

Quimioterapia do cancro.

Os agentes alquilantes

Rui Moreira ^a, Fátima Norberto ^b,
Eduarda Rosa ^a

1. INTRODUÇÃO

1.1. O cancro

Normalmente, os tecidos de um organismo vivo adulto, mantêm um número constante de células. Em alguns tecidos, como por exemplo no fígado, este processo consegue-se sem grande proliferação celular. Contudo, em outros tecidos como a medula óssea, é necessário uma velocidade de divisão celular maior para manter o mesmo número de células.

O cancro é uma doença caracterizada por uma deficiência nos mecanismos que controlam a multiplicação da célula, tendo como consequência uma proliferação celular superior à morte celular e a formação de um tumor, que é um agregado de muitas células cancerosas. Estas podem invadir os tecidos adjacentes, ou mesmo serem transportadas pela corrente sanguínea para outros sítios mais distantes, formando novos tumores. Os tumores em desenvolvimento podem destruir os tecidos circundantes conduzindo à destruição de órgãos insubstituíveis, a hemorragias, à remoção de nutrientes e por fim à morte.

As células de um tumor são todas descendentes de uma célula inicial normal que se transformou numa célula cancerosa. Durante a última década avançou-se significativamente na compreensão do mecanismo molecular desta transformação. Descobriram-se nos cromossomas das células tumorais, genes que são os responsáveis pela transformação da célula normal em célula cancerosa, chamados os oncogenes. Estudos recentes levam a crer que existem nas células normais genes — os proto-oncogenes — que são quase idênticos aos oncogenes e que podem considerar-se seus precursores. Estes proto-oncogenes parecem ter um papel importante no metabolismo normal da célula, e há indicações de que têm a ver com o mecanismo de controle da proliferação celular. Os oncogenes, tal como os outros genes, contêm informação genética para a síntese de proteínas. Estas proteínas funcionam anormalmente e de alguma maneira provocam a transformação da célula normal em cancerosa. O seu papel nesta transformação não é ainda claro.

No corpo humano formam-se por ano muitos triliões de células novas. Porque é que não se formam mais células cancerosas se apenas são necessárias pequenas alterações genéticas para a sua formação? A resposta é a precisão com a qual as cadeias de ADN se replicam em cada célula antes da divisão celular, e os mecanismos de reparação existentes para os casos em que são cometidos erros. Além disso, só uma fracção diminuta das células que sofrem essas alterações podem levar ao cancro. Essas células têm menor capacidade de sobrevivência e também podem ter propriedades imunológicas diferentes da célula normal e em consequência poderem ser destruídas pelo sistema imunitário.

1.2. A quimioterapia do cancro

Para o tratamento do cancro existem vários tipos de terapia, sendo as mais usadas a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia. O objectivo de todas elas seria a erradicação ou a destruição total de todas as células cancerosas, o que é na realidade muito difícil devido à propriedade que elas têm de se escaparem do tumor inicial e de se espalharem pelo corpo. Um agente quimioterápico ideal seria aquele que provocasse a morte das células cancerosas sem destruir as células normais. Infelizmente não foi ainda possível encontrar características únicas das células cancerosas que pudessem ser exploradas para o *design* de um fármaco específico. Os fármacos hoje em uso, ou foram descobertos por acaso, ou desenvolvidos empiricamente a partir de outros conhecidos, e todos eles têm elevada toxicidade.

Embora o mecanismo de acção dos quimioterápicos não seja ainda conhecido com precisão, a maior parte da evidência aponta para a interferência com os mecanismos de síntese dos ácidos nucleicos ou com o processo de divisão celular. Verifica-se em consequência que eles têm maior actividade sobre células que estão a dividir-se. Por isso, os cancros de crescimento rápido são os mais susceptíveis aos citotóxicos. Também os tecidos normais onde há maior proliferação de células (medula óssea, folículos do cabelo, epitélio intestinal) são mais susceptíveis e é neles que se sentem os maiores efeitos secundários destes compostos.

