

2. Fluorquinolonas

2.1. Os antibióticos sintéticos da classe das fluorquinolonas

A primeira quinolona a apresentar atividade antibacteriana foi o ácido nalidíxico e estudos sistemáticos de modificação em sua molécula produziram compostos que aumentaram a potência e o espectro de ação, ampliando as aplicações terapêuticas das quinolonas. Livros de farmacologia até o início dos anos 1980 somente mencionam o ácido nalidíxico como agente quimioterápico antimicrobiano pertencente à classe das quinolonas.

O ácido nalidíxico (Figura 1.1) é uma droga sintética derivada da 1,8-naftiridina e age contra muitas bactérias gram-negativas, como *Escherichia*, *Aerobacter*, *Klebsiella* e *Proteus*. Foi introduzido na clínica médica em 1964, especialmente para o tratamento de infecções provocadas por bactérias gram-negativas do trato urinário. A administração do ácido nalidíxico pode causar náuseas, vômitos, fototoxicidade, erupções cutâneas, tonturas, distúrbios visuais e, ocasionalmente, icterícia e discrasia sanguínea. A droga não deve ser ingerida no primeiro trimestre da gravidez e deve ser administrada com cautela em pacientes epiléticos, com doença hepática, arteriosclerose e disfunção renal. É administrada por via oral, sendo eliminada principalmente pela urina na forma ativa. Sua concentração no sangue e nos fluidos e tecidos orgânicos é bastante reduzida, razão pela qual não é indicado para o tratamento de infecções sistêmicas; é especialmente indicado para infecções do trato urinário, tanto agudas como crônicas; no entanto, a eficácia da droga é bastante comprometida pelo desenvolvimento de resistência, que pode começar a surgir 48 horas após o início do tratamento (Zanini e Oga, 1979).

As fluorquinolonas são drogas bactericidas sintéticas com atividade contra microorganismos gram-negativos e gram-positivos. Podem permitir o tratamento

oral ambulatorial de infecções que antes necessitavam de tratamento parenteral e hospitalização. A maioria é administrada por via oral, após o que são bem absorvidas, atingem concentrações terapêuticas na maioria dos líquidos corporais e são parcialmente metabolizadas no fígado. Os rins são a principal via de eliminação, com aproximadamente 30% a 60% de uma dose oral excretada inalterada pela urina. A dosagem deve ser reduzida na insuficiência renal (Abrams, 2006).

As fluorquinolonas podem ser divididas em três gerações (apesar de existir discordância entre autores) e diferem das quinolonas originais por possuírem um átomo adicional de flúor em sua estrutura química. Como dito acima, as quinolonas originais são representadas pelo anti-séptico do trato urinário (agente microbiano que não influencia os microorganismos comensais fecais normais e não exibe nenhum efeito antibacteriano sistêmico) ácido nalidíxico. Uma quinolona urinária de primeira geração, mais nova, a cinoxacina, apresenta uma efetividade e um espectro antibacteriano melhorados. Outro anti-séptico do trato urinário, não relacionado às quinolonas, mas frequentemente encontrado na prática clínica é a nitrofurantoína. As fluorquinolonas de primeira geração exibem um espectro e falhas que o acompanham que são muito similares àqueles dos aminoglicosídeos, com a vantagem de se encontrarem disponíveis em preparações para administração oral (Schellack, 2006).

A segunda geração, composta pela norfloxacin e o ácido pipemídico, amplia seu campo de ação contra *Pseudomonas*, com atividade para trato urinário e intestinal (Vieira, 2007). A ciprofloxacina, a ofloxacina e a lomefloxacina são, portanto, efetivos contra os estafilococos (inclusive MRSA), as enterobactérias gram-negativas e *Pseudomonas*. Contudo, não são adequadas no tratamento de infecções do trato respiratório superior, porque não são efetivas contra estreptococos. Elas são efetivas contra *Haemophilus influenzae* e *Neisseria gonorrhoea*. Assim, essas fluorquinolonas são úteis no tratamento de infecções do trato urinário (ITUs). Elas também cobrem em seu espectro todos os microorganismos comuns que são responsáveis pela enterite bacteriana (Schellack, 2006; e Wang et al., 2008).

