

Ana Leonor Neto Pinto

Anti-histamínicos H₃: Uma nova classe terapêutica

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto – Setembro 2012

Ana Leonor Neto Pinto

Anti-histamínicos H₃: Uma nova classe terapêutica

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto – Setembro 2012

Autor: Ana Leonor Neto Pinto

Anti-histamínicos H₃: Uma nova classe terapêutica

O aluno,

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Resumo

A histamina é um importante mediador de vários processos do organismo humano. Além de estar envolvida em processos bioquímicos de respostas imunológicas, esta amina exerce também funções a nível do sistema gastrointestinal e actua como neurotransmissor.

A descoberta dos receptores da histamina permitiu o desenvolvimento de vários compostos usados como agentes terapêuticos no tratamento de diversas doenças como reacções alérgicas (anti-histamínicos H_1) e úlcera gástrica (anti-histamínicos H_2).

Actualmente são conhecidos quatro receptores da histamina: H_1 , H_2 , H_3 e H_4 .

Os receptores H_3 , devido à sua localização e acções que exercem no sistema nervoso central, como auto e hétero-receptores, têm despertado um interesse especial para o desenvolvimento de compostos que actuem nestes receptores.

Os anti-histamínicos H_3 apresentam-se então como uma nova classe terapêutica para o tratamento de patologias como a doença de Alzheimer, esquizofrenia, obesidade e narcolepsia.

Palavras-chave: Histamina, receptores H_3 , anti-histamínicos H_3 , doença de Alzheimer, esquizofrenia, obesidade

Abstract

Histamine is an important mediator of various processes in the human body. Besides being involved in the biochemical processes of immune responses, this amine is also active in the gastrointestinal system and acts as a neurotransmitter.

The discovery of histamine receptors permitted the development of various compounds used as therapeutic agents in the treatment of various diseases such as allergic reactions (H₁ antihistamines) and gastric ulcer (H₂ antihistamines).

There are presently four known histamine receptors: H₁, H₂, H₃ and H₄.

H₃ receptors, due to its location and performs actions on the central nervous system, such as auto and hetero-receptors, have aroused a particular interest for the development of compounds that act on these receptors.

Antihistamines H₃ are then presented as a new class of therapeutics for treating pathologies such as Alzheimer's, schizophrenia, obesity and narcolepsy.

Key-words: Histamine, H₃ receptors, antihistamines H₃, Alzheimer's disease, schizophrenia, obesity.

Agradecimentos

Antes demais quero agradecer a todos os professores que fizeram parte da minha vida acadêmica na Universidade Fernando Pessoa em particular à professora Dr.^a Rita Catarino e professora Dr.^a Fernanda Leal que me acompanharam na elaboração deste trabalho. A todos um muito obrigado pela paciência, compreensão e disponibilidade que sempre me demonstraram.

Quero também agradecer aos meus pais não só pela oportunidade que me deram como também pela paciência que demonstraram durante estes cinco anos de formação acadêmica.

Agradeço também àqueles que me apoiaram em todos os momentos nomeadamente, Emanuela Ribeiro, Cláudia Santos, Gisela Alves, Sónia Robalo, Tânia Tavares e Rodrigo Monteiro.

Devo a todas estas pessoas o que sou hoje tanto a nível académico como pessoal.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I: HISTAMINA – PAPEL FISIOLÓGICO	3
CAPITULO II: RECEPTORES DA HISTAMINA	8
1. RECEPTOR H ₁	8
1.1. <i>Anti-histamínicos H₁</i>	9
2. RECEPTORES H ₂	16
2.1. <i>Anti-histamínicos H₂</i>	17
3. RECEPTORES H ₃	19
3.1. <i>Transdução de sinal do receptor H₃</i>	21
3.1.1. Inibição da adenilciclase	22
3.1.2. Activação da fosfolipase A ₂ (PLA ₂)	22
3.1.3. Modulação da via mitogénio activador das proteínas cinase (MAPK)	23
3.1.4. Activação do eixo Akt/GSK ₃ β	23
3.1.5. Modulação do cálcio intracelular	24
3.1.6. Inibição da actividade de permuta Na ⁺ /H ⁺	24
4. RECEPTORES H ₄	25
4.1. <i>Anti-histamínicos H₄</i>	26
CAPITULO III: ANTI-HISTAMÍNICOS H₃	28
1. RELAÇÃO ESTRUTURA ACTIVIDADE	29
1.1. <i>Anti-histamínicos H₃ imidazólicos</i>	29
1.2. <i>Anti-histamínicos H₃ não imidazólicos</i>	32
2. ANTI-HISTAMÍNICOS H ₃ NO TRATAMENTO DA OBESIDADE	34
2.1. <i>Obesidade</i>	34
2.2. <i>Tratamento da obesidade com anti-histamínicos H₃</i>	36
3. ANTI-HISTAMÍNICOS H ₃ NO TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER	38
3.1. <i>Doença de Alzheimer</i>	38
3.2. <i>Tratamento da doença de Alzheimer com anti-histamínicos H₃</i>	39
4. ANTI-HISTAMÍNICOS H ₃ NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA	44
4.1. <i>Esquizofrenia</i>	44
4.2. <i>Tratamento da esquizofrenia com anti-histamínicos H₃</i>	45

5. OUTRAS POTENCIAIS INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS	47
5.1. <i>Narcolepsia</i>	47
5.2. <i>Dor</i>	49
5.3. <i>Stress e depressão</i>	49
5.4. <i>Epilepsia</i>	49
CONCLUSÃO	50
BIBLIOGRAFIA	51

Índice de Figuras

Figura 1: Conversão de histidina em histamina por descarboxilação	3
Figura 2: Fórmula estrutural da histamina.....	4
Figura 3: Equilíbrios iónicos e tautoméricos da histamina.....	4
Figura 4: Biotransformação da histamina.....	6
Figura 5: Modelo simplificado de duas conformações do receptor H ₁	10
Figura 6: Classificação dos anti-histamínicos H ₁	11
Figura 7: Estrutura básica dos anti-histamínicos H ₁	12
Figura 8: Estrutura dos anti-histamínicos H ₁ de primeira geração.....	12
Figura 9: Modo de actuação dos antagonistas H ₂	16
Figura 10: Anti-histamínicos H ₂	18
Figura 11: Auto e hétero-receptores H ₃	21
Figura 12: Representação esquemática da transdução de sinal mediado pelos receptores H ₃	22
Figura 13: Transdução de sinal dos receptores H ₄	26
Figura 14: Estrutura geral dos anti-histamínicos H ₃ R imidazólicos	30
Figura 15: Anti-histamínicos H ₃ R clássicos.....	31
Figura 16: Anti-histamínicos H ₃ R não imidazólicos.....	32
Figura 17: Anti-histamínicos H ₃ R não imidazólicos.....	33
Figura 18: Potenciais alvos terapêuticos no tratamento da obesidade.....	36
Figura 19: Anti-histamínicos H ₃ no tratamento da obesidade.....	37
Figura 20: Transdução de sinal receptores H ₃	41
Figura 21: Estrutura anti-histamínicos H ₃	43
Figura 22: Estrutura geral da combinação de antagonistas H ₃ com o farmacóforo de antipsicóticos	46
Figura 23: Estrutura dos antipsicóticos usados para a combinação com os antagonistas H ₃ R.	47

Índice de tabelas

Tabela 1: Efeitos secundários dos anti-histamínicos H ₁ clássicos.	13
Tabela 2: Anti-histamínicos H ₃ , potencial terapêutico e fase de estudo clínico em que se encontram.	42

Abreviaturas

5-HT	Serotonina
AC	Adenilciclase
Ach	Acetilcolina
AchE	Acetilcolinesterase
AD	Doença de Alzheimer (do inglês, <i>Alzheimer Disease</i>)
ADHD	Transtorno do déficit de atenção na hiperactividade (do inglês, <i>Attention Deficit Hyperactivity Disorder</i>)
AINE's	Anti-inflamatórios não-esteróides
Akt	Proteína cinase B
APP	Proteína percussora amilóide (do inglês, <i>Amyloid Precursor Protein</i>)
Asp 114	Aspartato 114
ATP	Trifosfato de adenosina
BDNF	Factor neurotrófico derivado do cérebro (do inglês, <i>Brain-derived neurotrophic factor</i>)
BHE	Barreira hematoencefálica
CaMKIV	Ca ²⁺ /calmodulina dependente da proteína cinase IV
cAMP	Monofosfato de adenosina cíclico
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar
CREB	Proteína de ligação ao elemento de resposta ao cAMP (do inglês, <i>cAMP response element binding protein</i>)
CRF	Factor de libertação de corticotropina

CYP450	Citocromo P450
DA	Dopamina
DAG	Diacilglicerol
DHA	Ácido docosahexaenóico
ERK	Sinal extracelular regulado por cinases
GABA	Ácido γ -aminobutírico
Glu 206	Glutamato 206
GM-CSF	Factor estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos
gP	Glicoproteína
GPCRs	Receptores acoplados à proteína G (do inglês, <i>G Protein-Coupled Receptors</i>)
GSK₃	Glicogénio síntese cinase 3 (do inglês, <i>Glycogen Synthase Kinase-3</i>)
H₁R	Receptores H ₁
H₂R	Receptores H ₂
H₃R	Receptores H ₃
HDL	Lipoproteína de alta densidade (do inglês, <i>High-density lipoprotein</i>)
ICAM	Molécula de adesão intercelular
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal

iNOS	Síntese induzida de óxido nítrico
IP₃	Trifosfato de inositol
ISRE	Elemento de resposta estimulado pelo interferão (do inglês, <i>Interferon-Sensitive Response Element</i>)
LGICs	Canais iónicos bloqueados pelos ligandos
M₂R	Receptores muscarínicos 2
MAO	Monoaminoxidase
MAPK	Mitogénio activador das proteínas cinase
NA	Noradrenadina
nACh	Receptores nicotínicos de acetilcolina
NF-IL6	Factor nuclear IL6
NFκB	Factor nuclear kappa B
NREM	Movimento não rápido dos olhos (do inglês, <i>Non Rapid Movement Eyes</i>)
NTR	Receptores de neurotrofinas
PI₃K	Fosfoinositol cinase 3
PKA	Proteína cinase A
PKC	Proteína cinase C
PLA₂	Fosfolipase A ₂
PLC-β	Fosfolipase Cβ
REM	Movimento rápido dos olhos (do inglês, <i>Rapid Eye Movement</i>)

SNC	Sistema nervoso central
TH	Tirosina hidroxilase
TNFα	Factor de necrose tumoral α
VCAM-1	Proteína de adesão da célula vascular 1
VGICs	Canais iónicos voltagem dependentes
VMAT	Vesícula monoamina transportadora
α-FMH	α -fluorometil-histidina

Introdução

A histamina é das aminas biogénicas a mais difundida no organismo humano. Esta amina é responsável pela modulação de processos fisiológicos, actuando tanto no sistema nervoso central como na periferia, através de quatro diferentes receptores conhecidos até à data.

Os receptores histaminérgicos pertencem à família de receptores designados por GPCRs, ou seja, são receptores acoplados à proteína G. Estes receptores localizam-se em diferentes partes do organismo exercendo, por isso, acções distintas. São eles: receptor H₁, receptor H₂, receptor H₃ e o mais recentemente conhecido, receptor H₄.

Actualmente, apenas os antagonistas dos receptores H₁ e H₂ são usados na prática clínica para o tratamento, principalmente, de asma alérgica e excesso de ácido gástrico, respectivamente.

O receptor H₄ foi recentemente descoberto e pensa-se que desempenhe um papel na regulação da resposta inflamatória (Roche e Sarmento, 2007).

Embora os antagonistas H₃ ainda não sejam usados na prática clínica, o conhecimento destes receptores e consequente desenvolvimento de compostos que actuem nos mesmos têm revelado interessantes aplicações terapêuticas destes agentes em várias patologias consideradas até ao momento incuráveis.

Os receptores H₃ são expressos primariamente nos neurónios pré-sinápticos apresentando-se portanto com maior densidade no sistema nervoso central onde, além de modularem a libertação da histamina, exercem efeitos sobre a libertação de outros neurotransmissores como a acetilcolina, dopamina, serotonina, noradrenalina e ácido γ -aminobutírico (Santora *et al.*, 2008; Sundar *et al.*, 2012).

Devido ao papel dos receptores H₃ na modulação de neurotransmissores, os efeitos dos antagonistas/agonistas destes receptores foram primeiramente estudados em modelos com patologias como a doença de Alzheimer, desordem do défice de atenção e a esquizofrenia. Além de demonstrarem positivamente a ideia formulada de que estes compostos exerceriam efeito nestas doenças, dados farmacológicos, sugeriram também

que os antagonistas e/ou agonistas inversos H₃R actuam no controlo do apetite e peso do corpo. Surge assim a ideia de que os receptores H₃ podem desempenhar um papel importante no tratamento da obesidade (Roche e Sarminento, 2007).

Os receptores H₃ surgem então como uma nova classe terapêutica, não só na doença de Alzheimer, esquizofrenia e obesidade mas também para o tratamento da sonolência excessiva diurna e narcolepsia.

Além disso, a combinação de antagonistas H₃ com antagonistas H₁ para o tratamento de doenças alérgicas, em particular a congestão nasal, tem-se revelado promissora (Aslanian *et al.*, 2003).

Apesar da sua complexidade, os receptores H₃, tornaram-se um alvo farmacológico atractivo no sistema nervoso central. Inúmeras empresas farmacêuticas têm operado um esforço considerável para o desenvolvimento do uso clínico de agonistas inversos H₃R. Embora até agora não tenham registado um desenvolvimento bem-sucedido para estabelecer o uso clínico, os dados pré-clínicos confirmam que os agonistas inversos H₃R devem encontrar as suas aplicações mais promissoras em distúrbios de vigília e cognição (narcolepsia, demências, esquizofrenia e transtorno do défice de atenção na hiperactividade (ADHD)) e na obesidade (Arrang *et al.*, 2007).

Este presente trabalho pretende apresentar uma revisão bibliográfica do desenvolvimento destes compostos principalmente para a doença de Alzheimer, esquizofrenia e obesidade.

CAPÍTULO I: Histamina – Papel fisiológico

A histamina (β -4(5)-imidazol-etilamina) é das aminas biogénicas a mais difundida no organismo humano e está presente em todos os órgãos e tecidos. A palavra histamina deriva da palavra grega *histos* que significa tecido. Contudo, esta também pode ser encontrada em plantas, venenos, bactérias e alguns fungos (Avendaño e Söllhuber, 2004).

Em 1907, Windaus e Vogt sintetizaram pela primeira vez a histamina, desconhecendo ainda o seu papel no organismo. Três anos mais tarde, em 1910, Dale e Lardlaw referiram a sua importância nas reacções alérgicas, considerando-a como uma hormona “local” que necessita de uma glândula endócrina para a sua produção (Haas *et al.*, 2008; Dem, 2009).

Por descarboxilação do aminoácido histidina numa reacção catalizada pela enzima histidina-decarboxilase (Figura 1), obtém-se a histamina cuja fórmula química é C₅H₉N₃ e a fórmula estrutural corresponde à apresentada na Figura 2, onde se observa um núcleo de imidazol unido a uma cadeia lateral de dois carbonos ligados a uma amina terminal, sendo que o azoto do anel imidazol (NH) tem carácter ácido (Haas *et al.*, 2008; Dem, 2009).

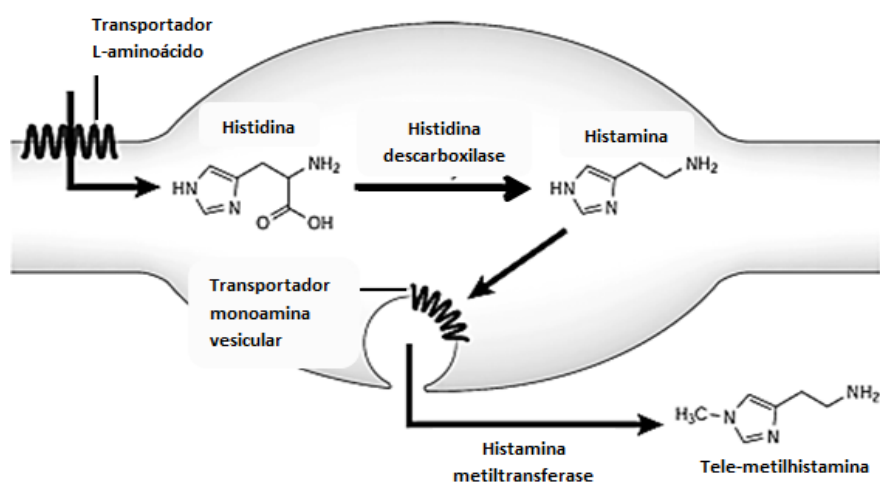


Figura 1: Conversão de histidina em histamina por descarboxilação numa reacção catalisada pela enzima histidina decarboxilase.

(Adaptado de Haas *et al.*, 2008)

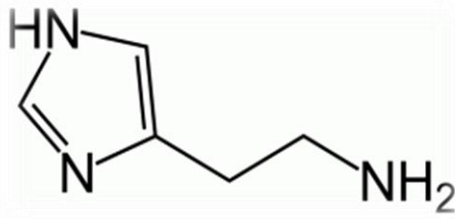


Figura 2: Fórmula estrutural da histamina

(Adaptado de Dem, 2009)

Existem duas formas tautoméricas da histamina – tautómero N^τ-H (azoto encontra-se mais distante da cadeia lateral) e N^π-H (Figura 3). O tautómero N^τ-H representa a forma da histamina farmacologicamente activa uma vez que é a forma electricamente carregada devido ao efeito indutivo negativo da cadeia lateral. A tautomeria influencia a actividade sobre os receptores (Avendaño e Söllhuber, 2004).

