

Eliezer J. Barreiro\*, Joaquim Fernando M. da Silva e Carlos Alberto M. Fraga

Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro - CP 68006 - 21944-390 - Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 9/10/95; aceito em 19/1/96

**BASIC NOTIONS OF DRUG METABOLISM.** Drugs are biochemical unstable entities that elicit the required pharmacological response and thereafter are excreted. The absorption, distribution and elimination of a drug are complex and interrelated, in which the chemical changes in the original structure, induced by enzymes of the liver and other organs, play an important role. The study of metabolic transformation of drugs can permit the prediction of the major structural alterations in the nature of the pharmacological profile, their duration of action and their toxicity, representing an important tool to the complete understanding of the complex relationships between the physicochemical properties of a substance and its biological activity.

**Keywords:** medicinal chemistry; metabolism of drugs; enzymatic induction.

## INTRODUÇÃO

O emprego da expressão metabolismo de fármacos comporta alguma polêmica na literatura<sup>1</sup>. Alguns autores consideram como metabolismo o estudo do destino total do fármaco na biofase, incluindo-se as etapas de absorção, distribuição, biotransformação e excreção<sup>1</sup>. Outros consideram como metabolismo apenas a biotransformação do fármaco, compreendendo as modificações químicas, enzimaticamente promovidas, que o fármaco sofre na biofase<sup>2a</sup>, distinguindo, portanto, o aspecto farmacocinético que envolve os fenômenos de absorção/distribuição do fármaco nos diferentes compartimentos da biofase. Atualmente, o termo metabolismo é empregado para descrever as transformações enzimáticas de substâncias endógenas (e.g., acetilcolina), enquanto biotransformação compreende a metabolização de xenobióticos (e.g., fármacos)<sup>2b</sup>. Neste trabalho, consideraremos como metabolismo dos fármacos os processos enzimaticamente catalisados capazes de produzir modificações estruturais no fármaco. Neste contexto, a classificação de Williams, de 1959<sup>3</sup>, para as fases do metabolismo, será adotada. Este autor denominou biotransformação, a primeira fase do metabolismo (fase 1) de um fármaco na biofase, englobando reações de oxidações, reduções e hidrólises. A fase 2 do metabolismo compreende, segundo este autor, a etapa de conjugação, envolvendo reações de glicuronidação, sulfatação, acilação, metilação e a formação de adutos com glutatona.

Raramente uma substância orgânica, fármaco ou não, sobrevive à ação catalítica dos diversos sistemas enzimáticos presentes nas células dos organismos vivos. Considerando-se que o arsenal terapêutico atual compreende uma expressiva maioria de substâncias orgânicas, pode-se antecipar que dificilmente um medicamento, sintético ou não, de natureza orgânica, resistirá a ação das enzimas da biofase<sup>4</sup>.

Um fármaco tem sua utilidade terapêutica medida em função da ação benéfica que exerce sobre um dado sistema biológico. Esta, por sua vez, depende da quantidade do fármaco administrada capaz de atingir, na concentração necessária, o sítio de ação desejado. Portanto, o estudo do metabolismo dos fármacos se torna essencial para o completo conhecimento de fatores farmacocinéticos relevantes ao uso adequado e seguro dos

fármacos. Em termos experimentais, o estudo do metabolismo de fármacos exige o emprego de técnicas analíticas sensíveis e eficazes, aliadas a procedimentos de extração eficientes e quantitativos, de ínfimas quantidades de substâncias de fluídos biológicos, de maneira a permitir a elucidação inambígua da estrutura química dos metabólitos de um fármaco, inclusive quanto à definição de centros estereogênicos, quando presentes. Estes metabólitos, para serem adequadamente isolados e terem suas estruturas elucidadas, precisam ser teoricamente previstos, em termos estruturais, antecipando informações sobre as propriedades físico-químicas, de maneira a permitir a racionalização da escolha do método de isolamento quali- e quantitativamente adequado<sup>5</sup>. Por outro lado, o conhecimento prévio das prováveis mudanças estruturais que um determinado fármaco pode sofrer na biofase permite que se antecipem dados sobre sua provável estabilidade frente ao método de isolamento escolhido, garantindo sua eficácia em termos quantitativos. Nesta ótica, o conhecimento das bases teóricas das etapas de biotransformação e conjugação, fases 1 e 2, que compreendem o metabolismo dos fármacos, em termos moleculares, se torna prioritário e essencial. Neste trabalho será dada ênfase aos aspectos moleculares do metabolismo dos fármacos.

As transformações enzimaticamente promovidas na estrutura química dos fármacos podem acarretar profundas alterações na resposta biológica, uma vez que modificações moleculares, ainda que singelas, podem alterar significativamente o farmacóforo, dificultando sua interação com o biorreceptor original, ou ainda, favorecendo novas interações com outras biomacromoléculas, correspondendo a novos e distintos efeitos biológicos, algumas vezes responsáveis pelos efeitos deletérios de um fármaco<sup>6</sup>. Neste sentido, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que os estudos do metabolismo dos fármacos constituam parte obrigatoriamente integrante dos programas de avaliação pré-clínica e clínica de quaisquer novos medicamentos<sup>7</sup>.

Em termos estruturais, os fármacos, em sua grande maioria, podem ser considerados como micromoléculas orgânicas, lipossolúveis, polifuncionalizadas. Estas características contribuem para que apresentem diferentes sítios reativos frente às inúmeras enzimas da biofase. Como consequência desta plurireatividade, um determinado fármaco produz, não raramente, distintos metabólitos, visto a diferença na cinética relativa das diferentes enzimas envolvidas no metabolismo. O estudo molecular do metabolismo dos fármacos permite que se antecipe, à luz das diferenças de reatividade química dos distintos sítios metabolicamente lábeis, um nível de

\*Contribuição #10 do LASSBio - Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas

hierarquização na formação destes diferentes metabólitos, prevendo-se, antecipadamente, aqueles majoritários. Por outro lado, o conhecimento das bases moleculares do metabolismo dos fármacos permite que se introduzam, racionalmente, determinadas modificações estruturais de maneira a aprimorar sua biodisponibilidade ou eficácia (pró-fármacos)<sup>8</sup>.

### FASES DO METABOLISMO: FASE I.

O quadro 1 ilustra as principais possibilidades que um fármaco pode sofrer nas transformações metabólicas. O primeiro caso ilustra que o fármaco originalmente inativo (pró-fármaco) sofreu ativação metabólica fornecendo, após sua biotransformação, a substância terapeuticamente útil<sup>8</sup>. O segundo caso ilustra a possibilidade de o fármaco originalmente administrado produzir metabólito de estrutura similar, biologicamente ativo, porém com propriedades farmacológicas distintas do fármaco-mãe, geralmente responsável pelos efeitos tóxicos observados com o seu emprego. Esta situação depende enormemente da estrutura original do fármaco administrado, que em função disto pode sofrer biotransformações que produzam espécies lábeis capazes de reagir covalentemente com biomacromoléculas da biofase (exemplos desta situação serão discutidos neste trabalho). No terceiro caso ilustrado no quadro 1, o fármaco original conduz a um metabólito inativo (*i.e.* bioinativação metabólica) com propriedades adequadas para a sua excreção pela via renal. Esta situação representa uma situação ideal, infelizmente rara.

