

## O PROCESSO DE LATENCIAÇÃO NO PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

Chung Man Chin

Departamento de Fármacos e Medicamentos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - CP 502 - 14801-902 - Araraquara - SP

Elizabeth Igne Ferreira

Departamento de Farmácia - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP - CP 66083 - 05389-970 - São Paulo - SP

Recebido em 5/9/97; aceito em 1/4/98

**THE LATENTIATION PROCESS IN DRUG DESIGN.** Short review about the main aspects of prodrug design, as its objectives, applicability and importance, showing the new trends in the research for selective latent forms, namely targeted drugs.

**Keywords:** latention; molecular modification; prodrug design; drug design.

Entre os métodos de introdução de novos fármacos na terapêutica, os processos de modificação molecular<sup>1-4</sup> são os mais promissores. Entre eles, merece realce a latenciação, transformação do fármaco em forma de transporte inativo que, *in vivo*, mediante reação química ou enzimática, libera a porção ativa no local de ação ou próximo dele. Uma das formas latentes obtidas mediante este processo denomina-se pró-fármaco (Fig. 1)<sup>3</sup>.

A latenciação tem sido bastante utilizada nos últimos anos, tornando-se uma das principais ferramentas na arte do planejamento de quimioterápicos específicos contra os maiores desafios da Ciência na atualidade: AIDS e câncer<sup>5-14</sup>.

Alguns pró-fármacos já são conhecidos há muito tempo: a codeína, derivado da morfina isolado no século XIX, é um pró-fármaco, que, no organismo, se converte em morfina para então promover seus efeitos narcóticos. Ademais, quando Hoffmann, em 1989, transformou ácido salicílico em ácido acetilsalicílico, diminuindo seus efeitos colaterais, estava utilizando o princípio da latenciação<sup>15</sup>.

O termo *pró-fármaco* ou *pró-agente* foi utilizado primeiramente por Albert, em 1958, para descrever compostos que necessitavam de biotransformação prévia para promover efeito farmacológico<sup>3</sup>. Em 1959, Harper propôs o termo *latenciação* de fármacos para o processo de obtenção de pró-fármacos<sup>1</sup>. Entretanto, somente em meados da década de 70, quando pesquisadores começaram a traçar os destinos dos fármacos no organismo, compreendendo melhor a absorção, metabolismo, distribuição e excreção, o planejamento de fármacos utilizando o processo de latenciação tomou rumo mais definido.

Vários outros termos, tais como fármaco latente, derivados biorreversíveis, conjugados fármaco-transportador biolável ou congêneres, foram utilizados como sinônimos para pró-fármaco. Este foi posteriormente padronizado e definido como derivado química e farmacologicamente inativo da molécula matriz, que requer transformação no organismo para liberar o fármaco ativo.

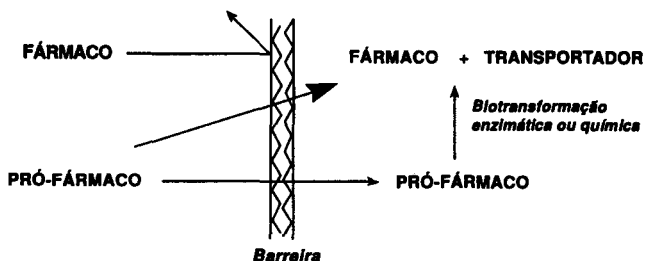


Figura 1. Representação esquemática do conceito de pró-fármacos<sup>3</sup>.

Número considerável de barreiras pode limitar a utilização clínica do fármaco. Estas limitações estão relacionadas às fases farmacocinética e farmacêutica<sup>1,2,3,16,17</sup> (Fig. 2).

Os principais problemas relacionados à fase farmacocinética são:

- absorção incompleta do fármaco através das membranas biológicas, tais como células da mucosa gastrointestinal;
- biodisponibilidade sistêmica incompleta do fármaco devido ao metabolismo pré-sistêmico;
- absorção ou excreção muito rápidas do fármaco, quando são desejáveis longos períodos de ação;
- toxicidade relacionada à irritação local ou à distribuição em outros tecidos.

É na fase farmacêutica que se observam os principais problemas farmacotécnicos, tais como falta de solubilidade adequada, comprometendo a dissolução, passo determinante na ação do fármaco e estreitamente ligado à biodisponibilidade. Outros problemas identificados consistem em falta de estabilidade das formulações e propriedades organolépticas indesejáveis das mesmas.

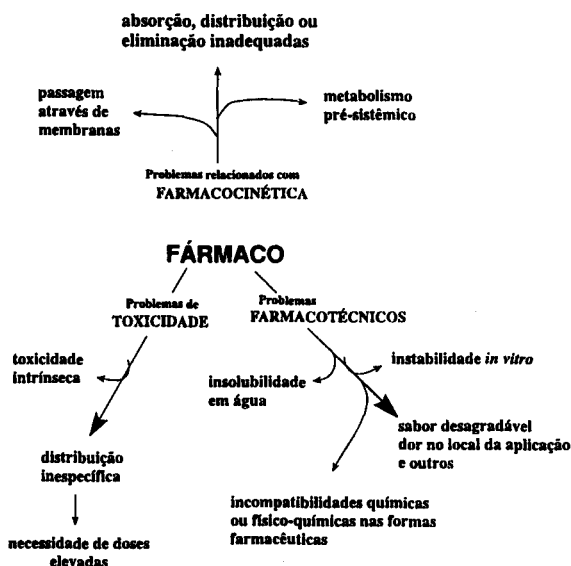


Figura 2. Alguns dos problemas que limitam a utilização do fármaco. Fonte: Cruz, M. L. Preparação e análise estrutural de iminas derivadas de dextranos oxidados e antimaláricos. São Paulo, 1995. Tese (doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 236p.

Problemas dessas duas fases podem ser, convenientemente, solucionados com o emprego da latenciação, ainda que esse não seja o único meio de se conseguir o aprimoramento da ação dos fármacos.

Alguns critérios devem ser considerados durante o planejamento do pró-fármaco<sup>4</sup>:

- existência de grupos funcionais na molécula matriz capazes de sofrer derivatização;
- existência de mecanismos e/ou sistemas no organismo capazes de bioativar o pró-fármaco;
- facilidade e simplicidade da síntese e purificação do pró-fármaco;
- estabilidade química do pró-fármaco;
- regeneração, *in vivo*, da molécula matriz, em quantidades ideais;
- toxicidade do transportador e do pró-fármaco *per se*.

Dessa forma, a latenciação permite, mediante a escolha de transportadores adequados, via de regra desprovidos de atividade biológica, o aprimoramento das propriedades do fármaco.

Entre os diversos métodos de preparação de pró-fármacos, a esterificação é o mais empregado, seguido da formação de amidas, imidas e carbamatos<sup>1,2</sup>. Outras ligações vêm merecendo atenção na obtenção de pró-fármacos nos quais a biotransformação não seja enzimática, como as iminas, bases de



Mannich e enaminas. A formação de sais, complexos e acetais também é possível<sup>18,19</sup>, embora no caso de sais haja controvérsias a respeito. Na Tabela 1 encontram-se os diversos tipos de derivados biorreversíveis mais comumente utilizados no planejamento de pró-fármacos<sup>2</sup>.

No processo de latenciação, vários fármacos ligados diretamente aos transportadores não são hidrolisados por enzimas lisossômicas, dificultando a liberação da porção ativa<sup>21-24</sup>. Há, nesses casos, necessidade de introduzir agente espaçante (grupo químico intermediário que estabelece a ligação entre o fármaco e o transportador). O comprimento e a composição desse grupo devem determinar a liberação enzimática do fármaco<sup>18-20</sup>.