As fluorquinolonas de segunda geração mais novas, incluindo a grepafloxacina e a clinafloxacina, exibem também uma eficácia aumentada contra *H. influenzae*, mas são menos efetivas contra *Streptococcus pneumoniae* e MRSA

(Schellack, 2006). Uma terceira geração foi desenvolvida, composta pela fleroxacina, enoxacina e difloxacina e atua contra microorganismos gram-negativos – incluindo *Pseudomonas* e estafilococos, estendendo assim sua aplicação para tratamentos sistêmicos (Vieira, 2007). A terceira geração inclui drogas como a gatifloxacina, que pertence ao grupo A da terceira geração, e a gemifloxacina, que representa o grupo B. Agora, essas drogas também exibem uma ação antimicrobiana efetiva contra os organismos gram-positivos, incluindo os pneumococos e estreptococos (Schellack, 2006).

Vieira (2007) cita uma quarta geração de fluorquinolonas, composta, entre outras, pela temafloxacina e tosufloxacina, com o campo de ação compreendendo estreptococos hemolíticos, pneumococos e anaeróbios.

Como descrevemos acima, a cada nova geração de fluorquinolonas há uma busca por maior ação antimicrobiana e maior número de propriedades farmacológicas.

Segundo Rang et al. (2001), o mecanismo de ação das fluorquinolonas se dá pela inibição da DNA girase (também denominada topoisomerase II), a enzima que produz superespiralamento negativo no DNA. Essas drogas são seletivas para a enzima bacteriana, visto que esta difere estruturalmente da enzima dos mamíferos. Alguns agentes antineoplásicos, por exemplo, doxorubicina, atuam sobre a topoisomerase II dos mamíferos. Zhang et al. (2007) especificam que a inibição se dá nas subunidades A da DNA girase, enzima mencionada acima responsável pela divisão da dupla cadeia do DNA cromossômico. Mitscher (2005) cita o modelo de Llorento (Figura 2.1), uma das hipóteses para explicar as interações específicas entre as fluorquinolonas e a DNA girase, e também com o DNA. Noble e Llorento avançaram em seu modelo incluindo as ligações do íon magnésio com a molécula de fluorquinolona e as bases do DNA e fosfato (intercalação/empilhamento) e a ligação de hidrogênio entre a serina 83-OH da DNA girase e o flúor C-6 da fluorquinolona.

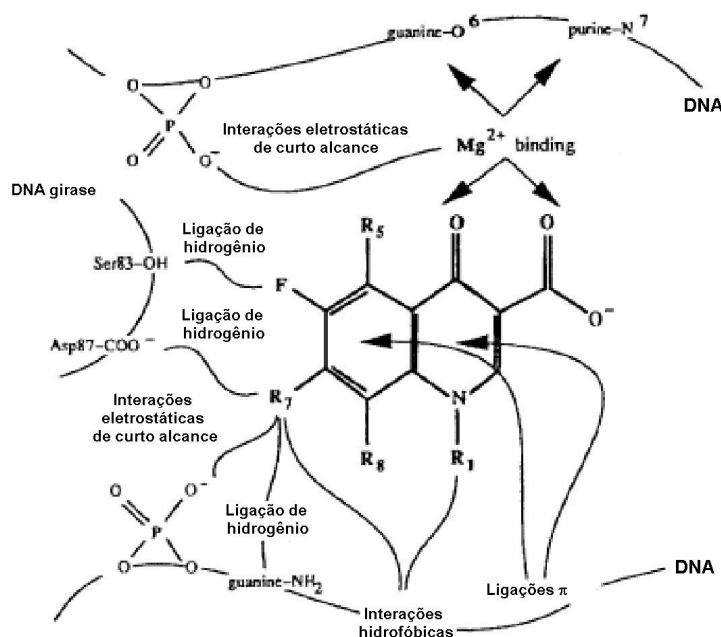


Figura 2.1. Modelo de Llorento para interação de fluorquinolona com DNA e DNA girase (Mitscher, 2005).