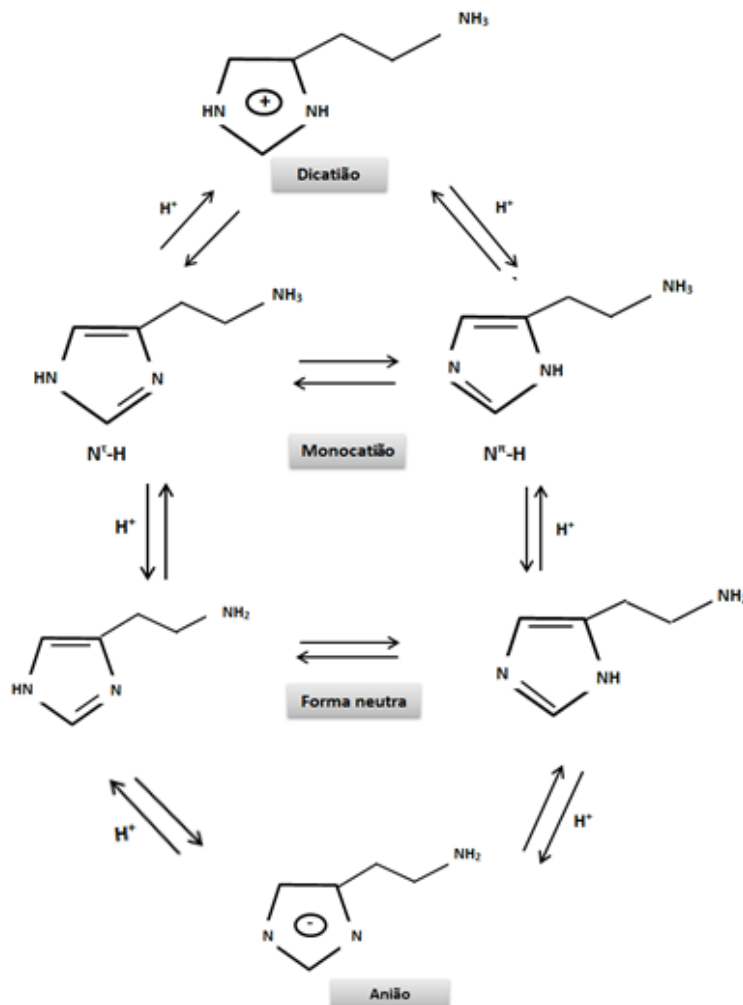


Figura 3: Equilíbrios iónicos e tautoméricos da histamina.

(Adaptado de Avendaño e Söllhuber, 2004)

A histamina está fortemente associada a processos de inflamação uma vez que esta é pré-formada e armazenada, em todos os tecidos, nos mastócitos e, no sangue, nos basófilos. Tecidos como a pele, mucosa da árvore brônquica e mucosa intestinal apresentam uma concentração mais elevada de histamina uma vez que a quantidade de mastócitos nestes tecidos é maior que nos restantes. Quando ocorre a lise celular provocada por toxinas, agentes físicos, agentes sensibilizantes ou por estimulação directa das células (como pode ocorrer com certos xenobióticos) ocorre a libertação da histamina dos seus reservatórios resultante da interacção do antigénio com os anticorpos da imunoglobulina E (IgE) localizados na superfície dos mastócitos, exercendo assim um papel central nas reacções de hipersensibilidade imediata e nas respostas alérgicas. A concentração desta amina biogénica varia de acordo com os órgãos e espécies consideradas – no Homem é alta na pele e baixa no sangue. Fora dos mastócitos, a histamina é formada e armazenada nas células da epiderme, células da mucosa gástrica, neurónios no Sistema Nervoso Central (SNC) e nas células de tecidos em regeneração ou crescimento rápido. O metabolismo da histamina nos referidos locais é rápido uma vez que esta está continuamente a ser libertada em vez de armazenada. Os locais de formação de histamina fora dos mastócitos contribuem significativamente para a excreção diária de histamina e os seus metabolitos na urina. Assim, a histamina desempenha também um papel importante na regulação da secreção gástrica de ácido e o seu papel como neurotransmissor no SNC tem vindo a ser estudado.

Relativamente à biotransformação da histamina esta pode ocorrer por duas vias metabólicas - através de reacções de metilação ou de oxidação (Figura 4), sendo a metilação do anel pela N-metiltransferase a via principal:

- A histamina é transformada em N-metil-histamina, através da acção da N-metiltransferase ou imidazol N-metiltransferase. A N-metil-histamina sofre acção de outra enzima, a monoaminoxidase (MAO), formando-se o ácido metilimidazol acético - esta última reacção pode ser bloqueada pelos inibidores da MAO;
- A desaminação oxidativa processa-se através da reacção catalisada pela enzima histaminase, dando origem ao ácido imidazolacético que, pela acção da fosforribosilfosfato transferase origina o seu ribosídeo (Parsons e Ganellin, 2006).

Os metabolitos resultantes das duas vias têm pouca ou nenhuma actividade e, tal como referido anteriormente, são excretados na urina.

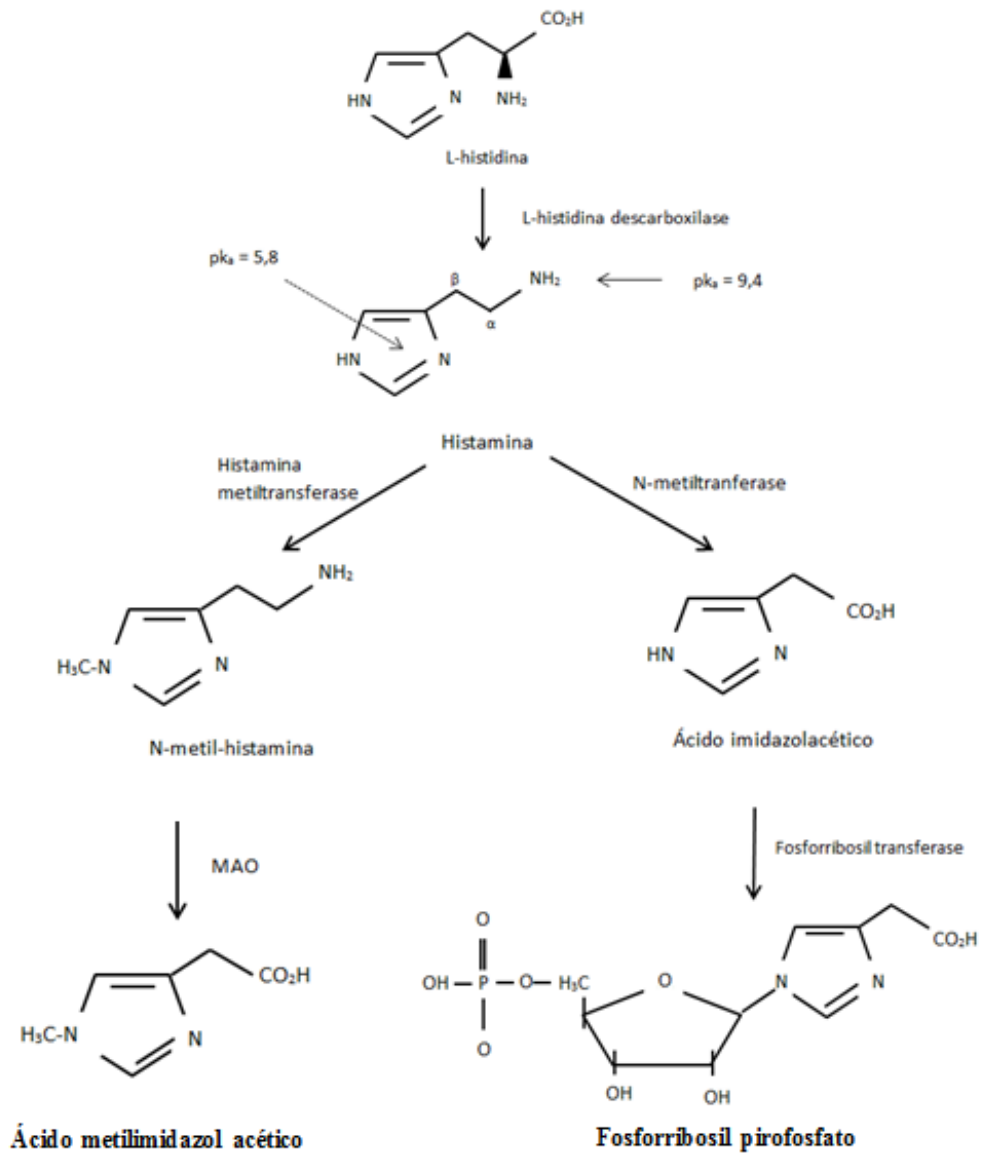


Figura 4: Biotransformação da histamina

(Adaptado de Avendaño e Söllhuber, 2004)

Quando a histamina é libertada no organismo esta vai ligar-se aos receptores de superfície presentes nas células-alvo. Actualmente são quatro os receptores conhecidos: H₁, H₂, H₃ e H₄. Como consequência desta ligação podem ocorrer efeitos como vasodilatação arterial, aumento da permeabilidade, aumento da secreção de ácido

gástrico, broncoconstrição, alteração da frequência cardíaca, reacções anafiláticas e alérgicas.

No cérebro, a histamina é produzida no núcleo tuberomamilar do hipotálamo, armazenada nas células somáticas especialmente nas varicosidades dos axónios de onde é levada pela vesícula monoamina transportadora (VMAT) por troca de dois prótons. É responsável pela regulação da homeostase básica e funções como a cognição, excitação, ritmos circadianos e apetite (Haas *et al.*, 2008).

Tal como referido anteriormente são quatro os receptores histamínicos conhecidos actualmente. Em 1947, Schild, descobriu os receptores histamínicos e, no seguimento desta descoberta, em 1966 e 1972 foram adiantados os receptores H₁ e H₂, respectivamente. Arrang descobriu em 1983 os receptores H₃ e, em 2001, Hough deu a conhecer os receptores H₄.

CAPITULO II: Receptores da histamina

São numerosas as reacções fisiológicas mediadas pela histamina após a ligação aos seus receptores: H₁R, H₂R, H₃R e H₄R. Todos esses receptores são designados por receptores acoplados à proteína G (GPCRs, do inglês *G protein-coupled receptors*). Cada receptor é composto por elementos transmembranares que são envolvidos na transferência de sinais extracelulares para o interior da célula. As GPCRs têm uma característica estrutural comum que consiste em sete hélices transmembranares ligadas por três laços extracelulares e três citoplasmáticos (Rai *et al.*, 2009).

Estes receptores são activados através da ligação de uma grande variedade de moléculas extracelulares, péptidos, nucleótidos e aminoácidos. As GPCRs desempenham papéis importantes em vários tipos de doenças neuronais, cardiovasculares, gastrointestinais, inflamatórias, entre outras, tornando estes receptores alvos ideais para o desenvolvimento de novos compostos (Rai *et al.*, 2009).

1. Receptor H₁

Relativamente ao receptor histaminérgico H₁, este é codificado por um gene localizado no cromossoma 3p25, encontra-se acoplado à proteína Gαq/11 e está associado a muitos sintomas das doenças alérgicas, tais como o prurido, broncoespasmo e a contracção da musculatura intestinal (Criado *et al.*, 2010).

Os receptores H₁ são expressos primariamente nas células endoteliais vasculares e nas células musculares lisas. Estes receptores medeiam reacções inflamatórias e alérgicas. As respostas teciduais específicas à estimulação dos receptores H₁ incluem: edema, broncoconstricção e sensibilização das terminações nervosas aferentes primárias. Os receptores H₁ são também expressos em neurónios histaminérgicos pré-sinápticos no núcleo túbero-mamilar do hipotálamo, onde atuam como auto-receptores para inibir a libertação adicional de histamina. Esses neurónios podem estar envolvidos no controle dos ritmos circadianos e no estado de vigília e a activação dos receptores induz efeitos excitatórios sobre toda a actividade cerebral (Passani e Blandina, 2011).

Leurs e colaboradores (2005) caracterizaram importantes passos na activação do receptor histamínico H₁R. A activação deste receptor é semelhante à de outros receptores acoplados à proteína Gαq/11. Uma vez activo, o receptor H₁ promove a hidrólise do fosfatidilinositol, mediada pela proteína G, ocorrendo assim um aumento do trifosfato de inositol (IP₃) e do diacilglicerol (DAG). O IP₃ desencadeia a libertação de Ca²⁺ intracelular, provocando um aumento da concentração citosólica de Ca²⁺ que activa as vias distais. Por sua vez, o DAG activa a proteína cinase C (PKC) provocando a separação do dímero formado pelo I-κB e pelo factor nuclear kappa B (NFκB). Posteriormente este último promove a activação de genes codificadores dos mediadores inflamatórios: factor de necrose tumoral α (TNFα), P-selectina, molécula de adesão intercelular (ICAM-1), proteína de adesão da célula vascular 1 (VCAM-1), interleucina 1β (IL1β), factor estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) e síntese induzida de óxido nítrico (iNOS) (Criado *et al.*, 2010; Hass *et al.*, 2008).

1.1. Anti-histamínicos H₁

O termo anti-histamínicos H₁ surge no âmbito de estudos que provaram que, pelo menos em teoria, estes podem actuar quer como agonistas inversos, quer como antagonistas neutros. Isto é, os receptores H₁ coexistem em dois estados de conformação, conformação inactiva e activa, que estão em equilíbrio na ausência de histamina ou de anti-histamínico. No estado basal, o receptor tende à sua activação constitutiva (Criado *et al.*, 2010).

A histamina actua como agonista para a conformação activa do receptor H₁ e desvia o equilíbrio para o estado activo do receptor. O grau de deslocação desse equilíbrio dependerá de se tratar de um agonista completo ou parcial. Por outro lado, os anti-histamínicos podem actuar como agonistas inversos ligando-se preferencialmente à conformação inactiva do receptor H₁ e assim desviar o equilíbrio para o estado inactivo (Figura 5). Neste caso o grau de deslocação do equilíbrio depende da natureza do agonista inverso. Sendo assim, mesmo na ausência de histamina endógena, os agonistas inversos reduzem a actividade constitutiva do receptor (Criado *et al.*, 2010).

Os anti-histamínicos podem ainda, como referido, funcionar como antagonistas neutros. Estes não têm preferência pelo estado activo ou inactivo do receptor e não alteram a

actividade basal dos receptores, contudo interferem com a ligação dos seus agonistas (Criado *et al.*, 2010).

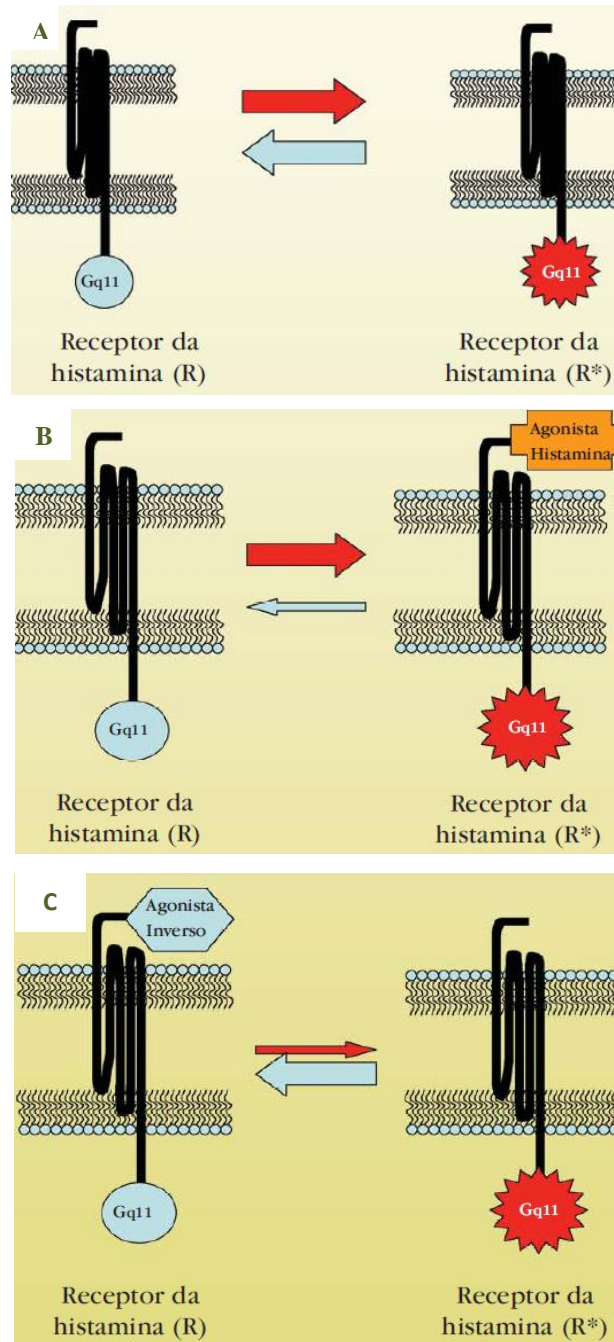


Figura 5: Modelo simplificado de duas conformações do receptor H₁. A. em repouso, o estado inactivo do receptor H₁ (R) isomeriza-se com o estado activo (R*) e vice-versa, a fim de manter um equilíbrio entre as duas formas; B. o agonista, que tem especial afinidade pelo estado activo (R*), estabiliza o receptor nessa conformação e, conseqüentemente, determina um deslocamento do equilíbrio no sentido do estado activo (R*). C. um agonista inverso tem preferencial afinidade pelo estado inactivo do receptor H₁ (R), estabilizando o receptor nessa conformação e conseqüentemente determinando o deslocamento do equilíbrio em direcção ao estado inactivo (R).

As primeiras estruturas com actividade anti-histamínica H₁ foram descobertas por Bovet e Fourneau entre 1933 e 1937 após estudos anteriores terem demonstrado que a histamina constitui um importante mediador da reacção de hipersensibilidade alérgica. Contudo, estas primeiras estruturas demonstraram ser demasiado tóxicas para o seu emprego na terapêutica. Em 1942, a partir de estudos com etilenodiamina, surgiu a fenbenzamina que foi a primeira molécula a ser usada na terapêutica. A fenbenzamina foi, posteriormente, modelo de vários análogos (Avendaño e Söllhuber, 2004).

Em 1946 surgiram os primeiros anti-histamínicos, fármacos clinicamente úteis, capazes de inibir acções da histamina.

Actualmente, os anti-histamínicos H₁ são divididos em duas categorias: os anti-histamínicos H₁ de primeira geração e de segunda geração (Figura 6).

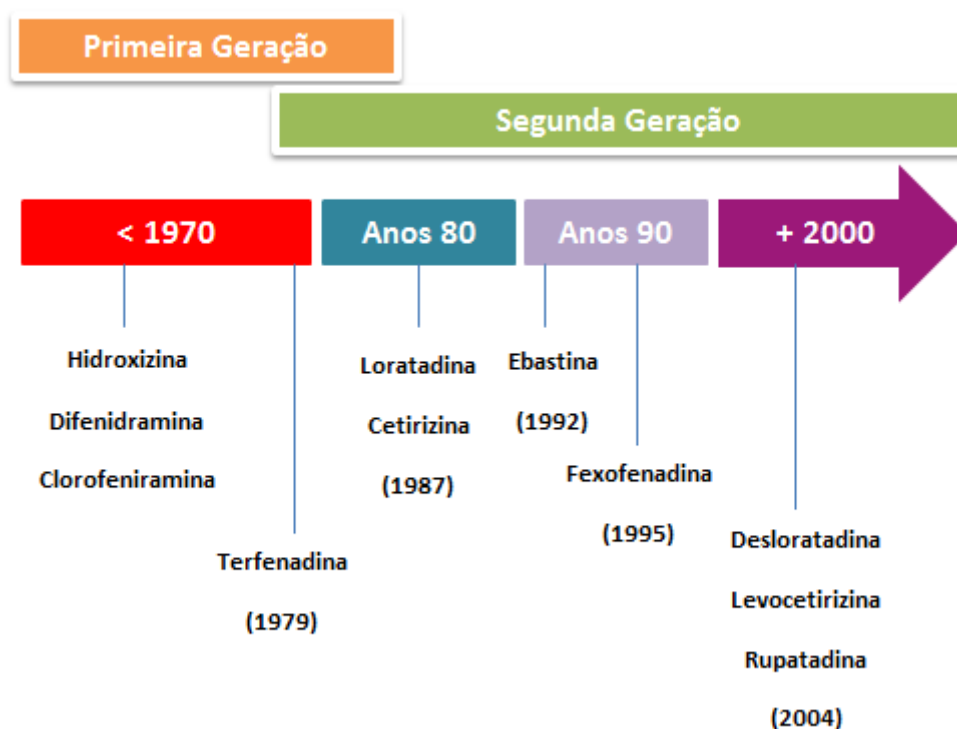


Figura 6: Classificação dos anti-histamínicos H₁ como pertencentes à primeira e segunda geração bem como alguns exemplos.

