

O RENASCIMENTO DE UM FÁRMACO: TALIDOMIDA

Lídia Moreira Lima^{*#}, Carlos Alberto Manssour Fraga[#] e Eliezer J. Barreiro[#]

Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, CP 68006, 21944-970 Rio de Janeiro - RJ

Departamento de Fármacos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, CP 68006, 21944-970 Rio de Janeiro - RJ

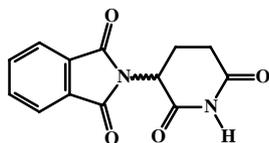
Recebido em 13/9/00; aceito em 15/12/00

THE REBIRTH OF A DRUG: THALIDOMIDE. Thalidomide, first synthesized in 1953, was widely prescribed for morning sickness of pregnant women from 1957 to 1961, when it was found to be seriously teratogenic, having caused serious birth defect. Nowadays, a quarter of a century later, it appears that it may be a miracle drug for such diseases as leprosy, AIDS, cancer and tuberculosis.

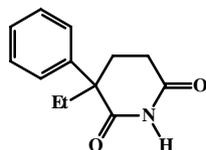
Keywords: thalidomide; rebirth of an old drug; leprosy.

HISTÓRICO

A talidomida, [(±)2-(2,6-dioxo-3-piperidinil)-1*H*-isoindol-1,3-(2*H*)-diona; ou (±)-ftalimidoglutarimida (1)], foi descoberta por série de fatores fortuitos e primeiramente relatada por Wilhelm Kunz, em 1953. Sua síntese foi realizada na indústria farmacêutica alemã "Chemie Grünenthal", objetivando a preparação de pequenos peptídeos úteis na produção de novos antibióticos. Entretanto, durante a rota sintética proposta inicialmente, Wilhelm Kunz isolou um produto secundário, racêmico, não peptídico (1), que foi reconhecido pelo farmacologista da "Chemie Grünenthal", Herbert Keller, como um análogo estrutural da glutetimida (2). Posteriormente, o perfil sedativo-hipnótico de (1) foi bem caracterizado^{1,2}.



Talidomida (1)
Sedativo-Hipnótico



Glutetimida (2)
Sedativo-Hipnótico

Em 1957, a talidomida (1) foi comercializada como fármaco sedativo-hipnótico, amplamente vendido em países europeus, asiáticos, no Canadá e América do Sul, tornando-se o medicamento mais vendido na Alemanha Ocidental para o tratamento da insônia^{3,4}.

A despeito de sua ampla comercialização nos continentes Europeu e Asiático, este fármaco, em diferentes especialidades farmacêuticas: Kavaddon[®], Sedalis[®], Softenon[®], Distaral[®], Contergan[®], entre outros, não obteve licença do Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos da América para uso neste país^{5,6}.

No início da década de 60, a talidomida (1) foi prescrita mundialmente como sedativo e agente anti-nauseas, indicada no alívio do mal-estar matinal comum em gestantes, sendo responsável pelo nascimento de milhares de crianças com deformações congênitas, que foram, posteriormente atribuídas ao

seu perfil teratogênico⁷⁻⁹. Após confirmação e divulgação destes graves efeitos colaterais, este fármaco teve sua licença para comercialização cancelada, rendendo, em 1961, à oficial médica americana Frances Kelsey, responsável pelas decisões à frente do FDA, a medalha e título de guardiã da Saúde Pública concedida pelo, então, presidente John Kennedy, em reconhecimento aos serviços prestados^{10,11}.

Quatro anos mais tarde, em 1965, o médico israelita Jacob Sheskin prescreveu a talidomida (1) como sedativo para pacientes leproso, observando fortuitamente acentuada redução da dor e do processo inflamatório associado ao leproma^{12,13}, identificando as propriedades antiinflamatórias de (1), até então desconhecidas. Este intrigante perfil antiinflamatório incentivou diversos grupos de pesquisas ao estudo do provável mecanismo de ação relacionado às ações benéficas de (1) sobre os lepromas. Em 1991, a Dra Gilla Kaplan e colaboradores, da Universidade de Rockefeller, Nova York, em trabalho pioneiro, demonstraram que pacientes leproso apresentavam níveis sanguíneos aumentados de um modulador do sistema imunológico, identificado como uma citocina denominada fator de necrose tumoral α (TNF α)¹⁴. Estes mesmos pesquisadores constataram, posteriormente, a participação da talidomida (1) na inibição seletiva desta citocina, quando expressa em quantidade superior àquela necessária à manutenção do sistema imunológico normal, denotando, portanto, o potencial imunorregulador de (1).

