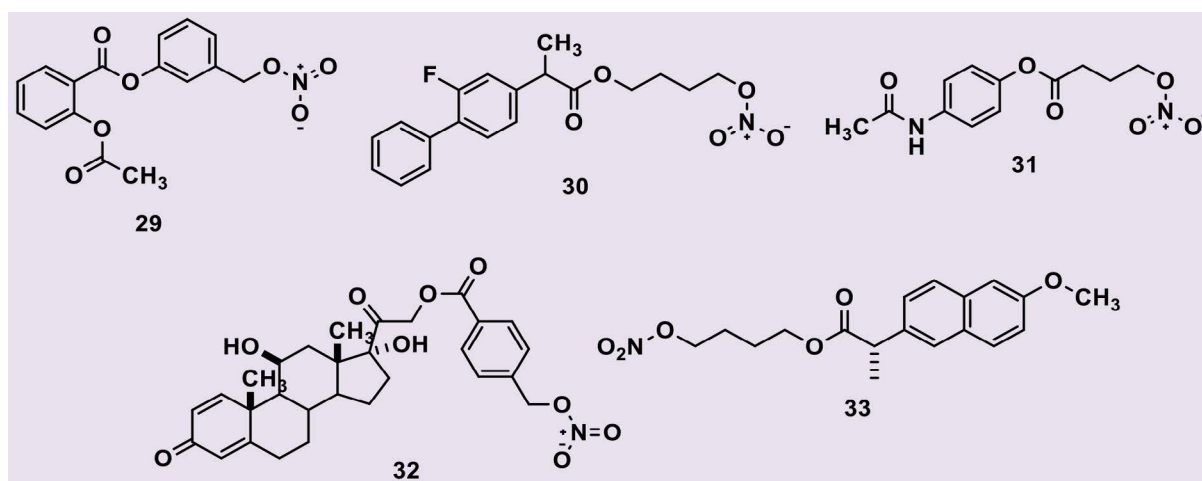


Figura 14. Estruturas de AINEs doadores de NO representados pelo NO-ácido acetilsalicílico (**29**), NO-paracetamol (**30**), NO-flurbiprofeno (**31**), NO-prednisolona (**32**) e naproxinode (**33**)

seletivos, ao mesmo tempo em que fornece um perfil de segurança aprimorado com base na liberação de NO, que é conhecido por ter efeitos favoráveis no sistema cardiovascular (CV) e efeitos gastrointestinais protetores.^{84,90-91}

Além disso, também foi descoberta uma nova geração de AINEs híbridos capazes de atuarem como liberadores de sulfeto de hidrogênio (H₂S), com efeito citoprotetor tendo a capacidade de proteger os tecidos após tratamento com fármacos antitumorais, incluindo a diminuição das reações adversas, além de efeitos anti-inflamatórios pela inibição da aderência de leucócitos ao endotélio vascular e a migração de leucócitos ao sítio da inflamação.⁹¹⁻⁹² Um exemplo desta nova classe é o 5-(4-hidroxifenil)-1,2-ditioil-3-tiona (ADT-OH, **34**, Figura 15), cujos estudos de mecanismo de ação revelaram ser capaz de liberar H₂S enzimaticamente em fluidos biológicos, e que este efeito sobre a mucosa gástrica poderia representar um mecanismo adicional, além da supressão da atividade da COX. Estudos de relação estrutura-atividade e de otimização farmacodinâmica, além da busca por novos protótipos liberadores de H₂S, levou os pesquisadores da empresa Antibe Therapeutics à utilização da subunidade farmacofórica ditioletona de **34** para o desenvolvimento de novos compostos híbridos do diclofenaco (ATB-337, **35**), da indometacina (ATB-343, **36**) e do naproxeno (ATB-345, **37**, Figura 15)⁹² sendo que alguns destes encontram-se, ainda, em fase clínica de avaliação.⁹³ Estudos em modelos

animais demonstraram que a administração oral de ATB-337 não produziu erupções hemorrágicas em ratos, mas aumentou significativamente os níveis séricos de H₂S (>40 %). Além disso, no modelo de inflamação de bolsão de ar, na dose de 1 μmol/Kg, **35** foi capaz de suprimir a atividade da COX-2 e da biossíntese de tromboxano.⁹⁴ Estudos clínicos de fase 2 com ATB-346 (**38**) evidenciaram de forma inequívoca seu efeito supressor da COX, com redução expressiva dos efeitos tóxicos sobre o trato gastrointestinal, quando comparado com o naproxeno.⁹⁵ No interesse de desenvolver fármacos que bloqueassem as ações pró-inflamatórias dos leucotrienos cisteínicos, 2 novas classes de fármacos foram descobertas: os inibidores da 5-LOX e os antagonistas de *leucotrienos* (ARLTs). Os ARLT têm demonstrado efeitos opostos aos dos LT, evitando que esses mediadores provoquem reações inflamatórias nas vias aéreas. Desta forma, os ARLTs são capazes de melhorar a obstrução das vias aéreas periféricas e de diminuir a migração de eosinófilos aos pulmões.⁹⁶

Visando nova alternativa terapêutica à asma brônquica, recentemente foram lançados no mercado o zafirlukast (**39**, Accolate), montelukast (**40**, Singulair) e pranlukast (**41**, Figura 16, Ultair), exemplos de ARLTs de última geração que exercem seus efeitos por ação antagonista seletiva dos receptores de leucotrienos cisteínicos.^{48,96}

