UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

Pró-fármacos de rosuvastatina de maior solubilidade em
água

Bruna Machado Araújo Sanches

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Orientadora: Profa. Titular Elizabeth Igne Ferreira

SÃO PAULO
2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

**Pró-fármacos de rosuvastatina de maior solubilidade em
água**

Versão corrigida da Dissertação conforme resolução CoPGr 6018.

Bruna Machado Araújo Sanches

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Orientadora: Profa. Titular Elizabeth Igne Ferreira

SÃO PAULO
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

S211p Sanches, Bruna Machado Araújo
Pró-fármacos de rosuvastatina de maior
solubilidade em água / Bruna Machado Araújo
Sanches. - São Paulo, 2019.
90 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
Departamento de Farmácia.
Orientador: Ferreira, Elizabeth Igne

1. solubilidade em água. 2. pró-fármaco. 3.
latenciação. 4. rosuvastatina. 5. ácido 2,2-
bis(hidroximetilpropiónico). I. T. II. Ferreira,
Elizabeth Igne , orientador.

Bruna Machado Araújo Sanches

**Pró-fármacos de rosuvastatina de maior solubilidade
em água**

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Profa. Titular Elizabeth Igne Ferreira
Orientadora/presidente

1o. examinador

2o. examinador

3o. examinador

4o. examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2019.

AGRADECIMENTOS

Não poderia iniciar meus agradecimentos de outra maneira a não ser agradecendo a Ele. Meu coração se enche de gratidão e felicidade por tudo que Ele representa para mim e o quanto é essencial em minha vida. Obrigada meu Deus por ser tão cuidadoso comigo, e tão generoso por me proporcionar uma vida maravilhosa e cuidar de todos os detalhes. Agradeço todas as portas abertas, todos os ensinamentos, todas as pessoas maravilhosas que coloca em meu caminho e todos os sonhos realizados.

Agradeço à minha mãezinha, Nossa Senhora Aparecida, por sempre me amparar, proteger e intervir quando lhe rogo. Obrigada por toda as graças alcançadas.

Aos meus pais, Maria Alzenira Machado e Carlos Araújo, deixo um agradecimento especial. Lembro-me desde criança o quanto eles falavam que somente a educação poderia me dar uma vida melhor, por isso sempre me incentivaram a gostar dos estudos, da escola e de traçar objetivos. Obrigada por todo apoio e incentivo desde os primeiros anos escolares até hoje. À minha mãe Maria Alzenira em especial, obrigada por todo esforço em querer me proporcionar o melhor, sei que passou por épocas difíceis, mas nunca deixou de me dar o que poderia de melhor. Você é minha maior inspiração, me orgulho muito da mulher que você é, mulher corajosa e de um coração enorme. Meu caráter foi moldado por você, me ensinando sempre a ser forte, independente e, principalmente, me ensinou a amar o próximo sem preconceitos e estereótipos. Obrigada por tanto!! Eu amo vocês.

À minha irmã, Fernanda Machado, deixo o meu muito obrigada por existir na minha vida. Agradeço tanto à Deus por ter me enviado você e ter me mostrado como é bom o amor entre irmãos. Para mim você é muito mais que uma irmã e espero que sejamos amigas até ficarmos bem velhinhas. Eu te amo muito!!

Ao amor da minha vida, Allan Sanches, nem sei o que seria de mim nesses últimos 14 anos se não tivesse encontrado você. Só tenho que te dizer uma coisa, gratidão por ter você ao meu lado, você me inspira a ser melhor todos os dias, me incentiva e apoia como ninguém por me conhecer

como ninguém. Seu apoio durante esse período foi essencial, você é uma pessoa muito especial. Tenho muita sorte de Deus ter cruzado nossos destinos. Obrigada por cuidar de mim com tanto carinho e dedicação, e obrigada por amar tanto nossos filhos peludos Sushi e Duke (rs). Eu te amo muito, para sempre!!

Tive a grande satisfação de conhecer meus quatro avós em vida e sou muito grata por isso, então deixo um agradecimento especial a eles. Agradeço meus avós maternos, Valdemir e Vanda (*in memoriam*) pelos momentos maravilhosos que passamos juntos, tenho muitas lembranças da minha infância naquela casinha branca, subindo nas árvores, acordando com o cheiro de banana frita e tapioca, de tomar chuva no quintal e escutar as histórias de viagem do vovô. Dói muito pensar que aquela casa não está mais lá, mas vocês vivem em nossas melhores lembranças e em nossos corações. Deixo registrado também meu agradecimento aos meus avós paternos, Maria Auxiliadora e Fernando, que são o esteio da nossa família. Admiro o valor que sempre deram para a família, o gosto que têm em verem todos reunidos, o quanto lutaram pelos filhos e netos. Não sei nem descrever o tamanho da gratidão em meu coração. Obrigada por serem tão especiais, por vibrarem por cada conquista, por sempre incentivarem os estudos. Eu amo muito vocês!!

Deixo um agradecimento especial aos meus sogros, Gilda e Reginaldo, vocês não sabem o quanto são especiais. Agradeço do fundo do meu coração tudo que já fizeram por mim, todo apoio e incentivo e o carinho que demonstram por mim sempre. Amo vocês!!

Agradeço o apoio da minha família, família Araújo de São Paulo e família Machado de Manaus, tios, tias, primos, primas. Agradeço também à família Leite, que também é minha família de coração, pelas bagunças, pela torcida e por sempre estarem ao meu lado. Amo todos!!!

Quando fui à USP pela primeira vez, para participar do EPIFAR, não sabia o que me esperava, nem se iriam me aceitar, nem sabia o que queria fazer de fato. Mas tudo mudou quando conversei com a Professora Elizabeth Igne, tão acolhedora e de pronto já me aceitou para fazer parte do seu laboratório. Hoje em dia, vejo mais uma vez o quanto Deus é cuidadoso comigo, agradeço muito por ter me colocado no caminho da Prô Beth, como

carinhosamente a chamo. Obrigada Prô Beth, por acreditar em mim desde o início, pela motivação que nos dá em cada reunião, pelos ensinamentos, pelas broncas, pelo carinho e cuidado que tem com seus alunos. O agradecimento vem em forma de admiração que aumenta cada vez mais com o passar do tempo. Você é uma inspiração para mim!!

Deixo um agradecimento em especial aos meus amigos da FCF, João Vitor e Rodrigo, vocês foram essenciais no meu desenvolvimento no laboratório. Obrigada por toda ajuda, atenção e paciência que tiveram comigo durante esse período, eu nunca vou me esquecer disso. E, também, às minhas amigas lindas Débora e Cinthya, por todos os momentos dentro e fora do LAPEN. Agradeço a todos vocês, as risadas, a comilança, os desabafos, enfim, agradeço a amizade especial. Eu amo vocês!!

Agradeço à galera do LAPEN, por todo o conhecimento compartilhado, apoio e incentivo, tanto àqueles que estão presentes quanto àqueles que passaram por lá. Diego Prieto, Luccas Sanches, Gabriel Greco, Pone Boniface, Charles Brito, Soraya Santos, Lucas Nascimento, Sara de Souza, Renan Araújo, Cecília, Beatriz Sanches, Filipe Gomes, Jennifer Midori, Renan, Marina Primi.

Aos professores Dr. Ricardo Massarico Serafim e Professora Titular Carlota Rangel, pelas orientações e contribuições no exame de qualificação.

Aos funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Kelma, David e Alexandre, por todo o suporte.

Ao Charles de Lima Brito e Elisabete Antunes, pelo suporte técnico. À Maria Inês de Almeida Gonçalves, pelo auxílio nas análises de Ressonância Magnética Nuclear. À Mônica Zannini, pelo grande auxílio nas sínteses e atribuição de RMN.

Ao Aché Laboratórios Farmacêuticos, em nome de Tiago Oliveira e Miller Nunes de Freitas, pela disponibilidade do equipamento Sirius T3 para os estudos de determinação da solubilidade.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

“Não adianta olhar para o céu com muita fé e pouca luta”.

Gabriel O Pensador

SANCHES, B. M. A. **Pró-fármacos de rosuvastatina de maior solubilidade em água**. 2019. 91 p. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

RESUMO

A solubilidade em água se apresenta como um dos principais desafios enfrentados pelos pesquisadores no processo de descoberta e desenvolvimento de novas entidades químicas, pois influencia diretamente na absorção oral e biodisponibilidade da molécula no organismo. Compostos fracamente solúveis podem apresentar propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e excreção inadequadas dando origem à moléculas com baixa biodisponibilidade oral, tempo de meia-vida curto, eliminação pré-sistêmica rápida e dificuldade no desenvolvimento de formulações. Nesse contexto, a latenciação é uma das estratégias mais viáveis para aprimoramento de propriedades físico-químicas, biofarmacêuticas e farmacocinéticas como, permeabilidade, solubilidade, e biodisponibilidade, sem que ocorram alterações na ação farmacológica da molécula precursora. A rosuvastatina é um fármaco utilizado no tratamento de hipercolesterolemia e dislipidemias, sendo muito importante na prevenção de doenças cardiovasculares. Contudo, apresenta baixa solubilidade aquosa (0,0886 mg/mL) e biodisponibilidade oral de apenas 20%. Face ao exposto e considerando a importância da latenciação na resolução de problemas de solubilidade, propôs-se neste trabalho a síntese de dois pró-fármacos de rosuvastatina, utilizando-se como transportadores o fosfato e o ácido 2,2-*bis*(hidroximetilpropiónico) com o objetivo de melhorar a solubilidade aquosa e aumentar sua biodisponibilidade. Obteve-se um pró-fármaco éster de rosuvastatina monossustituído com o ácido 2,2-*bis*(hidroximetilpropiónico). Estudos de solubilidade e análise térmica dos mesmos, confirmarão a consecução do objetivo estabelecido.

Palavras-chaves: solubilidade em água; rosuvastatina; latenciação; pró-fármaco; ácido 2,2-*bis*(hidroximetilpropiónico); éster fosfato.

SANCHES, B. M. A. **Higher water solubility rosuvastatin prodrugs**. 2019. 91 p. Master's Dissertation – Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2019.

ABSTRACT

Water solubility is one of the main challenges faced by researchers on drug discovery and development of new chemical entities, once it has directly influence over oral absorption and bioavailability of the drug molecule in the organism. Poorly soluble compounds may present inadequate ADME properties giving origin to molecules with low oral bioavailability, low half-life, fast pre-systemic metabolism and difficulties in formulation. In this context, prodrug design is an amenable approach to improve physicochemical, biopharmaceutical and pharmacokinetic properties such as, permeability, solubility and bioavailability, without changing the pharmacological effect of the parent drug. Rosuvastatin is a drug used in the treatment of hypercholesterolemia and dyslipidemia, important to prevent cardiovascular diseases. However, it presents low water solubility (0,0886 mg/mL) and oral bioavailability of 20%. Given the above and considering the importance of prodrug design in solving solubility issues, it was proposed the synthesis of two rosuvastatin prodrugs, using phosphate and 2,2-*bis*(hydroxymethylproprionic) acid as promoieties, aiming improvement of water solubility and enhancement of bioavailability. A rosuvastatin ester prodrug with 2,2-*bis*(hydroxymethylproprionic) acid was obtained. Solubility studies and thermal analysis will confirm the achievement of the established objective.

Key-words: water solubility; rosuvastatin; prodrug design; 2,2-*bis*(hydroxymethylproprionic) acid; phosphate ester.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Solubilidade	15
1.2 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)	16
1.3 Latenciação	19
1.3.1 Objetivos da Latenciação	23
1.3.1.1 Aumento da solubilidade em água	24
1.4 Doenças Cardiovasculares (DCV)	30
1.5 Estatinas	33
1.5.1 Rosuvastatina	41
2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS	43
2.1 Pró-fármacos de rosuvastatina propostos	44
2.1.1 Pró-fármaco éster de rosuvastatina	44
2.1.2 Pró-fármaco éster fosfato de rosuvastatina	44
3 MATERIAL E MÉTODOS	45
3.1 Material	45
3.1.1 Reagentes e solventes	45
3.1.2 Equipamentos	45
3.2 Métodos	46
3.2.1 Síntese do pró-fármaco éster de rosuvastatina	46
3.2.1.1 Proteção do <i>BisMPA</i>	48
3.2.1.2 Síntese do anidrido do <i>BisMPAP</i>	48
3.2.1.3 Esterificação da rosuvastatina com <i>BisMPAP</i>	49
3.2.1.4 Desproteção do composto 3 com Pd/C	50
3.2.1.5 Desproteção do composto 3 com Amberlyst 15	50
3.2.2 Síntese do pró-fármaco éster fosfato de rosuvastatina	51
3.2.2.1 Método A: diidrogenofosfato de tetrabutilamônio	51
3.2.2.2 Método B: clorofosfato de dietila	52

3.2.3 Análises.....	53
3.2.3.1 Análise no infravermelho.....	53
3.2.3.2 Ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.1 SÍNTESE DO PRÓ-FÁRMACO ÉSTER DE ROSUVASTATINA.....	54
4.1.1 Proteção do <i>Bis</i> MPA.....	54
4.1.2 Síntese do anidrido do <i>Bis</i> MPAP.....	57
4.1.3 Esterificação da rosuvastatina com <i>Bis</i> MPAP.....	60
4.1.4 Desproteção do composto 3 com Pd/C	69
4.1.5 Desproteção do composto 3 com Amberlyst 15.....	70
4.2 SÍNTESE DO PRÓ-FARMACO ÉSTER FOSFATO DE ROSUVASTATINA.....	76
4.2.1 Método A: diidrogenofosfato de tetrabutilamônio.....	76
4.2.2 Método B: clorofosfato de dietila.....	80
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	82
6 REFERÊNCIAS.....	83

ANEXO A – FICHA DO ALUNO

ANEXO B - ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O descobrimento e desenvolvimento de novas entidades químicas esbarra em diversos desafios até a liberação do novo fármaco, além de ser um caminho muito longo e oneroso. Estima-se que o custo para liberação de um novo produto no mercado esteja em torno de 1-2 bilhões de dólares com duração entre 10 a 20 anos, além de ter aproximadamente 95% de chance de falhar durante esse período (BASAVARAJ, BETAGERI, 2014; GAMO et al., 2017).

Nesse longo processo, define-se como “vale da morte” a grande lacuna translacional entre a pesquisa básica/descoberta e aprovação do novo fármaco. Além disso, estima-se que dentre os 10.000 compostos farmacologicamente ativos nos estágios iniciais, apenas 1 consiga a aprovação do FDA (GAMO et al., 2017). Na Figura 1 estão ilustradas todas as etapas desse processo, destacando-se as principais justificativas das falhas nas fases pré-clínica e clínica.

Figura 1. Ilustração do processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, com destaque para o vale da morte (adaptado de BASAVARAJ, BETAGERI, 2014).

