

## 4

# Fármacos - Anestésicos Locais e Fluoroquinolonas

## 4.1

### Introdução aos Anestésicos Locais

O primeiro anestésico local (AL) identificado foi a cocaína. Estima-se que a cocaína é consumida pela humanidade há pelo menos cinco mil anos. Entretanto, a planta da qual a substância é proveniente, a coca, natural dos altiplanos andinos, já era utilizada por civilizações pré-incaicas florescidas no século X a.C. Os incas entendiam que a “Mama Coca”, tal qual a denominavam, fora um presente dos deuses para que os homens, ao mascar suas folhas, pudessem suportar a fome, a fadiga e elevar o espírito (Escohotado, 2005).

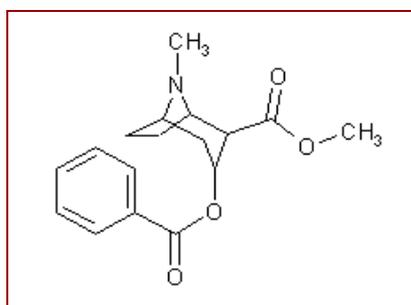


Figura 4.1 - Arbusto *Erythroxylon coca* (à esquerda). Estrutura química do anestésico cocaína (3 – benzoiloxi – 8 – metil - 8- azabicyclo [3.2.1] octano-4-carboxílico ácido metil éster) purificado das folhas do *Erythroxylon coca* (à direita).

No intuito de se pesquisar as propriedades psicotrópicas da *Erythroxylon coca*, Niemann em 1860 e Von Anrep 1880 isolaram a cocaína e descreveram a sua ação como AL. No entanto, foi somente em 1884 que Carl Koller e Sigmund Freud reconheceram o significado clínico da cocaína no alívio da dor em vários procedimentos biomédicos (Goth, 1976). Os benefícios da cocaína foram largamente difundidos e, em um período de um ano, o fármaco passou a ser amplamente administrado em vários procedimentos médicos e odontológicos (Yagiela, 1998). Contudo, devido aos efeitos adversos, grau de toxicidade e

dependência química, a cocaína foi aos poucos sendo substituída por outros anestésicos mais apropriados.

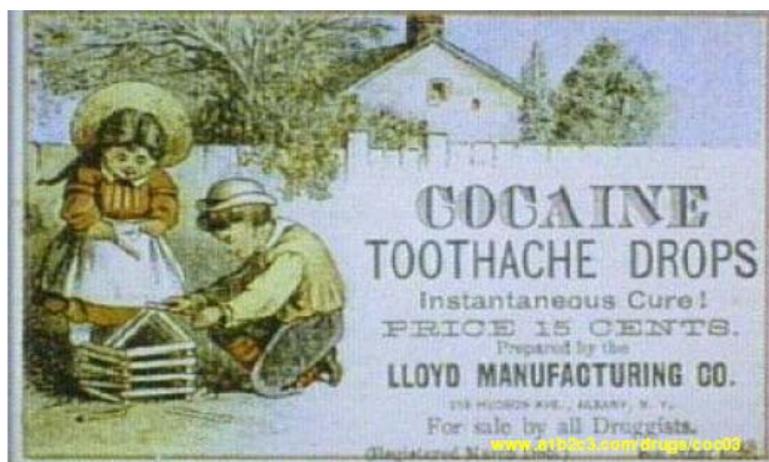


Figura 4.2 – Anúncio sobre analgésico para dores de dente, 1885.

Em 1892, Einhorn e seus colaboradores começaram a pesquisar o uso de anestésicos locais que não causassem dependência. Desde então outros fármacos eficazes na prática clínica foram descobertos. O segundo AL obtido foi a procaína sintetizada pelo próprio Einhorn em 1904. Este foi o primeiro AL administrado adequadamente com o uso de injeção. Como nenhum fármaco é atualmente isento de toxicidade potencialmente grave e efeitos adversos, muitas pesquisas de novos e mais adequados AL desde então têm sido realizadas (Yagiela, 1998). Muitos outros AL de grande importância foram descobertos. A lidocaína, atualmente o anestésico mais popular em odontologia, foi o primeiro anestésico do grupo amida a ser sintetizado, em 1943, por Nils Löfgren, e pode ser considerado como o protótipo inaugurador da família dos AL.