#### Quadro 1. Metabolismo de fármacos

Fármaco inativo	Metabólito ativo (Bioativação)
Fármaco ativo	Metabólito ativo (mesma atividade ou não) (Toxicidade)
Fármaco ativo	Metabólito inativo (Bioinativação)

O estudo do metabolismo dos fármacos permite:

- estabelecer a cinética de formação e as estruturas químicas de seus metabólitos;
- determinar a velocidade e o sítio de absorção majoritário;
- determinar os níveis de concentração e depósito, plasmático e tecidual, tanto do fármaco como de seus metabólitos, permitindo estabelecer sua meia-vida na biofase;
- determinar a principal via de eliminação;
- determinar os sítios moleculares metabolicamente vulneráveis e correlacioná-los com aqueles farmacologicamente mais relevantes à atividade;
- compreender as interações metabólicas de um determinado fármaco com outro, administrado simultaneamente ou em associação;
- elucidar as eventuais vias de "reabsorção" metabólica, quando houver;
- determinar a toxicidade dos metabólitos e correlacioná-los com a estrutura química;
- fornecer novos compostos protótipos para atividades farmacológicas distintas daquela do fármaco original.

Os fármacos, assim como outros agentes químicos (solventes industriais, praguicidas, aditivos de alimentos industrializados etc.) estranhos ao organismo (*i.e.*, xenobióticos) são metabolizados por distintos sistemas enzimáticos. Dentre estes, o principal sistema enzimático envolvido no metabolismo dos fármacos<sup>9</sup> compreende as enzimas microssômicas hepáticas, em que se destacam uma hemeoproteína oxidativa denominada

citocromo P<sub>450</sub> e uma flavoproteína, NADPH-Citocromo c redutase, que, associadas a lipídeos, formam o sistema MFO (*mixed function oxidases*, oxidases de função mista). Embora seja o fígado o principal sítio de metabolização dos fármacos, outros órgãos e tecidos podem biotransformar fármacos (*e.g.*, trato gastrointestinal, pulmões, rins)<sup>9</sup>.

A primeira etapa do metabolismo dos medicamentos - fase I - se caracteriza por envolver reações redox ou hidrolíticas, responsáveis pela conversão do fármaco lipofílico em um primeiro metabólito mais polar<sup>3</sup>. Esta etapa, na maioria das vezes envolve o Cit.P<sub>450</sub> hepático, e compreende, basicamente, a inserção de um átomo de oxigênio, originário de uma molécula de O<sub>2</sub>, na estrutura do fármaco (Figura 1)<sup>10</sup>.

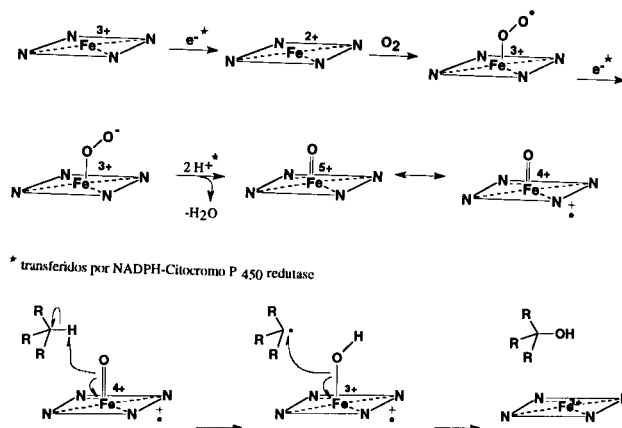


Figura 1. Mecanismo de monoxigenação catalisada por citocromo P<sub>450</sub>.

O sistema citocromo P<sub>450</sub> é composto por diversas isoenzimas, codificadas pela superfamília de gens CYP.<sup>9</sup> Esta superfamília é dividida em famílias e subfamílias, sendo que, em humanos, as principais subfamílias envolvidas com o metabolismo de fármacos são as CYP 1A, 2A-F e 3A. A biotransformação oxidativa da cafeína (1), por exemplo, é mediada por diferentes isoformas de citocromo P<sub>450</sub> (CYP 1A2 e 3A). A isoforma 1A2 é responsável pela formação de paraxantina (2), enquanto que a 3A está envolvida com a oxidação da posição 8, levando à formação do ácido 1,3,7-trimetilúrico (3) (Figura 2)<sup>11</sup>.

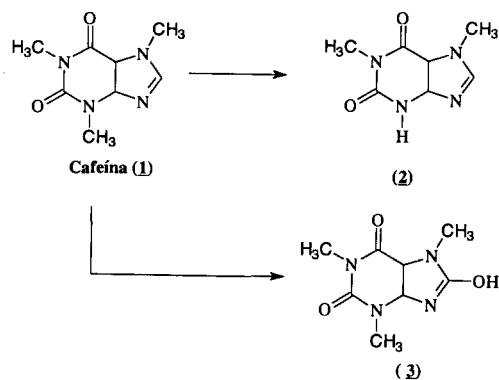


Figura 2. Metabolismo oxidativo da cafeína (1).

Observa-se ainda a existência de polimorfismo genético neste sistema enzimático, justificando a existência de indivíduos com baixa taxa de metabolização de certos fármacos, enquanto que para outros apresentam comportamento normal. Esta diferença acarreta




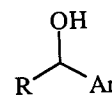
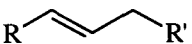
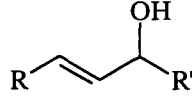

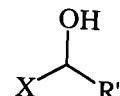
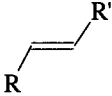
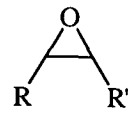
variação individual nas reações tóxicas a determinado fármaco.

O complexo enzimático do citocromo P<sub>450</sub> pode ser encontrado tanto em organismos procarióticos, na forma de enzimas solúveis no citoplasma celular, como em organismos eucarióticos, em que se encontra ligado às membranas celulares. Apesar das diferenças de propriedades entre as enzimas procarióticas e as eucarióticas, verifica-se a existência, em ambos os tipos, de duas regiões com alto grau de conserva-

ção de seqüência de aminoácidos: as regiões de ligação com o grupo heme (ligado a apoenzima através de um resíduo cisteína) e com o oxigênio molecular<sup>9</sup>.

Várias reações de bioconversão de diferentes grupos funcionais podem ocorrer na fase I do metabolismo. Entre os processos microsômicos encontram-se aqueles descritos no quadro 2<sup>10,12</sup>, enquanto que os não-microsômicos estão ilustrados no quadro 3<sup>10,12</sup>.

**Quadro 2. Processos microsômicos de biotransformação**

Oxidações catalisadas por citocromo P <sub>450</sub>		
<i>Carbono</i>		
Hidroxilação alifática		
Hidroxilação benzílica		
Hidroxilação alílica		
Hidroxilação α a heteroátomo		
Hidroxilação aromática	ArH	ArOH
Epoxidação		
<i>Nitrogênio</i>		
Aminas primárias	RNH <sub>2</sub>	RNHOH
Aminas secundárias	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> NH	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> NOH
Aminas terciárias	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>3</sub> N	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>3</sub> N-O
Amidas	RCONHR'	RCON(R)OH
<i>Enxofre</i>		
Sulfetos	RSR'	RSOR'
Sulfóxidos	RSOR'	RSO <sub>2</sub> R'
<b>Reduções</b>		
Azo	R-N=N-R'	R-NH <sub>2</sub> + R'-NH <sub>2</sub>
Nitro	R-NO <sub>2</sub>	R-NH <sub>2</sub>
Cetonas	RCOR'	RCH(OH)R'

**Quadro 3. Principais biotransformações não-microsômicas.**

Fármaco	Metabólito
RCH <sub>2</sub> OH	RCHO
RCHO	RCO <sub>2</sub> H
R(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	RCO <sub>2</sub> H
RCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	RCO <sub>2</sub> H
RCOR'	RCH(OH)R'
	RCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> R'

Entre os processos oxidativos não-microsômicos de fase 1, encontram-se as oxidações de álcoois por ação de desidrogenases hepáticas (LAD) também presentes nos pulmões e rins<sup>13</sup>. Por ação destas enzimas os álcoois primários (e.g., etanol) produzem aldeídos. Estudos de cinética relativa indicaram que os álcoois primários são muito mais rapidamente oxidados que os álcoois secundários, que formam compostos cetônicos como produtos. Este processo é o principal caminho de inativação metabólica das prostaglandinas (PG) (e.g. PGE<sub>2</sub>, 4), autácóides do grupo dos eicosanóides que sofrem a ação da prostaglandina-desidrogenase (PGDH), enzima plasmática responsável pela oxidação do álcool alílico em C-15, produzindo um derivado inativo (5), que por sua vez é substrato de uma segunda enzima capaz de reduzir a insaturação em C-13 fornecendo (6), que subsequentemente sofre ação de oxidases de ácidos graxos (vide infra) e produz o principal metabólito de fase 1 desta classe (7) (Figura 3)<sup>14</sup>.