Nos últimos anos, nosso grupo de pesquisa tem se dedicado à busca por novos ligantes

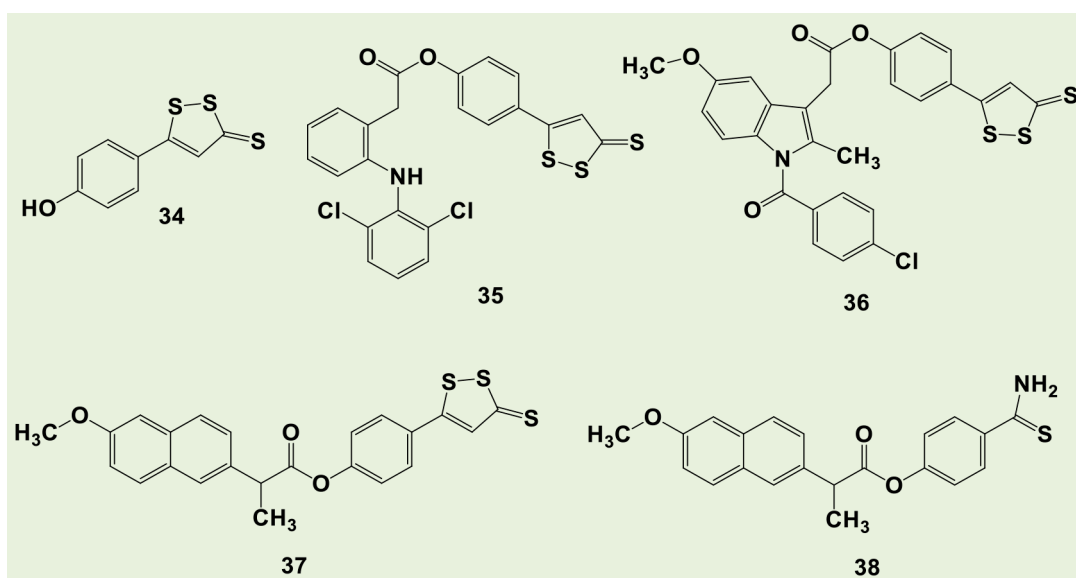


Figura 15. Estruturas dos novos AINEs liberadores de H₂S, representados pelo ADT-OH (**34**) e seus sucessores híbridos ATB-337 (**35**), ATB-343 (**36**), ATB-345 (**37**) E atb-346 (**38**)

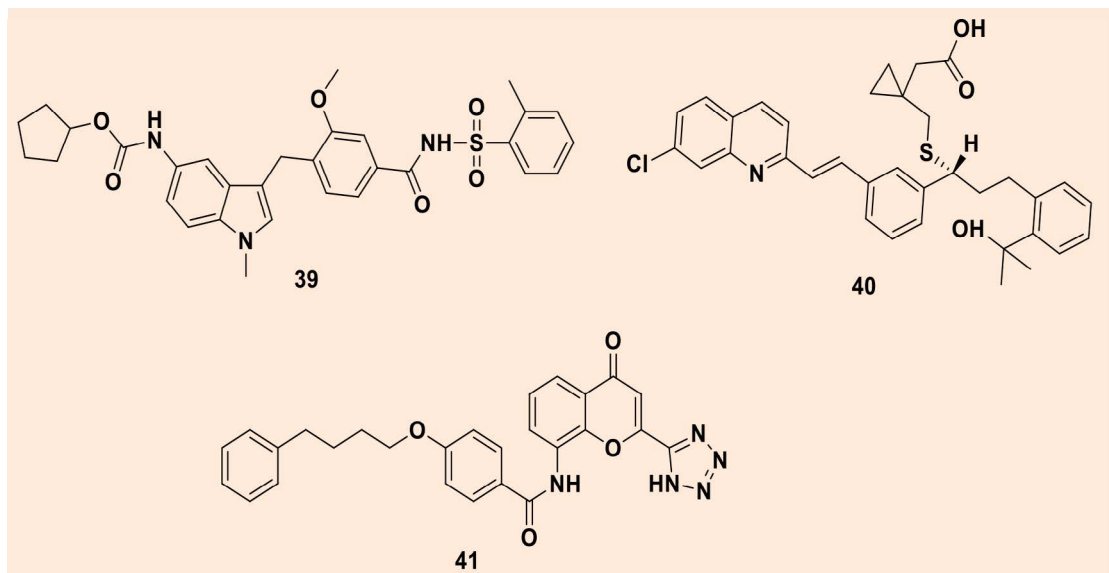


Figura 16. Estruturas químicas do zafirlukast (**39**), montelukast (**40**) e pranlukast (**41**), exemplos recentes de ARLTs para uso clínico contra a asma brônquica

multialvos contra doenças neurodegenerativas, que incluem atividade anti-inflamatória, além de neuroproteção, atividade anticolinérgica e antioxidante. Neste contexto, a utilização de produtos naturais bioativos (e.g. resveratrol, curcumina, ácido ferúlico, piperina) e fármacos aprovados (e.g. donepezil) como modelos estruturais para hibridação molecular levaram à descoberta de híbridos moleculares com perfil multialvo, como PQM-130 (**42**) e PQM-56 (**43**) e PQM-67 (**44**, Figura 17), atuando como anti-inflamatórios em diferentes alvos-moleculares. O derivado éster feruloil-*N*-benzilpiperidínico **42** foi identificado como um inibidor da via do ácido araquidônico, inibindo concomitantemente 5-LOX, COX-1 e COX-2, além de propriedades inibitórias de acetilcolinesterase (AChE), antioxidante e quelante de biometais (Zn^{2+} e Cu^{2+}).⁹⁷ Em outra estratégia, uma série de derivados *N*-benzilpiperidínil-*N*-

acilidrazônicos foram sintetizados e avaliados, levando à identificação de **43** e **44** como potentes inibidores seletivos de AChE, neuroprotetores e anti-neuroinflamatórios in vitro e in vivo, capazes de inibir COX-1 e COX-2, com atividade peculiar na inibição da produção de $TNF-\alpha$ e $IL-1\beta$.⁹⁸