SÍNTESE E METABOLISMO

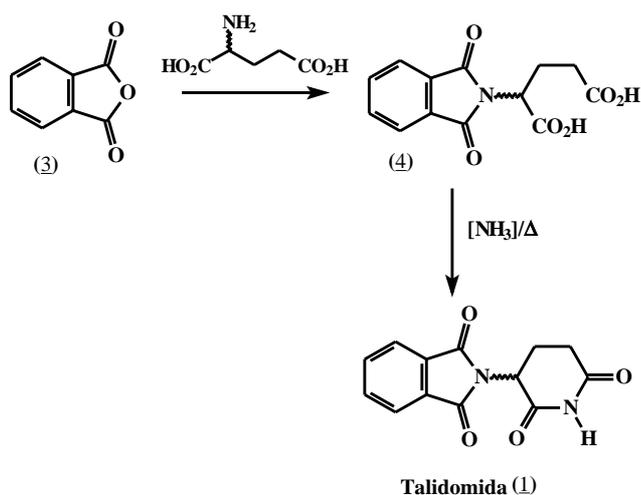
A metodologia sintética empregada na obtenção da (*R,S*)-talidomida (1) explorou, numa primeira etapa, a condensação do (*R,S*)-ácido glutâmico com anidrido ftálico (3), seguida da etapa chave da estratégia sintética, que consistiu na condensação do intermediário ftalimídico (4) com amônia em temperatura elevada¹⁵ (Esquema 1).

Estudos, *ex vivo*, sobre o destino metabólico da talidomida (1) permitiram evidenciar sua instabilidade em solução aquosa, em diferentes valores de pH. Em pH=6,0 observou-se a hidrólise espontânea do anel glutarimídico, originando os derivados α -(orto-carboxi-benzamido)glutarimida (5) e (6) como principais metabólitos (Figura 1)¹⁶.

Entretanto, em pH fisiológico (pH=7,4) a talidomida sofre *ca.* 28% de metabolização na primeira hora de ensaio, sendo os principais metabólitos formados identificados como produtos de hidrólise do anel ftalimídico e glutarimídico, originando majoritariamente os compostos (7) e (8) (Figura 1)¹⁶.

*lidiaml@yahoo.com

Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio), <http://www.farmacia.ufrj.br/lassbio>.



Esquema 1

Por outro lado, em pH=8,0 sua taxa de metabolização é consideravelmente aumentada, ca 66% na primeira hora, evidenciando que o metabolismo *in vivo* de (1) é estritamente dependente do pH da biofase¹⁶.

QUIRALIDADE

A constatação no início da década de 60 dos efeitos teratogênicos provocados pela (\pm)-talidomida em gestantes, nos três primeiros meses de gravidez^{7,8}, representou um marco na conscientização do risco da administração de um fármaco em sua forma racêmica, quando a razão eudísmica entre os dois enantiômeros é desconhecida (Figura 2).

Posterior tentativa de resolução cromatográfica de (1) e administração das espécies enantiomericamente puras, *i.e.*, (*R*) e (*S*)-(1), demonstrou que o efeito teratogênico da talidomida era proveniente do emprego do enantiômero de configuração absoluta (*S*), enquanto seu antípoda era desprovido de ação teratogênica¹⁷. Todavia, a estereoespecificidade da ação teratogênica de (1) foi evidenciada como sendo dependente da espécie animal

