



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**APLICAÇÃO DE MODELOS QSAR NO DESIGN DE FÁRMACOS**

Trabalho submetido por  
**Alexandre Miguel Mamede Lampreia**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**novembro de 2016**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

## **APLICAÇÃO DE MODELOS QSAR NO DESIGN DE FÁRMACOS**

Trabalho submetido por  
**Alexandre Miguel Mamede Lampreia**  
para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Carla Ascenso**

**novembro de 2016**



A Ele, por estar sempre no comando.



## AGRADECIMENTOS

É com um enorme sentimento de gratidão que escrevo os próximos parágrafos.

Quero agradecer à minha família, pelo suporte que me deram ao longo de todos estes anos. Em especial aos meus pais pelo carinho e dedicação em toda a minha vida. Aos meus avós, pelo apoio incondicional.

Um Muito Obrigado, Pai e Mãe.

Não poderia deixar de mencionar todos os meus amigos. Sem vocês a minha vida seria totalmente diferente. Faço um agradecimento especial ao Daniel Henriques, David Nogueira e Paulo Silva, por todo o apoio que me dão através da nossa amizade. Por se revelarem como irmãos para mim. Não me esqueço dos meus amigos de Mértola, Carlos, Emanuel, José, Marco, Micael, Miguel, Rafael e Tiago, estão sempre presentes apesar da distância. Assim como não me esqueço dos que me acompanharam ao longo destes 5 anos de curso. Ao António Tanganho, Diogo Dias, João Moedas, João Silva, Mickael Santos e Pedro Coelho, um brinde especial à nossa amizade. À Inês Vale, Jéssica Freitas, Madalena Cruz, Mariana Gonçalves, Rita Leiras, Sara Silva e Vanessa Castanheira um muito obrigado pelo vosso carinho e amizade. Ao Bruno Monteiro, Fábio Fernandes, Gonçalo Antunes, Henrique Zorba, João Barros, João Marques, João Martins, João Rangel, João Santos, Luís Martins e Sílvio Ramalheira, pela vossa amizade.

Obrigado a todas as outras pessoas que de uma maneira ou de outra, contribuem para a minha vida.

Obrigado à AE-ESSEM e à AE-ISCSEM por terem sido parte integrante, direta e indiretamente, do meu percurso académico.

Um agradecimento especial à Prof. Doutora Carla Ascenso pelo seu apoio durante o meu percurso académico, no programa ERASMUS, na realização desta investigação e pelo excelente ser humano que é. Um muito obrigado à sua amizade.

Obrigado a todos os docentes que no decorrer destes anos de ensino, contribuíram para a minha formação. Ao Professor Doutor Martins dos Santos, pela referência que é para os alunos desta *Muy Noble Academia*.

Obrigado Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

Muito Obrigado.



## RESUMO

A metodologia de relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR), surge na ciência como um método de análise, o qual utiliza descritores capazes de prever comportamentos e desenhar novos compostos químicos com benefícios para a saúde. A expressão matemática que traduz o estudo é dada pela atividade do inibidor ser igual às propriedades estruturais e físico-químicas dos compostos.

Este tipo de modelo permite a previsão de um grande número de compostos estruturalmente semelhantes, o que proporciona a oportunidade para que esta técnica seja utilizada em vários campos no design de fármacos sem que se recorra a ensaios laboratoriais.

Procedeu-se ao levantamento de informação científica, seguido de uma perceção estrutural e das propriedades físico-químicas dos inibidores com o intuito de recolher informação para posterior aplicação de uma metodologia QSAR. No qual se seleccionou as famílias de compostos com uma atividade inibitória potente e específicas das MMP da dentina, nomeadamente as famílias  $\alpha$ -Tetrahidropiranyl Sulfona e  $\alpha$ -Piperidina Sulfona.

A degradação do colagénio da dentina por parte das metaloproteinases (MMP) compromete a estabilidade das restaurações dentárias, logo, a sua durabilidade. Por esta razão decidiu-se aplicar o estudo, à inibição das MMP presentes na matriz extracelular da dentina. Pois tem sido uma estratégia utilizada com o intuito de aumentar a estabilidade e a duração das restaurações.

Não se desenvolveu a expressão matemática que permitira aplicar o método, embora se tenha recolhido informação suficiente para que a metodologia possa ser aplicada num futuro projecto.

**Palavras-chave:** metaloproteinases da matriz da dentina, inibidor de metaloproteinases, metodologia de relações quantitativas estrutura-atividade e descritores.

## ABSTRACT

The methodology of quantitative structure-activity relations (QSAR) emerges in science as a method of analysis, which uses descriptors capable of predicting behaviors and designing new chemical compounds with health benefits. The mathematical expression which translates the study is given by the activity of the inhibitor being equal to the structural and physicochemical properties of the compounds

This type of model allows the prediction of a large number of structurally similar compounds, which provides the opportunity for this technique to be used in various fields in drug design without the use of laboratory tests.

Scientific information was collected, followed by a structural perception and the physico-chemical properties of the inhibitors with the purpose of collecting information for later application of a QSAR methodology. In which families of compounds with a strong inhibitory activity and specific of the MMP of the dentin, namely the families  $\alpha$ -Tetrahydropyranyl Sulfone and  $\alpha$ -Piperidina Sulfona were selected.

The degradation of the dentin collagen by the metalloproteinases (MMP) compromises the stability of dental restorations, thus, their durability. For this reason it was decided to apply the study to the inhibition of MMP present in the extracellular matrix of dentin. It has been a strategy used to increase the stability and duration of the restorations.

The mathematical expression that would allow the application of the method has not been developed, although sufficient information has been collected so that the methodology can be applied in a future project.

**Keywords:** dentin matrix metalloproteinases, metalloproteinase inhibitor, quantitative structure-activity relations methodology and descriptors.

## ÍNDICE GERAL

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
ÍNDICE GERAL.....	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
ÍNDICE DE TABELAS.....	5
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	6
INTRODUÇÃO.....	7
Metaloproteinases - MMP .....	9
Inibidores de Metaloproteinases - MMPi.....	14
Relações quantitativas estrutura-atividade - QSAR .....	18
MATERIAIS E MÉTODOS .....	25
Estratégia de pesquisa.....	25
Métodos de análise de compostos .....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÃO .....	59
BIBLIOGRAFIA .....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Representação esquemática da infiltração do adesivo de resina na dentina desmineralizada. (RA) Adesivo de resina; (DT) Túbulos de Dentina; (PD) dentina peritubular .....	8
<b>Figura 2</b> - Estruturas dos domínios das diferentes MMP.....	12
<b>Figura 3</b> - Representação esquemática da ligação de um substrato a uma protéase.....	13
<b>Figura 4</b> – Esquema representativo da ligação do inibidor com a MMP, com interação no <i>pocket</i> S1' profundo.....	14

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Classificação das MMP da dentina, segundo as respectivas famílias. ....	10
<b>Tabela 2</b> - Diferentes grupos de ligação ao Zinco (ZBG).....	16
<b>Tabela 3</b> –Diferentes dimensões dos estudos QSAR, com base nos seus descritores. ..	21
<b>Tabela 4</b> - Parâmetros estruturais, usados no desenvolvimento de modelos QSAR.....	22
<b>Tabela 5</b> - Definições dos parâmetros que definem a hidrofobicidade, utilizados nos modelos QSAR. ....	23
<b>Tabela 6</b> - Definições dos parâmetros que definem a natureza eletrónica, utilizados nos modelos QSAR. ....	23
<b>Tabela 7</b> - Parâmetros que definem a natureza estérea, utilizados nos modelos QSAR.....	24
<b>Tabela 8</b> - Apresentação dos valores das atividades dos MMPi, consoante a respetiva classe estrutural.....	28
<b>Tabela 9</b> - Apresentação das classes estruturais selecionadas para um estudo QSAR, com a respetiva descritores, para famílias de $\alpha$ -Tetrahidropiranyl Sulfona. ....	53
<b>Tabela 10</b> - Apresentação das classes estruturais selecionadas para um estudo QSAR, com os respetivos descritores, para famílias de $\alpha$ -Piperidina Sulfona. ....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CAT	Domínio catalítico
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
MMP	Metaloproteinases da matriz (do inglês <i>Matrix Metaloproteinase</i> )
MMP- <i>n</i>	Metaloproteinase <i>n</i> da matriz ( <i>Matrix Metaloproteinase n</i> )
MMPi	Inibidores de metaloproteinases da matriz
NZBG	Grupo químico que interage sem ser por ligação ao íon zinco (do inglês <i>Non Zinc Binding Group</i> )
PEX	Domínio hemopexina
MW	Peso molecular (do inglês <i>Molecular Weight</i> )
QSAR	Relações quantitativas estrutura-atividade (do inglês <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i> )
MR	Refratividade molecular (do inglês <i>Molecular Refractory</i> )
ZBG	Grupo químico que liga o íon zinco (do inglês <i>Zinc Binding Group</i> )
Zn <sup>2+</sup>	Zinco catalítico
$\pi$	Constante de hidrofobicidade
$\sigma$	Constante de Hammett
$\rho$	Densidade
$\nu$	Parâmetro estéreo de Charton
$\alpha$	Designação alfa
<i>r</i>	raio da ligação de van der Waals
Es	Constante estérea de Taft
C	Concentração
mol	Mole
g	Gramas
cm <sup>3</sup>	Centímetro cúbico
Log P	Coefficiente de partição
K <sub>a</sub>	Constante de dissociação dos ácidos
H <sup>+</sup>	Concentração de H <sup>+</sup>
K <sub>i</sub>	Constante de inibição
IC <sub>50</sub>	Valor de 50% da inibição de um composto

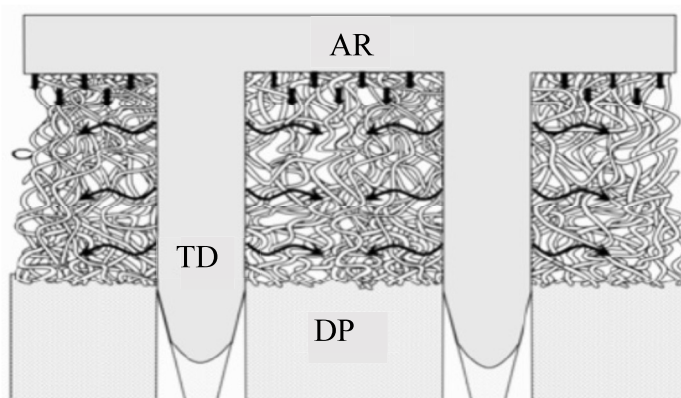
## INTRODUÇÃO

Os cuidados de saúde oral surgem nos dias de hoje como um fator importante no que respeita à prevenção de patologias periodonticas. A Ordem dos Médicos Dentistas apresenta Portugal como uma população débil quanto à higiene oral, revelando que 90% desta é portadora de cáries dentárias. Este tipo de patologia está associada à degradação da dentina por parte dos ácidos das bactérias cariogénicas, provenientes de uma alimentação rica em hidratos de carbono (Ordem dos Médicos Dentistas, 2016).

A fermentação de açúcares provenientes da dieta alimentar (glucose, sacarose e frutose) por bactérias presentes na cavidade oral, nomeadamente *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e lactobacilos, resulta na libertação por estes microorganismos de elevadas quantidades de ácido láctico e, conseqüentemente, na acidificação do meio. Não havendo controlo do depósito de microorganismos à superfície do dente, designado de biofilme ou placa bacteriana, a neutralização do meio é dificultada e este permanece ácido. Valores baixos de pH favorecem a dissolução da hidroxiapatite do esmalte do dente (camada superficial, altamente mineralizada), com libertação de iões cálcio e iões fosfato para o meio. Mantendo-se a presença do biofilme na região afetada, a desmineralização do esmalte não é revertida e evolui para lesão cáries, podendo mesmo originar cavitação. A evolução da doença cáries, normalmente por falta de controlo do biofilme, pode atingir a dentina (Bertassoni, Habelitz, Kinney, Marshall, & Marshall. Jr., 2009). A dentina é constituída por cerca de 70% de matéria inorgânica, 20% de matéria orgânica, na sua maioria colagénio, e 10% de água. No tecido dentinário, as fibras de colagénio, que se encontram associadas e dispostas de forma específica, funcionam de molde para a formação do mineral intra e interfibrilar (Y. Cao, Mei, Li, Lo, & Chu, 2014; George & Veis, 2009).

A restauração das cáries é feita por preenchimento da cavidade, de forma a reconstruir a morfologia do dente. Para este processo utilizam-se dois tipos de material, amálgama ou resinas (S. Zhang & Kern, 2009). No caso de lesões que atingem o tecido dentinário, a resina/amalgama utilizada na restauração tem de aderir à matriz de colagénio da dentina desmineralizada, sendo assumido que as fibrilhas de colagénio desempenham um papel importante na estabilização e sustentação do material restaurador (Fig. 1) (Y. Liu et al., 2011). Porém, as soluções ácidas dos produtos asséticos usados no tratamento que precede a colocação da resina/amalgama ativa enzimas presentes na matriz extracelular da dentina, enzimas esses designados genericamente por metaloproteinases

(MMP) e que degradam moléculas de colagénio (Liu et al., 2011; Varun, Bindu, Sivakumar, & Anna, 2012; S. Zhang & Kern, 2009). A degradação do colagénio compromete a estabilidade das restaurações, logo, a sua durabilidade. Por esta razão, a inibição das MMP presentes na matriz extracelular da dentina, tem sido uma estratégia utilizada com o intuito de aumentar a estabilidade e a duração das restaurações (Liu et al., 2011; Zou, Jessop, & Armstrong, 2010).



**Figura 1** - Representação esquemática da infiltração do adesivo de resina na dentina desmineralizada. (RA) Adesivo de resina; (DT) Túbulos de Dentina; (PD) dentina peritubular. Adaptado de Zhang e Kern, 2009

Estudos científicos afirmam que as gelatinases, MMP-2 e MMP-9, são aquelas que apresentam maior atividade, e maior relevância nos problemas associados às restaurações dentárias, embora as MMP com expressão na dentina sejam também a MMP-3, MMP-8, MMP-10, MMP-14 e MMP-20 (Liu et al., 2011; Merja Sulkala, 2004; S. Zhang & Kern, 2009).

Existem já várias moléculas descritas na literatura como inibidoras das MMP. Porém, nenhuma delas revelou ser suficientemente específica e eficaz para poder ser considerada um candidato a fármaco. Este trabalho teve como objetivo aplicar um modelo QSAR a inibidores das MMP (MMPi) de forma a identificar, dentro dos inibidores descritos, a existência de um candidato a fármaco. Para tal foi feito um levantamento exaustivo dos inibidores disponíveis na literatura no que diz respeito à estrutura química, propriedades físico-químicas e atividade.

Os modelos quantitativos da relação estrutura-atividade (QSAR) usam modelos matemáticos para descrever a relação entre as propriedades físico-químicas de uma

família de compostos (compostos com a mesma base estrutural, o mesmo esqueleto químico) para identificar os grupos químicos que mais eficazmente aumentam a atividade farmacológica. Numa situação ideal, que passa pela existência de informação disponível sobre muitos inibidores, a aplicação de modelos QSAR a um grupo (grupo teste) finito de moléculas identificadas como apresentando a atividade farmacológica pretendida, moléculas essas que se relacionam estruturalmente por apresentarem um esqueleto químico comum e variando em um ou mais grupos químicos substituintes distintos, permite descrever matematicamente o efeito das propriedades físico-químicas desses grupos substituintes na atividade inibidora. A expressão matemática resultante pode ser posteriormente aplicada a outras moléculas da mesma família, não presentes no grupo testado), incluindo moléculas não sintetizadas, permitindo a definição da estrutura com maior probabilidade de originar uma atividade maior, ou seja, o melhor candidato a inibidor. Assim, os modelos QSAR permitem a previsão de um grande número de compostos estruturalmente semelhantes, o que proporciona a oportunidade para que esta técnica seja utilizada em vários campos no design de (Roy, Kar, & Das, 2014; R. Todeschini, Consonni, & Gramatica, 2010).

Esta dissertação procura melhorar a percepção da inibição das MMP, que criam dificuldades ao nível da longevidade das restaurações dentárias em endodontia, mais especificamente no tratamento de cáries. Procurou-se fazer o levantamento de toda a informação necessária para se proceder à análise do poder inibitório dos MMPi e dos seus substituintes, recorrendo a modelos QSAR, que através de estruturas semelhantes, tem em consideração parâmetros físico-químicos e o desempenho da sua atividade, com o intuito de perceber grupos de interesse, tanto os *Zinc Binding Group* (ZBG) como os substituintes, de relevância para as MMP com atividade na dentina.

### **Metaloproteinases - MMP**

O equilíbrio entre as peptidases e os seus inibidores é de extrema importância, é com base neste balanço que surge a prevenção ou a terapêutica de determinadas doenças (Rawlings, Barrett, & Finn, 2016). Designam-se por peptidases a família de metaloproteinases da matriz, as quais apresentam características estruturais semelhantes. São enzimas contendo zinco no centro ativo, com funções fisiológicas fundamentais. Estas encontram-se diretamente ligadas à degradação proteolítica da maioria dos componentes proteicos da matriz extra celular (ECM), embora desempenhem também um

papel essencial em determinados processos biológicos, tais como a cicatrização de feridas, o crescimento de nervos, a remodelação óssea, a remodelação ou reparação tecidual, a apoptose celular, a embriogénese, a morfogénese do órgão e angiogénese (Amălinei, Căruntu, & Bălan, 2007; Visse & Nagase, 2003).

Através do *MEROPS the peptidase database* consegue-se constatar que o genoma humano codifica um total de 24 MMP. Este apresenta duas formas de classificar as famílias das MMP, através do sistema de classificação nominal ou pelo uso de nomes comuns, como se pode observar na figura seguinte.