A porcentagem de falhas é maior durante a Fase II dos ensaios clínicos, principalmente devido à baixa eficácia das moléculas em estudo. Além da

eficácia, os compostos podem ser descartados por diversas razões como por exemplo, problemas de toxicidade, propriedades de ADME inadequadas, razões comerciais entre outras (BASAVARAJ, BETAGERI, 2014; BAYLISS et al., 2016).

A introdução de análise combinatória computacional e *high throughput screening* (HTS) trouxeram diversas vantagens em selecionar as moléculas mais promissoras devido à potência e/ou seletividade, com grandes chances de se tornarem *hits*. Contudo, dependendo das bibliotecas de moléculas utilizadas, podem dar origem a compostos mais lipofílicos, de alta massa molecular e com baixa solubilidade em água, que pode resultar em compostos líderes com propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas inadequadas, limitando seu desenvolvimento (STELLA, NTI-ADDAE, 2007; STEGEMANN et al., 2007; CLAS et al., 2014; ALLER et al., 2015; DAHAN et al., 2016; JORNADA et al., 2016).

Nesse contexto, a baixa solubilidade em água constitui-se em um dos principais desafios dos pesquisadores, já que apresenta um papel crucial no sucesso de um candidato a fármaco (WILLIAMS et al., 2013; CENSI, MARTINO, 2015). Solubilidade é uma propriedade essencial em fármacos, pois estes precisam se dissolver a fim de serem absorvidos pelas membranas e alcançar o sítio de ação para obter uma resposta terapêutica. Consequentemente, trata-se de um dos parâmetros mais críticos, já que influencia diretamente a biodisponibilidade. Biodisponibilidade compreende na habilidade de um composto farmacologicamente ativo estar disponível em uma concentração apropriada no sítio de ação, independente da dosagem, forma farmacêutica e via de administração (CENSI, MARTINO, 2015).

Compostos fracamente solúveis podem dar origem a resultados inconclusivos em ensaios biológicos, propriedades de ADME indesejáveis, como absorção molecular limitada e baixa biodisponibilidade oral, levando à tempo de meia-vida curto, rápida eliminação pré-sistêmica, necessidade de altas dosagens, alta toxicidade e dificuldades em formulações (STELLA, NTI-ADDAE, 2007; RAUTIO et al., 2008; CLAS et al., 2014; AHMAD, 2016). Ainda assim, estima-se que 40% dos fármacos aprovados e, aproximadamente, 90% dos fármacos em desenvolvimento consistem em moléculas de baixa solubilidade (KALEPU, NEKKANTI, 2015). Contudo, o processo de otimização

de compostos líderes normalmente foca na potencialização da performance *in vivo* da molécula. Mesmo sabendo que a grande maioria das novas entidades químicas serão administradas por via oral, geralmente o aprimoramento da solubilidade não é, suficientemente, considerado nos estágios iniciais do processo de descoberta e desenvolvimento, nem na otimização de compostos *hits* para *leads*, embora atualmente, haja maior preocupação com essa propriedade.

Testar e determinar os parâmetros físico-químicos e as propriedades de ADME logo nos estágios iniciais auxilia a entender os compostos em desenvolvimento, evitando o descarte de potenciais candidatos a fármacos, além de poupar recursos e tempo investidos.

1.1 SOLUBILIDADE

O processo de dissolução de uma substância química resulta da interação entre o soluto e o solvente, portanto pode ser definida como a quantidade máxima de um determinado soluto que se dissolve em uma determinada quantidade de solvente, em condições de equilíbrio (ELDER, HOLM, 2013).

Também pode ser definida sob dois aspectos diferentes, qualitativa e quantitativamente. Quantitativamente, é a concentração de um soluto em uma solução saturada à uma determinada temperatura. Em termos qualitativos, solubilidade é a interação espontânea entre duas ou mais substâncias para formar uma dispersão molecular homogênea (SARFRAZ et al., 2017).

A Farmacopéia americana USP 38 (United States Pharmacopoeia) (2016) define solubilidade como: “a solubilidade de uma substância em outra é uma medida do grau de mistura molecular entre as duas substâncias puras em equilíbrio termodinâmico. A composição de uma solução saturada, expressa como uma proporção de um determinado soluto em um determinado solvente, representa este limite termodinâmico de solubilidade”.

A solubilidade de uma substância pode ser descrita de diversas maneiras. A USP e a Farmacopéia Brasileira classificam a solubilidade de acordo com o termo partes, conforme mostrado na Tabela 1. A expressão

partes refere-se à dissolução de 1 g de uma determinada substância no volume de solvente estabelecido no número de partes, a 25 °C.

Tabela 1. Termos descritivos de solubilidade na USP e Farmacopéia Brasileira

Termo descritivo de solubilidade	Partes de solvente necessária para 1 parte de soluto*	Faixa de solubilidade (mg/mL)
Muito solúvel	Menos de 1	> 1,000
Facilmente solúvel	De 1 a 10	100 – 1,000
Solúvel	De 10 a 30	33 – 100
Ligeiramente solúvel	De 30 a 100	10 – 33
Pouco solúvel	De 100 a 1,000	1 – 10
Muito pouco solúvel	De 1,000 a 10,000	0,1 – 1
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Maior ou igual a 10,000	< 0,1

*1 parte de soluto = 1g.

No âmbito da pesquisa e desenvolvimento de fármacos, a solubilidade aquosa de novas entidades químicas e moléculas farmacologicamente ativas é de extrema importância. A maioria dos fármacos disponíveis é administrada ao paciente via oral ou endovenosa e, para ambas as vias, a solubilidade do fármaco é um parâmetro crítico para que o efeito terapêutico seja alcançado.

Nesse contexto, nos últimos anos, a indústria farmacêutica e a comunidade científica têm se preocupado cada vez mais com a solubilidade das moléculas e reconhecido sua importância tanto nos estágios iniciais quanto nos finais no processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos.

1.2 SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA (SCB)

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) foi primeiramente proposto por Amidon et al., em 1995, com o intuito de oferecer uma base científica segura para estudos de bioequivalência baseado na correlação da dissolução de fármacos *in vitro* versus absorção *in vivo* (biodisponibilidade). Contudo, esse sistema de classificação passou a ser amplamente difundido em

diversas áreas, inclusive na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos (DAHAN et al., 2009; AMIDON et al., 2014).

O SCB é uma ferramenta regulatória, que permitiu a classificação de fármacos com base nos parâmetros de solubilidade e permeabilidade intestinal, parâmetros estes fundamentais para definir a absorção oral dos fármacos no organismo humano (AMIDON et al., 1995; WILLIAMS et al., 2013).

A dissolução de um fármaco é um pré-requisito para que a absorção deste ocorra e se obtenha uma resposta terapêutica positiva, isto para a maioria dos fármacos administrados oralmente. A análise do SCB utiliza um modelo de transporte *in vitro* juntamente com dados de permeabilidade humana para estimar a absorção de fármacos *in vivo*. Este sistema de classificação leva em consideração dois fatores importantes, que afetam diretamente a velocidade e extensão da absorção oral de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata, são elas: solubilidade e permeabilidade gastrointestinal (AMIDON et al., 1995, 2014; DAHAN et al., 2009, 2016).

A determinação da dose também é um fator importante no SCB. Fármacos altamente solúveis são definidos como os que tem a maior dose dissolvida em 250 mL em todas as faixas de *pH* do trato gastrointestinal (*pH* 1-6.8) (WILLIAMS et al., 2013).

No SCB os fármacos encontram-se divididos em quatro classes, conforme apresentado na Figura 2.

Figura 2. Divisão das Classes no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) (adaptado de AMIDON et al., 1995).

- Classe I: Fármacos com alta solubilidade e alta permeabilidade;
- Classe II: Fármacos com baixa solubilidade e alta permeabilidade;
- Classe III: Fármacos com alta solubilidade e baixa permeabilidade;
- Classe IV: Fármacos com baixa solubilidade e baixa permeabilidade.

Os fármacos pertencentes à Classe I apresentam poucos problemas relacionados à absorção oral, portanto moléculas em pesquisa pertencentes à essa classe têm mais chances de serem desenvolvidas e aprimoradas. Os fármacos incluídos na classe IV são os que apresentam problemas mais significativos em relação à administração oral. Moléculas pertencentes à classe II, também têm grandes chances de serem desenvolvidas já que a solubilidade é um parâmetro passível de ser manejado e melhorado (BONAMICI, 2009; WILLIAMS et al., 2013).

Nos dias atuais, o SCB tornou-se amplamente aceito no âmbito acadêmico, industrial e regulatório. Apresenta-se como uma das ferramentas indispensáveis na área farmacêutica, principalmente em pesquisa e desenvolvimento, uma vez que prevê o comportamento de absorção *in vivo* de um fármaco através do ensaio de dissolução *in vitro*. Portanto, se determinada molécula não apresentar resultados promissores, seu desenvolvimento não será levado adiante, poupando, dessa forma, maiores gastos e tempo investidos (WILLIAMS, 2013; AMIDON et al., 2014; DAHAN et al., 2016).

Takagi e colaboradores (2006) estimaram que aproximadamente 40% dos 200 medicamentos mais vendidos em quatro países (Estados Unidos, Grã-Bretanha, Espanha e Japão) eram classificados como fármacos praticamente insolúveis ($>0,1$ mg/mL), de acordo com a classificação do SCB. Além disso, estima-se que 70% do *pipeline* de candidatos a novos fármacos da indústria farmacêutica são praticamente insolúveis em água (CENSI, MARTINO, 2015).

Considerando a importância da solubilidade para liberação de novos fármacos, desenvolveram-se diversas tecnologias para melhorar a solubilidade em água. Geralmente, a estratégia inicial baseia-se no desenvolvimento de formulações, como, por exemplo, formação de sais e co-cristais, uso de

solubilizantes e tensoativos, redução do tamanho de partícula, dispersões sólidas, entre outros. A latenciação também é uma estratégia consolidada entre os pesquisadores que têm como objetivo aumentar a solubilidade em água de compostos farmacologicamente ativos, através de modificação molecular (STELLA, NTI-ADDAE, 2007; STEGEMANN et al., 2007; HUTTUNEN, RAUTIO, 2011; JORNADA et al., 2016; RAUTIO et al., 2018). Nesse caso, pode-se obter inovação, ainda que incremental, o que nem sempre é possível com o desenvolvimento de formulações.

1.3 LATENCIAÇÃO

O termo latenciação foi primeiramente proposto, em 1959, por Harper, que é, em sua definição clássica, a ligação do fármaco com um transportador, por meio de ligação biorreversível, tornando o composto inativo ou parcialmente inativo, que, *in vivo*, mediante reação química ou enzimática, libera a porção ativa no local de ação ou próximo dele (TESTA, 2004; SILVA et al., 2005; CHUNG et al., 2005; STELLA, NTI-ADDAE, 2007; HUTTUNEN et al., 2011; CLAS et al., 2014; CHOI-SLEDESKI, WERMUTH, 2015; RAUTIO, 2018). Uma das formas de transporte obtidas pelo processo da latenciação é o pró-fármaco, ou fármaco latente.

Figura 3. Esquema da Latenciação. Legenda: F: fármaco; T: transportador; R: receptor.

A latenciação é uma estratégia de modificação molecular bem estabelecida na área farmacêutica, aplicada a compostos farmacologicamente ativos visando ao aprimoramento de propriedades físico-químicas, biofarmacêuticas, farmacocinéticas e, indiretamente, farmacodinâmicas. O planejamento e desenvolvimento de pró-fármacos oferece a possibilidade de superar barreiras que possam impedir ou limitar a aplicação clínica de um fármaco como, por exemplo, baixa solubilidade em água, absorção oral insuficiente, instabilidade química, rápido metabolismo pré-sistêmico, toxicidade e irritação local. Além disso, essas formas latentes podem ser utilizadas para aumentar a potência e seletividade de um fármaco para um tecido ou órgão específico, diminuindo os efeitos adversos no organismo (TESTA, 2004, 2009; CHUNG et al., 2005; STELLA, NTI-ADDAE, 2007; JANA et al., 2010; CLAS et al., 2014; ALLER et al., 2015; RAUTIO et al., 2018).

Os pró-fármacos podem ser diferenciados através de uma característica fundamental, a forma de transporte. Em 1984, Wermuth classificou-os da seguinte maneira (CHUNG et al., 2005):

- Pró-fármacos clássicos;
 - Bioprecusores;
 - Pró-fármacos mistos;
 - Pró-fármacos recíprocos;
 - Fármacos dirigidos.
- ✓ **Pró-fármacos clássicos:** o fármaco matriz é ligado a um transportador, que, geralmente, é desprovido de atividade terapêutica e tem caráter lipofílico. A liberação do fármaco *in vivo* ocorre, principalmente, através de hidrólise química ou enzimática. O objetivo é melhorar a atividade terapêutica através do aumento da biodisponibilidade, redução da toxicidade e prolongamento da ação, entre outros.

- ✓ **Bioprecusores:** não apresentam um transportador, ainda que necessitem sofrer biotransformação através de oxidação, redução ou hidrólise, para liberação do metabólito ativo. São moléculas que foram submetidas à modificação molecular para se tornarem inativas e, *in vivo*, ao sofrerem metabolização, liberam o metabólito ativo.
- ✓ **Pró-fármacos mistos:** apresentam características de pró-fármacos clássicos e de bioprecusores ao mesmo tempo, constituindo-se de molécula biologicamente inerte, em que o transportador necessita sofrer diversas reações químicas para se converter na forma ativa, aumentando a concentração do fármaco ativo em um sítio de ação específico. Um exemplo clássico é o sistema denominado CDS (*Chemical Delivery System*). Nesse tipo de sistema, o transportador atravessa a barreira hematoencefálica (BHE), sofre oxidação e assume carga, sendo acumulado no SNC. Em seguida, há liberação da porção ativa, diminuindo a concentração do fármaco matriz no sistema periférico e, conseqüentemente, a toxicidade.
- ✓ **Pró-fármacos recíprocos:** o transportador não é inativo como nas outras classificações. Ele apresenta atividade terapêutica e, desse modo, pode-se sintetizar um pró-fármaco com atividades terapêuticas iguais ou não, atuando por mecanismos de ação iguais ou não. O propósito principal é obter sinergismo de ação.
- ✓ **Fármacos dirigidos:** apresentam um transportador com a função de dirigir seletivamente o fármaco latente até um sítio de ligação específico. Esse transportador deve ser específico para determinados receptores ou enzimas existentes apenas no sítio de ação do fármaco para, desse modo, atingir seu principal objetivo, que é reduzir sua ação inespecífica em outros órgãos, diminuindo sua toxicidade. Os transportadores utilizados nesta forma latente podem ser macromoléculas específicas como anticorpos e glicoproteínas, transportadores celulares como eritrócitos e transportadores sintéticos como, por exemplo, os polímeros. Eles contêm grupos diretores, aos quais se atribui a seletividade de ação.