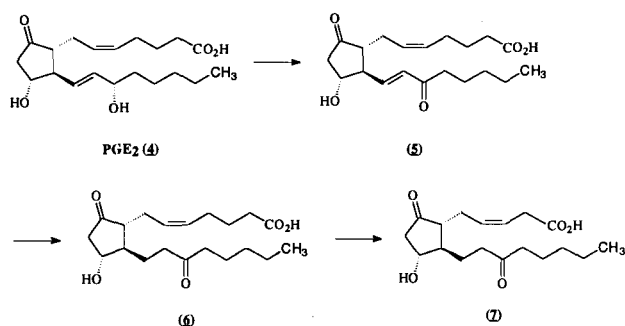


Figura 3. Bioinativação de prostaglandinas.

Compostos aldeídicos são oxidados pelo sistema enzimático não-microsômico denominado aldeído-desidrogenase (LDD), produzindo o ácido carboxílico correspondente.

No plasma ocorrem reações de metabolização de ácidos alquil-carboxílicos por ação de β-oxidases. Estas enzimas são capazes de promover a cisão oxidativa das ligações C-C<sub>sp<sup>3</sup></sub> das cadeias alifáticas de ácidos graxos produzindo bis-homólogos inferiores (e.g. 7, Figura 3)<sup>14</sup>.

Um complexo enzimático, cobre-dependente, não-microsômico, capaz de promover a cisão oxidativa da ligação C-N de aminas primárias é a monoaminooxidase (MAO). Este complexo enzimático é largamente encontrado nas mitocôndrias de diversas células de mamíferos (e.g., fígado, rins, pulmão, vasos sanguíneos, músculo cardíaco, mucosa intestinal e plasma), participando da inativação de diversas aminas biogênicas. Como exemplo, temos a serotonina (8), que, sendo substrato da MAO, produz o ácido 3-indolilacético correspondente (9), que é diagnóstico, quando

dosado na urina, para antecipar a fase psicótica de pacientes com psicose maníaco-depressiva (Figura 4)<sup>15</sup>.

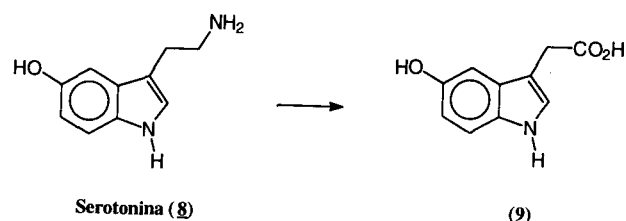


Figura 4. Conversão de serotonina (8) a ácido 5-hidroxi-3-indolacético (9) pela ação da MAO.

Reações não-oxidativas que ocorrem nos microsômos compreendem a redução de grupamentos nitro (NO<sub>2</sub>) e diazo (N=N). O sistema microsômico responsável por estas reações não-oxidativas é dependente de NADPH-citocromo C redutase<sup>10</sup>. Fármacos que possuam grupamento nitro-aromáticos produzem, por ação deste sistema enzimático, derivados anilínicos como ilustra a biotransformação do cloranfenicol (10) (Figura 5)<sup>16</sup>.

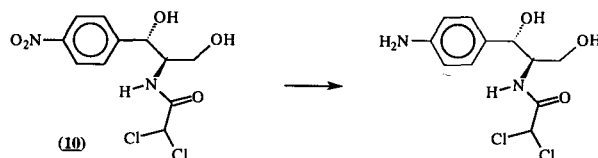


Figura 5. Metabolismo do cloranfenicol (10).

Alguns compostos nitrados podem produzir como principal metabólito a correspondente hidroxilamina, substrato para enzimas conjugativas da fase 2 (vide infra)<sup>10</sup>. Embora este produto de metabolização de substâncias nitro-aromáticas seja menos frequente, interfere na via metabólica de alguns agentes antifúngicos, como o derivado nitrofurânico funcionalizado (nitrofurural, 11) mostrado na figura 6<sup>17</sup>.



Figura 6. Formação de hidroxilamina (12) durante o metabolismo de nitrofurural (11).

A redução de diazo-compostos por ação de enzimas microsômicas foi descoberta com o estudo das propriedades antibacterianas da sulfamidocrisoidina (13)<sup>18</sup>. Este composto representa o primeiro pró-fármaco conhecido, sendo inativo *in vitro*. Esta substância sofre processo de bioativação metabólica por ação de azo-redutases produzindo, *in vivo*, a sulfanilamida (14), responsável pela ação antibacteriana manifestada por antagonismo competitivo com o ácido para-aminobenzoico (PABA) na biossíntese do ácido fólico (Figura 7).

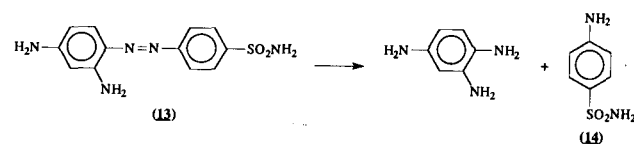


Figura 7. Bioativação da sulfamidocrisoidina (13) produzindo a sulfanilamida (14).

As reduções não-microsômicas conhecidas no metabolismo dos fármacos representam vias secundárias de metabolização em que intervêm processos de reduções de compostos cetônicos e insaturados.

Além dos processos redox, o metabolismo em sua fase 1 compreende ainda reações hidrolíticas que podem ocorrer tanto no fígado quanto no plasma. Estas reações são catalisadas por hidrolases e transformam ésteres, amidas e outras funções derivadas de ácidos carboxílicos (e.g., ácidos hidroxâmicos, hidrazidas, carbamatos e nitrilas) em metabólitos polares. Alguns exemplos de fármacos com esses grupos funcionais, como a lidocaína (15) e derivado (16) estão ilustrados na figura 8<sup>10,12</sup>.

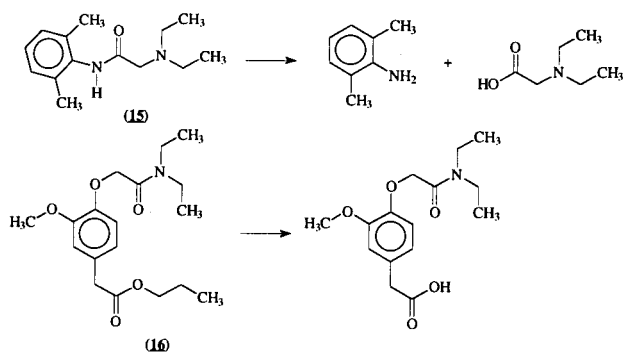


Figura 8. Exemplos de biotransformações por hidrólise enzimática.