A estrutura geral dos anti-histamínicos H₁ de primeira geração consiste em dois anéis aromáticos ligados a uma cadeia de etilamina substituída (Figura 7). A actividade da molécula está dependente do tipo de substituição da cadeia. No caso de X corresponder

a um oxigénio, a acção sedativa vai ser mais marcada, no caso de X corresponder a um carbono a molécula apresenta-se menos activa e também menos tóxica, enquanto que, caso X corresponda a um azoto os compostos serão mais activos mas também mais tóxicos.

De acordo com a cadeia lateral substituída, os fármacos são divididos em seis subgrupos principais: etanolaminas, etilenodiaminas, alquilaminas, piperazinas, fenotiazinas e piperidinas (Figura 8).

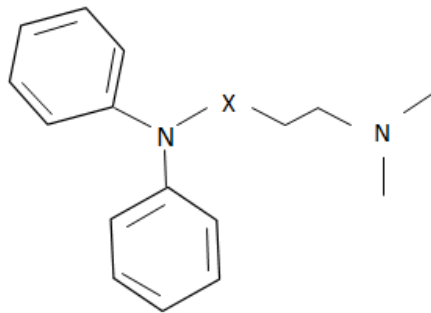


Figura 7: Estrutura básica dos anti-histámicos H₁.

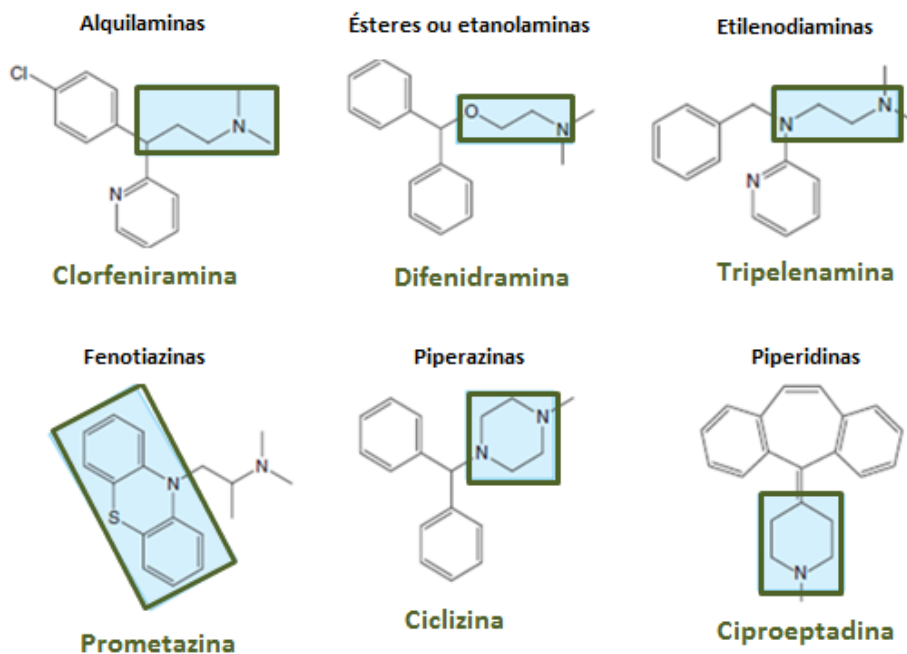


Figura 8: Estrutura dos anti-histámicos H₁ de primeira geração.

(Adaptado de Dem, 2009)

Os anti-histamínicos H₁ de primeira geração são compostos lipofílicos, neutros em pH fisiológico, o que permite que atravessem rapidamente a barreira hematoencefálica (BHE). Uma vez que estes compostos não funcionam como substrato da glicoproteína P no endotélio dos vasos da barreira hematoencefálica, ligam-se aos receptores H₁ cerebrais e, deste modo, apresentam como principal efeito secundário a sedação. Contudo, estes compostos podem actuar em outros receptores desencadeando outros efeitos secundários como dispostos na tabela 1 (Criado *et al.*, 2010).

RECEPTOR	EFEITOS SECUNDÁRIOS
Receptor H₁	Diminuição da neurotransmissão no SNC; Sedação; Diminuição do rendimento cognitivo e neuropsicomotor; Aumento do apetite
Receptor Muscarínico	Xerostomia; Retenção urinária; Taquicardia sinusal
Receptor Adrenérgico	Hipotensão; Tontura; Taquicardia reflexa
Receptor Serotoninérgico	Aumento do apetite
IKr e outros canais cardíacos	Arritmias ventriculares

Tabela 1: Efeitos secundários dos anti-histamínicos H₁ clássicos.

(Adaptado de Criado *et al.*, 2010)

A difenidramina (Benylin®), hidroxizina (Atarax®), cinarizina, prometazina (Fenergan®), clemastina (Tavégyl®), dimetindeno (Neostil®), mequitazina (Primalan®) e a oxatomida (Tinset®) estão entre os anti-histamínicos H₁ de primeira geração mais frequentemente utilizados. Estes são indicados para situações de rinite sazonal (febre dos fenos), e ainda, nas reacções de hipersensibilidade a medicamentos; para prevenir urticária e para tratamento das erupções urticariformes agudas, de picadas de insectos e do prurido que acompanha a dermatite atópica, a dermite de contacto e de localização perianal ou vulvar. A prometazina, devido ao seu particular efeito mais sedativo, pode ser usada no controlo das náuseas, vómitos, enxaqueca e, topicamente,

para tratar reacções alérgicas oculares (conjuntivite alérgica) e nasais. Pode ainda ser usado como tratamento de emergência em reacções anafilácticas (Kamei *et al.*, 2005).

As propriedades anti-inflamatórias dos anti-histamínicos H₁ são explicadas pelo facto destes suprimirem a via do NFκB, e assim bloquearem fortemente o aumento da permeabilidade capilar necessário para formação de edemas e pápulas (Kamei *et al.*, 2005).

Em relação aos anti-histamínicos H₁ de segunda geração, estes são ionizados em pH fisiológico e por isso não atravessam a BHE de forma significativa. Essa diferença na penetração da BHE é responsável pelo diferente grau de sedação associado ao uso dos anti-histamínicos H₁ de primeira e segunda gerações. Por esta razão, os anti-histamínicos H₁ de segunda geração são conhecidos como anti-histamínicos não sedativos (Kamei *et al.*, 2005).

Os anti-histamínicos H₁ de segunda geração podem ser estruturalmente divididos em quatro subclasses — alquilaminas, piperazinas, talazinonas e piperidinas. Dentro destas, os mais utilizados incluem a azelastina, cetirizina, desloratadina, ebastina, fexofenadina, levocetirizina, loratadina, mizolastina e rupatadina (Kamei *et al.*, 2005).

Os anti-histamínicos de segunda geração são, na prática, os mais usados no tratamento da rinite alérgica e da urticária crónica por originarem menos sedação e depressão psicomotora que os anti-histamínicos clássicos e por não terem acções estimulantes.

Quando administrados por via oral, as duas classes de anti-histamínicos H₁ são bem absorvidos e, deste modo, alcançam concentrações plasmáticas máximas em aproximadamente 3 horas. O facto destas moléculas serem bastante lipossolúveis facilita a sua penetração nas membranas celulares, facilitando assim a sua biodisponibilidade. Quanto à duração do efeito esta varia de acordo com o anti-histamínico H₁ utilizado (Criado *et al.*, 2010).

Estudos demonstraram que a administração de alguns anti-histamínicos, nomeadamente a fexofenadina, concomitantemente com a ingestão de alguns alimentos, por exemplo sumo de laranja, ou medicamentos como verapamil e cimetidina, provoca uma variação na biodisponibilidade do composto. Esta situação é explicada pelo facto de alguns alimentos servirem como substrato da glicoproteína G (gP G). Essas glicoproteínas encontram-se nas membranas celulares, são fundamentais no transporte activo de

moléculas para as quais têm afinidade e têm ainda um importante papel na absorção e clearance de alguns compostos. Noutros casos promovem a destoxificação tecidual, caso se encontrem no epitélio intestinal (absorção), BHE ou rins (excreção) (Simons, 2004; Yasui-Furukori *et al.*, 2005).

Os anti-histamínicos H₁ na sua maioria são metabolizados no fígado por um grupo de enzimas pertencentes ao sistema citocromo P450 (CYP450). Deste modo, a concentração plasmática dos anti-histamínicos depende da actividade do CYP (Del Cuvillo *et al.*, 2006).

Porém, alguns compostos de segunda geração nomeadamente cetirizina, levocetirizina, fexofenadina e desloratadina evitam a metabolização pelo CYP450 o que proporciona um conhecimento mais previsível dos efeitos desejáveis e adversos dos mesmos. Enquanto a cetirizina e a levocetirizina são eliminadas na urina principalmente na forma não alterada, a fexofenadina é eliminada nas fezes após excreção biliar e sem alterações metabólicas (Del Cuvillo *et al.*, 2006).

É importante ter a atenção que o sistema CYP pode ser alterado por condições metabólicas especiais como a infância, idade avançada, doenças hepáticas, administração concomitante de outros medicamentos. Relativamente a este último ponto podemos referir alguns exemplos: as benzodiazepinas promovem uma diminuição do efeito terapêutico dos anti-histamínicos H₁, enquanto que, por outro lado, medicamentos como macrólidos, antifúngicos e antagonistas dos canais de cálcio promovem um aumento na biodisponibilidade dos mesmos (Del Cuvillo *et al.*, 2006).

A nível da eliminação, a maior parte dos anti-histamínicos são eliminados nos rins após uma maior ou menor metabolização. A excreção biliar é também possível sendo mais notável no caso da fexofenadina e da rupatadina, sendo que a primeira não sofre metabolização e a segunda sofre extensa metabolização (Del Cuvillo *et al.*, 2006).

Tendo em conta a forma de metabolização e excreção dos anti-histamínicos, deve proceder-se a um ajuste da dose em casos de função hepática ou renal diminuída, bem como idosos e doentes com insuficiência renal ou hepática (Del Cuvillo *et al.*, 2006).

2. Receptores H₂

Os receptores H₂ encontram-se acoplados à proteína G_sα e são codificados por um gene localizado no cromossoma 5q35.5 (Hass *et al.*, 2008).

Estes receptores são expressos maioritariamente nas células parietais gástricas, contudo também são encontrados no SNC em certos neurónios pré-sinápticos, células imunológicas e no músculo cardíaco.

A activação dos receptores H₂ resulta na estimulação da adenilciclase (AC) e aumento da produção de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) intracelular. O aumento da produção no citoplasma de cAMP, a partir do trifosfato de adenosina (ATP), activa a proteína cinase A (PKA) dependente de cAMP. Por sua vez, a PKA induz a fosforilação e activação de várias proteínas como a proteína de ligação ao elemento de resposta ao cAMP - CREB (do inglês, *response element binding protein*) (Hass *et al.*, 2008).

A principal função do receptor H₂ é mediar a secreção de ácido gástrico no estômago. Como já referido, este subtipo de receptor é expresso nas células parietais da mucosa gástrica, onde a histamina actua de modo sinérgico com a gastrina e a acetilcolina, regulando a secreção ácido gástrico (Figura 9).

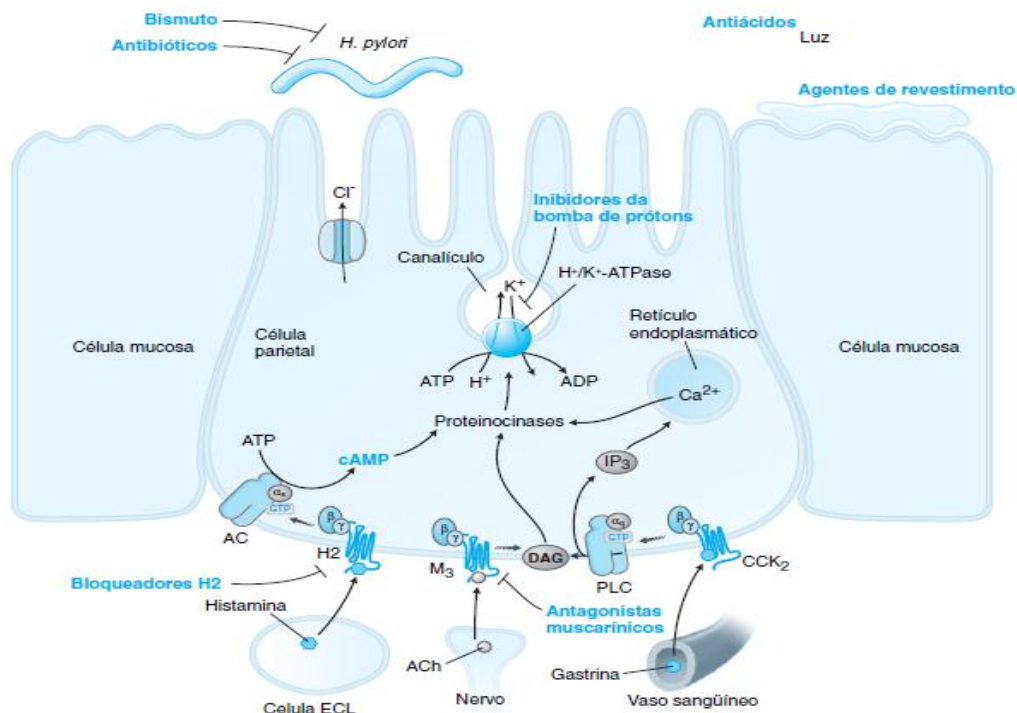


Figura 9: Modo de actuação dos antagonistas H₂.

(Adaptado de Hass *et al.*, 2008)

2.1. Anti-histamínicos H₂

Os antagonistas dos receptores H₂ inibem, de modo reversível e competitivo, a ligação da histamina e, deste modo ocorre uma inibição da secreção de ácido gástrico. Ainda que de forma indirecta, estas moléculas diminuem também a secreção ácida induzida pela acetilcolina e pela gastrina (Infarmed, I.P.).

Existem quatro antagonistas dos receptores H₂: cimetidina, ranitidina, famotidina e a nizatidina. A estrutura destas moléculas difere dos anti-histamínicos H₁ visto que contêm um anel imidazol intacto e uma cadeia lateral sem carga. Na figura 10 são apresentadas as estruturas dos anti-histamínicos H₂ realçando dois pontos importantes na actividade das mesmas. Como visível na figura 10a os anti-histamínicos H₂ possuem uma tioetanolamina que é N-substituída com uma cadeia lateral volumosa e que termina com um anel de cinco membros. Na figura 10b encontram-se realçados os componentes que estes compostos compartilham com a histamina. Estas características estruturais são responsáveis pela ligação selectiva destes antagonistas aos receptores H₂.

Os anti-histamínicos H₂ são usados em doenças como úlceras gástricas benignas ou duodenais e profilaxia das recorrências, situações patológicas acompanhadas de hipersecreção de ácido gástrico, síndrome de Zollinger-Ellison e mastocitoses sistémicas, refluxo gastroesofágico, hemorragias gastrointestinais, profilaxia da úlcera de stress, atenuação da sintomatologia devido à agressão gástrica por anti-inflamatórios não-esteróides (AINE's) (Índice Nacional Terapêutico, 2011).

Os antagonistas H₂ são rapidamente absorvidos pelo intestino delgado e as concentrações plasmáticas são alcançadas entre 1 a 3 horas após administração. Relativamente à metabolização, esta ocorre a nível hepático, enquanto que a eliminação é essencialmente renal (Índice Nacional Terapêutico, 2011).

De um modo geral, os antagonistas H₂ são bem tolerados, contudo, podem ocorrer efeitos adversos ocasionais mínimos como diarreia, cefaleias, dores musculares, obstipação e fadiga. Ainda mais raros e geralmente associados à administração intravenosa dos antagonistas H₂ são os efeitos a nível do SNC nomeadamente alucinações e confusão. Estes efeitos são pouco significativos uma vez que as doses terapêuticas usadas são suficientemente baixas (Infarmed, I.P.).

Anti-histámicos H₃: Uma nova classe terapêutica

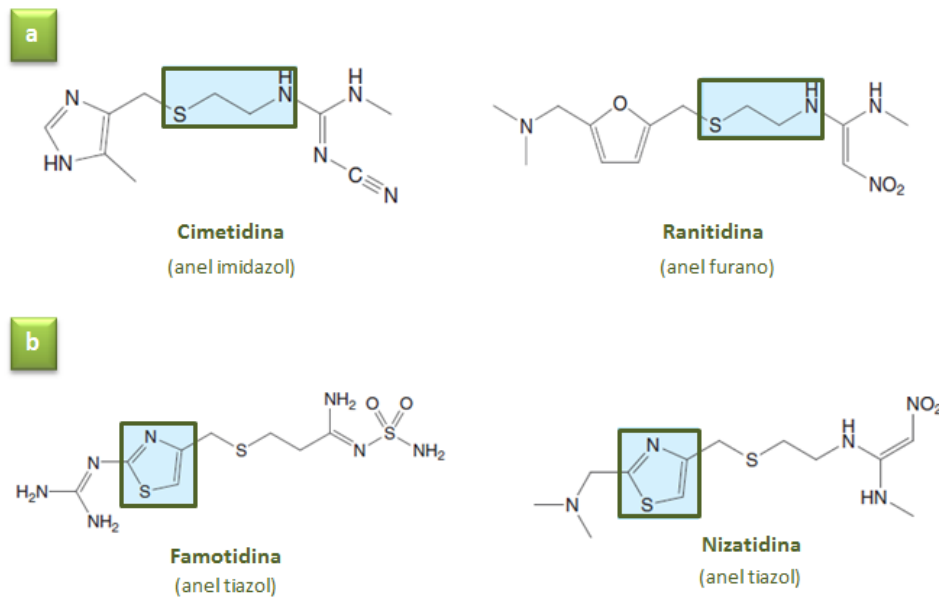


Figura 10: Anti-histámicos H₂

Em a) encontra-se realçada a cadeia tioetanoliamina e em b) o anel que confere aos anti-histámicos H₂ semelhanças com a histamina.