**Tabela 1** - Classificação das MMP da dentina, segundo as respetivas famílias.

<i>Classificação da MMP</i>	<i>Outras designações</i>
<i>MMP-2</i>	gelatinase A, 3/4 colagenase, 72 kDa gelatinase, matriz metaloproteinase 2, colagenase tipo IV
<i>MMP-3</i>	estromelisina 1, colagenase ativadora de proteínas, matriz metaloproteinase 3, pro-colagenase, proteoglicanase, transina
<i>MMP-8</i>	colagenase 2, matriz metaloproteinase 8, colagenase neutrófila
<i>MMP-9</i>	gelatinase B, 92 kDa gelatinase, gelatinase macrófaga, matriz metaloproteinase 9, gelatinase neutrófila, colagenase tipo IV, colagenase tipo V
<i>MMP-10</i>	estromelisina 2, matriz metaloproteinase 10, transina-2
<i>MMP-14</i>	matriz metaloproteinase 1 tipo membrana, matriz metaloproteinase 14, matriz metaloproteinase, membrana tipo 1, MT1-MMP, MTMMP-1
<i>MMP-20</i>	enamelisina, matriz metaloproteinase 20

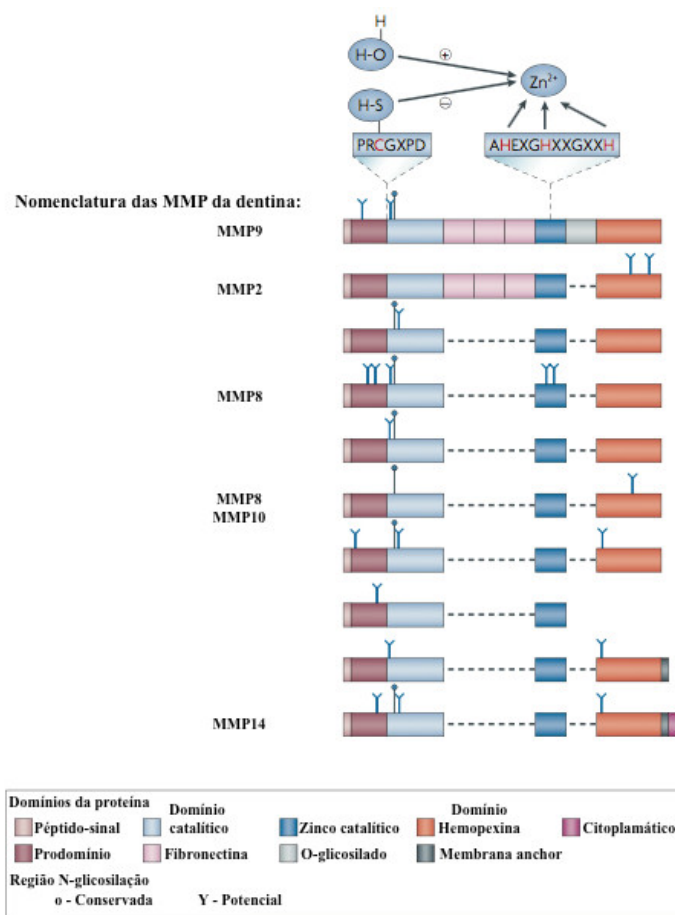
Colagenases (MMP-1, MMP-8 e MMP-13), gelatinases (MMP-2 e MMP-9), estromelisinases (MMP-3, MMP-10 e MMP-11), matrilisinases (MMP-7 e MMP-26), as metaloproteinases do tipo membrana ou MT-MMP (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17 e MMP-24), e as outras. Estas últimas são um grupo que associa a organização do domínio e preferência do substrato, como por exemplo a MMP-12 e a MMP-28. Atualmente há referências a mais de 27 peptidases, que se agrupam pelas 5 principais famílias, com afinidades para diferentes substratos presentes na ECM (Amălinei et al., 2007; Rawlings et al., 2016).

As MMP são geralmente sintetizadas na forma de proenzimas (pro-MMP), sendo necessário uma ativação proteolítica para que se tornem MMP ativas (Amălinei et al., 2007; Jacob, 2003). Durante os procedimentos de restauração dentária, a hipótese de ocorrer um aumento da atividade colagenolítica é elevada, devido ao facto de agentes químicos utilizados nestes processos estarem associados à ativação das MMP. Em condições normais, a regulação destas proteínas com base na sua atividade tecidual, é

feita pelos *Tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMPs). São inibidores naturais, inespecíficos, que em situações de carência ou falta de produção, o organismo pode desenvolver diferentes patologias, ao nível do cancro, artrites, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, periodontites, ulceração da pele, úlceras gástricas, fibrose do fígado, enfisema, entre outras (Amălinei et al., 2007; Kallakury et al., 2001; Visse & Nagase, 2003).

As MMP, apesar de serem semelhantes estruturalmente, ao nível da sua ação apresentam pormenores que as distinguem. Uma alteração estrutural causada pelo ligando significa uma redução da atividade colagenolítica, levando à inibição da atividade da MMP. Sendo as MMP uma referência nestas patologias, surgem como alvo principal de estudos científicos na atualidade, nomeadamente a relação entre a inibição e os seus inibidores. A área do cancro acaba por ser a mais explorada, embora o desenvolvimento científico surja também nas patologias inflamatórias evasculares (Hu, Van den Steen, Sang, & Opdenakker, 2007; Kallakury et al., 2001).

Como mencionado anteriormente, as MMP apresentam semelhanças estruturais, mesmo que por vezes estas pertençam a famílias distintas. São constituídas na sua maioria por sequências de resíduos de aminoácidos, que numa visão global traduzem-se em múltiplos domínios estruturais, como se pode observar na imagem seguinte. As suas estruturas primárias apresentam um pré-peptido ligado a um prodomínio na região N-terminal, seguido de um domínio catalítico (domínio CAT) (Maskos, 2005). Contudo, o prodomínio em N-terminal é essencial para a ativação da mesma, pois contém a presença de um *switch* de cisteína, uma sequência de aminoácidos (Pro-Arg-Cys-Gly-Xxx-Pro-Asp), onde Xxx representa um qualquer resíduo de aminoácido, que interage com o zinco ( $Zn^{2+}$ ) do centro catalítico, bloqueando o centro ativo e deixando a MMP no seu estado de latência (Bode & Maskos, 2003; Visse & Nagase, 2003). O domínio CAT está ligado ao prodomínio através de uma ligação que pode ser clivada, que em conjunto com a quebra do *switch* de cisteína ao  $Zn^{2+}$ , origina a ativação da proteína. O domínio C-terminal, domínio hemopexina, está associado às ligações com o substrato (Amălinei et al., 2007). O segmento peptídico denominado de região *linker* ou *hinge*, que traduz uma ligação covalente entre o domínio CAT e o domínio PEX, serve entre outras coisas, para garantir a estabilidade da proteína, e apresenta também um papel na degradação de substratos mais complexos como o colagénio (Amălinei et al., 2007; Bode & Maskos, 2003; Maskos, 2005; Visse & Nagase, 2003).



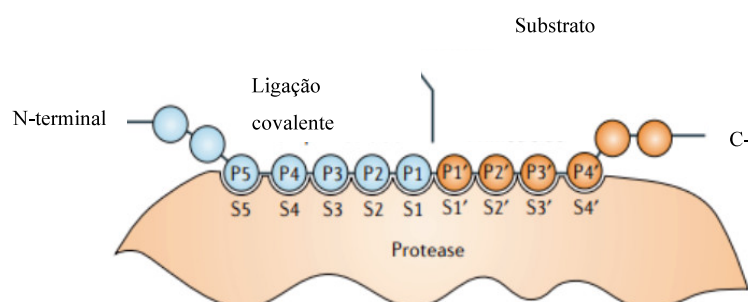
**Figura 2** - Estruturas dos domínios das diferentes MMP, adaptado de Hu et al., 2007.

Existem determinadas particularidades na constituição das MMP, que de certa forma as tornam específicas, caso das MMP-2 e MMP-9, que possuem no seu domínio CAT um conjunto de três módulos de fibronectina tipo II, razão pela qual formam ligações mais estáveis com o colagénio (Kridel et al., 2001; Rowsell et al., 2002).

Em todas as MMP, o zinco catalítico, quando não está ligado, encontra-se coordenado no centro ativo a três resíduos de histidina num padrão sequencial His-Glu-XXX-Gly-His-XXX-XXX-Gly-XXX-XXX-His, em que XXX é um qualquer resíduo de aminoácido. Encontra-se ainda coordenado com uma molécula de água, a qual estabelece uma ligação de hidrogénio com o resíduo de glutamato conservado na sequência acima referida (Amălinei et al., 2007; Bode & Maskos, 2003). As MMP apresentam ainda na sua estrutura um segundo ião zinco tetraédrico e dois iões cálcio octaédricos, ligados diretamente à cadeia polipeptídica mas nenhum deles partilhando aminoácidos-ligandos com o zinco catalítico, sendo que estes metais parecem desempenhar apenas funções estruturais (Maskos, 2005).

É importante perceber o centro catalítico, já que o mesmo é a base funcional da enzima e perante as suas características ser possível desenhar moléculas inibidoras da atividade das MMP. A estrutura tridimensional do centro ativo do domínio catalítico pode ser dividida em seis *pockets*, regiões na sua maioria constituídas por aminoácidos com afinidade para o inibidor e responsáveis pelo seu reconhecimento. São designados de S1, S2 e S3, quando situados à esquerda do zinco catalítico, e de S1', S2' e S3', se localizados à direita do mesmo. No caso de substratos proteicos, a contagem é feita de N-terminal para C-terminal e as cadeias laterais que interagem mais próximo do metal assumem o número 1, continuando a contagem para cada extremidade do substrato. A letra que se utiliza para designar um grupo ligante do substrato é a P, de modo que o grupo ligante P1 interaja com o *pocket* S1, P1' com o *pocket* S1', e assim sucessivamente. É de salientar a importância da seletividade dos *pockets* do centro ativo para com os substratos a degradar pelas diferentes MMP, assim como para possíveis inibidores (Turk, 2006). Pode-se ter uma percepção da interação entre o inibidor e a MMP através da figura abaixo.

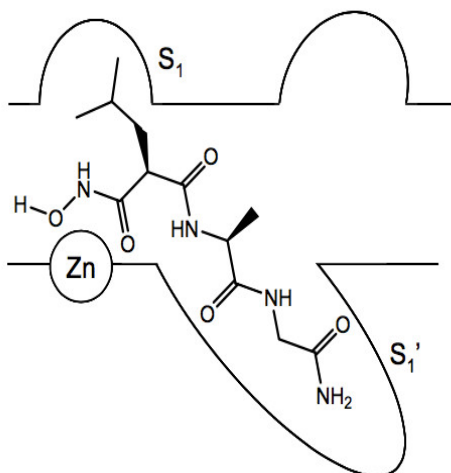
No que respeita à especificidade nas MMP, os *pockets* são os locais que a definem e aquele que apresenta maior predominância é o S1', por apresentar diferenças no tamanho e forma. Este revela uma característica importante para a sua atividade, que é a hidrofobicidade, a qual representa um parâmetro importante na interação com o inibidor (Amălinei et al., 2007; Dormn et al., 2010; Pirard, 2007; Vargova, Pytliak, & Mechirova, 2012).



**Figura 3** - Representação esquemática da ligação de um substrato a uma protease, adaptado de Turk, 2006.

Após a análise das MMP da dentina estabeleceu-se uma classificação consoante as classes estruturais dos *pockets* S1', onde se assume que as MMP-2, MMP-3, MMP-8 e MMP-9 apresentam semelhanças na profundidade deste. Estas características possibilitaram o desenvolvimento de inibidores com um P1' profundo, que se veio traduzir numa característica de seletividade dos mesmos, como se pode observar na

imagem seguinte. Quanto à análise do *pocket* S2', mostra uma elevada afinidade com P2' hidrofóbicos. O *pocket* S3', situado na porção terminal do domínio catalítico apresenta uma baixa interferência na seletividade do inibidor, pois P3' tem uma ação modesta (Dormn et al., 2010; Pirard, 2007).



**Figura 4** – Esquema representativo da ligação do inibidor com a MMP, com interação no *pocket* S1' profundo, adaptado de Supuran & Winum, 2009.

Para além das diferenças ao nível das estruturas químicas dos domínios catalíticos das MMP, estas podem apresentar também diferenças conformacionais nos domínios não catalíticos, e que afeta a ligação de substratos ou inibidores, e interfere com a seletividade das várias enzimas. Derivado à enorme flexibilidade dos domínios das MMP, estas alterações conformacionais podem ser intrínsecas à proteína ou ser induzidas pelos diferentes substratos (Iyer, Wei, Brew, & Acharya, 2007). É importante realçar que uma conformação fechada, leva a que a ligação do substrato à MMP não se verifique, devido ao centro ativo não se encontrar a descoberto, o que numa conformação onde este se encontre parcialmente fechado a ligação torna-se possível. No entanto existem exceções, como o caso da MMP-2 que interage com o ligando em qualquer das conformações, intermédia, aberta ou fechada (E. I. Chen et al., 2002; Durrant, de Oliveira, & McCammon, 2011).

### **Inibidores de Metaloproteinases - MMPi**

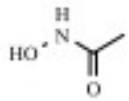
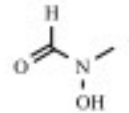
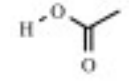
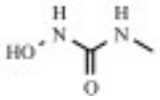
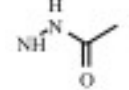
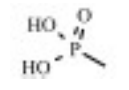
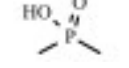

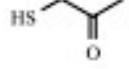

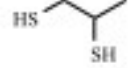
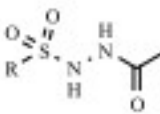
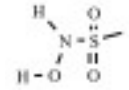
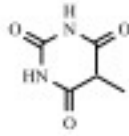
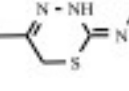
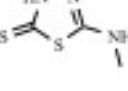
Existem diferentes tipos de inibidores endógenos de metaloproteinases (MMPi), a alfa 2-macroglobulina, os inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMPs). Existem também inibidores sintéticos, considerados exógenos. Os MMPi endógenos mais

importantes, designados de TIMPs, formam um complexo de 1:1 com as MMP e são o maior número de inibidores no tecido. Existem outros, menos específicos ou com uma resposta de inibição mais baixa, como o caso da proteína  $\beta$ -amiloide, ou um fragmento C-terminal da proteína intensificadora de procolagénio-C-proteinase e a RECK, uma glicoproteína ancorada a GPI. No entanto, os mecanismos de ação destas proteínas não são conhecidos, apesar de todas apresentarem atividade inibitória com uma constante de inibição ( $K_i$ ) nanomolar ou micromolar (Vargova et al., 2012).


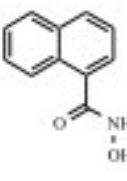
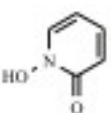
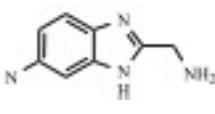
Quanto aos inibidores exógenos, durante anos foram concebidos e desenvolvidos em laboratórios, tendo-se conseguido percorrer três gerações distintas (Nutti et al., 2009). Estes podem ser classificados em duas largas classes de compostos, tendo em consideração o modo de ligação. Os *zinc binder inhibitors* (ZBGs), ou os *no binder inhibitors* (NBIs), estes últimos têm a particularidade de não envolverem um quelante do zinco na inibição (Jacobsen, Major Jourden, Miller, & Cohen, 2010). Em ambas as classes, a potência e seletividade dos inibidores dependem das cadeias péptido miméticas (P1-Pn e/ou P1'-Pn') interagirem com as regiões catalíticas da enzima (S1-Sn e/ou S1'-Sn'). Embora de uma perspetiva geral, os esforços da comunidade científica, nos últimos tempos, tenham sido direcionados para a criação de moléculas que inibam diretamente o centro ativo (Pirard, 2007).

Inicialmente os MMPi baseavam-se numa sequência peptídica, que mimetizava o substrato da enzima reconhecida pela metaloproteinase e no qual um grupo quelante ia interagir com o ião de zinco do domínio catalítico, atuando por inibição competitiva (Nutti et al., 2009). Esse grupo quelante, como por exemplo o hidroxamato, é designado de ZBG, porque complexa diretamente como ião  $Zn^{2+}$  (Jacobsen et al., 2010; Puerta & Cohen, 2004). No entanto, a especificidade foi um dos fatores preponderantes na procura da evolução destes MMPi, juntamente com a diminuição do seu espectro abrangente, constantemente associado a falhas terapêuticas. Numa tentativa de minimizar estes problemas, foram introduzidos diferentes ZBG, distintos dos hidroxamatos, tais como retro-hidroxamatos, carboxilatos, tióis, barbituratos, fosfonatos, entre outros (Jacobsen et al., 2010; Puerta & Cohen, 2004).

**Tabela 2** - Diferentes grupos de ligação ao Zinco (ZBG), adaptado de (Rao, 2005).

Nome	Estrutura	Referência
Hidroxamato		(Rao, 2005)
Hidroxamato reverso		(Rao, 2005)
Carboxilato		(Rao, 2005)
Hidroxiureia		(Rao, 2005)
Hidrazida		(Rao, 2005)
Fosfato		(Rao, 2005)
Fosfonato		(Rao, 2005)
Tiol		(Rao, 2005)
Tiol carbonilo		(Rao, 2005)
Tiirano		(Rao, 2005)
Di-tiol		(Rao, 2005)
Sulfonil-hidrazida		(Rao, 2005)
Hidroxissulfonamidas		(Rao, 2005)
Barbituricos		(Rao, 2005)
Tiadizina		(Rao, 2005)
Tiadiazol tiol		(Rao, 2005)

## Continuação da Tabela 2.

<i>Sulfodiiminas</i>		(Rao, 2005)
<i>Hidroxamato de n-butilo</i>		(Rao, 2005)
<i>Análogos de Peridina</i>		(Rao, 2005)
<i>Aminometilbenzimidazole</i>		(Rao, 2005)

Embora estes novos compostos se tenham revelado menos potentes do que o hidroxamato, pois considera-se que este se comporte como uma ligação bidentada (Rowsell et al., 2002). Em contra partida a maioria destes inibidores não apresenta especificidade, o que reproduz uma diminuição na eficácia da terapêutica, enquanto que outros apresentam outros problemas como a toxicidade (Dormn et al., 2010; S. Zhang & Kern, 2009).

