

STRUKTURNÍ MODIFIKACE LÉČIV OVLIVŇUJÍCÍ BIODOSTUPNOST A TERAPEUTICKÝ ÚČINEK

ANETA ČERNÍKOVÁ a JOSEF JAMPÍLEK

*Ústav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1/3, 612 42 Brno
jampilekj@vfu.cz*

Došlo 11.6.13, přijato 17.7.13.

Klíčová slova: proléčiva, bioprekurzory, zdvojená léčiva, soft drugs, klasifikace

Obsah

1. Úvod
2. Proléčiva, bioprekurzory a jejich klasifikace
 - 2.1. Transportní formy léčiv
 - 2.1.1. Proléčiva se zvýšenou rozpustností ve vodě
 - 2.1.2. Proléčiva se sníženou rozpustností ve vodě / zvýšeným pasivním vstřebáváním / prodlouženým účinkem
 - 2.1.3. Proléčiva se specifickou distribucí
 - 2.1.4. Intramolekulárně aktivovaná proléčiva
 - 2.2. Bioprekurzory
 - 2.2.1. Oxidativní bioaktivace
 - 2.2.2. Reduktivní bioaktivace
 - 2.2.3. Oxidativně-reduktivní bioaktivace
 - 2.2.4. Bioaktivace bez změny oxidačního stavu
3. Zdvojená léčiva (codrugs)
4. Léčiva s řízeným metabolismem (soft drugs)
5. Závěr

1. Úvod

Biodostupnost léčiv a následný terapeutický efekt se odvíjí od jejich fyzikálně-chemických vlastností, přičemž především nové molekuly vykazují biodostupnost problematickou. Mnohá léčiva mají nižší rozpustnost nebo absorpci¹, podléhají metabolickým destrukcím přímo ve střevě nebo metabolizaci v játrech², případně dalším druhům degradace vedoucím ke krátkému biologickému poločasu. *In vivo* podání takových léčiv pak je limitováno parenterální aplikací. Jsou sice prováděny galenické úpravy vlastností, nicméně jsou často nedostačující. Chemická modifikace je pak obecně považována za poslední možnost překonání farmakokinetických nedostatků léčiv, přičemž pro tyto chemické úpravy se často používá označení „design proléčiv“. Jeho úkolem je přeměnit aktivní mole-

kulu léčiva na klinicky akceptovatelnou sloučeninu s požadovanými optimalizovanými vlastnostmi^{2,3}.

Proléčiva lze obecně rozdělit do dvou základních skupin: na transportní formy léčiv (tzv. carrier prodrugs) a bioprekurzory⁴. Nové možnosti v léčbě proléčiv využívají např. přístupy ADEPT (antibody-directed enzyme prodrug therapy) a GDEPT (gene-directed enzyme prodrug therapy). Strategie ADEPT je založená na distribuci specifického enzymu do nádorové buňky, kde je enzym konjugován s příslušnou nádorovou protilátkou. Proléčivo je distribuováno v organismu jako inertní látka a prochází specifickou aktivací pouze v nádorové buňce s příslušným enzymem. Analogickou strategií založenou na distribuci genu do nádorové buňky, který kóduje aktivacíni enzym, je GDEPT. Distribuce genu je následována podáním proléčiva specificky aktivovaného v dané nádorové tkáni⁵.

Své uplatnění vedle klasických proléčiv a bioprekurzorů nalezla i zdvojená léčiva (codrugs). V souvislosti s proléčivou lze často najít i termín „soft drugs“ (antedrugs), ačkoli molekuly tohoto typu jsou pravým opakem proléčiv, viz kapitola 4. Modifikovaná léčiva jsou dnes využívána k léčbě mnoha chorob právě pro své specifické vlastnosti jako je zvýšená, resp. snížená rozpustnost ve vodě, zvýšená lipofilita, zlepšené vstřebávání, prodloužený účinek, specifitější/cílená biodistribuce, nižší toxicita a redukované nežádoucí účinky, zvýšená stálost v organismu a upravené organoleptické vlastnosti^{2,3,6}. Tento článek si klade za cíl definovat základní pojmy a přiblížit současnou klasifikaci těchto pozoruhodných modifikací léčiv a zaměřit se na moderní trendy a perspektivy jejich vývoje.

2. Proléčiva, bioprekurzory a jejich klasifikace

Proléčiva jsou především synteticky připravené látky, mnohé z nich byly objeveny spíše náhodou než cíleným návrhem. Výzkumem prošly i v přírodě se vyskytující proléčiva, např. fytoestrogeny a jejich preventivní vliv na vznik nádorů⁷. Termín „proléčivo“ zavedl A. Albert v roce 1958, když definoval proléčivo jako každou látku, která podléhá biotransformaci před tím, než získá farmakologický účinek⁸. V roce 1959 N. J. Harper definoval tzv. „drug latention“ jako chemickou modifikaci biologicky aktivní sloučeniny vytvořenou novou molekulou, která *in vivo* uvolní původní biologicky aktivní látku⁹. Termín „drug latention“ tak lze vlastně chápat jako design transportních forem léčiv, neboť navázaná specializovaná netoxická chránící skupina dočasně měnila nebo eliminovala nežádoucí vlastnosti mateřského léčiva. Do českého vědeckého prostředí byl pojem proléčivo zaveden prof. K. Palátem a jeho spolupracovníky v 80. letech 20. století¹⁰.

Obecné třídění proléčiv je možné podle: *i*) terapeutických kategorií (protinádorová, antibakteriální, protizánětlivá atd.); *ii*) typu nově vzniklých chemických vazeb nebo složek/nosičů připojených na aktivní léčivo (např. esterová, glykosidová, s protilátkou, genem, virem apod.); *iii*) podle vlastnosti, která má být přípravou proléčiva modifikována (např. proléčiva se specifickou distribucí, zvýšenou stálostí, zvýšenou absorpcí atd.); *iv*) místa konverze na aktivní látku a dále na subtypy označující, zda je místo konverze proléčiva také zároveň místem jeho terapeutického účinku (viz tab. I, cit.¹¹).

Transportní formy léčiv (klasická proléčiva) se vyznačují dočasnou vazbou mezi aktivní molekulou a transportní skupinou, která má často výraznou lipofilitu. Vazba neaktivní transportní skupiny musí být snadno hydrolyticky (chemicky/enzymaticky) štěpena za uvolnění původního aktivního léčiva. Samotná transportní skupina musí být netoxická. Bioprekurzory na rozdíl od proléčiv neobsahují žádnou transportní skupinu, modifikace generuje zcela nové sloučeniny, které jsou substrátem pro enzymy (většinou I. biotransformační fáze), které z ní aktivní léčivo následně vytvoří⁴.