(Adaptado de Marson, 2011)

Os antagonistas dos receptores H₂ podem ser responsáveis por algumas interações medicamentosas. A título de exemplo, o cetoconazol, antifúngico usado em algumas afecções cutâneas, necessita de meio ácido para a sua absorção gástrica. Os antagonistas H₂ vão então proporcionar uma diminuição na biodisponibilidade deste fármaco uma vez que criam no estômago um meio mais alcalino.

A considerar também são as interações particulares da cimetidina. Este antagonista H₂ é de todos o que inibe em maior grau as enzimas do CYP450 e, deste modo interfere com o metabolismo de vários fármacos dos quais são exemplo a lidocaína, fenitoína, teofilina, varfarina, diazepam e propranolol. Deste modo existe uma acumulação tóxica dos fármacos. Sendo assim não é aconselhável a recomendação de cimetidina a pessoas que façam outro tipo de medicação (Infarmed, I.P.).

Importante ainda é referir que a cimetidina atravessa a placenta e é secretada no leite materno, não sendo portanto recomendada a sua administração na gravidez e durante o aleitamento. Este antagonista pode ainda exercer efeitos androgénicos devido à sua acção antagonista dos receptores androgénicos, podendo provocar ginecomastia (aumento das mamas) nos homens e galactorreia (secreção de leite) nas mulheres. A

nível do aparelho cardiovascular a cimetidina pode provocar bradicardia e hipotensão contudo, tal como os efeitos a nível do SNC estes são pouco significativos devido às doses terapêuticas usadas serem baixas (Infarmed, I.P.).

A cimetidina, bem como a ranitidina e a nizatidina inibem a metabolização do álcool.

Quanto à duração de acção dos anti-histamínicos H₂ podemos organizá-los de forma crescente, do seguinte modo: cimetidina, ranitidina e famotidina. A nizatidina tem uma acção semelhante à ranitidina (Infarmed, I.P.).

3. Receptores H₃

Os receptores H₃ foram descobertos em 1983 por Schwartz e colaboradores como um auto-receptor pré-sináptico, que medeia a síntese de histamina e inibe a sua libertação a partir de neurónios histaminérgicos do córtex cerebral. (Sander *et al.*, 2008) Em 1999, Lovenberg e colaboradores mencionaram a clonagem destes receptores (Hass *et al.*, 2008).

O gene que codifica os receptores H₃ localiza-se no cromossoma 20q13.33. O cDNA (DNA complementar) isolado do receptor H₃ codifica uma proteína de 445 aminoácidos. Embora tenha sido sugerido que o gene deste receptor consiste em quatro exões e três intrões, pensa-se que a região de codificação do receptor é constituída por três exões e dois intrões. Quando feita uma comparação, a nível de proteína, dos receptores H₃ com os receptores H₁ e H₂, nota-se uma moderada homologia na sequência, respectivamente 22% e 20%. Já para o receptor H₄ observa-se uma homologia de sequência entre 38% e 58%, dentro dos domínios transmembranares (Sander *et al.*, 2008; Bongers *et al.*, 2007).

A identificação da localização cromossómica e elucidação da sequência genómica do receptor H₃ demonstrou que o gene que codifica este receptor contém diversos intrões e, sendo assim o *splicing* alternativo pode originar diferentes isoformas do receptor H₃ com diferentes distribuições e actividade farmacológica (Hass *et al.*, 2008; Bongers *et al.*, 2007).

As isoformas do receptor H₃ podem ser altamente específicas de acordo com a espécie, o que complica a avaliação das diferentes isoformas em relação à eficácia dos ligandos do receptor H₃ *in vivo* (Bongers *et al.*, 2007; Hancock *et al.*, 2003).

O *splicing* alternativo pode ocorrer em quatro regiões diferentes: nas primeiras três o *splicing* conduz à eliminação de vários aminoácidos. Na quarta região o *splicing* alternativo gera isoformas que têm oito aminoácidos adicionais no terminal C. A terceira região contém locais dadores e aceitadores de aminoácidos tornando-a assim uma região altamente variável. Uma vez que o *splicing* alternativo pode ocorrer simultaneamente nas várias regiões indicadas, pode ser gerada uma larga variedade de isoformas de receptores H₃ (Bongers *et al.*, 2007; Hancock *et al.*, 2003).

Estes receptores histamínicos encontram-se distribuídos de forma heterogénea em regiões como: partes anteriores do córtex cerebral, hipocampo, amígdala, núcleo accumbens, estriado/núcleo estriado, tubérculos olfactivos, cerebelo, hipotálamo, substância negra e tronco cerebral. Enquanto que o córtex cerebral e o hipocampo representam áreas importantes para a função cognitiva, o hipotálamo representa uma área importante no mecanismo de homeostase incluindo o controlo do apetite. Nestas regiões os receptores H₃ apresentam-se em elevada densidade o que pode ser relevante no tratamento de patologias como a obesidade (Hancock *et al.*, 2003).

Como hétero-receptores pré-sinápticos, os receptores H₃ controlam a libertação de vários neurotransmissores incluindo aminas biogénicas como acetilcolina, glutamato, dopamina, serotonina, noradrenalina, ácido γ -aminobutírico (GABA) e sistemas peptidérgicos (Figura 11) (Hass *et al.*, 2008; Tokital *et al.*, 2006). Além disso, estes receptores são também expressos no sistema nervoso periférico, por exemplo, no tracto gastrointestinal vias respiratórias e sistema cardiovascular (Sander *et al.*, 2008).

Estudos demonstraram que, ao contrário de outros GPCR, os receptores H₃ possuem um elevado grau de actividade constitutiva *in vivo*. Embora outros receptores acoplados à proteína G demonstrem frequentemente actividade constitutiva em sistemas de expressão artificial, raramente este fenómeno é observado *in vivo* (Hass *et al.*, 2008). A actividade constitutiva varia dependendo da espécie, isoforma, densidade do receptor e linhas de células (Sander *et al.*, 2008).

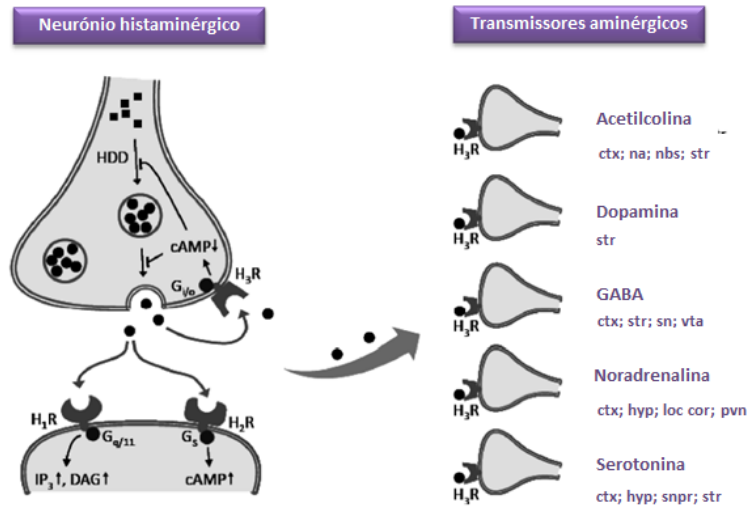


Figura 11: Auto e hetero-receptores H₃

- histamina; ctx: córtex; HDD: histamina descarboxilase; hyp: hipocampo; IP₃: inositol trifosfato; DAG: diacilglicerol; loc cor: locus coeruleus; na: núcleo accumbens; nbs: núcleo basal magno celular; pvn: núcleo para-ventricular; sn: substância negra; str: estriado; vta: área ventral tegmental.

(Adaptado de Sander *et al.*, 2008)

Estudos com ratos demonstraram que a perda na função dos receptores H₃ provoca anomalias comportamentais tais como locomoção reduzida, síndrome metabólica com hiperfagia, obesidade com início tardio, aumento da insulina e leptina e aumento da gravidade de doenças neurodegenerativas. Deste modo, a existência de diferentes ligandos dirigidos e competitivos para e com os estados activos dos receptores H₃ definem uma nova entidade farmacológica, actividade referida como agonismo com importantes implicações funcionais e terapêuticas (Hass *et al.*, 2008).

3.1. Transdução de sinal do receptor H₃

Nos pontos seguintes serão explicados de forma pormenorizada os processos de transdução de sinal mediados pelos receptores H₃ apoiados pela figura 12 de forma a facilitar a compreensão de cada ponto.

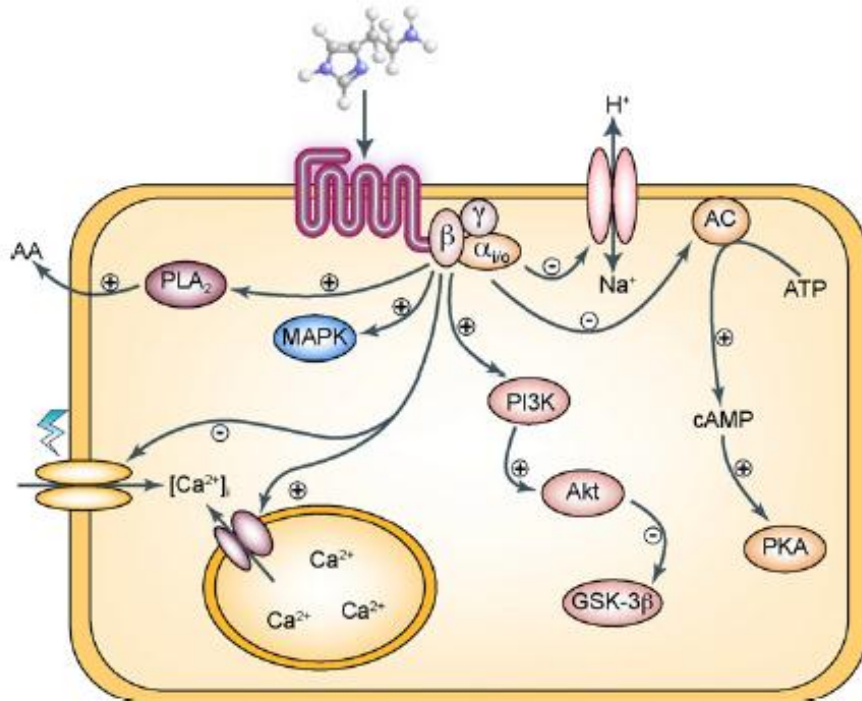


Figura 12: Representação esquemática da transdução de sinal mediado pelos receptores H₃.

Inibição da adenilciclase; activação da fosfolipase A₂; modulação via MAPK; activação do eixo Akt/GSK3β; modulação do cálcio intracelular e inibição da actividade dos canais de troca Na⁺/H⁺

(Bongers *et al.*, 2007)

3.1.1. Inibição da adenilciclase

Os receptores H₃ encontram-se acoplados à proteína G_{i/o} e regulam negativamente os níveis de cAMP intracelular. Ao inibir a adenilciclase ocorre uma diminuição do cAMP intracelular e por conseguinte a activação da PKA é inibida. A PKA participa em várias vias de sinalização que conduzem a diversas respostas biológicas incluindo a expressão de genes, plasticidade sináptica e o comportamento (Bongers *et al.*, 2007).

3.1.2. Activação da fosfolipase A₂ (PLA₂)

A activação da PLA₂ resulta da activação da proteína G_{i/o} e é responsável pela libertação do ácido araquidónico, ácido docosahexaenóico (DHA) e lisofosfolípidos. Estes metabolitos além de terem efeitos fisiológicos servem como substratos para a síntese de

mediadores lipídicos mais potentes tais como o factor de activação das plaquetas, eicosanóides e 4-hidroxinonal. Este último composto devido à sua toxicidade está associado com a morte celular por apoptose neuronal associada com a progressão da doença de Alzheimer, a isquemia ou a doença de Parkinson (Sander *et al.*, 2008; Bongers *et al.*, 2007).

3.1.3. Modulação da via mitogénio activador das proteínas cinase (MAPK)

Para além do receptor H₃ ser mediado pela proteína G_{i/o}, as subunidade G_{βγ} são conhecidas por activar sinais de transdução específicos de vias como a via MAPK. Esta via exerce efeitos pronunciados no crescimento, diferenciação e sobrevivência celular mas também na plasticidade neuronal e processos de memória. (Bongers *et al.*, 2007)

3.1.4. Activação do eixo Akt/GSK_{3β}

A activação do eixo Akt/GSK_{3β} (complexo proteína cinase B e, glicogénio síntese cinase 3β, do inglês *Glycogen Synthase Kinase-3β*) é mediada pelo receptor H₃ sendo independente da activação do receptor Scr/EGF e da via MAPK. Contudo esta activação é semelhante a outros GPCRs e ocorre através da activação da fosfoinositol cinase 3 (PI₃K), através da subunidade G_{βγ} da proteína G_{i/o} (Sander *et al.*, 2008; Bongers *et al.*, 2007).

Este eixo desempenha um papel importante na função cerebral e tem sido implicado na migração neuronal e na protecção contra a apoptose neuronal. Acredita-se que este eixo se encontra alterado na doença de Alzheimer, desordens neurológicas e na esquizofrenia (Sander *et al.*, 2008; Bongers *et al.*, 2007).

O papel neuroprotector endógeno exercido pelos receptores H₃ poderia ser explicado pelo mecanismo de regulação positiva destes receptores e subsequente sinalização constitutiva pelo eixo Akt/GSK_{3β} (Sander *et al.*, 2008; Bongers *et al.*, 2007).

3.1.5. Modulação do cálcio intracelular

A activação dos receptores H₃ promove uma diminuição na mobilização de Ca²⁺ intracelular induzida por K⁺. Este mecanismo de transdução de sinal foi subsequentemente ligado ao efeito inibitório dos receptores H₃ na exocitose de noradrenalina em algumas células do neuroblastoma (Bongers *et al.*, 2007; Hancock *et al.*, 2003).

Estudos demonstram que o efeito de mobilização de Ca²⁺ intracelular induzida por K⁺ está ligado à inibição da PKA mediada pelo receptor H₃. Contudo, nenhum efeito foi observado nos níveis de Ca²⁺ intracelular, neste tipo de células, após administração de agonistas dos receptores H₃ (Bongers *et al.*, 2007; Hancock *et al.*, 2003).

3.1.6. Inibição da actividade de permuta Na⁺/H⁺

A permuta de Na⁺/H⁺ é essencial para a restauração do pH fisiológico intracelular. Através da permuta de um H⁺ intracelular por um de Na⁺ extracelular a acidificação durante a isquemia fica impedida (Bongers *et al.*, 2007).

Quando há um aumento de Na⁺ no meio interneuronal a troca de Na⁺ e Cl⁻ é forçada. O processo de acumulação de aminas é dependente de Na⁺ e Cl⁻ e é mediado por um transportador que se encontra localizado na membrana externa dos neurónios catecolaminérgicos, e que apresenta elevada afinidade para a noradrenalina (Bongers *et al.*, 2007).

Os receptores H₃ diminuem a actividade de permuta Na⁺/Cl⁻ neuronal. Esta teoria foi proposta como explicação do mecanismo pelo qual os receptores H₃ inibem a libertação excessiva de noradrenalina durante a isquemia prolongada do miocárdio. Por esta razão os agonistas dos receptores H₃ são propostos como tendo um potencial terapêutico importante na isquemia do miocárdio. A modulação negativa de noradrenalina pode prevenir arritmias e morte cardíaca súbita (Bongers *et al.*, 2007).

Pouco se sabe sobre o mecanismo pelo qual os receptores H₃ inibem a actividade de permuta Na⁺/H⁺. Em geral, os GPCRs são conhecidos por activar estes canais através de cinases como MAPK. No entanto, pouco se sabe sobre os mecanismos de sinalização

dos GPCRs que atenuam a actividade dos canais de troca iónica, embora a interacção directa de proteínas G_{ai/o} tenha sido sugerida para explicar a inibição da permuta Na⁺/H⁺ (Bongers *et al.*, 2007).

4. Receptores H₄

Os receptores H₄ encontram-se acoplados à proteína G_{i/o} e apresentam uma sequência proteica semelhante aos receptores H₃ (Haas *et al.*, 2008).

Os receptores H₄ são principalmente expressos nas células do sistema imunológico, como os eosinófilos, linfócitos T, células dendríticas, mastócitos e basófilos. Recentemente, também foi detectada a expressão de receptores H₄ no SNC (Igel *et al.*, 2010).

A activação dos receptores H₄ ainda não é muito bem compreendida contudo, sabe-se que a activação destes receptores induz a quimiotaxia dos eosinófilos e mastócitos e desencadeia a mobilização de cálcio nos mastócitos, monócitos e eosinófilos. Além disso, os receptores H₄ modulam a libertação de vários mediadores inflamatórios (Marson, 2011; Igel *et al.*, 2010).

Os receptores H₄ quando activados regulam negativamente a AC inibindo a produção de cAMP e, conseqüentemente a inibição do factor CREB que é responsável pela transcrição de vários genes. A subunidade βγ está envolvida na activação da fosfolipase Cβ (PLC-β) que hidroliza outros mensageiros que levam ao aumento das concentrações de cálcio intracelular. A activação da G_{i/o}α estimula o MAPK que actua na regulação genética (Figura 13) (Esch *et al.*, 2005).

A presença de receptores H₄ em células imunológicas sugere que este novo receptor da histamina desempenha um papel importante na modulação do sistema imunológico. Esta hipótese é apoiada pelo facto destes receptores serem modulados pela interleucina 10 (IL-10) e pela interleucina 13 (IL-13) e pelos sítios de ligação de factores de transcrição regulados por citoquinas, tais como o elemento de resposta estimulado pelo interferão (ISRE, do inglês *Interferon-Sensitive Response Element*), o NFκB e o factor nuclear-IL6 (NF-IL6) estarem presentes a montante do gene do receptor H₄ (Lim *et al.*, 2005).

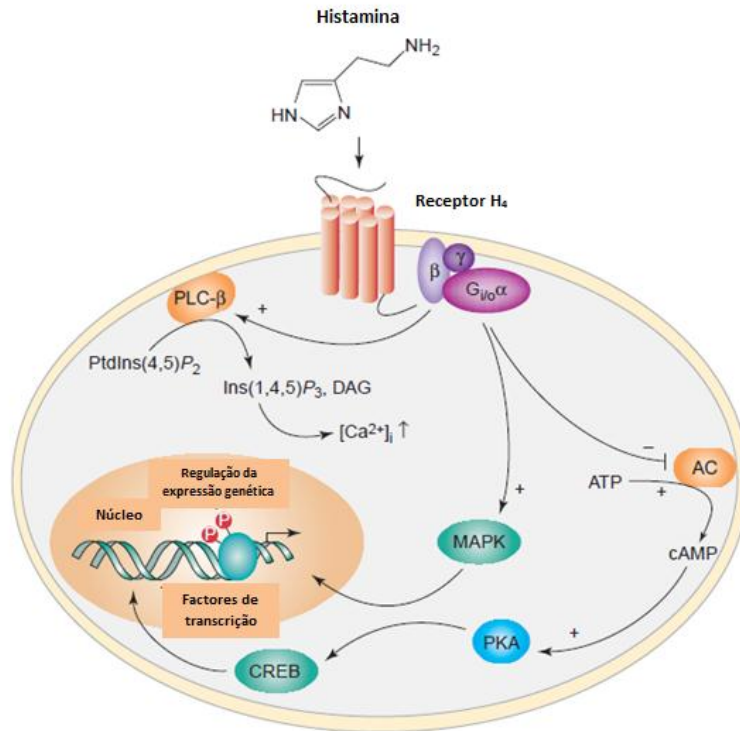


Figura 13: Transdução de sinal dos receptores H₄.