Os AL podem ser classificados de acordo com sua especificidade química ou, ainda, com base em seus usos clínicos (Goth, 1976). Os AL abrangem uma variedade de moléculas de diferentes estruturas químicas (Gupta, 1991; Lochynski et al., 2002). A molécula de um AL típico é dividida em três partes: um grupo aromático, uma cadeia intermediária e um grupo terminal de amina secundária ou terciária. Todos os três componentes são determinantes para a atividade anestésica. A parte aromática confere propriedades lipofílicas à molécula. O grupo amino fornece hidrossolubilidade. A porção intermediária é importante tanto para separar espacialmente as extremidades lipofílicas e hidrofílicas do AL, quanto para conferir a ligação química entre a cadeia de hidrocarboneto central e a porção

aromática (Goth, 1976). Tal ligação química intermediária nos permite classificar os AL em dois grupos, os ésteres (- COO -) e as amidas (- NHCO -).

<b>Ésteres do Ácido Benzoico</b>	<b>Ésteres do Ácido Meta-Aminobenzóico</b>
Cocaína	Ciclometacaína - Surfacaína
Tetracaína - Pontocaína	Metabutoxicaína - Primacaína
Piperocaína - Metacaína	<b>Ésteres do Ácido <i>p</i>-Aminobenzóico</b>
Hexilcaína - Ciclaína	Procaína - Novocaína
Etil aminobenzoato - Benzocaína	Butetamina - Monocaína
Butacaína - Butin	Cloroprocaína - Nesacaína

---

**Amidas**

---

Lidocaína - Xilocaina

---

Dibucaína - Nupercaína

---

Mepivacaína - Carbocaína

---

Prilocaína - Citanest

---

Bupivacaína - Marcaína

---

A importância clínica desta classificação se justifica na duração do efeito do AL e especialmente no risco de reações alérgicas. Os grupos éster ou amida de uma molécula determinam suas características de degradação metabólica. Os ésteres são hidrolisados por enzimas encontradas amplamente no plasma sanguíneo e diferentes tecidos, o que acarreta em uma menor duração no efeito. Já as amidas sofrem metabolismo hepático, proporcionando uma maior duração na ação e ainda uma diminuição no risco de alergias. Os AL possuem várias aplicações clínicas dependendo de suas propriedades farmacológicas. Algumas destas aplicações são: (1) anestesia por infiltração e bloqueamento – procaína, cloroprocaína, hexilcaína, lidocaína, mepivacaína, bupivacaína, piperocaína, prilocaína, propoxicaína, tetracaína, butetamina, metabutetamina, isobucaína, meprilcaína e pirocaína; (2) anestesia superficial – benzocaína, benoxinato, butacaína butil aminobenzoato, cocaína, ciclometacaína, dibucaína, dimetisoquin, diperodon, diclonina, hexilcaína, lidocaína, fenacaína, piperocaína, pramoxine,

proparacaína, tetracaína, benzil álcool, fenol, e etil chloride; (3) anestesia espinhal - tetracaína, procaína, dibucaína, lidocaína, mepivacaína, e piperocaína; (4) anestesia epidural e caudal - lidocaína, prilocaína, mepivacaína, cloroprocaína, piperocaína e tetracaína; (5) anestesia intravenosa – lidocaína e procaína (Fuchs & Wannamacher, 1998). Abaixo temos uma tabela com alguns dos AL existentes.

