

Sara Isabel Cadinha Barbosa

**Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-
nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos**



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2015

Sara Isabel Cadinha Barbosa

**Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-
nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos**



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2015

Sara Isabel Cadinha Barbosa

**Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-
nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos**

Atesto a originalidade do trabalho

Sara Isabel Cadinha Barbosa

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Professora Doutora Fernanda Leal

Sumário

O conteúdo deste trabalho será desenvolvido em dois temas principais, um referente à utilização de compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos como agentes antineoplásicos e outro referente à sua utilização como agentes antivirais.

A síntese dos nucleótidos envolve a construção de ácidos nucleicos e a inserção dos derivados de nucleótidos noutras vias bioquímicas, sendo responsável por inúmeras funções do metabolismo celular.

Existem patologias que envolvem enzimas essenciais do metabolismo dos nucleótidos, o que levou à síntese de novos fármacos. As doenças oncológicas continuam a matar milhares de pessoas e um tratamento eficaz e com sucesso tem sido um desafio. O mesmo se passa com algumas infeções virais, nomeadamente infeções provocadas pelo HIV.

Para contornar os obstáculos enfrentados na terapia destas doenças têm sido usados análogos de nucleótidos e/ou nucleósidos como agentes terapêuticos. Estes têm o propósito de inibir a síntese *de novo* dos nucleótidos em determinadas etapas, estando envolvidos na replicação e síntese do RNA e DNA nas células em divisão. Atuam por inibição específica de enzimas no metabolismo dos nucleótidos/nucleósidos ou ainda por incorporação no DNA ou no RNA.

Palavras-chaves: síntese de purina-nucleótidos, síntese de pirimidina-nucleótidos, purina- e pirimidina-nucleótidos como agentes terapêuticos, purina- e pirimidina-nucleótidos como agentes terapêuticos no HIV, purina- e pirimidina-nucleótidos como agentes terapêuticos no cancro.

Abstract

This study will be developed into two main subjects; one related to the use of compounds which interfere with the metabolism of purine- and pyrimidine- nucleotides as antineoplastic agents; another related to their use as antiviral agents.

The nucleotides' synthesis involves the construction of nucleic acids and the introduction of the nucleotides' derivatives into other biochemical pathways and it is responsible for numerous functions of cellular metabolism.

There are pathologies involving key enzymes from the nucleotides' metabolism, which led to the synthesis of new drugs. Cancer is a disease that continues killing thousands of people, an effective and successful treatment has been a challenge. The same happens with some viral infections, mainly infections caused by HIV.

To overcome the obstacles faced in the therapy of these diseases it has been used nucleotide and/or nucleoside analogues as therapeutic agents. These agents have the purpose of inhibiting the *de novo* nucleotide synthesis in certain steps, by being involved in RNA and DNA replication and synthesis in dividing cells. They act by specific enzymes inhibition in nucleotide/nucleoside metabolism and by incorporation into DNA or RNA.

Keywords: synthesis of purine nucleotides, synthesis of pyrimidine nucleotides, purine and pyrimidine nucleotides as therapeutic agents, purine and pyrimidine as therapeutic agents in HIV e purine and pyrimidine as therapeutic agents in cancer.

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar à Exma. Professora Doutora Fernanda Leal pela orientação nesta última etapa da minha formação acadêmica, pelo tempo despendido, conhecimentos transmitidos, compreensão e dedicação.

Agradeço aos meus pais esta oportunidade, sem eles nada disto seria possível. Pelo apoio, paciência, compreensão, sacrifícios e dedicação ao longo destes anos, obrigada. Sinto-me agradecida por estarem ao meu lado quando já tudo parecia impossível.

Um agradecimento especial ao meu irmão mas também restante família e amigos pelo carinho e palavras amigas, especialmente à Ana, Diana, Patrícia, Tânia e João.

Índice

Sumário.....	i
Abstract.....	ii
Agradecimentos.....	iii
Índice de Figuras.....	vi
Abreviaturas.....	ix
I. Introdução.....	1
1.1. Síntese das purinas e pirimidinas.....	1
1.2. Metabolismo dos folatos.....	6
1.3. Mecanismo de ação dos análogos de nucleósidos e/ou nucleóticos.....	9
1.4. Metodologia.....	12
II. Antineoplásicos.....	14
2.1. Antifolatos.....	15
2.1.1. Metotrexato.....	15
2.1.2. Pemetrexedo.....	18
2.1.3. Pralatrexato.....	22
2.2. Análogos de Purinas.....	23
2.2.1. Tiopurinas.....	24
2.2.1.1. 6-Mercaptopurina.....	24
2.2.1.2. 6-Tioguanina.....	25
2.2.1.3. Azatioprina.....	26
2.2.2. Fludarabina.....	27
2.2.3. Pentostatina.....	29
2.2.4. Cladribina.....	29
2.2.5. Clofarabina.....	30
2.2.6. Nelarabina.....	32
2.2.7. Forodesine.....	34
2.3. Análogos de Pirimidinas.....	34
2.3.1. 5-Fluorouracilo.....	35
2.3.2. Capecitabina.....	37
2.3.3. Citarabina.....	39

2.3.4. Gemcitabina	41
2.4. Agentes Desmetilantes.....	43
2.4.1. Azacitidina e Decitabina	43
III. Antivirais	45
3.1. Antirretrovirais.....	45
3.1.1. Inibidores nucleósidos da transcriptase reversa (NRTIs).....	46
3.1.1.1. Zidovudina.....	47
3.1.1.2. Estavudina	50
3.1.1.3. Lamivudina.....	50
3.1.1.4. Abacavir	51
3.1.1.5. Emtricitabina	52
3.1.1.6. Didanosina.....	53
3.1.2. Inibidores nucleótidos da transcriptase reversa (NtRTIs).....	54
3.1.2.1. Tenofovir	55
3.2. Não antirretrovirais	57
3.2.1. Aciclovir.....	57
3.2.2. Valaciclovir	59
3.2.3. Ganciclovir	60
3.2.4. Entecavir.....	61
3.2.5. Vidarabina	62
3.2.6. Ribavirina	63
3.2.7. Clevudina	64
IV. Conclusão	65
V. Bibliografia	66

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura das purinas adenina e guanina (adaptado de Devlin et al., 1997). ...	1
Figura 2. Estrutura das pirimidinas uracilo, citosina e timina (adaptado de Devlin et al., 1997).....	2
Figura 3. Desoxirribonucleótidos e ribonucleótidos dos ácidos nucleicos (adaptado de Nelson e Cox, 2005a).	2
Figura 4. Via da síntese <i>de novo</i> dos purina-nucleótidos (adaptado de Nelson e Cox, 2005b).....	4
Figura 5. Via da síntese <i>de novo</i> dos pirimidina-nucleótidos (adaptado de Nelson e Cox, 2005b).	5
Figura 6. Metabolismo celular dos folatos (adaptado de Gonen e Assaraf, 2012).....	7
Figura 7. Homeostasia dos folatos e acumulação celular dos antifolatos (adaptado de Gonen e Assaraf, 2012).	8
Figura 8. Conversão da dUMP em dTMP pela TS e pela DHFR (adaptado de Nelson e Cox, 2005b).	9
Figura 9. Mecanismo de ação dos análogos nucleósidos (adaptado de Jordheim et al., 2013).....	11
Figura 10. Estrutura do metotrexato (adaptado de Lansiaux, 2011).	15
Figura 11. Metabolismo celular do metotrexato (adaptado de Kremer, 2004).	16
Figura 12. Mecanismo de resistência do metotrexato nas células tumorais (Hardman e Limbird, 2005d).....	18
Figura 13. Estrutura do pemetrexedo (adaptado de Lansiaux, 2011).....	19
Figura 14. Via de atuação do pemetrexedo (adaptado de Lansiaux, 2011).....	19
Figura 15. Biossíntese das purinas e pirimidinas com indicação, em forma de relâmpago, de alguns alvos do pemetrexedo (adaptado de Buqué et al., 2013).....	20
Figura 16. Estrutura do pralatrexato (adaptado de Lansiaux, 2011).	22
Figura 17. Internalização e retenção do pralatrexato no interior das células (adaptado de Marchi e Connor, 2012).	23

Figura 18. Estrutura da 6-mercaptopurina (adaptado de Lansiaux, 2011).	24
Figura 19. Metabolismo da 6-mercaptopurina e da 6-tioguanina pelas células leucémicas humanas (adaptado de Karim et al., 2013).	25
Figura 20. Estrutura da 6-tioguanina (adaptado de Almeida, 2005).	26
Figura 21. Estrutura da azatioprina (adaptado de Lansiaux, 2011).	26
Figura 22. Mecanismo de ação da azatioprina (adaptado de Cara et al., 2004).	27
Figura 23. Estrutura da fludarabina (adaptado de Robak e Robak, 2013).	28
Figura 24. Estrutura da pentostatina (adaptado de Robak e Robak, 2013).	29
Figura 25. Estrutura da cladribina (adaptado de Robak e Robak, 2013).	30
Figura 26. Estrutura da clofarabina (adaptado de Robak e Robak, 2013).	31
Figura 27. Estrutura da nelarabina (adaptado de Robak e Robak, 2013).	33
Figura 28. Estrutura da forodesine (adaptado de Robak e Robak, 2013).	34
Figura 29. Estrutura do 5-fluorouracilo (adaptado de Lansiaux, 2011).	35
Figura 30. Via de ativação e desintoxicação do 5-fluorouracilo (adaptado de Lansiaux, 2011).	36
Figura 31. Estrutura da capecitabina (adaptado de Hardman e Limbird, 2005d).	38
Figura 32. Via de ativação e desintoxicação da capecitabina (adaptado de Lansiaux, 2011).	38
Figura 33. Estrutura da citarabina (adaptado de Lansiaux, 2011).	39
Figura 34. Via de ativação e desintoxicação da citarabina (adaptado de Lansiaux, 2011).	40
Figura 35. Estrutura da gemcitabina (adaptado de Lansiaux, 2011).	41
Figura 36. Metabolismo celular da gemcitabina (adaptado de Cavalcante e Monteiro, 2014).	42
Figura 37. Estruturas da (a) azacitidina e da (b) decitabina (adaptado de Derissen et al., 2013).	44
Figura 38. Estrutura da zidovudina (adaptado de Esposito et al., 2012).	48
Figura 39. Mecanismo de ação da zidovudina (adaptado de De Clercq, 2009).	49