Com o intuito de contornar os problemas associados aos MMPi de primeira geração, surgem os compostos não peptídicos, a segunda geração de inibidores com grupos sulfonamida, exemplo do *Prinomastat*, que apresenta uma eficácia moderada. A distinta vantagem deste mecanismo de ação, passa pela modificação permanente do centro ativo, alterando a conformação do mesmo, devido à formação de ligações covalentes, impedindo a ligação a substratos. Foram levados a ensaios clínicos em modelos de animais e embora não fossem demonstrados níveis de eficácia significativa, demonstraram efeitos colaterais, como dor músculo-esquelética, anemia, entre outros. Concluiu-se que os efeitos fossem oriundos da fraca seletividade das moléculas, o que levaria à inibição de diferentes MMP, tendo isso influência noutros mecanismos de regulação do organismo, e originando assim novas doenças ou agravando as já existentes. Ou seja, a baixa especificidade dos inibidores pode revelar toxicidade (H. Hashimoto et al., 2011).

A terceira geração, remete-nos para inibidores que atuam nas MMP específicas de cada doença. São muito mais exclusivos do que os anteriores, exemplo do SB-3CT. Novos tipos de MMPi, com base em diferentes grupos alvo, como o tiol, hidroxipirona, barbitúricos, etc., têm sido descritos no desenvolvimento da especificidade dos mesmos, apresentando a sua ação no *pocket* S1' da MMP alvo, com a particularidade de não utilizarem um grupo quelante. São compostos alostéreos, por norma moléculas longas com anéis aromáticos, que originam deformações conformacionais do centro ativo por interação com locais próximos a este (Jacobsen et al., 2010). Contudo, pensa-se que essa elevada seletividade surja derivado à falta de energia na ligação dos grupos com o zinco, cujas características são partilhadas por todas as MMP (Jacobsen et al., 2010).

Hoje em dia os estudos estruturais e funcionais revelam-nos pormenores através dos quais conseguimos manipular a atividade das MMP, regulando desta forma as suas ações patológicas no organismo. Procura-se desenvolver a potência dos inibidores, embora o desafio passe pela especificidade do mesmo. Derivado a esta problemática, a nova linha de pensamento surge com o intuito de desenvolver MMPi onde se procura a ação alosteria sobre o domínio não catalítico que interage com o colagénio, aumentando assim a especificidade desta inibição. Com isto pode-se estar a emergir a quarta geração do desenvolvimento de inibidores de MMP (Supuran & Winum, 2009).

Outra sugestão passa por seguir a linha de pensamento da inibição endógena, dado ser esta que regula a atividade das MMP *in vivo*. Isto porque este tipo de inibição estimula o interesse pelo seu conhecimento e desenvolvimento, pois são constituintes endógenos do organismo e poderão estar na redução de efeitos adversos. Porque o método destes passa não só pela inibição do sítio catalítico, mas também por estes se ligarem às MMP através de ligações fracas noutros locais que não o centro ativo (Brew & Nagase, 2010; Overall & Kleifeld, 2006).

Atualmente, e a título de curiosidade, apenas um derivado da doxicilina, o *Periostat*, obteve aprovação pela *Food and Drug Administration* (FDA), sendo este o único inibidor utilizado nos dias de hoje para o tratamento da periodontite (Durrant et al., 2011).

### **Relações quantitativas estrutura-atividade - QSAR**

O *design* de fármacos é, nos dias de hoje, um processo em constante evolução. A ciência desenvolve e cria métodos de análise, para que se consiga responder de forma

rápida à concepção de novos fármacos (R. Todeschini et al., 2010). A metodologia QSAR são uma metodologia de análise que relaciona conhecimentos de química, física, biologia, toxicologia, matemática e estatística. Apresenta uma elevada utilidade neste campo, pois consegue relacionar e prever a atividade biológica, as propriedades químicas e toxicológicas dos compostos, permitindo correlacionar matematicamente estruturas de compostos semelhantes (R. Todeschini et al., 2010).

O QSAR utiliza parâmetros físico-químicos (descritores) e recorre a algoritmos para desenvolver uma expressão matemática que descreva, quantitativamente, a informação química e bioquímica relevante para atividade farmacológica de interesse. A qualidade do estudo depende da fiabilidade e veracidade da informação. Todos os compostos têm de pertencer à mesma família estrutural ou apresentar estruturas quimicamente semelhantes, para que este seja válido (Roy, Kar, & Das, 2015). Assim, pode utilizar-se o termo QSAR para designar estudos que desenvolvam uma relação matemática que permita desenvolver ou prever comportamentos de grupos farmacóforos e de novas moléculas.

Com isto, a metodologia QSAR pode ser descrita através da seguinte expressão, onde a resposta da atividade biológica é igual aos atributos químicos, os quais podem descrever-se como a informação que se consegue obter da estrutura molecular, assim como toda aquela que contempla comportamentos físico-químicos dos compostos após técnicas experimentais:

$$\text{Resposta} = f(\text{estrutura química, propriedades físico-químicas}) \quad (1.1)$$

Esta expressão permite-nos quantificar a informação química disponível, correlacionando estes parâmetros para que se consiga obter uma resposta biológica. Baseado nos diferentes conceitos e perspetivas da matemática que é usada para estabelecer modelos QSAR, consegue-se prever o comportamento de um grande número de compostos químicos que não foram sujeitos a ensaios clínicos, ou até, mais especificamente, de substituintes com influência na atividade. A disposição da informação permite-nos alterar os compostos, para que se obtenham melhores características. Nomeadamente o aumento da hidrofobicidade, aumento da atividade e redução do poder tóxico, que traduzem uma otimização da resposta biológica (R. Todeschini et al., 2010).

O modelo de análise QSAR surge com determinadas vantagens que visam facilitar o estudo científico, pois através de uma expressão matemática relaciona conceitos químicos que se traduzem na atividade do composto, procura reduzir o uso de animais em ensaios clínicos, através da facilidade com que se consegue prever o comportamento químico das moléculas. Utiliza uma base de dados, que pode ser trabalhada virtualmente, facilitando as escolhas de descritores e compostos. Consegue reproduzir o mecanismo de atividade do composto, pois trabalha com estruturas semelhantes. Descreve o comportamento de grupos substituintes através dos algoritmos utilizados e procura a otimização de moléculas. Em contrapartida o método também apresenta limitações, sendo a principal deste o facto de a abordagem do mesmo equacionar apenas conjuntos de compostos idênticos, com exceção da subestrutura quando codificadas com a variável indicadora (Livingstone, 2000).

Desta forma, é possível especificar o tipo de resposta que se pretende, dependendo da equação que utilizarmos. Ou seja, a equação específica traduz-se por:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + \dots + a_nX_n \quad (1.2)$$

onde Y é a variável dependente, que representa a atividade do inibidor. X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, ..., X<sub>n</sub> são variáveis independentes das características da estrutura química. Também podem ser propriedades físico-químicas na forma numérica ou de descritores. E a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>, ..., a<sub>n</sub> são contributos de descritores individuais para a resposta biológica, onde a<sub>0</sub> representa uma constante (Roy et al., 2014). A expressão permite-nos quantificar a informação química disponível, de forma a correlacionar os parâmetros para que se consiga obter uma resposta, descrita através do valor de IC<sub>50</sub> ou do K<sub>i</sub>, dependente da concentração do inibidor, a qual expressa as suas unidades em termos molares (H, MM, uM e nM) (Cer, Mudunuri, Stephens, & Lebeda, 2009). Desta forma obtém-se um conjunto de dados, onde as linhas representam diferentes compostos químicos com esqueletos estruturais semelhantes, enquanto que as colunas apresentam as variáveis independentes de resposta, que contemplam as propriedades químicas, caso da hidrofobicidade, das interações eletrónicas e interações estéreas (Livingstone, 2000).

Para que se apresente uma expressão matemática válida à execução do estudo, é necessário conhecer os algoritmos com que se decide trabalhar, ou, escolher adequadamente os descritores a utilizar. Os estudos QSAR utilizam métodos estatísticos para caracterizar a qualidade, estabilidade e validade dos modelos desenvolvidos.

Contudo, a interpretação destes é de extrema importância e exige um conhecimento avançado sobre matemática, estatística e aspetos bioquímicos das moléculas, para que se consiga perceber se o modelo e a resposta obtida se encontram no mesmo seguimento (Livingstone, 2000).

Os parâmetros quantitativos, denominados descritores, correlacionam as propriedades experimentais, com o intuito de obter um modelo QSAR estatisticamente significativo. Estes caracterizam a informação específica de uma molécula, representado valores numéricos que correlacionam a estrutura química, com as propriedades físicas, a reatividade química ou a atividade biológica (Livingstone, 2000).

Dos diferentes descritores existentes, que apresentam maior relevância nas características físico-químicas são: o efeito hidrofóbico, que nos descreve a atividade do sistema biológico, pois mede o coeficiente de partição do n-octano/água; o efeito eletrónico, que inclui diferentes tipos de força de dispersão, complexos formados por transferências de carga, interações iónicas, efeitos indutivos, ligações covalentes, ligações de hidrogénio, efeito de polarização, propriedades catalíticas ácido-base, todas com o objetivo de facilitar a atividade biológica com o recetor; e o efeito estéreo, que traduz o arranjo espacial das moléculas a três dimensões e também os grupos substituintes, o que facilita a perceção da ligação aos *pockets* da MMP. A equação que se obtém desta correlação analítica deve fornecer a compreensão dos requisitos estruturais essenciais das moléculas, que contribuem para a resposta biológica pretendida (Guha & Willighagen, 2012; Roy et al., 2014).

Os estudos QSAR são divididos por dimensões, em função dos seus parâmetros de avaliação. Na tabela seguinte pode observar-se a divisão dos mesmos até à dimensão 2D, embora se tenha conhecimento, que já foram desenvolvidos estudos com dimensões superiores.

**Tabela 3** –Diferentes dimensões dos estudos QSAR, com base nos seus descritores.

<i>Dimensão dos descritores</i>	<i>Parâmetros</i>
<i>0D - descritores</i>	Propriedades da molécula.
<i>1D - descritores</i>	Grupos farmacóforos.
<i>2D - descritores</i>	Topológicos; Estruturais; Propriedades físico-químicos.

### Descritores

Como já foi descrito anteriormente um modelo QSAR expressa uma equação matemática que correlaciona propriedades físico-químicas de moléculas experimentais, através de parâmetros designados como descritores. São valores numéricos associados com a constituição química, propriedades físicas e a atividade biológica (Guha & Willighagen, 2012).

Para se proceder à seleção dos descritores de um estudo QSAR é necessário seguir determinadas características, sendo as ideias para a construção de um modelo QSAR válido as seguintes: os descritores devem ser relevantes para uma ampla classe de compostos; os descritores devem ser correlacionados com as respostas biológicas; o cálculo do descritor deve ser rápido e independente de propriedades experimentais; os descritores devem reproduzir diferentes valores, mesmo que as estruturas moleculares apresentem diferenças mínimas; os descritores devem facilitar a interpretação química e física dos compostos estudados (Roy et al., 2014).

Quanto aos parâmetros estruturais, são apresentados na tabela abaixo. Estes são importantes, pois são o início da análise das moléculas, já que a estrutura é o ponto de partida para a concepção de novos fármacos.

**Tabela 4** - Parâmetros estruturais, usados no desenvolvimento de modelos QSAR.

<i>Parâmetros que definem a estrutura</i>	<i>Definição</i>
<i>Centros quirais</i>	Conta o número de centros quirais (R ou S) na molécula.
<i>Peso molecular</i>	Peso molecular de um composto químico.
<i>Ligações rotativas</i>	Conta o número de ligações na molécula que tem rotação e são consideradas importantes no mecanismo molecular. Todas as que sejam terminadas com H são descartadas.
<i>Ligações doadoras de H</i>	Conta o número de situações capazes de doar H.
<i>Ligações aceitadoras de H</i>	Conta o número de situações capazes de aceitar H.

Outros descritores relevantes são os que representam as características físico-químicas, como a hidrofobicidade, estereoquímica ou eletroquímica e as estruturas. São importantes porque afetam a atividade dos compostos e a nível químico refletem a

hidrofobicidade e o caráter estéreo dos substituintes que fazem parte das moléculas (Livingstone, 2000).

**Tabela 5** - Definições dos parâmetros que definem a hidrofobicidade, utilizados nos modelos QSAR.

<i>Parâmetros que definem a hidrofobicidade</i>	<i>Definições</i>
<i>Coefficiente de Partição</i>	$\log P = \log K_{o/w} = \log \frac{[C]_{n\text{-octanol}}}{[C]_{\text{água}}}$ <p>Onde <math>C</math> é a concentração do soluto na respetiva fase (água ou <math>n</math>-octanol). Normalmente, compostos que tem <math>\log P</math> mais elevado ou mais baixo do que 1, são considerados hidrofóbicos ou hidrofílicos respetivamente.</p>
<i>Constante de hidrofobicidade</i> ( $\pi$ )	$\pi_X = \log P_X - \log P_H$ <p>Onde <math>P_X</math> e <math>P_H</math> são os valores do coeficiente de partição dos compostos substituintes específicos, respetivamente. Um valor <math>\pi</math> positivo, indica que o substituinte apresenta um caráter lipofílico para a molécula e vice-versa.</p>

**Tabela 6** - Definições dos parâmetros que definem a natureza eletrónica, utilizados nos modelos QSAR.

<i>Parâmetros que definem a natureza eletrónica</i>	<i>Definições</i>
<i>Constante de Hammett</i> ( <i>para os substituintes</i> )	$\sigma_X = \log (K_X / K_H)$ <p>Onde <math>X</math> é um substituinte, <math>K_X</math> e <math>K_H</math> são equilíbrio ou a constante de dissociação com e sem substituinte, respetivamente. Dois parâmetros, <math>\sigma_m</math> e <math>\sigma_p</math> são normalmente usados para representar os respetivos valores dos substituintes <i>meta</i> e <i>para</i> num anel aromático.</p>
<i>Constante da dissociação de Ácidos</i>	<p>A constante de acidez pode ser explicada através da equação:</p> $K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[HA]}$ <p>Onde <math>A^-</math> é a base conjugada do ácido <math>HA</math> e <math>H^+</math> é o protão. A função logarítmica negativa (<math>pK_a</math>) é usada para propor modelos e pode ser definida como:</p> $pK_a = pH - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$ <p>Onde <math>pH</math> o logaritmo negativo da concentração do ião <math>H^+</math>, isto é,</p> $pH = - \log [H^+]$

**Tabela 7** - Parâmetros que definem a natureza estérea, utilizados nos modelos QSAR.

<i>Parâmetros que definem a natureza estérea</i>	<i>Definições</i>
<i>Fator estéreo de Taft (<math>E_s</math>)</i>	$E_s = \log K_X - \log K_0$ <p>Onde <math>K_0</math> e <math>K_X</math> são a constante de hidrolisação de um composto orgânico com e sem substituinte <math>X</math>, respetivamente. O parâmetro <math>E_s</math> dá a medida do efeito estéreo intramolecular dos substituintes.</p>
<i>Parâmetro estéreo de Charton (<math>\nu</math>) e raio de van der Waals</i>	<p>Charton descobriu que a constante estérea de Taft (<math>E_s</math>) é linearmente dependente do raio das ligações van der Waals do substituinte, o que levou ao desenvolvimento do parâmetro estéreo de Charton (<math>\nu_X</math>). Taft também descobriu que <math>E_s</math>, varia paralelamente ao raio do grupo de átomos. O parâmetro estéreo de Charton pode ser definido como, <math>\nu_X = r_X - r_H = r_X - 1.20</math>. Onde <math>r_X</math> e <math>r_H</math> são os raios mínimos das ligações van der Waals do substituinte e do hidrogénio respetivamente.</p>
<i>Refratividade Molar</i>	$MR = \left( \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \times \frac{MW}{\rho}$ <p>Onde, <math>n</math> representa índice de refração, ME o peso molecular e <math>\rho</math> a densidade molecular. A refratividade molar indica o volume ocupado por um átomo ou grupo.</p>

Todos estes descritores, referenciados acima, nas últimas quatro tabelas, podem servir para desenvolver um modelo QSAR. São propriedades dos compostos que podem ser traduzidas numa expressão matemática, de forma a que se possa estudar o comportamento destes ou dos seus substituintes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Estratégia de pesquisa

A metodologia utilizada para a execução deste trabalho consistiu numa exaustiva análise da literatura acerca do tema das metaloproteinases da dentina, dos seus inibidores e dos métodos de desenvolvimento e análise de novos compostos e dos seus substituintes.

A primeira etapa consistiu na recolha de informação da base de dados de proteínas, designada de *MEROPS the peptidase database*, que contempla uma série de informação acerca das peptidases, substratos e inibidores das diferentes MMP. Iniciou-se a construção da tabela com os inibidores, a família a que pertencem, a estrutura, informação acerca da capacidade inibitória e determinadas propriedades físico-químicas. Através do PubChem, outra base de dados de elementos químicos, conseguiu-se complementar a informação em falta, como estruturas e também encontrar informação alusiva a alguns parâmetros físico-químicos. Seguidamente, procedeu-se a uma pesquisa sistemática de artigos científicos no PubMed, SAGE Journals Online, SciELO, *ScienceDirect*, *Wiley Online Library*, NIH – *U.S. Department of Health and Human Services*, de forma a seleccionar o maior número de informação que possa ser incluída neste trabalho. Para complementar esta informação realizou-se uma pesquisa mais específica sobre os compostos nas bases de dados, BindingDB, ChEMBL, ChemSpider, IBM, SCRIpDB, SureCheMBL, ChemAxon, DrugBank e Shanghai Institute of Organic Chemistry.