Duncan e colaboradores<sup>21</sup> demonstraram que vários fármacos, como daunomicina e doxorrubicina eram liberados de copolímeros hidrossolúveis de *N*-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA) quando estes fármacos foram ligados ao polímero através de diferentes oligopeptídios. Observou-se que as endopeptidases hidrolisavam primeiramente o agente espaçante para, em seguida, por ação de aminopeptidases, liberar a porção ativa do fármaco.

Estes estudos demonstraram que a utilização de agente espaçante permite acesso maior e melhor da enzima<sup>1,2</sup>. Dessa forma, a liberação da porção ativa, que consiste no fator preponderante na manifestação da atividade biológica, é facilitada.

**Tabela 1.** Tipos de pró-fármacos de acordo com o grupo funcional do fármaco.

Grupo Funcional	Ligação Fármaco-Transportador	Tipos de Pró-Fármacos
-COOH	-COOR -COOCH(R)OOCR -CONHR	ésteres ésteres $\alpha$ -aciloxialquílicos amidas
-OH	-OOCR -OOOCR -OPO <sub>3</sub> H <sub>2</sub> -OR -OCH(R)OOCR	ésteres ésteres carbonatos ésteres fosfatos éteres éteres $\alpha$ -aciloxialquílicos
-SH	-S-R -SCH(R)OOCR -SCOR -S-S-R	tioéteres tioéteres $\alpha$ -aciloxialquílicos tioésteres dissulfetos
-C=O	RRC(OR') <sub>2</sub> -HC=N-R -C=C-OOCR	cetais iminas ésteres enólicos
		oxazolidinas
		tiazolidinas
-NH <sub>2</sub>	-NHCOR -NHCOOR -N=CRR NHCH=CRR -NH-CH <sub>2</sub> N(R)COR -NHCOOCH(R)OOCR	amidas carbamatos iminas enamias <i>N</i> -bases de Mannich derivados <i>N</i> -aciloxialcoxicarbonílicos
-N terciária	-+NC(R)CHOCOR	derivados <i>N</i> -aciloxialquílicos
-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ou -SO <sub>2</sub> NH-	-SO <sub>2</sub> N=C(OR)R -SO <sub>2</sub> NHCH <sub>2</sub> OR	imidatos <i>N</i> -sulfonílicos derivados <i>N</i> -alcoximetílicos
-NH ácido	-CON(R)CH <sub>2</sub> -NR <sub>1</sub> R <sub>2</sub> -CONRCH <sub>2</sub> OH -CONH-COR -CONRCH(R <sub>1</sub> )OCOR <sub>2</sub>	<i>N</i> -bases de Mannich derivados <i>N</i> -hidroximetílicos derivados <i>N</i> -acílicos derivados <i>N</i> -aciloxialquílicos

Fonte: Bundgaard, H. - *Design of prodrugs*, Amsterdam: Elsevier, 1985.

De acordo com Wermuth<sup>16,17</sup> os pró-fármacos podem ser classificados em:

- *Pró-fármacos clássicos;*
- *Bioprecursores;*
- *Pró-fármacos mistos e*
- *Fármacos dirigidos.*

### PRÓ-FÁRMACOS CLÁSSICOS

Promovem a melhoria da atividade terapêutica por aumento de biodisponibilidade, diminuição da toxicidade, prolongamento da ação, aumento da seletividade, mediante a escolha de transportador adequado, geralmente de caráter lipofílico. Estes pró-fármacos são menos ativos *per se* ou inativos quando comparados à molécula matriz e devem sofrer reação hidrolítica (química ou enzimática) para liberar a porção ativa. A seguir, encontram-se alguns exemplos de pró-fármacos clássicos.

#### Pró-fármacos que promovem alterações na farmacocinética

A utilização de derivados de aminoácidos ou peptídios como transportadores tem o objetivo de diminuir a toxicidade e/ou melhorar a biodisponibilidade (aumentando a hidrossolubilidade) do fármaco matriz, tais como tetraciclina<sup>23</sup>, metronidazol<sup>24</sup>, fenitoína<sup>25</sup>, ácido 5-aminossalicílico<sup>26</sup>, levodopa<sup>27</sup>, dapsona<sup>28</sup>, budesonida<sup>29</sup>. Outros transportadores podem ser utilizados com o objetivo de diminuir a metabolização rápida do fármaco<sup>30</sup>. No caso do 17- $\beta$ -estradiol (1), a esterificação do grupo fenólico (2) aumenta em 5 a 7 vezes a sua biodisponibilidade oral<sup>31</sup> (Fig. 3).

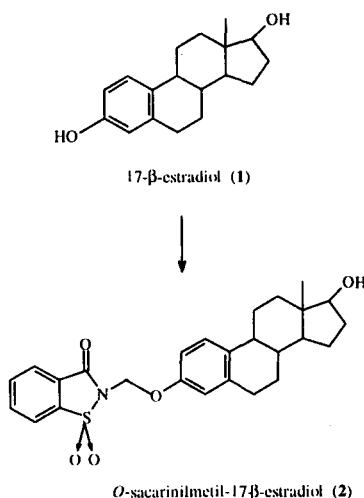


Figura 3. Estruturas químicas de 17- $\beta$ -estradiol (1) e seu pró-fármaco O-sacarinilmetil-17- $\beta$ -estradiol (2)<sup>31</sup>.

#### Pró-fármacos obtidos com o intuito de auxiliar a farmacotécnica

O cloranfenicol apresenta sabor amargo, dificilmente mascarado em preparações orais. Pesquisadores da Parke-Davis descobriram, décadas atrás, que o fármaco tornava-se insípido quando transformado em éster palmitato. Observaram, também, que esterases intestinais eram as responsáveis pela liberação da porção ativa no organismo. Outro exemplo é o do  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) (3), praticamente insolúvel em água, além de ser rapidamente oxidado pelo oxigênio atmosférico, o que dificulta sua administração parenteral. Takata e colaboradores<sup>32</sup> prepararam pró-fármacos mais hidrossolúveis deste composto, a exemplo de (4) (Fig. 4).

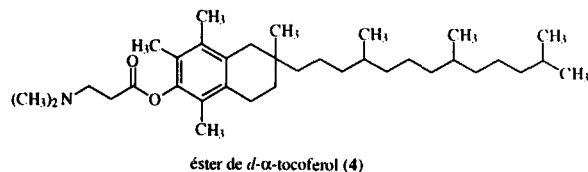
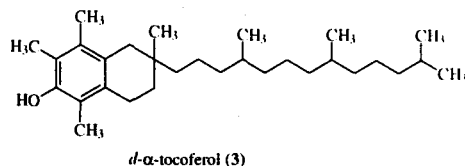


Figura 4. Estruturas químicas do d- $\alpha$ -tocoferol (3) e seu éster (4)<sup>32</sup>.

#### Pró-fármacos que promovem aumento da seletividade, diminuindo a toxicidade

Aumentar a seletividade do fármaco pelo seu sítio de ação, diminuindo a toxicidade é uma das funções mais importantes desempenhadas pela latenciação<sup>3,4,33</sup>. Nesse sentido, o conhecimento de enzimas específicas é imprescindível.

Exemplo deste propósito foi o desenvolvimento da levodopa, pró-fármaco da dopamina, capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e, no cérebro, ser enzimaticamente convertido em dopamina, que atua na doença de Parkinson e outras afins. Entretanto, sabendo-se que a  $\gamma$ -glutamilttransferase estava presente em grandes quantidades nos rins, pesquisadores dos Laboratórios Abbott, em 1979, desenvolveram o pró-fármaco  $\gamma$ -glutamildopamina. Este converte-se em dopamina, provocando a dilatação, preferencialmente, dos vasos sanguíneos do órgão, efeito desejado no tratamento de hipotensão aguda, fase inicial do estado de choque<sup>15</sup>, que compreende a incapacidade do sistema cardiovascular em suprir adequadamente oxigênio e nutrientes para as células do organismo.