Um outro aspecto do problema é o facto de a morte das células causada pelos agentes quimioterápicos seguir uma cinética de primeira ordem, isto é, morre uma percentagem constante de células e não um número constante de células, por intermédio de um determinado agente. Por exemplo, um doente com uma leucemia avançada pode transportar em si 1 kg de células cancerosas (cerca de 10^{12} células). Um fármaco capaz de matar 99,99% destas células reduziria o seu peso a 100 mg, o que aparentemente seria uma remissão clínica. Contudo ainda lá ficariam 10^8 células cancerosas, cada uma das quais poderia causar o reaparecimento da doença.

Os quimioterápicos em uso clínico podem agrupar-se em quatro grandes grupos, quanto ao seu modo de acção: — (a) os agentes alquilantes, (b) os antimetabólitos, (c) os agentes intercalantes do ADN, e (d) os inibidores da mitose (Quadro 1).

(a) Os agentes alquilantes são compostos quimicamente reactivos, com acção não específica, que podem gerar espécies electrofílicas que vão formar ligações covalen-

^a Faculdade de Farmácia de Lisboa

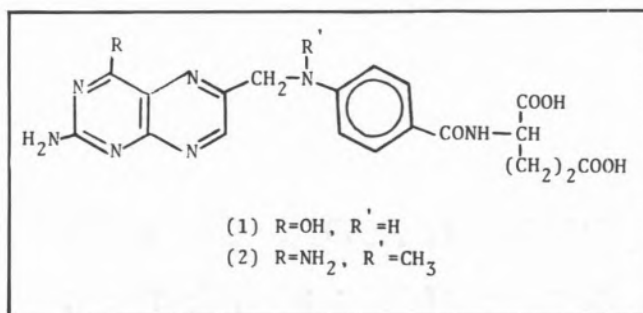
^b Faculdade de Ciências de Lisboa

Quadro 1 — Agentes usados na quimioterapia do cancro

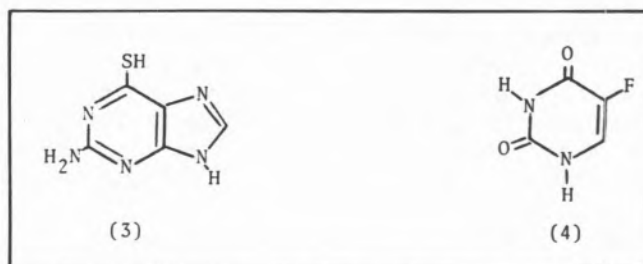
Classe	Tipo	Exemplos
Agentes alquilantes	Mostardas de azoto	mecloretamina clorambucil melfalam ciclofosfamida
	Nitrosoureas	carmustina lomustina semustina
	Triazenos	DTIC
	Derivados da hidrazina	procarbazina
	Ésteres metanosufónicos	busulfan
Antimetabolitos	Análogos do ácido fólico	metotrexato
	Análogos da pirimidina	azapirimidinas fluorpirimidinas
	Análogos da purina	tiopurinas
	Inibidores enzimáticos	N-hidroxiureia
Agentes intercalantes do ADN	Actinomicinas	actinomicina D
	Bleomicinas	bleomicina A ₂ e B ₂ ácido blemicinico
	Antraciclinas	daunorubicina adriamicina
Inibidores da mitose	Alcaloides da <i>Vinca</i>	vinblastina vincristina
Outros agentes	Complexos de platina	cisplatina
	Enzimas	L-asparaginase
	Hormonas	corticosteroides progestagénios estrogénios

tes com grupos nucleofílicos biologicamente importantes, como os grupos amino, sulfidrilo, fosfato, hidroxilo, etc., existentes nos ácidos nucleicos e nas proteínas. (b) Os antimetabolitos interferem com a formação ou utilização de um metabolito celular normal. Esta interferência pode resultar da inibição de um enzima, ou enzimas, ou da incorporação de um molécula muito parecida com um metabolito normal e que é confundida com este, levando à formação de proteínas ou ácidos nucleicos anormais e conduzindo, por último, à morte celular.