2.1. Transportní formy léčiv

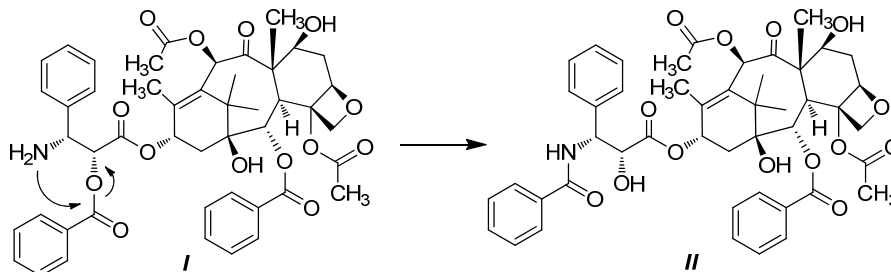
Připravené sloučeniny musí splnit následující kritéria^{12,13}: *i*) vazba mezi aktivní molekulou a transportní skupinou je kovalentní; *ii*) samotné proléčivo je neaktivní nebo výrazně méně aktivní ve srovnání s mateřským léčivem; *iii*) dostatečná rozpustnost ve vodě; *iv*) dostatečná

chemická stabilita při fyziologickém pH; *v*) vazba mezi aktivní molekulou a transportní skupinou musí být štěpitelná po absorpci *in vivo*; *vi*) proléčivo a uvolněná transportní skupina nesmí být toxické; *vii*) vznik aktivní formy (mateřského léčiva) musí probíhat s dostatečnou rychlostí pro zajištění terapeutické koncentrace v místě účinku; *viii*) minimalizace přímé inaktivace proléčiva metabolismem nebo postupné inaktivace léčiva.

2.1.1. Proléčiva se zvýšenou rozpustností ve vodě

Při přípravě proléčiv se zvýšenou rozpustností ve vodě mohou být výchozí struktury kondenzovány buď s neionizovatelnými skupinami (např. glykoly, PEG, sacharidy), pak se rozpustnost zvýší 2–3krát; nebo ionizovatelnými skupinami (např. hydroxyly, fosfáty, sulfáty, sukcináty, aminokyselinami), pak dochází ke zvýšení rozpustnosti až o několik řádů. Tak je možné vytvořit soli hydrolyzovatelných amidů nebo poloesterů s vícesytnými kyselinami. Příkladem může být PEG-paklitaxel, fosfentyoin, klindamycin-fosfát, metronidazol-*N,N*-dimethylglycinát nebo chloramfenikol-sukcinát sodný¹⁴. Rozpustnost lze ovlivnit i skupinami zajišťujícími nekoplanární uspořádání molekul změnou pakování v krystalové struktuře¹⁵.

Zajímavé jsou sloučeniny s *N,O*-acyl migrující skupinou. Pokud je na NH-skupině napojena β -hydroxyamidová složka, pak intramolekulární *N,O* přenos acylu může nastat přes 5-členný kruh za současného vytvoření změněného derivátu obsahujícího ester a volný amin, viz obr. 1. Mezi oběma isomery existuje rovnováha závislá na pH, přičemž *O*-acyl převažuje v kyselém pH, zatímco *N*-acyl v neutrálním



Obr. 1. pH-Dependentní *N-O* acylová migrace a přeměna isotaxelu (I) na paklitaxel (II)

Tabulka I

Nejnovější navržená kategorizace proléčiv¹¹

Typ	Místo konverze	Subtyp	Tkáň konverze	Příklad
I	intracelulární	A	terapeutický cíl	L-DOPA, cyklofosfamid, acyklovir, zidovudin
		B	metabolizující orgány (stěna střev, játra, plíce atd.)	karbamazepin, kaptopril, molsidomin, sulindak
II	extracelulární	A	GIT tekutiny	loperamid, sulfasalazin
		B	krev a další extracelulární tekutina	bakampicilin, dipivefrin, bambuterol, fosfentyoin
		C	terapeutický cíl	ADEP, GDEP, VDEP

ním prostředí. Tato pH-dependentní rovnováha způsobuje, že *O*-acyl může být chápán jako potenciální prolečivo *N*-acylu, na který se přeměňuje v neutrálním až mírně zásaditém prostředí organismu. *O*-Acily s volnou aminoskupinou vykazují zvýšenou rozpustnost ve vodě díky ionizovatelné aminové složce¹⁶. Příkladem může být isotaxel (**I**) ve vodě rozpustné prolečivo paklitaxelu (**II**)¹⁷, viz obr. 1.

2.1.2. Prolečiva se sníženou rozpustností ve vodě / zvýšeným pasivním vstřebáváním / prodlouženým účinkem

Tato modifikace se vyznačuje bloádou hydrofilních skupin, tedy přípravou esterů/amidů s vyššími mastnými kyselinami, např. chloramfenikol-palmitát⁶. Prolečiva se zvýšeným pasivním vstřebáváním mají maskovány polární funkční skupiny, resp. skupiny umožňující tvorbu vodíkových vazeb; tedy lze rozlišovat prolečiva alkoholů a fenolů, karbonylů, karboxylových a fosforečných kyselin, prolečiva odvozená od dusíkatých funkčních skupin (aminy, amidiny, látky obsahující kyselou NH skupinu, Mannichovy a Schiffovy báze, enaminy/enaminony, tetrahydrothiadiazin-2-thiony, (oxodioxolenyl)methyl-karbamáty, oxazolidiny a thiazolidiny). Nejvyšší orální biodostupnost, které mohou takto modifikovaná léčiva dosáhnout, činí 40 až 60 %. Je to důsledek neúplné membránové permeace, efluxu způsobeného P-glykoproteinem, hydrolýzou v lumen střeva, jaterním metabolismem atd¹³. Oseltamivir, benazepril, fosinopril, butyryl-timolol, dipivefrin nebo tazaroten jsou estery, resp. dvojité estery^{3,13,18,19}. Yan a spol. studovali možnost zlepšení absorpce EXP3174 (**IV**), hlavního aktivního metabolitu losartanu generovaného oxidací cytochromem P450 po p.o. podání, esterifikací pivalovou kyselinou, která byla již úspěšně použita u jiných léčiv (např. pivampicilin, adefovir-dipivoxil, cefetamet-pivoxil, cefditoren-pivoxil)³. Absorpce EXP3174-pivoxilu (**III**) byla rychlejší než losartanu a **III** byl u potkanů efektivněji přeměňován na **IV** než losartan (viz obr. 2, cit.²⁰).

Prolečiv s prodlouženým účinkem se využívá hlavně ve skupině neuroleptik, hormonální substituční terapii a kontraceptiv. Opět bývají maskovány hydrofilní skupiny a vznikají tak např. flufenazin-dekanoát, perfenazin-enanthát, flupentixol-dekanoát nebo haloperidol-dekanoát. Takto modifikovaná neuroleptika jsou pak využívána jako depotní intramuskulární olejové injekce k léčbě schizofrenie a dalších psychických poruch²¹. Antikoncepční steroidy, prolečiva gestagenů, např. norethisteron-enanthát

a medroxyprogesteron-acetát, mají dlouhotrvající účinek, a to především díky pomalému uvolňování z místa vpichu a ukládání v tukových tkáních²². Pomalejšího metabolického uvolňování bylo také dosaženo u bambuterolu, karbamátového prolečiva β_2 -agonisty terbutalinu používaného při léčbě astmatu. Bambuterol je aktivován na terbutalin hydrolýzou prostřednictvím cholinesterasy v krevním séru²³. Tyto výše uvedené typy prolečiv jsou natolik obsáhlé a také známé téma^{3,6}, že zde nebudou dále podrobněji diskutovány.