Outro exemplo de fármaco de ação renal é o antibacteriano acetil-L- $\gamma$ -glutamilsulfametoxazol (5) (Fig. 5), que requer duas etapas para a sua liberação: inicialmente, deve sofrer a ação da acilase para, em seguida, por meio da  $\gamma$ -glutamilttranspeptidase, liberar o sulfametoxazol (6)<sup>34</sup>.

Outro sistema baseado no princípio da latenciação para diminuir toxicidade é o emprego de macromoléculas como

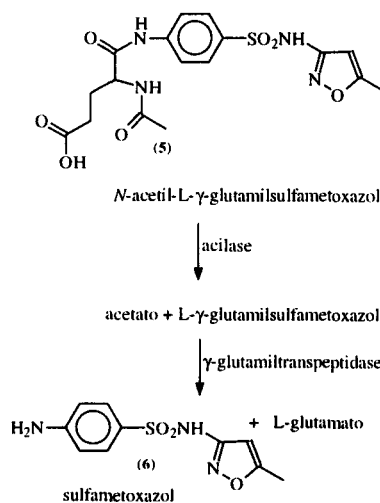


Figura 5. Representação esquemática da ação catalítica da acilase e  $\gamma$ -glutamilttranspeptidase sobre a N-acetil-L- $\gamma$ -glutamilsulfametoxazol (5) para a liberação de sulfametoxazol (6)<sup>34</sup>.

transportadores<sup>2,35,36</sup>. A quimioterapia para o tratamento do câncer é bom exemplo desta aplicação devido à alta toxicidade dos agentes antitumorais, uma vez que são, na sua maioria, desprovidos de seletividade<sup>36</sup>.

Várias macromoléculas biológicas naturais e sintéticas têm sido empregadas como transportadores de agentes quimioterápicos, partindo-se do conhecimento de que as características anatômicas e fisiológicas dos tecidos tumorais são diferentes dos tecidos normais (Fig. 6). Quando o fármaco é administrado intravenosamente, ocorre: a) distribuição dentro do espaço vascular; b) penetração através da parede microvascular; c) movimento através do espaço intersticial; d) interação com a superfície celular e por fim e) captação celular<sup>36</sup>. A estrutura anatômica dos vasos tumorais desempenha papel importante na distribuição do fármaco no espaço intersticial; estes apresentam aumento da permeabilidade microvascular em relação ao vaso normal, permitindo, dessa forma, a penetração de macromoléculas<sup>41</sup>. Além disso, os tecidos tumorais são caracterizados, também, por alta pressão intersticial, que pode retardar o extravasamento de macromoléculas e a falta de sistema linfático para drenagem resulta em acúmulo de macromoléculas no interior dos tecidos tumorais<sup>38-41</sup>.

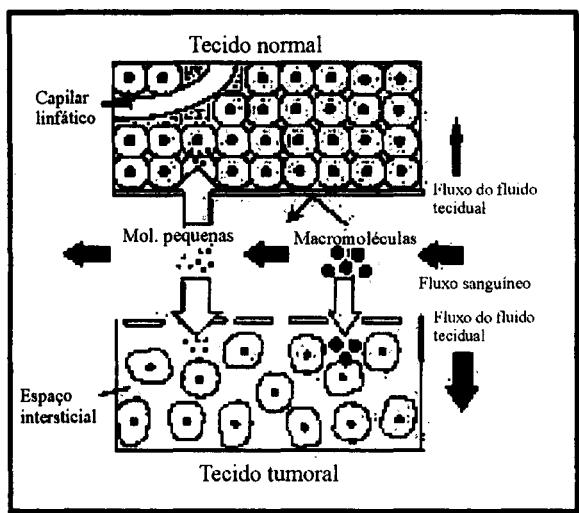


Figura 6. Características anatômicas e fisiológicas de tecido normal e tumoral<sup>42</sup>.

O tipo transportador polimérico (macromolécula) deve apresentar as seguintes características<sup>42,43</sup>:

- ser, de preferência, biodegradável,
- não apresentar toxicidade ou antigenicidade intrínseca,
- não acumular no organismo,
- apresentar grupos funcionais para ligação química,
- manter a atividade original do fármaco liberado até que este atinja o local de ação.

A seguir, encontra-se a Tabela 2 com alguns exemplos destes transportadores.

Outro tipo de transportador foi obtido por Yokoyama e colaboradores<sup>44,45</sup>. Estes pesquisadores desenvolveram micelas poliméricas de doxorubicina. A Figura 7 mostra esquema geral de obtenção desse tipo de pró-fármaco.

A doxorubicina foi diretamente ligada ao polímero poli(etilenoglicol)-(ácido poliaspártico) através de ligação peptídica (aminogruppo do fármaco e grupo carboxílico do ácido aspártico da cadeia polimérica), conferindo caráter anfifílico ao conjugado. A micela obtida apresentou características hidrofóbicas internas, "revestida", externamente, pela parte hidrofóbica. O conjugado micela-doxorubicina mostrou-se mais potente que o fármaco livre em relação à leucemia<sup>44</sup> e tumores sólidos em camundongos<sup>45</sup>.

Tabela 2. Classificação de macromoléculas utilizadas como transportadores não-específicos.

Classificação	Exemplos
<b>Transportadores não-específicos</b>	
<b>Macromoléculas naturais</b>	
• Proteínas	• albumina, globulina
• Polissacarídeos	• dextrano, quitina, quitosana, inulina
• Ácidos nucleicos	• DNA
<b>Macromoléculas sintéticas</b>	
• Ácidos poliamínicos	• polilisina, ácido poliaspártico, ácido poliglutâmico
<b>Macromoléculas mistas</b>	
	• copolímero de anidrido estireno de ácido maléico (SMA)
	• copolímero de anidrido éter divinil-maleico (DIVEMA)
	• copolímero de N-(2-hidroxipropil)-metacrilamida (HPMA)
	• polietilenoglicol (PEG)
	• álcool polivinílico (PVA)

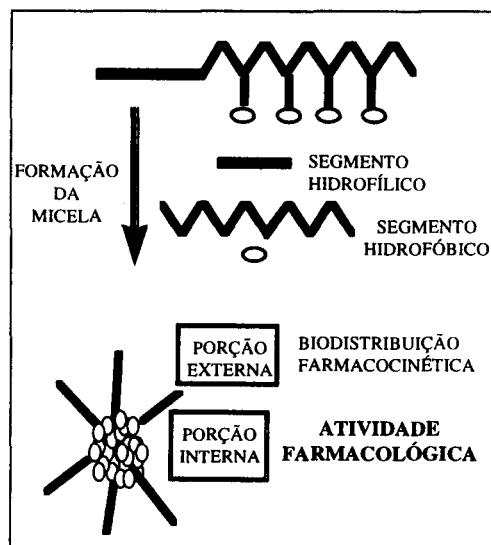


Figura 7. Esquema da formação da estrutura micela polimérica-fármaco<sup>44</sup>.

O mecanismo de ação destes compostos ainda não foi totalmente elucidado<sup>42</sup>. Acredita-se que os mesmos apresentem atividade citotóxica sem a liberação da doxorubicina, uma vez que a sua ligação com o polímero é bastante estável<sup>44</sup>. É possível, mediante ajuste do tamanho da micela, conseguir fármacos dirigidos a células específicas.

Derivados de aminoácidos ou peptídeos têm sido utilizados como transportadores com o intuito de diminuir a toxicidade e/ou melhorar a biodisponibilidade (aumentando a hidrossolubilidade), como anteriormente<sup>26,46,47</sup>.