Para que a modificação molecular do composto ativo seja efetiva, algumas propriedades importantes devem acompanhar os pró-fármacos, como as que seguem (SILVA et al., 2005; RAUTIO et al., 2008):

- Inatividade ou atividade menor do que a do fármaco matriz;
- Síntese mais rápida e simplificada, sempre que possível;
- Transportador não deve apresentar toxicidade nem atividade terapêutica, com exceção dos pró-fármacos recíprocos;
- Resistência à hidrólise durante a absorção;
- Boa solubilidade aquosa;
- Boa permeabilidade através das membranas celulares;
- Cinética que permita a liberação do composto ativo em níveis eficazes no local de ação ou próximo dele.

Os principais grupos funcionais reversíveis utilizados na latenciação incluem carboxilas, hidroxilas, aminas, carbonilas e fosfatos. As modificações desses grupos no desenvolvimento de pró-fármacos dão origem a ésteres, carbonatos, carbamatos, amidas, fosfatos, entre outros (RAUTIO et al., 2008; JORNADA et al., 2016). Entre eles, a esterificação tem se mostrado muito promissora devido à suscetibilidade à hidrólise tanto *in vivo* quanto *in vitro* (TESTA, 2009; ZAWILSKA, WOJCIESZAK, OLEJNICZAK, 2013; JORNADA et al., 2016).

O planejamento e desenvolvimento de pró-fármacos também podem ser classificados como *ad hoc* e *post hoc*. O planejamento *post hoc* é aplicado a fármacos já disponíveis na terapêutica com o intuito de melhorar alguma propriedade e/ou aumentar a seletividade de ação. Um exemplo clássico de planejamento *post hoc* é o pró-fármaco de propofol, o fospropofol. Já o *ad hoc* é o planejamento aplicado a candidatos a fármacos durante o processo de pesquisa e desenvolvimento, a fim de aprimorar propriedades fundamentais, antes dos testes clínicos (TESTA, 2004; JANA et al., 2010).

Recentemente, reportou-se que, aproximadamente, 10% dos medicamentos comercializados no mundo são pró-fármacos (HUTTUNEN et al., 2011; RAUTIO et al., 2017). Podem-se citar alguns medicamentos “*blockbusters*”, ou seja, campeões de venda no mundo, como exemplos de pró-fármacos disponíveis na terapêutica, para demonstrar a importância da latenciação no

planejamento de novas entidades químicas. São eles: enalapril, sinvastatina, lovastatina, omeprazol e aciclovir (ETTMAYER et al., 2004; CHUNG et al., 2005).

1.3.1 *Objetivos da Latenciação*

A latenciação é acionada quando há a necessidade de aprimorar propriedades indesejáveis em composto ativos, sejam eles candidatos a fármacos, no período de descoberta e desenvolvimento, ou produtos já estabelecidos na terapêutica. O sucesso de um pró-fármaco depende do planejamento da molécula de acordo com o objetivo a ser alcançado, ou seja, a propriedade a ser melhorada precisa estar bem estabelecida para que as modificações moleculares realizadas sejam eficazes.

Nesse contexto, é possível classificar os objetivos como farmacêuticos, farmacocinéticos e, indiretamente, farmacodinâmicos.

Os objetivos farmacêuticos consistem em melhorar, principalmente, as propriedades físico-químicas da molécula em estudo. A solubilidade se configura como um dos principais parâmetros a serem aprimorados nessa fase, uma vez que, para um fármaco atingir seu sítio de ação é necessário que ele apresente dissolução adequada, que permita absorção eficaz. Dessa forma, a solubilidade de um fármaco influencia diretamente na sua biodisponibilidade. Outras inconveniências podem ser amenizadas com o emprego da latenciação na fase farmacêutica como, por exemplo, facilitar o desenvolvimento de formulações, conferir estabilidade química, além de eliminar paladar e odor desagradáveis aumentando a aderência ao tratamento pelo paciente, entre outros (CHUNG et al., 2005; SILVA et al., 2005).

Os objetivos farmacocinéticos são, geralmente, os mais importantes no desenvolvimento dos pró-fármacos, principalmente aqueles relacionados ao melhoramento da biodisponibilidade oral, seja aumentando a absorção oral do fármaco ou diminuindo a eliminação pré-sistêmica (TESTA, 2004; CLAS et al., 2014; JORNADA et al., 2016). Obter derivados de ação mais prolongada, de menor toxicidade e maior seletividade também se referem a objetivos para aprimorar as propriedades farmacocinéticas.

Já os objetivos farmacodinâmicos estão relacionados principalmente à toxicidade, ou seja, a necessidade em diminuir a toxicidade sistêmica de determinados fármacos (TESTA, 2009).

Os objetivos farmacêuticos, farmacocinéticos e farmacodinâmicos estão inter-relacionados e se complementam, conforme esquema apresentado à Figura 4.

Figura 4. Classificação dos objetivos na pesquisa e desenvolvimento de pró-fármacos, em que se podem observar que muitos deles estão inter-relacionados e/ou se complementam. (Adaptado de Testa, 2009).

1.3.1.1 Aumento da solubilidade em água

O foco em aumentar a solubilidade aquosa de um composto bioativo está sempre desafiando os pesquisadores. Existem diversas estratégias disponíveis para modificar a solubilidade de uma molécula e a latenciação está entre elas, apesar de, muitas vezes, não ser a primeira escolha. Os pró-fármacos podem aumentar a hidrossolubilidade da molécula precursora, melhorando a dissolução através da ligação a grupos ionizáveis e polares como, por exemplo, fosfatos, aminoácidos e polietilenoglicóis, ou através da redução de ligações de hidrogênio inter e/ou intramoleculares, diminuindo o empacotamento molecular.

Alguns grupos funcionais são mais passíveis a modificações moleculares e, por isso, são comumente utilizados no planejamento de pró-fármacos mais solúveis em água como, por exemplo, fosfatos, ésteres, carbamatos, amidas,

carbonatos, bases de *N*-Mannich, entre outros (STELLA, NTI-ADDAE, 2007; HUTTUNEN et al., 2011; JORNADA et al., 2016; RAUTIO et al., 2018; SANCHES, FERREIRA, 2019).

Entre os grupos funcionais citados anteriormente, ésteres estão entre os mais utilizados no planejamento de pró-fármacos, principalmente devido ao fato de serem facilmente hidrolisáveis tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Estima-se que, aproximadamente, 49% dos pró-fármacos, na forma de éster, disponíveis na terapêutica são ativados por hidrólise enzimática (RAUTIO et al., 2018). Uma vez absorvidos, a ligação éster é prontamente hidrolisada por esterases presentes no sangue, fígado e outros órgãos e tecidos, além das carboxilesterases, acetilcolinesterases, entre outras.

Ésteres fosfatos são muito utilizados como transportadores quando o objetivo é aumentar a solubilidade em água de compostos fracamente solúveis. O pró-fármaco pode ser obtido através da ligação do grupo fosfato diretamente no fármaco matriz através de um grupo hidroxila ou através de um *linker*. Pró-fármacos de fosfatos, geralmente apresentam alta solubilidade aquosa, estabilidade química, além de rápida bioconversão ao fármaco matriz devido às fosfatases como, por exemplo, a fosfatase alcalina, enzima abundante particularmente na borda em escova dos enterócitos e no plasma. Alguns fármacos amplamente utilizados na prática clínica podem ser utilizados como exemplos para elucidar a importância desta estratégia como o fospropofol, fosamprenavir e fosfluconazol. (JANA et al., 2010; HUTTUNEN et al., 2011; JORNADA et al., 2016).

O fosamprenavir (Figura 5) é um pró-fármaco monoéster fosfato de amprenavir, um inibidor da protease da HIV-1. Amprenavir foi comercializado antes do fosamprenavir, mas devido sua baixa solubilidade aquosa (aproximadamente $0,04 \text{ mg/mL}^{-1}$, a 25°C), uma formulação composta por muito excipientes era necessária. A formulação continha propilenoglicol, PEG 400 e succinato de polietilenoglicol d- α -tocoferol (Vitamina E), formulado em cápsulas gelatinosas. A dose recomendada era de 1.200 mg para serem administradas em 8 cápsulas de 150 mg cada, duas vezes ao dia. Em contrapartida, o pró-fármaco fosamprenavir apresenta solubilidade 10 vezes maior em comparação ao fármaco matriz, permitindo a formulação de comprimidos que contêm o equivalente molar de 600 mg de amprenavir cada.

A dose diária passou a ser de 2 comprimidos, 2 vezes ao dia, aumentando a adesão dos pacientes portadores de HIV (RAUTIO et al., 2008; RAUTIO et al., 2018).

Figura 5. Fosamprenavir, pró-farmaco fosfato de amprenavir.

O número de pró-fármacos aprovados na última década, é considerável entre todos os fármacos liberados no mercado. Entre os anos de 2010-2014, dos 127 fármacos de baixa massa molecular aprovados pelo FDA, 10,2% foram identificados como pró-fármacos. Mais recentemente, em 2015, 15% dos 45 novos fármacos aprovados são pró-fármacos. O ano memorável foi 2008, onde 8 pró-fármacos foram lançados dando uma porcentagem de 33% de todos os fármacos de baixa massa molecular (CLAS et al., 2014; RAUTIO et al., 2017). Finalmente, para estabelecer que a latenciação é uma estratégia de sucesso, Huttunen e colaboradores (2011) reportaram que 10% de todos os fármacos comercializados no mundo podem ser classificados como pró-fármacos.

Em uma revisão realizada por Sanches e Ferreira, em 2019, foram expostos os pró-fármacos aprovados na última década pelo FDA nos Estados Unidos, planejados com o objetivo de aumentar a solubilidade da molécula ativa. Na Tabela 2 podem-se observar todos os pró-fármacos liberados nesse período, destacando-se o transportador empregado.

Tabela 2. Pró-fármacos aprovados pelo FDA na última década (2008-2018), visando ao aumento da solubilidade como principal propriedade otimizada (CLAS et al., 2014; RAUTIO et al., 2018; SANCHES, FERREIRA, 2019).

Pró-fármaco (nome comercial)	Estrutura química (transportador em destaque)	Ano de liberação	Indicação	Propriedade aprimorada
Fosaprepitante dimeglumina (Emend®)		2008	Prevenção de náuseas e vômito provenientes da quimioterapia	Solubilidade em água
Fospropofol dissódico (Lusedra®)		2008	Anestesia (sedativo- agente hipnótico)	Solubilidade em água
Mesilato de etexilato de dabigatrana (Pradaxa®)		2010	Tromboembolismo	Solubilidade e permeabilidade

Tabela 2. Pró-fármacos aprovados pelo FDA na última década (2008-2018), visando ao aumento da solubilidade como principal propriedade otimizada (CLAS et al., 2014; RAUTIO et al., 2018; SANCHES, 2019) (continuação).

Pró-fármaco (nome comercial)	Estrutura química (transportador em destaque)	Ano de liberação	Indicação	Propriedade aprimorada
Ceftarolina fosamil (Teflaro®)		2010	Pneumonia ou infecções de pele	Permeabilidade e solubilidade
Fosfato de tedizolida (Sivextro®)		2014	Infecções de pele	Solubilidade em água
Sulfato de isavuconazônio (Cresemba®)		2015	Aspergilose invasiva ou mucormicose invasiva	Solubilidade em água
Fosnetupitante (Akynzeo®)		2018	Prevenção de náuseas e vômito provenientes da quimioterapia	Solubilidade em água

Entre eles, destacam-se os pró-fármacos ceftarolina fosamila e fosfato de tedizolida, que tiveram a solubilidade em água aumentada significativamente.

A ceftarolina fosamila (TEFLARO®) (Figura 6) é um pró-fármaco fosforamidato, lançado no mercado em 2011, pelo laboratório Forest. Sua solubilidade em água aumentou 50 vezes comparativamente ao fármaco matriz. É um antibiótico utilizado no tratamento de infecções de pele (CLAS et al., 2014).

Figura 6. Estrutura química do ceftarolina fosamila (TEFLARO®).

O sulfato de isavuconazônio (CRESEMBA®) é o pró-fármaco do isavuconazol, solúvel em água. É um antifúngico indicado especificamente para aspergilose e mucormicose invasiva em adultos. A solubilidade do pró-fármaco foi aumentada em 100 vezes comparando com o composto ativo, passando de <1 mg/mL para >100 mg/mL. Atualmente apresenta-se em cápsulas orais ou pó liofilizado para administração IV (RAUTIO et al., 2017).

Figura 7. Estrutura química do sulfato de isavuconazônio (CRESEMBA®).

A latenciação é, portanto, uma das estratégias mais viáveis para aumentar a solubilidade de uma molécula, sem alterar sua ação farmacológica *in vivo*, e não deve ser recorrida apenas como último recurso, já que pode ser utilizada, especialmente, para solucionar problemas farmacêuticos e farmacocinéticos do fármaco/composto bioativo logo nas etapas iniciais do desenvolvimento evitando desperdício de recursos monetários e tempo (CLAS et al., 2014; MURAKAMI, 2016; RAUTIO et al., 2017).

1.4 DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Entre as 10 principais causas de morte no mundo e no Brasil, as doenças cardiovasculares (DCV) ocupam a primeira posição há 15 anos, segundo dados da OMS liberados em 2018. As doenças cardiovasculares, em 2016, foram responsáveis por, aproximadamente, 17,9 milhões de óbitos, representando 31% do total de causas de morte globalmente, conforme mostra a Figura 8. Dentro dessa porcentagem, 85% dos óbitos foram por cardiopatia isquêmica e acidente vascular cerebral (WHO, 2019).

Figura 8. As 10 principais causas de morte no mundo em 2016 (WHO, 2019).

As DCV são a principal causa de mortes tanto em países desenvolvidos quanto nos subdesenvolvidos, portanto sua incidência não tem correlação com

o perfil econômico. Entretanto, a epidemiologia entre as regiões pode ser apresentar de maneiras distintas como mostra a Figura 9. Dentre os 17 milhões de pessoas que vão a óbito, anualmente, em torno de 80% localizam-se em países de baixa e média renda. Tal discrepância pode ser justificada pelo maior desenvolvimento econômico, maior crescimento e melhoria das intervenções clínicas fundamentadas nos fatores de risco e da melhor qualidade de vida da população dos países mais desenvolvidos (ROTH et al., 2017).

Figura 9. Mapa global, taxa de mortalidade de DCV padronizada por idade em 2015 (ROTH et al, 2017).

Diversos estudos foram demonstrados numa revisão realizada por GOBAL e MEHTA (2010), indicando fortes correlações entre as doenças cardiovasculares e os altos níveis de colesterol sérico. A dislipidemia, também conhecida como hiperlipidemia, está relacionada com o aumento dos níveis de triglicérides e/ ou aumento dos níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e redução de lipoproteínas de alta densidade (HDL). Esta condição associada a

fatores de risco, como tabagismo, sedentarismo, obesidade, diabetes, idade, entre outros fatores está envolvida com a formação de placa aterosclerótica (GOBAL, MEHTA, 2010; LIU, LI, 2015; GONZALEZ; HELKIN; GAHTAN, 2016).