Figura 40. Estrutura da estavudina (adaptado de Esposito et al., 2012).....	50
Figura 41. Estrutura da lamivudina (adaptado de Esposito et al., 2012).....	51
Figura 42. Estrutura do abacavir (adaptado de Esposito et al., 2012).....	52
Figura 43. Estrutura da emtricitabina (adaptado de Esposito et al., 2012).....	53
Figura 44. Estrutura da didanosina (adaptado de De Clercq, 2001).....	54
Figura 45. Estrutura do tenofovir (adaptado de Esposito et al., 2012).....	55
Figura 46. Estrutura do tenofovir disoproxil fumarato (adaptado de Palazzolo et al., 2012).....	55
Figura 47. Mecanismo de ação do tenofovir (adaptado de De Clercq, 2009).....	56
Figura 48. Estrutura do aciclovir (adaptado de Hardman e Limbird, 2005b).	58
Figura 49. Mecanismo de ação do aciclovir (adaptado de De Clercq, 2004).....	58
Figura 50. Estrutura do valaciclovir (adaptado de Jadhav et al., 2007).	59
Figura 51. Estrutura do ganciclovir (adaptado de Hardman e Limbird, 2005b).	60
Figura 52. Mecanismo de ação do ganciclovir (adaptado de Deville-Bonne et al., 2010).	61
Figura 53. Estrutura do entecavir (adaptado de De Clercq, 2001).	62
Figura 54. Estrutura da vidarabina (adaptado de Seifert, 2014).....	63
Figura 55. Estrutura da ribavirina (adaptado de LookForDiagnosis, 2015).....	63
Figura 56. Estrutura da clevidina (adaptado de Fung et al., 2011).....	64

Abreviaturas

5,10-CH₂-THF - 5,10-metilenotetrahidrofolato

AgHBe - Antígeno da hepatite B

AICAR - 5-Aminoimidazol-4-carboxiamida ribonucleótido

AICARFT - 5-Aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido formiltransferase

AICART - 5-Aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido transferase

AMP - Adenosina 5'-monofosfato (do inglês "adenosine 5'-monophosphate")

ara-C - Citosina arabinosido

ara-CTP - Citosina arabinosido 5'-trifosfato (do inglês "cytosine arabinoside 5'-triphosphate")

ara-G - Guanina arabinosido

ara-GTP - Guanina arabinosido-5'-trifosfato (do inglês "guanine arabinoside-5'-triphosphate")

CHB - Hepatite B crónica (do inglês "chronic hepatitis B")

CHC - Hepatite C crónica (do inglês "chronic hepatitis C")

dATP - Desoxiadenosina 5'-trifosfato (do inglês "deoxyadenosine 5'-triphosphate")

dCK - Desoxicitidina cinase (do inglês "deoxycytidine kinase")

dCTP - Desoxicitidina 5'-trifosfato (do inglês "deoxycytidine 5'-triphosphate")

ddATP - Didesoxiadenosina 5'-trifosfato (do inglês "dideoxyadenosine 5'-triphosphate")

dGK - Desoxiguanosina cinase (do inglês "deoxyguanosine kinase")

dGTP - Desoxiguanosina 5'-trifosfato (do inglês "deoxyguanosine 5'-triphosphate")

dGuo - Nucleósido desoxiguanosina

DHF - Dihidrofolato

DHFR - Dihidrofolato redutase

DNA - Ácido desoxirribonucleico (do inglês "deoxyribonucleic acid")

dNTP - Desoxinucleósidos trifosfatados (do inglês "deoxynucleoside triphosphate")

dTMP - Desoxitimidina 5'-monofosfato (do inglês "deoxythymidine 5'-monophosphate")

dTTP - Desoxitimidina 5'-trifosfato (do inglês "deoxythymidine 5'-triphosphate")

dUMP - Desoxiuridina 5'-monofosfato (do inglês "deoxyuridine 5'-monophosphate")

FDA - *Food and Drug Administration*

FdUMP - Fluorodesoxiuridina 5'-monofosfato (do inglês "fluorodeoxyuridine 5'-monophosphate")

FPGS - Folil-poliglutamato sintetase

FR - Recetor de folato (do inglês "folate receptor")

GAR - Glicinamida ribonucleótido

GARFT - Glicinamida ribonucleótido formiltransferase

GMP - Guanosina 5'-monofosfato (do inglês "guanosine 5'-monophosphate")

GMPS - Guanosina 5'-monofosfato sintase (do inglês "guanosine 5'-monophosphate synthase")

HBV - Vírus da hepatite B (do inglês "hepatitis B virus")

HCV - Vírus da hepatite C (do inglês "hepatitis C virus")

HSV - Vírus do herpes simplex (do inglês "herpes simplex virus")

HGPRT - Hipoxantina-guanina-fosforibosil-transferase (do inglês "hypoxanthine-guanine-phosphoribosyl-transferase")

HIV - Vírus da imunodeficiência humana (do inglês "human immunodeficiency virus")

HIV-1 - Vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (do inglês "human immunodeficiency virus type 1")

HIV-2 - Vírus da imunodeficiência humana do tipo 2 (do inglês "human immunodeficiency virus type 2")

IMP - Inosina 5'-monofosfato (do inglês "inosine 5'-monophosphate")

IMPDH - Inosina monofosfato desidrogenase (do inglês "inosine monophosphate dehydrogenase")

LLA - Leucemia linfóide aguda

LLA-T - Leucemia linfóide aguda das células T

LLC - Leucemia linfocítica crônica

LMA - Leucemia mieloide aguda

NHL - Linfoma não-Hodgkin (do inglês "non-Hodgkin's lymphoma")

NSCLC - Câncer do pulmão de não-pequenas células (do inglês "non-small cell lung cancer")

NRTIs - Inibidores nucleósidos da transcriptase reversa (do inglês "nucleosides reverse transcriptase inhibitors")

NtRTIs - Inibidores nucleótidos da transcriptase reversa (do inglês "nucleotides reverse transcriptase inhibitors")

PCFT - Transportador de folato acoplado a prótons (do inglês "proton-coupled folate transporter")

PNP - Purina nucleósido fosforilase (do inglês "purine nucleoside phosphorylase")

PRPP - 5-Fosforibosil-1-pirofosfato (do inglês "5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate")

RFC - Transportador de folato reduzido (do inglês "reduced folate carrier")

RNA - Ácido ribonucleico (do inglês "ribonucleic acid")

RR - Ribonucleótido redutase

RT - Transcriptase reversa (do inglês "reverse transcriptase")

SAICAR - N-succinil-5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido

SHMT - Serina hidroximetiltransferase

TF - Timidina fosforilase

THF - Tetrahidrofolato

TGMP - 6-Tioguanina-5'-monofosfato (do inglês "6-thioguanine-5'-monophosphate")

TIMP - 6-Tioinosina-5'-monofosfato (do inglês "6-thioinosine-5'-monophosphate")

TK - Timidina cinase (do inglês "thymidine kinase")

TK 1 - Timidina cinase 1 (do inglês "thymidine kinase 1")

TK 2 - Timidina cinase 2 (do inglês "thymidine kinase 2")

TMP - Timidina 5'-monofosfato (do inglês "thymidylate 5'-monophosphate")

TP - Timidina fosforilase (do inglês "thymidine phosphorylase")

TPMT - Tiopurina metiltransferase

TS - Timidilato sintase

I. Introdução

1.1. Síntese das purinas e pirimidinas

A síntese de purina- e pirimidina-nucleótidos é fundamental para a normal replicação, manutenção e função celular. Os purina- e pirimidina-nucleótidos servem como precursores de unidades monoméricas de ácidos nucleicos, o ácido desoxirribonucleótido (DNA) e o ácido ribonucleótido (RNA). Estes são sequências de nucleótidos, na qual os nucleótidos 5'-trifosfato são um substrato para reações catalisadas pela DNA e RNA polimerase (Devlin et al., 1997).

Os nucleótidos são compostos por uma base azotada (purina ou pirimidina), uma pentose e um grupo fosfato, enquanto os nucleósidos não contêm o grupo fosfato (Nelson e Cox, 2005a).

Ao grupo das purinas pertencem a adenina e a guanina (Figura 1), presentes tanto no DNA como no RNA, e ao grupo das pirimidinas pertencem a citosina, presente no DNA e RNA, a timina apenas presente no DNA e o uracilo apenas presente no RNA (Figura 2) (Nelson e Cox, 2005a).

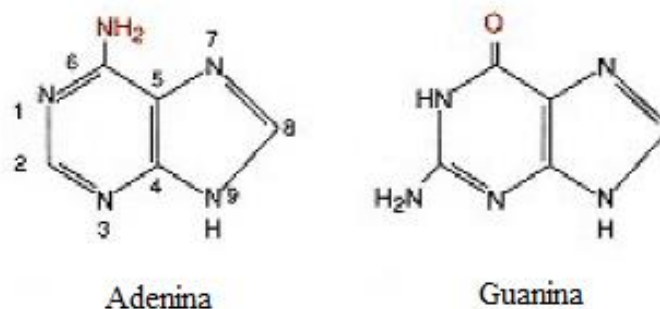


Figura 1. Estrutura das purinas adenina e guanina (adaptado de Devlin et al., 1997).

Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos

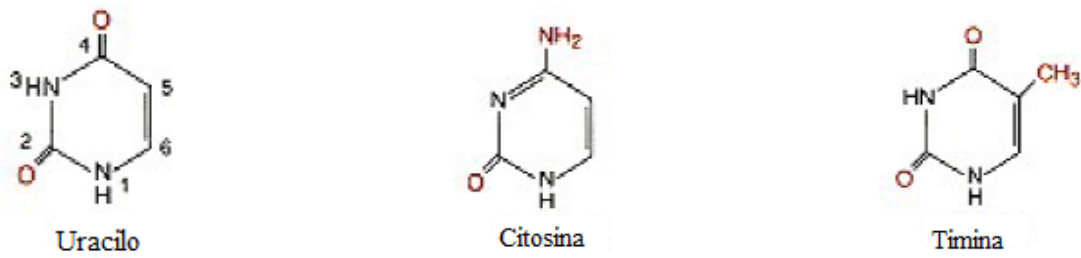


Figura 2. Estrutura das pirimidinas uracilo, citosina e timina (adaptado de Devlin et al., 1997).

O DNA é composto por unidades de desoxirribonucleótidos (desoxirribonucleósidos 5'-monofosfato) e o RNA é composto por unidades de ribonucleótidos (ribonucleósidos-5'-monofosfato) (Figura 3) (Nelson e Cox, 2005a).

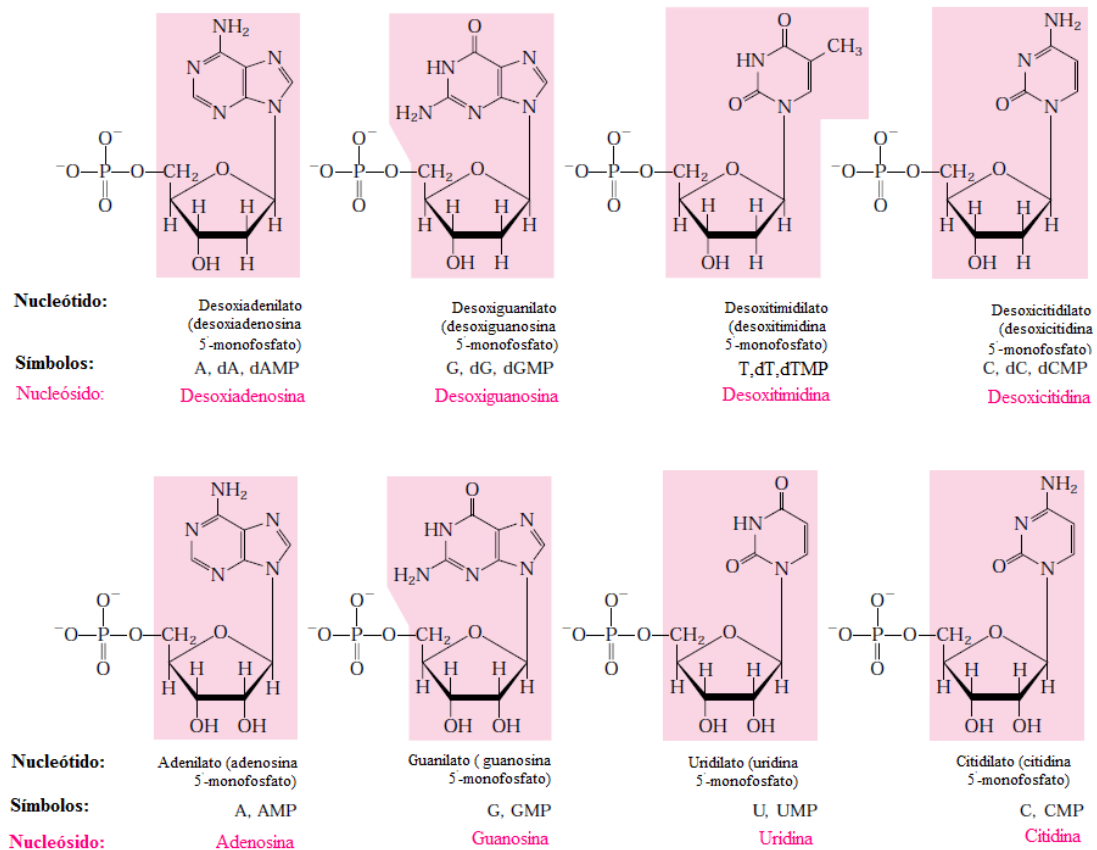


Figura 3. Desoxirribonucleótidos e ribonucleótidos dos ácidos nucleicos (adaptado de Nelson e Cox, 2005a).

Existem dois processos que levam à síntese dos nucleótidos, a via *de novo* e a via de recuperação (Nelson e Cox, 2005b).

A via *de novo* do anel purínico leva à formação da inosina 5'-monofosfato (IMP), que origina os restantes nucleótidos de purina e os desoxinucleótidos, sendo composta por dez passos metabólicos. O IMP é um precursor quer para a adenosina 5'-monofosfato (AMP) quer para a guanosina 5'-monofosfato (GMP) (Devlin et al., 1997; Hunsucker et al., 2005).

A síntese de purina-nucleótidos por esta via requer aminoácidos como dadores de carbono e azoto, e dióxido de carbono como dador de carbono, tendo como enzimas intervenientes neste processo a glutamina 5-fosforibosil-1-pirofosfato (PRPP) amidotransferase, a glicinamida ribonucleótido (GAR) sintetase, a GAR transformilase, a formilglicinamida ribonucleótido sintetase, a 5-aminoimidazol ribonucleótido carboxilase, a N-succinil-5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido (SAICAR) sintetase, a adenilsuccinato liase, a 5-aminoimidazol-4-carboxiamida ribonucleótido (AICAR) transformilase e a IMP ciclohídroilase, todas presentes no citosol da célula (Figura 4) (Devlin et al., 1997; Nelson e Cox, 2005b).

A síntese de recuperação das purinas tem como função libertar os nucleósidos e bases livres resultantes da quebra dos ácidos nucleicos. Estas porções livres são usadas novamente para compor nucleótidos (Devlin et al., 1997; Nelson e Cox, 2005b).

Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos

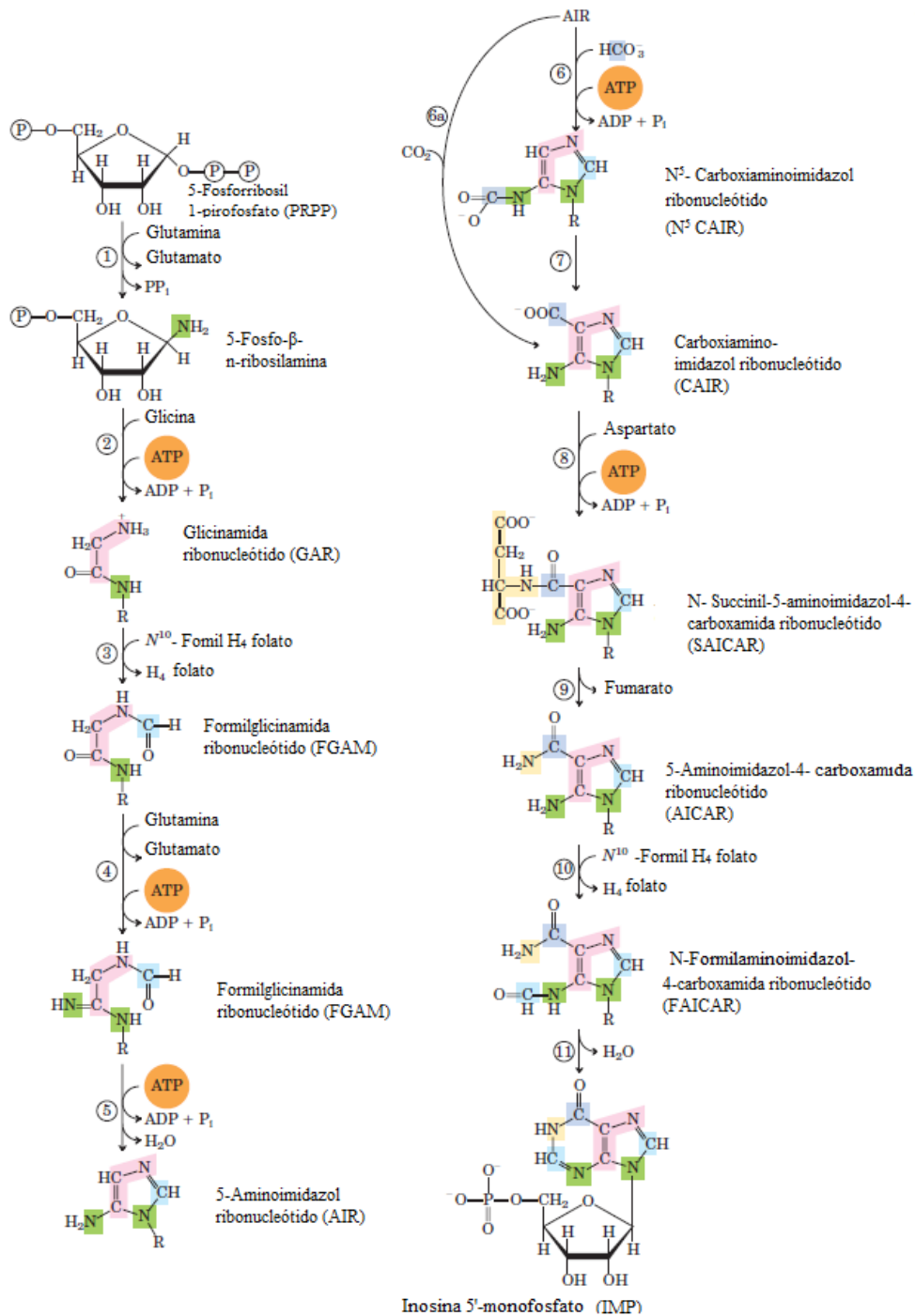


Figura 4. Via da síntese *de novo* dos purina-nucleótidos (adaptado de Nelson e Cox, 2005b).