### Métodos de análise de compostos

Após o levantamento de toda a literatura, num total de 419 artigos científicos, excluíram-se os artigos que não contemplavam o conteúdo pretendido, como inibidores, descrição da sua atividade e propriedades químicas, elegendo-se 72 artigos científicos sobre compostos suscetíveis de serem estudados, possibilitando assim a construção de uma tabela com 696 moléculas, a qual contempla diferentes classes de inibidores e os valores da sua atividade expressos em  $K_i$ ,  $IC_{50}$  ou  $pIC_{50}$ , embora seja apresentada apenas a tabela contendo os compostos que demonstraram atividade para pelo menos uma MMP da dentina.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas seguintes, Tabela 8, Tabela 9 e Tabela 10, apresentam as famílias selecionada para o estudo QSAR, tendo a escolha sido feita com base na especificidade dos inibidores para as MMP da matriz da dentina. São apresentadas, para cada família estrutural de inibidores, os derivados descritos, as estruturas químicas, os valores de atividade determinados e as propriedades físico-químicas e estruturais disponíveis, as quais representam os descritores pretendidos para o estudo QSAR.

No design de fármacos assume-se que uma maior interação do fármaco (inibidor) com o alvo terapêutico (MMP) está associado a uma maior estabilidade do complexo fármaco-recetor e que se reflete numa maior da atividade farmacológica. Todos as propriedades do inibidor que afetem a atividade (descritores da atividade) devem ser consideradas, podendo-se considerar apenas algumas no caso de projetos menos ambiciosos, como o presente, em que apenas se pretende definir uma família com algum potencial para poder ser considerado um composto de partida e não necessariamente um candidato a fármaco. A atividade, pode ser descrita através do valor de  $IC_{50}$  ou do  $K_i$ . O valor de  $IC_{50}$  depende da concentração do inibidor, da enzima alvo e do respetivo substrato. No entanto, o  $K_i$  traduz uma quantidade termodinâmica intrínseca que é independente do substrato, embora dependa da enzima e do inibidor. É possível com o valor de  $IC_{50}$  determinarmos o  $K_i$  e vice-versa. Embora as equações associadas a esta conversão dependam do mecanismo de inibição, que para o tipo de interação que se pretende, realça-se a inibição competitiva, dado ser aquela que nos proporciona uma inibição reversível (Cer et al., 2009). A equação que traduz uma inibição competitiva é:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{\left(\frac{S}{Km} + 1\right)} \begin{cases} \text{se } S = Km, & K_i = IC_{50}/2 \\ \text{se } S \gg Km, & K_i \ll IC_{50}/2 \\ \text{se } S \ll Km, & K_i \cong IC_{50}/2 \end{cases}$$

E para o caso de inibidores mais fortes,

$$K_i = \frac{(IC_{50} - \frac{E}{2})}{\left(\frac{S}{Km} + 1\right)}$$

**Tabela 8 -** Apresentação dos valores das atividades dos MMPi, consoante a respetiva classe estrutural.

Família estrutural	Designação da referência	$K_i^*$ ou $IC_{50}$ (nM) ou $pIC_{50}^{**}$								Estrutura base	Referência
		MMP-2	MMP-3	MMP-8	MMP-9	MMP-10	MMP-14	MMP-20			
Ácido Hidroxâmico (Ariulfonamida)	1a	0,8	50	1,6	6,7	-	9,8	-	-	S	Nuti et al., 2009
	2	35000	>50000	72000	24000	-	25000	-	-	S	Nuti et al., 2009
	3	1200	27000	620	690	-	1300	-	-	S	Nuti et al., 2009
	4	1300	22000	1900	410	-	4000	-	-	S	Nuti et al., 2009
	5	9900	60000	9200	51000	-	120000	-	-	S	Nuti et al., 2009
	6	1300	45000	1000	7700	-	8300	-	-	S	Nuti et al., 2009
	7	100	400	87	930	-	1300	-	-	S	Nuti et al., 2009
	8	230	730	280	98	-	200	-	-	S	Nuti et al., 2009
	9	3,5	21	5,1	0,8	-	33	-	-	S	Nuti et al., 2009
	10	38	23000	370	310	-	940	-	-	S	Nuti et al., 2009
	11	9,7	1600	120	94	-	710	-	-	S	Nuti et al., 2009
	12	73	5600	390	340	-	860	-	-	S	Nuti et al., 2009
	13	7	1400	54	69	-	360	-	-	S	Nuti et al., 2009
Ácido Hidroxâmico (Ariulfonona)	4a	-	1060	-	ND	-	-	-	-	S	Pikul et al., 1998
	4b	-	33	-	3,9	-	-	-	-	S	Pikul et al., 1998
	4c	-	1290	-	ND	-	-	-	-	S	Pikul et al., 1998
	4d	-	41	-	4,7	-	-	-	-	S	Pikul et al., 1998
	4e	-	18,4	-	2,7	-	-	-	-	S	Pikul et al., 1998
Ácido Hidroxâmico (Ariulfonona)	4f	-	19,5	-	15,6	-	-	-	-	S	Pikul et al., 1998
	4g	-	22	-	101	-	-	-	-	S	Pikul et al., 1998
	matlystatin A	560	-	-	300	-	-	-	-	S	Tanzawa et al., 1992
	matlystatin B	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Tanzawa et al., 1992
	matlystatin D	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Tanzawa et al., 1992
	matlystatin E	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Tanzawa et al., 1992
matlystatin F	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Tanzawa et al., 1992	

	<b>R-94138</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Tanzawa et al., 1992
Ácido Hidroxâmico	<b>Ro-31-9790</b>	0,0029	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,013	-	-	-	-	-	Ferry et al., 1998
	<b>ML5</b>	7,4*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19,5*	-	-	-	-	-	Matusiak et al., 2015
Ácido Hidroxâmico	<b>FB-ML5</b>	12,5*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31,5*	-	-	-	-	-	Matusiak et al., 2015
	<b>2FB-ML5</b>	1,49*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,42*	-	-	-	-	-	Matusiak et al., 2015
Ácido Hidroxâmico	<b>MS-560</b>	0,01*	-	14*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0*	-	-	-	-	-	Tochowicz et al., 2007
Ácido Hidroxâmico (Glicil)	<b>NNGH</b>	-	-	132*/6500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Bertini et al., 2004
	<b>4a</b>	8,8	404	47,3	47,3	24,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>4b</b>	5,3	5,3	6,3	6,3	4,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>4c</b>	3,5	0,7	2,8	2,8	3,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>4d</b>	1	1,3	1,5	1,5	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>4e</b>	1	3,1	6,4	6,4	6,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>4f</b>	3,4	180	102	102	52,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>6a</b>	2,4	6,5	3,7	3,7	4,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>6b</b>	0,68	3,3	1,5	1,5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>6c</b>	5,2	3,4	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>9a</b>	1,6	14	3,3	3,3	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>9b</b>	0,5	6,3	1,8	1,8	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>9c</b>	39,2	2,7	6,6	6,6	5,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pikul et al., 2000
	<b>ONO-4817</b>	0,73*	42*	1,1*	1,1*	2,1*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yamada et al., 2000
Ácido Hidroxâmico (não péptido)	<b>ONO--MI1-570</b>	67*	-	-	-	250*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yamada et al., 2000
	<b>ONO-MI1-514</b>	82*	-	-	-	22*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yamada et al., 2000
	<b>UK-370106 - CONHOH</b>	-	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Howe et al., 2011
	<b>UK-370106 - COOH</b>	-	21.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Howe et al., 2011
	<b>UK-370106 - CO13CHO</b>	-	10.700	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Howe et al., 2011
	<b>UK-370106 - CO13CHO</b>	-	18.800	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Howe et al., 2011

Ácido Hidroxâmico (Tripeptido)	TPH	-	13*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pavlovsky et al., 1999
Ácido Hidroxâmico (Sulfona)	RS-130,830	0,22*	9*	-	0,58*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Govinda Rao, 2005
Ácido Hidroxâmico (Sulfonamido)	Prinomastat (AG 3340)	0,05*/0,1	0,27*/3	0,39	0,26*/0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Shalinsky et al., 1999
	MMI-166	0,4	1001	400	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Maekawa et al., 2000
	MMI-270 (CGS 27023A)	20	43	4,4	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Govinda Rao, 2005
Derivados de Ácidos Hidroxâmicos	Solimastat (BB-3644)	80	30	ND	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Govinda Rao, 2005
	Rebimastat - BMS75291	41	157	10	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Govinda Rao, 2005
Derivados de Ácidos Hidroxâmicos	ABT-518	0,78	12	5	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Govinda Rao, 2005
	Marimastat (BB-2516)	6	200	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Govinda Rao, 2005
Ácido Hidroxâmico (Succinil peptidomimético)	Batimastat (BB-94)	4	20	10	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Rosenberg et al., 2007
	Batimastat (BB-94)(1)	2,2*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cuniasse et al., 2005
	Batimastat (BB-94)(2)	570*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cuniasse et al., 2005
	Batimastat (BB-94)(3)	1,5*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cuniasse et al., 2005
	Batimastat (BB-94)(4)	-	-	-	-	1000*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cuniasse et al., 2005
	Batimastat (BB-94)(5)	0,9*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cuniasse et al., 2005
	Trocado (Ro 32-3555)	154*	527*	4*	59*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Govinda Rao, 2005
Ácido Hidroxâmico (Succinil peptidomimético)	Ilomastat (GM 6001)	0,4*	0,5*	3,7*	0,1*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Breschi, 2010
	Galdarina 1	9,398**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Zheng et al., 2008
	Galdarina 2	8,201**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Zheng et al., 2008



Galdina 31	8,699**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008	
Galdina 32	8,161**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 33	9,222**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 34	9,284**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 35	9,268**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 36	9,137**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 37	9,284**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 38	9,036**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 39	8,137**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 40	8,886**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 41	9,149**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 42	7,260**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 43	7,721**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 44	7,699**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 45	7,721**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 46	8,456**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 47	9,229**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 48	8,523**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 49	8,092**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 50	7,886**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 51	7,745**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 52	8,092**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 53	7,602**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 54	8,721**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 55	8,721**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 56	6,745**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 57	6,268**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
Galdina 58	7,301**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008

	<b>Galdina 59</b>	6,260**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 60</b>	6,131**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 61</b>	7,620**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 62</b>	7,745**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 63</b>	6,509**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 64</b>	6,495**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 65</b>	7,036**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 66</b>	7,000**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 67</b>	7,347**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 68</b>	7,102**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 69</b>	5,699**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 70</b>	5,000**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 71</b>	5,000**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 72</b>	5,000**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 73</b>	7,004**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 74</b>	9,194**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 75</b>	8,174**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 76</b>	5,000**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>Galdina 77</b>	7,009**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Zheng et al., 2008
	<b>(R)-3</b>	3	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Pochetti et al., 2006
	<b>(S)-3</b>	450	810	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Pochetti et al., 2006
	<b>(R)-4</b>	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Pochetti et al., 2006
	<b>Tanomastat</b>	11	143	-	-	301	-	-	-	-	-	-	S	Hamada et al., 2000
	<b>14</b>	58000	>100000	74000	74000	>100000	-	77000	-	-	-	-	S	Nuti et al., 2009
	<b>15</b>	710	>10000	1200	1200	420	-	8100	-	-	-	-	S	Nuti et al., 2009
	<b>16</b>	510	74000	290	290	7300	-	5400	-	-	-	-	S	Nuti et al., 2009
	<b>17</b>	47	7500	99	99	730	-	740	-	-	-	-	S	Nuti et al., 2009
	<b>18</b>	2400	>100000	1900	1900	20000	-	18000	-	-	-	-	S	Nuti et al., 2009
Hidroamato														
Ácido Carboxílico														
Ácido Carboxílico (Arisulfonamida)														

	19	190	8000	290	3000	-	2100	-	S	Nuti et al., 2009
	1b	1500	54000	2000	24000	-	10000	-	S	Nuti et al., 2009
Ácido Carboxílico	An-1	9,3*	-	-	201*	-	859*	-	S	Tochowicz et al., 2007
Ácido Carboxílico	MJ-24	730*	-	-	6*	-	-	-	S	Tochowicz et al., 2007
	L-764,004	-	2*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	L-702,842	-	230*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	L-696,418	-	310*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	24	25*	2,0*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	25	150*	4*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	26	17*	10*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	27	280*	27*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	28	39*	37*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	29	3600*	1100*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	30	25*	13*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	31	1600*	1500*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	32	100*	12*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	33	86*	39*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	34	80*	19*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	35	17*	11*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	36	48*	21*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	37	61*	11*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	38	14*	9*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	39	13*	5*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	40	19*	21*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	41	30*	52*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	42	1300*	1200*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	43	16*	15*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
	44	94*	25*	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
Ácido Carboxílico (Alquilo)										
Ácido Carboxílico (Alquilo)										

45	580*	690*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
46	1800*	350*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
47	21*	13*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
48	17*	10*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
49	ND	9400*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
50	32*	31*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
51	38*	24*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
52	34*	49*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
53	50*	40*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
54	22*	11*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
55	16*	1400*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
56	47*	140*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
57	2400*	1500*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
58	21*	15*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
59	6900*	2000*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
60	760*	65*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
61	380*	49*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
62	49*	12*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
63	3000*	200*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
64	800*	120*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
65	1900*	95*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
66	1500*	3800*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
67	810*	1400*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
68	210*	74*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
71	-	68*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
72	-	18*	-	-	-	-	-	-	-	S	Esser et al., 1997
(R)-2	5	54,9*	-	-	-	-	-	-	-	S	Pochetti et al., 2006
(S)-2	4	4,4*	-	-	-	-	-	-	-	S	Pochetti et al., 2006

Ácido Carboxílico  
(Alquilo)

Carboxilatos

Tiirano	SB-3CT	14	15000	-	600	-	-	-	S	Kleifeld et al., 2001
	3	50	8700	-	40	-	590	-	S	Kleifeld et al., 2001
	4	460	540000	-	41000	-	53000	-	S	Kleifeld et al., 2001
Barbituricos	Ro-206-0222	5*			2*		9*		S	Tochowicz et al., 2007
	RO200-1770	2870	30000	1700	2000	-	670	-	S	Brandstetter et al., 2001
	RO204-1924	3940	30000	3190	3160	-	2050	-	S	Brandstetter et al., 2001
	RO206-0027	210	3400	250	410	-	830	-	S	Brandstetter et al., 2001
	I-COL 043	344	3500	260	81	-	1350	-	S	Brandstetter et al., 2001
	RO206-0032	202	2700	48	16	-	210	-	S	Brandstetter et al., 2001
	1	ND	3400	ND	-	-	-	-	S	Campestre et al., 2006
Hidroxiureia	2a	120000	80000	120000	-	-	-	-	S	Campestre et al., 2006
	2b	58000	200000	1200000	-	-	-	-	S	Campestre et al., 2006
	3a	380000	380000	380000	-	-	-	-	S	Campestre et al., 2006
	3b	685000	380000	1000000	-	-	-	-	S	Campestre et al., 2006
Ácido undecadenodifóico	S 30372	29	-	-	50	-	-	-	S	Ferry et al., 1998
	S-3304	-	-	-	9.6	-	-	-	S	Govinda Rao, 2005
D-triptofano	3	-	-	-	-	-	2	-	S	Blagg et al., 2005
	7	-	-	-	-	-	60	-	S	Blagg et al., 2005
	8	-	-	-	-	-	16	-	S	Blagg et al., 2005
	9	-	-	-	-	-	18	-	S	Blagg et al., 2005
	10	-	-	-	-	-	120	-	S	Blagg et al., 2005
	11	-	-	-	-	-	510	-	S	Blagg et al., 2005
	12	-	-	-	-	-	23	-	S	Blagg et al., 2005
	13	-	-	-	-	-	50	-	S	Blagg et al., 2005
	14	-	-	-	-	-	70	-	S	Blagg et al., 2005
	15	-	-	-	-	-	19	-	S	Blagg et al., 2005
	16	-	-	-	-	-	150	-	S	Blagg et al., 2005

17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6700	-	S	Blagg et al., 2005
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	36	-	S	Blagg et al., 2005
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	220	-	S	Blagg et al., 2005
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8700	-	S	Blagg et al., 2005
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	200	-	S	Blagg et al., 2005
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	620	-	S	Blagg et al., 2005
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	650	-	S	Blagg et al., 2005
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9300	-	S	Blagg et al., 2005
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30001	-	S	Blagg et al., 2005
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	S	Blagg et al., 2005
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	340	-	S	Blagg et al., 2005
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.0	-	S	Blagg et al., 2005
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	220	-	S	Blagg et al., 2005
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75	-	S	Blagg et al., 2005
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	150	-	S	Blagg et al., 2005
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	-	S	Blagg et al., 2005
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	-	S	Blagg et al., 2005
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	260	-	S	Blagg et al., 2005
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27	-	S	Blagg et al., 2005
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	S	Blagg et al., 2005
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	420	-	S	Blagg et al., 2005
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1400	-	S	Blagg et al., 2005
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	230	-	S	Blagg et al., 2005
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30000	-	S	Dunten et al., 2001
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2000	-	S	Dunten et al., 2001
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40000	-	S	Dunten et al., 2001
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40000	-	S	Dunten et al., 2001
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33000	-	S	Dunten et al., 2001