Aterosclerose é uma doença inflamatória crônica, lenta e gradual, que se inicia com agressão do endotélio vascular, apresentando lesões na camada íntima das artérias denominadas ateromas ou placas ateromatosas. A placa de ateroma forma-se em função do aumento da permeabilidade da íntima para lipoproteínas plasmáticas, aumentando o espessamento da artéria e dando origem às lesões ateroscleróticas, que se tornam progressivamente numerosas e difusas com o progresso da doença (XAVIER et al., 2013; GONZALEZ; HELKIN; GAHTAN, 2016).

As placas ateroscleróticas possuem três principais componentes: (1) células, macrófagos e demais leucócitos; (2) meio extracelular, incluindo colágeno, fibras elásticas e proteoglicanos; e (3) lipídeos intra e extracelulares. Estes componentes ocorrem em proporções e configurações variadas em diferentes lesões (ROBBINS, COTRAN, 2005)

Segundo Robbins e Cotran (2005), as manifestações clínicas das DCV provenientes de aterosclerose são desencadeadas com a desestabilização e o subsequente deslocamento da placa de ateroma, que reduz abruptamente a luz do vaso, diminuindo ou cessando a oxigenação dos tecidos. Tais reações causam, conseqüentemente, isquemia tecidual, levando às manifestações agudas, como angina instável, infarto do miocárdio, sinais clínicos que variam de acordo com a região afetada e vão desde a angina transitória até a morte súbita. No encéfalo pode ocorrer acidente vascular encefálico (AVE) e isquemia transitória.

A abordagem farmacológica para tratamento das dislipidemias envolve vários medicamentos hipolipemiantes, agrupados nas seguintes classes: inibidores da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) redutase (estatinas), sequestrantes de ácidos biliares (resinas) e inibidores da absorção intestinal (ezetimiba), derivados do ácido fíbrico (fibratos), ácido nicotínico que é uma vitamina do complexo B hidrossolúvel administrada em doses elevadas (niacina) e novos fármacos como os inibidores da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), inibidor da proteína de transferência microssômica(MTP), inibidores da pró-proteína convertase subtilisina/kexin tipo

9 (PCSK9) e inibidores da síntese de apolipoproteína B (GOBAL, MEHTA, 2010; XAVIER et al., 2013; LIU, LI, 2015; GONZALEZ; HELKIN; GAHTAN, 2016; FALUDI et al, 2017). As estatinas são a classe terapêutica mais prescrita para controle das dislipidemias.

1.5 ESTATINAS

As estatinas detêm potente atividade inibidora sobre a hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, bloqueando a conversão do substrato HMG-CoA em ácido mevalônico e inibindo, assim, os primeiros passos da biossíntese de colesterol (Figura 10) (SCHACHTER, 2005; SIRTORI, 2014).

Figura 10. Efeito inibitório das estatinas na via do mevalonato (adaptado de SCHACHTER, 2005).

A contínua ação inibitória na síntese hepática de colesterol pelas estatinas, resulta em aumento do número de receptores de superfície celular específicos de LDL (Low-Density Lipoprotein), que podem se ligar à LDL circulante, acelerando a diminuição de suas concentrações sanguíneas. Portanto, o

principal efeito bioquímico das estatinas consiste em reduzir as concentrações plasmáticas de LDL-C. Além disso, as estatinas também reduzem os triglicerídeos plasmáticos e aumentam a concentração de HDL-C (High-Density Lipoprotein) (SCHACHTER, 2005; SIRTORI, 2014).

O microbiologista japonês, Dr Akira Endo, dos laboratórios Sankyo Co., em 1976, descobriu e isolou a primeira estatina chamada compactina (mevastatina), a partir do fungo *Penicillium citrinum*, durante a busca de substâncias potencialmente antimicrobianas. Contudo, o desenvolvimento clínico foi descontinuado devido a resultados negativos nos testes clínicos em animais, que desenvolveram linfomas (ENDO, 2008).

A primeira aplicação clínica de uma estatina foi realizada pela Merck & Co, que fechou um acordo de fidelidade com a Sankyo e deu continuidade às pesquisas do Dr Endo, quando isolou em 1976, a partir do fungo *Aspergillus terreus*, a lovastatina, a qual foi aprovada pelo Food and Drug Administration (FDA) em 1987 e comercializada como Mevacor®. Já em 1991, a sinvastatina, derivada da lovastatina, recebeu aprovação do FDA para ser comercializada como Zancor®. No mesmo ano, a pravastatina, Pravachol®, desenvolvida pela Sankyo, também foi aprovada pelo FDA, sendo proveniente da compactina. As estatinas mevastatina e lovastatina foram protótipos das estatinas semi-sintéticas pravastatina e sinvastatina, respectivamente (ENDO, 2008).

Posteriormente, mais cinco moléculas de estatinas foram desenvolvidas e comercializadas. Começava, assim, a era das estatinas sintéticas, como: fluvastatina, cerivastatina, atorvastatina, rosuvastatina e pitavastatina. A primeira estatina sintética a ser comercializada foi a fluvastatina, Lescol®, em 1993, desenvolvida pela indústria farmacêutica Novartis. Três anos depois, em 1996, a atorvastatina, Lipitor®, foi aprovada pelo FDA, sendo atualmente o fármaco mais vendido na história, desenvolvida pela Pfizer. A cerivastatina, Baycol®, foi lançada um ano depois para disputar mercado com o Lipitor®. No entanto, a cerivastatina foi retirada do mercado em 2001, pois estudos determinaram que sua utilização produzia rabdomiólise (ENDO, 2008).

Em 2003, foi lançada uma nova geração de estatinas, que possuem maior eficácia e melhor perfil farmacodinâmico devido a mudanças na estrutura química. A rosuvastatina, Crestor®, apresenta grande afinidade pela enzima HMG-CoA redutase com mais potência de inibição quando comparada às

outras estatinas, devido, principalmente, à presença do anel *p*-fluorfenila e grupo metano sulfonamídico que, além de conferir pontos adicionais de ligação à HMG-CoA redutase, impede a biotransformação de metabólitos diminuindo a toxicidade (ENDO, 2008).

A pitavastatina, Livalo®, foi a última molécula sintética da classe a ser lançada em 2009, apresentando eficácia muito significativa, com menores doses devido à sua maior biodisponibilidade (ENDO, 2008).

No Brasil, seis estatinas são empregadas clinicamente segundo a Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2017): lovastatina, sinvastatina, pravastatina que são semi-sintéticas, a fluvastatina que é o primeiro agente totalmente sintético, derivado da mevalonolactona, sendo produzido na forma racêmica e a nova geração de estatinas sintéticas, representada pela atorvastatina (Lipitor®) e rosuvastatina (Crestor®) (FALUDI et al, 2017). As diferentes estruturas químicas das estatinas podem ser observadas na Figura 11.

Figura 11. I=1ª geração das estatinas; II=2ª geração das estatinas; III=3ª geração de estatinas; IV= pró-fármacos bioprecusores; a) = estatinas hidrofílicas; b) = retirada do mercado em 2001; (GONZAGA, 2017).

Quanto à relação estrutura-atividade das estatinas, a ação de inibição da HMG-CoA redutase deve-se à uma similaridade na sua estrutura com o substrato HMG-CoA, ligando-se de maneira reversível, competitiva e mais potente do que o substrato, impedindo a biossíntese de colesterol. A lovastatina e a sinvastatina são caracterizadas como pró-fármacos bioprecursores, que necessitam ser hidrolisados *in vivo* para formar o metabólito ativo hidroxiácido, mas as demais estatinas são administradas na forma ativa hidroxiácido (SCHACHTER, 2005; FONSECA, 2005; SIRTORI, 2014).

As mudanças realizadas sinteticamente na estrutura das estatinas, compreendem, principalmente, a alteração da lipossolubilidade, que têm contribuído para um aumento da eficácia na interação com a enzima e para a maior seletividade. Os compostos sintéticos como a fluvastatina, atorvastatina, rosuvastatina e pitavastatina, apresentam em sua estrutura uma cadeia lateral de ácido heptanóico, que forma um análogo estrutural do intermediário da HMG-CoA. Além disso, a atorvastatina, a rosuvastatina e a pitavastatina apresentam grupos 4-fluorofenila e todas apresentam a forma de ácidos abertos (SIRTORI, 2014).

As estatinas se constituem como a principal terapia medicamentosa para prevenção primária e secundária das DVC por apresentarem uma expressiva diminuição na morbidade e mortalidade dos indivíduos acometidos, além disso tornaram-se os fármacos redutores de lipídeos mais prescritos na maioria dos países. Contudo, é de extrema importância conhecer as principais diferenças entre as estatinas quanto ao perfil farmacocinético e farmacodinâmico.

A Tabela 3 apresenta uma comparação quanto à eficácia das estatinas em diminuir as frações lipídicas. Entre elas, a rosuvastatina apresenta a maior capacidade em diminuir o LDL-C, em 63%. A pravastatina e sinvastatina apresentaram a maior capacidade em aumentar a porcentagem de HDL-C sérico, enquanto a atorvastatina é mais eficaz em reduzir o triglicérides, em 29% (SCHACHTER, 2005; SIRTORI, 2014).

Na Tabela 4 são apresentadas as principais propriedades farmacocinéticas das estatinas. Todas as estatinas são absorvidas rapidamente após administração, atingindo pico de concentração plasmática (T_{max}) em 4 horas. Contudo, a maioria apresenta baixa biodisponibilidade,

indicando extenso efeito de primeira passagem, com exceção da pitavastatina que apresenta biodisponibilidade de 80%. Com exceção da pravastatina, todas as estatinas são amplamente ligadas às proteínas plasmáticas, contudo, mesmo que o nível de pravastatina não ligada seja maior em relação às demais estatinas, a distribuição tecidual é limitada pela hidrofiliidade da molécula. A rosuvastatina também possui caráter hidrofílico, como a pravastatina, enquanto as outras estatinas são naturalmente lipofílicas (FONSECA, 2005; SCHACHTER, 2005).

Todas as estatinas são hepatosseletivas em relação à inibição da HMG-CoA redutase, visto que, a maior parte de colesterol endógeno é produzido no fígado, essa propriedade é de extrema importância e é controlada através da solubilidade da molécula. O metabolismo de primeira passagem nas estatinas de caráter lipofílico ocorre através de difusão passiva pelas membranas celulares dos hepatócitos, já as hidrofílicas são captadas pelo fígado através de um sistema de transporte ativo que permite incorporá-las no tecido hepático. Logo, as estatinas hidrofílicas apresentam uma maior seletividade hepática (FONSECA, 2005; SCHACHTER, 2005).

Grande parte das estatinas são metabolizadas pelo citocromo P450 (CYP450), diferenciando-se apenas pelas isoenzimas envolvidas na metabolização, dando origem à metabólitos ativos. A pravastatina, pitavastatina e rosuvastatina não sofrem metabolização pelo CYP450. As estatinas lipofílicas metabolizadas pela via do citocromo CYP450 são mais susceptíveis a apresentar toxicidade muscular pelo risco de interação com vários outros fármacos que inibem o CYP450, aumentando o nível plasmático das estatinas e o risco de efeitos adversos (FONSECA, 2005; SCHACHTER, 2005).

Os benefícios das estatinas em pacientes que apresentam risco de eventos cardiovasculares são inquestionáveis, contudo, estas podem causar efeitos adversos importantes, mas, ainda assim, raros. Os principais efeitos adversos documentados em estudos clínicos são relacionados ao risco de miopatia, a qual pode progredir para rabdomiólise fatal ou não-fatal, ao aumento na incidência de diabetes, elevação de creatinofosfoquinase (CPK) acima de 10 vezes o limite superior da normalidade (LSN), acompanhada de dores musculares, mioglobínúria e apresentando, geralmente, risco de vida devido à insuficiência renal. Além disso, recentemente, relataram-se, também,

importantes evidências que as estatinas aumentam o risco de acidente vascular hemorrágico (FONSECA, 2005; PINAL-FERNANDEZ et al.,2018).

A incidência de miopatia é baixa, uma condição rara que pode atingir entre 10-20 pessoas a cada 10.000 pacientes em tratamento com estatinas por ano, é dose-dependente e a incidência aumenta quando as estatinas são associadas com outros fármacos que compartilham o mesmo sítio de metabolização microssômica hepático, principalmente inibidores do citocromo P450. Pode caracterizar-se como uma dor muscular isolada até uma rabdomiólise severa, podendo levar à uma insuficiência renal aguda. Os mecanismos patológicos de miotoxidade em relação às estatinas ainda não são bem estabelecidos, mas sugeriu-se que estejam relacionados a alterações de membranas celulares e inibição de formação de substâncias essenciais para o metabolismo celular e mitocondrial como a ubiquinona (FONSECA, 2005; SCHACHTER, 2005; PINAL-FERNANDEZ et al.,2018).

Tabela 3. Comparação entre as estatinas quanto à eficácia sobre várias frações lipídicas (SCHACHTER, 2005).

	Atorvastatina	Fluvastatina	Lovastatina	Pravastatina	Sinvastatina	Rosuvastatina	Pitavastatina
Redução LDL-C sérico (%) ^a	50	24	34	34	41	63	48
Aumento HDL-C sérico (%) ^a	6	8	9	12	12	10	- ^c
Redução triglicéride sérico (%) ^a	29	10	16	24	18	28	23

^aEstudo realizado em pacientes com hipercolesterolemia tratados com uma dose diária de 40 mg de atorvastatina, fluvastatina, lovastatina, pravastatina, sinvastatina e rosuvastatina e 4 mg de pitavastatina; ^c efeito reportado não significativo.

Tabela 4. Comparação entre as estatinas quanto ao perfil farmacocinético (SCHACHTER, 2005).

	Atorvastatina	Fluvastatina	Lovastatina	Pravastatina	Sinvastatina	Rosuvastatina	Pitavastatina
Melhor horário de dose	Qualquer horário do dia	Antes de deitar	Refeições de manhã e noite	Antes de deitar	Noite	Qualquer hora do dia	n.a.
Biodisponibilidade (%)	12	24	5	18	5	20	~80
Solubilidade	Lipofílica	Lipofílica	Lipofílica	Hidrofílica	Lipofílica	Hidrofílica	Lipofílica
Efeito da alimentação	Menor biodisponib.	Menor biodisponib.	Menor biodisponib.	Menor biodisponib.	Sem efeito	Sem efeito	n.a.
Ligação às proteínas (%)	98	>98	>95	~50	95-98	90	96
Metabólitos ativos	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Mínima	Mínima
Tempo de meia-vida (h)	14	1,2	3	1,8	2	19	11
Metabolismo CYP450 e isoenzima	Sim 3A4	Sim 2C9	Sim 3A4	Não	Sim 3A4	Limitada	Limitada
Excreção renal (%)	<5	6	10	20	13	10	n.a.