6. Conclusão

A inflamação vem sendo identificada e descrita como parte importante na patogênese e como fator determinante na severidade e complexidade de diversas doenças como as doenças neurodegenerativas, o câncer e diabetes dentre outras, além dos processos inflamatórios crônicos clássicos como a artrite e outras doenças autoimunes e infecciosas. Por este motivo, o tratamento de várias destas e outras doenças vem sendo associado

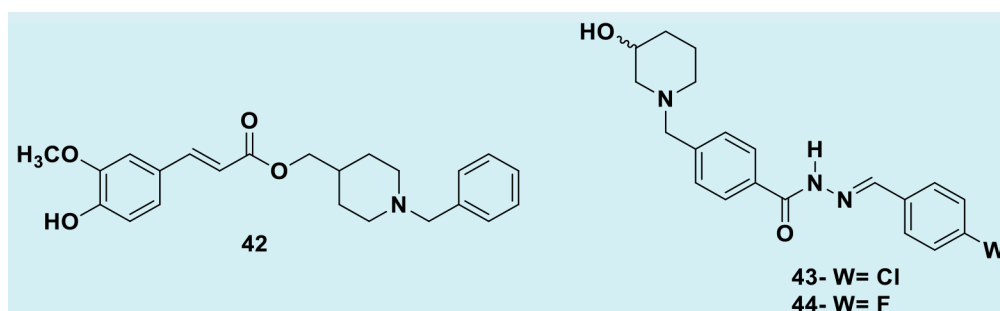


Figura 17. Estruturas químicas dos derivados multialvo PQM-130 (**42**), PQM-56 (**43**) e PQM-67 (**44**), com perfil anti-inflamatório e efeito sobre COX-1, COX-2, 5-LOX e inibidores da produção de $TNF\alpha$ e $IL-1\beta$, com potencial aplicação sobre doenças neurodegenerativas

ao uso de fármacos anti-inflamatórios, sendo, preferencialmente, de natureza não-esteroidal (e.g. AINEs), por motivos de melhor tolerância e menor toxicidade. Neste contexto, um melhor entendimento da complexidade do processo inflamatório, de vias bioquímicas e eventos celulares envolvidos, tem mostrado muitos alvos moleculares capazes de serem modulados quimicamente, além dos já clássicos e bastante explorados inibidores das ciclooxigenases (e.g. COX-1 e COX-2), da lipoxigenase (LOX) e do fator de agregação plaquetário (FAP). Historicamente, o desenvolvimento de AINEs mais seletivos e menos tóxicos ao trato gastrointestinal levou à descoberta de famílias de AINEs com perfis terapêuticos e mecanismos de ação comuns ou similares, a exemplo dos Oxicans e Coxibes, dentre outros, que desempenham papel de destaque no mercado farmacêutico e na terapêutica atuais. Com os novos avanços acerca do entendimento da inflamação como parte da fisiopatologia de diversas doenças e da necessidade de controle de processos inflamatórios particulares, quer seja pela natureza da doença ou pelo tipo de tecidos ou células afetadas, surge a necessidade de aprimorar-se o perfil de seletividade e a abrangência dos mecanismos de ação até então conhecidos. Neste novo cenário, a despeito de um número ainda discreto de candidatos e de investimentos por parte da setor privado em projetos inovadores e de maior risco, novas pesquisas focando em novos alvos moleculares da inflamação e em perfis de ação múltiplos, vêm trazendo à literatura e às quimiotecas de laboratórios de pesquisa acadêmicos e da Indústria Farmacêutica uma série de ligantes com desenho molecular e mecanismo de ação singulares e com inovação radical, a exemplo de moléculas capazes de atuarem como antineuroinflamatórios, liberadores de NO, inibidores seletivos de TNF- α , dentre outras citocinas, de NF- κ B, de proteínas quinases, moduladores de receptores canabinóides e opioides, sendo que alguns já estão em fases II e III de avaliação clínica, podendo representar, de fato, inovação terapêutica num futuro próximo e abranger uma gama de doenças ainda com tratamento restrito, pouco eficaz, ou mesmo, ainda, incuráveis.

Os autores são gratos aos órgãos de fomento FAPEMIG ((#CEX-APQ-00241-15), CNPq (#454088/2014-0, #400271/2014-1, #310082/2016-1 e #465.249/2014-0 (INCT-INOFAR)) e FINEP pelo auxílio financeiro e à PRPPG-UNIFAL e à CAPES pelas bolsas de R.E. e F.P.D.V. Este estudo foi financiado em parte pela

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de financiamento 001.