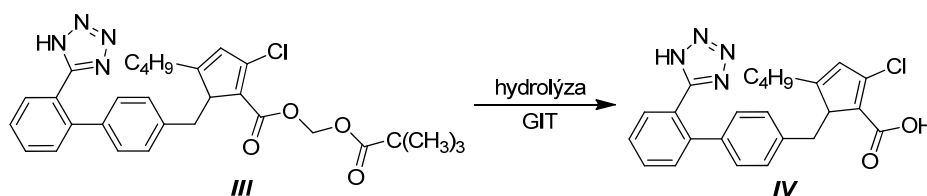
2.1.3. Prolečiva se specifickou distribucí

Doručení aktivní látky specificky do tkáně je důležité pro její účinek, přičemž specifická distribuce je dlouhodobě věnovaná pozornost hlavně u antineoplastik. První přístup spočívá v distribuci prolečiva do celého organismu, ale jeho bioaktivaci pouze uvnitř určeného orgánu – využívá se patofyziologických/patobiochemických rozdílů mezi zdravou a poškozenou tkání (specifické enzymy, podmínky), a lze pak hovořit o tzv. místně-specifickém uvolnění léčiva. Druhý přístup, kdy prolečivo dosáhne zvýšené koncentrace selektivním transportem aktivní látky přímo do místa účinku, se nazývá specifická distribuce léčiva na místo účinku.

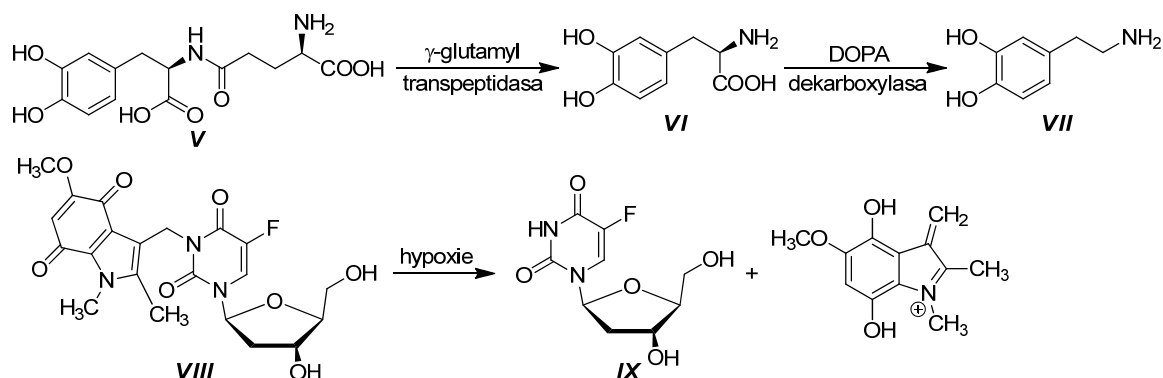
Příkladem místně-specifického uvolnění léčiva může být na periférii stabilnější γ -L-glutamyl-L-DOPA (**V**)²⁴, která je následně štěpena γ -glutamyl transpeptidasou na L-DOPA (**VI**) a ta je pak transformována DOPA-dekarboxylasou na dopamin (**VII**), viz obr. 3. Indolchinon-3-ylly jsou využívány transportní skupiny uvolňující bioredukci mateřské léčivo a samy přispívající k cytotoxicitě v nádorových buňkách tvorbou elektrofilního iminiového kationtu. Příkladem je indolchinon-5-fluorodeoxyuridin (**VIII**) uvolňující floxuridin (**IX**) (viz obr. 3, cit.^{25,26}).

Specifická distribuce léčiva na místo účinku využívá: i) specifický nosič, který je fyziologicky přednostně vychytáván v cílovém orgánu; ii) specifické transportéry; iii) specifické molekulární struktury pro zvýšení průniku do cílových orgánů (např. kůže, kosti apod.).

Za specifický nosič, který je přednostně vychytáván v prostatě, může být považován estradiol-fosfát. Na něj karbamátovou vazbou navázaná alkylující bis(2-chlor-ethyl)aminová skupina dá vzniknout estramustin-fosfátu, transportní formě dusíkatého yperitu používaného v léčbě karcinomu prostaty⁶. V tenkém střevě je možné využít pro zlepšení absorpce specifických peptidových transportérů PepT1 a PepT2, které mají vysokou transportní kapacitu



Obr. 2. Hydrolýza EXP3174-pivoxilu (**III**) na aktivní EXP3174 (**IV**)



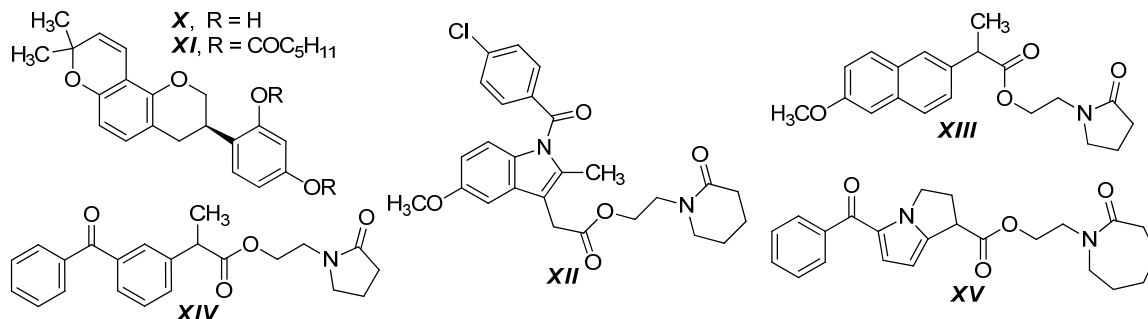
Obr. 3. Schéma štěpení γ -L-glutamyl-L-DOPA (V) přes L-DOPA (VI) na dopamin (VII) a aktivace indolchinson-5-fluorodeoxyuridinu (VIII) za následného uvolnění 5-fluorodeoxyuridinu (IX) vlivem hypoxie

a širokou substrátovou specifitu^{2,27}. Midodrin je p.o. podávané pro léčivo terapie orthostatické hypotenze. Po téměř kompletním vstřebání je konvertován na aktivní formu 1-(2',5'-dimethoxyfenyl)-2-aminoethanol (DMAE) odštěpením glycinového zbytku. Tato vysoká biodostupnost midodrinu souvisí s přítomností PepT1 transportéru a jeho schopností přenášet glycinem modifikované DMAE (cit.²⁸). Estery ketoprofenu a indomethacinu s glukosou (esterifikace hydroxyly na C₆ D-glukosy) vykazovaly afinitu ke glukosovému transportéru (GluT1) vyskytujícímu se v hematoencefalické bariéře²⁹.