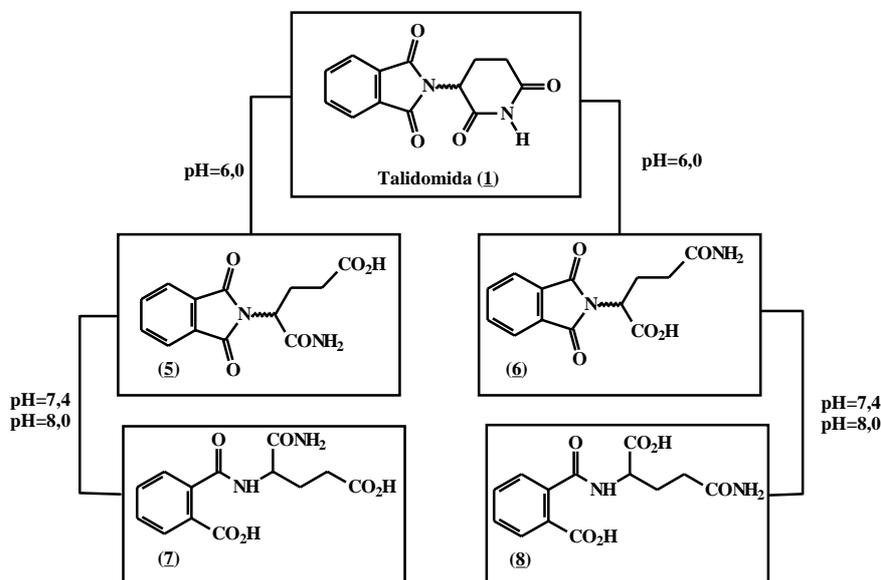
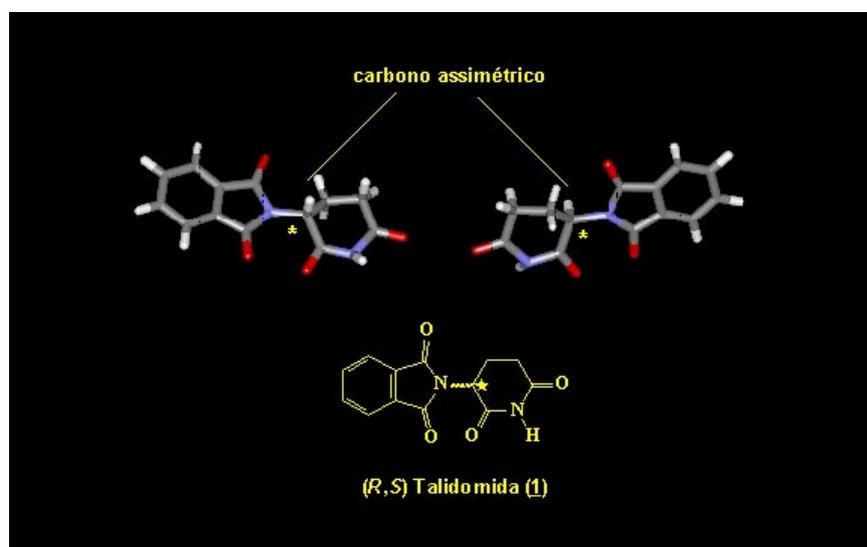
Figura 1. Principais metabólitos *in vivo* da talidomida (1).

Figura 2. Demonstração esquemática dos enantiômeros da talidomida (1).

estudada. Por outro lado, a atividade de (1) como inibidor da produção de TNF- α foi identificada como sendo estereosseletiva, tendo-se o enantiômero de configuração absoluta (S) como eutômero^{17,18}.

Eriksson e colaboradores demonstraram a rápida epimerização de (1) em plasma humano, *in vivo*, após administração por via oral das espécies enantiomericamente puras. De fato, a inversão de configuração de fármacos enantiopuros ou racêmicos ocorre em outras classes terapêuticas como nos anti-inflamatórios não-esteróides pertencentes à classe dos ácidos 2-aril-propionícos²⁰, sugerindo que o emprego da talidomida em sua forma enantiomericamente pura não evitaria a tragédia teratogênica ocorrida no início da década de 60¹⁸. Em trabalho mais recente, estes autores relataram estudos comparativos sobre a inversão de quiralidade e hidrólise de (1), em pacientes tratados, administração por via oral, com talidomida (1)¹⁹. Os resultados obtidos a partir destes estudos denotam uma nítida diferença farmacocinética quanto aos processos de absorção e eliminação dos enantiômeros de (1), e comparando-se os resultados obtidos *in vitro* versus *in vivo* sugere-se que o processo de epimerização seja dependente da concentração de albumina, predominando, portanto, no sangue ou em compartimentos extravasculares ricos neste tipo de proteína sérica¹⁹. Em contra partida, estes estudos demonstraram que a taxa de hidrólise da talidomida (1), tanto *in vitro* quanto *in vivo*, parece ser dependente meramente do pH do meio, conforme preconizado por Schumacher e colaboradores em 1965^{16,19}.

TERATOGENICIDADE

O termo teratogenicidade provém do grego “*teratos*”, que significa monstro. O sentido original da palavra refere-se a malformações anatômicas macroscópicas, embora atualmente tenha se expandido sua definição para englobar anomalias

mais súteis como atraso intrauterino e distúrbios bioquímicos e psicomotores.