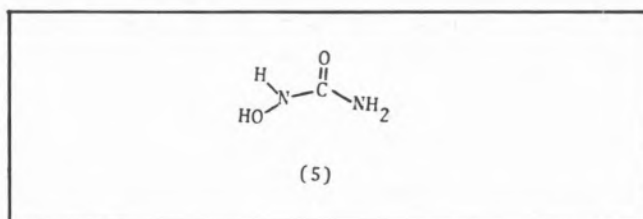
O ácido fólico (1) é um metabolito muito importante biologicamente, que faz parte de vários coenzimas. Alterações na sua molécula conduziram a outras moléculas capazes de competir com ele em processos que levam à produção de nucleótidos da purina e pirimidina, necessários à síntese do ADN. O derivado do ácido fólico mais usado em clínica é o metotrexato (2), composto que cura o coriocarcinoma, um tumor de crescimento rápido associado à gravidez.



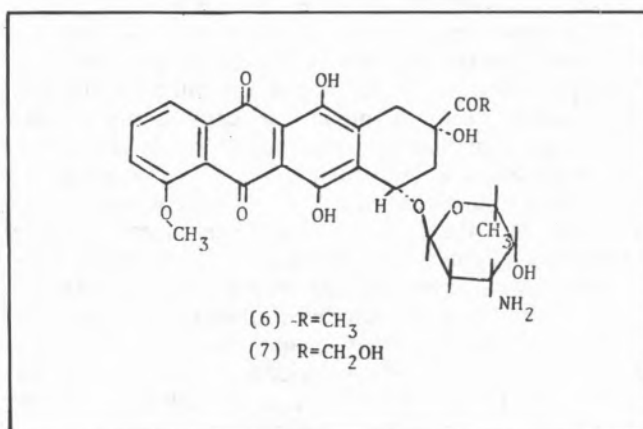
Outros antimetabolitos são certas moléculas parecidas com as bases púricas e pirimidínicas, como por exemplo a 6-mercaptopguanina (3) e o 5-fluoruracilo (4).



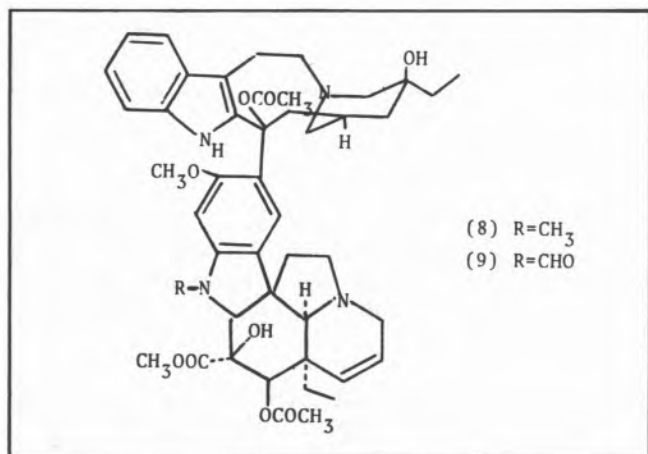
Outro tipo de antimetabolitos são os inibidores enzimáticos como a N-hidroxiureia (5), que inactiva a ribonucleotido redutase, enzima que promove a conversão da ribose em desoxiribose, carboidrato necessário à síntese do ADN.



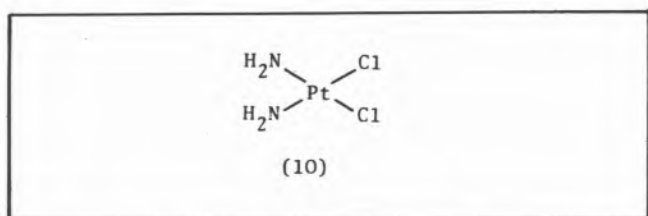
(c) Os compostos incluídos no grupo dos agentes intercalantes do ADN são extraídos de espécies de fungos, geralmente *Streptomyces*, e são antibióticos, isto é têm actividade antimicrobiana. Eles podem intercalar-se entre duas cadeias complementares do ADN, ligando-se por intermédio de ligações fracas, inibindo a síntese do ARN e em consequência a síntese proteica. Os mais usados em clínica são a Daunorubicina (6) e a Adriamicina (7).