Referências Bibliográficas

- ¹ Gustafson, B.; Gogg, S.; Hedjazifar, S.; Jenndahl, L.; Hammarstedt, A.; Smith, U. Inflammation and impaired adipogenesis in hypertrophic obesity in man. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **2009**, *297*, E999. [CrossRef]
- ² Singh, G.; Passsari, A. K.; Leo, V. V.; Mishra, V. K.; Subbarayan, S.; Singh, B. P.; Kumar, B.; Kumar, S.; Gupta, V. K.; Lalhlenmawia, H.; Nachimuthu, S. K. Evaluation of Phenolic Content Variability along with Antioxidant, Antimicrobial, and Cytotoxic Potential of Selected Traditional Medicinal Plants from India. *Frontiers in Plant Science* **2016**, *7*. [CrossRef]
- ³ Ahmed, S. M. U.; Luo, L.; Namani, A.; Wang, X. J.; Tang, X. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2017**, *1863*, 585. [CrossRef]
- ⁴ Trancas, B.; Santos, N. B. Ética, conhecimento e psiquiatria - Em de Medicina de Aulo Cornélio Celso. *Acta Médica Portuguesa* **2007**, *20*, 431. [PubMed]
- ⁵ Wallach, D.; Kang, T. B.; Kovalenko, A. Concepts of tissue injury and cell death in inflammation: A historical perspective. *Nature Reviews Immunology* **2014**, *14*, 51. [CrossRef]
- ⁶ Consolaro, R. B. Inflamação: História, Tipos e Causas. *Uningá Rev.* **2010**, *53*. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/465/126>>. Acesso em: 5 maio 2020.
- ⁷ Drouin-Ouellet, J.; Cicchetti, F. Inflammation and neurodegeneration: The story “retolled”. *Trends in Pharmacological Sciences* **2012**, *33*, 542. [CrossRef]
- ⁸ Salinas, G.; Rangasetty, U. C.; Uretsky, B. F.; Birnbaum, Y. The cyclooxygenase 2 (COX-2) story: It’s time to explain, not inflame. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* **2007**, *12*, 98. [CrossRef]
- ⁹ Lamontain, V.; Schmid, T.; Weber-Steffens, D.; Zeller, D.; Jenei-Lanzl, Z.; Wajant, H.; Straub, R. H.; Männel, D. N. Stimulation of TNF receptor type 2 expands regulatory T cells and ameliorates established collagen-induced arthritis in mice. *Cellular & Molecular Immunology* **2019**, *16*, 65. [CrossRef]
- ¹⁰ Barnes, E. C.; Kumar, R.; Davis, R. A. The use of isolated natural products as scaffolds for the generation of chemically diverse screening libraries for drug discovery. *Natural Product Reports* **2016**, *33*, 372. [CrossRef]

- ¹¹ Verdam, M. C. dos S.; Guilhon-Simplicio, F.; Andrade, K. C. de; Fernandes, K. L. M.; Machado, T. M.; da Silva, F. M. A.; Souza, M. P. de; Koolen, H. H. F.; Paula, C. da S.; Hirota, B. C. K.; Oliveira, V. B. de; Miyazaki, C. M. S.; Kalegari, M.; Miguel, M. D.; Stuelp-Campelo, P. M.; Miguel, O. G. Analgesic, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Activities of *Byrsonima duckeana* W. R. Anderson (Malpighiaceae). *The Scientific World Journal* **2017**, *2017*, 1. [[CrossRef](#)]
- ¹² Calder, P. C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2015**, *1851*, 469. [[CrossRef](#)]
- ¹³ Broz, P.; Dixit, V. M. Inflammasomes: Mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nature Reviews Immunology* **2016**, *16*, 407. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴ So, A. Developments in the scientific and clinical understanding of gout. *Arthritis Research & Therapy* **2008**, *10*, 1. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵ Ghasemi, F.; Bagheri, H.; Barreto, G. E.; Read, M. I.; Sahebkar, A. Effects of Curcumin on Microglial Cells. *Neurotoxicity Research* **2019**, 1. [[CrossRef](#)]
- ¹⁶ Zrzavy, T.; Höftberger, R.; Berger, T.; Rauschka, H.; Butovsky, O.; Weiner, H.; Lassmann, H. Pro-inflammatory activation of microglia in the brain of patients with sepsis. *Neuropathology and Applied Neurobiology* **2018**, *45*, 278. [[CrossRef](#)]