A utilização de peptídeos como transportadores surgiu de trabalhos de Carl e colaboradores<sup>48</sup>, com o intuito de diminuir a toxicidade de fármacos altamente tóxicos, como os antineoplásicos. Nesse sentido, em 1983, Chakravarty e colaboradores<sup>49</sup>

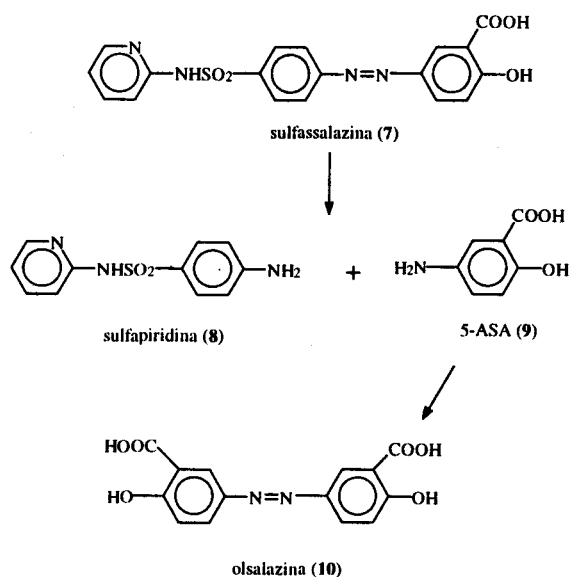
sintetizaram pró-fármacos peptídicos de doxorubicina, planejados racionalmente com base na seletividade da plasmina. Estes pró-fármacos poderiam ser ativados localmente em razão dos elevados níveis de plasmina produzidos em certos tumores sólidos, através da ação de ativadores de plasminogênio associados ao tumor. Os resultados demonstraram seletividade *in vitro* maior dos derivados peptídicos em relação ao fármaco de origem. Entretanto, os efeitos *in vivo* não foram satisfatórios, possivelmente por deficiência na transformação do pró-fármaco em sua forma ativa.

Com o mesmo objetivo, Trouet e colaboradores<sup>19</sup> prepararam diversos derivados de aminoácidos e peptídeos de primaquina com atividade antimalárica e demonstraram que estes derivados eram menos tóxicos que a primaquina. Os peptídeos utilizados por estes autores foram os mesmos utilizados no caso dos antineoplásicos.

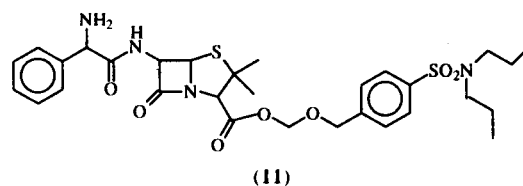
Geralmente, os transportadores são desprovidos de atividade terapêutica. Entretanto, quando o transportador também apresenta atividade, a forma latente resultante é denominada **PRÓ-FÁRMACO RECÍPROCO**<sup>1,2,50</sup>. A par de promover melhoria das propriedades farmacológicas, essa forma de transporte permite obter derivados de atividade mista ou de atividade única por mecanismos diferentes.

O conceito de pró-fármacos recíprocos também não é recente, uma vez que vários compostos foram introduzidos na terapêutica antes mesmo do conhecimento de pró-fármaco propriamente dito. A sulfassalazina (7), por exemplo, foi introduzida na terapêutica, em 1942, para o tratamento de artrite reumatóide<sup>51</sup>. Atualmente, é utilizada clinicamente no tratamento de colite ulcerativa<sup>52</sup>. Este fármaco libera, através da ação de azoredutases no organismo, sulfapiridina (8) e ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) (9), dois compostos farmacologicamente ativos<sup>53,54</sup>. Posteriormente, através das observações de que o 5-ASA era o responsável pela atividade terapêutica da sulfassalazina, foram desenvolvidos vários outros pró-fármacos dele derivados, incluído o pró-fármaco recíproco de duas moléculas de 5-ASA, a olsalazina (10)<sup>55</sup> (Fig. 8).

Ferres<sup>56</sup> desenvolveu pró-fármacos recíprocos de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, como éster probenecida da ampicilina (11), sintetizado com o objetivo de prolongar os efeitos da ampicilina mediante bloqueio, pela probenecida, de sua secreção ativa nos túbulos renais (Fig. 9).



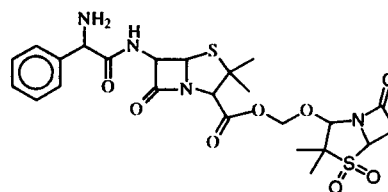
**Figura 8.** Esquema da biotransformação do pró-fármaco recíproco sulfassalazina (7) em sulfapiridina (8) e 5-ASA (9); este último é responsável pela ação terapêutica. A olsalazina (10) corresponde a duas moléculas de 5-ASA ligadas através de ligação azóica.



(11)

**Figura 9.** Éster probenecida da ampicilina.

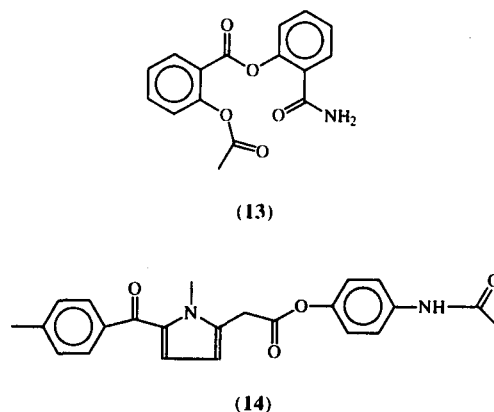
Outro exemplo é o da sultamicilina (12) (Fig. 10), desenvolvida com o objetivo de melhorar a atividade da ampicilina contra bactérias resistentes. Esta foi obtida através da ligação deste antibiótico com sulbactam, inibidor da  $\beta$ -lactamase<sup>50</sup>.



(12)

**Figura 10.** Estrutura química da sultamicilina.

No caso de antiinflamatórios, os pró-fármacos recíprocos reduzem os riscos de irritação gástrica, permitindo, assim, sua utilização em casos de tratamento prolongado. É o exemplo dos pró-fármacos de paracetamol e ácido acetilsalicílico (13), paracetamol e tolmetina (14) (Fig. 11), ibuprofeno e guaiacol, salicilamida e ácido acetilsalicílico, anidrido acetilsalicílico e outros.



(13)

(14)

**Figura 11.** Estruturas químicas dos pró-fármacos recíprocos salicilamida-ácido acetilsalicílico (13) e paracetamol-tolmetina (14).

As cefalosporinas também podem dar origem a pró-fármacos recíprocos (15) quando ligadas, na posição 3', a substituintes com atividade terapêutica. Isto porque exercem a atividade antibacteriana ligando-se covalentemente às enzimas bacterianas abrindo, subsequentemente, por ressonância do tipo enamina (16), o anel  $\beta$ -lactâmico, com liberação deste substituinte (17)<sup>55</sup>. Com este objetivo, foram desenvolvidos vários pró-fármacos recíprocos de cefalosporinas, também conhecidos como DAC (*Dual Action Cephalosporins*) (Fig. 12), que apresentam o espectro de ação ampliado. Dessa forma, Albrecht e colaboradores<sup>57,58</sup> desenvolveram série de DAC em que quinolonas são ligadas na posição 3' da cefalosporina com o intuito de melhorar a atividade, solubilidade, estabilidade e a farmacocinética

do fármaco matriz. O espectro de ação destes fármacos são complementares, uma vez que as quinolonas atuam em cepas resistentes a  $\beta$ -lactamases enquanto as cefalosporinas são eficazes contra estreptococos.