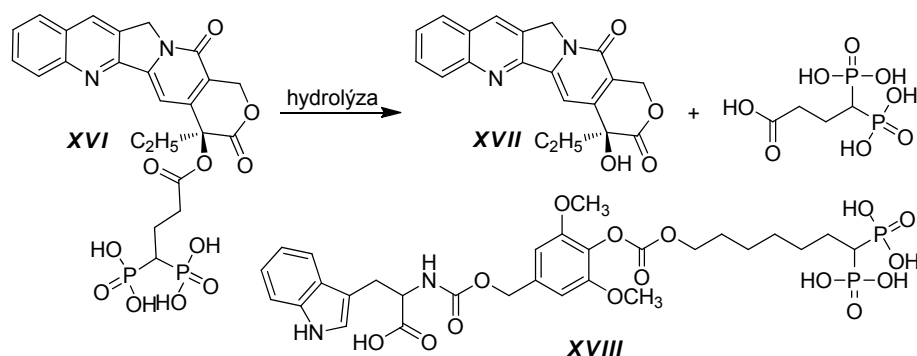
Využití specifických molekulárních struktur pro zvýšení průniku do kůže může být demonstrováno na molekule glabridinu (X), pyranoisoflavanu izolovaného z lékořice (*Glycyrrhiza* sp.) potlačujícího melanogenezi a záněty kůže. Sám špatně proniká do kůže a je nestabilní, což vedlo k přípravě glabridin-dihexanoátu (XI), pro léčiva se zlepšeným průnikem do kůže, v níž se hydrolyzuje a vytváří depo³⁰. Esterová pro léčiva nesteroidních protizánětlivých látek se zvýšeným průnikem do kůže byla navržena tak, aby jakmile pro léčivo dosáhlo epidermis, esterasy hydrolyzou léčivo uvolnily a to se pak v hydrofilní epidermis rozpustilo a účinkovalo³¹. Jako transportní skupiny byly vy-

brány *N*-alkylazacykloalkan-2-ony, neboť u nich nebyly pozorovány žádné toxické ani vedlejší účinky³². Rychlost hydrolyzy byla závislá na velikosti cykloalkanu^{32–36}. Z hodnocených esterů indometacinu vykazoval nejvýhodnější vlastnosti ester s *N*-ethylpiperidin-2-onem (XII)³³. Ester XIII penetroval přes kůži více než naproxen³⁴. Ze skupiny derivátů ketoprofenu byl aktivnější než mateřské léčivo ester *N*-ethylpyrrolidin-2-onu (XIV)³⁵ a z esterů ketorolaku (5) byl výrazně aktivní derivát s *N*-ethylazepan-2-onem³⁶ (viz obr. 4).

Kostní tkáň jsou považovány za místo s omezenými možnostmi léčby. Erez a spol. navrhli dva druhy hydrolytických aktivovaných chemoterapeutických pro léčiv obsahujících bisfosfonáty, jako do kosti distribuující látky. První typ pro léčiv byl použit u molekul léčiv obsahujících hydroxylovou skupinu; u molekuly kamptothecin (XVII) byl bisfosfonát připojen prostřednictvím esterové vazby za vzniku kamdronátu (XVI). Druhý typ pro léčiva byl odvozen od tryptofanu, nicméně systém je obecně určen pro použití u molekul s aminoskupinou. V tomto případě byla samo-uvolňovací spojovací skupina použita k připevnění léčiva na bisfosfonát přes karbonátovou vazbu a vzniklo tak pro léčivo tryptodronát (XVIII). Obě pro léčiva vykazova-



Obr. 4. Glabridin (X), glabridin-dihexanoát (XI) a estery indometacinu (XII), naproxenu (XIII), ketoprofenu (XIV), ketorolaku (XV)



Obr. 5. Hydrolýza kamdronátu (XVI) na kamptothecin (XVII) a tryptidronát (XVIII)

la výraznou schopnost vázat se na hydroxyapatit, hlavní složku kostí, a byla aktivována hydrolyticky za fyziologických podmínek³⁷, viz obr. 5.

2.1.4. Intramolekulárně aktivovaná proléčiva

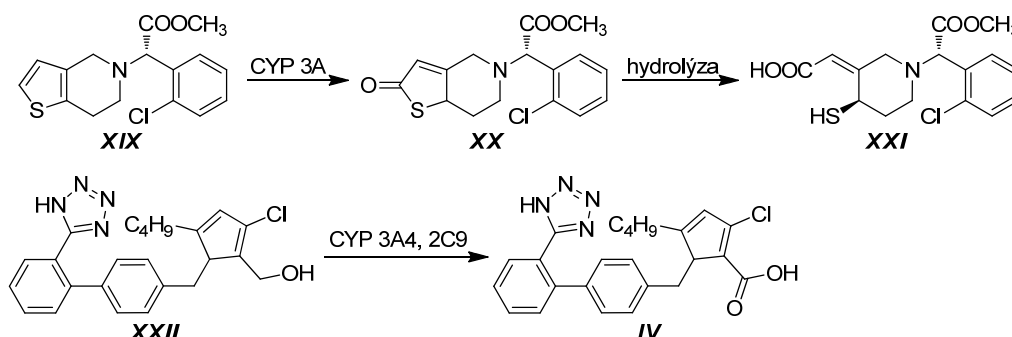
Proléčiva založená na cyklizačně-eliminačních reakcích a elektronové kaskádové strategii jsou někdy též označována jako „cascade prodrugs“. Používají se nejčastěji při specifické distribuci léčiv do nádorových buněk, kde se využívá unikátnost nebo množství enzymů (zvýšený počet reduktas) nacházejících se uvnitř nádorových buněk nebo změněné podmínky uvnitř nádorů (kyselé pH, hypoxie, nedostatek živin atd.)⁵. Speciálně připravená proléčiva musí být rozpoznávána příslušným enzymem nebo musí podlehnout chemické transformaci a uvolnit léčivo. Tyto strategie jsou založeny na ataku dusíkových (amino/amido) nebo kyslíkových (hydroxyl/karboxylát) nukleofilů na karbonylovou část. Cyklizační reakce zahrnují: *i*) cyklizační reakce za uvolnění aktivního léčiva v cyklické formě; *ii*) inkorporaci cyklizačně-eliminující složky; *iii*) enzymatickou reakci, jež generuje vnitřní nukleofil, který následně spouští cyklizaci (tzv. dvoukroková aktivace, dvojitá proléčiva (preprodrugs), distální hydrolýza)³⁸. Tato proléčiva byla podrobně popsána v článku Vinšové a Imramovského³⁹.