As hidrolases de ésteres, denominadas esterases, estão presentes no trato gastrointestinal, plasma, flora microbiana intestinal e algumas específicas em determinados tecidos (e.g., acetilcolinesterase no sistema nervoso central SNC). As esterases plasmáticas têm sido largamente exploradas na liberação de formas latentes de fármacos derivados de ácidos carboxílicos (e.g., penicilinas (17), Figura 9)<sup>19</sup>.

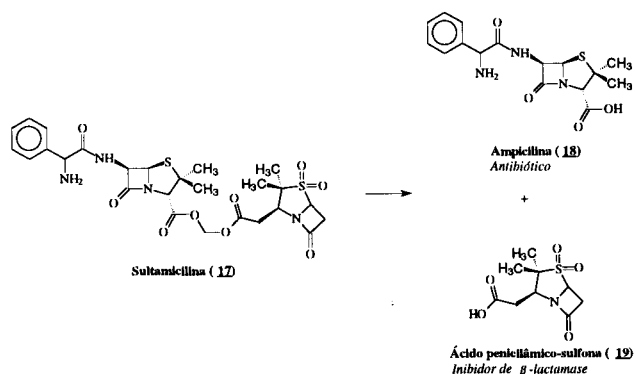


Figura 9. Conversão da sultamicilina (17) a ampicilina (18) e ácido penicilânico-sulfona (19).

A exemplo das esterases, as amidases, responsáveis pela hidrólise enzimática de amidas, encontram-se largamente distribuídas no plasma e trato gastrointestinal, onde desempenham importantes funções na digestão. Ambos os tipos de enzimas hidrolíticas são sensíveis a efeitos estéricos e eletrônicos, permitindo a previsão de hidrólises cineticamente favorecidas em função, por exemplo, de menores restrições estéricas. O estudo da hidrólise de ésteres da cocaína (20) indicou que se pode prever a seletividade da reação enzimática em função do menor impedimento estérico existente entre dois ésteres de um mesmo substrato; estes estudos contribuíram significativamente para o desenvolvimento de novos agentes anestésicos (Figura 10)<sup>10,18</sup>.

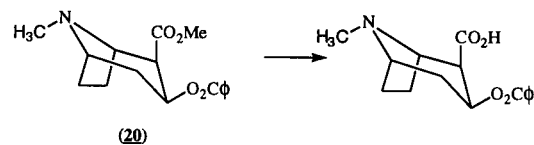


Figura 10. Hidrólise diferenciada da cocaína (20).

A petidina (21), poderoso agente analgésico central sem propriedades hipno-narcóticas, foi desenvolvida por modificações moleculares sucessivas do protótipo morfina (22), e mostrou-se estável frente a esterases plasmáticas em razão da natureza neopentílica do éster em sua estrutura<sup>20</sup>. Em contraste, este fármaco pode ser facilmente hidrolisado por ação de esterases hepáticas inespecíficas, indicando que estas enzimas são estericamente menos exigentes do que as isoenzimas plasmáticas (Figura 11). A hidrólise de amidas, carbamatos, hidrazidas, imidas, ureídas é passo de biotransformação frequente no metabolismo de fármacos, sendo geralmente mais lenta que dos correspondentes ésteres (cf. Figura 8).

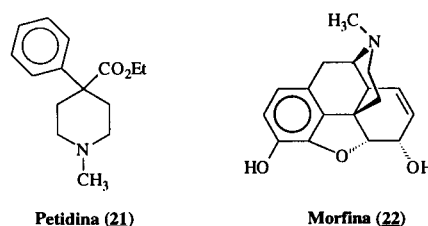


Figura 11. Estrutura da petidina (21) e da morfina (22).

Por outro lado, derivados de ácidos hidroxâmicos (RCONHOH) produzem o ácido carboxílico correspondente através da ação de enzimas hidrolíticas do plasma, determinando para este grupo funcional enorme labilidade metabólica que depende, entretanto, do eventual impedimento estérico em função da natureza do substituinte do átomo de nitrogênio. Diversos derivados de ácidos hidroxâmicos apresentam propriedades inibidoras da enzima 5-lipoxigenase (5-LO)<sup>21</sup>, responsável pela bioformação de leucotrienos, classe de icosanóides com importantes propriedades broncoconstritoras e, conseqüentemente, com potencial terapêutico para emprego no tratamento da asma. Entretanto, em função da labilidade metabólica devido à presença do grupamento ácido hidroxâmico, essencial no mecanismo de ação desta classe de inibidores de 5-LO, o interesse dos pesquisadores neste grupo de substâncias foi reduzido<sup>22</sup>.

## HIDROXILAÇÃO DE SISTEMAS AROMÁTICOS: ÓXIDOS DE ARENOS<sup>10,12</sup>

O estudo do metabolismo de fármacos com unidades aromáticas, especialmente grupos fenílicos, permitiu identificar-se a participação de uma espécie intermediária lábil denominada óxido de areno. A participação destas espécies pode ser exemplificada pelo estudo do metabolismo do fenobarbital (23). Este derivado barbitúrico, largamente empregado na terapêutica, na primeira etapa de metabolização hepática produz o derivado *para*-hidroxilado (25). Este metabólito regioespecificamente formado origina-se pela oxidação enzimática do anel aromático, através do sistema MFO, conduzindo ao óxido de areno ou epóxido correspondente (24). Este intermediário sofre rearranjo regioespecífico de hidreto ("NIH-shift") conduzindo ao composto *para*-hidroxilado (25)<sup>23</sup>. Além de hidreto, pode ocorrer o rearranjo de cloreto ou grupos nitro em óxidos de areno. O rearranjo NIH é favorecido pela

presença de substituintes que não estabilizam o carbocátion intermediário formado; por sua vez, substituintes que estabilizam o carbocátion tendem a seguir mecanismo de hidroxilação diferente (Figura 12).

Uma reação competitiva que pode ocorrer com o óxido de

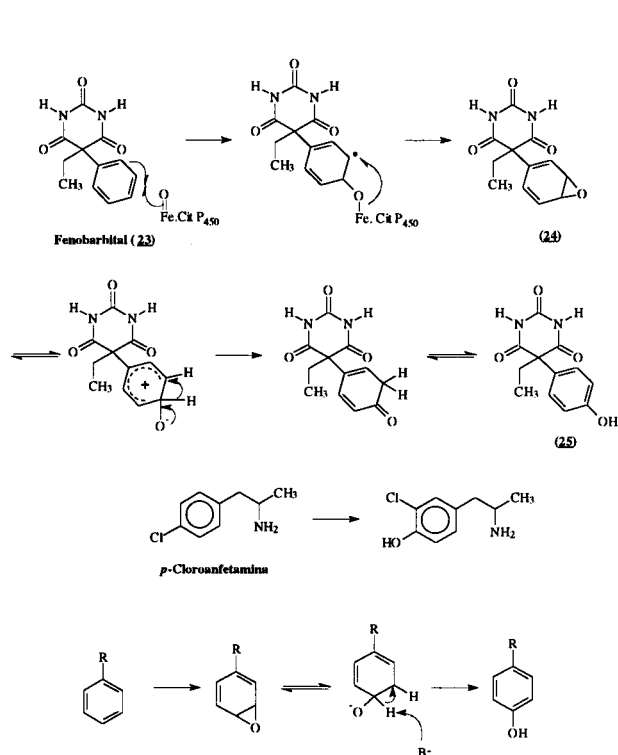


Figura 12. Mecanismos e exemplos de formação de óxidos de arenos.

areno intermediário compreende o ataque de uma hidrolase sobre o anel oxirânico tenso, produzindo o diol correspondente, como ilustrado para o benzopireno (26) que produz o derivado (27) (Figura 13).