Embora várias hipóteses tenham sido postuladas para explicar os efeitos teratogênicos da talidomida (1), o mecanismo bioquímico responsável pela resposta embriotóxica em humanos e cobaias permanece obscuro e contraditório^{21,22}. A dificuldade de se concluir sobre o mecanismo de indução de teratogenicidade por (1) *in vitro* e *in vivo* é, entre outros fatores, reflexo da sua baixa solubilidade e instabilidade na biofase. Por outro lado, as distinções interespecies quanto aos processos farmacocinéticos de absorção, metabolização, bioativação e eliminação à despeito do comportamento diferenciado, dependente do modelo animal empregado, o que dificulta a extrapolação para humanos, dos processos farmacocinéticos, explicam as diferenças de sensibilidade aos seus efeitos teratogênicos¹⁶.

Dentre as diversas hipóteses relatadas na literatura para explicar o mecanismo de teratogenicidade da talidomida (1)²³⁻²⁷, encontra-se a hipótese descrita por Arlen & Wells, que sugere o envolvimento da enzima prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS) na bioativação do grupamento toxicofórico de (1) (Figura 3)²². A PGHS é uma enzima bifuncional com atividades cicloxigenase e hidroxperoxidase, que catalisa a formação do hidroperóxido de prostaglandina G₂ (PGG₂), a partir de ácido araquidônico, e a subseqüente biorredução da PGG₂ à prostaglandina H₂ (PGH₂), precursora de uma família de icosanóides com propriedades inflamatórias, hiperálgicas e trombogênicas²⁸.

Esta hipótese fundamenta-se na atividade catalítica hidroxperoxidase da PGHS. É amparada em observações experimentais, evidenciando que o tratamento de cobaias com ácido acetilsalicílico (Aspirina[®]), um conhecido inibidor pseudo-irreversível da PGHS, é capaz de prevenir, *in vivo*, as manifestações dos efeitos teratogênicos de (1)²².

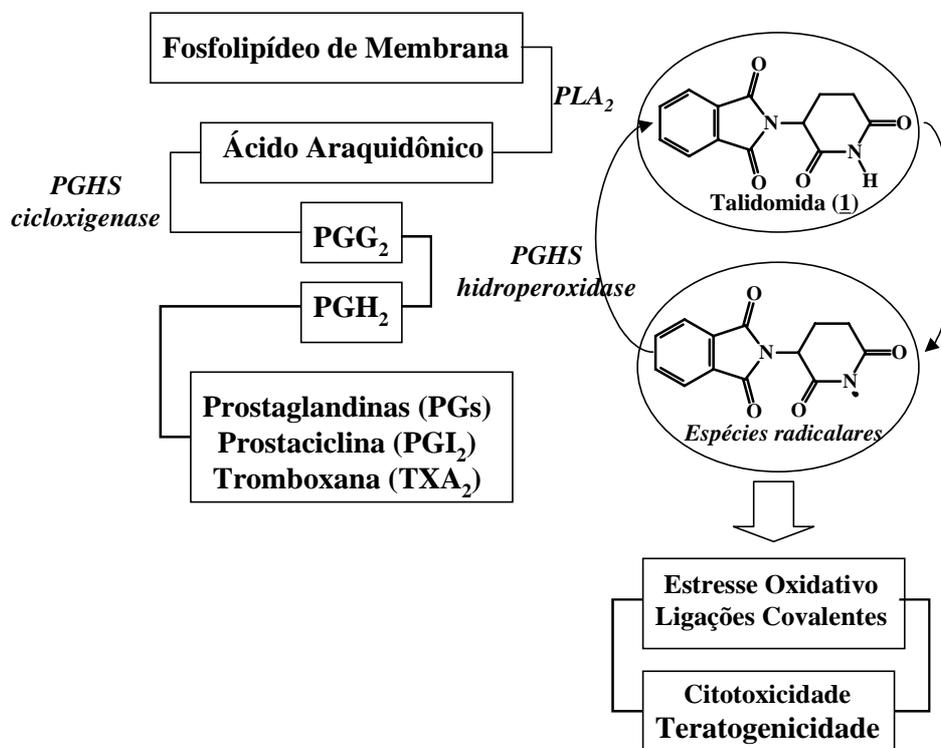


Figura 3. Representação ilustrativa da participação da PGHS na formação de espécies radiculares reativas de (1) (adaptado de Arlen & Wells, 1996).

NOVAS APLICAÇÕES

Com base na descoberta das propriedades antiinflamatórias e imunorreguladoras da talidomida (1), a indústria norte-americana Celgene Co. solicitou ao FDA sua aprovação para uso no tratamento da hanseníase, concedida em julho de 1998. Marcava-se de forma definitiva o renascimento deste fármaco, que representa, atualmente, um dos principais agentes terapêuticos disponíveis para o tratamento efetivo dos lepromas²⁹⁻³⁰.