1.5.1 ROSUVASTATINA

Faz parte das estatinas de última geração, totalmente sintética, lançada em 2003, comercializada como Crestor®. Administrada por via oral, logo, está disponível sob a forma de comprimidos ou cápsulas, apresenta caráter hidrofílico e hepatosseletivo, com excreção de 90% sob a forma inalterada nas fezes e não é metabolizada via citocromo P450 (ZHOU et al, 2013; DRUGBANK, 2019).

De acordo com dados relatados pela empresa IMS Health, este fármaco foi considerado o mais prescrito entre os produtos farmacêuticos globais em 2014, para tratamento de hipercolesterolemia, doença metabólica de lipídios no sangue e prevenção de doenças coronarianas, alcançando um grande destaque no mercado farmacêutico, em função de sua potente inibição da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) redutase.

Figura 12. Estrutura química da rosuvastatina cálcica (DRUGBANK, 2019).

A estrutura química da rosuvastatina (Figura 12) pertence a uma inovadora classe de inibidores da HMG–CoA redutase, em que a adição de um grupo metilsulfonamida polar estável tanto confere a este fármaco propriedade hidrofílica quanto amplia sua interação com a enzima HMG-CoA1 redutase, proporcionando resultados clínicos mais expressivos (SCHACHTER, 2005; DRUGBANK, 2019). Na tabela 5, pode-se observar algumas diferenças entre o sal cálcico, comercializado, e a base livre da molécula de rosuvastatina.

Tabela 5. Comparação entre o sal cálcico e a base livre de rosuvastatina (DRUGBANK, 2019).

Propriedade	Rosuvastatina cálcica	Rosuvastatina
Fórmula molecular	$(C_{22}H_{27}FN_3O_6S)_2Ca$	$C_{22}H_{27}FN_3O_6S$
Massa molecular	1001,14 g/mol	481,5 g/mol
Solubilidade em água	0.0886 mg/mL	17,96 mg/L
pKa	4,6	4,0
LogP	4,19	2,4

Apesar de ser conhecida como “super estatina” devido aos seus resultados satisfatórios em eficácia e segurança, além da expressiva contribuição para redução das doenças cardiovasculares, apresenta baixa solubilidade em água (0,0886 mg/mL – sal cálcico; 17,96 mg/L – base livre), que afeta diretamente sua biodisponibilidade oral, de apenas 20%, com pico de concentração plasmática de 3 a 5 horas após administração e meia vida de eliminação em torno de 10-20 horas (PATEL et al., 2012; ZHOU et al., 2013; DRUGBANK, 2019). Sendo assim, há a necessidade de se desenvolver estratégias viáveis para aumentar a solubilidade desse fármaco, para que sua eficácia clínica seja aprimorada e seus efeitos adversos diminuídos, proporcionando mais segurança para os pacientes.

2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

Considerando-se que:

- a. diversos fármacos apresentam biodisponibilidade inadequada por problemas de solubilidade;
- b. a solubilidade aquosa constitui-se, não raro, em problema para a formulação de fármacos,
- c. a latenciação é um processo de modificação molecular que permite a solução de problemas de solubilidade, aprimorando a biodisponibilidade de fármacos;
- d. ésteres de ácidos carboxílicos e ésteres fosfato são, entre outras, formas de transporte muito utilizadas para o aumento da solubilidade em água e
- d. a rosuvastatina é um fármaco de ação cardiovascular, de importância no tratamento de hipercolesterolemia, que apresenta baixa solubilidade em água que, por sua vez, compromete sua biodisponibilidade,

propôs-se a síntese de dois pró-fármacos de rosuvastatina de maior solubilidade em água que o protótipo, aumentando, assim, sua biodisponibilidade.

Planejou-se sintetizar dois pró-fármacos clássicos da rosuvastatina, utilizando-se como transportadores o grupo fosfato e o ácido 2,2-*bis*(hidroximetilpropiónico). Uma vez obtidos, será determinada a solubilidade dos pró-fármacos e efetuada a análise térmica dos compostos obtidos.

2.1 PRÓ-FARMACOS DE ROSUVASTATINA PROPOSTOS

2.1.1 Pró-fármaco éster de rosuvastatina

LogP = 1,28

2.1.2 Pró-fármaco éster fosfato de rosuvastatina

LogP = 1,68

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Reagentes e Solventes

- 4-dimetilaminopiridina (DMAP)
- acetato de etila (AcOEt)
- acetona
- acetonitrila (ACN)
- ácido 2,2-*bis*(hidroximetil)propiónico (*Bis*MPA)
- ácido *p*-toluenossulfônico (*p*-TsOH)
- Amberlyst-15
- clorofórmio
- diclorometano
- dietil clorofosfato
- dimetilacetalbenzaldeído
- dicitcloexilcarbodiimida (DCC)
- hexano
- metanol (MeOH)
- rosuvastatina (a partir de rosuvastatina cálcica)
- tetrabutílamônio dihidrogenofosfato
- tricloroacetonitrila
- trietilamina (Et₃N)

3.1.2 Equipamentos

- Agitadores magnéticos com aquecimento;
- Aparelho capilar para faixa de fusão Buchi;
- Balança Analítica;
- Cromatógrafo automático *flash* Isolera Prime, Biotage;
- Espectrofotômetro FTIR IRAffinity-1 Shimadzu;
- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker 300 MHz, modelo *Advanced* DPX-300;
- Rotaevaporador Buchi.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Síntese do pró-fármaco éster de rosuvastatina

O planejamento da rota sintética do pró-fármaco éster de rosuvastatina está apresentado no Esquema 1.

A primeira etapa consiste na formação do cetel para proteger os 2 grupos hidroxilas livres na molécula do *BisMPA*, para evitar reações cruzadas e formação de subprodutos. Em seguida, é formado o anidrido do transportador protegido por ser mais reativo que a forma ácida. A esterificação do diol presente na molécula de rosuvastatina é realizada com o anidrido de *BisMPAP*, utilizando-se o DMAP como catalisador da reação. A última etapa consiste na remoção do grupo protetor do transportador para deixar as hidroxilas livres.

PROTEÇÃO BISMPA (SANTOS, 2016)

ESTERIFICAÇÃO DA ROSUVASTATINA COM ANIDRIDO DO BISMPAP (GONZAGA, 2017)

SÍNTESE ÉSTER FOSFATO DE ROSUVASTATINA

MÉTODO A: DIIDROGÊNIO FOSFATO DE TETRABUTILAMÔNIO (LIRA et al., 2013)

MÉTODO B: CLOROFOSFATO DE DIETILA (MANTYLA et al., 2004)

Esquema 1. Rotas sintéticas dos pró-fármacos éster de rosuvastatina e éster fosfato de rosuvastatina.

3.2.1.1 Proteção do *BisMPA* (SANTOS, 2016)

Dissolveu-se *BisMPA*, (10 g; 45 mmol), em dimetilacetalbenzaldeído (17 mL) e 75 mL de acetona. Adicionou-se o ácido *p*-toluenossulfônico (1,45 g; 7,64 mmol) à reação, que foi mantida sob agitação constante em temperatura ambiente por 4 horas. O sólido obtido foi filtrado sob pressão reduzida, em seguida seco sob vácuo, resultando em um sólido cristalino branco com rendimento de 80%.

3.2.1.2 Síntese do anidrido do *BisMPAP* (adaptado de IHRE, JESÚS, FRÉCHET, 2001)

Dissolveu-se o *BisMPA* protegido obtido na etapa anterior (2 g; 9 mmol) em 20 mL de diclorometano e, em seguida, adicionou-se DCC (1,1 g; 5,3 mmol) previamente dissolvido em 20 mL de diclorometano. A reação foi mantida sob agitação constante em temperatura ambiente, *overnight*. A mistura reacional foi filtrada a vácuo e o solvente evaporado a 40 °C sob pressão reduzida. O sólido obtido foi solubilizado em 30 mL de diclorometano e precipitado em hexano gelado numa proporção de 9:1 (hexano:diclorometano). O conteúdo foi mantido sob refrigeração *overnight*, e em seguida, filtrado sob pressão reduzida. O sólido obtido foi seco sob pressão reduzida, resultando em um pó branco amorfo com rendimento de 43%.

3.2.1.3 Esterificação da rosuvastatina com anidrido de *BisMPAP* (adaptado de GONZAGA, 2017)

Dissolveu-se o anidrido de *BisMPAP* (2) (1 g; 2,5 mmol; 2,5 eq.) em 5 mL de diclorometano anidro. Em seguida, adicionaram-se a rosuvastatina (0,48 g; 1,0 mmol; 1 eq.) e a DMAP (50 mg; 10 mol% do *BisMPAP*). A reação foi mantida sob agitação constante em atmosfera inerte e temperatura ambiente. Após 24 horas, acrescentaram-se 10 mL de água desionizada e manteve-se a reação *overnight*. O produto foi lavado com água (2 x 30 mL) e solução saturada de NaCl (2 x 30 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, e filtrada. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida a 40 °C. Em seguida purificou-se o extrato bruto por cromatografia *flash*, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila na proporção de 1:2 (v/v), com gradiente de concentração, respectivamente, de 84%:16% até 0%:100%. As frações referentes ao produto foram concentradas à pressão reduzida a 40 °C e secada sob pressão reduzida. O produto foi obtido como um cristal amarelo com rendimento de 21%.

3.2.1.4 Desproteção do composto 3 com Pd/C (CLAYDEN et al., 2008)

Em um hidrogenador Paar, dissolveu-se o composto (3) (0,685 g; 1,0 mmol; 1 eq.) em 55,50 mL de solução de metanol:diclorometano 1:1 (v/v) e adicionou-se Pd/C (1,38 g; 13 mmol; 13 eq.). O hidrogenador foi fechado e adicionou-se o H_2 , à pressão de 6 bar. O sistema foi lacrado e a reação mantida sob agitação constante *overnight*. Filtrou-se a mistura reacional utilizando-se celite, lavando com solução de metanol:diclorometano 1:1. O filtrado foi evaporado a 40 °C e o sólido resultante foi purificado por cromatografia *flash*.

3.2.1.5 Desproteção do composto 3 com Amberlyst 15 (COPPOLA, 1984)

Dissolveu-se o composto (3) (0,107 g; 0,15 mmol; 1 eq.) em 11 mL de uma solução de metanol:água 10:1 (v/v). Acrescentou-se à reação a resina Amberlyst-15 (50 mg). Sob agitação constante, a reação aquecida a 55-60 °C, durante 48 horas. Filtrou-se a mistura reacional sob pressão reduzida, e o

filtrado foi evaporado sob pressão reduzida a 40 °C. O sólido resultante foi purificado por cromatografia *flash*, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila 1:3 (v/v), com gradiente de concentração, respectivamente, de 84%:16% até 0%:100%. O produto final foi obtido como um cristal amarelo claro, com rendimento de 30%.

3.2.2 Síntese do pró-fármaco éster fosfato de rosuvastatina

Foram realizados dois métodos distintos para obtenção do pró-fármaco éster fosfato, o método A é uma reação *one-pot*, já o método B é realizado em duas etapas, já que o grupo fosfato está protegido, por grupos dietil, no agente de fosforilação.

3.2.2.1 Método A com tetrabutilamônio dihidrogenofosfato (LIRA et al., 2013)

Dissolveu-se rosuvastatina (0,48 g; 1 mmol; 1 eq.) em 1 mL de acetonitrila, em seguida, adicionou-se ao meio reacional tricloroacetonitrila (0,83 g; 4,8 mmol; 4.8 eq.) e dihidrogenofosfato de tetrabutilamônio (1,62 g; 4,0 mmol; 4 eq.) dissolvidos em 5 mL de acetonitrila. A reação foi mantida sob agitação constante em temperatura ambiente por 48 horas, sendo acompanhada por CCD para ver formação de produto. O solvente foi removido sob pressão reduzida a 40 °C. A purificação do bruto reacional foi realizada através de cromatografia *flash*, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila 1:2 (v/v), com gradiente de concentração, respectivamente, de 84%:16% até 0%:100%.

3.2.2.2 Método B com clorofosfato de dietila (MANTYLA et al., 2004)

Em atmosfera inerte, dissolveu-se rosuvastatina (1 g; 2 mmol; 1 eq.) em 10 mL de diclorometano anidro. Em seguida, adicionou-se ao meio reacional trietilamina (1 mL; 6 mmol; 3 eq.). A reação foi resfriada a 0 °C e então adicionou-se, lentamente, clorofosfato de dietila (1 mL; 6 mmol; 3 eq.). A reação foi mantida sob agitação constante, em temperatura ambiente, por 48 horas, sendo acompanhada por CCD para ver a formação de produto, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila 1:2 (v/v). O solvente foi removido sob pressão reduzida a 40 °C. A mistura foi dissolvida em 20 mL de éter etílico e os cristais de cloreto de trietilamônio foram retirados por filtração. O solvente foi removido sob pressão reduzida a 40 °C. A purificação do produto obtido foi realizada através de cromatografia *flash*, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila na proporção de 1:2 (v/v), com gradiente de concentração, respectivamente, de 84%:16% até 0%:100%.

3.2.3 Análises

3.2.3.1 Análise no infravermelho

A análise no infravermelho foi realizada em espectrofotômetro FTIR IRAffinity-1 Shimadzu, utilizando-se o acessório ATR para sólidos.

3.2.3.2 Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C

A análise de RMN de ^1H e ^{13}C foi efetuada em espectrômetro Bruker 300 MHz, modelo Advance DPX-300, em solventes deuterados adequados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SÍNTESE DO PRÓ-FÁRMACO ÉSTER DE ROSUVASTATINA

4.1.1 Proteção do BisMPA

A proteção do *BisMPA* é uma etapa importante e necessária, pois evita a ocorrência de reações cruzadas, devido à presença de diferentes grupos funcionais, COOH e OH, em sua estrutura e à formação de subprodutos que podem comprometer as próximas etapas da síntese. O ácido *p*-toluenossulfônico foi utilizado como catalisador da reação, acelerando a formação do intermediário aldeídico, muito reativo, que, posteriormente, é atacado pelo agente espaçante, ocorrendo, assim, a proteção (CLAYDEN et al., 2008). O mecanismo de reação está representado na Figura 13.

Mecanismo de reação

Figura 13. Mecanismo de reação para a proteção do *BisMPA* (adaptado de CLAYDEN et al., 2008).

Observa-se no RMN ^1H , espectro 1, a presença dos multipletos em 7,31 – 7,44 ppm, correspondentes aos hidrogênios aromáticos do grupo protetor. Observa-se, ainda, o singlete em 5,52 ppm, referente ao hidrogênio do carbono 5 do grupo protetor. Podem-se observar, também, os sinais dos hidrogênios do *BisMPA*, como o singlete em 1,05 ppm, referente ao hidrogênio do carbono 4, e os sinais dos hidrogênios geminais do carbono 3. Os hidrogênios geminais dos carbonos 3 (grupos metílenos) se encontram em um mesmo ambiente químico, entretanto, apresentam no espectro um sinal de duplo duplete. Este fenômeno ocorre devido ao grupo de proteção impedir a rotação e, desse modo, os grupos metilênicos não conseguem rotacionar em seu eixo de simetria nem por reflexão em seu plano (FRIEBOLIN, 1993). Podem-se classificar os hidrogênios em H^{A} e H^{B} , conforme mostra a Figura 14, em que os hidrogênios H^{A} encontram-se mais desblindados, pois sentem maior efeito do campo magnético devido à carbonila do ácido, quando comparados aos hidrogênios H^{B} , que se encontram em posição equatorial. Portanto, os hidrogênios geminais apresentam diferentes deslocamentos químicos (SANTOS, 2016).