2.2. Bioprekurzory

Jak bylo výše uvedeno, bioprekurzory nejsou výsledkem vzniku dočasné vazby mezi aktivní látkou a transportní skupinou, ale dochází k přímé molekulární modifikaci aktivního léčiva za vzniku nové sloučeniny jako nového substrátu pro metabolizující enzymy především I. fáze biotransformace, od kterých se očekává uvolnění původního aktivního léčiva jako hlavního metabolitu⁴. Dělí se dle typu metabolické bioaktivace, které jsou uvedeny níže.

2.2.1. Oxidativní bioaktivace

Enzymatické oxidační reakce zahrnují oxidace (alkoholů, karbonylů, aromatických uhlíků, izolované dvojné vazby, *S*-, *N*-skupin), hydroxylace (alifatických/cyklických uhlíků) a oxidativní dealkylace *O*-, *S*-, *N*-skupin⁴. Příklady oxidačně aktivovaných bioprekursorů mohou být cetirizin, klopido-grel, prasugrel nebo i losartan. Cetirizin je aktivní metabolit hydroxyzinu patřící do 2. nesedativní generace antihistaminik⁴⁰. Klopido-grel (XX) podléhá dvojímu metabolismu v lidském těle. Z 85 % vzniká neaktivní (2*S*)-(2-chlorfenyl)(6,7-dihydrothieno[3,2-*c*]pyridin-5(4*H*)-yl)octová kyselina. Zbylá látka je aktivována nejprve oxidací cytochromem P450 na 2-oxo-klopido-grel (XX), který pak spontánně a rychle hydrolyzu-



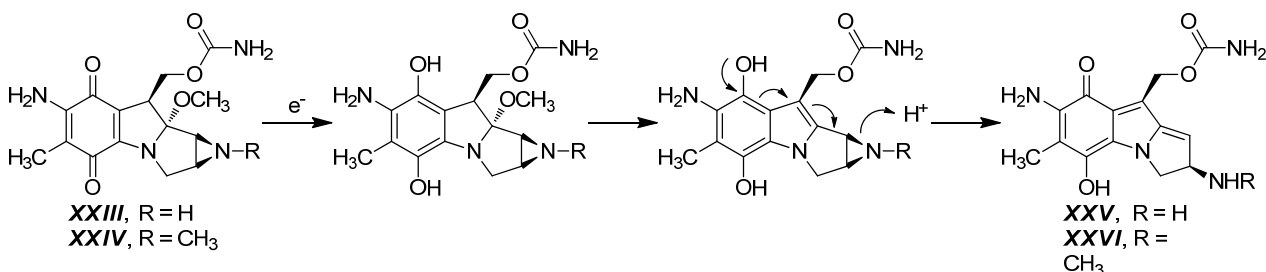
Obr. 6. Aktivace klopido-grelu na thiolový metabolit XXI a přeměna losartanu (XXII) na aktivní EXP3174 (IV)

je na vlastní aktivní, vysoce reaktivní (2Z)-{(4R)-1-[(1S)-1-(2-chlorfenyl)-2-methoxy-2-oxoethyl]-4-sulfanylpiperidin-3-yliden}octovou kyselinu (**XXI**), viz obr. 6, jež ireverzibilně antagonizuje destičkový adenosin-5'-difosfát P_2Y_{12} (ADP) receptor kovalentní vazbou S-S (cit.^{41,42}). Metabolická aktivace prasugrelu (3. generace thienopyridinů) je blízká klopidoogrelu⁴³. Jak bylo výše uvedeno, losartan (**XXII**) je metabolizován enzymy cytochromu P450 (CYP) na účinný metabolit EXP3174 (**IV**), viz obr. 6, je to tedy vlastně bioprekursor látky **IV**, která je 10 až 40krát aktivnější a má rovněž delší účinnost¹⁷.

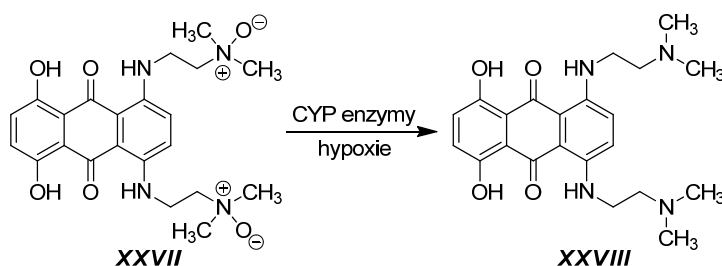
2.2.2. Reduktivní bioaktivace

Reduktivní bioaktivace se využívá pro specifickou distribuci v protinádorové léčbě. Využívá se unikátních podmínek uvnitř nádorem změněné tkáně jako je hypoxie, nedostatek živin, nízké pH, vysoká exprese reduktivních enzymů a dalších endogenních faktorů, např. přítomnost DT-diaforasy, β -glukuronidasy, prostata-specifického antigenu atd. K doručení nebo vyvolání nadměrné exprese exogenních reduktivních enzymů (např. karboxypeptidasa a nitroreduktasa) v nádorových buňkách lze využít i výše zmíněnou ADEPT nebo GDEPT strategii⁵. Protinádorová proléčiva často obsahují funkční skupiny jako jsou chinony, nitroaromáty, *N*-oxidy a kovové komplexy²⁵. Reduktivní bioaktivace obecně zahrnuje redukce alkoholů, karbonylů, dvojných vazby, resp. skupin obsahujících dusík a síru⁴.

Mitomycin C (**XXIII**) a jeho analoga, např. porfiromycin (**XXIV**), se stávají cytotoxickými reduktivním metabolismem DT-diaforasy a následnou fragmentací na vlastní bifunkční alkylační látky (**XXV**, **XXVI**), které se vážou na DNA (viz obr. 7, cit.^{45,46}).



Obr. 7. Schéma reduktivní aktivace mitomycinu C (**XXIII**) a porfiromycinu (**XXIV**)



Obr. 8. Aktivace banoxantronu (AQ4N, **XXVII**) na AQ4 (**XXVIII**) v hypoxickém mikroprostředí nádoru enzymy cytochromu P450