Anestésico	Abreviação	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	X	Estrutura Química
<b>Benzocaína</b>	BZC	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	
<b>Cloroprocaína</b>	CLP	-H	-CH <sub>2</sub> -N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	-Cl	
<b>Procaína</b>	PRC	-H	-CH <sub>2</sub> -N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	-H	
<b>Tetracaína</b>	TTC	-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	-CH <sub>2</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-H	
<b>Bupivacaína</b>	BVC	-CH <sub>3</sub>			
<b>Mepivacaína</b>	MVC	-CH <sub>3</sub>			
<b>Lidocaína</b>	LDC	-CH <sub>3</sub>			
<b>Prilocaína</b>	PLC	-H			
<b>Dibucaína</b>	DBC				

Por constituírem moléculas anfífilas os AL têm grande afinidade pelas membranas celulares. Sua ação é capaz de bloquear de forma reversível a condução do estímulo nervoso através dos canais de sódio. Em membranas excitáveis eles inativam os canais de sódio voltagem-dependente, impedindo assim o influxo de íons necessários à despolarização da membrana (Covino &

Vassalo, 1985). O mecanismo de ação de um AL se dá pelo bloqueamento da sensação de dor através da interferência com a propagação dos impulsos nervosos periféricos. Neste mecanismo, tanto a produção, quanto a condução dos potenciais de ação são inibidas. Dados eletrofisiológicos indicam que os AL não alteram significativamente o potencial de repouso normal da membrana nervosa, e sim diminuem certas respostas dinâmicas à estimulação nervosa (Yagiela, 2002).

Os efeitos dos AL no fluxo iônico são de grande interesse. Muitos estudos enfatizam a relação entre estes fármacos, os íons de cálcio e efeitos no fluxo de sódio. Existem vários sítios na membrana nervosa onde os AL podem interferir na permeabilidade do sódio. Neste sentido, fármacos capazes de bloquear a condução nervosa podem ser caracterizados de acordo com seus respectivos sítios de ação.

Há muitas teorias que buscam descrever o mecanismo de ação dos AL. No entanto, podemos enquadrá-las em duas hipóteses de ponto de partida em comum.

1) A hipótese protéica – propõe que a ação do AL se dá por sua interação direta e específica com a proteína de membrana canal de  $\text{Na}^+$  causando um bloqueio de sua condutância (Ragsdale *et al.*, 1994). Esta hipótese sustenta-se na idéia de que existem receptores específicos para os AL na membrana nervosa, sendo estes os próprios canais de  $\text{Na}^+$ . Foi proposta largamente para explicar a ação dos anestésicos amino terciários, tais como a procaína.

2) A hipótese lipídica – também conhecida como “teoria da expansão da membrana”, propõe que o mecanismo de ação se dá pela interação não específica do anestésico com os componentes lipídicos da membrana (Lee, 1976; Smith *et al.*, 1991). Deste modo, as alterações causadas pela interação dos AL com os fosfolípidos nas propriedades estruturais e dinâmicas da matriz lipídica provocariam alterações conformacionais no canal de sódio, explicando desta forma a sua inativação.

Analisando a interação dos AL com apenas a fase lipídica membranar observaram-se efeitos de expansão da bicamada e de diminuição na temperatura principal de transição de fase, fatores esses que aumentariam a fluidez e a permeabilidade da membrana (de Paula & Schreier, 1996). A incorporação do anestésico pela fase lipídica provocaria uma expansão da área superficial das monocamadas (Skou, 1954) e das bicamadas (Seelig, 1987). Tal expansão é favorecida pela diferença entre o comprimento da molécula do anestésico - mais curto - e o dos fosfolípidos. Assim, abaixo do seu ponto de inserção, o anestésico

criaria um “volume livre”, que seria compensado com uma mudança conformacional das cadeias lipídicas adjacentes, diminuindo o comprimento total da bicamada, bem como a sua expansão lateral (Trudell, 1977; Gallová & Balgavý, 1997).