Após adquirir o direito de comercializar e estudar a talidomida (1), a Celgene Co. iniciou série de ensaios clínicos com este fármaco, visando ao tratamento de doenças auto-imunes relacionadas ao aumento da concentração plasmática de TNF- α , tais como artrite reumatóide e doença de Crohn^{3,13,31-33}. Trabalhos paralelos divulgados por vários laboratórios de pesquisa, demonstram a aplicação terapêutica potencial da talidomida no câncer, interferindo com o processo de angiogênese patológica, na AIDS, mais especificamente no retardamento da replicação do HIV, e no auxílio da perda de peso desordenada de portadores do vírus da imunodeficiência adquirida e do bacilo da tuberculose³⁴⁻³⁸. Adicionalmente, a talidomida representa a primeira terapia disponível nos últimos 20 anos para o tratamento de mieloma múltiplo^{4,39}.

ANÁLOGOS ESTRUTURAIS DA TALIDOMIDA

Objetivando aprimorar-se as propriedades farmacocinéticas da talidomida (1) e reduzir seus efeitos teratogênicos, inúmeros esforços de pesquisa têm sido feitos na busca de análogos otimizados, com melhor perfil farmacoterapêutico, partindo-se da premissa de que se poderiam identificar e excluir os grupamentos toxicofóricos presentes em (1), resguardando-se os grupamentos farmacofóricos^{40,41}.

A primeira abordagem do planejamento e síntese de novos análogos da talidomida (1) fundamentou-se em estudos prévios da relação entre a estrutura química e a atividade (SAR), visando identificar-se os grupamentos farmacofóricos necessários à atividade farmacológica pretendida. Com este intuito, modificações nas subunidades glutarimida e ftalimida foram realizadas e alguns exemplos de análogos estruturais de (1) planejados a partir destas modificações encontram-se ilustrados a seguir.

Shibata e colaboradores propuseram a síntese e a avaliação farmacológica de derivados N-alquil-ftalimídicos (9-12), planejados por modificação estrutural da subunidade glutarimida. Os resultados obtidos por estes autores demonstraram a irrelevância do grupamento glutarimídico na atividade anti-TNF- α de (1) (Tabela 1)⁴².

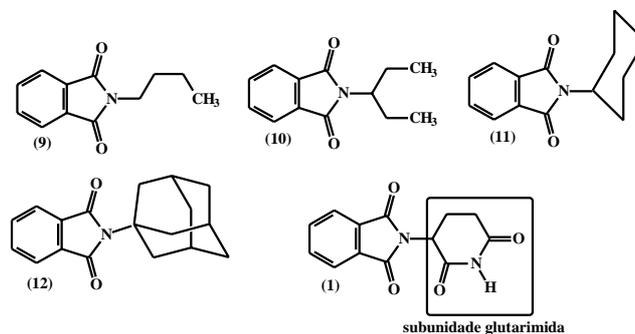
O mesmo grupo de pesquisadores, em trabalhos posteriores, demonstrou que a substituição do grupamento glutarimida por um anel fenílico reduzia a atividade anti-TNF- α . Entretanto, a simples funcionalização na posição *orto* do anel fenila por grupos alquila recuperava a atividade biológica desejada (Tabela 2)⁴³.

Em trabalho semelhante, Miyachi e colaboradores sintetizaram e avaliaram farmacologicamente derivados N-fenil-ftalimídicos funcionalizados (23-26), demonstrando que substituições nas posições *orto*, *meta* e *para* do anel fenila, por grupos alquila, contribuem, de forma similar, para o aumento da atividade anti-TNF- α (Tabela 3)⁴⁴.

Com o objetivo de estudar a relevância farmacofórica do grupamento ftalimídico, Miyachi e colaboradores sintetizaram e avaliaram o perfil farmacológico dos derivados (27-31), constatando que, à exceção do composto tioimídico (28), modificações nesta subunidade são acompanhadas por decréscimo na atividade farmacológica (Tabela 4)⁴⁴.

Recentemente, os trabalhos de Muller e colaboradores demonstraram, reforçando os resultados descritos por Miyachi et al. (1997)⁴⁴, a importância da presença do anel ftalimídico na atividade anti-TNF- α (Tabela 5)⁴⁵, sugerindo o caráter farmacofórico desta subunidade estrutural da talidomida (1).