(d) Algumas plantas produzem produtos naturais com actividade antitumoral, sendo as mais importantes os alcalóides Vinblastina (8) e Vincristina (9), isolados da *Vinca Rosea*. Estes compostos bloqueiam a mitose, com paragem da metafase, impedindo a divisão celular.



Existem ainda outros compostos usados na quimioterapia do cancro mas cuja inclusão nestes 4 grandes grupos não é possível como por exemplo os complexos de platina, certos enzimas, hormonas, etc. Entre eles salientamos a cis-platina (10), um composto introduzido em clínica recentemente.



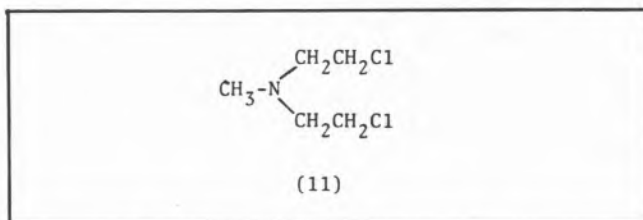
Pensa-se que a cis-platina pode formar quelatos bi-dentados com as bases do ADN, quer pertencendo à mesma cadeia, quer pertencendo a cadeias antiparalelas, assim interferindo com a sua replicação.

Neste artigo vamos examinar com mais detalhe o grupo dos agentes alquilantes, pondo em foco os compostos mais usados em clínica e o seu mecanismo de interferência com os componentes celulares. É importante notar que, embora em muitos casos se saiba a maneira como estes compostos interagem com o ADN ou as proteínas, e o tipo de produtos que se originam, não se sabe qual a relação entre essas interações e o mecanismo de acção antitumoral.

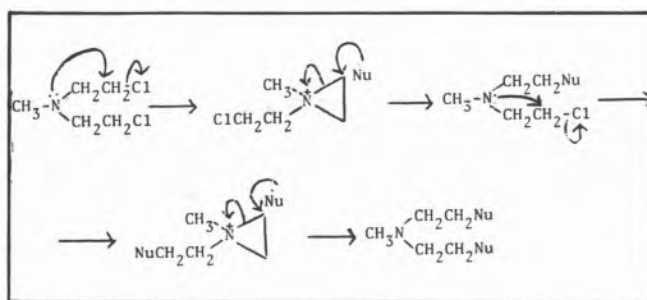
2. OS AGENTES ALQUILANTES.

2.1. Mostardas de azoto

As mostardas de azoto são análogos estruturais do gás de mostarda, S(CH₂CH₂Cl)₂, gás usado durante a primeira guerra mundial como gás de guerra. A actividade biológica destes compostos deve-se à presença de dois grupos 2-cloroetil ligados ao azoto e que lhes confere uma grande reactividade. A mecloretamina (11) foi o primeiro deste grupo de substâncias a ter aplicação clínica, tendo-se depois descoberto outras menos reactivas, mais eficientes e mais fáceis de administrar ao doente.

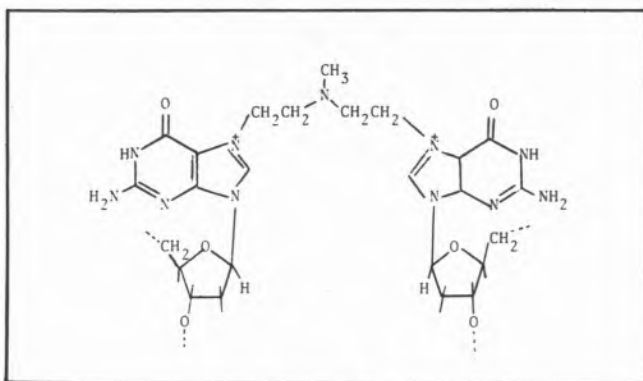


As mostardas de azoto são agentes alquilantes bifuncionais porque possuem dois centros electrofilicos reactivos. A alquilação inicia-se por um processo unimolecular de ciclização, usualmente rápido para formar um ião aziridínio. Este intermediário é um sal quaternário de amónio que apesar de estabilizado por solvatação é extremamente reactivo, podendo alquilar os nucleófilos celulares. O processo repete-se novamente com a segunda cadeia 2-cloroetil (Esquema 1).