PRPP: 5-fosforribosil-1-pirofosfato; **GAR:** glicinamida ribonucleótido; **FGAM:** formilglicinamida ribonucleótido; **AIR:** 5-aminoimidazol ribonucleótido; **CAIR:** carboxiamino-imidazol ribonucleótido; **SAICAR:** N-succinil-5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido; **AICAR:** 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido; **FAICAR:** N-formilaminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido; **IMP:** inosina 5'-monofosfato

O anel das pirimidinas é sintetizado via *de novo* com recurso a aspartato e glutamina como doadores de carbono e azoto e dióxido de carbono como dador de carbono, tendo também como precursor o PRPP (Figura 5) (Devlin et al., 1997).

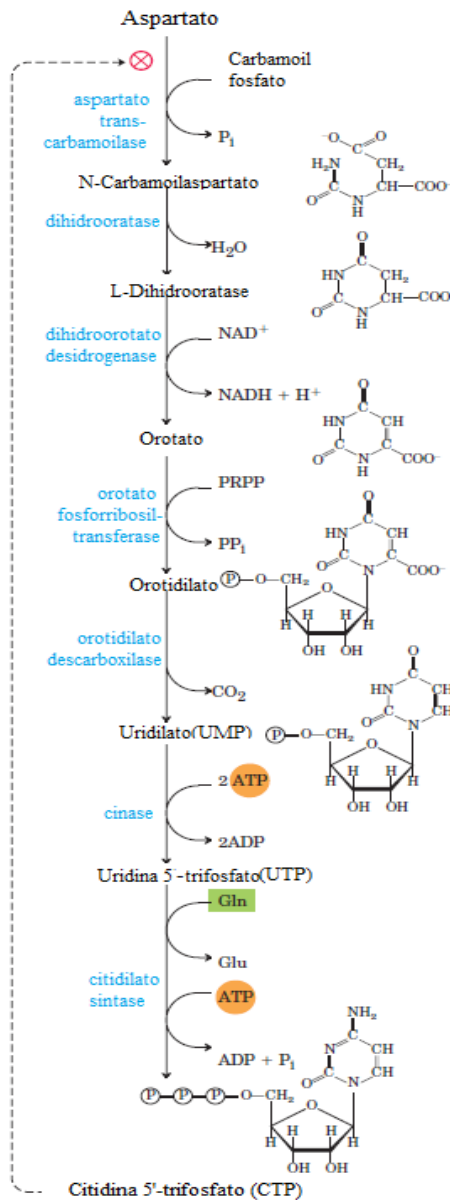


Figura 5. Via da síntese *de novo* dos pirimidina-nucleótidos (adaptado de Nelson e Cox, 2005b).

NAD: nicotinamida-adenina-dinucleótido; **NADH:** nicotinamida-adenina-dinucleótido reduzida; **PRPP:** 5-Fosforibosil-1-pirofosfato; **PP:** vitamina niacina; **UMP:** uridilato; **UTP:** uridina 5'-trifosfato; **ATP:** adenosina 5'-trifosfato; **ADP:** adenosina 5'-difosfato; **CTP:** citidina 5'-trifosfato

A diferença relativamente à síntese das purinas reside no facto de, na síntese das pirimidinas, o anel formar-se primeiro e só posteriormente ocorrer a ligação à ribose 5'-fosfato. O produto final desta síntese é a uridina 5'-monofosfato, ou ainda a citidina 5'-monofosfato, realizada em seis passos metabólicos, cinco dos quais ocorrem no citosol e um ocorre nas mitocôndrias. As enzimas intervenientes neste processo são a carbamoil fosfato sintetase II, a aspartato carbamoil-transferase, a dihidroorotase, a dihidroorotato dihidrogenase, a orotato decarboxilase e a orotidina 5'-monofosfato descarboxilase (Devlin et al., 1997; Loffler et al., 2005; Nelson e Cox, 2005b).

A síntese de recuperação das pirimidinas é feita a nível dos nucleótidos. Esta síntese é realizada em apenas dois passos metabólicos pela uridina fosforilase ou pela timidina fosforilase (TP) e por cinases de nucleósidos (Hunsucker et al., 2005; Nelson e Cox, 2005b).

1.2. Metabolismo dos folatos

Os folatos desempenham uma função importante na biossíntese *de novo* das purinas (ao fornecerem o carbono 1 indispensável para a formação do anel purínico) e na biossíntese *de novo* do timidilato, envolvido na síntese do DNA. Assim, existem fármacos que têm como alvo as enzimas envolvidas no metabolismo dos folatos. Estes são designados de antifolatos e, desempenham um papel crucial no tratamento de neoplasias e de algumas doenças inflamatórias crónicas (Gonen e Assaraf, 2012).

O metabolismo dos folatos (Figura 6) é efetuado a dois níveis, na mitocôndria e no citosol. A enzima timidilato sintase (TS) é a responsável pela conversão da desoxiuridina 5'-monofosfato (dUMP) para desoxitimidina 5'-monofosfato (dTMP) mas, para isso acontecer é necessário que sofra uma metilação redutiva pelo cofator 5,10-metilenotetrahidrofolato (5,10-CH₂-THF). Esta reação origina dihidrofolato (DHF), convertido em tetrahidrofolato (THF) pela dihidrofolato redutase (DHFR). O cofator reduzido 10-metilenotetrahidrofolato, responsável pela transferência do carbono 1, é então utilizado por uma enzima, a glicinamida ribonucleótido formiltransferase (GARFT), formando nas purinas o anel imidazol. Posteriormente, é utilizado novamente mas por uma enzima diferente, a 5-aminoimidazol-4-carboxamida

ribonucleótido formiltransferase (AICARFT), responsável pela formação do intermediário purínico IMP (Gonen e Assaraf, 2012).

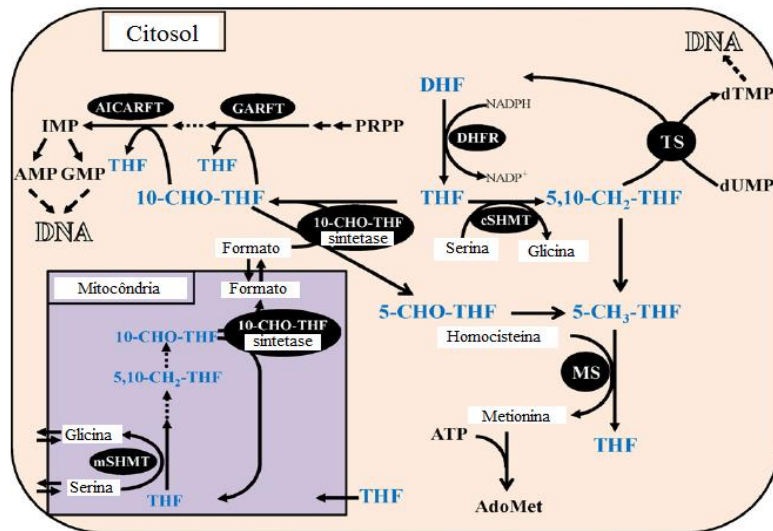


Figura 6. Metabolismo celular dos folatos (adaptado de Gonen e Assaraf, 2012).

IMP: inosina 5'-monofosfato; **AMP:** adenosina 5'-monofosfato; **GMP:** guanosina 5'-monofosfato; **DNA:** ácido desoxirribonucleótido; **AICARFT:** 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótido formiltransferase; **THF:** tetraidrofolato; **10-CHO-THF:** 10-formil tetraidrofolato; **GARFT:** glicinamida ribonucleótido formiltransferase; **DHF:** dihidrofolato; **5,10-CH₂-THF:** 5,10-metilenotetrahidrofolato; **dTMP:** desoxitimidina 5'-monofosfato; **dUMP:** desoxiuridina 5'-monofosfato; **SHMT:** serina hidroximetiltransferase; **5-CH₃-THF:** 5-metil tetraidrofolato; **ATP:** adenosina 5'-trifosfato

Após penetrarem nas células por transportadores de folatos, os antifolatos sofrem metabolização pela folil-poliglutamato sintetase (FPGS) originando conjugados poliglutamilados. Estes conjugados são impermeáveis à membrana plasmática e são substratos pobres para o efluxo de fármacos por parte das principais bombas de efluxo do folato (Figura 7). Isto permite manter níveis intracelulares elevados de cofatores de folato reduzidos para reações biosintéticas. Estas reações são cruciais pois originam metionina, serina e precursores de nucleótidos (Desmoulin et al., 2012).

Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos

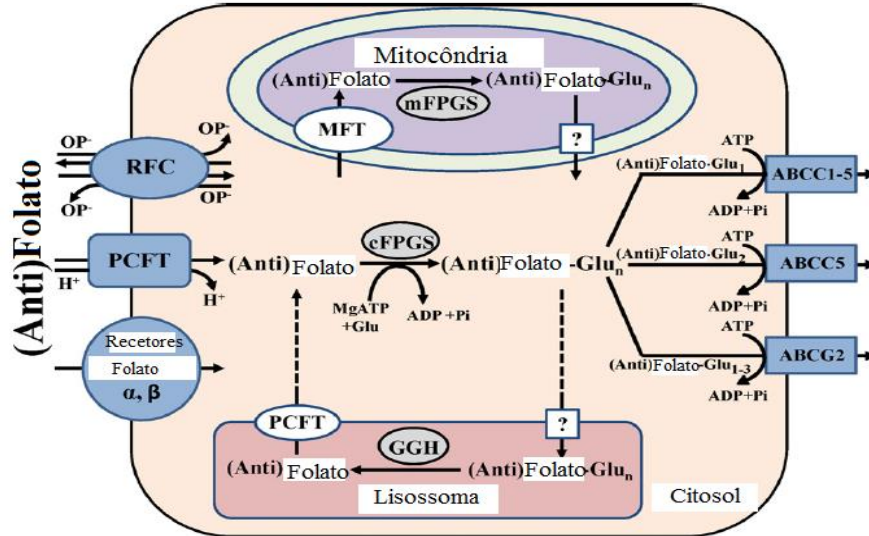


Figura 7. Homeostasia dos folatos e acumulação celular dos antifolatos (adaptado de Gonen e Assaraf, 2012).