- ¹⁷ Santos, J. C.; Bever, S. R.; Sullivan, K. A.; Pyter, L. M. Cancer and cancer survival modulates brain and behavior in a time-of-day-dependent manner in mice. *Scientific Reports* **2019**, *9*, 6497. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Tabas, I.; Glass, C. K. Anti-Inflammatory Therapy in Chronic Disease: Challenges and Opportunities. *Science* **2013**, *339*, 166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁹ Xing, Z.; Yu, G.; Lv, C.; Qin, L.; Zhao, H. Activation of NF- κ B by miR-129 and enhancement of neuroglioma growth **2016**, *9*, 3636. [[Link](#)]
- ²⁰ Luster, A. D. Chemokines — Chemotactic Cytokines That Mediate Inflammation. *The New England Journal of Medicine* **1998**, *338*, 436. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Ratheesh, M.; Sandya, S.; Pramod, C.; Asha, S.; Svenia, J. P.; Premlal, S.; GrishKumar, B. Anti-inflammatory and antioxidant effect of Kerabala: a value-added ayurvedic formulation from virgin coconut oil inhibits pathogenesis in adjuvant-induced arthritis. *Inflammopharmacology* **2016**, *25*, 41. [[CrossRef](#)]
- ²² Hop, H. T.; Reyes, A. W. B.; Huy, T. X. N.; Arayan, L. T.; Min, W.; Lee, H. J.; Rhee, M. H.; Chang, H. H.; Kim, S. Activation of NF- κ B-Mediated TNF-Induced Antimicrobial Immunity Is Required for the Efficient *Brucella abortus* Clearance in RAW 264.7 Cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **2017**, *7*, 437. [[CrossRef](#)]
- ²³ Gerlicz-Kowalczyk, Z.; Dziankowska-Bartkowiak, B.; Wozniacka, A.; Bogaczewicz, J.; Robak, E. Serum concentrations of IL-17A, IL-17B, IL-17E and IL-17F in patients with systemic sclerosis. *Archives of Medical Science* **2019**, *15*, 706. [[CrossRef](#)]
- ²⁴ Saadi, M.; Karkhah, A.; Pourabdolhossein, F.; Ataie, A.; Monif, M.; Nouri, H. R. Involvement of NLR4 inflammasome through caspase-1 and IL-1 β augments neuroinflammation and contributes to memory impairment in an experimental model of Alzheimer's like disease. *Brain Research Bulletin* **2020**, *154*, 81. [[CrossRef](#)]
- ²⁵ Fanoni, D.; Venegoni, L.; Vergani, B.; Tavecchio, S.; Cattaneo, A.; Leone, B. E.; Berti, E.; Marzano, A. V. Evidence for a role of autoinflammation in early-phase psoriasis. *Clinical & Experimental Immunology* **2019**, *198*, 283. [[CrossRef](#)]
- ²⁶ Gholijani, N.; Yazdani, M. R.; Dastgheib, L. Predominant role of innate pro-inflammatory cytokines in vitiligo disease. *Archives of Dermatological Research* **2019**, *312*, 123. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Oliveira Júnior, J. O. de; Portella Junior, C. S. A.; Cohen, C. P. Inflammatory mediators of neuropathic pain. *Revista Dor* **2016**, *17*, 35. [[CrossRef](#)]
- ²⁸ Nemmar, A.; Nemery, B.; Hoet, P. H. M.; Vermynen, J.; Hoylaerts, M. F. Pulmonary Inflammation and Thrombogenicity Caused by Diesel Particles in Hamsters: Role of Histamine. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **2003**, *168*, 1366. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁹ Flora Filho, R.; Zilberstein, B. Nitric oxide: the simple messenger passing through complexity. Metabolism, synthesis and functions. *Revista da Associação Médica Brasileira* **2000**, *46*, 265. [[CrossRef](#)]
- ³⁰ Cerqueira, N. F.; Yoshida, W. B. Nitric oxide: Review. *Acta Cirúrgica Brasileira* **2002**, *17*, 417. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Barnes, P. J.; Drazen, J. M. *Em Asthma and COPD*, Barnes, P. J.; Rennard, S. I.; Drazen, J. M.; Thomson, N. C. (eds), Elsevier: Amsterdam, 2009, cap 33. [[CrossRef](#)]