Esquema 1

O alvo preferencial deste tipo de compostos parece ser o ADN, especialmente a guanina. Esta base púrica ocorre em todos os ácidos nucleicos e possui uma densidade electrónica elevada no azoto 7, sendo este o local onde é alquilada. Devido à sua dupla reactividade a mecloretamina (11) pode atacar o ADN em dois pontos diferentes, estabelecendo ligações cruzadas entre as duas cadeias antiparalelas (Esquema 2).

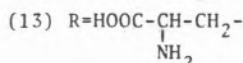
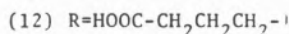
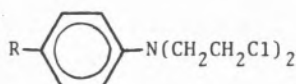


Esquema 2

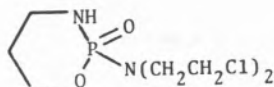
Uma das desvantagens da mecloretamina (11) é a sua grande reactividade que a torna pouco selectiva quanto ao alvo a atingir. Após injeção intravenosa grande parte daquele fármaco é inactivado por hidrólise ou por reacção com as proteínas existentes no sangue, reduzindo a dose que chega às células malignas. Deste modo tornou-se indispensável a obtenção de novos compostos menos reactivos.

Um dos modos de reduzir a reactividade das mostardas de azoto é tornar o azoto menos básico de modo a que o processo de ciclização seja mais lento. Tal foi conse-

guido substituindo o grupo metil por um anel aromático. Estes compostos, devido à sua maior estabilidade podem ser administrados por via oral; no entanto, o objectivo da maior selectividade não foi conseguido. As mais utilizadas actualmente são o Clorambucilo (12) e o Melfalam (13).

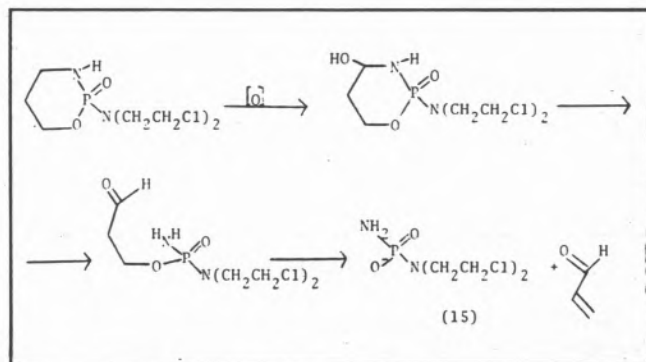


A ciclofosfamida (14), talvez o agente alquilante mais usado no tratamento de neoplasias, constitui outro exemplo de redução da basicidade do azoto. Neste caso a redução é de tal maneira eficiente, devido ao grupo



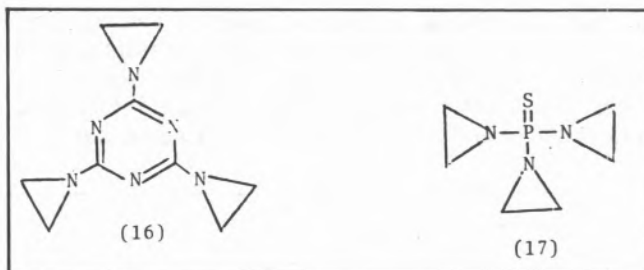
(14)

$P=O$, que o composto é inactivo *in vitro*, isto é, quando incubado com culturas de células tumorais. Para que ele se torne activo *in vivo* é necessário que sofra uma alteração metabólica, geralmente efectuada no fígado. Este processo consiste na oxidação da ciclofosfamida com a consequente formação de um metabolito com actividade alquilante (15) (Esquema 3).