RFC: transportador de folato reduzido; **PCFT:** transportador de folato acoplado a prótons; **FPGS:** folil-poliglutamato sintetase; **GGH:** gama glutamil hidrolase; **ABCC1-5, ABCC5 e ABCG2:** genes (proteínas codificantes)

A síntese da TS catalisa a metilação redutiva de dUMP para dTMP tendo como dador de metilo o 5,10-CH₂-THF (Figura 8). Para tal, são necessárias três enzimas, a TS, a DHFR e a serina hidroximetiltransferase (SHMT). O 5,10-CH₂-THF é gerado pelo SHMT e tem como função doar um carbono para a catalisação da dUMP para a dTMP. Por sua vez, a DHFR regenera o THF para ciclos posteriores da síntese *de novo* de timidilato. Esta via torna-se assim importante na resposta aos compostos que têm como alvo a TS (maioria antineoplásicos) e nos inibidores de folato, como é o caso do 5-fluorouracilo e dos antifolatos (Anderson e Stover, 2009; Di Cresce et al., 2011).

Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos

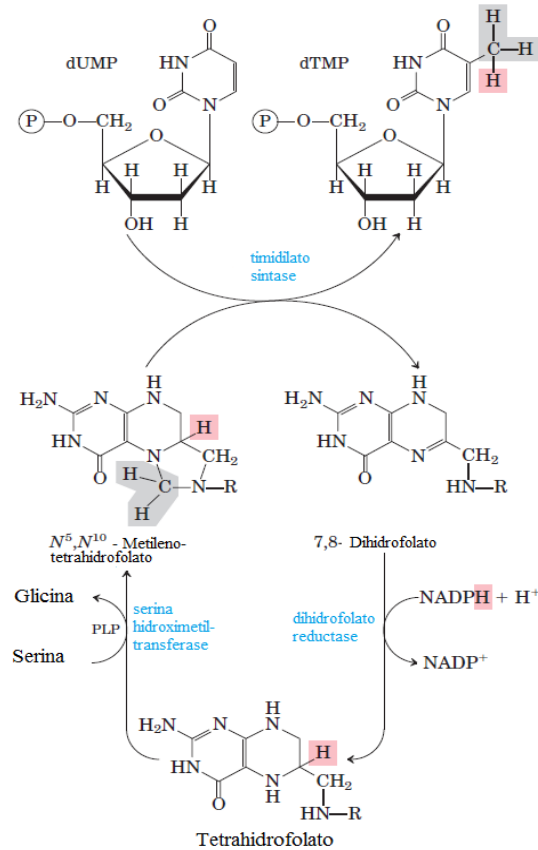


Figura 8. Conversão da dUMP em dTMP pela TS e pela DHFR (adaptado de Nelson e Cox, 2005b).

dUMP: desoxiuridina 5'-monofosfato; **dTMP:** desoxitimidina 5'-monofosfato; **PLP:** piridoxal fosfato

1.3. Mecanismo de ação dos análogos de nucleósidos e/ou nucleóticos

Diversas doenças são causadas por defeitos genéticos em enzimas associadas ao metabolismo dos nucleótidos. Assim, existem fármacos sintetizados com a função de inibirem enzimas específicas numa via metabólica (Devlin et al., 1997).

Os derivados nucleósidos são muito utilizados no tratamento de neoplasias e infecções virais, interferindo com a síntese dos ácidos nucleicos, ora por bloqueio de enzimas ora no metabolismo dos nucleótidos/nucleósidos ora por incorporação no DNA e/ou RNA (Voorde et al., 2012).

Muitos análogos estruturais de nucleósidos e/ou nucleótidos usados em reações metabólicas têm sido sintetizados. Estes atuam como inibidores específicos de enzimas tais como polimerase humanas e virais, cinases, fosforilases de nucleósidos de purinas e pirimidinas e a TS. Por serem estruturalmente semelhantes aos nucleósidos endógenos tornam-se um bom alvo para a terapia anticancerígena e antiviral, uma vez que possuem a capacidade de incorporação quer no DNA quer no RNA, inibindo a divisão celular e a replicação viral. Estes são ativos no tratamento de diversas neoplasias e nos tratamentos de diversas doenças provocadas por vírus, como o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o vírus da hepatite C (HCV), o vírus da hepatite B (HBV), e o vírus do herpes simplex (HSV), sendo que, mais de metade dos compostos antivirais aprovados são análogos de nucleósidos (Jordheim et al., 2013; Palasz e Ciez, 2015).

Relativamente aos antineoplásicos, encontramos os antifolatos como o metotrexato, o pemetrexato e o pralatrexato, os análogos de purinas como as tiopurinas, a azatioprina, a fludarabina e a cladribina, e os análogos de pirimidinas como o 5-fluorouracilo, a citarabina e os agentes desmetilantes (Rang et al., 2008a).

Da classe dos antivirais distinguem-se os inibidores nucleósidos da transcriptase reversa (NRTIs) tais como a zidovudina, a estavudina, a lamivudina, o abacavir, entre outros e os não antirretrovirais tais como o aciclovir, ganciclovir, ribavirina, entre outros (Rang et al., 2008b). Os análogos nucleósidos são pró-fármacos e, como tal, para exercerem atividade nas enzimas alvo, têm de ser convertidos à sua forma ativa por ação de enzimas celulares. Têm a capacidade de penetrar nas células por transportadores próprios nas quais, são fosforilados por cinases, o que resulta numa acumulação da forma di- e trifosfatada em todas as células do organismo humano, incluindo nas células cancerígenas e nas células infetadas por vírus (Figura 9) (Egeblad et al., 2012; Jordheim et al., 2013).

Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos

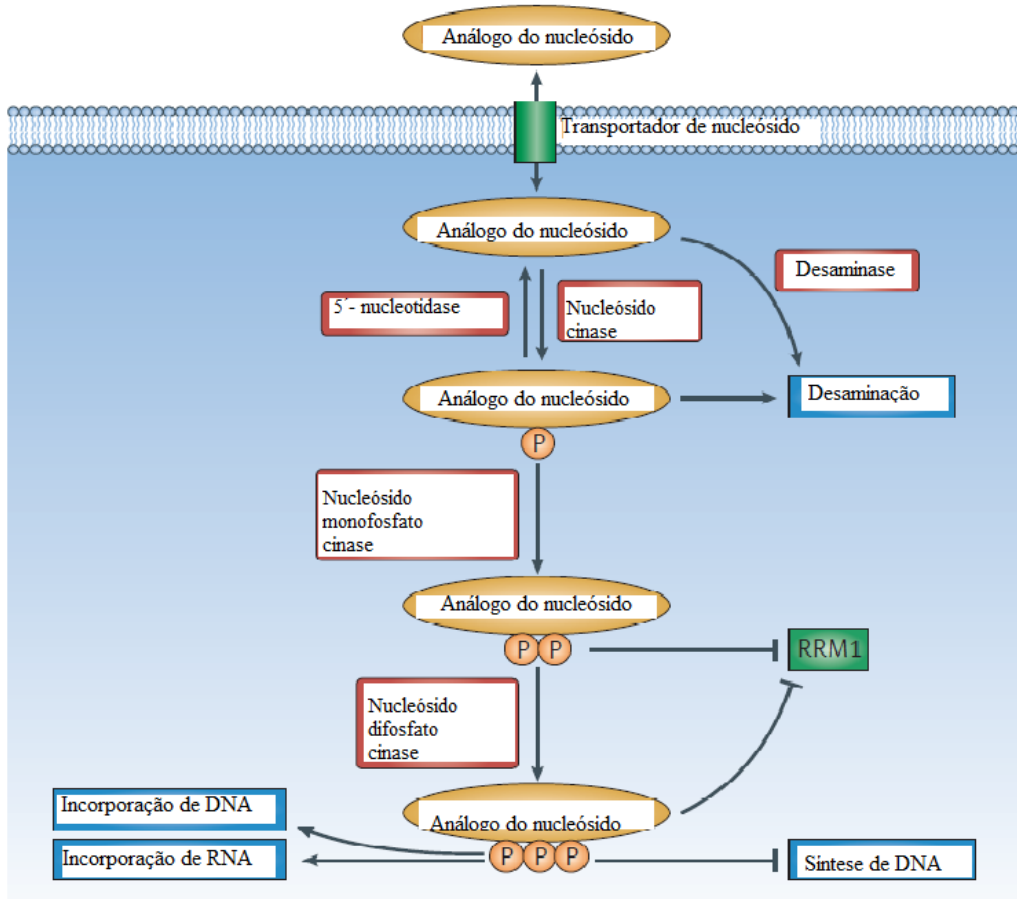


Figura 9. Mecanismo de ação dos análogos nucleosídicos (adaptado de Jordheim et al., 2013)

Os análogos nucleosídicos de purina têm uma estrutura similar à adenosina e guanosina e são um pilar no tratamento de malignidades hematológicas, formando uma classe de compostos citotóxicos. Atuam como antimetabólitos ao competir com os nucleosídicos endógenos na síntese do DNA e do RNA e por inibição de enzimas celulares chave (Robak e Robak, 2013).