É geralmente aceito que tanto a interação com os lipídeos quanto com as proteínas de membrana pode levar à inativação do canal iônico neural. Contudo, dado que o movimento transbicamada da molécula de anestésico para o lado citoplasmático das membranas excitáveis é uma condição para a sua ação, a análise da interação do anestésico com os lipídeos de membrana parece ser um primeiro passo.

As propriedades lipofílicas dos AL são essenciais para a penetração em barreiras anatômicas existentes entre o local de administração e seu local de ação. Já as propriedades hidrofílicas asseguram que, uma vez injetada em concentração adequada, a droga não se precipitará com a exposição ao líquido intersticial (Morgan, 1996). Os dois fatores que mais afetam a ação do AL são o pH do meio biológico, ou seja, o pH do tecido em questão e o  $pK_a$  do anestésico. Os AL são bases orgânicas fracas, pouco solúveis em água. As soluções anestésicas comerciais são preparadas como sais ácidos. Tais sais são hidrossolúveis, possuem uma maior estabilidade e são geralmente obtidos por adição de ácido clorídrico (Yagiela, 2002). Contudo, a acidez tecidual diminui a eficácia do anestésico no bloqueamento da transmissão nervosa. Os produtos da inflamação tecidual diminuem o pH do tecido afetado, retardando assim o início da anestesia local.

Potência de um AL – a potência de um anestésico é a capacidade que sua molécula tem de interferir na estrutura dos canais iônicos e assim inibir seu funcionamento. A potência está relacionada às interações diretas com as proteínas de membrana e com a lipofilia do AL. Algumas propriedades importantes são: quanto maior a ligação com as proteínas plasmáticas, menor será a potência e menor a sua toxicidade; quanto maior for a lipofilia (coeficiente de partição octanol: água), maior será a potência (melhor penetração na membrana); quanto maior a fração não ionizada, maior é a facilidade de penetração na membrana, maior potência (menor latência).

Por fim, temos que os AL são fármacos que bloqueiam reversivelmente a condução nervosa periférica quando aplicados a uma região circunscrita do corpo

(Ragsdale *et al.*, 1994). Entretanto, os AL possuem uma variedade de efeitos nos sistemas biológicos que não somente os efeitos de anestesia provenientes do bloqueio nervoso. Os AL têm sido aplicados, por exemplo, para inibir a polimerização de microtúbulos, para proteger células vermelhas do sangue da hemólise, para suprimir a proliferação de células cancerígenas (Sakagushi *et al.*, 2006), como agente antiinflamatório (Cassuto, *et al.*, 2006).

## 4.2

### Equilíbrio de Ionização da Dibucaína

A dibucaína pode existir em três estados de ionização dependendo do pH do meio (Fig. 4.3). Assim, em solução aquosa, podemos ter três espécies moleculares, ou seja, a dicatiônica, a moncatiônica e a neutra.

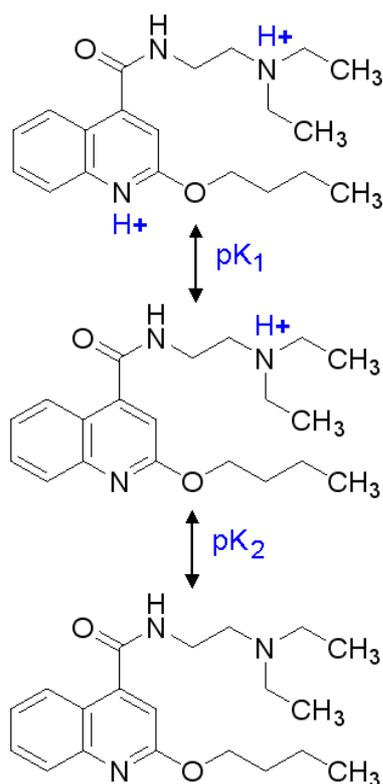


Figura 4.3 - Estrutura molecular da Dib nas espécies dicatiônica, moncatiônica e neutra, respectivamente.