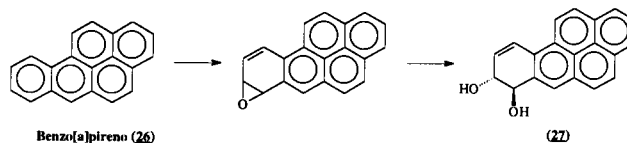


Figura 13. Formação de dióis a partir de óxidos de arenos.

## ETAPA DE CONJUGAÇÃO: FASE 2 DO METABOLISMO

De maneira geral, os metabólitos de fase 1 apresentam coeficiente de partição inferior ao do fármaco original, dependendo do nível de variação estrutural do fármaco, inclusive quanto ao peso molecular. Entretanto, a maior polaridade destes metabólitos de fase 1 não é suficiente para assegurar sua eliminação pela principal via de excreção dos fármacos, a renal. Portanto, estes metabólitos sofrem reações subsequentes de conjugação com pequenas moléculas endógenas de alta polaridade, formando conjugados altamente hidrossolúveis, que são excretados pela urina, preferencialmente, ou na bile.

A figura 14 ilustra as principais reações de conjugação envolvidas no metabolismo dos fármacos<sup>10,12</sup>. Cabe aqui destacar as reações de metilação e acetilação, que embora não aumentem a polaridade do metabólito, contribuem para a sua bioinativação, uma vez que grupos funcionais importantes para as interações fármaco-receptor se encontrarão protegidos. Outra reação de fase 2 relevante é a conjugação com glutiona, tripeptídeo sulfidrílico (GSH), que promove reações de bioinativação de eletrófilos biológicos (vide infra)<sup>24</sup>.

Reação de fase 2	Grupo funcional presente no metabólito de fase 1	Conjugado
Glicuronidação	OH, COOH, NH <sub>2</sub> , CH	
Sulfatação	OH, NH <sub>2</sub>	R-OSO <sub>3</sub> H, R-NHSO <sub>3</sub> H
Conjugação com glicina	COOH	
Conjugação com glutiona	Grupos eletrofílicos (óxidos de areno, epóxidos, carbocátions, enonas)	
Acetilação	OH, NH <sub>2</sub>	R-OAc, R-NHAc
Metilação	OH, NH <sub>2</sub> , SH, N heterocíclico	R-OMe, R-NHMe

Figura 14. Reações de fase 2.

## IMPORTÂNCIA DO METABOLISMO PARA A TOXICIDADE DOS FÁRMACOS

O estudo do metabolismo das acetanilidas analgésicas (*e.g.*, paracetamol (28) e fenacetina (29))<sup>25</sup> é bastante representativo da importância do conhecimento das etapas de biotransformação que um fármaco sofre na biofase em relação aos efeitos colaterais que pode causar. Estes analgésicos apresentam efeitos adversos distintos no fígado, embora apresentem enorme semelhança estrutural. O paracetamol causa necroses agudas e graves ao tecido hepático, detectadas desde 1966, e integra a fórmula de cerca de 20 formulações farmacêuticas no Brasil<sup>26</sup>. A fenacetina, embora seja o derivado éter correspondente ao paracetamol, tem sido responsável por graves nefropatias, denominadas “nefrites analgésicas”, razão pela qual foi proscria em alguns países. Considerando-se que estes fármacos são geralmente empregados por auto-medicação, em que a dose e a frequência de utilização não são sujeitas à posologia determinada, os efeitos adversos podem se manifestar mais gravemente. A controvérsia que se observa no emprego destes derivados analgésicos resulta das diferentes possibilidades metabólicas que estes fármacos podem sofrer na biofase. Como alguns modelos animais empregados para o estudo do metabolismo destas fármacos não se comparam precisamente ao metabolismo humano, os resultados destes estudos continuam não sendo definitivos<sup>25</sup>.

O estudo do metabolismo destes derivados indica a importância do conhecimento da estrutura e mecanismo de formação de todos os intermediários participantes da biotransformação dos fármacos de maneira a permitir determinar-se, no plano molecular, aqueles responsáveis, eventualmente, por efeitos benéficos e tóxicos. O paracetamol ou acetaminofeno (28) produz, por ação do citocromo P<sub>450</sub>, a iminoquinona (30), cujo mecanismo de formação foi objeto de intensa polêmica entre os especialistas de metabolismo do fármacos<sup>25</sup>. Resultados iniciais do estudo do metabolismo do paracetamol (28) permitiram que inicialmente fosse proposta a transformação de um derivado N-hidroxilado (31) que, por desidratação subsequente, produziria (30). Posteriormente verificou-se que esta hipótese não era correta, sendo atualmente aceito que o mecanismo para a formação de (30) envolve a transferência de dois elétrons. Este mecanismo explica, também, a formação de outros metabólitos do paracetamol como o catecol (32) (Figura 15).

Mitchell e colaboradores verificaram que a iminoquinona (30) pode sofrer reações de conjugação envolvendo bionucleófilos presentes no fígado, especialmente com o glutatona<sup>27</sup>. O ataque nucleofílico deste sobre as espécies eletrofílicas transitórias, como a iminoquinona (30) bioformada a partir do paracetamol (28), conduz à formação do aduto glutatona-paracetamol, reduzindo consideravelmente sua concentração na biofase. Entretanto, a principal razão da toxidez hepática do paracetamol reside no “stress” causado nos hepatócitos, conduzindo a significativo aumento das reações de peroxidação lipídica e alteração da homeostase de íons Ca<sup>++</sup>, por redução dos níveis de GSH. Foi ainda observado, com relação à toxidez hepática do paracetamol, que algumas enzimas envolvidas na regulação da concentração de Ca<sup>++</sup> intracelular podem reagir com a iminoquinona (30), formando adutos irreversíveis que agravam a toxidez deste fármaco. A compreensão deste mecanismo de toxidez permitiu a proposta de obtenção de novos análogos mais seguros, *e.g.*, 33.

Outro analgésico da classe das acetanilidas é a fenacetina (29), que possui em sua estrutura a função *para*-hidroxila presente no paracetamol sob a forma do éter etílico correspondente. Esta sutil diferença estrutural é suficiente para eliminar a hepatotoxicidade, visto que não se formam, diretamente, espécies reativas transitórias como a iminoquinona (30). Entretanto, a proteção do principal sítio de metabolização do análogo paracetamol conduz a que um novo caminho

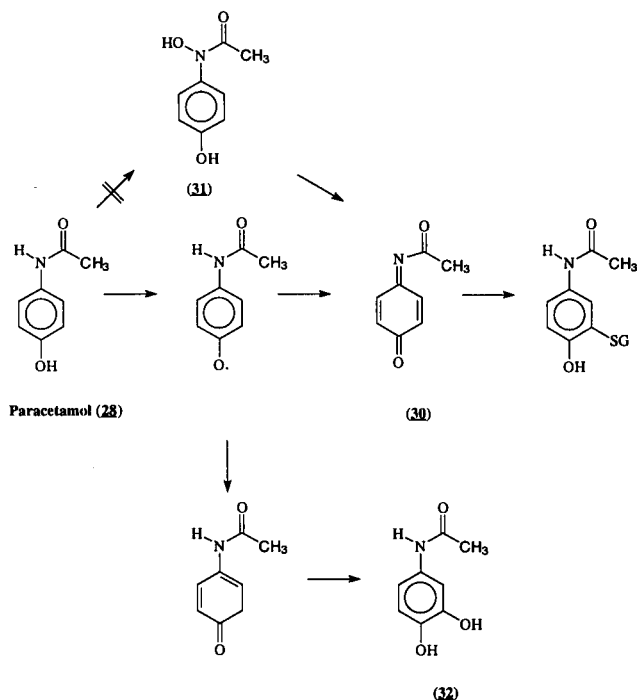


Figura 15. Metabolismo do paracetamol (28).

metabólico opere na fenacetina, produzindo agora substâncias extremamente nefrotóxicas, como a *para*-fenetidina (34) (Figura 16)<sup>27</sup>.