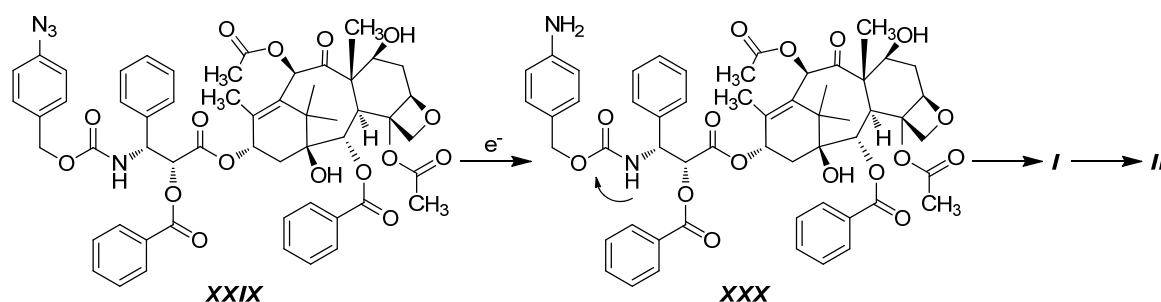
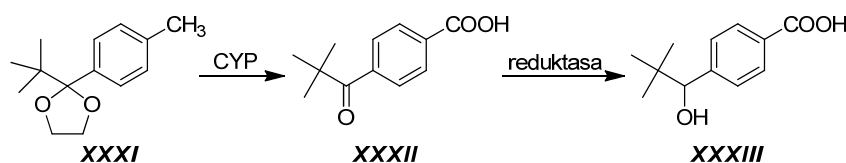
Bioprekurzory obsahující *N*-oxidy jsou aktivovány v hypoxickém prostředí nádorů. Inhibitor topoisomerasy, banoxantron (AQ4N, **XXVII**) využívá expresi exogenních metabolizujících enzymů cytochromu v nádorových buňkách, a je proto testováno jeho využití v GDEPT strategii. Banoxantron je aktivován na amin AQ4 (**XXVIII**), který následně interaguje s DNA, pouze v hypoxickém mikroprostředí nádoru (obr. 8). Vzhledem k tomu, že hypoxické buňky jsou odolné k chemo- a radio-terapii, byl AQ4N vyvíjen pro adjuvantní možnost léčby^{5,46,47}.

Bioprekurzory obsahující azidové nebo disulfidové funkční skupiny mohou být rovněž aktivovány redukcí. Příkladem může být opět paklitaxel (**II**). Jeho precursor **XXIX** byl připraven současným zavedením 4-azido-benzoyloxykarbonylu na aminoskupinu paklitaxelu a benzoylu na $C'_{(2)}$ -OH. Po redukcí azidové skupiny na primární amin dojde k samo-eliminační reakci a vzniku primárního aminu na $C'_{(3)}$, látka **XXX** (viz obr. 9). Migrace benzoylu z $C'_{(2)}$ na $C'_{(3)}$ -NH₂, jak bylo popsáno na obr. 1, má pak za následek vznik paklitaxelu^{25,48}.

Rovněž zde může být zmíněn omeprazol, který je transformován v kyselém prostředí parietálních buněk na aktivní inhibitor H^+/K^+ -ATPasy, cyklický sulfenamid, který vytváří disulfidovou vazbu s thiolovými skupinami enzymu a tím ho inaktivuje^{49,50}.

2.2.3. Oxidativně-reduktivní bioaktivace

Potenciální hypoglykemikum, proléčivo SAH 51-641 (**XXXI**), inhibuje hepatální glukoneogenezi blokováním acyl-CoA ligasy, jež oxiduje mastné kyseliny. Dioxolanový kruh je metabolizován sekvenční oxidací cytochromem P450 na ketokyselinu **XXXII** s následnou redukcí na účinn-

Obr. 9. Postupná aktivace precursoru paklitaxelu (XXIX) a *in vivo* vznik isotaxelu (I), resp. paklitaxelu (II)

Obr. 10. Bioaktivace precursoru SAH 51-641 (XXXI) na hydroxykyselinu XXXIII

nou hydroxykyselinu XXXIII (viz obr. 10, cit.^{51–53}).

2.2.4. Bioaktivace bez změny oxidačního stavu

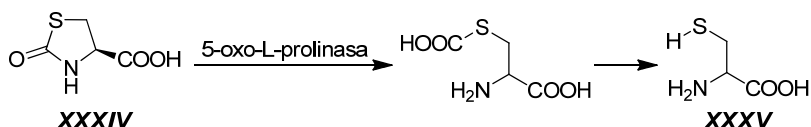
Reakce uplatňující se při těchto přeměnách spočívají především v hydrolytickém štěpení esterů, etherů, C–N vazby nearomatických heterocyklů a hydrataci, resp. dehydrataci násobných vazeb, příp. dehalogenací⁴. Zajímavý příklad je *in vivo* generování L-cysteinu (XXXV) z cyklických thiokarbamatů 5-oxo-L-prolinasou ze syntetického substrátu (R)-2-oxothiazolidin-4-karboxylové kyseliny (XXXIV), viz obr. 11. Tato látka může potenciálně sloužit pro podávání léčebné dávky cysteinu do hepatocytů při jeho depleci^{54,55}.

3. Zdvojená léčiva (codrugs)

Modifikací struktury mohou vznikat také zdvojená léčiva (tzv. mutual prodrugs, codrugs). V roce 1886 W. M. Nencki připravil salol (fenyl-salicylát) antiseptikum

s hydrolyzovatelnou esterovou vazbou, a proto tento přístup je také znám jako „Nenckiho salolový princip“. Zdvojená léčiva jsou připravována ze stejných důvodů jako jiná proléčiva (snížení dráždivosti, zvýšení biodostupnosti apod.), zároveň se však předpokládá, že spojením dvou molekul se stejným nebo podobným účinkem dojde k zesílení terapeutického efektu^{6,56–67}.

V případě salolu se jednalo o maskování dráždivých a zároveň hydrofílních skupin esterovou vazbou, ale může být využito i pevnější vazby, např. amidové, anilidové, karbamátové. Jako příklad kombinace léčiv se stejným účinkem může sloužit benorylát (paracetamol + acetyl-salicylová kyselina)⁵⁹ nebo potenciální antituberkulotika (pyrazinamid + *p*-aminosalicylová kyselina, pyrazinamid + isoniazid, ethambutol + *p*-aminosalicylová kyselina)^{60,61}. Příkladem kombinací léčiv ve stejné terapeutické indikaci jsou sulfasalazin (sulfapyridin + 5-aminosalicylová kyselina)⁶², sultamicilin (ampicilin + sulbaktam)⁶³ nebo kyselina ethakrynová s timololem jako antiglaukomikum⁶⁴, kombinace nifedipinu s propranololem⁶⁵, či antipsoriatikum ester



Obr. 11. Intracelulární vznik L-cysteinu (XXXV) z (R)-2-oxothiazolidin-4-karboxylové kyseliny (XXXIV)

naproxenu s dithranolem⁶⁶. Kombinace léčiv s rozdílnými terapeutickými účinky, jejichž spojení především maskuje nežádoucí účinky spojené s podáním jednoho z nich, je např. 3-*O*-ester naltrexonu s diklofenakem⁶⁷ jako modifikace vhodná pro transdermální podání.