	<b>6</b>	-	9000	-	-	-	-	-	-	-	S	Dunten et al., 2001
Arisulfona	<b>9a</b>	1001	-	-	1001	-	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>9b</b>	17,2	308	-	-	7,3	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>14a</b>	468	-	-	-	809	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>14b</b>	16,7	-	-	-	45,8	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>14c</b>	12,6	203	-	-	4	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>14d</b>	84,5	-	-	-	56,1	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>14e</b>	10,6	-	-	-	16,4	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>14f</b>	1001	-	-	-	1001	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>14g</b>	184	-	-	-	522	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>14h</b>	72	-	-	-	13,9	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
Arisulfona	<b>17a</b>	167,5	-	-	-	87,9	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>17b</b>	95,9	-	-	-	31	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>17c</b>	59,4	-	-	-	21,5	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>17d</b>	377	-	-	-	846	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>17e</b>	1001	-	-	-	1001	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>17f</b>	1001	-	-	-	1001	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
	<b>20</b>	36,8	964	-	-	21,1	-	-	-	-	S	Zhang et al., 2008
Ácido Salviaónico	Ácido Salviaónico B	-	-	-	-	79,2	-	-	-	-	N	Jiang et al., 2010
Tiol	<b>3-mercaptopropano-2-benzilpropanoyl-Ala-Gly-NH2</b>	-	-	530	-	-	-	-	-	-	N	Grams et al., 1995
Peptido	<b>Arg-Cys-(D-Bip)-(D-Arg)</b>	-	-	-	1950	-	-	-	-	-	N	Qiu et al., 2012
	<b>Arg-(D-Cys)-Bip-Arg</b>	-	-	-	870	-	-	-	-	-	N	Qiu et al., 2012
	<b>(D-Pyr)-(D-Cys)-Bip-(D-Cys)</b>	-	-	-	2410	-	-	-	-	-	N	Qiu et al., 2012
	<b>(D-Pyr)-(D-Cys)-Bip-Arg</b>	-	-	-	870	-	-	-	-	-	N	Qiu et al., 2012
	<b>(D-Pyr)-(D-Cys)-(D-Pyr)-(D-Cys)-Bip-Arg</b>	-	-	-	3910	-	-	-	-	-	N	Qiu et al., 2012





	14	-	11	-	-	28	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	15	-	3,5	-	-	0,6	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	16	-	13	-	-	1,2	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	17	-	2,5	-	-	2,1	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	18	-	3,2	-	-	2,4	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
Piperazina	19	-	60	-	-	2,3	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	20	-	18	-	-	1,9	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	21	-	8,9	-	-	1,9	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	22	-	5,3	-	-	0,6	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	23	-	18	-	-	1,8	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	24	-	39	-	-	1,7	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	25	-	27	-	-	1,8	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	26	-	60	-	-	4,4	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	27	-	9,5	-	-	3	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	28	-	66	-	-	3	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
Piperazina (Amida)	29	-	184	-	-	32	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	30	-	15	-	-	1,3	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	31	-	7,5	-	-	1,6	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	32	-	147	-	-	ND	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	33	-	173	-	-	17	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	34	-	410	-	-	22	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	35	-	23	-	-	0,9	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	36	-	20	-	-	2,3	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	37	-	28	-	-	2,6	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
Piperazina (Ureia)	38	-	4,3	-	-	6	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	39	-	175	-	-	13	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	40	-	17	-	-	3,8	-	-	-	S	Cheng et al., 2000
	41	-	41	-	-	6,6	-	-	-	S	Cheng et al., 2000

	42	-	38	-	ND	-	-	-	S	Cheng et al., 2000	
	43	-	27	-	3,6	-	-	-	S	Cheng et al., 2000	
	44	-	13	-	4,1	-	-	-	S	Cheng et al., 2000	
	45	-	65	-	ND	-	-	-	S	Cheng et al., 2000	
	46	-	54	-	ND	-	-	-	S	Cheng et al., 2000	
	47	-	124	-	8,3	-	-	-	S	Cheng et al., 2000	
	48	-	114	-	5	-	-	-	S	Cheng et al., 2000	
	49	-	385	-	20	-	-	-	S	Cheng et al., 2000	
	9a	0,1	7	0,4	0,4	-	-	ND	S	Becker et al., 2010	
	9b	0,3	18,1	1,8	2,9	-	-	4,5	S	Becker et al., 2010	
	9c	0,09	18,1	1,2	0,3	-	-	5,6	S	Becker et al., 2010	
	9d	0,35	35	4	5	-	-	47	S	Becker et al., 2010	
	9e	0,2	ND	ND	0,09	-	-	1,71	S	Becker et al., 2010	
	9f	0,09	ND	ND	0,09	-	-	10,5	S	Becker et al., 2010	
	9g	0,1	50	2,4	1,71	-	-	20	S	Becker et al., 2010	
	9h	0,8	55,3	30	42,5	-	-	24	S	Becker et al., 2010	
	9i	0,1	22	9,4	1,2	-	-	64	S	Becker et al., 2010	
	9j	0,09	35	0,9	0,2	-	-	10,6	S	Becker et al., 2010	
	9k	0,09	ND	ND	0,09	-	-	3,63	S	Becker et al., 2010	
	9l	0,4	20	0,4	0,25	-	-	200	S	Becker et al., 2010	
	9m	0,6	ND	ND	ND	-	-	ND	S	Becker et al., 2010	
	6	0,33	13	1,8	1,5	-	-	19,1	S	Becker et al., 2010	
	19a	0,4	0,2	10	1,1	-	-	1,57	S	Becker et al., 2010	
	19b	0,2	20,6	1,9	0,1	-	-	3,1	S	Becker et al., 2010	
	19c	0,1	-	-	0,2	-	-	6,8	S	Becker et al., 2010	
	19d	0,1	32,6	1,6	2	-	-	53,9	S	Becker et al., 2010	
	19e	0,1	-	-	-	-	-	-	S	Becker et al., 2010	
	19f	1	22,5	1,8	2,2	-	-	159	S	Becker et al., 2010	
	<b>α-Tetrahidropiranyl Sulfona</b>										
	<b>α-Piperidina Sulfona</b>										

	19g	0,3	-	-	-	-	-	-	25,8	-	S	Becker et al., 2010
	19h	0,1	-	-	0,21	-	-	-	13,3	-	S	Becker et al., 2010
	19i	3,3	-	-	82,3	-	-	-	3486	-	S	Becker et al., 2010
	19j	0,4	35	2,4	3,8	-	-	-	83	-	S	Becker et al., 2010
	19k	0,2	18,1	1,3	0,3	-	-	-	14,9	-	S	Becker et al., 2010
	19l	0,25	20	1,2	0,27	-	-	-	4	-	S	Becker et al., 2010
	19m	0,5	-	-	0,09	-	-	-	0,73	-	S	Becker et al., 2010
	19n	0,2	21,5	1,5	1,9	-	-	-	49,4	-	S	Becker et al., 2010
	19o	0,1	76,8	1,3	2,3	-	-	-	500	-	S	Becker et al., 2010
	19p	1,7	64,7	2	4	-	-	-	160	-	S	Becker et al., 2010
	19q	0,3	-	-	0,1	-	-	-	7,4	-	S	Becker et al., 2010
	19r	0,3	40	1,4	1,9	-	-	-	58,6	-	S	Becker et al., 2010
	19s	0,2	36,9	1,4	1,5	-	-	-	100,5	-	S	Becker et al., 2010
	19t	0,2	23,9	1,9	0,25	-	-	-	108	-	S	Becker et al., 2010
	19u	0,09	21,5	0,7	0,22	-	-	-	53,3	-	S	Becker et al., 2010
	19v	0,09	28,7	1,7	0,18	-	-	-	13	-	S	Becker et al., 2010
	19w	0,09	22	1,2	0,15	-	-	-	4,6	-	S	Becker et al., 2010
	19x	0,2	115	0,6	0,2	-	-	-	4,1	-	S	Becker et al., 2010
	19y	0,09	42,5	1,5	0,6	-	-	-	3,7	-	S	Becker et al., 2010
	19z	0,09	-	-	0,1	-	-	-	9,5	-	S	Becker et al., 2010
	19aa	0,09	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Becker et al., 2010
	19bb	0,1	18,1	1,6	0,1	-	-	-	9	-	S	Becker et al., 2010
	19cc	0,09	-	-	0,09	-	-	-	1,33	-	S	Becker et al., 2010
	19dd	0,09	-	-	0,18	-	-	-	24,9	-	S	Becker et al., 2010
	19ee	0,09	-	0,4	0,09	-	-	-	7,1	-	S	Becker et al., 2010
	19	6	23	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
	20	ND	8	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
	21	ND	87	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
	<b>α-Piperidina Sulfona</b>											
	Substituinte Amina											

22	1	57	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
23	2	42	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
24	0,8	16	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
25	ND	22	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
26	ND	6	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
27	2	6	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
28	0,8	10	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
29	3	36	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
30	ND	6	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
31	ND	400	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
32	ND	300	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
33	2,2	10	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
34	ND	30	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
35	ND	14	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
36	0,3	7	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
37	0,2	10	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
38	0,7	2	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
39	0,6	12	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
40	ND	8	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
41	ND	10	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
42	ND	8	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
43	ND	10	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
44	6	48	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
45	ND	9	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
46	ND	12	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
47	ND	8	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
48	6	14	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
49	ND	7	-	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998

50	4	5	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
51	ND	12	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
52	ND	7	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
53	ND	23	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
54	7	12	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
55	0,09	8	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
56	ND	4	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
57	ND	5	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
58	ND	13	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
59	ND	8	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
60	ND	13	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
61	ND	8	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
62	ND	33	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
63	ND	9	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
64	ND	2	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
65	ND	3	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
66	1	26	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
67	ND	6	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
68	ND	11	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
69	49	42	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
70	2	3	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
71	0,8	11	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
72	ND	7	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
73	2	46	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
74	0,4	10	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
75	2	30	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 1998
24	ND	15400	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
25	1480	4560	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001

Heterocíclico

Hidantoína

Fenilalquimos

26	175	8900	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
27	12	2280	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
28	16	3520	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
29	158	14600	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
30	6	3400	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
31	31	3700	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
32	8	5100	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
33	8	4270	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
34	26	2428	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
35	1475	4560	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
36	29	5440	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
37	2391	ND	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
38	29	10000	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
39	19	22100	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
40	9	4360	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
41	87	16300	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
42	6	3570	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
43	20	1320	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
44	46	10100	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
45	10001	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
46	10001	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
47	33	777	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
48	20	4090	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
49	17	3330	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
50	8	9000	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
51	6	8620	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
52	567	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
53	2770	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001

54	33	2340	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
55	23	1810	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
56	9	3920	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
57	9	2850	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
58	380	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
59	100	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
60	297	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
61	104	10700	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
62	24	5060	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
63	28	6600	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
64	12	17400	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
65	547	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
66	661	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
67	1160	10001	-	-	-	-	-	-	-	S	Natchus et al., 2001
37	-	258	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
38	-	175	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
39	-	14	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
40	-	5,8	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
41	-	15	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
42	-	737	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
43	-	48	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
21	-	7	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
44	-	4,3	-	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
9	1,4	0,7	0,7	0,9	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
10	14	18,5	ND	ND	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
4a	2,7	0,7	1,4	1,9	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
R-4a	2905	10001	881	1390	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
5a	7,8	6,9	2,4	3,6	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999

Tiazina e Tiazepina

	17	1,4	3,3	1,9	0,5	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	22	2,4	7,2	0,6	3,7	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4b	6,8	10	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	5b	20	90	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4c	24	88	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4d	1	6,6	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	5d	1,2	2,7	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4e	35	46	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4f	ND	25	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4g	11,4	17	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4h	ND	11	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4i	1	1,1	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4j	0,39	6,3	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	4k	1,3	6,5	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	34	1,8	1	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	35	5,2	7,3	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	23	3,5	0,7	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	24	ND	45	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	36a	ND	26	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	36b	ND	33	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	45	4,2	31	-	-	-	-	-	-	S	Almstead et al., 1999
	I	-	14	-	-	-	-	-	-	S	Pavlovsky et al., 1999
	II	-	19	-	-	-	-	-	-	S	Pavlovsky et al., 1999
	III	-	36	-	-	-	-	-	-	S	Pavlovsky et al., 1999
	IV	-	15	-	-	-	-	-	-	S	Pavlovsky et al., 1999
	1a	-	0,51	-	0,06	-	-	-	-	S	Moriyama et al., 2004
	1b	-	0,35	-	0,097	-	-	-	-	S	Moriyama et al., 2004
	2	-	2	-	2	-	-	-	-	S	Moriyama et al., 2004
Tiazina e Tiazepina											
Fenil-piperidina-sulfonamida											
Azasugar											

	3	-	50	-	47	-	-	-	S	Moriyama et al., 2004
	4	-	2,1	-	7,4	-	-	-	S	Moriyama et al., 2004
	5	-	3,3	-	14	-	-	-	S	Moriyama et al., 2004
Não peptídeos (carboxílicos, hidroxamícos)	1	-	-	-	7*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	2	-	-	-	3*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	3	-	-	-	4*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	4	-	-	-	70*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	5	-	-	-	10000*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	6	-	-	-	3*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	7	-	-	-	100*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	8	-	-	-	2*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	9	-	-	-	20*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	10	-	-	-	100*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
Não peptídeos (carboxílicos, hidroxamícos)	11	-	-	-	300*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	12	-	-	-	10*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	13	-	-	-	20*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	14	-	-	-	30*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	15	-	-	-	3000*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	16	-	-	-	8*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	17	-	-	-	70*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	18	-	-	-	3000*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	19	-	-	-	200*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	20	-	-	-	1000*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	21	-	-	-	4*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	22	-	-	-	2*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	23	-	-	-	2*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	24	-	-	-	2*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
	25	-	-	-	3*	-	-	-	S	Matter et al., 1999

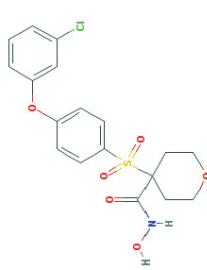
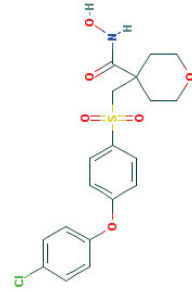
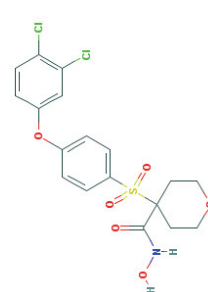
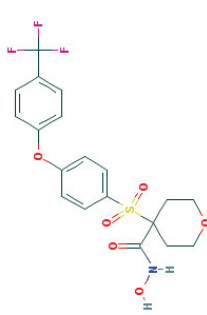


54	-	-	-	-	-	-	-	300*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
55	-	-	-	-	-	-	-	2000*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
56	-	-	-	-	-	-	-	500*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
57	-	-	-	-	-	-	-	2*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
58	-	-	-	-	-	-	-	30*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
59	-	-	-	-	-	-	-	20*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
60	-	-	-	-	-	-	-	7*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
61	-	-	-	-	-	-	-	200*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
62	-	-	-	-	-	-	-	10*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
63	-	-	-	-	-	-	-	1*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
64	-	-	-	-	-	-	-	40*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
65	-	-	-	-	-	-	-	20*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
66	-	-	-	-	-	-	-	3000*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
67	-	-	-	-	-	-	-	3000*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
68	-	-	-	-	-	-	-	20*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
69	-	-	-	-	-	-	-	30*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
70	-	-	-	-	-	-	-	10*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
71	-	-	-	-	-	-	-	20*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
72	-	-	-	-	-	-	-	40*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
73	-	-	-	-	-	-	-	10*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
74	-	-	-	-	-	-	-	80*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
75	-	-	-	-	-	-	-	4000*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
76	-	-	-	-	-	-	-	80*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
77	-	-	-	-	-	-	-	2*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
78	-	-	-	-	-	-	-	60*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
79	-	-	-	-	-	-	-	20*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
80	-	-	-	-	-	-	-	90*	-	-	-	S	Matter et al., 1999
81	-	-	-	-	-	-	-	30*	-	-	-	S	Matter et al., 1999

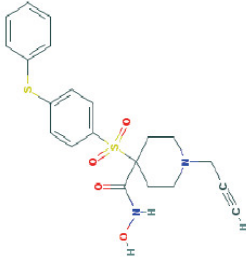
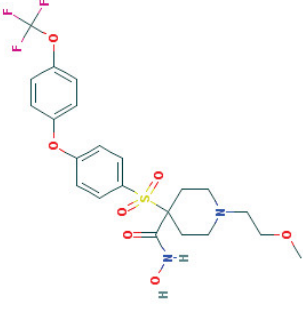
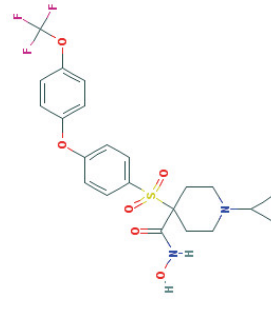
Não peptídeos  
(carboxílicos,  
hidroxâmicos)

	<b>82</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>83</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	90*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>84</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	300*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>85</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	10*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>86</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	40*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>87</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	20*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>88</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	600*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>89</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	2*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>90</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	10*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
	<b>90</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	600*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Matter et al., 1999
Derivado de Imida	<b>CH1104I</b>	211*	-	-	-	-	-	-	-	-	210*	-	-	-	-	-	-	-	-	Chen et al., 2008
Outros	<b>ARP101</b>	10*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Jo et al., 2011
Outros	<b>FN-439</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,75*	8,1*	-	-	-	-	-	-	-	-	Odake et al., 1994
Outros	<b>FN-441</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Odake et al., 1994
Outros	<b>FR217840</b>	10,4	10001	10001	10001	10001	10001	10001	10001	0,359	3,22	-	-	-	-	-	-	-	-	Ishikawa et al., 2005
Outros	<b>KB-R7785</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,9	-	-	-	-	-	-	-	-	Ishikawa et al., 2005
Outros	<b>FR255031</b>	91,1	10	10	10	10	10	10	10	3,12	3,94	-	-	-	-	-	-	-	-	Ishikawa et al., 2005
Outros	<b>GW3333</b>	14	20	20	20	20	20	20	20	4	16	-	-	-	-	-	-	-	-	Conway et al., 2001
Outros	<b>INCB003619</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	3559,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Liu et al., 2006
Outros	<b>INCB3619</b>	35	3500	3500	3500	3500	3500	3500	3500	-	304	-	-	-	-	-	-	-	-	Fridman et al., 2007
Outros	<b>BB-1101</b>	4*	30*	30*	30*	30*	30*	30*	30*	3*	3*	-	-	-	-	-	-	-	-	Rosenberg et al., 2007
Outros	<b>BB-2983</b>	10*	20*	20*	20*	20*	20*	20*	20*	10*	30*	-	-	-	-	-	-	-	-	Rosenberg et al., 2007
Outros	<b>BPHA</b>	0,5	20	20	20	20	20	20	20	2	7	-	-	-	-	-	-	-	-	Maekawa et al., 2000
Outros	<b>ND-322</b>	24*	-	-	-	-	-	-	-	-	870*	-	-	-	-	-	-	-	-	Song et al., 2013
Outros	<b>ND-364</b>	110*	-	-	-	-	-	-	-	-	130*	-	-	-	-	-	-	-	-	Song et al., 2013
Outros	<b>ND-478</b>	520*	-	-	-	-	-	-	-	-	19600*	-	-	-	-	-	-	-	-	Song et al., 2013
Outros	<b>Ro 28-2653</b>	65*/10	3500*/1200	3500*/1200	3500*/1200	3500*/1200	3500*/1200	3500*/1200	3500*/1200	ND/12	260*/12	-	-	-	-	-	-	-	-	Lein et al., 2002
Outros	<b>RXP03</b>	55*	-	-	-	-	-	-	-	4*	41*	45*	-	-	-	-	-	-	-	Dive et al., 2005
Outros	<b>IW449</b>	12*	1438*	1438*	1438*	1438*	1438*	1438*	1438*	-	894*	-	-	-	-	-	-	-	-	Rosenberg et al., 2007

**Tabela 9** - Apresentação das classes estruturais selecionadas para um estudo QSAR, com a respetiva descritores, para famílias de  $\alpha$ -Tetrahidropiranyl Sulfona.