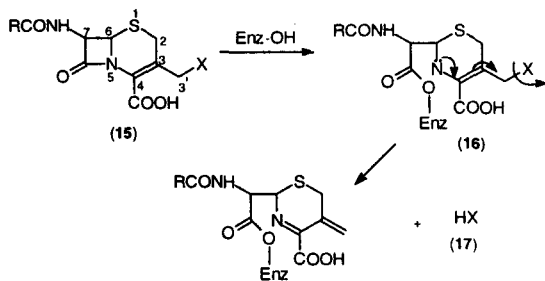


Figura 12. Representação esquemática do mecanismo de liberação de X de pró-fármacos recíprocos de cefalosporinas (DAC); X=grupo substituinte com atividade terapêutica<sup>5</sup>

O pró-fármaco recíproco Ro 23-9424 (18) (Fig. 13) apresentou excelente atividade *in vitro* e *in vivo*, sendo o primeiro DAC a ser testado clinicamente<sup>50</sup>.

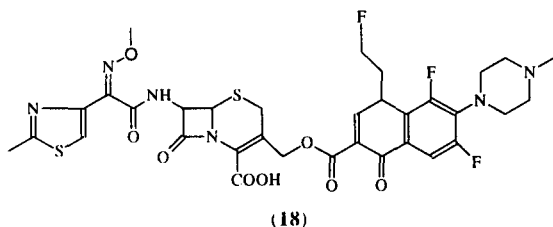


Figura 13. Estrutura química do derivado DAC Ro-23-9424.

## BIOPRECURSORES

Diferentemente dos pró-fármacos clássicos, esse tipo de forma latente não apresenta transportador. Constituem-se em moléculas resultantes de modificação molecular com a formação de um novo composto que deve sofrer metabolização, geralmente, pelo sistema redox celular para transformar-se em metabólito ativo<sup>17</sup>.

O derivado *N*-alquilaminobenzofenona (19) é exemplo de agente bioprecursor, pois é necessária a ciclização do anel, *in vivo*, para formar o derivado benzodiazepínico correspondente<sup>59,60</sup> (20) (Fig. 14).

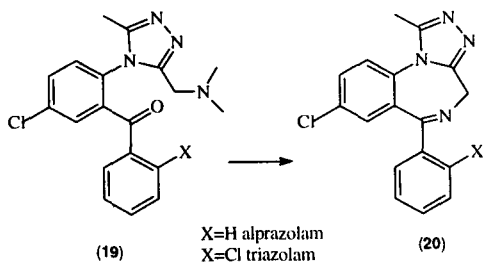


Figura 14. Conversão *in vivo* de *N*-alquilaminobenzofenonas em derivados benzodiazepínicos<sup>60</sup>.

## PRÓ-FÁRMACOS MISTOS

Alguns pró-fármacos possuem, ao mesmo tempo, características de pró-fármacos clássicos e de bioprecusores. Exemplo

mais recente é a utilização dos ésteres da trigonelina como transportadores de fármacos de ação central<sup>17</sup>. Estes atravessam a barreira hematoencefálica (BHE), sofrem ação do sistema redox celular, tornam-se carregados, ficam retidos no SNC e, após hidrólise, liberam o fármaco. Este sistema é chamado de sistema de liberação química, ou CDS (*Chemical delivery system*) (Fig. 15). Constitui-se em molécula biologicamente inerte, que requer várias etapas para a sua conversão à forma ativa, aumentando a liberação do fármaco em um sítio ou órgão específico<sup>61-63</sup>.

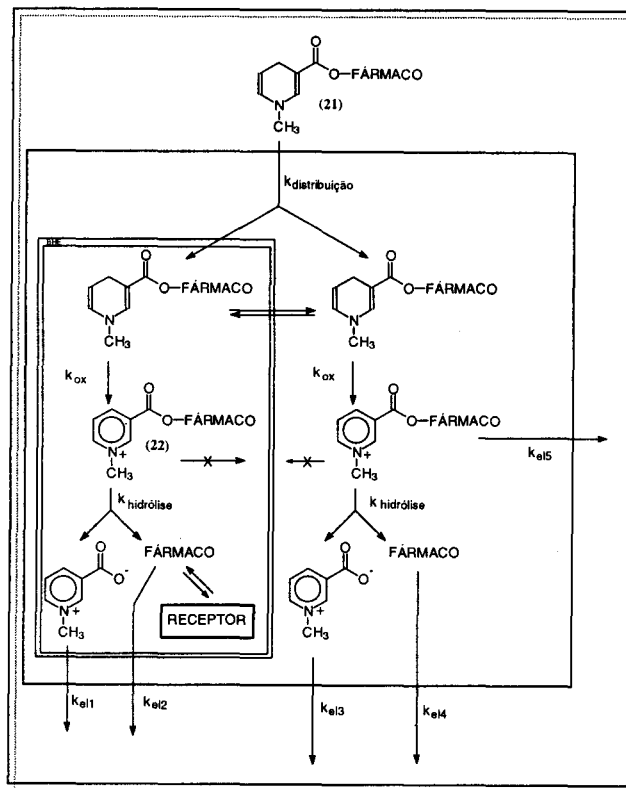


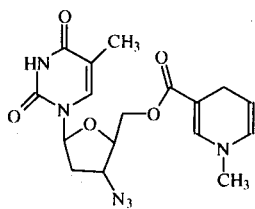
Figura 15. Esquema de CDS-SNC<sup>63</sup>.

O fármaco contendo grupo hidroxila, amino ou carboxílico é covalentemente ligado ao ácido nicotínico ou seu derivado. O composto é quaternizado para gerar sal de 1-metilnicotinato ou trigonelinato e é, então, reduzido quimicamente para dar 1,4-diidrotrigonelinato ou CDS (21). O grupo diidropiridina aumenta a lipofilicidade do fármaco ao qual está ligado. O transportador é especialmente planejado para sofrer oxidação, transformando diidrotrigonelinato lipofílico no sal de trigonelinato hidrossolúvel, o qual é impermeável à membrana (22). Dessa maneira, o pró-fármaco CDS atravessa a BHE e, após oxidação, é acumulado no SNC, sofre hidrólise e libera a porção ativa. Por este sistema, a concentração de fármaco ativo no sistema periférico é muito baixa, diminuindo a toxicidade<sup>63</sup>.

Este sistema tem sido utilizado para vários fármacos antivirais<sup>63</sup>, de emprego principalmente no tratamento da AIDS, como a zidovudina (23) (AZT-CDS)<sup>64</sup> (Fig. 16) e análogos da didesoxiadenosina<sup>65</sup>, da encefalite provocada por herpes simplex<sup>66</sup>, citomegalovirus<sup>63</sup> e da encefalite viral japonesa<sup>67,68</sup>.

## FÁRMACOS DIRIGIDOS

Os transportadores utilizados nesta forma latente são capazes de transportar os fármacos seletivamente do local de administração até o sítio de ação (receptores específicos)<sup>19</sup>. O objetivo



(23)

Figura 16. Estrutura química de zidovudina de liberação central (zidovudina-CDS).

principal do fármaco dirigido é minimizar as reações adversas provocadas pela ação inespecífica do fármaco em outros alvos<sup>1,19</sup>, diminuindo, pois, a toxicidade.

Os transportadores mais interessantes utilizados nesta forma latente são aqueles que interagem especificamente com os sítios presentes na superfície das células-alvo. Os fármacos podem ser ativados após a endocitose do conjugado fármaco-transportador pela célula alvo mediante ação de hidrolases ácidas presentes no compartimento lisossômico intracelular<sup>21</sup> (Fig. 17).