Os análogos nucleosídicos ao atuarem como antineoplásicos impedem a síntese do DNA por inibição das DNA polimerases e por incorporação no DNA. Relativamente aos antivirais que atuam como finalizadores da cadeia de DNA viral, têm como alvo ou a transcriptase reversa (RT) dos retrovírus ou as DNA polimerases dos vírus, competindo

com o substrato natural (trifosforilado) pela incorporação no novo DNA sintetizado (Deville-Bonne et al., 2010; Hunsucker et al., 2005).

Contudo, apesar destes compostos se terem revelado eficazes, torna-se necessário desenvolver novos compostos de modo a contornar problemas como resistências, biodisponibilidade oral, toxicidade a longo prazo e variabilidade inter-individual (Jordheim et al., 2013).

1.4. Metodologia

O presente trabalho, de carácter individual, tem como objetivo a realização de uma revisão cuidada e crítica da literatura científica publicada sobre a utilização de compostos que interferem no metabolismo de purina- e pirimidina-nucleótidos como agentes terapêuticos, nomeadamente: abordagem no metabolismo de purina- e pirimidina-nucleótidos como agentes terapêuticos, principalmente a síntese; compostos que interferem nessa síntese e em que patologias são usados; tratamento dessas patologias (fundamentalmente no tratamento anticancerígeno e infeções provocadas pelo HIV); mecanismo de ação dos fármacos propostos para estes tratamentos e em que parte do processo os agentes terapêuticos funcionam como inibidores, permitindo também dar cumprimento a um momento de avaliação do curso ministrado.

A escolha deste tema deveu-se ao facto de poder aprofundar temas lecionados ao longo do curso mas, ao mesmo tempo assimilar e estudar o funcionamento de compostos usados no tratamento de algumas das doenças mais fatídicas a nível mundial.

Para tal, foi feita uma pesquisa bibliográfica entre Novembro de 2014 e Agosto de 2015 com recurso a vários motores de busca, de modo a poder obter artigos científicos relacionados com o tema escolhido.

Os motores auxiliares para a pesquisa foram: o Pubmed, o ScienceDirect, o Scielo e o Google Scholar, utilizando as seguintes palavras-chave: "*synthesis of purine nucleotides*", "*synthesis of pyrimidine nucleotides*", "*purine and pyrimidine nucleotides*

as therapeutic agents", *"purine and pyrimidine as therapeutic agents in HIV"* e *"purine and pyrimidine as therapeutic agents in cancer"*. Nestes, foram aplicados filtros de pesquisa de modo a identificar apenas artigos que datassem desde o ano de 2000 até ao ano de 2015.

No total, para a realização deste trabalho, foram selecionados 64 artigos, publicados entre o ano de 2000 até ao ano corrente.

Foram também utilizados alguns livros para complementar a pesquisa bibliográfica, como o *"Lehninger, Principles of Biochemistry"*, *"As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman"*, *"Farmacologia"*, e o *"Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations"* assim como alguns locais da Internet de carácter científico.

II. Antineoplásicos

Ao longo dos anos foi possível acompanhar um desenvolvimento da terapia anticancerígena. Contudo, as resistências às diferentes opções terapêuticas ainda refletem um problema atual. Isto acontece devido à dificuldade em encontrar um fármaco que atue da mesma maneira em tumores com a mesma histologia devido às características genéticas de cada indivíduo, como polimorfismos de nucleótido único, número de cópias dos genes e expressão dos genes, cruciais na resposta ao tratamento. Assim, é fulcral consciencializar a importância da herança genética na suscetibilidade individual ao tratamento contra o cancro. Torna-se então um desafio criar e desenvolver novas estratégias terapêuticas (Buqué et al., 2013).

Os antimetabolitos são compostos anti tumorais pertencentes à família de agentes citotóxicos. Estes são análogos estruturais de bases de purinas e pirimidinas (ou os correspondentes nucleósidos) e também análogos de folato envolvidos em várias etapas da biossíntese das purinas e pirimidinas, usados nas suas diversas formas de coenzimas. Estes compostos inibem a síntese dos constituintes do DNA impedindo a sua replicação pela diminuição de nucleótidos, embora se mantenham por vezes na forma de falsos ácidos nucleicos, originando a morte celular e quebras na cadeia do DNA devido a alterações estruturais (Lansiaux, 2011).

O metotrexato, o 5-fluorouracilo, a citarabina, a gemcitabina e o pemetrexedo são os compostos mais usados desta classe. A investigação e síntese destes compostos continua ativa, nomeadamente no campo da hematologia, tendo sido aprovados para tratamento da leucemia e/ ou síndromes mielodisplásicas, a clofarabina, a nelarabina, a azacitidina e a decitabina (Lansiaux, 2011).

2.1. Antifolatos

Os antifolatos são os antimetabolitos mais antigos. A aminopterina foi a primeira a constar na Farmacopeia, tendo sido mais tarde substituída pela ametofterina (metotrexato) por se terem verificado remissões na leucemia infantil. Os antifolatos, as antipurinas e antipirimidinas são moléculas antigas mas que continuam a ser alvo de melhoramento a nível da farmacocinética e/ou farmacogenética. O estudo acerca das várias possibilidades de associações com terapias direcionadas é contínuo e esperam-se nesta área avanços importantes (Lansiaux, 2011).

2.1.1. Metotrexato

O metotrexato (Metex®, Rheumatrex®) (Figura 10) é um antagonista do ácido fólico que anula a formação de folatos reduzidos ao inibir a DHFR, o que impede a regeneração de THF a partir do DHF e impede a síntese de timidilato, de metionina, de nucleótidos de purina, de proteínas, do RNA e do DNA a nível da fase S do ciclo celular (Allison, 2000; Cipriani et al., 2014; Lansiaux, 2011).

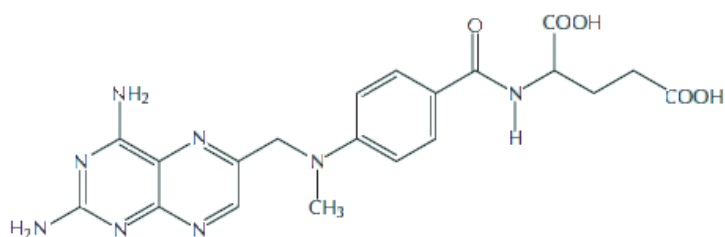


Figura 10. Estrutura do metotrexato (Lansiaux, 2011).

A sua entrada nas células ocorre através de sistemas transportadores, como o transportador de folato reduzido (RFC), recetor de folato e também um transportador a

pH baixo, o transportador de folato acoplado a prótons (PCFT), dando início à sua ativação pelo glutamato devido à FPGS (Figura 11). A forma poliglutamilada do metotrexato é um potente inibidor da AICAR e da TS, o que permite a ligação à DHFR reduzindo quer a sua quantidade quer a quantidade de THF necessário à síntese de bases púricas, comprometendo a síntese do DNA (Allison, 2000; Cherian et al, 2013; Gonen e Assaraf, 2012; Lansiaux, 2011).

De salientar a importância do PCFT no transporte através das membranas intestinais, visto que a maior parte dos tumores sólidos apresenta um microambiente a pH baixo, favorecendo a absorção celular do fármaco. O metotrexato reduz a desoxitimidina 5'-trifosfato (dTTP) necessária para a síntese de DNA, pois o THF é usado na conversão da dUMP em dTMP, catalisada pela TS (Figura 11). O PFCT tem um papel importante neste processo ao permitir que, mesmo após ter sido eliminado do plasma, o metotrexato se mantenha dentro das células, facilitando aos doentes uma toma semanal (Allison, 2000; Cherian et al., 2013; Cipriani et al., 2014).

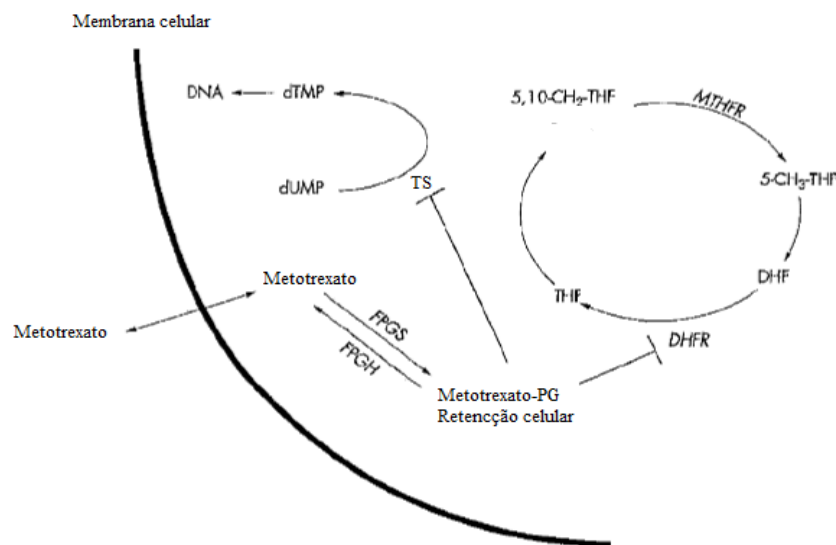


Figura 11. Metabolismo celular do metotrexato (adaptado de Kremer, 2004).

DNA: ácido desoxirribonucleico; **dTMP:** desoxitimidina 5'-monofosfato; **dUMP:** desoxiuridina 5'-monofosfato; **TS:** timidilato sintase; **FPGS:** folil-poliglutamato sintetase; **FPGH:** folil-poliglutamato hidrolase; **5,10-CH₂-THF:** 5,10-metilenotetrahidrofolato; **MTHFR:** metileno tetrahidrofolato redutase; **5-CH₃-THF:** 5-metiltetrahidrofolato; **DHF:** dihidrofolato; **DHFR:** dihidrofolato redutase; **THF:** tetrahidrofolato; **PG:** poliglutamato

A atividade inibitória do metotrexato em várias enzimas envolvidas no metabolismo de bases de purina, através da acumulação de adenosina, pode determinar o seu efeito terapêutico. Estes efeitos modulam a função dos linfócitos e macrófagos, reduzindo a quimiotaxia das células polimorfonucleares e diminuem a produção das imunoglobulinas e citocinas pró-inflamatórias (Cipriani et al., 2014).