Classe estrutural	Designação da referência	Estrutura base	MIR	pKa	logP	MW (g/mol)	$\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )	Ligações Rotativas	Doador H	Aceitador H
$\alpha$ -Tetrahidropiranyl Sulfona	9b (CHEMBL1801045)		99,6	9,27	2,23	411,853	1,4	5	2	6
	9c (CTS-1027)		104,02	8,82	2,25	425,88	-	6	2	6
	9d (CHEMBL1801047)		104,5	9,27	2,83	446,295	1,5	5	2	6
	9i (SC 77774)		99,8	8,66	2,51	445,4	1,4	5	2	9

**Tabela 10** - Apresentação das classes estruturais selecionadas para um estudo QSAR, com os respectivos descritores, para famílias de  $\alpha$ -Piperidina Sulfona.

Classe estrutural	Designação da referência	Estrutura base	MR	pKa	logP	MW (g/mol)	$\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )	Ligações Rotativas	Doador H	Aceitador H
$\alpha$ -Piperidina Sulfona	6 (SC-276)		114,9	9,36	2,6	430,537	1,4	6	6	6
	19v (SD-2590)		119,3	9,36	3,07	518,504	1,4	9	2	11
	19w (SC77964)		115,5	9,36	3,7	500,489	1,5	7	2	10

Para se desenvolver novas moléculas de um inibidor de MMP é necessário perceber concretamente aquilo que se pretende. É preciso compreender o mecanismo de ação e a forma de interação, para que se consiga prever o comportamento do MMPi. Contudo, tem de se ser claro e conciso naquilo que se pretende. Se o objetivo passar pelo desenvolvimento de um composto com um espectro de ação mais abrangente, que consiga inibir várias MMP ao mesmo tempo, este não poderá ser demasiado específico, pois perderia o seu largo espectro de ação. Não poderá demonstrar uma elevada potência de inibição para uma determinada MMP, porque acabaria por destacar a afinidade por uma só enzima. Para o objetivo de uma ação de largo espectro, exclui-se a elevada afinidade e potencia do inibidor para com uma MMP específica. Contudo, através de análises estruturais específicas consegue-se visualizar que existem muitas semelhanças na constituição organizacional das metaloproteinases da matriz da dentina, apresentado diferenças entre elas apenas em determinados resíduos de aminoácidos ou na profundidade e abertura de alguns *pockets*. Com esta perceção, é possível selecionar os MMPi que no seu âmbito geral apresentem afinidade para o conjunto de MMP da dentina, sem que numa primeira abordagem exista a necessidade de estabelecer pontos de ligação às particularidades que caracterizam a especificidade entre estas MMP. Esta abordagem remete para a elaboração de uma MMPi de largo espectro, em que na primeira fase do desenvolvimento não demonstraria uma potência elevada. Porém, a potencia remete-nos para outro aspeto importante a considerar, relacionada com uma destabilização excessiva de um processo natural, finamente controlado bioquimicamente e que cuja modulação externa por fármacos por si só será logicamente tão mais drástica quanto mais dificuldade o organismo tiver em repor o seu equilíbrio. Isto porque quanto mais difícil para o organismo reverter o processo inibitório, maior o número de vias metabólicas acionadas pelo mesmo com vista a reposição do equilíbrio inicial. Os inibidores irreversíveis, que se ligam aos alvos terapêuticos por ligações fortes, geralmente covalentes, são um exemplo de inibidores que embora muito potentes, os efeitos secundários moleculares normalmente associados ao seu uso, com expressão fenotípica pelo menos numa primeira fase silenciosa, são inibidores a evitar à partida. A maioria dos MMPi ligam-se ao ião zinco no centro ativo das MMP (ZBG) e as ligações de coordenação a metais são de natureza covalente. Porém, não nos podemos esquecer que o presente trabalho se enquadra num contexto para uso tópico, em restaurações dentárias que envolvam lesões por cáries na dentina, dentina esta com uma baixa percentagem de matéria orgânica. Assim, embora normalmente os inibidores que se ligam covalentemente aos recetores

terapêuticos sejam excluídos dos estudos de design de fármacos, principalmente quando se desconhece a capacidade de reversão do processo pelo organismo, no presente trabalho optou-se por manter os inibidores que se ligam ao zinco.

A interação fármaco-recetor ocorre no domínio catalítico, através de inibidores que interagem com os *pockets* e com o  $Zn^{2+}$ , os quais estabelecem ligações de van der Waals no primeiro caso e interações complexas no segundo. O mecanismo catalítico envolve um ataque nucleófilo por um inibidor, que se encontra polarizado, formando o complexo Michaelis com o zinco catalítico (Bertini et al., 2006). Posto isto, consideramos todos os compostos encontrados como suscetíveis de serem analisados, com o intuito de se encontrar uma estrutura base que permita desenvolver um MMPi com afinidade para as MMP com ação na dentina.

As 696 moléculas encontradas foram agrupadas por famílias estruturais e por valores de atividade. Embora alguns inibidores não apresentem atividade para todas as MMP mencionadas, tal significa apenas que os mesmos não foram estimados. Pode-se observar na tabela 8, as moléculas com respetiva atividade, embora se tenha optado por colocar apenas os inibidores que contemplam a atividade para pelo menos uma MMP da dentina, excluindo assim os outros.

Após a seleção da classe de inibidores com o maior espectro de ação, optou-se por selecionar os compostos que têm elevada potência. Perante mecanismos de inibição competitiva, em que a ação é reversível, a probabilidade de se desenvolverem reações adversas diminui. Com esta abordagem, o fármaco pretendido teria de ter características específicas, como ação de inibição sobre todas as MMP da dentina e ao mesmo tempo elevada potência de inibição.

Os compostos apresentados nas tabelas 9 e 10 foram selecionados tendo em consideração a linha de pensamento que se explicou acima, para o desenvolvimento de compostos com afinidade para o grupo de MMP da dentina, a MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-14 e MMP-20. Embora alguns inibidores apresentem atividade para MMP de outras famílias, não relevando uma atividade potente ou até mesmo uma inatividade.

Quanto aos descritores apresentados nas tabelas anteriores, foram aqueles que dos parâmetros estruturais, hidrofóbicos, físico-químicos e estéreos descritos na literatura, são essências para a criação da expressão matemática para a aplicação numa metodologia QSAR. Contudo não foi possível fazer o levantamento de toda a informação sobre todos os descritores dos compostos, devido a algumas das informações não terem acesso livre nas bases de dados selecionadas como referência. A informação relativa aos descritores mais específicos, como a constante de hidrofobicidade ( $\pi$ ), que descreve o carácter lipofílico dos grupos substituintes, a constante de Hammett ( $\sigma$ ), que está relacionada com a capacidade de ionização dos grupos substituintes, o fator estéreo de Taft's ( $E_s$ ), relacionado com o tamanho e volume dos grupos substituintes e o parâmetro estéreo de Charton's ( $\nu$ ) que representa uma constante linearmente dependente do raio das ligações van der Waals, têm de ser selecionados individualmente consoante a o grupo substituinte que se pretenda utilizar. Este último parâmetro não foi considerado.

Como mencionado anteriormente, o mecanismo de inibição depende de dois fatores preponderantes, a ligação ao ião  $Zn^{2+}$  catalítico através de uma inibição competitiva e a interação com as regiões catalíticas da enzima, de S1 a Sn ou de S1' a Sn', através de ligações van der Waals, ligações fracas, não covalentes, com os resíduos de aminoácidos dos *pockets* que determinam a seletividade (Pirard, 2007). O grupo hidroxamato, revelou ser o ZBG mais potente, comparativamente aos outros que foram desenvolvidos ao longo dos anos (Rowsell et al., 2002). Para o composto selecionado juntaram à base hidroxamato, uma sulfona, o que remete a molécula para uma base de hidroxisulfonamida aumentando o volume estéreo. Esta alteração favoreceu a abertura do *pocket* S1' na MMP-3 e aumentou a seletividade para a MMP-2, MMP-9 e MMP-14 (Matziari, Dellis, Dive, Yiotakis, & Samios, 2010).

Quando se sujeitam as MMP a estudos analíticos tridimensionais consegue-se perceber qual a constituição, o domínio catalítico, os tipos de ligações e até os mecanismos catalíticos associados a estas. As regiões catalíticas revelaram extrema importância para a atividade do inibidor, pois são estas que revelam a especificidade da MMP, dos quais o *pocket* S1' é aquele que apresenta maior influência, pelas características hidrofóbicas e profundidade (Vargova et al., 2012). Com isto percebe-se que os inibidores que atuam no lado direito do zinco catalítico apresentam maior influência, demonstrando uma elevada potência de inibição (Supuran & Winum, 2009).

Como referenciado na introdução, as MMP-2, MMP-3, MMP-8 e MMP-9 apresentam semelhanças na profundidade do *pocket* S1', possibilitando a introdução de grupos substituintes P1' hidrofóbicos e de cadeias longas. Sendo esta particularidade comum, existe a possibilidade de desenvolver um inibidor específico destas MMP. Com tudo, uma característica idêntica nas MMP-3 e MMP-14 são os longos e abertos *pockets* S1', que também ajudam na seletividade do inibidor (Supuran & Winum, 2009). O *pocket* S2' tem afinidade para moléculas hidrofóbicas também, embora este se apresente como pequeno e pouco profundo, sendo esta uma característica de afinidade para as MMP-2, MMP-3, MMP-8 e MMP-9. O S3' apresenta uma ação modesta e de pouca relevância para a especificidade e potência do inibidor (Dormn et al., 2010).

O desenvolvimento e a junção de grupos substituintes às estruturas de inibição do íon metálico, veio permitir conjugar a ação dos dois mecanismos, aumentando a especificidade e potência da interação com o domínio catalítico que interage com o colagénio (Jacobsen et al., 2010). Os grupos substituintes que demonstraram maior atividade neste processo foram os anéis aromáticos, os quais podemos observar na estrutura base, assim como em alguns grupos substituintes das moléculas escolhidas (Jacobsen et al., 2010).

De um modo geral o grupo P1 surge com o intuito de aumentar a disponibilidade oral do composto. Quanto ao grupo P1' remete para a seletividade e atividade do inibidor, os grupos P2' e P3' podem variar, no entanto não podem ser muito volumosos devido ao fato de estes diminuírem a disponibilidade oral (Supuran & Winum, 2009).

Após o levantamento de informação dos descritores associados, relativo às famílias  $\alpha$ -Tetrahidropiranyl Sulfona e  $\alpha$ -Piperidina Sulfona, com as características acima descritas, pode-se num futuro, proceder a execução de um estudo QSAR. Este tem como objetivo aprimorar o *design* do inibidor ideal para inibir a ação das MMP nas restaurações dentárias aumentando dessa forma a durabilidade das mesmas.

## CONCLUSÃO

A importância deste trabalho surge no âmbito da Medicina Dentária e na sua aplicação direta, embora a maioria dos estudos relacionados com as MMP tenham sido desenvolvidos para aplicação noutras áreas clínicas. Sendo as metaloproteinases da matriz da dentina enzimas ligada à regulação de processos biológicos e à ação colagenolítica da dentina aquando da presença de caries dentárias, surge a necessidade de desenvolver mecanismos ou moléculas de inibição das MMP, para que se consiga parar a degradação do colagénio que está ligado à durabilidade das restaurações dentárias.

Para se estabelecer a melhor abordagem ao tema, foi necessário adquirir conhecimentos sobre quais as metaloproteinases da matriz da dentina (MMP-2, -3, -8, -9, -10, -14 e -20), as suas características estruturais, os seus mecanismos de ação, os seus inibidores e os seus mecanismos de inibição. Após isto foi possível estabelecer teoricamente a molécula ideal, ou aquela que melhor responde ao problema da inibição.

Tendo em consideração a constituição das MMP, percebe-se que o inibidor tem de estabelecer uma inibição competitiva, interagindo com o domínio catalítico da enzima, o qual contempla o ião  $Zi^{2+}$  catalítico e as suas regiões adjacentes, os *pockets* S1' a Sn' e S1 a Sn. Após a interpretação destas características conclui-se que a nova molécula deve apresentar características específicas, como um esqueleto que se ligue fortemente ao zinco. Os grupos substituintes P1' tendem a ser volumosos e hidrófobos, grupos P2' também hidrófobos e o grupo P3' acaba por ter uma influência mínima na interação com a MMP. O grupo P1 representa a disponibilidade oral do composto.

Para o desenvolvimento de novos compostos, surgem técnicas capazes de ajustar e modificar a química dos compostos proporcionando uma enorme oportunidade para o design de novas moléculas. O paradigma do processamento destes novos produtos envolve passos dispendiosos e demorados, que podem ser facilmente racionalizados usando uma metodologia de relações quantitativas estrutura-atividade QSAR. Esta metodologia permite, através da otimização de propriedades químicas, aumentar a seletividade e potência das moléculas. Além disso, a metodologia QSAR tem aplicações profundas no tipo de avaliação de risco, considerando a contratação mínima de questões éticas.

Os conceitos do modelo QSAR, correlacionam parâmetros físico-químicos traduzidos numa expressão matemática, a qual dá a possibilidade de prever comportamentos moleculares. Os parâmetros físico-químicos das moléculas são

designados de descritores, os quais se apresentam como elementos cruciais ao desenvolvimento da expressão. O diagnóstico final das características químicas, é exposto na forma de números quantitativos, que permitem a identificação do mecanismo de ação de uma determinada interação fármaco-recetor. Embora não estivesse no âmbito deste trabalho, o desenvolvimento da expressão matemática para a continuação do estudo QSAR.

Este trabalho incidiu unicamente na seleção das famílias de compostos com uma atividade inibitória potente, nomeadamente as famílias  $\alpha$ -Tetrahidropiranyl Sulfona e  $\alpha$ -Piperidina Sulfona. Apresentando estas seletividade para as diferentes metaloproteinases da matriz da dentina descritas anteriormente. Adquirindo-se assim informação teórica sobre os compostos com ação inibitória sobre as MMP, de forma a que através de uma futura aplicação QSAR se consiga prever o design do fármaco ideal. Ou seja, numa perspetiva futura, há a possibilidade de dar continuidade ao trabalho desenvolvido realizando a aplicação prática de um estudo QSAR.

## BIBLIOGRAFIA

- Abstracts of Papers. (1998). *Journal of Dental Research*, 77(1), 105–302.  
DOI:10.1177/0022034598077S101
- Almahdy, A., Koller, G., Sauro, S., Bartsch, J. W., Sherriff, M., Watson, T. F., & Banerjee, A. (2012). Effects of MMP Inhibitors Incorporated within Dental Adhesives. *Journal of Dental Research*, 91(6), 605–611.  
DOI:10.1177/0022034512446339
- Almstead, N. G., Bradley, R. S., Pikul, S., De, B., Natchus, M. G., Taiwo, Y. O., ... Mieling, G. E. (1999). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Potent Thiazine- and Thiazepine-Based Matrix Metalloproteinase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(22), 4547–4562. DOI:10.1021/jm990330y
- Amălinei, C., Căruntu, I. D., & Bălan, R. A. (2007). Biology of metalloproteinases. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 48(4), 323–334.
- Becker, D. P., Barta, T. E., Bedell, L. J., Boehm, T. L., Bond, B. R., Carroll, J., ... Yao, J. (2010). Orally Active MMP-1 Sparing  $\alpha$ -Tetrahydropyranyl and  $\alpha$ -Piperidinyl Sulfone Matrix Metalloproteinase (MMP) Inhibitors with Efficacy in Cancer, Arthritis, and Cardiovascular Disease. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(18), 6653–6680. DOI:10.1021/jm100669j
- Bertassoni, L. E., Habelitz, S., Kinney, J. H., Marshall, S. J., & Marshall, Jr., G. W. (2009). Biomechanical Perspective on the Remineralization of Dentin. *Caries Research*, 43(1), 70–77. DOI:10.1159/000201593
- Bertini, I., Calderone, V., Fragai, M., Luchinat, C., Maletta, M., & Kwon, J. Y. (2006). Snapshots of the Reaction Mechanism of Matrix Metalloproteinases. *Angewandte Chemie - International Edition*, 45(47), 7952–7955. DOI:10.1002/anie.200603100
- Blagg, J. A., Noe, M. C., Wolf-Gouveia, L. A., Reiter, L. A., Laird, E. R., Chang, S.-P. P., ... Yocum, S. A. (2005). Potent pyrimidinetrione-based inhibitors of MMP-13 with enhanced selectivity over MMP-14. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15(7), 1807–1810. DOI:10.1016/j.bmcl.2005.02.038
- Bode, W., & Maskos, K. (2003). Structural Basis of the Matrix Metalloproteinases and Their Physiological Inhibitors, the Tissue Inhibitors of Metalloproteinases. *Journal of Biological Chemistry*, 384, 863–872. DOI:10.1385/MB:25:3:241
- Botos, I., Scapozza, L., Zhang, D., Liotrat, L. A., & Meyer, E. F. (1996). Batimastat, a potent matrix metalloproteinase inhibitor, exhibits an unexpected mode of binding.