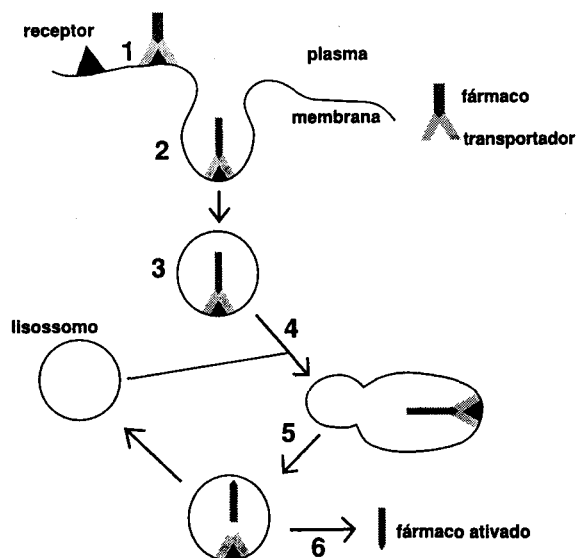


Figura 17. Mecanismo de endocitose e ativação do conjugado fármaco-transportador. O conjugado liga-se ao receptor (1), a membrana invagina-se (2) e envolve o conjugado (3). O vacúolo endocítico funde-se com o lisossomo (4), onde o fármaco é liberado pela ação de hidrolases ou pH ácido (5). O fármaco sai do lisossomo para atingir seu sítio de ação intracelular (6)<sup>21</sup>.

Os principais sistemas transportadores utilizados nestas formas latentes são<sup>1,18,36</sup>:

- Macromoleculares: anticorpos monoclonais, albumina, lectinas, hormônios peptídicos e glicoproteínas;
- Celulares: eritrócitos e fibroblastos;
- Sintéticos: polímeros sintéticos, como polímeros de metacrilamida, por exemplo, e lipossomos.

Os transportadores macromoleculares são os mais empregados com o objetivo de obter formas latentes altamente seletivas.

Recentemente, pesquisas de antitumorais mais seletivos levaram ao desenvolvimento de sistema ADEPT (*Antibody-Directed Enzyme Prodrug Therapy*), que envolve terapia estratégica em duas etapas. A primeira etapa compreende a administração de conjugado anticorpo-enzima (AEC). Este liga-se ao antígeno alvo na membrana celular ou ao antígeno livre no fluido extracelular.

Numa segunda etapa, o pró-fármaco é administrado e sofre a ação da enzima acoplada ao anticorpo, liberando, seletivamente, a porção ativa. Dessa forma, os efeitos tóxicos dos agentes antineoplásicos são diminuídos<sup>36,69</sup> (Fig. 18). Vários fármacos estão sendo latenciados utilizando-se este princípio<sup>6,9,70-74</sup>.

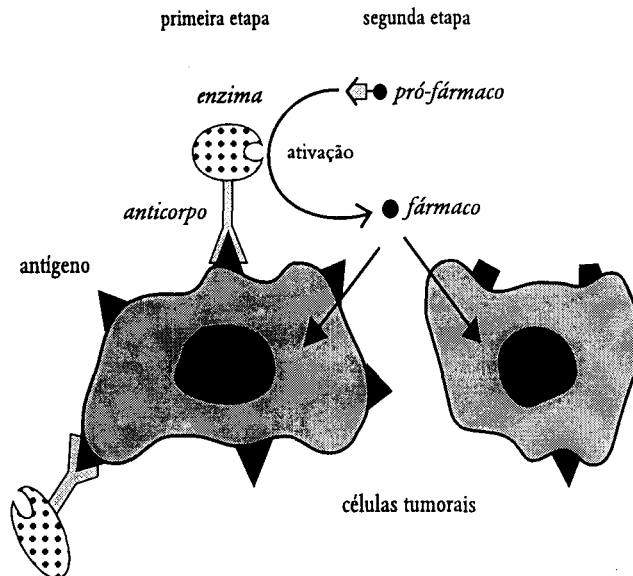


Figura 18. Conceito básico da ativação seletiva de pró-fármacos mediante conjugado enzima-anticorpo<sup>36</sup>.

As cefalosporinas (24), com base na sua capacidade de liberar grupos substituintes da posição 3', vêm sendo empregadas como transportadores para agentes antitumorais em ADEPT<sup>50</sup> (Fig. 19).

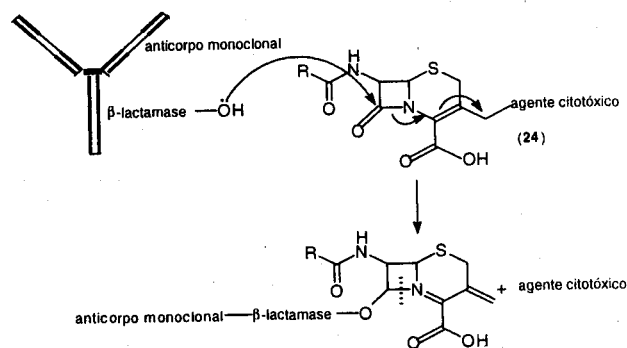
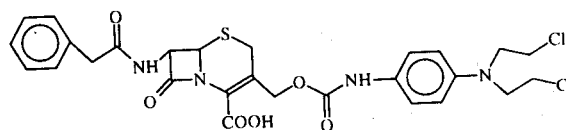
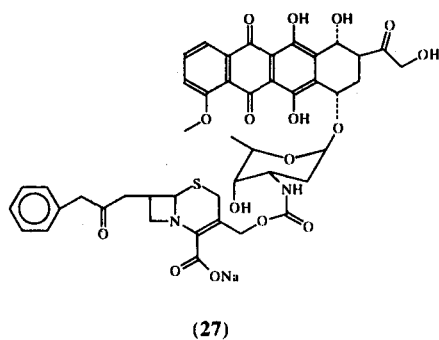
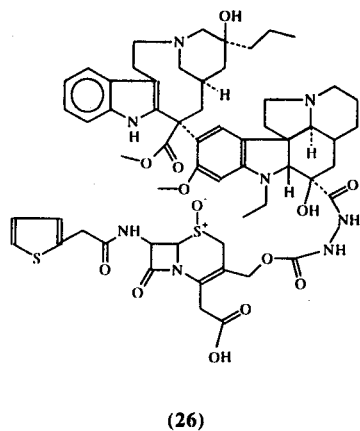


Figura 19. Cefalosporinas como transportadores em ADEPT. Ataque pela  $\beta$ -lactamase e liberação do agente citotóxico no local de ação<sup>50</sup>.

A seguir encontram-se as estruturas alguns pró-fármacos recíprocos de cefalosporinas utilizados em ADEPT: cefalosporina-mostarda de fenilenodiamina (25), cefalosporina-desacetilvimblastina (26) e cefalosporina-doxorrubicina (27).



(25)



## PERSPECTIVAS

Em resumo, a latência, como método de desenvolvimento de novos fármacos, vem merecendo interesse crescente. Stella e colaboradores, em 1985, questionaram se os pró-fármacos apresentavam vantagens na prática clínica<sup>75,76</sup>. Passados 6 anos, Hiller, em 1991, respondeu a questão: 20 a 30% dos fármacos introduzidos na terapêutica no período de 1986 a 1991 foram desenvolvidos utilizando a estratégia da latência<sup>15</sup>.

Além da vantagem de economia de tempo e de recursos, a latência permite a reintrodução de fármacos antes descartados por suas propriedades indesejáveis e o aprimoramento de novos fármacos antes que sejam lançados na terapêutica. Assim é que, em algumas indústrias farmacêuticas, faz parte do fluxograma de desenvolvimento de novos fármacos<sup>77</sup>.

Identifica-se, na atualidade, estímulo crescente em se obter fármacos altamente seletivos, revivendo a chamada "bala mágica", preconizada por Ehrlich<sup>1</sup>. Por outro lado, ante à possibilidade de se utilizar, mediante a latência, transportadores de liberação específica, prevê-se o aumento substancial do interesse na latência como alternativa útil na introdução de fármacos na terapêutica.

Ao longo dos anos, vimos empregando a latência no sentido de obter, entre outros derivados, antimaláricos de ação prolongada e de emprego nos casos de resistência<sup>78-82</sup>, alguns deles tendo manifestado atividade promissora<sup>78, 81</sup>. A Figura 20 mostra iminas derivadas de celulose oxidada com sulfas e sulfona (28-33), que se mostraram ativas em malária em camundongos infectados com *P. berghei*<sup>81</sup>.