(Adaptado Esch *et al.*, 2005)

As funções fisiológicas dos receptores H₄ incluem a libertação de interleucina 16 (IL-16) por CD8⁺ mediada pelas células T, respostas quimiotáticas e alterações do citoesqueleto dos eosinófilos, quimiotaxia e mobilização de cálcio intracelular em mastócitos e controlo da produção de leucotrieno B4 pelos mastócitos que, posteriormente, leva a um recrutamento neutrofílico (Lim *et al.*, 2005).

4.1. Anti-histamínicos H₄

Como referido, os receptores H₄ apresentam uma grande semelhança proteica com os receptores H₃. Estudos demonstraram que a maioria dos ligantes dos receptores H₃ contendo imidazol, desenvolvidos na década de 1980 e 1990, apresentam uma afinidade significativa para os receptores H₄.

O receptor H₄ pode então ser activado pelos agonistas H₃R como imepit, imetit e (R)- α -metilhistamina.

Além disso, o receptor H₄ é activado pela burimamida, antagonista H₂R-H₃R e o antagonista H₃R, clobenpropit. A tioperamida, um agonista inverso dos receptores H₃, é também um agonista inverso no receptor H₄.

Actualmente, têm-se desenvolvido novos ligantes com uma maior selectividade para o receptor H₄. Recentemente surgiu o composto OUP16 que tem sido descrito como um agonista total dos receptores H₄ com moderada afinidade e especificidade para estes receptores. Além disso, 4-metil-histamina tem sido identificada como um agonista mais potente e selectivo do receptor H₄ que o composto OUP16 (Esch *et al.*, 2005).

Em relação ao local de ligação do ligando ao receptor H₄ ainda pouco se sabe. Contudo, a bolsa de ligação da histamina tem sido identificada como contendo três domínios transmembranares: TM3, TM5 e TM6 (Esch *et al.*, 2005).

CAPITULO III: Anti-histamínicos H₃

As aplicações terapêuticas dos anti-histamínicos H₃ têm sido amplamente discutidas em revisões recentes (Tedford *et al.*, 1995; Komater, 2005; Howard, 2004; Fox *et al.*, 2003; Sander *et al.*, 2008; Hancock, 2003; Yoshimatsu *et al.*, 1999; Vohora *et al.*, 2001; Harada *et al.*, 2004; Onodera *et al.*, 1994; Ito, 2004; Farzin *et al.*, 2002; Pillot *et al.*, 2003; Celanire *et al.*, 2005). Existem fortes indicações de que os ligandos destes receptores podem ser utilizados para corrigir várias desordens do SNC apresentando especial interesse para correção de distúrbios cognitivos e está comprovado também que interferem nos processos de memória. Na realidade, estudos em ratos têm demonstrado que os antagonistas de H₃R melhoram a taxa de aprendizagem (Tedford *et al.*, 1995; Komater, 2005). Existem algumas sugestões de que a memória é reforçada como resultado dos efeitos de antagonistas dos receptores H₃ e, deste modo, estas moléculas podem também ser úteis, em particular, no tratamento da doença de Alzheimer. Estudos em modelos animais demonstraram que além de exercerem efeito sobre as propriedades cognitivas de aprendizagem e memória, os antagonistas dos receptores H₃ exercem também efeitos directos sobre a libertação de neurotransmissores particularmente a acetilcolina, dopamina e noradrenalina (Howard, 2004; Fox *et al.*, 2003).

Os receptores histaminérgicos H₃ possuem também um papel na regulação da ingestão de alimentos e por isso os antagonistas destes receptores apresentam interesse terapêutico no tratamento da obesidade (Sander *et al.*, 2008; Hancock, 2003; Yoshimatsu *et al.*, 1999). Os antagonistas H₃R têm também demonstrado diminuir a susceptibilidade de convulsões induzidas por estímulos eléctricos em ratos, indicando uma possível utilização no tratamento da epilepsia (Vohora *et al.*, 2001; Harada *et al.*, 2004). Além disso, foi sugerido o uso destes antagonistas no tratamento da depressão (principalmente através da via da serotonina) e da esquizofrenia (através da via da dopamina) (Onodera *et al.*, 1994; Ito, 2004). Também têm sido relatados efeitos sobre a dor, abuso e dependência de drogas (Farzin *et al.*, 2002; Pillot *et al.*, 2003).

Algumas abordagens de combinações têm sido sugeridas, tal como a combinação de antagonistas do H₃R e H₁R no tratamento da asma com actividade descongestionante nasal e de antagonistas H₃R e M₂R (receptores muscarínicos M₂) no tratamento de

distúrbios cognitivos tais como a doença de Alzheimer. Além disso, tem-se demonstrado que a utilização de antagonistas H₃R em combinação com anti psicóticos ou agentes antidepressivos, promove uma redução dos efeitos adversos induzidos por estes fármacos (Celanire *et al.*, 2005).

1. Relação estrutura actividade

Os anti-histamínicos do H₃R podem ser divididos em dois grandes grupos de acordo com a sua estrutura: anti-histamínicos imidazólicos e anti-histamínicos não imidazólicos. As modificações na estrutura base conduziram à obtenção de novos compostos que diferem dos iniciais principalmente a nível de potência, afinidade e acção terapêutica.

O local de ligação para os antagonistas H₃R foi determinado por estudos mutagénicos, concluindo-se que este se localiza na região entre o aspartato 114 (Asp 114) e glutamato 206 (Glu 206). Os receptores H₃ são caracterizados pela presença de um resíduo de ácido aspártico altamente conservado na hélice 3. Este resíduo mostrou ser importante para a ligação de ligandos contendo o grupo amina básico (Rai *et al.*, 2009; Axe *et al.*, 2005).

Ambos os resíduos localizados nas extremidades opostas do local de ligação, Asp 114 e Glu 206, podem estabelecer fortes interacções electrostáticas ou ligações de hidrogénio com os grupos complementares nos ligantes (Rai *et al.*, 2009).

1.1. Anti-histamínicos H₃ imidazólicos

No início de 1980 surgiram os primeiros antagonistas H₃R que tinham como base o agonista endógeno destes receptores, a histamina. Manteve-se o anel imidazol da histamina e surgiu um fragmento polar ligado ao imidazol por um espaçador alquilo e um grupo lipofílico terminal (Figura 14) (Lorenzi *et al.*, 2005; Celanire *et al.*, 2005).

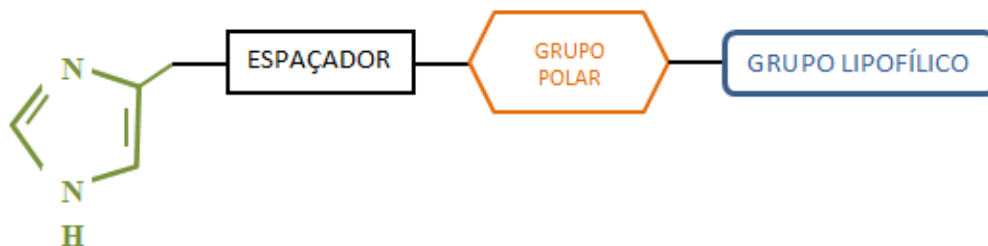


Figura 14: Estrutura geral dos anti-histamínicos H₃R imidazólicos. Representação do anel imidazol unido por intermédio de um espaçador a um grupo polar, este ligado a um grupo lipofílico.

(Adaptado de Celanire *et al.*, 2005)

Os primeiros compostos que surgiram constituem compostos de referência pois têm sido usados para caracterizar os H₃R. De entre os referidos compostos destacam-se: R- α -metil-histamina, N-metil-histamina, imetit, immapip (Figura 15). Após descoberta dos receptores H₄ (H₄R) tornou-se evidente a baixa selectividade destes compostos para os H₃R (Celaire *et al.*, 2005).

Mais recentemente surgiram os compostos immetridina e metimepip que se apresentam como potentes agonistas selectivos dos H₃R em relação aos H₄R, com margem de selectividade de 288 e 200, respectivamente (Celaire *et al.*, 2005).

Até 1998 considerou-se essencial a existência de um anel imidazol para uma potente actividade antagonista do H₃R. Contudo, os antagonistas de referência apresentam grandes inconvenientes. Por exemplo, a tioperamida revela-se como potente agonista inverso do H₄R (Jablonowski *et al.*, 2003); o clobenpropit além de potente agonista inverso do H₃R, possui também excelente actividade agonista sobre o H₄R (Liu *et al.*, 2001); o proxyfan, que inicialmente foi descrito como antagonista H₃R com elevada afinidade, foi reclassificado como ligando proteico do H₃R. Esta reclassificação foi necessária com vários outros ligandos contendo anel imidazol (Celaire *et al.*, 2005).

Na verdade, os compostos tais como tioperamida, ciproxifan e clobenpropit são, tal como os compostos iniciais, utilizados principalmente como estruturas de referência, pois o anel de base contém diversas potenciais questões problemáticas como a interferência com o CYP450 o que pode comprometer a metabolização de diversos medicamentos, podendo ocorrer interacções fármaco-fármaco e ainda efeitos

extrapiramidais (Lin *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2005). Sendo assim, estes compostos são excluídos do desenvolvimento como agentes terapêuticos (Sander *et al.*, 2008).

Outro ponto de preocupação é que o anel imidazol é um forte receptor e dador de ligações de hidrogénio, o que em alguns ligantes pode levar à redução da biodisponibilidade oral e prejudicar a penetração cerebral (Sander *et al.*, 2008).

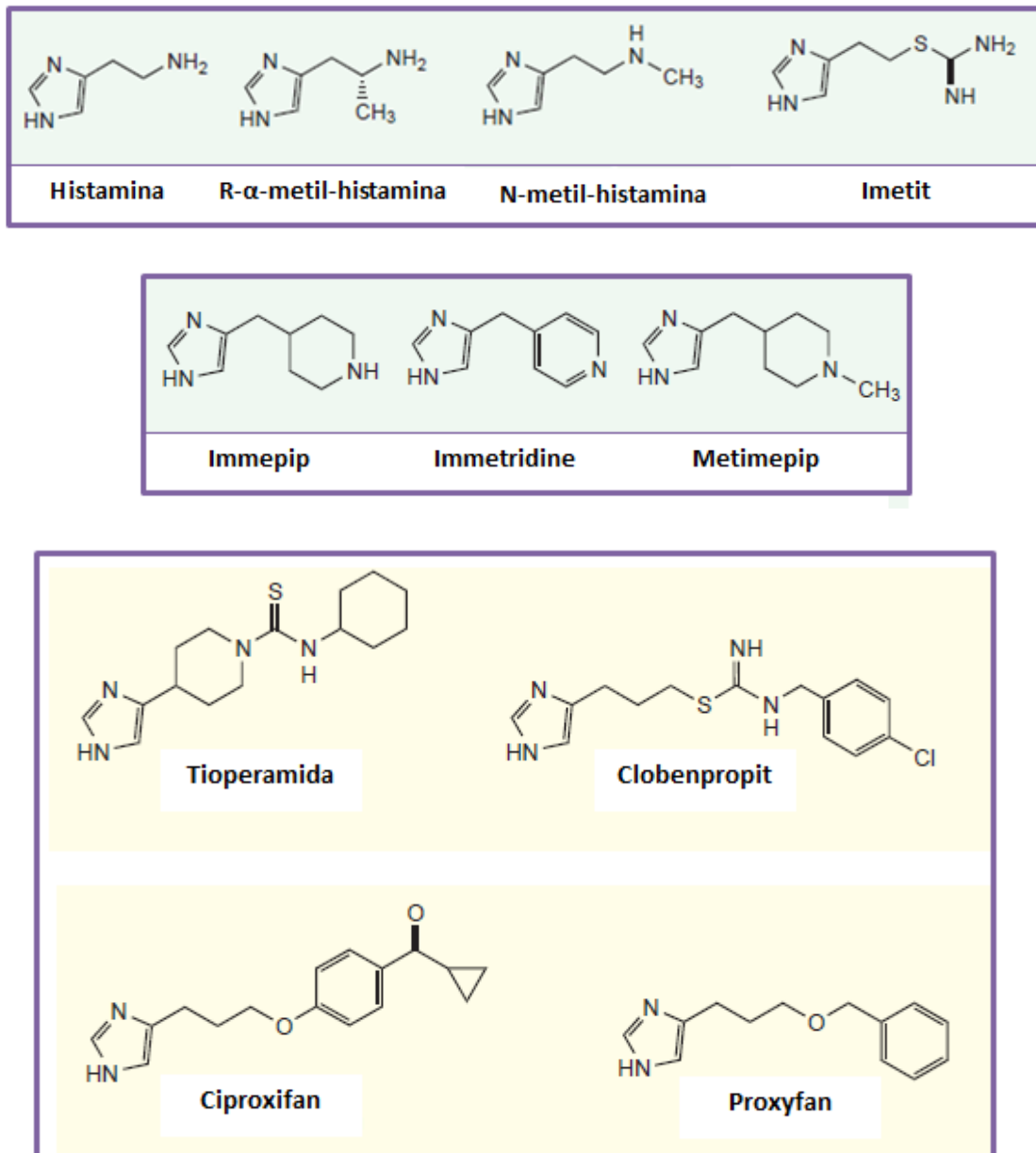


Figura 15: Anti-histamínicos H₃R clássicos.

(Adaptado de Celanire *et al.*, 2005)

Embora, pelos motivos já referidos, os antagonistas imidazólicos apresentem menos relevância terapêutica que os não imidazólicos, novas estruturas têm sido estudadas a fim de serem usadas como ferramentas farmacológicas, ou seja, para a diferenciação dos subtipos de receptores da histamina ou esclarecimento de aspectos moleculares (Sander *et al.*, 2008).

1.2. Anti-histamínicos H₃ não imidazólicos

Os primeiros anti-histamínicos que surgiram, anti-histamínicos contendo um anel imidazol foram descartados uma vez que interferem com o CYP450 e, conseqüentemente, podem comprometer o metabolismo de medicamentos administrados concomitantemente (Celanire *et al.*, 2005; Faghieh *et al.*, 2002).

Os antagonistas H₃R não imidazólicos surgiram então a fim de colmatar as limitações dos anti-histamínicos imidazólicos. No seguimento disto despontaram então compostos cuja estrutura geral se baseia numa primeira parte básica unida a um núcleo central por intermédio de um espaçador e uma última porção que pode ser um grupo polar (aceitador ou dador de hidrogénio), uma segunda parte básica ou ainda um resíduo lipofílico (Figura 16).

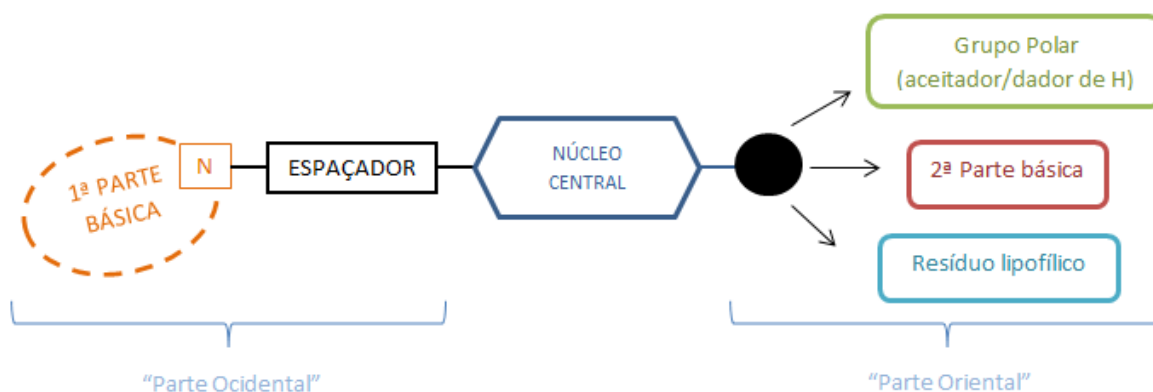


Figura 16: Anti-histamínicos H₃R não imidazólicos.

O anel imidazol foi eliminado verificando-se uma primeira parte básica unida por um espaçador a um núcleo central, este último encontra-se ligado a um grupo polar, uma segunda parte básica ou a um resíduo lipofílico.

(Adaptado de Celanire *et al.*, 2005)

Em vez do anel imidazólico, os compostos deste grupo possuem uma variedade de aminas secundárias e na maior parte terciárias, em forma de heterociclos alifáticos (piperazina, pirrolidina, 2-aminopirrolidina e os elementos de morfolina) acoplados a fim de encontrar uma estrutura de substituição adequada (Figura 17).

A piperidina é o elemento básico de eleição uma vez que, além de ser fácil de usar em síntese, revelou ser o que provoca um maior aumento na potência e diminuição de interações farmacocinéticas, enquanto que substituições maiores ou oxidação deste heterociclo alifático provoca, em certa medida, diminuição ou perda de afinidade (Sander *et al.*, 2008).

Os grupos metilo são centros básicos que interagem perfeitamente com o Asp 114 e Glu 206 (Sander *et al.*, 2008).

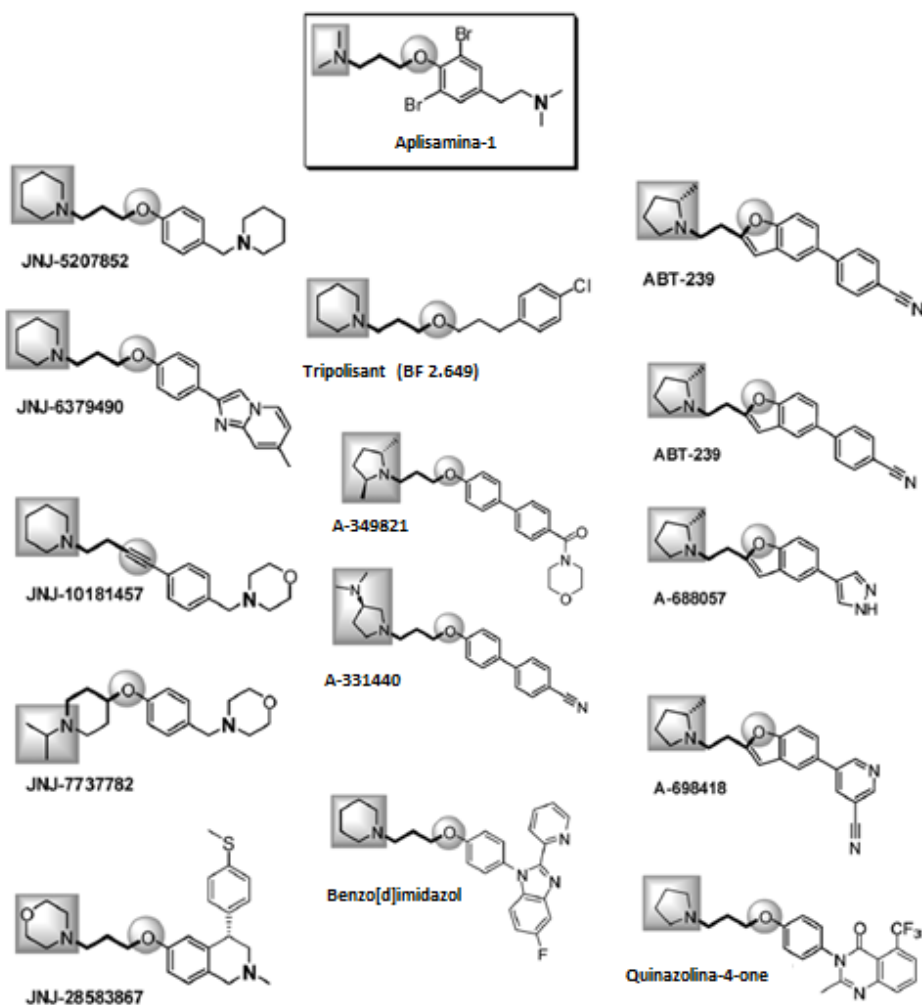


Figura 17: Anti-histamínicos H₃R não imidazólicos.