*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 2749–2754.

- Bourboulia, D., & Stetler-Stevenson, W. G. (2010). Matrix MetalloProteinases (MMPs) and Tissue Inhibitors of MetalloProteinases (TIMPs): positive and negative regulators intumor cell adhesion. *Seminars in Cancer Biology*, 20(3), 161–168. DOI:10.1016/j.semcancer.2010.05.002.Matrix
- Brandstetter, H., Grams, F., Glitz, D., Lang, A., Huber, R., Bode, W., ... Engh, R. A. (2001). The 1.8-Å Crystal Structure of a Matrix Metalloproteinase 8-Barbiturate Inhibitor Complex Reveals a Previously Unobserved Mechanism for Collagenase Substrate Recognition. *Journal of Biological Chemistry*, 276(20), 17405–17412. DOI:10.1074/jbc.M007475200
- Breschi, L., Martin, P., Mazzoni, A., Nato, F., Tjäderhane, L., Visintini, E., ... Pashley, D. H. (2010). Use of a specific MMP inhitor (Galardin) for preservation of hybrid layer. *Dental Materials*, 26(6), 1–16. DOI:10.1016/j.dental.2010.02.007.Use
- Brew, K., & Nagase, H. (2010). The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1803(1), 55–71. DOI:10.1016/j.bbamcr.2010.01.003
- Campestre, C., Agamennone, M., Tortorella, P., Preziuso, S., Biasone, A., Gavuzzo, E., ... Gallina, C. (2006). N-Hydroxyurea as zinc binding group in matrix metalloproteinase inhibition: Mode of binding in a complex with MMP-8. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 16(1), 20–24. DOI:10.1016/j.bmcl.2005.09.057
- Cao, C. Y., Mei, M. L., Li, Q. L., Lo, E. C. M., & Chu, C. H. (2015). Methods for Biomimetic Remineralization of Human Dentine: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 4615–4627. DOI:10.3390/ijms16034615
- Cao, Y., Liu, W., Ning, T., Mei, M. L., Li, Q. L., Lo, E. C. M., & Chu, C. H. (2014). A novel oligopeptide simulating dentine matrix protein 1 for biomimetic mineralization of dentine. *Clinical Oral Investigations*, 18(3), 873–881. DOI:10.1007/s00784-013-1035-y
- Cao, Y., Mei, M. L., Li, Q. L., Lo, E. C. M., & Chu, C. H. (2014). Agarose Hydrogel Biomimetic Mineralization Model for the Regeneration of Enamel Prismlike Tissue. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 6(1), 410–420. DOI:10.1021/am4044823
- Cer, R. Z., Mudunuri, U., Stephens, R., & Lebeda, F. J. (2009). IC50-to-Ki: a web-based

- tool for converting IC<sub>50</sub> to K<sub>i</sub> values for inhibitors of enzyme activity and ligand binding. *Nucleic Acids Research*, 37(SUPPL. 2), 441–445. DOI:10.1093/nar/gkp253
- Chaussain-Miller, C., Fioretti, F., Goldberg, M., & Menashi, S. (2006). The Role of Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Human Caries. *Journal of Dental Research*, 85(1), 22–33. DOI:10.1177/154405910608500104
- Chen, E. I., Kridel, S. J., Howard, E. W., Li, W., Godzik, A., & Smith, J. W. (2002). A Unique Substrate Recognition Profile for Matrix Metalloproteinase-2. *Journal of Biological Chemistry*, 277(6), 4485–4491. DOI:10.1074/jbc.M109469200
- Chen, J. M., Nelson, F. C., Levin, J. I., Mobilio, D., Moy, F. J., Nilakantan, R., ... Powers, R. (2000). Structure-Based Design of a Novel, Potent, and Selective Inhibitor for MMP-13 Utilizing NMR Spectroscopy and Computer-Aided Molecular Design. *Journal of the American Chemical Society*, 122(40), 9648–9654. DOI:10.1021/ja001547g
- Chen, M.-H., Cui, S.-X., Cheng, Y.-N., Sun, L.-R., Li, Q.-B., Xu, W.-F., ... Qu, X.-J. (2008). Galloyl cyclic-imide derivative CH1104I inhibits tumor invasion through suppressing matrix metalloproteinase activity. *Anti-Cancer Drugs*, 19(10), 957–965. DOI:10.1097/CAD.0b013e328313e15b
- Chen, Y., Zhang, Y., Ramachandran, A., & George, A. (2015). DSPP Is Essential for Normal Development of the Dental-Craniofacial Complex. *Journal of Dental Research*, 95(3), 1–9. DOI:10.1177/0022034515610768
- Cheng, M., De, B., Almstead, N. G., Pikul, S., Dowty, M. E., Dietsch, C. R., ... Mandel, M. (1999). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Matrix Metalloproteinase Inhibitors Derived from a Modified Proline Scaffold. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(26), 5426–5436. DOI:10.1021/jm9904699
- Cheng, M., De, B., Pikul, S., Almstead, N. G., Natchus, M. G., Anastasio, M. V., ... Wang-Weigand, S. (2000). Design and Synthesis of Piperazine-Based Matrix Metalloproteinase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43, 369–380.
- Conway, J. G., Andrews, R. C., Beaudet, B., Bickett, D. M., Boncek, V., Brodie, T. A., ... Becherer, J. D. (2001). Inhibition of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) Production and Arthritis in the Rat by GW3333, a Dual Inhibitor of TNF- $\alpha$ -Converting Enzyme and Matrix Metalloproteinases. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 298(3), 900–908. Disponível em <http://jpet.aspetjournals.org/content/298/3/900.abstract>
- Cuniasse, P., Devel, L., Makaritis, A., Beau, F., Georgiadis, D., Matziari, M., ... Dive,

- V. (2005). Future challenges facing the development of specific active-site-directed synthetic inhibitors of MMPs. *Biochimie*, 87(3–4), 393–402. DOI:10.1016/j.biochi.2004.09.025
- De Munck, J., Van den Steen, P. E., Mine, A., Van Landuyt, K. L., Poitevin, A., Opdenakker, G., & Van Meerbeek, B. (2009). Inhibition of Enzymatic Degradation of Adhesive-Dentin Interfaces. *Journal of Dental Research*, 88(12), 1101–1106. DOI:10.1177/0022034509346952
- Delgado, C. C., Scheffel, D. L. S., Scheffel, R. H., Pashley, D., & Hebling, J. (2015). Redução ad actividade proteolítica da dentina após curtos períodos de aplicação de proantocianidina. *Revista de Odontologia Da UNESP*, 44(6), 355–359. DOI:10.1590/1807-2577.02115
- Dive, V., Andarawewa, K. L., Boulay, A., Matziari, M., Beau, F., Guerin, E., ... Rio, M. C. (2005). Dosing and scheduling influence the antitumor efficacy of a phosphinic peptide inhibitor of matrix metalloproteinases. *International Journal of Cancer*, 113(5), 775–781. DOI:10.1002/ijc.20459
- Dormn, G., Cseh, S., Hajd, I., Barna, L., Knya, D., Kupai, K., ... Ferdinandy, P. (2010). Matrix Metalloproteinase Inhibitors: A Critical Appraisal of Design Principles and Proposed Therapeutic Utility. *Drugs*, 70(8), 949–964. DOI:10.2165/11318390-000000000-00000
- Durrant, J. D., de Oliveira, C. A. F., & McCammon, J. A. (2011). Pyrone-Based Inhibitors of Metalloproteinase Types 2 and 3 May Work as Conformation-Selective Inhibitors. *Chemical Biology and Drug Design*, 78(2), 191–198. DOI:10.1111/j.1747-0285.2011.01148.x
- Egeblad, M., & Werb, Z. (2002). New Functions for the Matrix Metalloproteinases in Cancer Progression. *Nature Reviews: Cancer*, 2, 161–174. DOI:10.1038/nrc745
- Engel, J., & Chiquet, M. (2011). An Overview of Extracellular Matrix Structure and Function. In Springer (Ed.), *The Extracellular Matrix: an Overview* (p. 426). DOI:10.1007/978-3-642-16555-9
- Esser, C. K., Bugianesi, R. L., Caldwell, C. G., Chapman, K. T., Durette, P. L., Girotra, N. N., ... Hagmann, W. K. (1997). Inhibition of Stromelysin-1 (MMP-3) by P1'-Biphenylethyl Carboxyalkyl Dipeptides. *Journal of Medicinal Chemistry*, 40(6), 1026–1040. DOI:10.1021/jm960465t
- Fan, Y., Sun, Z., & Moradian-Oldak, J. (2012). Controlled remineralization of enamel in the presence of amelogenin and fluoride. *Biomaterials*, 100(2), 130–134.

- DOI:10.1016/j.pestbp.2011.02.012.Investigations
- Featherstone, J. D. B. (2008). Dental caries: a dynamic disease process. *Australian Dental Journal*, 53(3), 286–291. DOI:10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x
- Finzel, B. C., Baldwin, E. T., Bryant, G. L., Hess, G. F., Wilks, J. W., Trepid, C. M., ... Mitchell, M. A. (1998). Structural characterizations of nonpeptidic thiaziazole inhibitors of matrix metalloproteinases reveal the basis for stromelysin selectivity. *Protein Science*, 7, 2118–2126. DOI:10.1002/pro.5560071008
- Fridman, J. S., Caulder, E., Hansbury, M., Liu, X., Yang, G., Wang, Q., ... Vaddi, K. (2007). Selective Inhibition of ADAM Metalloproteases as a Novel Approach for Modulating ErbB Pathways in Cancer. *Clinical Cancer Research*, 13(6), 1892–1902. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-06-2116
- Gall, A.-L., Ruff, M., Kannan, R., Cuniase, P., Yiotakis, A., Dive, V., ... Moras, D. (2001). Crystal Structure of the Stromelysin-3 (MMP-11) Catalytic Domain Complexed With a Phosphinic Inhibitor Mimicking the Transition-state. *Journal of Molecular Biology*, 307, 577–586. DOI:10.1006/jmbi.2001.4493
- Ge, J., Guo, S., Fu, Y., Zhou, P., Zhang, P., Du, Y., ... Jiang, H. (2015). Dental Follicle Cells Participate in Tooth Eruption via the RUNX2-MiR-31-SATB2 Loop. *Journal of Dental Research*, 94(7), 1–9. DOI:10.1177/0022034515578908
- George, A., & Veis, A. (2009). Phosphorylated Proteins and Control Over Apatite Nucleation, Crystal Growth and Inhibition. *Chemical Reviews*, 108(11), 4670–4693. DOI:10.1021/cr0782729.Phosphorylated
- Grams, F., Reinemer, P., Powers, J. C., Kleine, T., Pieper, M., Tschesche, H., ... Bode, W. (1995). X-ray structures of human neutrophil collagenase complexed with peptide hydroxamate and peptide thiol inhibitors: Implications for substrate binding and rational drug design. *European Journal of Biochemistry*, 228(3), 830–841. DOI:10.1111/j.1432-1033.1995.tb20329.x
- Guha, R., & Willighagen, E. (2012). A Survey of Quantitative Descriptions of Molecular Structure. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 12(18), 1946–1956. DOI:10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.Secreted
- Hamada, T., Arima, N., Shindo, M., Sugama, K., & Sasaguri, Y. (2000). Suppression of adjuvant arthritis of rats by a novel matrix metalloproteinase-inhibitor. *British Journal of Pharmacology*, 131(8), 1513–1520. DOI:10.1038/sj.bjp.0703751
- Hashimoto, H., Takeuchi, T., Komatsu, K., Miyazaki, K., Sato, M., & Higashi, S. (2011). Structural Basis for Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2)-Selective Inhibitory

- Action of Beta-Amyloid Precursor Protein-derived Inhibitor. *Journal of Biological Chemistry*, 286(38), 33236–33243. DOI:10.1074/jbc.M111.264176
- Hashimoto, M., De Munck, J., Ito, S., Sano, H., Kaga, M., Oguchi, H., ... Pashley, D. H. (2004). In vitro effect of nanoleakage expression on resin-dentin bond strengths analyzed by microtensile bond test, SEM/EDX and TEM. *Biomaterials*, 25, 5565–5574. DOI:10.1016/j.biomaterials.2004.01.009
- Hirata, R. (2001). Reconstrução de Dentes Anteriores com Resinas Compostas - Uma Sequência de Escolha e Aplicação de Resinas. *Jornal Brasileiro de Clínica E Estética Em Odontologia*, 5(25), 15–25.
- Hu, J., Van den Steen, P. E., Sang, Q.-X. A. S., & Opdenakker, G. (2007). Matrix metalloproteinase inhibitors as therapy for inflammatory and vascular diseases. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 6, 480–498. DOI:10.1038/nrd2308
- Ishikawa, T., Nishigaki, F., Miyata, S., Hirayama, Y., Minoura, K., Imanishi, J., ... Mutoh, S. (2005a). Prevention of progressive joint destruction in adjuvant induced arthritis in rats by a novel matrix metalloproteinase inhibitor, FR217840. *European Journal of Pharmacology*, 508, 239–247. DOI:10.1016/j.ejphar.2004.12.014
- Ishikawa, T., Nishigaki, F., Miyata, S., Hirayama, Y., Minoura, K., Imanishi, J., ... Mutoh, S. (2005b). Prevention of progressive joint destruction in adjuvant induced arthritis in rats by a novel matrix metalloproteinase inhibitor, FR217840. *British Journal of Pharmacology*, 508, 239–247. DOI:10.1016/j.ejphar.2004.12.014
- Iyer, S., Wei, S., Brew, K., & Acharya, K. R. (2007). Crystal Structure of the Catalytic Domain of Matrix Metalloproteinase-1 in Complex with the Inhibitory Domain of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1. *Journal of Biological Chemistry*, 282(1), 364–371. DOI:10.1074/jbc.M607625200
- Jacob, M. P. (2003). Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(5–6), 195–202. DOI:10.1016/S0753-3322(03)00065-9
- Jacobsen, J. A., Major Jourden, J. L., Miller, M. T., & Cohen, S. M. (2010). To bind zinc or not to bind zinc: An examination of innovative approaches to improved metalloproteinase inhibition. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1803(1), 72–94. DOI:10.1016/j.bbamcr.2009.08.006
- Jee, S. S., Thula, T. T., & Gower, L. B. (2010). Development of bone-like composites via the polymer-induced liquid-precursor (PILP) process. Part 1: Influence of polymer molecular weight. *Acta Biomaterialia*, 6(9), 3676–3686.