Recentemente, nosso interesse, a exemplo da tendência anteriormente mencionada, tem-se voltado para a utilização deste processo com o objetivo de se obter compostos de ação mais seletiva, caso dos pró-fármacos peptídicos de primaquina (34-36)<sup>83</sup> (Fig. 21). Planejados para serem liberados especificamente no tripanossoma, mostraram-se ativos em ensaios preliminares *in vitro*.

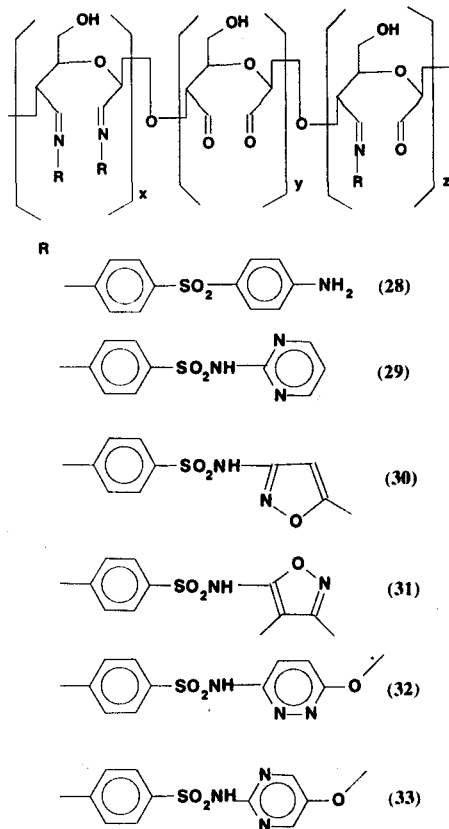


Figura 20. Estruturas possíveis de iminas derivadas de celulose oxidada com dupsona (28), sulfadiazina (29), sulfametoxazol (30), sulfisoxazol (31), sulfametoxipiridazina (32), sulfameter (33)<sup>81</sup>.

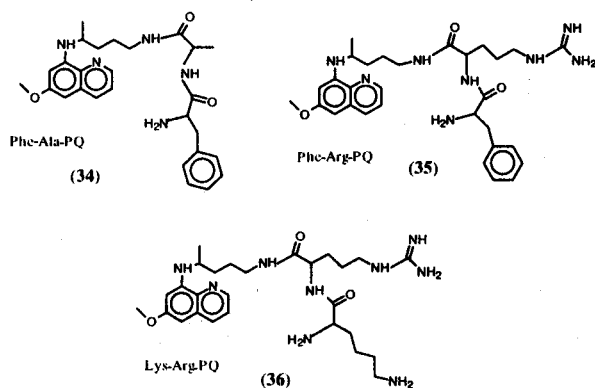
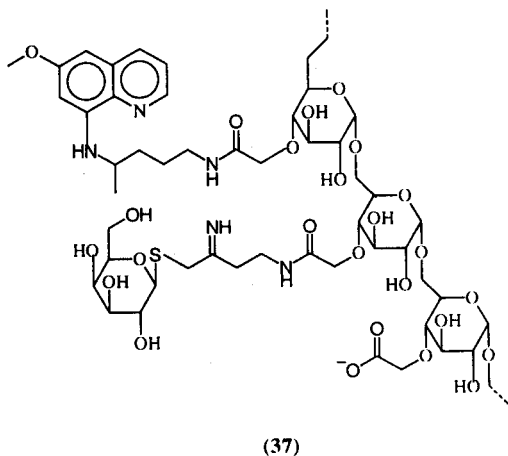


Figura 21. Pró-fármacos peptídicos de primaquina com atividade antichagásica *in vitro*. Phe-AlaPQ - fenilalanilalanina-primaquina (34); Phe-ArgPQ - fenilalanilarginina-primaquina (35); Lys-ArgPQ - lisilarginina-primaquina (36).

Também com vistas à seletividade, podem ser citados, ainda, os fármacos dirigidos de primaquina, preparados a partir de carboximetildextrano e tiogalactosídeo (37), como grupo diretor, com liberação potencial no fígado<sup>84</sup> (Fig. 22). Estes se encontram presentemente em ensaios de toxicidade hepática (dados não disponíveis).

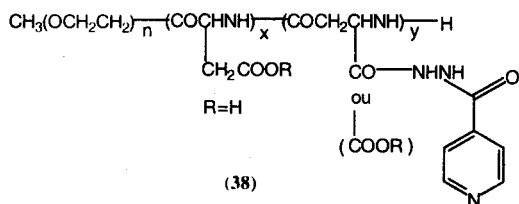
Micelas poliméricas derivadas de copolímero poli(etileno-glicol)-(ácido poliaspártico) com isoniazida (38) (Fig. 23), de ação prolongada provável, foram recentemente obtidas<sup>85</sup> e, ensaiadas em culturas de *Mycobacterium tuberculosis*, manifestaram atividade interessante.





(37)

Figura 22. Fármaco dirigido de primaquina de liberação hepática específica (37).



(38)

Figura 23. Copolímero poli(etilenoglicol)-(ácido poliaspártico) com isoniazida (38).

A perspectiva que a latenciação representa no campo, entre outros, das endemias tropicais, tem se constituído em mola propulsora para nossas pesquisas. A necessidade de quimioterápicos realmente úteis para muitas dessas doenças que acometem populações carentes aliada às possibilidades de se obterem, através da latenciação, derivados aprimorados, em especial com respeito à seletividade de ação, com as vantagens já descritas, dão suporte nessa direção.

## REFERÊNCIAS

- Korolkovas, A.; *Essentials of medicinal chemistry*. Wiley-Interscience; New York, 1988; 2nd ed.
- Bundgaard, H., Ed.; *Design of prodrugs*, Elsevier; Amsterdam, 1985.
- Bundgaard, H.; *Drugs Fut.* **1991**, *16*, 443.
- Krogsgaard-Larsen, P.; Liljefors, T. e Madsen, U. Eds.; *A textbook of drug design and development*; Academic Publishers, Harwood, 1996. 2nd ed.
- Meier, C. et al.; *Nucleosides & Nucleotides* **1995**, *14*, 759.
- Rosenblum, J. S. et al.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2275.
- Blakey, D. C. et al.; *Brit. J. Cancer* **1995**, *72*, 1083.
- Azoulay, M. et al.; *Anti-Cancer Drug Design* **1995**, *10*, 441.
- Trinh, Q. T. et al.; *Cancer Res.* **1995**, *55*, 4808.
- Beall, H. D.; Prankerd, R. J. e Sloan, K. B.; *Drug Develop. Ind. Pharm.* **1996**, *22*, 85.
- Bonnaffe, D. et al.; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 895.
- McGulgan, C. et al.; *Antiviral Chem.* **1996**, *7*, 31.
- Szczec, G. M.; *Clin. Infect. Dis.* **1996**, *22*, 355.
- Wang, L. L. et al.; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 826.
- Hiller, S.; *Science* **1991**, *253*, 1095.
- Wermuth, C. G.; Em *Drug Design: fact or fantasy?* K. R. H. Wooldridge e G. Jolles, Eds.; Academic Press, London, 1984; p.47-72.