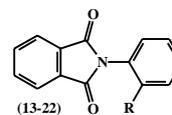
Tabela 1. Atividade de derivados N-alquil-ftalimídicos no bioensaio de produção de TNF- α por células HL-60, induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA)



Composto (dose=100 μ M)	Quantidade de TNF- α (%) ^{a)}
9	102
10	225
11	182
12	521
1	155

^{a)}A quantidade de TNF- α produzida na presença de 3 nM de TPA foi definida como 100%

Tabela 2. Atividade de derivados N-fenil-ftalimídicos no bioensaio de produção de TNF- α por células HL-60, induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA)



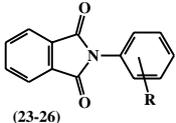
Composto (dose=100 μ M)	Substituinte (R)	Quantidade de TNF- α (%) ^{a)}
13	H	95
14	CH ₃	102
15	C ₂ H ₅	116
16	(CH ₂) ₂ CH ₃	143
17	(CH ₂) ₃ CH ₃	164
18	(CH ₂) ₄ CH ₃	159
19	(CH ₂) ₅ CH ₃	141
20	(CH ₂) ₆ CH ₃	152
21	(CH ₂) ₂ Ph	151
22	CH(CH ₃) ₂	168

^{a)}A quantidade de TNF- α produzida na presença de 3 nM de TPA foi definida como 100%

CONCLUSÃO

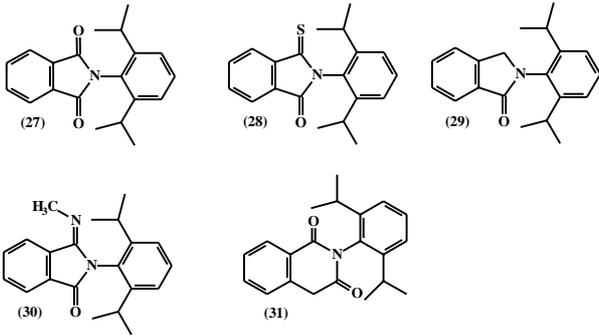
Quarenta anos após o incidente teratogênico da década de 60, a talidomida (1) ressurgiu como fármaco promissor para o tratamento da hanseníase, AIDS e tuberculose, levando esperança a pacientes desesperançosos. Entretanto, à despeito das novas aplicações terapêuticas da talidomida (1) seu emprego como fármaco requer avaliação da relação risco-benefício, exigindo em alguns casos monitoramento médico adequado.

Os relatos de SAR da talidomida e análogos revelam o potencial farmacofórico do anel ftalimídico ao mesmo tempo que denotam a irrelevância do grupamento glutarimida na atividade anti-TNF- α mecanismo evidenciado como responsável pelos novos efeitos terapêuticos de (1). Estes dados, juntamente com hipótese que relaciona a teratogenicidade de (1) à ação enzimática da

Tabela 3. Atividade de derivados N-fenil-ftalimídicos no bioensaio de produção de TNF- α por células HL-60, induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA)


Composto (dose=30 μ M)	Substituinte (R)	Quantidade de TNF- α (%) ^{a)}
23	H	100
24	2-CH(CH ₃) ₂	158
25	3-CH(CH ₃) ₂	158
26	4-CH(CH ₃) ₂	139

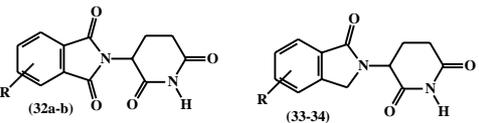
^{a)}A quantidade de TNF- α produzida na presença de 10 nM de TPA foi definida como 100%

Tabela 4. Perfil farmacológico de análogos da talidomida (1), apresentando variações na subunidade succinimida no bioensaio de produção de TNF- α por células HL-60, induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA)


Composto (dose=30 μ M)	Quantidade de TNF- α (%) ^{a)}
27	602
28	1252
29	214
30	134
31	268

^{a)} A quantidade de TNF- α produzida na presença de 10 nM de TPA foi definida como 100%

a) A quantidade de TNF- α produzida na presença de 10 nM de TPA foi definida como 100%

Tabela 5. Inibição da biossíntese de TNF- α estimulada por LPS em PBMC.


Composto	Substituinte (R)	Inibição da produção de TNF- α 100 μ M	Anti-TNF- α IC50
32a	(S)-4-NH ₂	99%	3.9nM
32b	(R)-4-NH ₂	85%	93nM
33	4-NH ₂	74%	100nM
34	5-NH ₂	15%	ND

PGHS, denotam o perfil toxicofórico do grupamento glutarimida, viabilizando o planejamento e síntese de novos candidatos a fármacos, análogos à talidomida (1), com maior eficácia terapêutica e desprovidos de seu efeito teratogênico.