- DOI:10.1016/j.actbio.2010.03.036
- Jo, Y. K., Park, S. J., Shin, J. H., Kim, Y., Hwang, J. J., Cho, D. H., & Kim, J. C. (2011). ARP101, a selective MMP-2 inhibitor, induces autophagy-associated cell death in cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 404(4), 1039–1043. DOI:10.1016/j.bbrc.2010.12.106
- Johnson, A. R., Pavlovsky, A. G., Ortwine, D. F., Prior, F., Man, C. F., Bornemeier, D. A., ... Dyer, R. D. (2007). Discovery and Characterization of a Novel Inhibitor of Matrix Metalloprotease-13 That Reduces Cartilage Damage in Vivo without Joint Fibroplasia Side Effects. *Journal of Biological Chemistry*, 282(38), 27781–27791. DOI:10.1074/jbc.M703286200
- Kallakury, B. V. S., Karikhalli, S., Haholu, A., Sheehan, C. E., Azumi, N., & Ross, J. S. (2001). Increased Expression of Matrix Metalloproteinases 2 and 9 and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases 1 and 2 Correlate with Poor Prognostic Variables in Renal Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 7(10), 3113–9. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11595703>
- Kato, M. T., Bolanho, A., Zarella, B. L., Salo, T., Tjäderhane, L., & Buzalaf, M. A. R. (2014). Sodium Fluoride Inhibits MMP-2 and MMP-9. *Journal of Dental Research*, 93(1), 74–77. DOI:10.1177/0022034513511820
- Kato, M. T., Leite, A. L., Hannas, A. R., & Buzalaf, M. A. R. (2010). Gels Containing MMP Inhibitors Prevent Dental Erosion in situ. *Journal of Dental Research*, 89(5), 468–472. DOI:10.1177/0022034510363248
- Kester, W. R., & Matthews, B. W. (1977). Crystallographic Study of the Binding of Dipeptide Inhibitors to Thermolysin: Implications for the Mechanism of Catalysis. *Biochemistry*, 16(11), 2506–2516.
- Koli, K., Saxena, G., & Ogbureke, K. U. E. (2015). Expression of Matrix Metalloproteinase (MMP)-20 and Potential Interaction with Dentin Sialophosphoprotein (DSPP) in Human Major Salivary Glands. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 63(7), 524–33. DOI:10.1369/0022155415580817
- Kridel, S. J., Chen, E., Kotra, L. P., Howard, E. W., Mobashery, S., & Smith, J. W. (2001). Substrate Hydrolysis by Matrix Metalloproteinase-9. *Journal of Biological Chemistry*, 276(23), 20572–20578. DOI:10.1074/jbc.M100900200
- Lang, R., Braun, M., Sounni, N. E., Noel, A., Frankenne, F., Foidart, J. M., ... Maskos, K. (2004). Crystal Structure of the Catalytic Domain of MMP-16/MT3-MMP:

- Characterization of MT-MMP Specific Features. *Journal of Molecular Biology*, 336(1), 213–225. DOI:10.1016/j.jmb.2003.12.022
- Larmas, M. (2003). Dental Caries Seen from the Pulpal Side: a Non-traditional Approach. *Journal of Dental Research*, 82(4), 253–256.
- Lein, M., Jung, K., Ortel, B., Stephan, C., Rothaug, W., Juchem, R., ... Krell, H.-W. (2002). The new synthetic matrix metalloproteinase inhibitor (Roche 28-2653) reduces tumor growth and prolongs survival in a prostate cancer standard rat model. *Oncogene*, 21(13), 2089–2096. DOI:10.1038/sj.onc.1205267
- Liu, Y., Tjäderhane, L., Breschi, L., Mazzoni, A., Li, N., Mao, J., ... Tay, F. R. (2011). Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation. *Journal of Dental Research*, 90(8), 953–968. DOI:10.1177/0022034510391799
- Livingstone, D. (2000). The characterization of chemical structures using molecular properties. A survey. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 40(2), 195–209. DOI:10.1021/ci990162i
- Lorenzl, S., Calingasan, N., Yang, L., Albers, D. S., Shugama, S., Gregorio, J., ... Beal, M. F. (2004). Matrix metalloproteinase-9 Is elevated parkinsonism in mice. *NeuroMolecular Medicine*, 5(2), 119–131.
- Maskos, K. (2005). Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors. *Biochimie*, 87(3–4), 249–263. DOI:10.1016/j.biochi.2004.11.019
- Matter, H., Schwab, W., Barbier, D., Billen, G., Haase, B., Neises, B., ... Weithmann, K. U. (1999). Quantitative Structure-Activity Relationship of Human Neutrophil Collagenase (MMP-8) Inhibitors Using Comparative Molecular Field Analysis and X-ray Structure Analysis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(11), 1908–1920. DOI:10.1021/jm980631s
- Matusiak, N., Castelli, R., Tuin, A. W., Overkleeft, H. S., Wisastra, R., Dekker, F. J., ... Elsinga, P. H. (2015). A dual inhibitor of matrix metalloproteinases and a disintegrin and metalloproteinases, [18F]FB-ML5, as a molecular probe for non-invasive MMP/ADAM-targeted imaging. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 23(1), 192–202. DOI:10.1016/j.bmc.2014.11.013
- Matziari, M., Dellis, D., Dive, V., Yiotakis, A., & Samios, J. (2010). Conformational and Solvation Studies via Computer Simulation of the Novel Large Scale Diastereoselectively Synthesized Phosphinic MMP Inhibitor RXP03 Diluted in

- Selected Solvents. *Journal of Physical Chemistry B*, 114(1), 421–428.  
DOI:10.1021/jp903830v
- Mazzoni, A., Apolonio, F. M., Saboia, V. P. A., Santi, S., Angeloni, V., Checchi, V., ... Breschi, L. (2014). Carbodiimide Inactivation of MMPs and Effect on Dentin Bonding. *Journal of Dental Research*, 93(3), 263–268.  
DOI:10.1177/0022034513516465
- Mazzoni, A., Scaffa, P., Carrilho, M., Tjäderhane, L., Di Lenarda, R., Polimeni, A., ... Breschi, L. (2012). Effects of Etch-and-Rinse and Self-etch Adhesives on Dentin MMP-2 and MMP-9. *Journal of Dental Research*, 92(1), 82–86.  
DOI:10.1177/0022034512467034
- Mazzoni, A., Tjäderhane, L., Checchi, V., Di Lenarda, R., Salo, T., Tay, F. R., ... Breschi, L. (2015). Role of Dentin MMPs in Caries Progression and Bond Stability. *Journal of Dental Research*, 94(2), 241–551. DOI:10.1177/0022034514562833
- Mecham, R. P. (2012). Overview of Extracellular Matrix. *Current Protocols in Cell Biology*, (57), 1–14. DOI:10.1002/0471143030.cb1001s57
- Moriyama, H., Tsukida, T., Inoue, Y., Yokota, K., Yoshino, K., Kondo, H., ... Nishimura, S. I. (2004). Azasugar-Based MMP/ADAM Inhibitors as Antipsoriatic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(8), 1930–1938. DOI:10.1021/jm0304313
- Murphy, G., & Nagase, H. (2008). Progress in matrix metalloproteinase research. *Molecular Aspects of Medicine*, 29(5), 290–308. DOI:10.1016/j.mam.2008.05.002
- Nar, H., Werle, K., Bauer, M. M. T., Dollinger, H., & Jung, B. (2001). Crystal Structure of Human Macrophage Elastase (MMP-12) in Complex with a Hydroxamic Acid Inhibitor. *Journal of Molecular Biology*, 312(4), 743–51.  
DOI:10.1006/jmbi.2001.4953
- Nascimento, F. D., Minciotti, C. L., Geraldini, S., Carrilho, M. R., Pashley, D. H., Tay, F. R., ... Tersariol, I. L. S. (2011). Cysteine cathepsins in human carious dentin. *Journal of Dental Research*, 90(4), 506–511. DOI:10.1177/0022034510391906
- Natchus, M. G., Bookland, R. G., De, B., Almstead, N. G., Pikul, S., Janusz, M. J., ... Taiwo, Y. O. (2000). Development of New Hydroxamate Matrix Metalloproteinase Inhibitors Derived from Functionalized 4-Aminoprolines. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(26), 4948–4963. DOI:10.1021/jm000246e
- Nicolescu, A. C., Holt, A., Kandasamy, A. D., Pacher, P., & Schulz, R. (2009). Inhibition of matrix metalloproteinase-2 by PARP inhibitors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 387(4), 646–650.

- DOI:10.1016/j.pestbp.2011.02.012.Investigations
- Niu, L. N., Zhang, W., Pashley, D. H., Breschi, L., Mao, J., Chen, J. H., & Tay, F. R. (2014). Biomimetic Remineralization of Dentin. *Dental Materials*, 30(1), 77–96. DOI:10.1016/j.dental.2013.07.013
- Nuti, E., Panelli, L., Casalini, F., Avramova, S. I., Orlandini, E., Santamaria, S., ... Rossello, A. (2009). Design, Synthesis, Biological Evaluation, and NMR Studies of a New Series of Arylsulfones as Selective and Potent Matrix Metalloproteinase-12 Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(20), 6347–6361. DOI:10.1021/jm900335a
- Odake, S., Morita, Y., Morikawa, T., Yoshida, N., Hori, H., & Nagai, Y. (1994). Inhibition of Matrix Metalloproteinases by Peptidyl Hydroxamic Acids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 199(3), 1442–1446. DOI:10.1006/bbrc.1994.1392
- Ordem dos Médicos Dentistas. (2016). Cárie e dentisteria. Retrieved September 17, 2016, from <https://www.omd.pt/publico/carie-dentisteria?searchterm=restaura%C3%A7%C3%A3o+dent>
- Overall, C. M., & Kleifeld, O. (2006). Towards third generation matrix metalloproteinase inhibitors for cancer therapy. *British Journal of Cancer*, 94(7), 941–946. DOI:10.1038/sj.bjc.6603043
- Pavlovsky, A. G., Williams, M. G., Ye, Q.-Z. Z., Ortwine, D. F., Purchase, C. F., White, A. D., ... Blundell, T. L. (1999). X-ray structure of human stromelysin catalytic domain complexed with nonpeptide inhibitors: Implications for inhibitor selectivity. *Protein Science*, 8(7), 1455–1462. DOI:10.1110/ps.8.7.1455
- Pikul, S., McDow Dunham, K. L., Almstead, N. G., De, B., Natchus, M. G., Anastasio, M. V., ... Mieling, G. E. (1998). Discovery of Potent, Achiral Matrix Metalloproteinase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41(19), 3568–3571. DOI:10.1021/jm980253r
- Pirard, B. (2007). Insight into the structural determinants for selective inhibition of matrix metalloproteinases. *Drug Discovery Today*, 12(15–16), 640–646. DOI:10.1016/j.drudis.2007.06.003
- Pochetti, G., Gavuzzo, E., Campestre, C., Agamennone, M., Tortorella, P., Consalvi, V., ... Mazza, F. (2006). Structural Insight into the Stereoselective Inhibition of MMP-8 by Enantiomeric Sulfonamide Phosphonates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(3), 923–931. DOI:10.1021/jm050787+

- Pochetti, G., Montanari, R., Gege, C., Chevrier, C., Taveras, A. G., & Mazza, F. (2009). Extra Binding Region Induced by Non-Zinc Chelating Inhibitors into the S1' Subsite of Matrix Metalloproteinase 8 (MMP-8). *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(4), 1040–1049. DOI:10.1021/jm801166j
- Puerta, D. T., & Cohen, S. M. (2004). A Bioinorganic Approach to Matrix Metalloproteinase Inhibition. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 4(15), 1551–1573.
- Qiu, Z., Yan, M., Li, Q., Liu, D., Van den Steen, P. E., Wang, M., ... Hu, J. (2012). Definition of peptide inhibitors from a synthetic peptide library by targeting gelatinase B/matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and TNF- $\alpha$  converting enzyme (TACE/ADAM-17). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(4), 533–540. DOI:10.3109/14756366.2011.599323
- Rao, B. G. (2005). Recent Developments in the Design of Specific Matrix Metalloproteinase Inhibitors aided by Structural and Computational Studies. *Current Pharmaceutical Design*, 11(3), 295–322. DOI:10.2174/1381612053382115
- Rawlings, N. D., Barrett, A. J., & Finn, R. (2016). Twenty years of the MEROPS database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. *Nucleic Acids Research*, 44, D343–D350. DOI:10.1093/nar/gkv1118
- Reynolds, J. J., Hembry, R. M., & Meikle, M. C. (1994). Connective Tissue Degradation in Health and Periodontal Disease and the Roles of Matrix Metalloproteinases and their Natural Inhibitors. *Advances in Dental Research*, 8(2), 312–319.
- Rosenberg, G. A., Estrada, E. Y., & Mobashery, S. (2007). Effect of Synthetic Matrix Metalloproteinase Inhibitors on Lipopolysaccharide-Induced Blood-Brain Barrier Opening in Rodents: Differences in Response Based on Strains and Solvents. *Brain Research*, 1133(1), 186–192. DOI:10.1016/j.brainres.2006.11.041
- Rowell, S., Hawtin, P., Minshull, C. A., Jepson, H., Brockbank, S. M. V, Barratt, D. G., ... Pauptit, R. A. (2002). Crystal Structure of Human MMP9 in Complex with a Reverse Hydroxamate Inhibitor. *Journal of Molecular Biology*, 319(1), 173–181. DOI:10.1016/S0022-2836(02)00262-0
- Roy, K., Kar, S., & Das, R. N. (2014). *A Primer on QSAR/QSPR Modeling - Fundamental Concepts*. (Springer, Ed.). DOI:10.1007/978-3-319-17281-1
- Roy, K., Kar, S., & Das, R. N. (2015). *Understanding the Basics of QSAR for Applications in Pharmaceutical Sciences and Risk Assessment*. (Elsevier, Ed.). DOI:10.1016/B978-0-12-801505-6.00015-6

- Schroder, J., Henke, A., Wenzel, H., Brandstetter, H., Stammler, H. G., Stammler, A., ... Tschesche, H. (2001). Structure-Based Design and Synthesis of Potent Matrix Metalloproteinase Inhibitors Derived from a 6H-1,3,4-thiadiazine Scaffold. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(20), 3231–3243. DOI:10.1021/jm010887p
- Shalinsky, D. R., Brekken, J., Zou, H., McDermott, C. D., Forsyth, P., Edwards, D., ... Appelt, K. (1999). Broad Antitumor and Antiangiogenic Activities of AG3340, a Potent and Selective MMP Inhibitor Undergoing Advanced Oncology Clinical Trials. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 878, 236–270. DOI:10.1111/j.1749-6632.1999.tb07689.x
- Shen, C., Zhang, N.-Z., & Anusavice, K. J. (2010). Fluoride and Chlorhexidine Release from Filled Resins. *Journal of Dental Research*, 89(9), 1002–1006. DOI:10.1177/0022034510374055
- Solomon, A., Akabayov, B., Frenkel, A., Milla, M. E., & Sagi, I. (2007). Key feature of the catalytic cycle of TNF-alpha converting enzyme involves communication between distal protein sites and the enzyme catalytic core. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(12), 4931–4936. DOI:10.1073/pnas.0700066104
- Song, W., Peng, Z., Gooyit, M., Suckow, M. A., Schroeder, V. A., Wolter, W. R., ... Chang, M. (2013). Water-Soluble MMP-9 Inhibitor Prodrug Generates Active Metabolites That Cross the Blood-Brain Barrier. *ACS Chemical Neuroscience*, 4(8), 1168–1173. DOI:10.1021/cn400077d
- Sulkala, M. (2004). *Matrix Metalloproteinases (MMPs) in the Dentin-Pulp Complex of Healthy and Carious Teeth*.
- Sulkala, M., Tervahartiala, T., Sorsa, T., Larmas, M., Salo, T., & Tjäderhane, L. (2007). Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Archives of Oral Biology*, 52(2), 121–127. DOI:10.1016/j.archoralbio.2006.08.009
- Sulkala, M., Wahlgren, J., Larmas, M., Sorsa, T., Teronen, O., Salo, T., & Tjäderhane, L. (2001). The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *Journal of Dental Research*, 80(6), 1545–1549. DOI:10.1177/00220345010800061301
- Supuran, C. T., & Winum, J. Y. (2009). *Drug Design of Zinc-Enzyme Inhibitors: Functional, Structural, and Disease Applications*. (Wiley, Ed.). DOI:10.1002/9780470508169
- Tallant, C., Marrero, A., & Gomis-Rüth, F. X. (2010). Matrix metalloproteinases: Fold

- and function of their catalytic domains. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1803(1), 20–28. DOI:10.1016/j.bbamcr.2009.04.003
- Tochowicz, A., Maskos, K., Huber, R., Oltenfreiter, R., Dive, V., Yiotakis, A., ... Goettig, P. (2007). Crystal Structures of MMP-9 Complexes with Five Inhibitors: Contribution of the Flexible Arg424 Side-chain to Selectivity. *Journal of Molecular Biology*, 371(4), 989–1006. DOI:10.1016/j.jmb.2007.05.068
- Todeschini, R., & Consonni, V. (2006). *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*. (Wiley-VCH, Ed.). DOI:10.1021/jm0582118
- Todeschini, R., Consonni, V., & Gramatica, P. (2010). Chemometrics in QSAR. In Elsevier (Ed.), *Comprehensive Chemometrics* (Vol. 4, pp. 129–172). DOI:10.1016/B978-044452701-1.00007-7
- Turk, B. (2006). Targeting proteases: successes, failures and future prospects. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 5(9), 785–799. DOI:10.1038/nrd2092
- Vargova, V., Pytliak, M., & Mechirova, V. (2012). *Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Specificity of Binding and Structure-Activity Relationships*. (Springer, Ed.). DOI:10.1007/978-3-0348-0364-9
- Varun, B. R., Bindu, J. N., Sivakumar, T. T., & Anna, P. J. (2012). Matrix Metalloproteinases and Their Role in Oral Diseases: A Review. *Oral & Maxillofacial Pathology Journal*, 3(1), 186–191.
- Verstappen, J., & Hoff, J. W. V. den. (2006). Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs): their Biological Functions and Involvement in Oral Disease. *Journal of Dental Research*, 85(12), 1074–1084. DOI:10.1177/154405910608501202
- Vidal, C. de M. P. (2012). *Estudo da Atividade Proteolítica da Dentina Humana Sadia e Cariada*.
- Visse, R., & Nagase, H. (2003). Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases: Structure, Function, and Biochemistry. *Circulation Research*, 92(8), 827–839. DOI:10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D
- White, D. J. (1995). The Application of in Vitro Models to Research on Demineralization and Remineralization of the Teeth. *Advances in Dental Research*, 9(3), 175–193. DOI:10.1177/08959374950090030101
- Xu, H. H. K., Moreau, J. L., Sun, L., & Chow, L. C. (2012). Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition Hockin. *Dental Materials*, 100(2), 130–134. DOI:10.1016/j.pestbp.2011.02.012. Investigations
- Zhang, S., & Kern, M. (2009). The Role of Host-derived Dentinal Matrix

- Metalloproteinases in Reducing Dentin Bonding of Resin Adhesives. *International Journal of Oral Science*, 1(4), 163–176. DOI:10.4248/IJOS.09044
- Zhang, X., Bresee, J., Cheney, P. P., Xu, B., Bhowmick, M., Cudic, M., ... Edwards, W. B. (2013). Evaluation of a Triple-Helical Peptide with Quenched Fluorophores for Optical Imaging of MMP-2 and MMP-9 Proteolytic Activity. *Molecules*, 19(6), 8571–8588. DOI:10.3390/molecules19068571
- Zhang, Y. M., Fan, X., Yang, S. M., Scannevin, R. H., Burke, S. L., Rhodes, K. J., & Jackson, P. F. (2008). Syntheses and in vitro evaluation of arylsulfone-based MMP inhibitors with heterocycle-derived zinc-binding groups (ZBGs). *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 18(1), 405–408. DOI:10.1016/j.bmcl.2007.10.049
- Zheng, J., Wen, R., & Guillaume, D. (2008). Three-dimensional quantitative structure-activity relationship (CoMFA and CoMSIA) studies on galardin derivatives as gelatinase A (matrix metalloproteinase 2) inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23(4), 445–453. DOI:10.1080/14756360701632221
- Zou, Y., Jessop, J. L. P., & Armstrong, S. R. (2010). In-vitro enzymatic biodegradation of adhesive resin in the hybrid layer. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 94(1), 130–134. DOI:10.1016/j.pestbp.2011.02.012.Investigations