(Adaptado de Sander *et al.*, 2008)

A variabilidade de compostos é conseguida através de pequenas e distintas modificações no radical da porção básica bem como substituições generalizadas do núcleo central. As modificações na “parte oriental” da molécula têm como limitação o tamanho da molécula, enquanto que na “parte ocidental” da molécula pequenas variações estruturais levam a perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos distintos decidindo qual o papel do ligante e a sua possível aplicação terapêutica (Sander *et al.*, 2008).

Em 1994 foi patenteado o primeiro antagonista H₃R, um ligando natural extraído da esponja marinha *Aplysina sp.* (Verogidae). O composto designa-se por aplisamina-1 e apresenta uma moderada actividade antagonista H₃R. A partir de modificações intensas tanto a nível das duas estruturas base como do comprimento do espaçador deste primeiro ligante natural desenvolveram-se vários ligantes baseados na diamina (Sander *et al.*, 2008).

Actualmente são diversos os compostos que actuam como anti-histamínicos H₃R, contudo nem todos podem ser usados como agentes terapêuticos e outros foram descartados em estudos pré-clínicos por causarem efeitos adversos ou por não exercerem o efeito desejado.

2. Anti-histamínicos H₃ no tratamento da obesidade

2.1. Obesidade

A obesidade tornou-se um grave problema de saúde pública mundial e com relevantes consequências para a economia dos países (James, 2008; Bessesen, 2008). A forma mais comum de classificar a obesidade é pelo índice de massa corporal (IMC), que é calculado pela divisão do peso do indivíduo em Kg pela altura em m². O resultado é analisado da seguinte forma: pessoas com IMC acima de 25 apresentam excesso de peso, enquanto que um IMC acima de 30 representa obesidade. Tanto o excesso de peso como a obesidade são factores de risco para várias complicações de saúde, muitas vezes referidas como o síndrome metabólico (Grundy *et al.*, 2006; Despres *et al.*, 2005). O síndrome metabólico é caracterizado por uma circunferência da cintura maior que 94cm nos homens e maior que 80cm nas mulheres; por valores de triglicéridios superiores a

150 mg/dl; níveis de colesterol HDL (High-density lipoprotein) inferiores a 40 mg/dl nos homens ou inferiores a 50 mg/dl nas mulheres; pressão arterial maior que 130/80 mm Hg; glicose em jejum elevada, valores superiores a 100 mg/dl (5.6 ml/L) ou; diabetes tipo 2 previamente diagnosticado (Guerreiro *et al.*, 2010).

Além disso, a obesidade leva a um elevado risco para o desenvolvimento de outras doenças, como a doença não-alcoólica do fígado gorduroso, osteoartrite, apneia do sono, alterações cognitivas e até mesmo certas formas de cancro (Haslam e James, 2005).

Embora o IMC continue a ser um indicador útil para o risco geral de saúde, tornou-se claro que as complicações de saúde são largamente dependentes da localização e actividade dos diferentes depósitos de gordura. Para uma dada quantidade de gordura corporal total, os indivíduos com um excesso predominante de tecido adiposo intra-abdominal ou visceral estão em risco consideravelmente maior de se tornarem resistentes à insulina ou de adquirirem qualquer uma das outras características do síndrome metabólico (Despres e Lemieux, 2005; Fox *et al.*, 2007; Kuk *et al.*, 2006). Além disso, uma avaliação baseada apenas no IMC aumenta o risco de se fazer um diagnóstico incompleto, uma vez que a pessoa pode apresentar gordura acumulada dentro de órgãos como por exemplo coração e fígado ou ainda no tecido muscular (Han *et al.*, 2006; Romero-Corral *et al.*, 2010).

O fenótipo dos adipócitos e a infiltração de células imunológicas são considerados factores determinantes para o desenvolvimento de complicações metabólicas. Tem sido mostrado que o tecido adiposo pode iniciar e manter um processo inflamatório de baixo grau, o que por sua vez activa as respostas inflamatórias no fígado e outros órgãos (Shoelson *et al.*, 2007). Outro factor de risco importante é a presença de níveis elevados de ácidos gordos livres no plasma. É então compreensível que o problema da obesidade tenha aumentado consideravelmente a actividade no desenvolvimento farmacêutico, que muitas vezes vai muito além de alcançar ou manter um peso corporal saudável. A figura 18 ilustra a grande diversidade de potenciais alvos na terapêutica anti-obesidade (Witkamp, 2011).

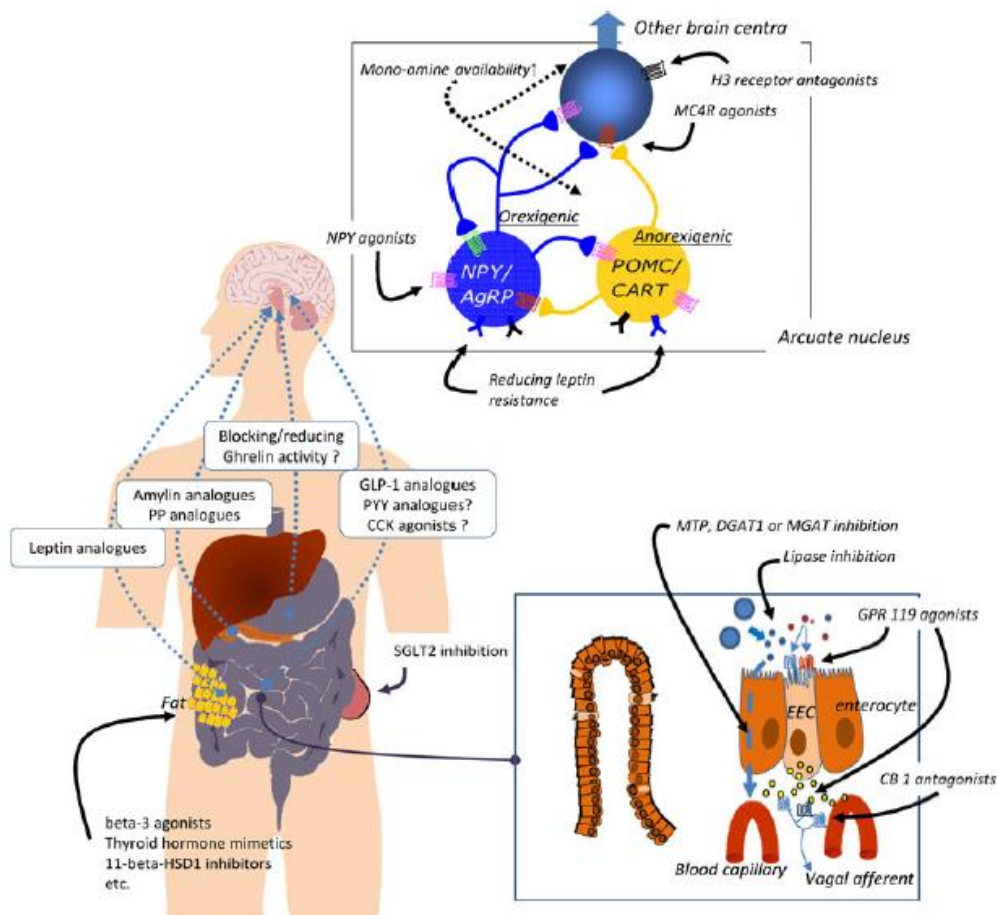


Figura 18: Potenciais alvos terapêuticos no tratamento da obesidade. Entre eles encontram-se os receptores H_3 .

(Adaptado de Witkamp, 2011)

2.2. Tratamento da obesidade com anti-histamínicos H_3

O aumento da prevalência da obesidade em todo o mundo criou a necessidade do desenvolvimento de tratamentos anti-obesidade com resultados superiores aos de medicamentos actuais.

A modulação da actividade histaminérgica do SNC representa um novo mecanismo para o tratamento da obesidade uma vez que os receptores pós-sinápticos H_1 induzem o aumento de peso, enquanto que os antagonistas H_3R causam a perda de peso (Witkamp, 2011).

Os antagonistas H_3R têm despertado maior interesse para uso como agentes terapêuticos anti-obesidade uma vez que os receptores H_3 são expressos maioritariamente no cérebro. Uma das zonas em que se apresenta com maior densidade é o hipotálamo que

representa uma área importante na regulação mecanismo de homeostase incluindo o controle do apetite (Hancock *et al.*, 2003).

Vários compostos têm sido estudados e propostos para o tratamento da obesidade, sendo o A-331440 um exemplo. Este composto é um agonista inverso H₃R, apresenta boa afinidade e elevada selectividade para os receptores H₃ e, em estudos com ratos, demonstrou produzir uma perda significativa de peso, reduzir a tolerância à insulina e ainda reduzir os níveis de leptina. Contudo, demonstrou também ser um composto genotóxico e portanto o seu desenvolvimento foi descontinuado. Apesar disso, os seus análogos A-417022 e A-423579 (Figura 19), mostram que o padrão de substituição modifica fortemente os efeitos tóxicos (Sander *et al.*, 2008; Witkamp, 2011).

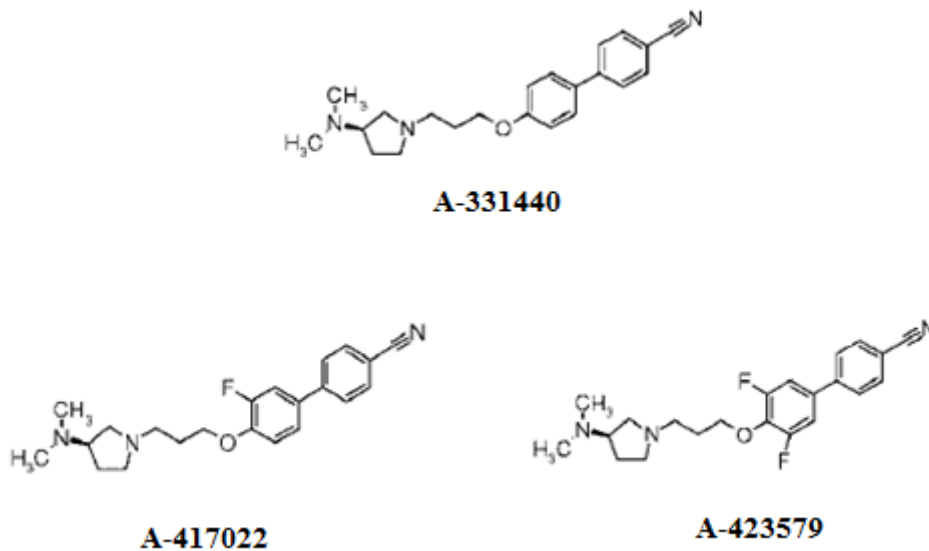


Figura 19: Anti-histamínicos H₃ no tratamento da obesidade.

(Adaptado de Hancock *et al.*, 2004)

O papel metabólico dos anti-histamínicos H₃ no tratamento de doenças metabólicas ainda não está bem claro contudo pensa-se que o bloqueio do H₃R promova uma redução no consumo de energia, peso corporal e triglicérides no plasma (Sander *et al.*, 2008).

Observou-se em pacientes tratados com certos antipsicóticos e antidepressivos um aumento de peso resultante do bloqueio dos receptores H₁ para os quais estes medicamentos demonstravam elevada afinidade. Também foi demonstrado que os alimentos por si só aumentam os níveis de histamina cerebral no hipotálamo e consequentemente a ingestão de alimentos é suprimida. Isto sustenta a ideia que o sistema histaminérgico desempenha um papel regulador no consumo de alimentos. Esta e outras evidências sustentam a hipótese de que o aumento dos níveis de histamina como resultado da inibição dos receptores H₃ promove uma diminuição do consumo de alimentos (Gemkow *et al.*, 2009).

Um outro estudo com animais demonstrou que o composto imidazólico clobenpropit para além de aumentar a libertação de histamina no hipotálamo, reduzindo assim o consumo de energia em animais normais, promove ainda a resistência à leptina nos animais em que a obesidade foi induzida. Obviamente, estes efeitos moduladores de H_{3R} são mais complexos não sendo só mediados pela libertação de histamina, mas também regulado através de uma variedade de receptores de neurotransmissores (Sander *et al.*, 2008; Passani *et al.*, 2011).

3. Anti-histamínicos H₃ no tratamento da doença de Alzheimer

3.1. Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (AD) é uma doença degenerativa do SNC caracterizada pela morte das células cerebrais e consequente atrofia do cérebro. É uma doença progressiva, irreversível que inicialmente atinge a memória, mas progressivamente outras funções mentais levando à perda de autonomia dos doentes (Portal da Saúde, 2005).

A idade é um factor predisponente sendo que afecta principalmente pessoas com mais de 50 anos. A causa da doença ainda não é conhecida e é sugerida como uma doença genética não sendo necessariamente hereditária (Portal da Saúde, 2005).

É uma doença com impactos sociais fortes uma vez que os doentes deixam de reconhecer rostos familiares ou mesmo o próprio rosto quando colocados em frente ao

espelho. Geralmente tornam-se incontinentes e, quase sempre, acabam acamados devido à perda de autonomia (Portal da Saúde, 2005).

Inicialmente os sintomas como dificuldades de memória e perda de capacidades intelectuais podem ser tão subtis que passam despercebidos tanto pelo doente como pelas pessoas que lhe são mais próximas. No entanto, à medida que a doença progride, os sintomas tornam-se cada vez mais notórios e começam a interferir com a rotina e com as actividades sociais. As dificuldades práticas com as tarefas diárias, como vestir, lavar e ir à casa de banho tornam-se gradualmente tão severas que, com o tempo, a pessoa fica completamente dependente dos outros (Portal da Saúde, 2005).

3.2. Tratamento da doença de Alzheimer com anti-histamínicos H₃

A transmissão colinérgica é um importante modulador do processo cognitivo. Actualmente, os compostos que existem no mercado para combater a AD, como por exemplo o donepezilo, actuam neste ponto através da inibição da acetilcolinesterase (AChE), enzima responsável pela degradação da acetilcolina (ACh). Deste modo, ocorre um aumento da ACh pós-sináptica, o que promove uma diminuição modesta dos sintomas e progressão da AD. Contudo, a fisiopatologia da AD leva a que os efeitos terapêuticos destes compostos fiquem comprometidos uma vez que dependem da síntese de ACh endógena e esta se encontra em défice na AD devido a perda significativa das células colinérgicas que acompanha a evolução desta patologia (Bitner *et al.*, 2010).

O comprometimento da eficácia terapêutica dos compostos que actuam na AChE levou à necessidade do desenvolvimento de novas formas terapêuticas para a AD. Os antagonistas H₃R, devido ao papel que desempenham na actividade cognitiva têm sido explorados como possíveis fármacos no tratamento de desordens cognitivas, particularmente na AD (Bitner, 2011; Brioni *et al.*, 2011).

O desenvolvimento de antagonistas H₃R tem-se centrado nas duas proteínas envolvidas na AD: o β-amilóide, um produto aberrante sintetizado a partir da proteína percussora amilóide (APP) que leva à formação de placas Aβ; a proteína tau, proteína responsável

pela estabilização dos microtúbulos que além da sustentação, desempenham um papel na comunicação e no processamento da informação celular. A proteína tau apresenta-se na AD no seu estado anormal, hiperfosforilada, originando filamentos helicoidais que integram os emaranhados neurofibrilares. O desenvolvimento de compostos que actuem na activação das vias celulares que inibem a sinalização da cinase e consequentemente inibem a hiperfosforilação da proteína tau pode ser viável no tratamento da AD (Brioni *et al.*, 2011; Bitner *et al.*, 2010).

Os receptores H₃ comportam-se como auto e hétero-receptores. Os hétero-receptores H₃ quando ocupados por antagonistas H₃R promovem a libertação de ACh, dopamina (DA), noradrenadina (NA) e serotonina (5-HT), actuam portanto como agonistas indirectos dos receptores de neurotransmissores. Estes neurotransmissores levam à activação de cascatas de vias de sinalização pós-sinápticas que culminam na fosforilação do factor CREB (Bitner, 2011; Brioni *et al.*, 2011).

O factor CREB medeia a transcrição de vários genes, e tem sido associado como um factor fundamental na aprendizagem e memória. A fosforilação deste factor leva à transcrição de genes que desempenham um papel fundamental na plasticidade sináptica e funções cognitivas (Figura 20). Por outro lado, a deficiente fosforilação de CREB está associada a desordens neurodegenerativas, em particular na AD (Bitner, 2011).

A figura 20a representa a transdução de sinal em condições fisiológicas. Num estado normal, a fosforilação do factor CREB e consequente transcrição de genes no sistema nervoso central pode ocorrer por meio da estimulação de vários receptores de superfície de células neuronais e dos canais de iões. Aqui incluem-se os receptores de neurotrofinas (NTR), por exemplo, TrkB; GPCRs e receptores muscarínicos; receptores de canais iónicos bloqueados pelos ligandos (LGICs); receptores nicotínicos de acetilcolina (nACh) e canais iónicos voltagem dependentes (VGICs). Subsequentemente, a fosforilação de CREB em Ser-133 é regulado através de cascatas de mensageiros secundários, que incluem a activação de: proteína RAS dependente de MAPK/ERK (sinal extracelular regulado por cinases) mediada pela cinase ribossomal S6 (RSK); Ca²⁺/calmodulina dependente da proteína cinase IV (CaMKIV) e cAMP mediada pela PKA. O dímero CREB fosforilado é conhecido por iniciar a transcrição de numerosos produtos dos genes, tais como: factor neurotrófico derivado do cérebro (BDNF); tirosina hidroxilase (TH), e factor de libertação de corticotropina (CRF).