Vanderkooi (1984) em seu trabalho analisa os espectros de absorção, espectros de emissão de fluorescência e os tempos de vida de fluorescência para todos os três estados de ionização do anestésico. O  $pK_a$  do grupo aromático N

( $pK_1$ ) é muito baixo, com seu valor em torno de 1.77, enquanto que o  $pK_a$  para a amina terciária ( $pK_2$ ) se encontra na faixa alcalina, com seu valor em torno de 8.95. Em suas medidas de absorção ótica da dibucaína em seus três estados de ionização o autor observa que a desprotonação do N aromático causa uma alteração apreciável no espectro. Por outro lado, a desprotonação da amina terciária N causa pequenas alterações no espectro na banda de 300 a 350 nm.

### 4.3

#### Introdução aos Antibióticos Fluoroquinolonas

Os fármacos da família das quinolonas são classificados em três gerações. A primeira geração, composta pelos antibióticos ácido nalidixíco, ácido piromídico, cinoxacina e rosoxacina, possui ação sobre as enterobactérias. Contudo, esta geração não apresenta atividade antipseudomonas ou Gram-positivos, com seu uso limitado ao trato urinário (Wang et al., 2008). A segunda geração, composta pela *norfloxacin*a e ácido pipemídico, amplia seu campo de ação contra pseudomonas, com atividade para trato urinário e intestinal. A terceira geração, composta pela levofloxacin, ciprofloxacina, pefloxacina, ofloxacina, lomefloxacina, fleroxacin, enoxacin e difloxacina, atua contra Gram-negativos – incluindo pseudomonas e estafilococos, estendendo assim sua aplicação para tratamentos sistêmicos. Por fim, com a descoberta das quinolonas da quarta geração, composta pela esparfloxacina, temafloxaxina, tosufloxacina e clinafloxacina o campo de ação compreende estreptococos hemolíticos, pneumococos e anaeróbios (Vieira, 2007).

Como descrito acima, a cada nova geração de quinolonas há uma maior ação antimicrobiana, maior potência antibactericida e maior número de propriedades farmacológicas. As quinolonas possuem excelente distribuição nos vários tecidos e fluidos corporais. A atividade bactericida das quinolonas inibe a ação das subunidades A da DNA-girase, enzima responsável pela divisão da dupla cadeia do DNA cromossômico (Zhang et al., 2007). Estes antibióticos são comumente utilizados no tratamento clínico de várias infecções, tais como infecções urinárias, infecções do tecido liso, infecções respiratórias, infecções de junta óssea, infecções recorrentes ou crônicas por pseudomonas na fibrose cística, otite média, meningite, prostatite, sinusite e outras (Vilchez et al., 2001). Além

disso, também são aplicados no tratamento e prevenção doenças veterinárias e produção de alimentos para animais (Barbosa et. al., 1998).

As fluoroquinolonas (ou ácidos piridinocarboxílicos) são membros das quinolonas que possuem flúor em sua estrutura. Abaixo temos a estrutura molecular da primeira quinolona e da primeira fluoroquinolona sintetizadas a apresentarem atividade antibacteriana.

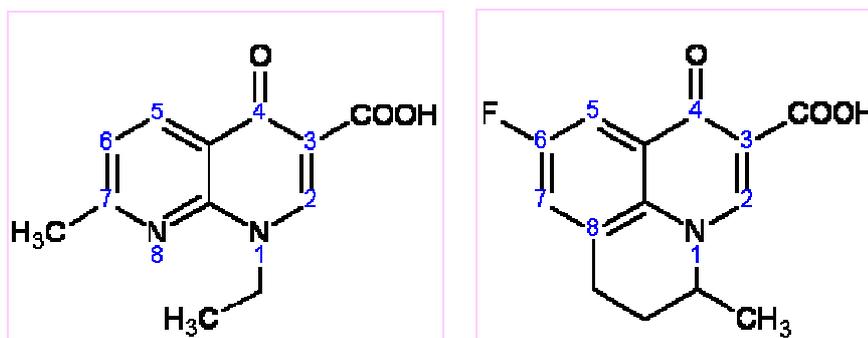


Figura 4.4 – Estrutura molecular da primeira quinolona sintetizada, ácido nalidíxico (esquerda), no ano de 1962; estrutura molecular da primeira fluoroquinolona sintetizada (direita), flumequina, no ano de 1973