Esquema 3

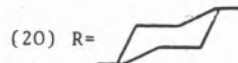
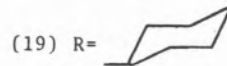
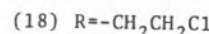
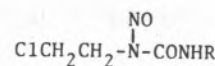
Na sequência do estudo do mecanismo de acção das mostardas de azoto foram sintetizados compostos contendo anéis azidrina na forma neutra, também com o objectivo de obter fármacos mais estáveis. Destes os mais activos são o trietilenomelamina (TEM) (16) e o trietilenotiofosforamida (tio-TEPA) (17)



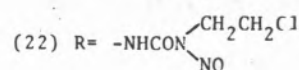
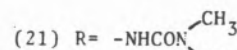
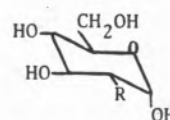
2.2. Nitrosoureias

As nitrosoureias são um grupo de agentes alquilantes que, devido à sua lipossolubilidade, podem penetrar e actuar em tumores do cérebro e fluido cerebrospinal, sítios onde os outros citotóxicos penetram com dificuldade.

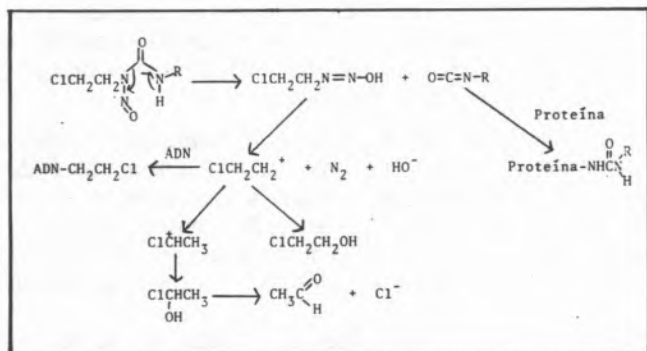
Estudos de relações estrutura-actividade mostraram que as nitrosoureias com maior actividade quimioterápica são aquelas que contêm o grupo 2-cloroetil-*N*-nitrosoureído, entre as quais se encontram a Carmustina (BCNU) (18), a Lomustina (CCNU) (19) e a Semustina (MeCCNU) (20).



A descoberta da actividade citoestática da nitrosoureia natural Estreptozotocina (21), levou à síntese do análogo estrutural Clorozotocina (22) que possui actividade antileucémica.



Estes compostos têm actividade alquilante dos ácidos nucleicos e actividade carbamóilante das proteínas (cedência de um grupo $-\text{NHCONHR}$). Estudos da decomposição das *N*-nitrosoureias disubstituídas em condições semelhantes às fisiológicas (tampão fosfato, pH 7,4) mostram a formação de 2-cloroetanol, etanal e um isocianato (Esquema 4).



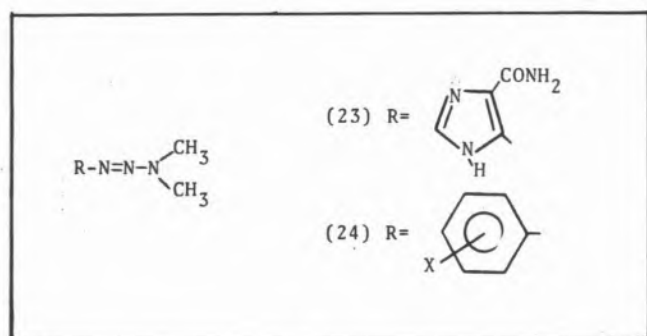
Esquema 4)

O íon carbénio intermediário é provavelmente responsável pela actividade alquilante, enquanto que o isocianato pode ser o responsável pela carbamoilação, e ambas estas actividades estão relacionadas com a sua actividade terapêutica.

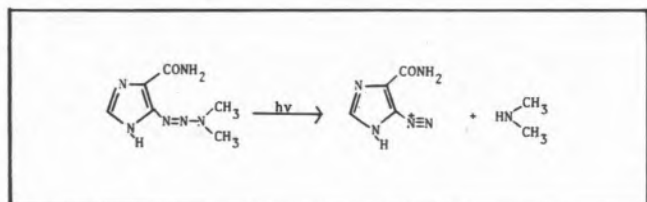
As *N*-(2-cloroetil)-*N*-nitrosoureas também podem formar pontes entre duas cadeias de ADN, possivelmente por um processo em dois passos envolvendo a transferência de um catião 2-cloroetil para um sítio nucleofílico, seguida de uma substituição do íon cloreto por outro sítio nucleofílico na cadeia paralela de ADN.