Por outro lado, em condições patológicas (Figura 20b) existe evidência crescente de que o péptido solúvel A β (1-42) é a espécie tóxica associada à AD. Especificamente, os péptidos A β monoméricos originam progressivamente oligómeros solúveis maiores, que desempenham um papel neurotóxico na disfunção neuronal e sináptica afectando factores celulares envolvidos na função cognitiva. O oligómero A β aumenta a actividade da fosfatase reduzindo a fosforilação de CREB e a subsequente a síntese de produtos genéticos, tais como BDNF, resultando assim na diminuição da plasticidade sináptica e função cognitiva (Bitner, 2011).

O composto ABT-239, um antagonista H₃R demonstrou aumentar a libertação de neurotransmissores, especificamente a ACh nos ratos, promovendo assim o aumento da fosforilação do factor CREB no córtex (Bitner, 2011; Alvin *et al.*, 2011). Contudo, este composto foi descontinuado uma vez que inibe o gene hERG, gene que codifica a subunidade alfa do canal de iões de potássio (Sander *et al.*, 2008).

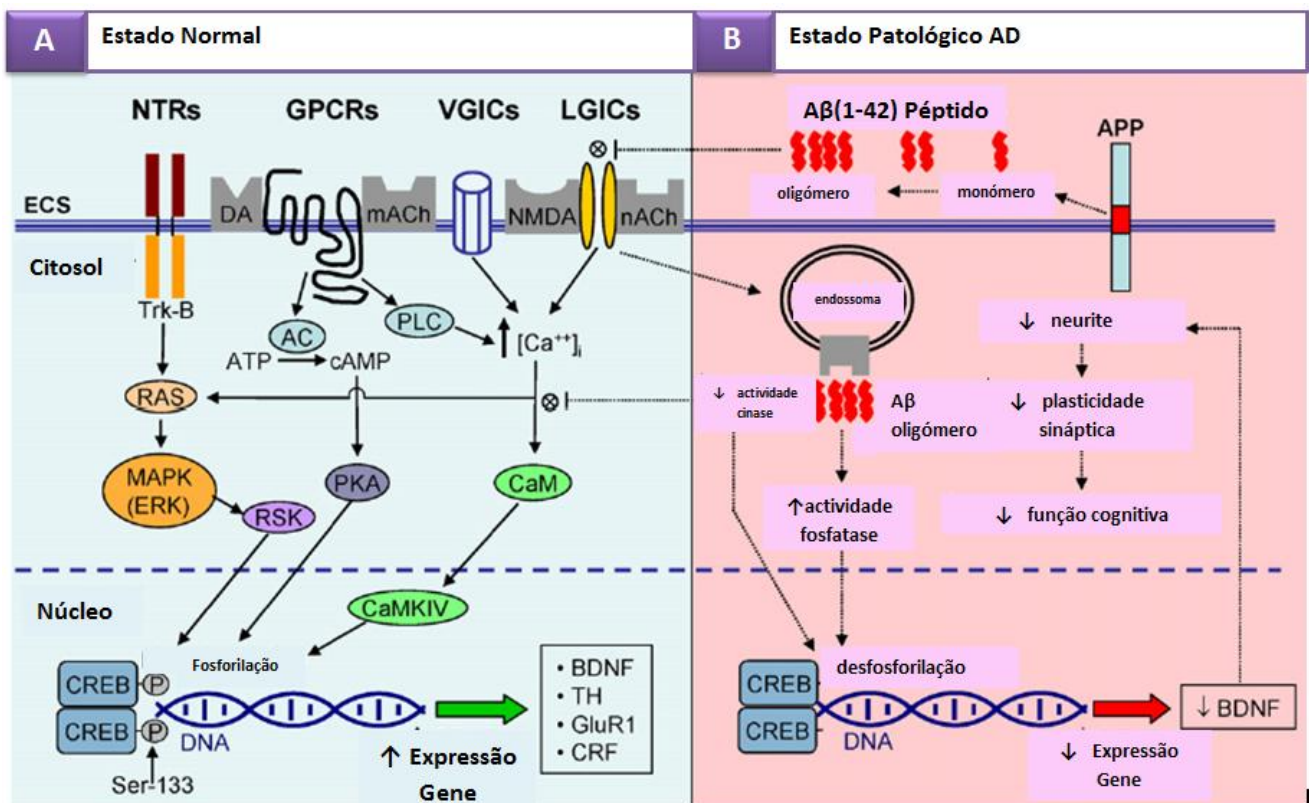


Figura 20: Transdução de sinal receptores H₃

(Adaptado de Bitner, 2011)

Vários antagonistas H₃, com diferentes potenciais terapêuticos, avançaram para a fase clínica nos quais se incluem: BF2.649, PF-03654746, GSK189254, GSK239512, MK-0249, MK-3134, JNJ-17216498, e ABT-288 (Figura 21). Estes compostos têm completado os estudos de fase I em voluntários humanos. Estes estudos têm como objetivo determinar a farmacocinética e a tolerabilidade após a administração única e em dose múltipla. Alguns destes fármacos têm também avançado para a fase II dos ensaios clínicos. A análise dos resultados destes estudos pode permitir aos pesquisadores determinar quais são os efeitos comuns a todos os agentes e quais os efeitos que são únicos para cada farmacóforo e, caso necessário, levar ao desenvolvimento de compostos análogos aos estudados a fim de ultrapassar possíveis efeitos indesejados (Brioni *et al.* 2011).

Na tabela 2 são apresentados anti-histamínicos H₃ bem como a fase de estudo em que se encontram e o potencial terapêutico para os quais são propostos.

POTENCIAL TERAPÊUTICO	COMPOSTO	FASE
Narcolepsia	BF2.649 (Pitolisant)	III
	JNJ-17216498	II
	PF-03654746	II
	GSK-189254	II
Doença de Alzheimer	GSK-239512	II
	MK-0249	II
	ABT-288	II
	PF-03654746	II
ADHD	JNJ-31001074	II
	MK-0249	II
Esquizofrenia	BF2.649 (Pitolisant)	II
	GSK-239512	II
	ABT-288	II
Doença de Parkinson	BF2.649 (Pitolisant)	III
Obesidade	PF-03654746	II
Epilepsia	BF2.649 (Pitolisant)	II

Tabela 2: Anti-histamínicos H₃, potencial terapêutico e fase de estudo clínico em que se encontram.

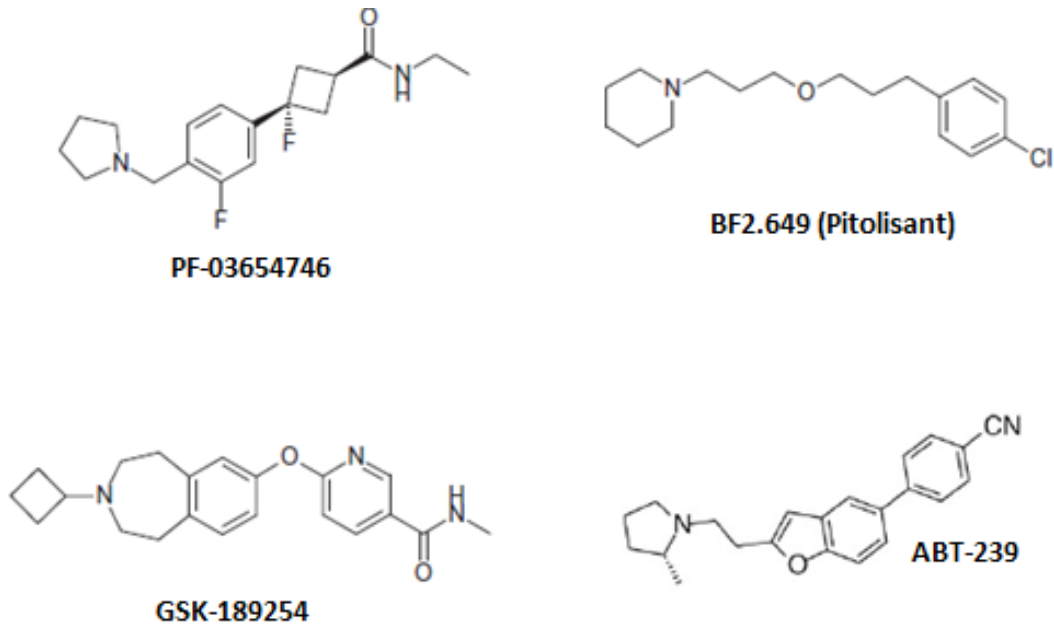


Figura 21: Estrutura anti-histamínicos H₃.

(Adaptado de Labeeuw *et al.*, 2011; Arrang *et al.*, 2007; Esbenshade *et al.*, 2008)

Bembeneke e colaboradores (2008) sugeriram a aplicação dos antagonistas H₃R em combinação com inibidores da AChE. Embora por mecanismos diferentes, ambos aumentam a neurotransmissão colinérgica no córtex, logo a combinação destes dois compostos numa única molécula poderá conduzir a uma potenciação da neurotransmissão colinérgica. Assim, esperam-se efeitos sinérgicos significativos sobre a função cognitiva e memória. Além disso, embora os efeitos secundários dos antagonistas dos receptores H₃ ainda não sejam totalmente conhecidos, pensa-se que uma vez que estes diminuem a quantidade de ACh periférica através do seu aumento centralmente apresentem menores efeitos secundários que os inibidores da AChE. Deste modo, a combinação de antagonistas H₃R com inibidores da AChE pode resultar na diminuição dos principais efeitos secundários, náuseas e vômitos, destes últimos.

4. Anti-histamínicos H₃ no tratamento da esquizofrenia

4.1. Esquizofrenia

A esquizofrenia é uma desordem cerebral crónica caracterizada pela perda da noção da realidade (psicose), alucinações, delírios, pensamento anormal e alteração do comportamento social e laboral (Vaz-Serra *et al.*, 2010).

A desordem cerebral ocorre estrutural e funcionalmente em várias regiões corticais e subcorticais do cérebro, regiões que influenciam o comportamento cognitivo, emocional e motivacional. A esquizofrenia é provavelmente a doença psiquiátrica mais angustiante e incapacitante sendo uma patologia com maior prevalência que, por exemplo, a doença de Alzheimer, a diabetes ou a esclerose múltipla (Pereira, 2010).

A nível sintomatológico esta patologia traduz-se pelo aparecimento de vários sintomas: sintomas positivos, que englobam a ilusão, alucinações e discurso desorganizado e; sintomas negativos, nos quais se enquadra o pauperismo emocional e falta de motivação (Brioni *et al.*, 2011).

Os sintomas desta doença provocam uma limitação no doente a nível da capacidade de interagir com outras pessoas e por isso as pessoas que sofrem desta patologia muitas vezes isolam-se do mundo exterior. Ao contrário do que se pensa, as pessoas que sofrem de esquizofrenia não constituem um risco para os que as rodeiam mas sim para elas próprias, que podem tornar-se vítimas de violência e de crimes cometidos por elas mesmas (Vaz-Serra *et al.*, 2010).

Embora a etiologia da esquizofrenia em relação a aspectos genéticos e moleculares biológicos seja ainda pouco compreendida, pensa-se que a desregulação da dopamina e de outros sistemas neurotransmissores seja responsável pelo desenvolvimento da doença. O aparecimento da esquizofrenia é mais frequente nas mulheres entre os 26 e 45 anos, e nos homens entre os 18 e 25 anos (Vaz-Serra *et al.*, 2010).

Estima-se que em Portugal esta doença afecte cerca de 40 a 60 mil pessoas, estima-se que 1% da população sofra desta patologia. O facto das pessoas com esquizofrenia não terem noção de que sofrem desta patologia aumenta a falta de adesão à terapêutica, promovendo o insucesso no tratamento da mesma. Contudo, se a medicação for

cumprida na integridade, em 75% dos casos há redução na ocorrência de crises (Pereira, 2010).

O conhecimento em relação à esquizofrenia é escasso, sabe-se apenas que há um aumento da transmissão dopaminérgica, sendo a dopamina responsável pelos estados psicóticos (Sander *et al.*, 2008).

Hoje em dia, o tratamento da esquizofrenia foca-se em vários neurolépticos típicos e atípicos, os quais actuam principalmente como moduladores negativos da dopamina no SNC (Sander *et al.*, 2008).

4.2. Tratamento da esquizofrenia com anti-histamínicos H₃

O uso de anti-histamínicos H₃ no tratamento da esquizofrenia surgiu com a necessidade de fazer frente à resistência à terapêutica e ao tratamento inadequado dos sintomas negativos.

Uma vez que os neurónios histaminérgicos estão presentes em áreas do cérebro fortemente associadas com a esquizofrenia, o desenvolvimento de antagonistas H₃R podem influenciar a fisiopatologia desta doença (Sander *et al.*, 2008).

O que se observa é que em doentes psicóticos, ocorre um aumento significativo dos níveis de N^t-metilhistamina no líquido cérebrospinal, enquanto que a densidade dos receptores H₁ nas áreas corticais diminui (Coburg *et al.*, 2009).

Estudos com tioperamida e ciproxifan confirmaram o perfil dos antagonistas H₃R como antipsicóticos (Sander *et al.*, 2008).

Outros compostos como o tripolisant (BF2.649), ABT-239 e GSK-189245 foram testados em ratos, concluindo-se que estes aumentam a concentração de dopamina no córtex, tendo-se demonstrado úteis em modelos roedores com esquizofrenia (Sander *et al.*, 2008).

O composto ABT-239 é um promissor modelo para o desenvolvimento de compostos para o tratamento da esquizofrenia devido às boas propriedades farmacológicas e farmacocinéticas que demonstrou em modelos animais (Sander *et al.*, 2008).

O mecanismo de acção dos antagonistas H₃R baseia-se na inibição da ligação da dopamina aos receptores dopaminérgicos D₂, D₃ e talvez D₁, e de outros receptores aminérgicos. De ter em conta é o facto dos compostos que bloqueiam os receptores D₂ embora sejam muito eficazes nos tais sintomas positivos, dão sintomas extrapiramidais, estes são caracterizados por dificuldade na locomoção (Sander *et al.*, 2008).

Mais uma vez, tal como em patologias referidas anteriormente, o uso de antagonistas H₃R para o tratamento da esquizofrenia deve-se ao facto destes receptores existirem na forma de hétero-receptores.

Recentemente, provou-se que a combinação de antagonistas H₃R com antipsicóticos poderia ser benéfica no tratamento da esquizofrenia. Em vez da combinação de dois medicamentos sugeriu-se a concepção de uma nova molécula que resulta da combinação dos dois farmacóforos numa só molécula (Figura 22). Esta abordagem tem sido realizada através da ligação do farmacóforo dos antagonistas H₃R, 4-(3-piperidinopropoxi)fenil, ao dos neurolépticos conhecidos como amitriptilina, maprotilina, clorpromazina, clorprotixeno, clozapina e flufenazina (Figura 23) (Coburg *et al.*, 2009).

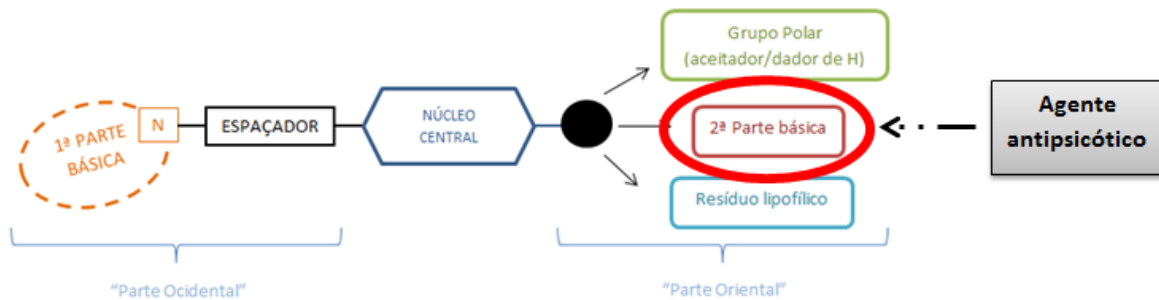


Figura 22: Estrutura geral da combinação de antagonistas H₃ com o farmacóforo de antipsicóticos.

(Adaptado de Coburg *et al.*, 2009)

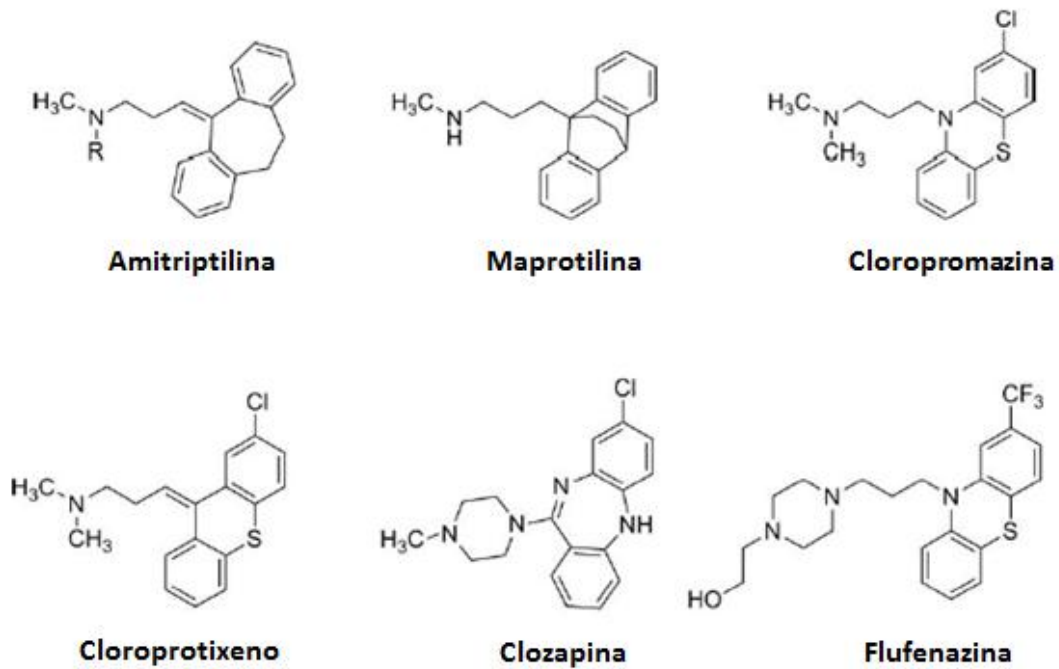


Figura 23: Estrutura dos antipsicóticos usados para a combinação com os antagonistas H₃R.

(Adaptado de Coburg *et al.*, 2009)

A ligação do grupo 4-(3-piperidinopropoxi)fenil ao farmacóforo dos antipsicóticos dá-se pelas funcionalidades amida, amina ou éster destas moléculas (Coburg *et al.*, 2009).

O desenvolvimento de compostos antagonistas H₃R para o tratamento da esquizofrenia tem-se intensificado uma vez que esta é uma patologia que afecta uma grande parte da população.