O comportamento *in vivo* destes fármacos é fortemente afetado por suas propriedades físico químicas, em particular suas propriedades de ionização em função do pH e sua capacidade para formar complexos com íons metálicos (Drakopoulos & Ioannou, 1997, Park et al., 2002). De fato é bem conhecido que as fluoroquinolonas são capazes de formar complexos com certos cátions multicarregados. Muitos autores têm pesquisado os complexos formados entre quinolonas e cátions tais como  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ . O principal objetivo destes estudos é o de compreender o mecanismo de ação destes complexos.

A presença de centros carregados em muitos fármacos pode ser essencial para a sua atividade biológica e sua passagem através de membranas celulares. A constante de dissociação pode ser um parâmetro chave para compreender e quantificar diversos processos químicos, tais como a taxa de reação, atividade biológica e mecanismos de transporte (Barron et. al., 2000). Muitos fármacos possuem grupos ionizáveis e as fluoroquinolonas exibem características zwitteriônicas em pH neutro. A característica zwitteriônica representa um tipo de soluto com interações intra- e intermoleculares que influenciam diretamente suas propriedades físicoquímicas (Pistos et al., 2005). Muitos estudos têm sido realizados sobre a interação destes fármacos com ácidos nucleicos. Tais estudos

não só fornecem informações sobre a farmacologia, a farmacocinética e a função toxicológica, mas também as propriedades fluorescentes das fluoroquinolonas (Wang et al., 2008).

Elementos metálicos desenvolvem um papel muito importante em processos como divisão celular, síntese de proteínas e atividade de enzimas. O estudo de complexos de elementos metálicos com fármacos e da interação destes complexos com proteínas e membranas biológicas se apresenta como uma necessidade fundamental para se compreender a aplicação destes complexos na prevenção e tratamento de doenças (Barbato et. al. 2007).

A norfloxacin, assim como outras fluoroquinolonas, possui dois sítios de coordenação com metais de transição. Norfloxacin é coordenada a ions Ag(I) e Au(III) através do átomo de N do anel piperidina, mas Cu(II) é coordenado através dos átomos de oxigênio da carbonila e do grupo carboxílico (Refat, 2007).

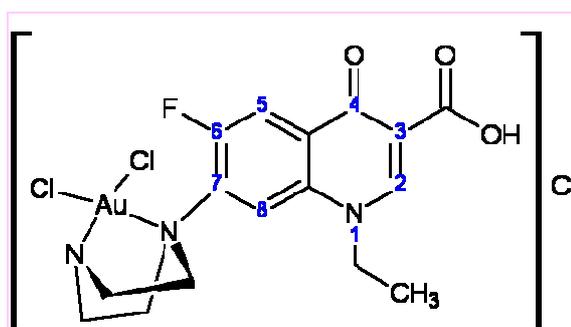


Figura 4.5 - Estrutura proposta para o complexo de NF com Au (III) em solvente orgânico DMSO.

#### 4.4

#### Equilíbrio de Ionização das Fluoroquinolonas

Podemos encontrar as fluoroquinolonas (Q) nas formas: protonada,  $H_2Q^+$  (em meio ácido), na forma não carregada zwitteriônica  $HQ^\pm$  (em meio neutro ou fracamente ácido), e como um ânion  $Q^-$  (em meio alcalino). As constantes macroscópicas de ionização se referem aos prótons 3-carboxil e 7-piperazina. O equilíbrio protolítico das fluoroquinolonas para os meios ácido, neutro e alcalino está representado na Fig. 4.4.