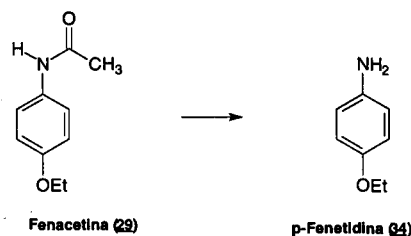


Figura 16. Metabolismo da fenacetina (29).

Estes exemplos provam que o bloqueio de uma via metabólica identificada como toxicófora em um fármaco não assegura, no novo derivado estruturalmente relacionado, sua inocuidade, indicando que alterações estruturais guiadas pelo metabolismo exigem prudência quando de seu emprego como estratégia de modulação do perfil farmacoterapêutico de um fármaco. Cabe destacar que a fenacetina (29), conforme ilustram as reações de biotransformações do quadro 2, pode produzir o próprio paracetamol (28), através da reação de O-desetilação catalisada pelo sistema citocromo P<sub>450</sub>, o que se mostrou ser, neste caso, rota minoritária.

## IMPORTÂNCIA DOS INTERMEDIÁRIOS REATIVOS NOS ESTUDOS DO METABOLISMO

O estudo do metabolismo da lidocaína (15), fármaco com propriedades antiarrítmicas e anestésicas locais de largo emprego terapêutico, evidenciou a importância do conhecimento do mecanismo de formação para completa elucidação estrutural dos metabólitos<sup>28</sup>. Este fármaco produz, como importante metabólito urinário, o derivado conjugado de (35). Os estudos do metabolismo deste fármaco provaram que a bioformação de (35) deve-se ao envolvimento de uma espécie

imínica intermediária (36), capaz de sofrer reação de ciclização nucleofílica intramolecular. A bioformação da espécie imínica intermediária (36) decorre de etapa de  $\alpha$ -hidroxilação regioselectiva da subunidade dietilamina presente na lidocaína (15), seguindo-se de eliminação. Cabe observar que a presença dos grupamentos bis-*orto*-metilas na estrutura da lidocaína é responsável pela resistência deste fármaco à ação das amidases plasmáticas, que ocorre minoritariamente (Figura 17).

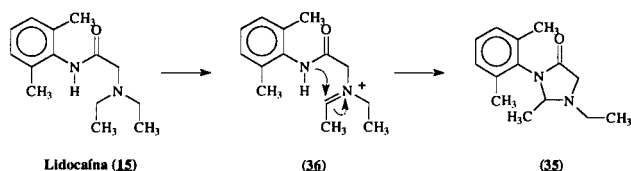


Figura 17. Metabolismo da lidocaína (15).

Uma segunda espécie reativa envolvida no metabolismo dos fármacos são os intermediários do tipo iminoquinônicos. Estes compostos contribuem para a biodestruição do próprio citocromo P<sub>450</sub> por produzirem radicais-livres reativos, sendo considerados como autênticas armadilhas de radicais livres ("radical scavenger"). Evidência recente do envolvimento destas espécies reativas no metabolismo de fármacos compreende a mitoxantrona (37), fármaco antitumoral contendo o núcleo antracenediona, simetricamente substituído, cujo principal metabolito é o derivado diidropiperazínico-cíclico (38), produto da reação de adição nucleofílica intramolecular do tipo 1,4 do átomo de nitrogênio da cadeia lateral sobre a espécie bis-iminoquinônica transitória, formada por desidrogenação enzimática de (37)<sup>29</sup>. Como consequência, felizmente benéfica, desta via metabólica, observou-se que a formação de (38) reduzia consideravelmente o efeito hepatotóxico de (37), comum a muitos quimioterápicos desta classe, sendo este fármaco menos tóxico do que outros agentes antineoplásicos do grupo dos antibióticos antraciclínicos (Figura 18).

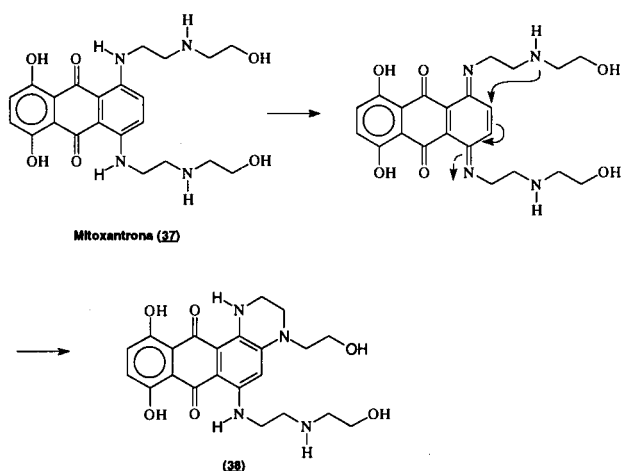


Figura 18. Metabolismo de mitoxantrona (37).

O emprego de derivados quinolínicos substituídos como agentes antimaláricos pode ser ilustrado pela cloroquina (39). Este composto da classe das 4-aminoquinolinas tem potente ação antimalárica, contra diferentes cepas de *Plasmodium*; entretanto, seu uso permitiu detectar-se reações de fotossensibilidade graves, decorrentes da bioformação de espécies iminoquinônicas transitórias (40), reativas, produzidas por prototropia. Estes intermediários podem interferir com diversos

sistemas redox da biofase produzindo as reações de fotossensibilidade observadas em alguns indivíduos (Figura 19)<sup>30</sup>.

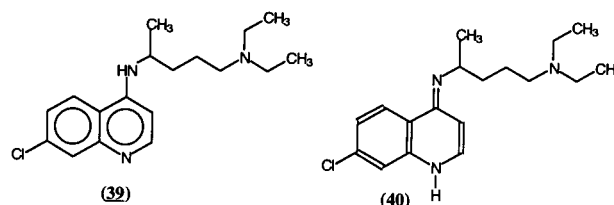


Figura 19. Cloroquina (39) e seu metabolito (40).

## METABOLISMO E ESTEREOSSELETIVIDADE

O estudo do metabolismo da fenitoína (41)<sup>31</sup>, introduzida na terapêutica na década de 40, como fármaco anticonvulsivante, largamente empregado para o tratamento e controle da epilepsia, ilustra a importância da estereosseletividade enzimática nos processos de biotransformação. Este fármaco apresenta um átomo de carbono pró-quiral (C-5), com dois substituintes fenila que são substratos para a ação hidroxilativa do citocromo P<sub>450</sub> produzindo como metabolito de fase I o derivado mono-*para*-hidroxilado (42) correspondente<sup>31</sup>. Em razão da quiralidade das enzimas envolvidas nas etapas de biotransformação dos fármacos, observa-se processo enantiotopicamente seletivo na etapa de mono-hidroxilação enzimática, com oxidação preferencial de um único substituinte fenila do carbono pró-quiral da fenitoína, resultando na produção de metabolitos óticamente ativos. O estudo do metabolismo da fenitoína permitiu observar-se, ainda, que no homem o processo oxidativo ocorre preferencialmente no anel pró-S, com seletividade relativa de 10:1, produzindo como principal metabolito de fase I o S(-)-5-(4-hidroxifenil)-5-fenilidantoína (S-42), excretado pela urina sob a forma do glicuronato correspondente. Quando este estudo foi realizado em cães, verificou-se distinta enantiosseletividade, espécie dependente, visto que desta vez o principal metabolito urinário identificado foi o glicuronato derivado do R(+)-5-(hidroxifenil)-5-fenilidantoína (R-42) (Figura 20). Outro exemplo ilustrativo da enantiosseletividade enzimática da biotransformação de fármacos pode ser observado com o metoprolol (43), antagonista seletivo de receptores adrenérgicos do tipo  $\beta_1$  empregado para o tratamento da hipertensão. Este fármaco apresenta o carbono benzílico pró-quiral (-CH<sub>2</sub>H<sub>R</sub>), sendo empregado terapêuticamente sob a forma racêmica. Produz como metabolitos de fase I, por ação do sistema microsômico hepático, os correspondentes álcoois secundários benzílicos (44) como mistura de diastereoisômeros de mesma configuração (1'R,2R) (Figura 20)<sup>32</sup>.