- ³² Kelesidis, T.; Papakonstantinou, V.; Detopoulou, P.; Fragopoulou, E.; Chini, M.; Lazanas, M. C.; Antonopoulou, S. The role of platelet-activating factor in chronic inflammation, immune activation, and comorbidities associated with HIV infection. *AIDS Reviews* **2015**, *17*, 191. [PubMed]
- ³³ Prasher, P.; Mudila, H.; Sharma, M.; Khati, B. Developmental perspectives of the drugs targeting enzyme-instigated inflammation: a mini review. *Medicinal Chemistry Research* **2019**, *28*, 417. [CrossRef]
- ³⁴ Coutinho, M. A. S. ; Muzitano, M. F. ;; Costa, S. S. *Revista Virtual de Química* **2009**, *1*, 241. [CrossRef]
- ³⁵ Mitchell, J. A.; Akarasereenont, P.; Thiemermann, C.; Flower, R. J.; Vane, J. R. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1993**, *90*, 11693. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁶ Simmons, D. L.; Botting, R. M.; Robertson, P. M.; Madsen, M. L.; Vane, J. R. Induction of an acetaminophen-sensitive cyclooxygenase with reduced sensitivity to nonsteroid antiinflammatory drugs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1999**, *96*, 3275. [CrossRef]
- ³⁷ Högestätt, E. D.; Jönsson, B. A. G.; Ermund, A.; Andersson, D. A.; Björk, H.; Alexander, J. P.; Cravatt, B. F.; Basbaum, A. I.; Zygmunt, P. M. Conversion of acetaminophen to the bioactive N-acylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. *Journal of Biological Chemistry* **2005**, *280*, 31405. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁸ Barrière, D. A.; Mallet, C.; Blomgren, A.; Simonsen, C.; Daulhac, L.; Libert, F.; Chapuy, E.; Etienne, M.; Högestätt, E. D.; Zygmunt, P. M.; Eschalier, A. Fatty Acid Amide Hydrolase-Dependent Generation of Antinociceptive Drug Metabolites Acting on TRPV1 in the Brain. *PLoS One* **2013**, *8*, [CrossRef]
- ³⁹ Aronoff, D. M.; Neilson, E. G. Antipyretics: Mechanisms of action and clinical use in fever suppression. *The American Journal of Medicine* **2001**, *111*, 304. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁰ Batlouni, M. Anti-Inflamatórios Não Esteroides: Efeitos Cardiovasculares, Cérebro-Vasculares e Renais. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* **2020**, *4*, 522. [CrossRef]
- ⁴¹ da Costa, C. H.; Rufino, R.; E Silva, J. R. L. Células inflamatórias e seus mediadores na patogênese da dpoc. *Revista da Associação Médica Brasileira* **2009**, *55*, 347. [CrossRef]
- ⁴² Tilley, S. L.; Coffman, T. M.; Koller, B. H. Mixed messages: modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *The Journal of Clinical Investigation*. **2001**, *108*, 15. [CrossRef]
- ⁴³ *metabolismo das Plaquetas 1*, 2020. Disponível em: < https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2016/07/metabol_plaquetasRoberta.pdf>. Acesso em: 28 abril 2020.
- ⁴⁴ Ritter, J. M.; Flower R. J.; Rang, H. P.; Macewan, D.; Lok, Y. K.; Henderson, G. *Rang & dale's pharmacology, international edition.*, 9th. ed, Elsevier Health Sciences: Amsterdam, 2020.
- ⁴⁵ Folco, G.; Murphy, R. C. Eicosanoid transcellular biosynthesis: From cell-cell interactions to in vivo tissue responses. *Pharmacological Reviews* **2006**, *58*, 375. [CrossRef]
- ⁴⁶ Smith, W. L.; Song, I. The enzymology of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **2002**, *68–69*, 115. [CrossRef]
- ⁴⁷ Sharma, J. N.; Mohammed, L. A. The role of leukotrienes in the pathophysiology of inflammatory disorders: Is there a case for revisiting leukotrienes as therapeutic targets? *Inflammopharmacology* **2006**, *14*, 10. [CrossRef]
- ⁴⁸ Moreira Lima, L.; Manssour Fraga, C. A.; Barreiro, E. J. Modern antiasthmatic drugs: Cysteinyl leukotrienes receptors antagonists. *Química Nova* **2002**, *25*, 825. [CrossRef]
- ⁴⁹ Alzheimer's Disease Facts And Figures, 2019. Disponível em: <<https://www.alz.org/media/documents/alzheimers-facts-and-figures-2019-r.pdf>>. Acesso em: 30 abril 2020.
- ⁵⁰ Patrignani, P.; Patrono, C. Cyclooxygenase inhibitors: From pharmacology to clinical read-outs. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* **2015**, *1851*, 422. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵¹ Asghar, W.; Jamali, F. The effect of COX-2-selective meloxicam on the myocardial, vascular and renal risks: a systematic review. *Inflammopharmacology* **2014**, *23*. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵² Kirichenko, T. V.; Sobenin, I. A.; Nikolic, D.; Rizzo, M.; Orekhov, A. N. Anti-cytokine therapy for prevention of atherosclerosis. *Phytomedicine* **2016**, *23*, 1198. [CrossRef]
- ⁵³ Sallmann, A. R. The history of diclofenac. *The American Journal of Medicine* **1986**, *80*, 29. [CrossRef].
- ⁵⁴ Pentikäinen, P. J.; Neuvonen, P. J.; Backman, C. Human pharmacokinetics of tolfenamic acid, a new anti-inflammatory agent. *European Journal of Clinical Pharmacology* **1981**, *19*, 359. [CrossRef]