Este antimetabolito é geralmente administrado por via oral no tratamento de leucemias linfoblásticas agudas (LLA). No tratamento de osteossarcomas, das LLA em crianças com idade inferior a 1 ano e nos linfomas não-Hodgkin (NHL) é administrado por via intravenosa em doses muito elevadas. É utilizada uma dose convencional em quadros de tumores trofoblásticos, tumores mamários e raramente em alguns tumores sólidos como no cancro da bexiga, no cancro do pulmão de não-pequenas células (NSCLC) e no cancro das vias aéreas e digestivas superiores. Pode ainda ser administrado por via intratecal no tratamento de meningites tumorais, em cancros mamários, cancro da cabeça e do pescoço, cancro da bexiga e coriocarcinoma (Gonen e Assaraf, 2012; Lansiaux, 2011).

O metotrexato possui também atividade anti-inflamatória e imunossupressora uma vez que, quer o composto em si quer a sua forma poliglutamilada, têm a capacidade de suprimir respostas anti-inflamatórias devido à libertação da adenosina e induzem a apoptose de linfócitos T ativos, sendo aplicado em doentes com artrite reumatoide. É o composto eleito no tratamento desta doença, apresentado uma boa eficácia e disponibilidade em doses baixas com uma boa relação risco/benefício. Mostrou ser igualmente eficaz noutras doenças do foro imunológico tais como, psoríase, lúpus eritematoso sistémico, artrite psoriática, poliomiosite, dermatomiosite e granulomatose com poliangéite, mas também na doença de Crohn quando a terapia com corticosteroides não é possível (Allison, 2000; Cipriani et al., 2014).

A resistência a este fármaco pode ser provocada por: falta de seletividade tumoral, por uma diminuição da penetração nas células ou devido a um aumento do seu efluxo, por uma diminuição da sua ativação por poliglutamilação, por uma inativação da molécula por hidrólise e, por mutações e/ou amplificação da DHFR que modifica a sua afinidade e expressão (Figura 12) (Desmoulin et al., 2012; Lansiaux, 2011).

Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos

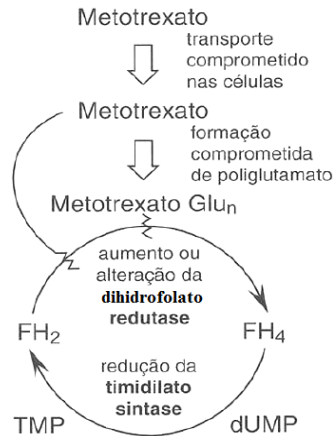


Figura 12. Mecanismo de resistência do metotrexato nas células tumorais (Hardman e Limbird, 2005d).

FH₂: dihidrofolato; **FH₄**: tetrahydrofolato; **TMP**: timidina 5'-monofosfato; **dUMP**: desoxiuridina 5'-monofosfato; **Glu_n**: poliglutamato

De salientar que quaisquer alterações genéticas no RFC podem levar a uma absorção prejudicada de alguns antifolatos. Efeitos adversos podem ser verificados com a toma conjunta com tetraciclinas e sulfonamidas, levando a uma interferência com a ligação às proteínas plasmáticas (Buqué et al., 2013; Cipriani et al. 2014).

Na busca de diminuir os fenômenos de resistência e toxicidade do metotrexato, a síntese de outros antifolatos permitiu descobrir outros compostos que interferem com enzimas do metabolismo fólico, o pemetrexedo (Alimta®) que tem como alvo várias enzimas da via do folato e o pralatrexato (Folotyn®) usado no tratamento do cancro da bexiga e em linfomas de células T refratárias. Estes compostos têm uma maior capacidade de transporte para o interior das células tumorais (Hardman e Limbird, 2005d).

2.1.2. Pemetrexedo

O pemetrexedo (Alimta®) (Figura 13) é um fármaco anticancerígeno que atua como um potente inibidor de várias enzimas dependentes do folato, envolvidas na biossíntese *de novo* de nucleótidos de purinas e pirimidinas (Lansiaux, 2011).

Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos

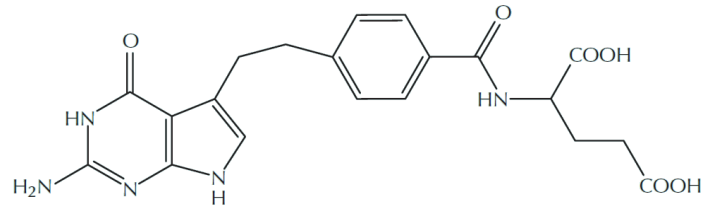


Figura 13. Estrutura do pemetrexedo (Lansiaux, 2011).

Penetra nas células através do RFC e tem como principal alvo a inibição da enzima TS mas, inibe também a DHFR, a GARFT, a aminoimidazol carboxamida ribonucleótido transformilase (AICART) e ainda a SHMT, responsável pela catálise da conversão de THF (Figura 14). Este composto é também um substrato para a FPGS, afetando o seu efeito inibidor a nível da TS, da GARFT, da DHFR e da AICARFT (Buqué et al., 2013; Frings et al., 2013; Gonen e Assaraf, 2012; Lansiaux, 2011).

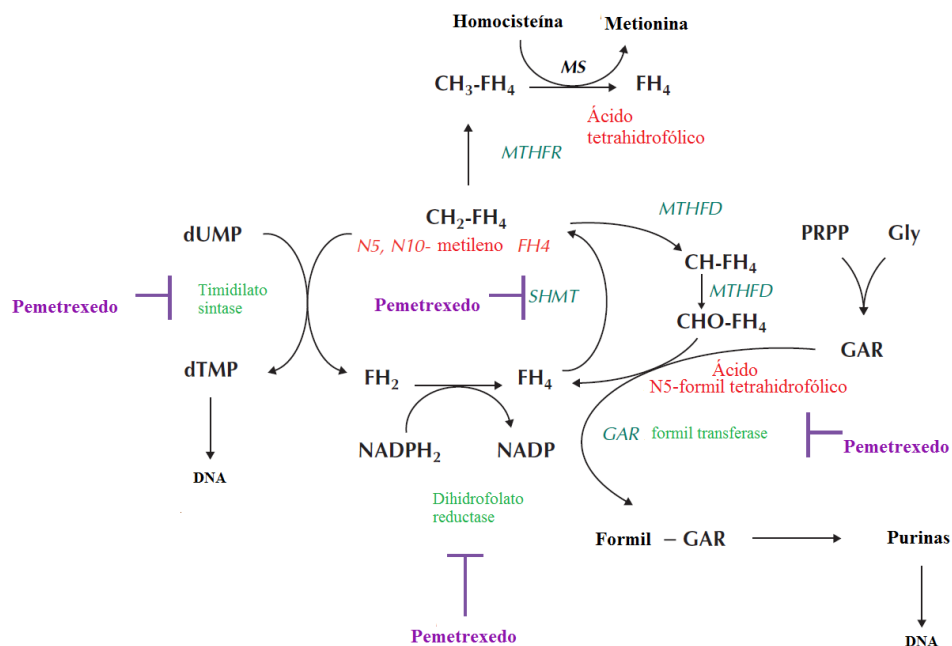


Figura 14. Via de atuação do pemetrexedo (adaptado de Lansiaux, 2011).

MTHFR: metileno tetrahydrofolato redutase; **MTHFD:** metileno tetrahydrofolato desidrogenase; **MS:** metionina sintetase; **SHMT:** serina hidroximetiltransferase; **GAR:** 5-fosforibosil glicinamida; **dUMP:** desoxiuridina 5'-monofosfato; **NADPH₂:** dihidrogeno fosfato de nucleótido de nicotinamida e adenina; **NADPH:** hidrogeno fosfato de nucleótido de nicotinamida e adenina; **GAR:** 5-fosforibosil glicinamida; **CH₂-FH₄:** metilenotetrahydrofolato; **CH₃-FH₄:** metiltetrahydrofolato; **CHO-FH₄:** formil tetrahydrofolato; **PRPP:** 5-fosforibosil-1-pirofosfato; **Gly:** glicina; **N₅,N₁₀-metileno-FH₄:** 5,10-metilenotetrahydrofolato

A bioquímica do pemetrexedo é comum em todas as células tumorais e exerce o seu efeito sobre um largo espectro de tumores independentemente das suas mutações, tendo como principal alvo a TS em todas as células tumorais (Figura 15). A TS é uma enzima chave para a síntese do DNA e, como tal, um alvo para fármacos anticancerígenos. Os seus níveis dependem do ciclo celular, aumentando na fase S e diminuindo antes da fase G2. É a enzima essencial na via de síntese *de novo* de nucleótidos de timidina. Quando a via é suprimida por um inibidor da TS (neste caso pelo pemetrexedo), a síntese do DNA dependerá da via de recuperação, que vai ser estimulada (Buqué et al., 2013; Di Cresce et al., 2011; Frings et al., 2013).