4. Léčiva s řízeným metabolismem (soft drugs)

Přímý opak proléčiv představují léčiva s řízeným metabolismem, tzv. soft drugs neboli „antedrugs“, které byly odborné veřejnosti představeny N. Bodorem v roce 1976 a našly využití v řadě terapeutických skupin. Tato modifikace, ve srovnání s výše diskutovanými typy, představuje naopak molekuly vysoce aktivní, které jsou rychle v organismu inaktivovány. Cílem je snížení nežádoucích systémových účinků, resp. toxicity; proto tato léčiva účinkují buď lokálně/místně (např. ciklesonid, fluokortin, loteprednol), nebo se jedná o ultra krátce působící i.v. podávaná systémová léčiva (např. esmolol, remifentanyl). Ideální „soft drugs“ by v sobě měla spojit stabilitu v cílové tkáni s velmi rychlou inaktivací v krvi⁶⁸. Problematika „soft drugs“ může být tématem samostatného rozsáhlého referátu.

5. Závěr

Proléčiva/bioprekurzory představují farmakologicky inaktivní deriváty, které byly získané obměnou struktury biologicky aktivní látky, a svojí biologickou aktivitu získají až po biotransformaci v organismu enzymatickými nebo ne-enzymatickými reakcemi. Jsou navrženy tak, aby maximalizovaly množství aktivní substance, která má dosáhnout svého místa působení. Může docházet k modifikacím ve fyzikálně-chemických, biofarmaceutických nebo farmakokinetických vlastnostech léčiva. Proléčiva jsou dnes využívána k léčení mnoha chorob, u kterých se využívá jejich specifických vlastností. Zavedení proléčiv umožnilo překonat problémy, např. s rozpustností/absorpcí, rychlou biodegradací nebo obtížnou zpracovatelností.

Předpokládá se, že dále počet proléčiv poroste, nicméně v poslední době se otevírají nové problémy na úrovni farmakokinetiky, toxikologie, preklinického a klinického hodnocení. Zjišťování farmakokinetických parametrů na zvířecích modelech může vést k mnoha chybným/falešným poznatkům, protože biotransformace mnoha proléčiv je druhově specifická. Různé nežádoucí účinky mohou souviset přímo se samotným proléčivem (např. alergie) nebo s bioaktivačním procesem (např. vznik nechtěných/neočekávaných metabolitů buď z celých molekul nebo vznik toxických metabolitů ze spojovacích článků, deplece základních buněčných vitálních komponent jejich spotřebou při aktivaci). Proléčiva pro svůj účinek potřebují bioaktivaci, proto není možné je podrobit důkladnému preklinickému *in vitro* screeningu, zjišťování enzymatické inhibice, aktivity na izolovaných orgánech apod. Vzhledem k odlišnosti zvířecích modelů mohou být predikční

hodnoty ze zvířecích experimentů diskutabilní, což vede k obtížnému určení terapeutických dávek a následným etickým/právním problémům provádění klinického hodnocení na lidech s nedostatečně charakterizovanými molekulami. Aktivita takto modifikovaných molekul je závislá na funkčnosti aktivujících enzymů, která může být zvýšena/snížena genetickým polymorfismem, věkem nebo lékovými interakcemi, což má vše vliv na výsledný klinický účinek, resp. toxicitu^{3,56,69,70}. Na základě těchto skutečností lze soudit, že zavádění nových proléčiv do klinické praxe bude mnohem složitější.

LITERATURA

1. Junghanns J. U. A. H., Müller R. H.: *Int. J. Nanomed.* 3, 295 (2008).
2. Kerns E. H., Di L.: *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods*. Academic Press, Burlington 2008.
3. Huttunen K. M., Raunio H., Rautio J.: *Pharmacol. Rev.* 63, 750 (2011).
4. Wermuth C. G., v knize: *The Practice of Medicinal Chemistry* (Wermuth C. G., ed.), kap. 33, druhé vydání. Academic Press, Burlington 2003.
5. Mahato R., Tai W., Cheng K.: *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 63, 659 (2011).
6. Hartl J., Palát K.: *Farmaceutická chemie I*. Karolinum, Praha 1998.
7. Arroo R. R. J., Androustopoulos V., Patel A., Patel A., Surichan S., Wilsher N., Potter G. A.: *Phytochem. Rev.* 7, 431 (2008).
8. Albert A.: *Nature* 182, 421 (1958).
9. Harper N. J.: *J. Med. Pharm. Chem.* 1, 467 (1959).
10. Palát K., Hartl J., Opletalová V.: *Českoslov. Farm.* 30, 116 (1981).
11. Wu K. M.: *Pharmaceuticals* 2, 77 (2009).
12. Wermuth C. G.: *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 119, 107 (1980).
13. Beamont K., Webster R., Gardner I., Dack K.: *Curr. Drug Metab.* 4, 461 (2003).
14. Garad S. D.: *Am. Pharm. Rev.* 7, 80 (2004).
15. Leach A. G., Jones H. D., Cosgrove D. A., Kenny P. W., Ruston L., MacFaul P., Wood M. J., Colclough N., Law B.: *J. Med. Chem.* 49, 6672 (2006).
16. Guarino V. R., Stella V. J., v knize: *Prodrugs: Challenges and Rewards* (Stella V., Borchardt R., Hageman M., Oliyai R., Maag H., Tilley J., ed.), část 1., kap. 3.4, ze série: *Biotechnology: Pharmaceutical Aspects*, díl 5. Springer, Heidelberg 2007.
17. Hayashi Y., Skwarczynski M., Hamada Y., Sohma Y., Kimura T., Kiso Y.: *J. Med. Chem.* 46, 3782 (2003).
18. Ettmayer P., Amidon G. L., Clement B., Testa B.: *J. Med. Chem.* 47, 2393 (2004).
19. Fang J.Y., Leu Y.L.: *Curr. Drug Discov. Technol.* 3, 211 (2006).
20. Yan Y. D., Kim H. K., Seo K. H., Lee W. S., Lee G. S., Woo J. S., Yong C. S., Choi H. G.: *Mol. Pharm.* 7, 2132 (2010).