Figura 14. Estrutura tridimensional do *BisMPAP* (SANTOS, 2016).

Também, se observam no RMN ^{13}C (espectro 2), os sinais característicos dos carbonos do grupo protetor, em 102,20 ppm, referente ao carbono 5, e em 127,27, 128,82, 129,48, 139,98 ppm, referentes aos carbonos aromáticos 7, 8, 9 e 6, respectivamente. Portanto, conclui-se que a síntese do ácido 2,2-

bis(hidroximetil)propiónico (*BisMPA*) protegido foi realizada com êxito, obtendo-se um cristal de cor branca, com rendimento em torno de 80%.

Espectro 1: RMN ^1H (300 MHz, Acetona- d_6) do *BisMPAP*.

RMN ^1H (Acetona- d_6), 300 MHz, δ = ppm

2,05 (Acetona- d_6); 1,05 (s, 3H, H_4); 3,72 (d, 2H, H_3 , $J=9$ Hz); 4,55 (d, 2H, H_3 , $J=12$ Hz); 5,52 (s, 1H, H_5); 7,31-7,34 (m, 3H, H_8 e H_9); 7,42-7,44 (m, 2H, H_7).

Espectro 2: RMN ^{13}C (75 MHz, Acetona- d_6) do *BisMPAP*.

RMN ^{13}C (Acetona- d_6), 75 MHz, δ = ppm

206,26 (Acetona- d_6); 18,27 (C_4); 42,74 (C_2); 74,12 (C_3); 102,20 (C_5); 127,27 (C_7); 128,82 (C_8); 129,48 (C_9); 139,98 (C_6); 175,82 (C_1).

4.1.2 Síntese do anidrido do *BisMPAP*

Esta etapa é necessária, pois o anidrido do *BisMPAP* apresenta maior reatividade, quando comparado ao ácido carboxílico do *BisMPA* e, desta forma, a síntese do anidrido favorece a realização das etapas a seguir.

Figura 15. Mecanismo de reação da formação do anidrido de *BisMPAP* utilizando DCC.

O espectro de RMN ^1H (espectro 3) apresentou os sinais característicos do *BisMPAP*, como os hidrogênios aromáticos, que aparecem como multipletos em 7,28-7,48 ppm. Além disso, observam-se, também, os singletos em 1,15 e 5,50 ppm, referentes, respectivamente, aos hidrogênios H_4 e H_5 . Outros sinais importantes são os hidrogênios H_3 , que aparecem como dupletos em 3,72 e 4,70 ppm.

No espectro de RMN de ^{13}C (espectro 4), também se observam os sinais dos carbonos característicos do *BisMPAP*, C_4 , C_2 , C_3 , C_5 , C_7 , C_8 , C_9 e C_6 em 17, 44, 73, 102, 126, 128, 129 e 137ppm, respectivamente. Em adição, a principal evidência da síntese deste composto é o deslocamento químico observado no carbono carbonílico do anidrido. No *BisMPAP*, a carbonila do ácido carboxílico aparecia em 175,82 ppm e com a função anidrido formada

esse carbono aparece em 169,28 ppm. Foi obtido um pó branco amorfo, com rendimento de 83%.

Espectro 3: RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do anidrido do *BisMPAP*.

RMN ^1H (CDCl_3), 300 MHz, δ = ppm

7,26 (CDCl_3); 1,12 (s, 6H, H_4); 3,66 (d, 4H, H_3 , $J=11,3$ Hz); 4,64 (d, 4H, H_3 , $J=11,3$ Hz); 5,47 (s, 2H, H_5); 7,32-7,34 (m, 6H, H_8 e H_9); 7,44-7,47 (m, 4H, H_7).

Espectro 4: RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do anidrido do *BisMPAP*.

RMN ^{13}C (CDCl_3), 75 MHz, δ = ppm

77,06 (CDCl_3); 17,00 (C_4); 44,33 (C_2); 73,33 (C_3); 102,26 (C_5); 126,44 (C_7);
128,36 (C_8); 129,22 (C_9); 137,77 (C_6); 169,28 (C_1).

4.1.3 Esterificação da rosuvastatina com anidrido de *BisMPAP*

Nesta etapa, realiza-se a esterificação da rosuvastatina com o anidrido do *BisMPAP*. A esterificação deve ser realizada nas hidroxilas livres na molécula da rosuvastatina, podendo ocorrer uma di ou monossustituição. Utilizou-se o DMAP como catalisador da reação conforme mostra a Figura 16.

Figura 16. Mecanismo de reação de esterificação utilizando DMAP como catalisador.

Para a melhor compreensão do intermediário obtido, a Tabela 6 mostra os sinais de RMN de ^1H e ^{13}C da rosuvastatina, assim como o espectro para comparação das mudanças ocorridas devido à esterificação.

Tabela 6. Atribuição dos sinais dos espectros de ^1H e ^{13}C da rosuvastatina (ISLER, 2014).

	^1H (DMSO-D6)			^{13}C (DMSO-D6)		
	(ppm)	Multiplicidade	$J_{\text{H-H}}$ (HZ)	(ppm)	Multiplicidade	$J_{\text{C-F}}$ (HZ)
1	-	-	-	178,39	singleto	-
2	1,96 e 2,11	multiplete	-	43,79	singleto	-
3	3,77	multiplete	-	65,77	singleto	-
4	1,28 e 1,46	multiplete	-	43,89	singleto	-
5	4,19	multiplete	-	68,64	singleto	-
6	5,49 – 5,56	duplo duplete	16,1 e 5,3	141,54	singleto	-
7	6,48	duplete	16,0	120,89	singleto	-
8	-	-	-	121,86	singleto	-
9	-	-	-	174,27	singleto	-
10	3,39	septeto	13,4 e 6,7	31,28	singleto	-
11 e 12	1,21 ou 1,19	duplete e duplete	6,4	21,45 ou 21,43	singleto	-
13	-	-	-	156,78	singleto	-
14	-	-	-	162,85	singleto	-
15	-	-	-	134,45	duplete	3,1
16	7,68 – 7,73	multiplete	-	132,04	duplete	8,6
17	7,23 – 7,29	triplete	-	114,81	duplete	21,6
18	-	-	-	160,89	duplete	247,0
19	3,44	singleto	-	33,17	singleto	-
20	3,53	singleto	-	41,56	singleto	-

Espectro 5. RMN ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) da rosuvastatina cálcica.

Espectro 6. RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) da rosuvastatina cálcica.

O espectro de RMN ¹H do produto da esterificação apresentou as atribuições que seguem.

RMN ^1H (CDCl_3), 300 MHz, δ = ppm

Tabela 7. Atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 3 dissustituído.

	Rosuvastatina				Composto 3	
	^1H (CDCl ₃) 300 MHz δ = ppm	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	^{13}C (CDCl ₃) 75 MHz δ = ppm	$J_{\text{C-F}}$ (Hz)	^1H (CDCl ₃) 300 MHz δ = ppm	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)
1	-	-	178,39	-	-	-
2	1,96 e 2,11	-	43,79	-		-
3	3,77	-	65,77	-	2,66-2,78	-
4	1,28 e 1,46	-	43,89	-		-
5	4,19	-	68,64	-	2,66-2,78	-
6	5,49 – 5,56	16,1 e 5,3	141,54	-	5,43-5,50	-
7	6,48	16,0	120,89	-	6,69-6,75	16,0
8	-	-	121,86	-	-	-
9	-	-	174,27	-	-	-
10	3,39	-	31,28	-	3,28-3,37	-
11 ou 12	1,21 ou 1,19	6,4	21,45 ou 21,43	-	1,26 ou 1,28	6,7
13	-	-	156,78	-	-	-
14	-	-	162,85	-	-	-
15	-	-	134,45	3,1	-	-
16	7,68 – 7,73	-	132,04	8,6	7,59-7,64	-
17	7,23 – 7,29	-	114,81	21,6	7,08-7,14	-
18	-	-	160,89	247,0 Hz	-	-
19	3,44	-	33,17	-	3,57	-
20	3,53	-	41,56	-	3,51	-
21	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	3,67–3,72	11,5 e 4,3
23	-	-	-	-	4,59-4,68	12,5

Tabela 7. Atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 3 dissubstituído.

	Rosuvastatina				Composto 3*	
	^1H (CDCl ₃) 300 MHz δ = ppm	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	^{13}C (CDCl ₃) 75 MHz δ = ppm	$J_{\text{C-F}}$ (Hz)	^1H (CDCl ₃) 300 MHz δ = ppm	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)
24	-	-	-	-	1,12	-
25	-	-	-	-	5,43-5,50	-
26	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	7,43-7,46	-
28 e 29	-	-	-	-	7,31-7,33	-

*Éster protegido

A reação foi acompanhada com CCD, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila 1:2, e apresentou três manchas ao final das 48 horas de reação com R_f 0,64 e R_f 0,16, diferentes da rosuvastatina, e R_f 0,30, indicando a formação de produto. A purificação foi realizada em cromatografia *flash*, fase móvel hexano:acetato de etila, com gradiente de concentração, respectivamente, de 84%:16% até 0%:100%. Foram isoladas três frações, referentes ao material de partida, intermediário dissubstituído e impureza.

No espectro de RMN ^1H , observam-se em 7,31-7,33 e 7,43-7,46 ppm, os sinais característicos dos hidrogênios aromáticos do *BisMPA* protegido em multipletos, H_{28} e H_{29} e H_{27} , respectivamente. Além desses sinais, o espectro apresenta um singleto em 1,12 ppm referente ao hidrogênio H_{24} . O sinal referente ao hidrogênio H_{25} ficou sobreposto aos sinais do hidrogênio H_6 da rosuvastatina na faixa de 5,43-5,50 ppm, não sendo possível atribuir o sinal do singleto. Entretanto, foi possível identificá-lo através da integração dos sinais na mesma região. Observam-se os sinais referente ao H_{23} em duas regiões do espectro, em 3,67-3,72 ppm e em 4,59-4,68 ppm. Os sinais referentes à molécula da rosuvastatina também foram observados como, por exemplo, multipletos dos hidrogênios aromáticos H_{17} e H_{16} em 7,08-7,14 e 7,59-7,64 ppm, respectivamente. Sinais característicos dos hidrogênios das metilas 20 e 19, singletos em 3,51 ppm e 3,57 ppm, respectivamente, também foram observados. Para finalizar, se

observa o duplo duplete referente ao H₇ em 6,69 ppm, e o septeto referente ao H₁₀ em 3,28-3,37 ppm.

Analisando-se a integração dos sinais de ¹H, concluiu-se que a rosuvastatina foi esterificada em ambas as hidroxilas. A integração dos sinais referentes ao H₂₃ deu 4H em cada duplete referente aos hidrogênios do CH₂, além disso, a integração do H₂₄ deu 6H remetendo-se às duas metilas do *Bis*MPA. Na região dos aromáticos, a integração também confirmou a dissustituição, em que os hidrogênios H₂₈ e H₂₉ apresentam 6H e o H₂₇, 4H.

Ainda se observam sinais, provavelmente, de impureza na região em torno de 2,0 a 2,5 ppm. Purificação mais acurada permitirá a obtenção de espectro de maior resolução, podendo-se atribuir de forma mais precisa os sinais. Obteve-se como produto final, um óleo amarelo claro, com rendimento de 21%.

Contudo, o intermediário dissustituído só foi obtido uma vez. Ao repetir a esterificação por diversas outras vezes, apenas o intermediário monossustituído foi obtido. Pode-se inferir que a mudança de matéria-prima (rosuvastatina) tenha interferido no resultado na repetição da reação, pois os métodos de síntese utilizados foram exatamente os mesmos.

4.1.4 Desproteção do composto 3 com Pd/C

Para a remoção do grupo protetor do composto 3, utilizou-se como catalisador o Pd/C, para hidrogenação do éter benzílico, conforme esquema na figura 17. Todos os reagentes foram adicionados a um hidrogenador Paar, em atmosfera de H₂, à pressão de 6 bar, o sistema foi então lacrado. A reação foi mantida sob agitação constante *overnight*.

Figura 17. Mecanismo de desproteção por hidrogenação, usando Pd/C como catalisador.

Analisando o espectro 8 de RMN ¹H, concluiu-se que a hidrogenação do éter benzílico ocorreu, pois, os sinais em 7,31-7,46 ppm referentes aos hidrogênios aromáticos não são mais visíveis no espectro. Entretanto, a insaturação presente na cadeia lateral alquílica também sofreu hidrogenação. No espectro 5, visualizam-se os sinais referentes à insaturação em 6,50 ppm, que aparece como um duplete, porém, no espectro 7 esses sinais não são mais visíveis, o que constata que o alceno foi reduzido. Visto que a molécula matriz não pode sofrer alterações estruturais que poderiam alterar sua atividade farmacológica, o método escolhido para a desproteção não foi o mais viável, sendo necessária a busca por um método alternativo ou até mesmo a substituição do grupo protetor.

Espectro 8: RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do intermediário monossustituído desprotegido impuro.

4.1.5 Desproteção do composto 3 com Amberlyst-15

Este método de desproteção foi escolhido como alternativa ao método do Pd/C em atmosfera de H_2 para evitar que o alceno fosse reduzido. A reação foi acompanhada por CCD, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila 1:3, e a placa apresentou duas manchas com R_f 0,75 e R_f 0,48. O produto foi obtido através de purificação em cromatografia *flash*, fase móvel hexano:acetato de etila, com gradiente de concentração, respectivamente, de 84%:16% até 0%:100%.

Os principais sinais a serem avaliados inicialmente nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C são os referentes ao grupo protetor benzaldeído, que são os hidrogênios H_{25} , H_{27} , H_{28} e H_{29} e os carbonos C_{25-29} . Observam-se no espectro de RMN de ^1H

(espectro 9) a ausência dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos do grupo protetor benzaldeído. Na região dos aromáticos, se observam apenas os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos da rosuvastatina H₁₆ e H₁₇ como multipletos, em 7,59-7,64 e 7,08-7,14 ppm, respectivamente. Também não se observa o sinal referente o hidrogênio do carbono 25 como um singlete em torno de 5,5 ppm, sendo visível somente o duplo duplete referente ao H₆, em 5,39-5,47 ppm. No espectro de ¹³C, os sinais dos carbonos C₂₅, C₂₆, C₂₇, C₂₈ e C₂₉, não são observados, corroborando a afirmação de hidrólise do cetil benzaldeído.