- Wermuth, C. G. Ed.; *The practice of medicinal chemistry*; Academic, London, 1996.
- Trouet, A.; Deprez-de-Campeneere, D. e de Duve, C.; *Nature* (London). *New Biol.* **239**, 110. Apud: Trouet, A.; Deprez-de-Campeneere, D.; Baurain, R. e Schneider, Y. J.; Em *Drug design: fact or fantasy?* K. R. H. Wooldridge e G. Jolles, Eds.; Academic Press, New York, 1984; p. 3-15.
- Trouet, A.; Deprez-de-Campeneere, D.; Baurain, R. e Schneider, Y.J.; Em *Drug design: fact or fantasy?* K. R. H. Wooldridge e G. Jolles, Eds.; Academic Press, New York, 1984; p. 3-15.
- Laakso, T.; Stjarnkvist, P. e Sjöholm, I.; *J. Pharm. Sci.* **1987**, *76*, 134.
- Trouet, A.; Masquelier, M.; Baurain, R. e Deprez-de-Campeneere, D.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1982**, *79*, 626.
- Duncan, R. et al.; *Brit. J. Cancer* **1987**, *55*, 165.
- Tubaro, E. e Raffaldoni, E.; *Boll. Chim. Farm.* **1961**, *100*, 9.
- Bundgaard, H.; Larsen, C. e Thorbek, P.; *Int. J. Pharm.* **1984**, *18*, 67.
- Yamaoka, Y.; Roberts, R. D. e Stella, V. J.; *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72*, 400.
- Clerici, C. et al.; *Dig. Dis. Sci.* **1994**, *39*, 2601.
- Bai, J. P. F.; *Pharm. Res.* **1995**, *12*, 1101.
- Pochopin, N. L.; Charmon, W. N. e Stella, V. J.; *Int. J. Pharm.* **1995**, *121*, 157.
- Nolen III, H.; Fedorak, R. N. e Friend, D. R.; *J. Pharm. Sci.* **1995**, *84*, 677.
- Fredholt, K.; Mørck, N. e Begtrup, M.; *Int. J. Pharm.* **1995**, *123*, 209.
- Patel, J. et al.; *J. Pharm. Sci.* **1995**, *84*, 174.
- Takata, J.; Karube, Y.; Nagata, Y. e Matsushima, Y.; *J. Pharm. Sci.* **1995**, *84*, 96.
- Elfarra, A. A. et al.; *J. Pharm. Exp. Ther.* **1995**, *274*, 1298.
- Wilk, S.; Mizoguchi, H. e Orłowski, M.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1978**, *206*, 227.
- Stella, V. J. e Kearney, A. S. Em *Targeted drug delivery*, R. L. Juliano, Ed.; Springer-Verlag, Heidelberg, 1991; p. 71-103. (Handbook of Experimental Pharmacology, v.100).
- Takakura, Y. e Hashida, M.; *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **1994**, *18*, 207.
- Jain, R. K.; *Cancer Metastasis Rev.* **1987**, *6*, 559.
- O'Connor, S. W. e Bale, W. F.; *Cancer Res.* **1984**, *44*, 3719.
- Matsumara, Y. e Maeda, H.; *Cancer Res.* **1986**, *46*, 6387.
- Takakura, Y.; Fujita, T.; Hashida, M. e Sezaki, H.; *Pharm. Res.* **1990**, *7*, 339.
- Takakura, Y.; Tabagi, A.; Hashida, M. e Sezaki, H.; *Pharm. Res.* **1987**, *4*, 293.
- Sezaki, H. e Hashida, M.; *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **1984**, *1*, 1.
- Sezaki, H.; Takakura, Y. e Hashida, M.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1989**, *3*, 247.
- Yokoyama, M. et al.; *Cancer Res.* **1990**, *50*, 1693.
- Yokoyama, M. et al.; *Cancer Res.* **1991**, *51*, 3229.
- Nishida, K.; Kido, M.; Sasaki, H. e Nakamura, J.; *Pharm. Res.* **1994**, *11*, 160.
- Vitols, K. S. et al.; *Cancer Res.* **1995**, *55*, 478.
- Carl, P. L.; Chakravarty, P. K.; Katzenellenbogen, J. A. e Weber, M. J.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1980**, *77*, 2224.
- Chakravarty, P. K.; Carl, P. L.; Weber, M. J. e Katzenellenbogen, J. A.; *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 638.
- Singh, G. e Sharma, P. D.; *Indian J. Pharm. Sci.* **1994**, *56*, 66.
- Klotz, U. et al.; *N. Engl. J. Med.* **1980**, *303*, 1499.
- Korolkovas, A.; *Dicionário terapêutico Guanabara 96/97*; Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1996.

53. Schaefer, W. Ger. (East) DD. 255,941 (CIC07C101/74), 20 Apr. 1988, Appl. 298,386,24 Dec. 1986.
54. Vilaseca, J. et al.; *Gastroenterology* **1990**, *98*, 269.
55. Insel, P. A.; Em *Goodman & Gilman's. The pharmacological bases of therapeutics*, J. G. Hardman, et al. Eds.; Mc Graw Hill, New York, **1996**, 9.ed.; p. 617-57.
56. Ferres, H.; *Drugs Fut.* **1983**, *19*, 499.
57. Albrecht, H. A. et al.; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 77.
58. Albrecht, H. A. et al.; *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2857.
59. Gall, M.; Hester, J. B. Jr.; Rudzik, A. D. e Lahti, R. A.; *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 1057.
60. Lahti, R. A. e Gall, M.; *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 1064.
61. Bodor, N.; *Drug Delivery*, *5*, pat. 4,479,932. Apud: Brewster, M. E. e Bodor, N.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1994**, *14*, 177.
62. Bodor, N.; Farag, H. H. e Brewster, M. E.; *Science* **1981**, *214*, 1370.
63. Brewster, M. E. e Bodor, N.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1994**, *14*, 177.
64. Little, R. et al.; *J. Biopharm. Sci.* **1990**, *1*, 1.
65. Driscoll, J.S. et al.; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1619.
66. Venkatragharan, V.; Shek, E.; Perchalski, R. e Bodor, N.; *Pharmacologist* **1986**, *28*, 145.
67. Bhagrath, M. et al.; *Antiviral Chem. Chemother.* **1991**, *2*, 265.
68. Deyrup, M. et al.; *Antiviral Chem. Chemother.* **1991**, *2*, 337.
69. Hasegawa, T. e Kawaguchi, T.; *Clin. Pharmacokinet.* **1994**, *27*, 331.
70. Springer, C. J. et al.; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 5051.
71. Leenders, R. G. G. et al.; *Bioorg. Med. Chem. Let.* **1995**, *5*, 2975.
72. Alexander, R. P.; Bates, R. W.; Pratt, A. J. e Kraunsoe, J. A. E.; *Tetrahedron* **1996**, *52*, 5983.
73. Baxter, L. T. e Jain, R. K.; *Brit. J. Cancer* **1996**, *73*, 447.
74. Vingerhoeds, M. H. et al.; *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 604.
75. Stella, V. J.; Charman, W. N. A. e Naringrekar, V. H.; *Drugs* **1985**, *29*, 455.
76. Stella, V. J. e Himmelstein, K. J.; Em *Design of prodrugs*, H. Bundgaard, Ed.; Elsevier, Amsterdam, 1985; p. 176-198.
77. Testa, B. e Caldwell, J.; *Med. Res. Rev.* **1996**, *16*, 233.
78. Korolkovas, A.; Ferreira, E. I.; Lima, J. D. e Krettli, A. U.; *Chemotherapy* **1978**, *24*, 231.
79. Ferreira, E. I. e Korolkovas, A.; *Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo* **1981**, *17*, 28.
80. Ferreira, E. I.; Cruz, M. L. e Korolkovas, A.; *Starch/ Stärke* **1992**, *44*, 21-24
81. Ohara, M. T. et al.; *Boll. Chim. Farm.* **1995**, *134*, 522.
82. Cruz, M. L.; Ferreira, E. I. e Korolkovas, A.; *Starch/ Stärke* **1997**, *49*, 66.
83. Chung, M. C. et al.; *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 1127.
84. Klier, A. H.; *Dissertação de Mestrado* - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo 1997.
85. Silva, M.; *Dissertação de Mestrado* - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo 1997.