21. Lambert D. M.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 11, 15 (2000).
22. Qoubaitary A., Meriggiola C., Ming N. C., Lumbreras L., Cerpolini S., Pelusi G., Christensen P. D., Hull L., Swerdloff R. S., Wang C.: *J. Androl.* 27, 853 (2006).
23. Testa B.: *Biochem. Pharmacol.* 68, 2097 (2004).
24. Suzuki H., Yamada C., Kato K.: *Amino Acids* 32, 333 (2007).
25. Tanabe K., Makimura Y., Tachi Y., Imagawa-Sato A., Nishimoto S. I.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 2321 (2005).
26. Chen Y., Hu L.: *Med. Res. Rev.* 29, 29 (2009).
27. Majumdar S., Hingorani T., Srirangam R., Gadepalli R. S., Rimoldi J. M., Repka M. A.: *Pharm. Res.* 26, 1261 (2009).
28. Tsuda M., Terada T., Irie M., Katsura T., Niida A., Tomita K., Fujii N., Inui K.: *J. Pharm. Exp. Ther.* 318, 455 (2006).
29. Gynther M., Ropponen J., Laine K., Leppänen J., Haapakoski P., Peura L., Järvinen T., Rautio J.: *J. Med. Chem.* 52, 3348 (2009).
30. Jirawattanapong W., Saifah E., Patarapanich C.: *Arch. Pharm. Res.* 32, 647 (2009).
31. Fang J. Y., Leu Y. L.: *Curr. Drug. Discov. Tech.* 3, 211 (2006).
32. Bonina F. P., Trombetta D., Borzi A., De Pasquale A., Saija A.: *Int. J. Pharm.* 156, 245 (1997).
33. Bonina F. P., Montenegro L., de Caprariis P., Bousquet E., Tirendi S.: *Int. J. Pharm.* 77, 21 (1991).
34. Bonina F. P., Montenegro L., Guerrero F.: *Int. J. Pharm.* 100, 99 (1993).
35. Bonina F., Santagati N. A., Puglia C.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 29, 181 (2003).
36. Puglia C., Filosa R., Peduto A., de Caprariis P., Boatto G., Nieddu M., Santagati N. A., Bonina F.: *Curr. Drug. Deliv.* 4, 205 (2007).
37. Erez R., Ebner S., Attali B., Shabat D.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18, 816 (2008).
38. Gomes P., Vale N., Moreira R.: *Molecules* 12, 2484 (2007).
39. Vinšová J., Imramovský I.: *Chem. Listy* 99, 21 (2005).
40. Fura A., Shu Y. Z., Zhu M., Hanson R. L., Roongta V., Humphreys W. G.: *J. Med. Chem.* 47, 4339 (2004).
41. Savi P., Pereillo J. M., Uzabiaga M. F., Combalbert J., Picard C., Maffrand J. P., Pascal M., Herbert J. M.: *Thromb. Haemost.* 84, 891 (2000).
42. Clarke T. A., Waskell L. A.: *Drug Metab. Dispos.* 31, 53 (2003).
43. Angiolillo D. J., Capranzano P.: *Am. Heart J.* 156, 10 (2008).
44. Sharma M., Tomasz M.: *Chem. Res. Toxicol.* 7, 390 (1994).
45. Wang Y., Gray J. P.: *Mol. Cancer Ther.* 9, 1852 (2010).
46. Bruno R. D., Njar V. C. O.: *Bioorg. Med. Chem.* 15, 5047 (2007).
47. McKeown S. R., Hejmadi M. V., McIntyre I. A., McAleer J. J., Patterson L. H.: *Br. J. Cancer.* 72, 76 (1995).
48. Damen E. W. P., Nevalainen T. J., van den Bergh T. J. M., Groot F. M. H., Scheeren H. W.: *Bioorg. Med. Chem.* 10, 71 (2002).
49. Im W. I., Shi J. C., Blakeman D. P., McGrath J. P.: *J. Biol. Chem.* 260, 4591 (1985).
50. Lindberg P., Nordberg P., Alminger T., Brändström A., Wallmark B.: *J. Med. Chem.* 29, 1327 (1986).
51. Aicher T. D., Beberitz G. R., Bell P. A., Brand L. J., Dain J. G., Deems R., Fillers W. S., Foley J. E., Knorr D. C., Nadelson J., Otero D. A., Simpson R., Strohschein R. J., Young D. A.: *J. Med. Chem.* 42, 153 (1999).
52. Young D. A., Ho R. S., Bell P. A., Cohen D. K., McIntosh R. H., Nadelson J., Foley J. E.: *Diabetes* 39, 1408 (1990).
53. Beberitz G. R., Dain J. G., Deems R. O., Otero D. A., Simpson W. R., Strohschein R. J.: *J. Med. Chem.* 44, 512 (2001).
54. Williamson J. M., Meisner A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 936 (1981).
55. Roberts J. C., Nagasawa H. T., Zera R. T., Fricke R. F., Goon D. J. W.: *J. Med. Chem.* 30, 1981 (1987).
56. Bhosle D., Bharambe S., Gairola N., Dhaneshwar S. S.: *Indian J. Pharm. Sci.* 68, 286 (2006).
57. Lau W. M., White A. W., Gallagher S. J., Donaldson M., McNaughton G., Heard C. M.: *Curr. Pharm. Des.* 14, 794 (2008).
58. Das N., Dhanawat M., Dash B., Nagarwal R. C., Shrivastava S. K.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 41, 571 (2010).
59. Simila S., Keinänen S., Kouvalainen K.: *Eur. J. Pediatr.* 121, 15 (1975).
60. Imramovský A., Polanc S., Vinšová J., Kočevár M., Jampilek J., Rečková Z., Kaustová J.: *Bioorg. Med. Chem.* 15, 2551 (2007).
61. Prateek J. R., Jaim K., Ravichandran V., Agrawal, R. K.: *ARKIVOC* 1, 105 (2007).
62. DrugBank: Sulfasalazine. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00795>, staženo 1.6.2013.
63. Friedel H. A., Campoli-Richards D. M., Goa K. L.: *Drugs* 37, 491 (1989).
64. Cynkowska G., Cynkowski T., Al-Ghananeem A. A., Guo H., Ashton P., Crooks P. A.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 3524 (2005).
65. Nudelman A., Kelner R.: *Arch. Pharm.* 326, 907 (1993).
66. Lau W. M., Heard C. M., White A. W.: *Pharmaceutics* 5, 232 (2013).
67. Ghosh P., Pinninti R. R., Hammell D. C., Paudel K. S., Stinchcomb A. L.: *J. Pharm. Sci.* 102, 1458 (2013).
68. Bodor N., Buchwald P.: *Med. Res. Rev.* 20, 58 (2000).
69. Gorrod J. W.: *Chem. Ind.* 1980, 457.
70. Stella V. J.: *J. Pharm. Sci.* 99, 4755 (2010).

A. Černíková and J. Jampílek (*Department of Chemical Drugs, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno*): **Structure Modification of Drugs or Prodrugs Influencing Their Bioavailability and Therapeutic Effect**

Prodrugs are inactive derivatives of active drug substances which, on undergoing an enzymatic or chemical transformation *in vivo*, release the active parent drug that can then elicit the desired pharmacodynamic effect. Prodrugs can be classified into carrier prodrugs and bioprecursors. In most cases, carrier prodrugs are simple chemi-

cal derivatives of compounds that are only one or two chemical or enzymatic steps away from the active parent drug. Bioprecursors require enzymes of biotransformation phases for their activation; the active species results from a cascade of metabolic reactions involving oxidative/reductive processes. Currently codrugs (mutual prodrugs) become an efficient approach to drug optimization. The soft drug approach is briefly mentioned to clarify the difference between soft drugs and prodrugs.



Česká společnost průmyslové chemie pořádá

2nd International Conference on Chemical Technology
7th – 9th of April 2014, Mikulov, Czech Republic

Sledujte aktuální informace na
<http://www.icct.cz>