- ⁵⁵ Budoff, P. W. Use of Mefenamic Acid in the Treatment of Primary Dysmenorrhea. *Journal of the American Medical Association* **1979**, *241*, 2713. [CrossRef]
- ⁵⁶ Biosfera, E.; Científico Conhecer-Goiânia, C. Estrutura Química e Interação Molecular Farmacodinâmica entre Salicilatos e Oxicans. [Link]
- ⁵⁷ Grindel, J. M. The pharmacokinetic and metabolic profile of the antiinflammatory agent tolmetin in laboratory animals and man. *Drug Metabolism Reviews* **1981**, *12*, 363. [CrossRef]
- ⁵⁸ Chandrasekharan, N. V.; Dai, H.; Roos, K. L. T.; Evanson, N. K.; Tomsik, J.; Elton, T. S.; Simmons, D. L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, *99*, 13926. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁹ Shen, T. Y. The discovery of indomethacin and the proliferation of NSAIDs. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* **1982**, *12*, 89. [CrossRef]
- ⁶⁰ Humber, L. G. Etodolac: The chemistry, pharmacology, metabolic disposition, and clinical profile of a novel antiinflammatory pyranocarboxylic acid. *Medicinal Research Reviews* **1987**, *7*, 1. [CrossRef]
- ⁶¹ Vidal, C.; Gómez-Hernández, A.; Sánchez-Galán, E.; González, A.; Ortega, L.; Gómez-Gerique, J. A.; Tuñón, J.; Egido, J. Licofelone, a balanced inhibitor of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase, reduces inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2007**, *320*, 108. [CrossRef]
- ⁶² Heneka, M. T.; O'banion, M. K.; Obanion, M. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmunology* **2007**, *184*, 69. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶³ Katselou, M. G.; Matralis, A. N.; Kourounakis, A. P. Multi-Target Drug Design Approaches for Multifactorial Diseases: From Neurodegenerative to Cardiovascular Applications. *Current Medicinal Chemistry* **2014**, *21*, 2743. [CrossRef]
- ⁶⁴ Siddiqui, A.; Akhtar, S.; Shah, Z.; Othman, I.; Kumari, Y. Inflammation Drives Alzheimer's Disease: Emphasis on 5-lipoxygenase pathways. *Bentham Science* **2020**. [CrossRef]
- ⁶⁵ de Melo, T. R. F.; Chelucci, R. C.; Pires, M. E. L.; Dutra, L. A.; Barbieri, K. P.; Bosquesi, P. L.; Trossini, G. H. G.; Chung, M. C.; dos Santos, J. L. Pharmacological evaluation and preparation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs containing an N-acyl hydrazone subunit. *International Journal of Molecular Sciences* **2014**, *15*, 5821. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁶ Bolós, M.; Perea, J. R.; Avila, J. Alzheimer's disease as an inflammatory disease. *Biomolecular Concepts* **2017**, *8*, 37. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁷ Knowles, R. G. Development of Anti-Inflammatory Drugs - the Research and Development Process. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* **2014**, *114*, 7. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁸ Fischer, L.; Hornig, M.; Pergola, C.; Meindl, N.; Franke, L.; Tanrikulu, Y.; Dodt, G.; Schneider, G.; Steinhilber, D.; Werz, O. The molecular mechanism of the inhibition by licofelone of the biosynthesis of 5-lipoxygenase products. *British Journal of Pharmacology* **2007**, *152*, 471. [CrossRef]
- ⁶⁹ Jingjing Li, Chuanyong Guo, J. W. 15-Deoxy- Δ -12,14-Prostaglandin J2 (15d-PGJ2), an Endogenous Ligand of PPAR-: Function and Mechanism. *PPAR Research* **2019**, *2019*, 1. [CrossRef]
- ⁷⁰ Chen, K.; Li, J.; Wang, J.; Xia, Y.; Dai, W.; Wang, F.; Shen, M.; Cheng, P.; Zhang, Y.; Wang, C.; Yang, J.; Zhu, R.; Zhang, H.; Zheng, Y.; Lu, J.; Fan, Z.; Zhou, Y.; Guo, C. 15-Deoxy- γ 12,14-prostaglandin J2 reduces liver impairment in a model of ConA-induced acute hepatic inflammation by activation of PPAR γ and reduction in NF- κ B activity. *PPAR Research* **2014**, *2014*. [CrossRef]
- ⁷¹ Wang, H.-Y.; Kan, W.-C.; Cheng, T.-J.; Yu, S.-H.; Chang, L.-H.; Chuu, J.-J. Differential anti-diabetic effects and mechanism of action of charantin-rich extract of Taiwanese *Momordica charantia* between type 1 and type 2 diabetic mice. *hemical Toxicology* **2014**, *69*, 347. [CrossRef]
- ⁷² Scher, J. U.; Pillinger, M. H. 15d-PGJ2: The anti-inflammatory prostaglandin? *Clinical Immunology* **2005**, *114*, 100. [CrossRef]
- ⁷³ Iannotti, F. A.; Di Marzo, V.; Petrosino, S. Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. *Progress in Lipid Research* **2016**, *62*, 107. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷⁴ Vallée, A.; Lecarpentier, Y.; Guillevin, R.; Vallée, J. N. Effects of cannabidiol interactions with Wnt/ β -catenin pathway and PPAR γ on oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* **2017**, *49*. [CrossRef]
- ⁷⁵ Abdollahi, E.; Momtazi, A. A.; Johnston, T. P.; Sahebkar, A. Therapeutic effects of curcumin in inflammatory and immune-mediated diseases: A nature-made jack-of-all-trades? *Journal of Cellular Physiology* **2018**, *233*, 830. [CrossRef]