As enzimas hidrolíticas também catalisam reações de biotransformação de modo estereosseletivo. Yang e colaboradores<sup>33</sup> descreveram os resultados dos estudos sobre a hidrólise estereosseletiva de *rac*-O-acetil-oxazepam (45) pela ação de esterases de microsomas hepáticos e de cérebro humano, mostrando que as enzimas produzem o (R)- e o (S)-oxazepam (46), respectivamente, com seletividade oposta, dependendo do tecido. Estes resultados são significativos pois no sistema nervoso central se forma predominantemente o enantiômero (S)-oxazepam, que é o eutomero, responsável pelas propriedades sedantes, o que justifica o emprego terapêutico da forma racêmica do éster de oxazepam como pró-fármaco (Figura 21)<sup>33</sup>.

## A IMPORTANCIA CLÍNICA DO ESTUDO DO METABOLISMO DOS FÁRMACOS

O estudo do metabolismo dos fármacos provou que podem ocorrer certos desvios metabólicos devido às variações diversas



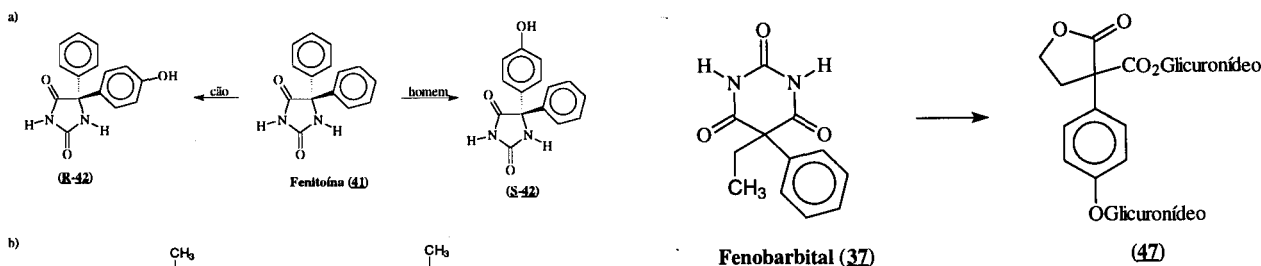


Figura 20. Metabolismo enantiosseletivo de fenitoína (41) e metoprolol (43).

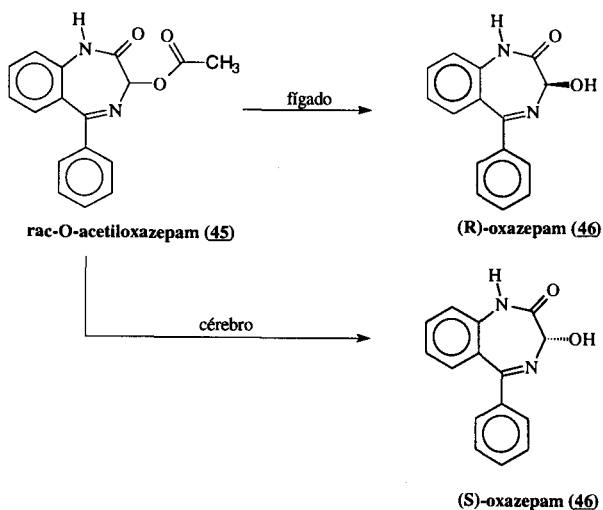


Figura 21. Metabolismo estereosseletivo de rac-O-acetil-oxazepam (45).

da função hepática, dependendo do estado de saúde de cada paciente. Desta forma, em determinadas infecções ou infestações que causam comprometimento da função hepática do paciente, o uso de quimioterápicos com baixo índice terapêutico deve ser feito criteriosamente, de forma a prevenir o seu agravamento.

Por outro lado, o emprego crônico de medicamentos, estratégia terapêutica comum no controle de diversos quadros patológicos, pode induzir alterações da função hepática de determinado paciente, resultando em respostas de indução enzimática<sup>34</sup> em que o metabolismo torna-se exacerbado, ou contrariamente na inibição da função enzimática hepática<sup>35</sup>. Ambas as possibilidades resultam em efeitos indesejáveis, visto alterarem a fisiologia hepática, podendo modificar a capacidade de produção de hormônios esteróides, essenciais no controle de diversas funções fisiológicas, além de resultarem em modificações imprevisíveis na velocidade de metabolização dos medicamentos, alterando, significativamente, o tempo de meia-vida na biofase. Como ilustração podemos citar o emprego do fenobarbital (37), usado em certos quadros de epilepsia menor. Lafont e colaboradores, em 1968<sup>36</sup>, identificaram o composto (47) como metabólito de pacientes intoxicados pelo uso continuado do fármaco. Estes autores racionalizaram a formação desta fenilbutirolactona (47) como decorrência das propriedades indutoras de enzimas hepáticas que o fenobarbital possui (Figura 22).

Outro indutor enzimático conhecido é o álcool etílico capaz de induzir, ativando, diferentes sistemas enzimáticos do fígado,

Figura 22. Metabolismo de fenobarbital (37) em pacientes intoxicados por este fármaco

o que resulta em aceleração da velocidade de metabolização dos medicamentos, reduzindo, em geral, sua meia-vida. Estes efeitos são particularmente relevantes quando se empregam medicamentos que em subdoses plasmáticas podem ter sua eficácia comprometida. Desta forma, o emprego de antibióticos, ou outros quimioterápicos capazes de promoverem respostas de resistência, em indivíduos dependentes do álcool, deve ser feito com critério, uma vez que, quando em subconcentrações plasmáticas eficazes, facilitam o desenvolvimento de resistência por parte do agente patológico. Uma situação dramática, que pode ser considerada, consiste no tratamento de infecções em indivíduos com epilepsia adquirida, e com lesões hepáticas causadas pelo abuso do álcool. Este triste quadro, não raro em nossa população, demonstra a importância do conhecimento da função hepática, em determinadas circunstâncias, como forma criteriosa de efetuar-se assistência farmacêutica eficiente e adequada às necessidades de saúde da população.