Além da hidrólise do benzaldeído, é importante avaliar se também houve redução do alceno, principal razão para mudança do método. Em 6,59-6,65 ppm, se observam os sinais referentes ao hidrogênio H₇ como um duplo duplete, comprovando que o alceno não foi reduzido e o método é eficaz.

Os sinais referentes ao *Bis*MPA também podem ser observados nos espectros de ¹H e ¹³C como, por exemplo, em 1,06 ppm o singlete referente ao H₂₄, e em 3,69 ppm o singlete referente ao H₂₃, assim como os carbonos C₂₁, C₂₂, C₂₃, C₂₄, em 175,05 ou 175,07, 50,00, 69,55 e 17,23 ppm, respectivamente.

Outros sinais da rosuvastatina também podem ser observados como os singletos em 3,51 e 3,56 ppm, referentes aos hidrogênios H₂₀ e H₁₉ das metilas, respectivamente, assim como o duplete em 1,25 ou 1,27 ppm, referente ao H₁₁ ou H₁₂. No espectro de ¹³C (espectro 10) os sinais mencionados anteriormente se configuram em 33,23, 41,03, 21,69 ou 21,71 ppm, referentes aos carbonos C₁₉, C₂₀, C₁₁ ou C₁₂, respectivamente. Na região do espectro entre 3,5 e 4,0 ppm, há ainda sinais de impureza, sendo que uma purificação mais acurada se faz necessário.

Contudo, infere-se que se obteve o pró-fármaco éster de rosuvastatina monossustituído, como um cristal amarelo, com rendimento de 30%.

Tabela 8. Atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 3 em comparação ao pró-fármaco éster de rosuvastatina monossustituído com a desproteção do *Bis*MPAP.

	Composto 3		Pró-fármaco éster rosuvastatina mono			
	^1H (CDCl ₃) 300 MHz δ = ppm	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	^1H (CDCl ₃) 300 MHz δ = ppm	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	^{13}C (CDCl ₃) 75 MHz δ = ppm	$J_{\text{C-F}}$ (Hz)
1	-	-	-	-	175,05 ou 175,07	-
2		-	1,79-1,90	-	50,00	-
3	2,66-2,78	-		-	68,27	-
4		-	1,60-1,67	-	42,58	-
5	2,66-2,78	-	4,31-4,36	-	70,39	-
6	5,43-5,50	-	5,39-5,47	16,1 e 5,8	139,45	-
7	6,69-6,75	16,0	6,59-6,65	16,1 e 1,1	121,27	-
8	-	-	-	-	123,78	-
9	-	-	-	-	170,99	-
10	3,28-3,37	-	3,27-3,36	-	32,37	-
11 ou 12	1,26 ou 1,28	6,7	1,25 ou 1,27	6,6	21,69 ou 21,71	-
13	-	-	-	-	157,55	-
14	-	-	-	-	163,81	-
15	-	-	-	-	134,68-134,72	3,3
16	7,59-7,64	-	7,59-7,64	-	132,19-132,30	8,4
17	7,08-7,14	-	7,07-7,12	8,7	115,10-115,39	21,7
18	-	-	-	-	161,74	249,7
19	3,57	-	3,56	-	33,23	-
20	3,51	-	3,51	-	41,03	-
21	-	-	-	-	175,05 ou 175,07	-

Tabela 8. Atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 3 em comparação ao pró-fármaco éster de rosuvastatina monossustituído com a desproteção do *BisMPAP* (continuação)

	Composto 3		Pró-fármaco éster rosuvastatina mono			
	^1H (CDCl_3) 300 MHz $\delta = \text{ppm}$	$J_{\text{H-H}}(\text{Hz})$	^1H (CDCl_3) 300 MHz $\delta = \text{ppm}$	$J_{\text{H-H}}(\text{Hz})$	^{13}C (CDCl_3) 75 MHz $\delta = \text{ppm}$	$J_{\text{C-F}}(\text{Hz})$
22	-	-	-	-	50,00	-
23	3,67–3,72	11,5 Hz e 4,3 Hz	3,69	-	69,55	-
23	4,59-4,68	12,5 Hz	-	-	-	-
24	1,12	-	1,06	-	17,23	-
25	5,43-5,50	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-
27	7,43-7,46	-	-	-	-	-
28 e 29	7,31-7,33	-	-	-	-	-

Espectro 9: RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do pró-fármaco éster de rosuvastatina.

RMN ^1H (CDCl_3), 300 MHz, δ = ppm

7,26 (CDCl_3); 1,06 (s, 3H, H_{24}); 1,25 ou 1,27 (dd, 6H, H_{11} ou H_{12}); 1,60-1,67 (m, 1H, H_4); 1,79-1,90 (m, 1H, H_2); 3,27-3,36 (sep, 1H, H_{10}); 3,51 (s, 3H, H_{20}); 3,56 (s, 3H, H_{19}); 3,69 (s, 3H, H_{23}); 4,31-4,36 (m, 1H, H_5); 5,39-5,47 (dd, 1H, H_6); 6,59-6,65 (dd, 1H, H_7); 7,07-7,12 (t, 2H, H_{17}); 7,59-7,64 (m, 2H, H_{16});

Espectro 10: RMN ^{13}C do pró-fármaco éster de rosuvastatina.

RMN ^{13}C (CDCl_3), 75 MHz, δ = ppm

77,06 (CDCl_3); 17,23 (C_{24}); 21,69 ou 21,71 (C_{11} ou C_{12}); 32,37 (C_{10}); 33,23 (C_{19}); 39,43 (C_2); 41,03 (C_{20}); 42,58 (C_4); 50,00 (C_{22}); 68,27-68,34 (C_3); 69,55 (C_{23}); 70,39 (C_5); 115,10-115,39 (C_{17}); 121,27 (C_7); 123,78 (C_8); 132,19-132,30 (C_{16}); 134,68-134,72 (C_{15}); 139,45 (C_6); 157,55 (C_{13}); 161,74 (C_{18}); 163,81 (C_{14}); 170,99 (C_9); 175,05 ou 175,07 (C_1 ou C_{21}).

4.2 SÍNTESE DO PRÓ-FÁRMACO ÉSTER FOSFATO DE ROSUVASTATINA

4.2.1 Método A com tetrabutilamônio diidrogenofosfato

Este método de síntese do éster fosfato é denominado *one-pot*, ou seja, todas as etapas se passam dentro do mesmo meio reacional. Há diversas vantagens frente às reações denominadas lineares como, menor número de etapas e de processos de purificação, não havendo a necessidade de isolamento de intermediários, entre outras etapas. Contudo, não é de fácil execução, considerando-se que existe grande possibilidade de ocorrer reações indesejadas e formação de grande variedade de subprodutos. O mecanismo da reação está parcialmente representado na Figura 18.

Figura 18. Mecanismo de reação da formação do éster fosfato.

Espectro 11: RMN ¹H do produto obtido com o método A de fosforilação.

RMN ¹H (DMSO-d₆), 300 MHz, δ = ppm

2,50 (DMSO-D₆); 1,22 ou 1,24 (dd, 6H, H₁₁ ou H₁₂); 3,35-3,37 (sep, 1H, H₁₀); 3,46 (s, 3H, H₂₀); 3,55 (s, 3H, H₁₉); 5,07-5,10 (m, 1H, H₅); 5,59-5,67 (dd, 1H, H₆); 6,75-6,81 (dd, 1H, H₇); 7,28-7,34 (m, 2H, H₁₇); 7,67-7,72 (m, 2H, H₁₆).

Espectro 12: RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) do produto obtido com o método A de fosforilação.

RMN ^{13}C (DMSO- d_6), 75 MHz, δ = ppm			
39,53 (CDCl ₃);	21,24 ou 21,30 (C ₁₁ ou C ₁₂);	31,58 (C ₁₀);	33,15 (C ₁₉); (C ₂);
41,56 (C ₂₀);	(C ₄); (C ₃); (C ₅);	114,91-115-20 (C ₁₇);	120,31 (C ₇); 120,88 (C ₈);
132,03-132,15 (C ₁₆);	134,14-134,18 (C ₁₅);	134,53 (C ₆);	157,12 (C ₁₃);
162,82 (C ₁₈);	163,07 (C ₁₄);	174,23 (C ₉).	

A reação foi acompanhada com CCD, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila 1:2. Após 48 horas de reação, visualizaram-se três manchas com polaridade diferente do material de partida, R_f 0,73 e R_f 0,44 em comparação ao R_f 0,30 da rosuvastatina, indicando a formação de produto.

A purificação foi realizada através de cromatografia *flash*, fase móvel hexano:acetato de etila, com gradiente de concentração, respectivamente, de 84%:16% até 0%:100%.

Analisando o espectro 11, observam-se os sinais referente à molécula da rosuvastatina como, por exemplo, o dubleto em 1,22 e 1,24 ppm, referente aos hidrogênios H_{11} e H_{12} e os singletos em 3,46 ppm, referente ao H_{19} , e em 3,55 ppm, referente ao H_{20} . Em 5,59 ppm, visualiza-se o duplo dubleto referente ao H_6 e em 6,75 ppm, o duplo dubleto referente ao H_7 . O sinal do H_{10} ficou sobreposto por um sinal grande, referente à água do solvente deuterado.

Com a fosforilação das hidroxilas, espera-se que haja um deslocamento dos hidrogênios H_3 e H_5 principalmente. Comparando com o RMN de 1H da rosuvastatina (espectro 5) observamos que os sinais referentes aos hidrogênios H_3 e H_5 não aparecem na região em torno de 3,5-4,0 ppm. Desse modo observamos alguns sinais diferentes como os multipletos em 5,07-5,10 ppm, que poderia ser do H_5 , multipletos em 6,98-7,04 ppm e o dubleto em 5,97 ppm.

Além disso, os sinais referentes aos hidrogênios H_2 e H_4 não são visíveis na região entre 1,2-1,5 ppm. Dessa maneira, alguns sinais da molécula de rosuvastatina não foram possíveis de serem atribuídos.

Pela análise conjunta com o espectro de ^{13}C , conclui-se que não houve formação do produto esperado, mas sim de um produto de eliminação de OH, com formação de duplas ligações conjugadas. Se houvesse formação do produto fosforilado, acoplamento do C com o P seria visível no espectro como um duplete, se monossustituído, e dois dupletos, se fosse dissustituído.

Esse método foi reproduzido várias vezes, variando-se a equivalência e a duração da síntese, porém sem sucesso. Assim, outro método foi proposto para obtenção do pró-fármaco éster fosfato.

4.2.2 Método B com clorofosfato de dietila

A reação foi acompanhada com CCD, utilizando-se como fase móvel hexano:acetato de etila 1:2. A purificação foi realizada através de cromatografia flash, fase móvel hexano:acetato de etila, com gradiente de concentração, respectivamente, de 84%:16% até 0%:100%.

Analisando o RMN de ^1H , se observam os sinais característicos da rosuvastatina como os multipletos em 7,62-7,67 e 7,06-7,12 ppm, referentes aos hidrogênios aromáticos H_{16} e H_{17} , assim como os singletos em 3,51 e 3,57 ppm, referentes aos hidrogênios das metilas H_{19} e H_{20} . Também, se observa o duplete do H_7 em 6,61 ppm e o duplo duplete do H_6 em 5,42 ppm, além do septeto do H_{10} em 3,32 ppm.

A primeira evidência da fosforilação de uma ou duas hidroxilas, seriam os sinais na região em torno de 1,00-1,30 ppm, com uma integração de no mínimo 6H, referente à duas metilas do dietil. Entretanto, o sinal presente nessa faixa de deslocamento químico é somente referente aos hidrogênios H₁₁ e H₁₂, de 1,26 e 1,28 ppm, com uma integração de 9H, mas contando com uma interferência do acetato de etila que cai nessa região. Observamos em outras partes do espectro a interferência do solvente, como o quarteto na região de 4,0 ppm e o singlete em 2,0 ppm. Portanto, concluiu-se que não houve fosforilação em ambas as hidroxilas, sendo necessário revisão do método para avaliar a equivalência dos reagentes, ou até mesmo, utilizar outra rota sintética.

Espectro 13: RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do produto obtido com o método B de fosforilação.

RMN ^1H (CDCl_3), 300 MHz, δ = ppm

7,26 (CDCl_3); 1,26 ou 1,28 (dd, 6H, H_{11} ou H_{12}); 1,43-1,62 (m, 2H, H_2 e H_4); 3,32-3,41 (sep, 1H, H_{10}); 3,51 (s, 3H, H_{19}); 3,57 (s, 3H, H_{20}); 5,42-5,49 (dd, 1H, H_6); 6,61-6,67 (d, 1H, H_7); 7,06-7,12 (m, 2H, H_{17}); 7,62-7,67 (m, 2H, H_{16})

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A rota sintética proposta para obtenção do pró-fármaco éster de rosuvastatina foi bem-sucedida na maioria das etapas. Contudo, a etapa de esterificação da rosuvastatina com o anidrido de *Bis*MPAP deve ser reavaliada devido ao baixo rendimento e, também, em relação à reprodutibilidade da reação, pois o derivado dissubstituído foi obtido apenas uma vez. Mudanças na equivalência dos reagentes e pré-purificações através de extrações poderiam minimizar as impurezas e otimizar o rendimento dos produtos obtidos para evitar perdas.

O pró-fármaco éster de rosuvastatina monossubstituído foi obtido, sendo necessária uma caracterização mais apurada além do RMN. A análise para determinação de solubilidade em água e a análise térmica (TG e DSC) estão sendo realizadas no Laboratório de Desenvolvimento Farmacotécnico, no Aché Laboratórios Farmacêuticos, gerenciado por Tiago Oliveira. Até a conclusão deste trabalho, os resultados ainda não estavam disponíveis para discussão.

O pró-fármaco éster fosfato de rosuvastatina não foi obtido através dos métodos propostos neste trabalho, sendo necessária avaliação de outras rotas sintéticas, propondo outros agentes de fosforilação ou bases mais nucleofílicas.

Como perspectivas, pretende-se, primeiramente, avaliar os dados obtidos com as análises de solubilidade e análises térmicas para determinar se o pró-fármaco éster de rosuvastatina monossubstituído teve sua solubilidade aquosa melhorada em comparação à molécula precursora. Se os resultados forem promissores, estudos de permeabilidade serão realizados, conforme as possibilidades, no laboratório da Profa. Dra. Silvia Storpirtis, para avaliar também a biodisponibilidade do pró-fármaco obtido.

Vale ressaltar que a obtenção do pró-fármaco dissubstituído não deixará de ser tentada, bem como a do éster fosfato do fármaco.