2.3. Triazenos

Os triazenos possuem um largo espectro de actividade contra vários tumores, alguns dos quais pouco susceptíveis à acção de outros agentes antineoplásicos. A Dacarbazina (DTIC) (23) é no entanto o único utilizado em clínica.



O DTIC é um composto fotossensível que se decompõe rapidamente num sal de diazónio tóxico, e que durante muito tempo se pensou ser o verdadeiro agente antitumoral (Esquema 5).

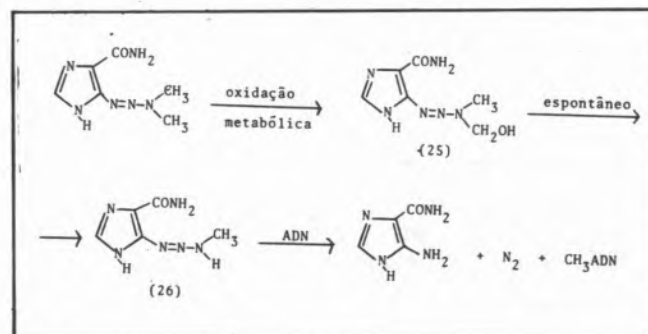


Esquema 5

Este facto, que torna o seu manuseamento bastante difícil, levou os químicos a debruçarem-se sobre os análogos 1-aryl-3,3-dimetiltriazenos (24), os quais demonstra-

ram serem pelo menos tão activos como o DTIC.

Os triazenos são activos apenas *in vivo*, sendo muito pouco citotóxicos quando incubados em cultura de células malignas. Isto sugere que estes compostos necessitam de sofrer uma activação metabólica e que eventualmente serão os seus metabolitos as espécies alquilantes. Embora o seu modo de acção não seja ainda conhecido com detalhe, estudos efectuados em animais e com culturas de células adicionadas de um sistema metabólico constituído por oxidases de função mista, indicam que os triazenos são oxidados com remoção de um dos grupos CH_3 ligados ao azoto (Esquema 6).



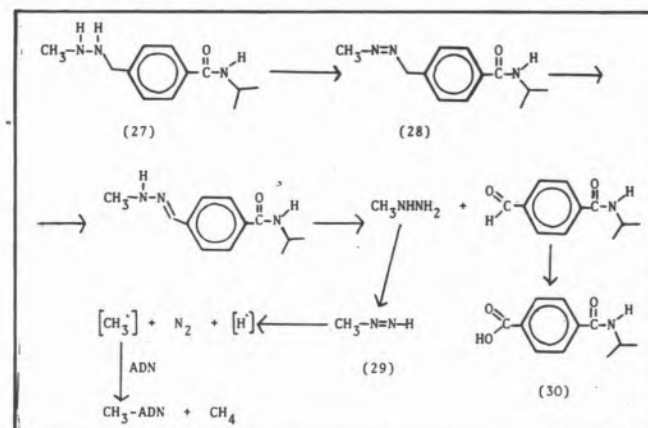
Esquema 6

O primeiro intermediário desta cadeia metabólica é uma carbinolamina, o hidroximetiltriazeno (25) o qual se decompõe espontaneamente em soluções aquosas para gerar um poderoso agente alquilante, o monometiltriazeno (26). Embora o mecanismo de hidrólise deste tipo de composto esteja bem estudado, o mesmo não acontece para as reacções com nucleófilos biológicos. Alguns autores têm sugerido, com base no isolamento da 7-metilguanina da urina de animais tratados com monometiltriazenos, que estes últimos, uma vez no interior das células malignas, libertam o íon carbénio $+\text{CH}_3$.

2.4. Procarbrazina

A Procarbrazina (27) é uma metilhidrazina que foi originalmente sintetizada como um agente estimulante do sistema nervoso central, tendo a sua actividade citotóxica sido descoberta acidentalmente.

O mecanismo de acção fármaco não está esclarecido, embora seja quase certo que tenha de sofrer uma metabolização para poder exercer a sua actividade antitumoral, já que é inactivo *in vitro*. Foi proposto uma via oxidativa que leva à formação de um agente metilante (Esquema 7).