Resumindo, as principais indicações clínicas das fluorquinolonas são as seguintes: infecções complicadas das vias urinárias, infecções respiratórias causadas por *P. aeruginosa* em pacientes com fibrose cística, otite externa invasiva causada por *P. aeruginosa*, osteomielite bacilar gram-negativa crônica, erradicação de *S. typhi* em portadores, gonorréia (em pacientes que não podem usar a penicilina, a administração de uma dose única de acrosoxacina pode curar a gonorréia), prostatite bacteriana, cervicite (Rang et al., 2001), infecções do tecido liso, infecções respiratórias, infecções de junta óssea, infecções recorrentes ou crônicas por *Pseudomonas* na fibrose cística, otite média, meningite, sinusite e outras (Vilchez et al., 2001). Outros usos incluem: tuberculose resistente a múltiplas drogas, infecções pelo complexo do *Mycobacterium avium* (MAC) em pacientes com AIDS e febre em pacientes com câncer neutropênico (Abrams, 2006). Além disso, também podem ser aplicadas no tratamento e na prevenção de doenças veterinárias e na produção de alimentos para animais (Barbosa et. al., 1998). A Tabela 2.1 apresenta algumas fluorquinolonas com suas indicações clínicas.

Tabela 2.1 – Principais fluorquinolonas de cada geração com suas indicações clínicas.

Geração	Fluorquinolona	Indicações clínicas
Primeira	Ácido Nalidíxico Cinoxacina	Infecções no trato urinário
Segunda	Norfloxacina Ciprofloxacina Ofloxacina Levofloxacina Pefloxacina	Infecções no trato urinário, infecções respiratórias, infecções gastro-intestinais, inflamação nos rins, infecções ginecológicas, doenças sexualmente transmissíveis, prostatites, infecções oculares, na pele e em tecidos
Terceira	Sparfloxacina Gatifloxacina	Pneumonia e bronquite crônica
Quarta	Moxifloxacina Trovafloracina	Todas as indicações anteriores

A ação das fluorquinolonas no organismo humano é fortemente afetada por suas propriedades físico-químicas (Figura 2.2), 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). As fluorquinolonas podem formar complexos com certos cátions multicarregados. Muitos autores têm pesquisado os complexos formados entre quinolonas e cátions tais como Al^{3+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} e Au^{3+} . Os principais objetivos destes estudos são o de compreender mecanismos de ação e desenhar novos fármacos (Luiz, 2009).

A presença de centros carregados em muitos fármacos pode ser essencial para a sua atividade biológica e sua passagem através de membranas celulares. Muitos fármacos possuem grupos ionizáveis e exibem características zwitteriônicas (compostos químicos eletricamente neutros, mas que possuem cargas opostas em diferentes átomos não-adjacentes). Uma característica zwitteriônica representa um tipo particular de soluto com interações intra e intermoleculares que influenciam diretamente suas propriedades físicoquímicas (Pistos et al., 2005).