## CONCLUSÕES

A título de conclusões deste trabalho, pode-se ressaltar, pelos diversos exemplos ilustrados, que o estudo do metabolismo dos fármacos, inclusive no plano molecular, contribui de forma significativa para assegurar o emprego correto e seguro de um medicamento. Por outro lado, seu conhecimento permite obter informações sobre a bioformação de espécies metabólicas capazes de apresentar efeitos terapêuticos distintos ou idênticos mas superiores ao fármaco original. Esta particularidade do estudo do metabolismo dos fármacos permitiu que novos medicamentos fossem introduzidos na terapêutica, resultantes do estudo da atividade de metabólitos principais de alguns fármacos<sup>37</sup> (*inter-alia*: oxifembutazona, agente anti-inflamatório não-esteróide; hicanona, potente agente esquistossomicida). O conhecimento e a racionalização dos efeitos deletérios dos medicamentos somente podem ser completamente elucidados pelo estudo do metabolismo, que ganha nova importância agora pelo reconhecimento das diferenças terapêuticas de enantiômeros, denominados eutômeros quando responsáveis pelas propriedades terapêuticas de mistura racêmica e distômero quando inativos<sup>38</sup>. Estes fatos influenciaram organismos internacionais de regulamentação do uso dos medicamentos a promoverem campanhas de licenciamento exclusivo dos eutômeros<sup>39</sup>, exigindo rigorosos estudos de metabolismo dos novos fármacos, dando nova dimensão da sua importância nestas vésperas do século 21.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as bolsas do CNPq (EJB, CAMF) e à FUJB/UFRJ (JFMS).

## REFERÊNCIAS

1. Korolkovas, A.; Burckhalter, J. H.; "Química Farmacêutica", Guanabara Dois, Rio de Janeiro, R. J., 1982, p.8.

2. Testa, B.; "Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Vol. 1: Principles and Practice", Wolf, M. E., Ed.; J. Wiley & Sons Inc., Nova Iorque, EUA, 1995, p.129 ; b) Benet, L. Z.; Mitchell, J. R.; Sheiner, L. B.; "Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics", Gilman, A. G.; Rall, T. W.; Nies, A. S.; Taylor, P., Eds, 8a. Ed., Pergamon Press: Nova Iorque, EUA, 1990, p.13-19
3. Williams, R. T.; "Detoxication Mechanisms: The Metabolism and Detoxication of Drugs, Toxic Substances and Other Organic Compounds", 2a. Ed., J. Wiley & Sons Inc.: Nova Iorque, EUA, 1959.
4. Llama, E. F.; Avendano, C.; "Introducion a la Quimica Farmaceutica", Interamericana-McGraw-Hill: Madrid, Espanha 1993, p. 157.
5. Sadde, W.; Beelen, G. C. M.; "Drug Level Monitoring: Analytical Techniques, Metabolism and Pharmacokinetics", J. Wiley & Sons Inc.: Nova Iorque, EUA, 1980.
6. Nelson, S. D.; *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 753.
7. WHO Technical Reports Series nº 341, Organização Mundial da Saúde, Genebra, 1966.
8. Higuchi, T.; Stella, V.; "Pro-Drugs as Novel Drug Delivery Systems", ACS, Washington, D.C., EUA, 1975.
9. Testa, B.; "Drug Metabolism" in Wolff, M. E. (Ed.); "Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery", v.1, 5a Ed., Nova York, EUA, 1995, p.129-180.
10. Williams, D. A.; "Principles of Medicinal Chemistry", Foye, W. O., Ed., 3a Ed., Filadélfia, EUA, 1990, p.79.
11. Tassaneeyakul, W.; Birkett, D. J.; McManus, M. E.; Veronese, M. E.; Andersson, T.; Tukey, R. H.; Miners, J. O.; *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *47*, 1767.
12. Armstrong, R.N.; *Annu. Rep. Med. Chem.* **1988**, *23*, 315.
13. Tolf, B-R.; Siddqui, M. T.; Dahlbom, R.; Akeson, A.; Therell, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **1982**, *17*, 395.
14. Gibson, K. H.; "Prostaglandins and Thromboxanes", Roberts, S. M.; Newton, R. F., Eds., Butterworth Scientific: Londres, 1982, p. 8.
15. Parke, D. V.; *Chem. Brit.*, **1967**, 102.
16. Cf. Patrick, G. L.; "An Introduction to Medicinal Chemistry", Oxford University Press, 1995, p. 200.
17. Silverman, R.; "The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action", Academic Press, Inc.: San Diego, EUA, 1992.
18. Sneader, W.; "Drug Discovery: The Evolution of Modern Medicines", J. Wiley & Sons Inc.: Nova Iorque, EUA, 1985.
19. a) Martin, T. R.; *Chem. Brit.* **1985**, 745; b) Godtfredsen, W. O.; "Chronicles of Drug Discovery", vol. 2, Bindra, J. S.; Lednicer, D., Eds., J. Wiley & Sons Inc.: Nova Iorque, EUA 1983, p.133.
20. Garret, G. R.; Hirta, J. L., Eds. "Drug Fate and Metabolism", vol. 2, Karger: Nova Iorque, EUA, 1976.
21. Batt, D. G.; *Progr. Med. Chem.* **1992**, *29*, 2.
22. McMillan, R. M.; Walker, E. R. H.; *TIPS* **1992**, *13*, 323.
23. a) Miwa, G. T.; Lu, A. Y. H.; *Annu. Rep. Med. Chem.* **1978**, *13*, 206; b) Guengerich, F. P.; MacDonald, T. L.; *Acc. Chem. Res.* **1984**, *17*, 9.
24. Hinson, J. A.; Monks, T. J.; Hong, H.; Higuert, R. J.; Pohl, L. R.; *Drug Metab. Disp.* **1982**, *10*, 47.
25. a) Thomson, J. S.; Prescott, L. F.; *Brit. Med.* **1966**, *2*, 506; b) Mitchell, J. R.; Jollow, D. J.; Potter, W. Z.; Davis, D. C.; Gillette, J. R.; Brodie, B. B.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1973**, *187*, 185; c) Dahlin, D. C.; Nelson, S. D.; *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 885.
26. Korolkovas, A.; *Dicionário Terapêutico* Guanabara 95/96, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, R. J., 1995.
27. Mitchell, J. R.; Jollow, D. J.; Potter, W. Z.; Gillette, J. R.; Brodie, B. B.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1973**, *187*, 211.
28. Overton, M.; Hickman, J. A.; Threadgill, M. D.; Vaughan, K.; Gescher, A.; *Biochem. Pharmacol.* **1985**, *34*, 2055.
29. Con, P.; Kettle, A. J.; Phillips, D. R.; *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 2223.
30. Roche, E. B.; Kier, L. B.; Foye, W. O., na ref. 10, p. 717.
31. Henderson, J. D.; Dayt on, P. G.; Israilli, Z. H.; Mandell, L.; *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 843.
32. Walle, T.; Walle, U. K.; Olanoff, L. S.; *Drug Metab. Disp.* **1985**, *13*, 204.
33. Yang, S. K., Huang, A.; Huang, J.; *Chirality* **1993**, *5*, 565.
34. Cf. Correia, M. A.; Castagnoli Jr., N.; *Farmacologia Básica e Clínica*, Katzung B. G., Ed.; de Carvalho, F. V. e Pinho, P. L. V. (trad.), Editora Guanabara: Rio de Janeiro, R. J., 1982, p.40.
35. Cf. Ortiz de Montelana, P. R.; *Annu. Rep. Med. Chem.* **1984**, *19*, 201.
36. Cavé, C.; Lafond, O.; Ménager, S.; Lambrey, B.; Miocque, M.; *Eur. J. Med. Chem.* **1986**, *21*, 2231.
37. a) Rosi, D.; Peruzzotti, G.; Dennis, E. W.; Berberian, D. A.; Freele, H.; Tullar, B. F.; Archer, S.; *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 867; b) Rosi, D.; Lewis, T. R.; Lorenz, R.; Freele, H.; Berberian, D. A.; Archer, S.; *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 877.
38. Ferreira, V. F.; Costa, P. R. R.; Barreiro, E. J.; *Quím. Nova*, **1996**, submetido.
39. Low, L. K.; Castagnoli Jr., N.; *Annu. Rep. Med. Chem.* **1978**, *13*, 304.