5. Outras potenciais indicações terapêuticas

5.1. Narcolepsia

A narcolepsia é uma desordem caracterizada pela dificuldade do doente se manter acordado, ou seja, a pessoa pode adormecer subitamente em qualquer altura do dia. Devido à sua fisiologia, esta doença pode afectar a vida normal do indivíduo (Manual Merck).

O sono pode ser caracterizado de acordo com a velocidade do movimento dos olhos como REM (movimento rápido dos olhos, do inglês *rapid movement eyes*) e NREM (movimento não rápido dos olhos, do inglês *non rapid movement eyes*). No sono REM, os olhos movem-se rapidamente apesar das pálpebras estarem fechadas, a pessoa fica incapaz de mover os músculos. Essa incapacidade temporária de movimentação previne que as pessoas reajam fisicamente aos sonhos que possam estar a ter (Bonaventure *et al.*, 2007).

Esta desordem é tratada sintomaticamente por estimulantes do SNC nos quais se inclui metilfenidato, anfetaminas e pemolina. O uso destes agentes requer uma monitorização e os seus efeitos estão limitados pela tolerância (Bonaventure *et al.*, 2007).

O composto modafinil, um derivado das anfetaminas, é usado no tratamento da narcolepsia e mostrou, em estudos com ratos, aumentar os níveis extracelulares de histamina no hipotálamo, embora o mecanismo pareça ser através da activação indirecta dos receptores histaminérgicos (Bonaventure *et al.*, 2007).

Os resultados deste estudo levaram a que o uso de antagonistas H₃ fosse proposto para tratamento da narcolepsia (Witkin e Nelson, 2004).

A REM é tratada com inibidores da monoamina oxidase e antidepressivos tricíclicos. Estes compostos apresentam como mecanismo de acção o aumento da transmissão de noradrenalina (Witkin e Nelson, 2004).

Os antagonistas H₁ de primeira geração são marcados pelo seu efeito sedativo. Em contraste, o aumento de histamina no cérebro devido ao bloqueio dos auto-receptores H₃ promove o efeito oposto (Witkin e Nelson, 2004).

Um estudo em ratos, em que a enzima responsável pela síntese de histamina, histamina descarboxilase, se encontrava inibida levou a concluir que a histamina desempenha um papel importante no sono/vigília. Submeteram-se ratos normais e ratos que continham a enzima inibida a estímulos ambientais. Aumentaram a vigília, excitação e atenção nos animais normais, enquanto que nos desprovidos de histidina descarboxilase, os efeitos foram reduzidos. Concluiu-se deste modo que a histamina tem um papel fundamental nos processos de atenção e excitação necessários para desempenhos cognitivos (Witkin e Nelson, 2004).

5.2. Dor

Os receptores H₃ têm sido associados à sensação de dor e portanto o efeito de antagonistas H₃ como agentes nociceptivos tem sido estudado.

Witkin e Nelson, 2004, estudaram o efeito da tioperamida em ratinhos e ratos nos quais se induziu a dor mecânica, química e térmica. Como resultado, observou-se que a tioperamida produziu efeitos pequenos mas significativos tanto quando é administrada por via parental, quer por via intracerebroventricular. Verificou-se também que o agonista selectivo H₃R, RAMH, inibe os efeitos da tioperamida. Adicionalmente, os antagonistas H₃ impromodina e burimamida mostraram que a sua eficácia anti-nociceptiva era também diminuída pelo RAMH.

No entanto, o papel dos receptores H₃ na percepção da dor está longe de ser clara.

5.3. Stress e depressão

O conhecimento de que os agonistas do receptor H₃ exercem efeitos sobre hormonas como ACh e a prolactina, consideradas como hormonas do stress, levou a sugerir-se um papel da histamina em resposta ao stress (Witkin e Nelson, 2004).

5.4. Epilepsia

Embora o papel da histamina na epilepsia seja conhecido já há alguns anos, recentemente têm-se demonstrado que os antagonistas H₃ como a tioperamida, VUF 9153 e AQ0145, diminuem as convulsões electricamente induzidas, nos ratos. Este efeito pode ser inibido pelo antagonista H₁ mepiramina (Witkin e Nelson, 2004).

Será necessário trabalho adicional para estabelecer a robustez dos efeitos dos antagonistas H₃ e sua generalidade em modelos animais, e posteriormente estudos que permitam a apreensão do conhecimento de efeitos antiepilépticos em seres humanos (Witkin e Nelson, 2004).

Conclusão

A descoberta dos receptores da histamina, bem como o consequente desenvolvimento de compostos que actuam sobre os mesmos, demonstrou-se fundamental para o tratamento de várias doenças.

Como vários estudos demonstraram, a designação de nova classe terapêutica para os anti-histamínicos H₃ é totalmente adequada. Contudo, embora o esforço dos investigadores em desenvolverem compostos que possam ser usados na prática clínica seja permanente, ainda não existem anti-histamínicos H₃ que permitam esse uso.

O número de compostos desenvolvidos até ao momento já é significativo, todavia a maior parte encontra-se ainda na fase I ou fase II de ensaios clínicos.

A evidência dos efeitos dos anti-histamínicos H₃ sobre diversas patologias, das quais se destacam a doença de Alzheimer, a esquizofrenia e a obesidade por serem patologias que afectam uma grande parte da população, tornou-se claro a necessidade de se desenvolverem anti-histamínicos passíveis de serem usados na prática clínica pois, deste modo, muitos doentes verão a sua qualidade de vida de melhorada.

Bibliografia

Alvin, V. *et al.* (2011). Alzheimer's Disease and Age-Related Memory Decline (Preclinical). *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, Vol. 99, pp. 190 – 210.

Arrang, J., Morisset, S., Gbahou, F. (2007). Constitutive activity of the histamine H₃ receptor. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, Vol.28, pp. 350 – 357.

Aslanian, R. *et al.* (2003). Identification of a Dual Histamine H₁/H₃ Receptor Ligand Based on the H₁ Antagonist Chlorpheniramine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 13, pp. 1959 – 1961.

Avendaño C., Söllhuber (2004). Fármacos que actúan sobre receptores de membrana (IV). Histamina y sus receptores. *In: Introduction a la Química Farmacêutica*, 2ª Edição. McGraw-Hill Interamericana, pp. 473 – 477.

Axe, F., Bembenek, S., Szalma, S. (2005). Three-dimensional models of histamine H₃ receptor antagonist complexes and their pharmacophore. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, Vol. 24, pp. 456 – 464.

Bembenek, S.D. *et al.* (2008). Lead identification of acetylcholinesterase inhibitors-histamine H₃ receptor antagonists from molecular modeling. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 16, pp. 2968 – 2973.

Bessesen, D.H. (2008). Update on obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, Vol. 93, pp. 2027 – 2034.

Bitner, R. (2011). Cyclic AMP response element-binding protein (CREB) phosphorylation: A mechanistic marker in the development of memory enhancing Alzheimer's disease therapeutics. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 83, pp. 705 – 714.

Bitner, R.S. *et al.* (2010). In vivo pharmacological characterization of a novel selective {alpha}7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonist ABT-107: preclinical considerations in Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 334, pp. 875 – 886.

Bonaventure, P. *et al.* (2007). Histamine H₃ receptor antagonists: From target identification to drug leads. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 73, pp. 1084 – 1096.

Bongers, G. *et al.* (2007). Molecular aspects of the histamine H₃ receptor. *Biochemical pharmacology*, Vol. 73, pp. 1195 – 1204.

Brioni, J. *et al.* (2011). Discovery of Histamine H₃ Antagonists for the Treatment of Cognitive Disorders and Alzheimer's Disease. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, Vol. 336, pp. 38 – 46.

Celanire, S. *et al.* (2005). Histamine H₃ receptor antagonists reach out for the clinic. *DDT*, Vol. 10, pp. 1613 – 1627.

Coburg, Y. *et al.* (2009). Potential utility of histamine H₃ receptor antagonist pharmacophore in antipsychotics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 19, pp. 538 – 542.

Criado, P. *et al.* (2010). Histamine, histamine receptors and antihistamines: new concepts. *The Brazilian Annals of Dermatology*, 85(2), pp. 195 – 210.

Del Cuvillo, A. *et al.* (2006). Comparative pharmacology of the H₁ antihistamines. *J Investig Allergol Clin Immunol*, Vol. 16, pp. 3 – 12.

Deml, K. *et al.* (2009). Interactions of Histamine H₁-Receptor Agonists and Antagonists with the Human Histamine H₄-Receptor. *Molecular pharmacology*, Vol. 76, pp. 1019 – 1030.

Despres, J.P., Lemieux I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, Vol. 444, pp. 881 – 887.

Esch, I. *et al.* (2005). The histamine H₄ receptor as a new therapeutic target for inflammation. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, Vol. 26, pp. 462 – 469.

Faghieh, R. *et al.* (2002). Structure–Activity Relationships of Non-imidazole H₃ Receptor Ligands. Part 1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 12, pp. 2031 – 2034.

Farzin, D. *et al.* (2002). Rodent antinociception following acute treatment with different histamine receptor agonists and antagonists. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, Vol. 72, pp. 751 – 760.

Fox, C.S. *et al.* (2007). Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the framingham heart study. *Circulation*, Vol. 116, pp. 39 – 48.

Fox, G.B. *et al.* (2003). Two novel and selective nonimidazole H₃ receptor antagonists A-304121 and A-317920: II. *In vivo* behavioral and neurophysiological characterization. *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 305, pp. 897 – 908.

Gemkow, M. *et al.* (2009). The histamine H₃ receptor as a therapeutic drug target for CNS disorders. *Drug Discovery Today*, Vol. 14, pp. 509 – 515.

Grundey, S.M. *et al.* (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood. *Institute scientific statement*. *Circulation*, Vol. 112, pp. 2735 – 2752.

Guerreiro, D.F. *et al.* (2010). Efectividade do rastreio, análise de conceitos e atitudes perante o síndrome metabólico. Um Estudo em Doentes Bipolares da Consulta de Psiquiatria do Hospital Santa Maria. *Acta Médica Portuguesa*, Vol. 23, pp. 173 – 182.

Han, T.S. *et al.* (2006). Assessment of obesity and its clinical implications. *British Medical Journal*, Vol. 333, pp. 695 – 698.

Hancock, A. *et al.* (2003). Genetic and pharmacological aspects of histamine H₃ receptor heterogeneity. *Life Sciences*, Vol. 73, pp. 3043 – 3072.

Hancock, A. *et al.* (2004). In vitro Optimization of Structure Activity Relationships of Analogues of A-331440 Combining Radioligand Receptor Binding Assays and Micronucleus Assays of Potential Antiobesity Histamine H₃ Receptor Antagonists. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, Vol. 95, pp. 144 – 152.

Hancock, A.A. (2003). H₃ Receptor antagonists/inverse agonists as anti-obesity agents. *Current opinion in investigational drugs*, Vol. 4, pp. 1190 – 1197.

Harada, C. *et al.* (2004). Intracerebroventricular administration of histamine H₃ receptor antagonists decreases seizures in rat models of epilepsia. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol*, Vol. 26, pp. 263 – 270.

Haslam, D.W, James W.P. (2005). Obesity. *Lancet*, Vol. 366, pp. 1197 – 1209.

Hass, H. *et al.* (2008). Histamine in the Nervous System. *Physiological Reviews*, Vol 88, pp. 1183 – 1241.

Howard, H.R. (2004) Agents for attention-deficit hyperactivity disorder – an update. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, Vol. 14, pp. 983 – 1008.

Igel, P., Dove, S., Buschauer, A. (2010). Histamine H₄ receptor agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 20, pp. 7191 – 7199.

Índice Nacional Terapêutico (2011). Antagonistas dos receptores H₂, pp. 704 – 707.

Infarmed, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. [Em linha]. Disponível em <<http://www.infarmed.pt/prontuario>>. [Consultado em 20/08/2012].

Ito, C. (2004). The role of the central histaminergic system on schizophrenia. *Drug News Perspect*, Vol. 17, pp. 383 – 387.

Jablonowski, J.A. *et al.* (2003). The first potent and selective non-imidazole human histamine H₄ receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 46, pp. 3957 - 3960.

James, W.P.T. (2008). The epidemiology of obesity: the size of the problem. *J Intern Med.*, Vol. 263, pp. 336 – 352.

Jongejan, A. *et al.* (2005). Linking agonist binding to histamine H₁ receptor activation. *Nature Chemical Biology*, Vol. 98, pp. 103 – 200.

Kamei, J. *et al.* (2005). Effects of First- and Second-Generation Histamine-H₁-Receptor Antagonists on the Pentobarbital-Induced Loss of the Righting Reflex in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Journal of Pharmacological Sciences*, Vol.97, pp. 266 – 272.

Komater, V.A. (2005). Effect of histamine H₃ receptor antagonists in two models of spatial learning. *Behavioural Brain Research*, Vol. 159, pp. 295 – 300.

Kuk, J.L. *et al.* (2006). Visceral fat is an independent predictor of all-cause mortality in men. *Obesity*, Vol. 14, pp. 336 – 341.

Labeeuw, O. *et al.* (2011). Novel and highly potent histamine H₃ receptor ligands. Part 2: Exploring the cyclohexylamine-based series. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 21, pp. 5384 – 5388.

Labeeuw, T.A. *et al.* (2008). The histamine H₃ receptor: an attractive target for the treatment of cognitive disorders. *British Journal of Pharmacology*, Vol. 154, pp. 1166 – 1181.

Lim, H. *et al.* (2005). Evaluation of Histamine H₁-, H₂-, and H₃-Receptor Ligands at the Human Histamine H₄ Receptor: Identification of 4-Methylhistamine as the First Potent and Selective H₄ Receptor Agonist. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, Vol. 14, pp. 1310 – 1321.

Lin, J.H. *et al.* (1998). Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clin. Pharmacokinet*, Vol. 35, pp. 361 – 390.

Liu, C. *et al.* (2001). Comparison of human, mouse, rat and guinea pig histamine H₄ receptors reveals substantial pharmacological species variation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 299, pp. 121 – 130.

Lorenzi, S. *et al.* (2005). Validation of a histamine H₃ receptor model through structure-activity relationships for classical H₃ antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 13, pp. 5647 – 5657.

Manual Merck. Narcolepsia. [Em linha]. Disponível em <<http://www.manualmerck.net>>. [Consultado em 20/08/2012].

Marson, C. (2011). Targeting the Histamine H₄ Receptor. *American Chemical Society*, Vol. 111, pp. 7121 – 7156.

Onodera, K. *et al.* (1994). Neuropharmacology of the histaminergic neuron system in the brain and its relationship with behavioral-disorders. *Prog. Neurobiol*, Vol. 42, pp. 685 – 702.

Parsons, M., Ganellin, R. (2006). Histamine and its receptors. *British Journal of Pharmacology*, Vol.147, pp. 127 – 135.

Passani, M., Blandina, P. (2011). Histamine receptors in the CNS as targets for therapeutic intervention. *Trends in Pharmacological Sciences*, Vol. 32, No. 4

Passani, M., Blandina, P., Torrealba, F. (2011). The Histamine H₃ Receptor and Eating Behavior. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, Vol. 336.

Pereira, A. (2010). Esquizofrenia: Entre o mundo real e o imaginário. [Em linha]. Disponível em <<http://medicosdeportugal.saude.sapo.pt>>. [Consultado em 20/08/2012].

Pillot, C. *et al.* (2003). Ciproxifan, a histamine H₃ receptor antagonist/inverse agonist, modulates the effects of methamphetamine on neuropeptide mRNA expression in rat striatum. *European Journal of Neuroscience*, Vol. 17, pp. 307 – 314.

Portal da Saúde. [Em linha]. Disponível em <<http://www.portaldasaude.pt>>. [Consultado em 03/07/2012].

Rai, B. *et al.* (2009). Modeling G protein-coupled receptors for structure-based drug discovery using low-frequency normal modes for refinement of homology models: Application to H₃ antagonists. *Proteins*, Vol. 78, pp. 457 – 473.

Roche, O., Sarmento, R. (2007). A new class of histamine H₃ receptor antagonists derived from ligand based design. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 17, pp. 3670 – 3675.

Romero-Corral, A. *et al.* (2010). Normal weight obesity: a risk factor for cardiometabolic dysregulation and cardiovascular mortality. *European Heart Journal*, Vol. 31, pp. 737 – 746.

Sander, K. *et al.* (2008). Histamine H₃ Receptor Antagonists Go to Clinics. *Biol. Pharm. Bull*, Vol. 31, pp. 2163 – 2181.

Santora, V. *et al.* (2008). Novel H₃ receptor antagonists with improved pharmacokinetic profiles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 18, pp. 4133 – 4136.

Shoelson, S.E. *et al.* (2007). Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*, Vol. 132, pp. 2169 – 2180.

Simons, F. (2004). Advances in H₁-antihistamines. *N Engl J Med*. Vol. 351, pp. 2203 – 2217.

Sundar, B. *et al.* (2012). Novel morpholine ketone analogs as potent histamine H₃ receptor inverse agonists with wake activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 22, pp. 1546 – 1549.

Tedford, C.E. *et al.* (1995). Pharmacological characterization of GT-2016, a non-thioureacontaining histamine H₃ receptor antagonist *in-vitro* and *in-vivo* studies. *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 275, pp. 598 – 604.

Tokital, S. *et al.* (2006). Recent Advances in Molecular Pharmacology of the Histamine Systems: Physiology and Pharmacology of Histamine H₃ Receptor: Roles in Feeding Regulation and Therapeutic Potential for Metabolic Disorders. *Journal of Pharmacological Sciences*, Vol. 101, pp. 12 – 18.

Vaz-Serra, A. *et al.* (2010). Cognição, cognição social e funcionalidade na esquizofrenia. *Acta Médica Portuguesa*, Vol. 23, pp. 1043 – 1058.

Vohora, D. *et al.* (2001). Histamine and selective H₃ receptor ligands: a possible role in the mechanism and management of epilepsy. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, Vol. 68, pp. 735 – 741.

Witkamp, R. (2011). Current and Future Drug Targets in Weight Management. *Pharm Res*, Vol. 28, pp. 1792 – 1818.

Witkin, J., Nelson, D. (2004). Selective histamine H₃ receptor antagonists for treatment of cognitive deficiencies and other disorders of the central nervous system. *Pharmacology & Therapeutics*, Vol. 103, pp. 1 – 20.

Yasui-Furukori N. *et al.* (2005). Different effects of three transporting inhibitors, verapamil, cimetidine, and probenecid, on fexofenadine pharmacokinetics. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* Vol. **77**, pp. 17 – 23.

Yoshimatsu, K. *et al.* (1999). Hypothalamic neuronal histamine as a target of leptin in feeding behavior. *Diabetes*, Vol 48, pp. 2286 – 2291.

Zhang, M. *et al.* (2005). Lack of cataleptogenic potentiation with non-imidazole H₃ receptor antagonist reveals potential drug–drug interactions between imidazole-based H₃ receptor antagonists and antipsychotics drugs. *Brain Research*, Vol. 1045, pp. 142 – 149.