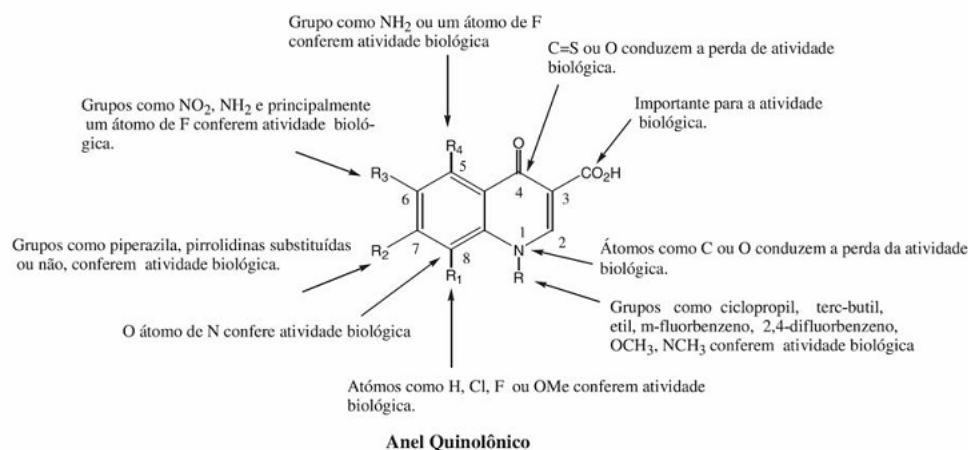


Figura 2.2. Relação entre a estrutura e as atividades biológicas das quinolonas.

2.2. Equilíbrio de Ionização das Fluorquinolonas

Conforme Barbosa et al. (1999), podemos encontrar as fluoroquinolonas nas formas: (i) protonada (em meio ácido); (ii) zwitteriônica (em meio neutro ou fracamente ácido); e (iii) como um ânion (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 Figura 2.3.

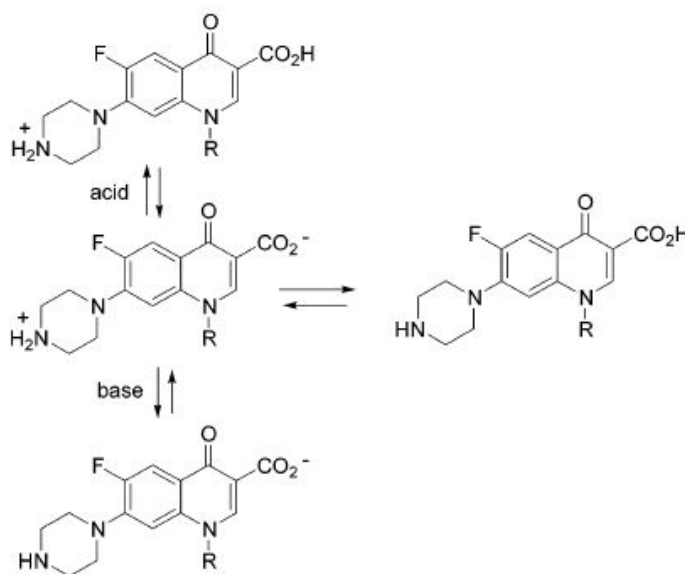


Figura 2.3. Esquema de protonação / desprotonação para fluorquinolonas (Mitscher, 2005).

O comportamento das fluorquinolonas é fortemente influenciado por suas propriedades físicoquímicas, em particular podemos ressaltar a 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 em pH baixo é muitas vezes atribuída à baixa penetração da espécie catiônica na membrana celular (Popovic et. al., 1998). A relevância particular destas características é que as fluorquinolonas são conhecidas por entrar na maioria dos tecidos de mamíferos e em quase todas as bactérias por uma combinação de absorção passiva e passagem por poros (Mitscher, 2005). 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).

2.3. Norfloxacin

Norfloxacin (NOR) é uma fluorquinolona zwitteriônica em pH fisiológico com ação bactericida. Foi sintetizada pela primeira vez em 1980 pela introdução do grupo piperazinil no átomo de carbono 7 do anel quinolônico e notado que tinha maior atividade *in vitro* e que mostrava um espectro maior de atividade antibacteriana se comparada com drogas sem o grupo piperazinil, como a flumequina. Esses dois grupos de drogas, com e sem a piperazina, exibiam respostas antibacterianas e propriedades químicas em vários ambientes completamente diferentes (Park et al., 2002). É administrada por via oral. Sua estrutura é mostrada na Figura 1.1.