Vimos desenvolvendo no Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro uma linha de pesquisa que visa à obtenção de novos análogos da talidomida, estruturalmente planejados de maneira a apresentar atividade antiinflamatória, modulando-se o perfil toxicofórico. Neste contexto, resultados recentes permitiram a obtenção de um composto ftalimídico com atividade antiinflamatória superior à talidomida (1), apresentando ED₅₀=2,5 mgKg⁻¹, e com expressiva atividade anti-TNF- α *in vitro*^{46,47,48}.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as bolsas de doutorado e de produtividade do CNPq (Br) e aos assessores pelas sugestões que permitiram aprimorar a forma final deste manuscrito. Agradecemos a FUJB o pagamento de "page charges".

GLOSSÁRIO

Angiogênese: Crescimento de novos vasos sanguíneos.

Artrite reumatóide: Inflamação crônica de etiologia desconhecida associada a destruição progressiva de ossos e cartilagem.

Citocina: Glicopeptídeos biossintetizadas por vários tipos celulares possuindo múltiplas funções imunomoduladoras.

Grupamento farmacofórico: Grupo funcional ou grupos funcionais caracterizando subunidade estrutural responsável pela atividade farmacológica do fármaco.

Grupamento toxicofórico: Grupo funcional ou grupos funcionais caracterizando subunidade estrutural responsável pela toxicidade do fármaco.

Hanseníase: Doença infecciosa devida ao desenvolvimento no organismo do bacilo de Hansen, *ie.*, *Mycobacterium leprae*, que penetra provavelmente pela pele ou pela mucosa nasal, e se propaga ao longo dos nervos periféricos.

Lepromas: Lesões características da hanseníase.

Lipopolissacarídeo (LPS): Componente da parede celular bacteriana capaz de estimular resposta inflamatória *in vitro* e *in vivo* por meio de mecanismos envolvendo células do sistema imunológico.

Mieloma múltiplo: Tipo raro de câncer nos ossos.

PBMC (peripheral blood mononuclear cells): Mistura de células sanguíneas brancas, constituída primariamente de linfócitos e monócitos.

Razão eudísmica: Potência do eutômero (enantiômero com maior afinidade) relativa à do distômero (enantiômero de menor afinidade).

REFERÊNCIAS

1. Sneader, W.; *Drug Discovery: The evolution of modern medicines* 1985 John Wiley & Sons, Inc., New York, pp.1.
2. Randall, T.; *JAMA* **1990**, 263,1474.
3. Powell, R. J.; *Brit. Med. J.* **1996**, 313, 377.
4. Raje, N.; Anderson, K.; *N. Engl. J. Med.* **1999**, 341, 1606.
5. Mellin, G.W.; Katzenstein, M.; *N. Engl. J. Med.* **1962**, 267, 1184.
6. Stirling, D.; *Ann. Rept. Med. Chem.* **1995**, 30, 319.
7. McBride, W. G.; *Lancet* **1961**, 1, 1358.
8. Lenz, W. *Lancet* **1962**, 2, 45.
9. Cheymol, J.; *Rev. Assoc. Med. Bra.* **1965**, 11, 123.
10. Kelsey, F. O.; *Am. J. Public. Health* **1965**, 55, 703.
11. Koehler, C. S. W.; *MDD* **2000**, 69.