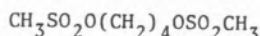


Esquema 7

A azaprocarbazona (28) é o produto inicial da oxidação *in vivo*, e o ácido (30) é o metabolito urinário principal. É possível que o metabolito activo seja o metildiazeno (29), que é uma fonte de radicais metil e pode comportar-se como agente alquilante. Também neste caso o local de metilação é o azoto 7 da guanina.

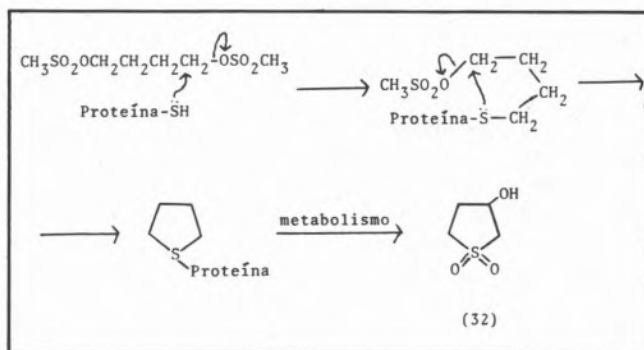
2.5. Esteres metanosulfónicos

O composto mais activo deste grupo e o único com uso clínico importante, é o Busulfan (31). É usado no tratamento de um tipo de leucémia crónica.



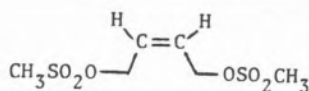
(31)

A identificação, como metabolito urinário principal, do composto (32), sugeriu que o sítio de alquilação é um resíduo cisteína de uma proteína (Esquema 8).

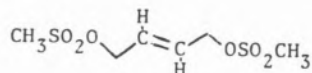


Esquema 8

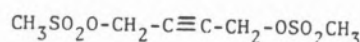
Corroborar esta hipótese o facto de entre os ésteres metanosulfónicos insaturados, só serem activos os compostos *cis* (33), mas não os *trans* (34) nem os com ligações triplas (35).



(33)



(34)



(35)

Recentemente foi identificado, como produto da reacção entre o Busulfan e o ADN, o 1,4-di(7-guanil)butano, sugerindo que o Busulfan também pode actuar como agente alquilante bifuncional.

Vinte anos atrás a quimioterapia era usada apenas como um paliativo. Hoje há um número considerável de doenças neoplásicas que podem ser curadas pela quimioterapia, por si só, ou associada a outras formas de terapia. No entanto, apesar destes avanços, grande parte dos cancros humanos ainda resiste a qualquer forma de tratamento.

O número de compostos úteis em clínica é muito pequeno, comparado com o número de compostos sintetizados e testados quanto à sua actividade farmacológica. Na verdade, a maioria dos compostos com actividade química alquilante, não tem qualquer interesse clínico, pois não apresenta qualquer selectividade face ao tumor. A maior esperança para o desenvolvimento deste campo é a descoberta de diferenças bioquímicas e farmacológicas entre as células tumorais e as células normais, que possam levar à implementação de novos programas sintéticos baseados nessas descobertas. É ainda fundamental a compreensão do mecanismo de acção dos antitumorais conhecidos e eventualmente a compreensão do mecanismo da carcinogénese.

BIBLIOGRAFIA

- Claude Viel, *Les actualités pharmaceutiques*, 190, 1982, 18.
 K.T. Douglas, *Chem. Ind.*, 1984, 738.
 J. Michael Bishop, *Scient. Amer.*, 246(3), 1982, 68.
 R.A. Weinberg, *Scient. Amer.*, 249(5), 1983, 102.
 T. Hunter, *Scient. Amer.*, 251(2), 1984, 60.
 C.M. Croce, George Klein, *Scient. Amer.*, 252(3), 1985, 44.
 J. Smith, H. Williams, «Introduction to the principles of drug design», Ed. Wright PSG, London, 1983.
 Ed. Stephen Neidle, M.J. Waring, «Molecular aspects of anticancer drug action», Verlag Chemie, London, 1983.
 Burger's 'Medicinal Chemistry, Part 1 4th ed. John Wiley, 1980.
 Casarett and Doull's «Toxicology the basic science of poisons», 3rd ed., MacMillan, 1980.