A descoberta da NOR deu grande avanço à família das quinolonas, pois deu início ao descobrimento de diversas quinolonas fluoradas como a pefloxacin, enoxacin e ciprofloxacina entre outras. Isso garantiu o conhecimento da importância de determinadas posições na configuração estrutural das novas quinolonas fluoradas (Tavares, 1996).

A NOR possui dois grupos funcionais receptores de prótons, correspondendo a dois equilíbrios químicos de ionização, numa faixa de pH

fisiologicamente relevante. O grupo carboxílico, que se encontra na posição 3, protona-se em meio levemente ácido, $pK_a \sim 6$. Já o grupo associado ao N na posição 4 do anel piperazina (ligado à posição 7 do anel quinolônico) protona-se em meio alcalino, $pK_a \sim 8.6$ (Drakopoulos & Ioannou, 1997).

Em água, os processos de protonação de NOR são responsáveis pela dependência do rendimento quântico (ϕ) em relação ao pH (Bilski et al., 1998). O rendimento quântico de fluorescência de NOR é fortemente dependente do pH: ϕ é baixo em 0.2 N de HCl (0,02), aumenta rapidamente para 0,12 em pH 4 e decresce gradualmente para 0.01 em pH 10. A mudança em ϕ é acompanhada por mudanças no tempo de vida de fluorescência de 0.6 ns em pH 1 a 1.8 ns em pH 4 (Bilski et al., 1996). Segundo esses autores, a dependência das propriedades de NOR em relação ao pH é causada pela presença de quatro locais para potenciais processos de protonação/dissociação na molécula: além do grupo carboxílico, e do N4', já mencionados, o outro átomo de nitrogênio do anel piperazina, N1' e o átomo de nitrogênio no núcleo aromático N1 (Fig. 1.1). As espécies iônicas formadas a partir de NOR apresentam diferentes rendimentos quânticos de fluorescência e produção de 1O_2 . No pH fisiológico 7.4, NOR apresenta-se principalmente na forma zwitteriônica (Takács-Novák et al., 1990), na qual o grupo carboxílico está dissociado (pK_a de 6.22) e o átomo de nitrogênio periférico da piperazina está protonado (pK_a de 8.51) (Figura 2.3). Quando o pH decresce, o rendimento quântico aumenta até alcançar o seu valor máximo em torno do pH 4; neste pH o grupo carboxílico fica protonado e o nitrogênio da piperazina permanece protonado. Dessa forma, temos o mais alto ϕ , que é devido parcialmente a um maior tempo de vida de fluorescência (Bilski et al., 1996). Acidificação abaixo de pH 4 leva a uma forte redução de ϕ (0.1 M HCl), o que pode ser devido à protonação dos átomos de nitrogênio remanescentes na molécula de NOR. Esta protonação pode envolver os pares de elétrons livres do nitrogênio que estariam mais conjugados ao núcleo cromóforo aromático. Em soluções alcalinas, o rendimento quântico de NOR é ainda menor do que os das soluções concentradas de HCl. O tempo de vida do singleto não é suficientemente pequeno para explicar um ϕ tão pequeno. Sugeriu-se (Bilski et al., 1996) que a completa dissociação do grupo carboxílico seria responsável por este decréscimo

da fluorescência, mas essa explicação parece contraditória com o fato de isso só acontecer quando o nitrogênio da piperazina fica desprotonado (pH acima de 8.5).

Bilski e colaboradores estudaram a produção de $^1\text{O}_2$ e sugeriram que em solução de HCl a protonação dos átomos de nitrogênio no cromóforo quinolona afeta o estado singleto de NOR mais que o estado tripleto.

Também sugeriram que o estado de ionização do grupo carboxílico tem um papel crucial na fotoquímica de NOR. Isto pode ser porque o estado de ionização de $-\text{COOH}$ determina a formação de ligação de hidrogênio intramolecular para o grupo carbonil adjacente. A importância desta ligação de hidrogênio intramolecular já tinha sido sugerida para o ácido nalidíxico (Moore et al., 1984).