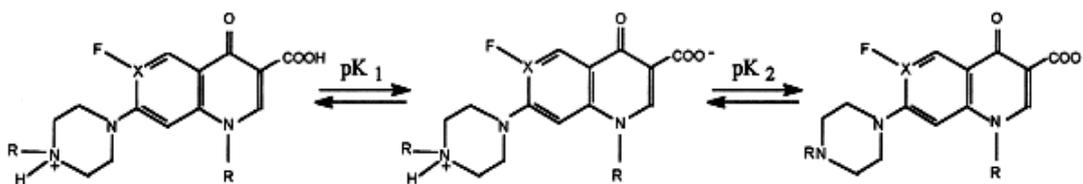


Figura 4.6 – Equilíbrio protolítico das fluoroquinolonas nos meios ácido ( $H_2Q^+$ ), neutro ( $H_2Q^\pm$ ) e alcalino ( $Q^-$ ), da esquerda para a direita, respectivamente (Barbosa et al., 1999).

O comportamento das fluoroquinolonas é fortemente influenciado por suas propriedades físico-químicas, em particular podemos ressaltar as constante de ionização  $pK_a$  e o coeficiente de partição  $K_p$ . A atividade antibacteriana destes fármacos, por exemplo, é dependente do pH. A diminuição progressiva da atividade química em pH baixo é muitas vezes atribuída à baixa penetração da espécie catiônica na membrana celular (Popovic et. al., 1998). Devido aos seus grupos ionizáveis, muitas moléculas biologicamente ativas estão completamente ou parcialmente ionizadas em pH fisiológico. O exame detalhado do equilíbrio de ionização de fármacos em solução é essencial para compreender sua atividade. A constante de ionização e o coeficiente de associação do fármaco constituem dados fundamentais para compreender sua absorção biológica e seus receptores e transportadores em nível molecular (Barbosa et al., 1999).

## 4.5

### Norfloxacin e Levofloxacin

Norfloxacin (NF) e Levofloxacin (Lev) são fluoroquinolonas zwitteriônicas com ação antibactericida com administração oral. Suas fórmulas podem ser expressas por  $C_{16}H_{18}FN_3O_3$  e  $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ , respectivamente. Suas estruturas aparecem nas Figs. 4.7 e 4.8.

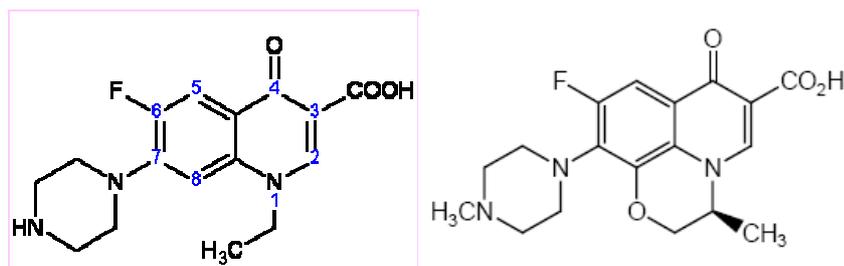


Figura 4.7 - Estrutura química da Norfloxacin, 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid (Borrego et al., 1996), à esquerda; estrutura química da Levofloxacin, (3S)-9-fluoro-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7H-[1,4]oxazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid, à direita.

Tanto a NF quanto a Lev possuem dois grupos funcionais aceitadores de prótons correspondendo a dois equilíbrios químicos de ionização. O grupo carboxílico, que se encontra na posição 3, protona-se em meio ácido. Já o grupo associado ao N<sub>4</sub> do anel piperazina na posição 7 desprotona-se em meio alcalino (Drakopoulos & Ioannou, 1997).