- ⁷⁶ Pisanti, S.; Malfitano, A. M.; Ciaglia, E.; Lamberti, A.; Ranieri, R.; Cuomo, G.; Abate, M.; Faggiana, G.; Proto, M. C.; Fiore, D.; Laezza, C.; Bifulco, M. Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacology and Therapeutics* **2017**, *175*, 133. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁷ Muller, C.; Morales, P.; Reggio, P. H. Cannabinoid ligands targeting TRP channels. *Frontiers in Molecular Neuroscience* **2019**, *11*. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁸ Paloczi, J.; Varga, Z. V.; Hasko, G.; Pacher, P. Neuroprotection in Oxidative Stress-Related Neurodegenerative Diseases: Role of Endocannabinoid System Modulation. *Antioxidants and Redox Signaling* **2018**, *29*, 75. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁹ Grotenhermen, F. Pharmacology of Cannabinoids. *Neuroendocrinology Letters* **2004**, *2*, 14. [[link](#)]
- ⁸⁰ Battista, N.; Tommaso, M. Di; Bari, M.; Maccarrone, M. The endocannabinoid system: An overview. *Front. Behav. Neurosci. Frontiers in Behavioral Neuroscience* **2012**, *6*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸¹ Hilgeroth, A.; Tell, V.; Kramer, S.; Totzke, F.; Schächtele, C. Approaches to a Multitargeting Drug Development : First Profiled 3-Ethoxycarbonyl-1-aza-9-oxafluorenes Representing Representing a Perspective Compound Class Targeting Alzheimer Disease Relevant Kinases CDK1, CDK5 and GSK-3 β . *Medicinal Chemistry* **2014**, *10*, 90. [[CrossRef](#)]
- ⁸² Halen, P. K.; Murumkar, P. R.; Giridhar, R.; Yadav, M. R. Prodrug designing of NSAIDs. *Mini reviews in medicinal chemistry* **2009**, *9*, 124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸³ Furchgott, R. F.; Ignarro, L. J.; Murad, F. Physiology or Medicine for 1998 - Press release. The Nobel Prize in Physiology or Medicine for 1998 - Press release. *The Nobel Assembly at Karolinska Institutet* 1998. [[link](#)]
- ⁸⁴ Wallace, J. L.; Cirino, G. The development of gastrointestinal-sparing nonsteroida I anti-inflammatory drugs. *Trends in Pharmacological Sciences* **1994**, *15*, 405. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁵ Hoogstraate, J.; Andersson, L. I.; Berge, O. G.; Jonzon, B.; Öjteg, G. COX-inhibiting nitric oxide donators (CINODs) - A new paradigm in the treatment of pain and inflammation. *Inflammopharmacology* **2003**, *11*, 423. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁶ Wallace, J. L.; Reuter, B.; Cicala, C.; Mcknight, W.; Grisham, M. B.; Cirino, G. Novel Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Derivatives With Markedly Reduced Ulcerogenic Properties in the Rat 1994. *Gastroenterology* **1994**, *107*, 173. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁷ Stefano, F.; Distrutti, E. Cyclo-Oxygenase (COX) Inhibiting Nitric Oxide Donating (CINODs) Drugs: A Review of Their Current Status. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2007**, *7*, 277. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁸ Schnitzer, T. J.; Kivitz, A.; Frayssinet, H.; Duquesroix, B. Efficacy and safety of naproxinod in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: A 13-week prospective, randomized, multicenter study. *Osteoarthritis and Cartilage* **2010**, *18*, 629. [[CrossRef](#)]
- ⁸⁹ White, W. B.; Schnitzer, T. J.; Bakris, G. L.; Frayssinet, H.; Duquesroix, B.; Weber, M. Effects of naproxinod on blood pressure in patients with osteoarthritis. *American Journal of Cardiology* **2011**, *107*, 1338. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁰ Muscara, M.; Wallace, J. COX-Inhibiting Nitric Oxide Donors (CINODs): Potential Benefits on Cardiovascular and Renal Function. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* **2008**, *4*, 155. [[CrossRef](#)]
- ⁹¹ Wallace, J. L. Physiological and Pathophysiological Roles of Hydrogen Sulfide in the Gastrointestinal Tract. Antioxidants & Redox Signaling. *Antioxidants & Redox Signaling* **2010**, *12*, 1125 [[CrossRef](#)]
- ⁹² Fiorucci, S.; Santucci, L. Hydrogen sulfide-based therapies: Focus on H₂S-releasing NSAIDs. *Inflammation and Allergy - Drug Targets* **2011**, *10*, 133. [[CrossRef](#)]
- ⁹³ Rogers, J.; Kirby, L. C.; Hempelman, S. R.; Berry, D. L.; McGeer, P. L.; Kaszniak, A. W.; Zalinski, J.; Cofield, M.; Mansukhani, L.; Willson, P.; Kogan, F. Clinical trial of indomethacin in alzheimer's disease. *Neurology* **1993**, *43*, 1609. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁴ Wallace, J. L.; Caliendo, G.; Santagada, V.; Cirino, G.; Fiorucci, S. Gastrointestinal Safety and Anti-Inflammatory Effects of a Hydrogen Sulfide-Releasing Diclofenac Derivative in the Rat. *Gastroenterology* **2007**, *132*, 261. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁵ Wallace, J. L.; Nagy, P.; Feener, T. D.; Allain, T.; Ditrói, T.; Vaughan, D. J.; Muscara, M. N.; Nucci, G.; Buret, A. G. A proof-of-concept, Phase 2 clinical trial of the gastrointestinal safety of a hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drug. *British Journal of Pharmacology* **2020**, *177*, 769. [[CrossRef](#)]
- ⁹⁶ Borges, W. G. Antileucotrienos. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia* **2000**, *9*, 200. [[link](#)]
- ⁹⁷ Dias, K. S. T.; de Paula, C. T.; dos Santos, T.; Souza, I. N. O.; Boni, M. S.; Guimarães, M. J. R.; da Silva, F. M. R.; Castro, N. G.; Neves, G. A.; Veloso, C. C.; Coelho, M. M.; de Melo, I. S. F.; Giusti, F. C. V.; Giusti-Paiva, A.; da Silva, M. L.; Dardenne, L. E.; Guedes, I. A.; Pruccoli, L.; Morroni, F.; Tarozzi, A.; Viegas, C. Design, synthesis and evaluation of novel feruloyl-donepezil hybrids as potential multitarget drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *130*. [[CrossRef](#)]

⁹⁸ Dias Viegas, F. P.; de Freitas Silva, M.; Divino da Rocha, M.; Castelli, M. R.; Riquiel, M. M.; Machado, R. P.; Vaz, S. M.; Simões de Lima, L. M.; Mancini, K. C.; Marques de Oliveira, P. C.; Morais, É. P.; Gontijo, V. S.; da Silva, F. M. R.; D'Alincourt da Fonseca Peçanha, D.; Castro, N. G.; Neves, G. A.; Giusti-Paiva, A.; Vilela, F. C.; Orlandi, L.; Camps, I.; Veloso, M. P.; Leomil Coelho, L. F.; Ionta, M.; Ferreira-Silva, G. Á.; Pereira, R. M.; Dardenne, L. E.; Guedes, I. A.; de Oliveira Carneiro Junior, W.; Quaglio Bellozi, P. M.; Pinheiro de Oliveira, A. C.; Ferreira, F. F.; Pruccoli, L.; Tarozzi, A.; Viegas, C. Design, synthesis and pharmacological evaluation of N-benzyl-piperidinyl-aryl-acylhydrazone derivatives as donepezil hybrids: Discovery of novel multi-target anti-alzheimer prototype drug candidates. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *147*, 48. [[CrossRef](#)]