12. Sheskin, J.; *Clin. Pharm. Ther.* **1965**, *6*, 303.
13. Bessis, D.; Guillot, B.; Monpoint, S.; Dandurand, M.; Guilhou, J. J.; *Lancet* **1992**, *339*, 549.
14. Kaplan, G.; Sampaio, E. P.; Sarno, E. N.; Galily, R.; Cohn, Z. A.; *J. Exp. Med.* **1991**, *173*, 699.
15. Donnison, G. H.; *U. S. Patent* **1959**, 2,876,225.
16. Schumacher, H.; Smith, R. L.; Williams, R. T.; *Brit. J. Pharmacol.* **1965**, *25*, 324.
17. Wnendt, S.; Zwingenberger, K.; *Nature* **1997**, *385*, 303.
18. Eriksson, T.; Björkman, S.; Roth, B.; Fyge, A.; Höglund, P.; *Chirality* **1995**, *7*, 44.
19. Eriksson, T.; Björkman, S.; Roth, B.; Fyge, A.; Höglund, P.; *Chirality* **1998**, *10*, 223.
20. Testa, B.; Carrupt, P. A.; Gal, J.; *Chirality* **1993**, *5*, 105.
21. Gordon, G. B.; Spielberg, S. P.; Blake, D. A.; Balasubramanian, V.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, *78*, 2545.
22. Arlen, R. R.; Wells, P. G.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1996**, *277*, 1649.
23. Tabin, C. J.; *Nature* **1998**, *396*, 322.
24. Neubert, R.; Merker, H. -J.; Neubert, D.; *Nature* **1999**, *400*, 419.
25. Stephens, T. D.; *Teratology* **1988**, *38*, 229.
26. Neubert, R.; Hinz, N.; Thiel, R.; Neubert, D.; *Life Sci.* **1996**, *58*, 295.
27. Stephens, T. D.; Bunde, C. J. W.; Fuillmore, B. J.; *Biochem. Pharmacol.* **2000**, 1489.
28. Mannett, L. J.; *Environ. Health Perspect.* **1990**, *88*, 5.
29. Calderon, P.; Anzilotti, M.; Phelps, R.; *Int. J. Dermatol.* **1997**, *36*, 881.
30. Aarestrup, F. M.; Sampaio, E. P.; de Moraes, M. O.; Albuquerque, E. C. A.; Castro, A. P. V.; Sarno, E. N.; *Int. J. Leprosy.* **2000**, *68*, 156.
31. Badger, A. M.; Adams, J. L.; *Ann. Rept. Med. Chem.* **1998**, *33*, 203.
32. Hart, T.; Lamont, A.; Williams, D.; *DDT* **1998**, *3*, 516.
33. Sartor, R. B.; *New Engl. J. Med.* **2000**, 1664.
34. James, J. S.; *AIDS Treat News* **1995**, *3*, 1.
35. Muller, G. W.; *Chemtech* **1997**, *27*, 21.
36. Rojas, M.; Olivier, M.; Gros, P.; Barrera, L. F.; García, L. F.; *J. Immunol.* **1999**, *162*, 6122.
37. Peuckmann, V.; Fisch, M.; Bruera, E.; *Drugs* **2000**, *60*, 273.
38. Kling, J.; *MDD* **2000**, 35.
39. Singhal, S.; Mehta, J.; Desikan, R.; Ayers, D.; Roberson, P.; Eddlemon, P.; Munshi, N.; Anaissie, E.; Wilson, C.; Dhodapkar, M.; Zeldis, J.; Barlogie, B.; *N. Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 1565.
40. Corral, L. G.; Haslett, P. A. J.; Muller, G. W.; Chen, R.; Wong, L. -M.; Ocampo, C. J.; Patterson, R. T.; Stirling, D. A.; Kaplan, G.; *J. Immunol.* **1999**, *163*, 380.
41. Marriot, J. B.; Westby, M.; Cookson, S.; Guckian, M.; Goodbourn, S.; Muller, G.; Shire, M. G.; Stirling, D.; Dalglish, A. G.; *J. Immunol.* **1998**, *161*, 4236.
42. Shibata, Y.; Shichita, M.; Sasaki, K.; Nishimura, K.; Hashimoto, Y.; Iwasaki, S.; *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 177.
43. Shibata, Y.; Sasaki, K.; Hashimoto, Y.; Iwasaki, S.; *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 156.
44. Miyachi, H.; Azuma, A.; Ogasawara, A.; Uchimura, E.; Watanabe, N.; Kobayashi, Y.; Kato, F.; Kato, M.; Hashimoto, Y.; *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2858.
45. Muller, G. W.; Chen, R.; Huang, S. -Y.; Corral, L. G.; Wong, L. M.; Patterson, R. T.; Chen, Y.; Kaplan, G.; Stirling, D. I.; *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *9*, 1625.
46. Lima, L. M.; Castro, P.; Fraga, C. A. M.; Gonçalves de Moraes, V. L.; Barreiro, E. J.; *23^a Reunião Anual da SBQ*, Poços de Caldas, MG, 2000.
47. Lima, L. M.; Castro, P.; Fraga, C. A. M.; Claire, L.; Gonçalves de Moraes, V. L.; Barreiro, E. J.; resultados não publicados.
48. Lima, L. M.; de Souza, S. D.; Menezes, C. M. S.; Castro, P.; Verli, H.; Fraga, C. A. M.; Rodrigues, C. R.; de Moraes, V. L. G.; Barreiro, E. J.; *24^a Reunião Anual da SBQ*, Poços de Caldas, MG, 2001.