6. REFERÊNCIAS

- AHMAD, N. M. Solubility-driven lead optimization: recent examples and personal perspectives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, v. 26, p. 2975-2979, 2016.
- ALLER, M. R.; GUILLAIRME, D.; VEUTHEY, J.L.; GURNY, P. Strategies for formulating and delivering poorly water-soluble drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 30, p. 342-351, 2015.
- AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, v. 12, p. 413-420, 1995.
- AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *The AAPS Journal*, v. 16, p. 894-898, 2014.
- BASAVARAJ, S.; BETAGERI, V.G. Can formulation and drug delivery reduce attrition during drug discovery and development – review of feasibility, benefits and challenges. *Acta Pharmarmaceutica Sinica*. v. 4, p. 3-17, 2014.
- BAYLISS, M.K.; BUTLER, J.; FELDMAN, P.L.; GREEN, V.D.S.; LEESON, P.D.; PALOVICH, M.R.; TAYLOR, A.J. Quality guidelines for oral drug candidates: dose, solubility and lipophilicity. *Drug Discovery Today*, v. 21, p. 1719-1727, 2016.
- BONAMICI, D. *Sistema de classificação biofarmacêutica e bioisenções*. São Paulo, 2009, 171 p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- CENSI, R.; MARTINO, P.D. Polymorph impact on the bioavailability and stability of poorly water soluble drugs. *Molecules*, v. 20, p. 18759-18776, 2015.

CHOI-SLEDESKI, Y.M.; WERMUTH, C. J. Designing prodrugs and bioprecursors. In: WERMUTH, C.G.; ALDOUS, D.; RABOISSON, P.; ROGNANA, D. (Eds) *The practice of medicinal chemistry*, 4 ed, Amsterdam: Elsevier. 2015p. 657-696.

CHUNG, M.C.; SILVA, A.T.A.S.; CASTRO, L.F.; GUIDO, R.V.C.; NASSUTE, J.C.; FERREIRA, E.I. Latenciação e formas avançadas de transporte de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, p. 155-179, 2005.

CLAS, S.D.; SANCHEZ, R.I.; NOFSINGER, R. Chemistry-enabled drug delivery (prodrugs): recent progress and challenges. *Drug Discovery Today*, v. 19, p. 79-87, 2014.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. Nucleophilic substitution at C=O with loss of carbonyl oxygen. In: CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic Chemistry*. Oxford: University Press, 9 ed., 2008. p.341-344.

COPPOLA, G. M. Amberlyst-15, a superior acid catalyst for the cleavage of acetals. *Synthesis*, v., p. 1021-1023, 1984.

DAHAN, A.; MILLER, J. M.; AMIDON, G. L. Prediction of solubility and permeability class membership: provisional BCS classification of the world's top oral drugs. *The AAPS Journal*, v. 11, p. 740-746, 2009.

DAHAN, A.; BEIG, A.; LINDLEY, D.; MILLER, J.M. The solubility-permeability interplay and oral drug formulation design: two heads are better than one. *Advances in Drug Delivery Reviews*, v.101, p. 99-107, 2016.

DRUGBANK. Rosuvastatin. Disponível em: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01098>. Acesso em: 01 de julho de 2019.

ELDER, D.; HOLM, R. Aqueous solubility: simple predictive methods (in silico, in vitro and bio-relevant approaches). *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453, p. 3-11, 2013.

ENDO, A. A gift from nature: the birth of the statins. *Nature medicine*, v. 14, p.1050–1052, 2008.

ETTMAYER, P.; AMIDON, G. L.; CLEMENT, B.; TESTA, B. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 47, p. 2393-2404, 2004.

FALUDI, A.A.; IZAR, M.C.O.; SARAIVA, J.F.K.; CHACRA, A.P.M.; BIANCO, H.T.; AFIUNE, NETO A., et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 109, p. 1-76, 2017.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 5 ed. Brasília: Anvisa, 2010.

FONSECA, F. A. H. Farmacocinética das estatinas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 85, p. 9-14, 2005.

FRIEBOLIN, H. Relationships between the spectrum and the molecular structure: In: (Ed.). Basic one-and two-dimensional NMR spectroscopy. 2ed. New York: VCH, 1993, p.72-74.

GAMO, N. J., BIRKNOW, M. R., SULLIVAN, D.; KONDO, M. A.; HORIUCHI, Y.; SAKURAI, T.; SLUSHER, B. S.; SAWA, A. Valley of death: a proposal to build a “translational bridge” for the next generation. *Neuroscience Research*, v. 115, p. 1-4, 2017.

GONZAGA, R. V. *Pró-fármacos dendriméricos potencialmente cardiovasculares derivados de rosuvastatina e ácido acetilsalicílico: síntese dos respectivos dendrons*. São Paulo, 2017, 153 p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

GONZALEZ, L.; HELKIN, A.; GAHTAN, V. Dyslipidemia Part 2: Review of dyslipidemia treatment in patients with noncoronary vascular disease. *Vascular and endovascular surgery*, v. 50, n. 2, p. 119–135, 2016.

HUTTUNEN, K. M.; RAUNIO, H.; RAUTIO, J. Prodrugs - from serendipity to rational drug design. *Pharmacological Reviews*, v. 63, p. 750-771, 2011.

HUTTUNEN, K. M.; RAUTIO, J. Prodrugs – an efficient way to breach delivery and targeting barriers. *Current Topics on Medicinal Chemistry*, v. 11, p. 2265-2287, 2011.

IHRE, H.; JESÚS, O. L. P.; FRÉCHET, J. M. J. Fast and convenient divergent synthesis of aliphatic ester dendrimers by anhydride coupling. *Journal of American Chemical Society*, v. 123, p. 5908-5917, 2001.

ISLER, A. C. *Análise por RMN de produtos de degradação forçada em fármacos*. Campinas, 2014, 131 p. Dissertação de Mestrado – Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas.

JAMBEKHAR, S.S.; BREEN, P. J. Drug dissolution significance of physicochemical properties and physiological conditions. *Drug Discovery Today*, v. 18, p. 1173-1184, 2013.

JANA, S.; MANDLEKAR, S.; MARATHE, P. Prodrug design to improve pharmacokinetic and drug delivery properties: challenges to the discovery scientists. *Current Medicinal Chemistry*, v. 17, p. 3874-3908, 2010.

JORNADA, D.H.; FERNANDES, G.F.S.; CHIBA, D.E.; MELO, T.R.F.; SANTOS, J.L.; CHUNG, M.C. The prodrug approach: a successful tool for improving drug solubility. *Molecules*, v. 21, 31 p., 2016.

KALEPU, S.; NEKKANTI, V. Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects. *Acta Pharmaceutica Sinica*, v. 5, p. 442-453, 2015.

LIU, H. H.; LI, J. J. Aging and dyslipidemia: A review of potential mechanisms. *Ageing Research Reviews*, v. 19, p. 43–52, 2015.

LIRA, M. L.; VASILEV, D.; PILLI, R.A.; WESSJOHANN, L.A. One-pot synthesis of organophosphate monoesters from alcohols. *Tetrahedron Letters*, v. 54, p.1690-1692, 2013.

MURAKAMI, T. A minireview: usefulness of transporter-targeted prodrugs in enhancing membrane permeability. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 105, p. 2515-2526, 2016.

PATEL, B. Z.; PATEL, K.S.; SHAH, A.S.; SURTI, N.I. Preparation and optimization of microemulsion of rosuvastatin calcium. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, v. 4, p.118-119, 2012.

PINAL-FERNANDEZ, I.; CASAL-DOMINGUEZ, M; MAMMEN, A. L. Statins: pros and cons. *Medicina Clinica*, v. 10, p. 398-402, 2018

RAUTIO, J.; KUMPULAINEN, H.; HEIMBACH, T.; OLIYAI, R.; OH, D.; JARVINEN, T.; SAVOLAINEN, J. Prodrugs: design and clinical applications. *Nature Reviews on Drug Discovery*, v. 7, p. 255-270, 2008.

RAUTIO, J.; MEANWELL, N.A.; DI, L.; HAGEMAN, M.J. The expanding role of prodrugs in contemporary drug design and development. *Nature Reviews on Drug Discovery*, v. 17, p. 559-587, 2018.

RAUTIO, J.; KARKKAINEN, J.; SLOAN, K.B. Prodrugs – recent approvals and a glimpse of the pipeline. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 109, p. 146-161, 2017.

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S. *Patologia – Bases Patológicas das Doenças 7 ed.* Tradução: Maria da Conceição Zacharias et al. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p. 541-552.

ROTH, G. A., JOHNSON, C., ABAJOBIR, A., ABD-ALLAH, F., ABERA, S. F., ABYU, G, et al. Global, regional, and national burden of cardiovascular diseases for 10 causes, 1990 to 2015. *Journal of the American College of Cardiology*, v.70, p. 1-25, 2017.

SANCHES, B. M. A.; FERREIRA, E. I. Is prodrug design an approach to increase water solubility? *International Journal of Pharmaceutics*, accepted manuscript, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118498> (ahead of publishing 11/09/2019).

SANTOS, S. S. *Antichagásicos e leishmanicidas potenciais: estudo das condições de síntese de pró-fármacos dendriméricos de 3-hidroxi-flavona*. São Paulo, 2016, 275 p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

SARFRAZ, R.M.; AHMAD, M.; MAHMOOD, A.; MINHAS, M.U.; YAQOOB, A. Development and evaluation of rosuvastatin calcium based microparticles for solubility enhancement: an *in vitro* study. *Advances in Polymer Technology*, v. 36, p. 1-9, 2017.

- SCHACHTER, M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundamentals in Clinical Pharmacology*, v.19, p. 117-125, 2005.
- SILVA, A.T.A.; CHUNG, M.C.; CASTRO, L.F.; GUIDO, R.V.C.; FERREIRA, E.I. Advances in prodrug design. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, v.5, p.893-914, 2005.
- SIRTORI, C. R. The pharmacology of statins. *Pharmacological Research*, v. 88, p. 3-11, 2014.
- STEGEMANN, S.; LEVEILLER, F.; FRANCHI, D.; JONG, de H.; LINDÉN, H. When poor solubility becomes an issue: From early stage to proof of concept. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 31, p. 249-261, 2007.
- STELLA, V. J.; NTI-ADDAE, K. W. Prodrug strategies to overcome poor water solubility. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 59, p. 677-694, 2007.
- TAKAGI, T.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; YAMASHITA, S.; YU, X.L.; AMIDON, G.L. A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain and Japan. *Molecular Pharmaceutics*, v. 3, p. 631-643, 2006.
- TESTA, B. Prodrug research: futile or fertile? *Biochemical Pharmacology*, v. 68, p. 2097-2106, 2004.
- TESTA, B. Prodrugs: bridging pharmacodynamics / pharmacokinetic gaps. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 13, p. 338-344, 2009.
- UNITED States Pharmacopeia. USP 38. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2015.
- ZAWILSKA, J. B., WOJCIESZAK, J., OLEJNICZAK, A.B. Prodrugs: A challenge for the drug development. *Pharmacological Reports*, v. 65, p. 1-14, 2013.
- ZHOU, C.; GAO, W.; LU, G.; DING, J.; WU, X.; HUANG, X.; CHEN, J.; JIANG, J.; WU, H. Preparation, characterization and in vitro release of microparticles based on dextran-rosuvastatin conjugate. *Carbohydrate Polymers*, v.96, p.156-162, 2013.

WILLIAMS, H. D.; TREVASKIS, N.L.; CHARMAN, S.A.; SHANKER, R.M.; CHARMAN, W.N.; POUTON, C.W.; PORTER, C.J.H. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. *Pharmacological Reviews*, v. 65, p. 315-499, 2013.

XAVIER, H. T. et al. V DIRETRIZ BRASILEIRA DE ATEROSCLEROSE V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v.101, p. 1–20, 2013.

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9138 - 9890254/1 - Bruna Machado Araújo Sanches

Email: bruky_ma@hotmail.com (favor indicar um email usp.br o mais rápido possível)
 Data de Nascimento: 18/01/1989
 Cédula de Identidade: RG - 446194414 - SP
 Local de Nascimento: Estado do Amazonas
 Nacionalidade: Brasileira
 Graduação: Farmaceutica Bioquimica - Centro Universitário São Camilo - São Paulo - Brasil - 2012

Curso: Mestrado
 Programa: Fármaco e Medicamentos
 Área: Insumos Farmacêuticos
 Data de Matrícula: 09/02/2017
 Início da Contagem de Prazo: 09/02/2017
 Data Limite para o Depósito: 09/08/2019
 Orientador: Prof(a). Dr(a). Elizabeth Igne Ferreira - 09/02/2017 até o presente. Email: hajudan@usp.br
 Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 09/02/2017
 Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 04/04/2018
 Data do Depósito do Trabalho:
 Título do Trabalho:
 Data Máxima para Aprovação da Banca:
 Data de Aprovação da Banca:
 Data Máxima para Defesa:
 Data da Defesa:
 Resultado da Defesa:
 Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 09/02/2017

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).
 Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 18/07/2019

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9138 - 9890254/1 - Bruna Machado Araújo Sanches

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBF5704-6/5	Análise Espectrométrica de Fármacos	06/03/2017	18/06/2017	150	10	85	A	N	Concluída
FBF5777-3/8	Tópicos Gerais de Fármaco e Medicamentos I	09/03/2017	22/06/2017	45	3	93	A	N	Concluída
FBF5724-8/1	Latencição	11/09/2017	19/11/2017	90	6	100	A	N	Concluída
ICB5752-1/3	Como Comunicar Sua Ciência: Melhorando a Oratória e a Empatia com o Público (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	16/10/2017	29/10/2017	30	0	-	-	N	Pré-matricula Indeferida
FBF5805-2/5	Delineamento de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências Farmacêuticas	06/02/2018	16/04/2018	90	6	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	25
Estágios:			
Total:	0	25	25

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 18/07/2019

Impresso em: 08/08/2019 11:21:11

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijpharm

Review

Is prodrug design an approach to increase water solubility?

Bruna M.A. Sanches, Elizabeth I. Ferreira*

School of Pharmaceutical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Prodrug design
Drug solubility
Ester prodrugs
Phosphate prodrugs
Amide prodrugs
N-Mannich base prodrugs

ABSTRACT

Water solubility has been identified as a critical parameter and the main responsible by affecting poor performance of oral drug delivery. Poorly soluble drugs can originate unsatisfactory ADME properties leading to low oral bioavailability, insufficient chemical stability, low half-life, fast pre-systemic metabolism and difficulties in formulation. In this context, the prodrug design is an alternative in order to improve physicochemical, biopharmaceutical and pharmacokinetic properties such as permeability, solubility, bioavailability, chemical stability and metabolism of molecules presenting poor drug-like properties. In this article we highlight the importance of the prodrug design in the early stages of drug discovery and development process, in an attempt to diminish the attrition rate and end up falling into the valley of death. Selected examples of this strategy are provided in this review and they are classified by some basic functional groups that are amenable to the prodrug approach with the aim of increasing aqueous solubility of poorly water-soluble compounds. Over the past decade, the number of approved prodrugs is considerable among all drugs launched in the market, emphasizing the importance of this tool on drug design. It is reported that 10% of all marketed drug worldwide can be classified as prodrugs. Furthermore, prodrugs designed to be more water soluble launched in the past decade are summarized in a table to have a closer look and finally state that the prodrug design is an amenable approach to increase water solubility.