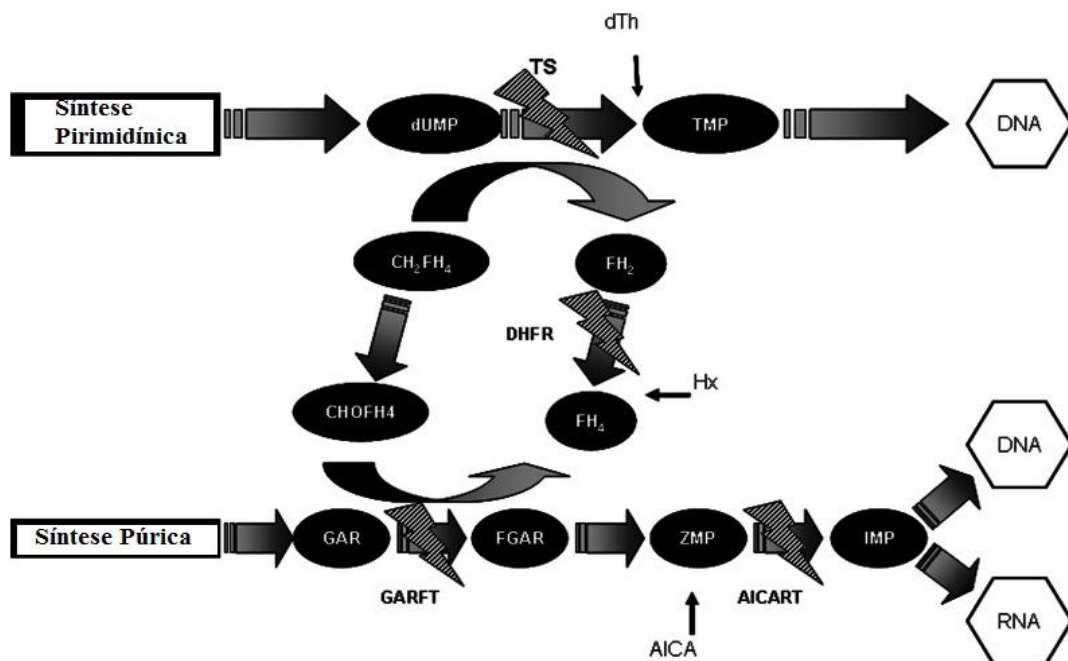


Figura 15. Biossíntese das purinas e pirimidinas com indicação, em forma de relâmpago, de alguns alvos do pemetrexedo (adaptado de Buqué et al., 2013)

dUMP: desoxiuridina 5'-monofosfato; **TMP:** timidilato 5'-monofosfato; **DNA:** ácido desoxirribonucleico; **CH₂-FH₄:** metilenotetrahidrofolato; **CHOHF₄:** formiltetrahidrofolato; **GAR:** 5-fosforibosil glicinamida; **FGAR:** formilglicinamida ribonucleótido; **AICA:** 5-aminoimidazol-4-carboxamida; **ZMP:** AICA ribotido; **IMP:** inosina 5'-monofosfato; **RNA:** ácido ribonucleico

Outra forma de atuação consiste na utilização do ácido fólico como um veículo e não com um alvo, permitindo assim que a molécula citotóxica sofra endocitose para dentro da célula e chegue a outro alvo celular (Buqué et al., 2013).

A sensibilidade das células tumorais ao pemetrexedo segue um padrão de expressão genética, na qual uma expressão aumentada da TS está correlacionada com a falta de inibição de AICART, havendo um impedimento do desenvolvimento de resistência ao pemetrexedo. Esta correlação entre as características genéticas intrínsecas de tumores e a inibição do GARFT ou AICART pelo pemetrexedo pode ser a base de uma abordagem genética para a determinação da sensibilidade de células tumorais para o pemetrexedo e a sua capacidade de se tornar resistente a este antifolato. O pemetrexedo apresenta a capacidade de sincronização das células na fase S, ao contrário dos antifolatos seletivos para a GARFT (Buqué et al, 2013; Lansiaux, 2011).

O pemetrexedo apresenta um mecanismo de resistência diferente dos outros antimetabolitos. Mantém-se no meio intracelular devido a um recetor baixo de pH apesar de resistente ao folato após a perda da função do RCF (Lansiaux, 2011).

O pemetrexedo trouxe um avanço significativo no tratamento do NSCLC aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2008 e, tem sido usado nesta patologia como tratamento de primeira linha em oncologia clínica em combinação com a cisplatina ou a carboplatina, em monoterapia no NSCLC metastático e no tratamento do mesotelioma pleural maligno (aprovado pela FDA para esta neoplasia em 2004). Pelo facto de conseguir regular simultaneamente várias vias relacionadas com a progressão do melanoma, este pode ser também uma opção para doentes que sofram de melanoma metastático. Contudo, o pemetrexedo apresenta vários efeitos secundários, como erupção cutânea, náuseas, faringite, depressão da medula óssea e anemia e pode ainda provocar toxicidade em tecidos saudáveis (Cherian et al., 2013; Desmoulin et al., 2012; Frings et al., 2013; Lansiaux, 2011).

2.1.3. Pralatrexato

O pralatrexato (Foloty[®]) (Figura 16) tem como alvo principal a DHFR (Izbicka et al., 2009).

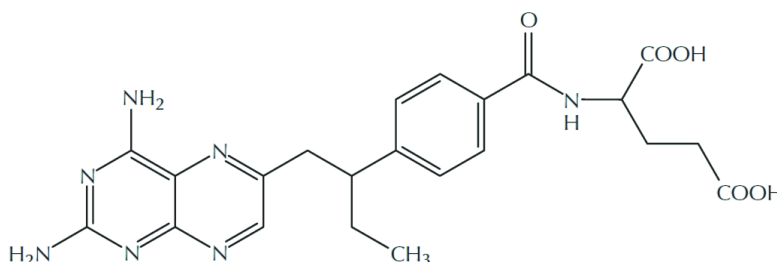


Figura 16. Estrutura do pralatrexato (Lansiaux, 2011).

A DHFR converte o DHF em THF, responsável pela síntese de purinas e da timidilato 5'-monofosfato (TMP). A inibição da DHFR resulta numa redução de TMP o que leva à inibição da síntese do DNA e RNA. Apresenta maior afinidade para o RFC do que o metotrexato, o que favorece a sua acumulação nas células, mas também para a FPGS (Figura 17). Foi sintetizado visando a melhoria da atividade citotóxica de outros antifolatos (Gonen e Assaraf, 2012; Lansiaux, 2011; Marchi e O'Connor, 2012).

O pralatrexato apresenta boa tolerância e eficácia no tratamento do NSCLC e em linfomas recidivos ou refratários de células T, o que facilitou a obtenção da autorização para o seu uso terapêutico. A sua atividade anticancerígena é mais eficaz do que a do metotrexato, estando aprovado pela FDA desde 2009 para o tratamento do linfoma periférico das células T. Contudo, continuam a ser feitos ensaios clínicos para outros tratamentos anticancerígenos como para o cancro mamário, NHL e cancro da cabeça e do pescoço (Desmoulin et al., 2012; Gonen e Assaraf, 2012; Lansiaux, 2011).

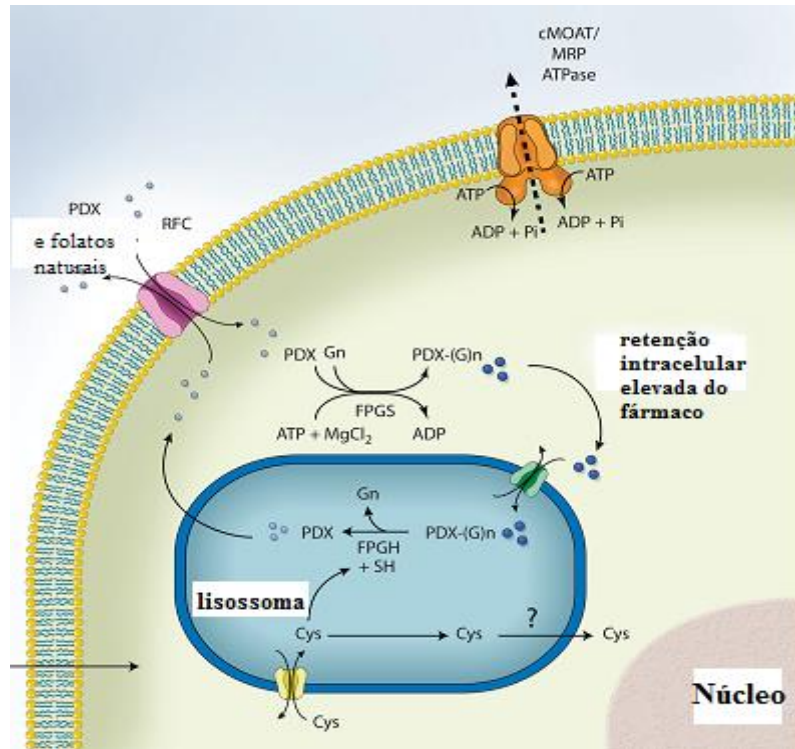


Figura 17. Internalização e retenção do pralatrexato no interior das células (adaptado de Marchi e Connor, 2012).

PDX: pralatrexato; **RFC:** transportador de folato reduzido; **ADP:** adenosina 5'-monofosfato; **ATP:** adenosina 5'-trifosfato; **PDX-(G)n:** pralatrexato poliglutamilado; **FPGS:** folil-poliglutamato sintetase; **FPGH:** folil-poliglutamato hidrolase; **cMOAT:** transportador canicular multiespecífico anião-orgânico; **MRP:** resistência a vários fármacos associada a proteínas

2.2. Análogos de Purinas

Os análogos de nucleósidos de purina são fármacos citotóxicos (quer na fase do ciclo mitótico quer na fase quiescente) com estrutura química semelhante à adenosina ou à guanosina que desempenham um papel importante no tratamento de neoplasias hematológicas, especialmente doenças malignas linfoides e mieloides. Atuam como inibidores da síntese e da reparação do DNA provocando quebras no DNA, e desse modo induzindo a apoptose mas, atuam também como antimetabolitos ao competirem com nucleósidos endógenos durante a síntese do DNA e RNA e como inibidores de enzimas celulares importantes. A sua atividade citotóxica deve-se à competição com

nucleósidos fisiológicos que interagem com um elevado número de alvos intracelulares (Robak e Robak et al, 2013).

2.2.1. Tiopurinas

Algumas tiopurinas como a azatioprina, a 6-tioguanina e a 6-mercaptopurina apresentam propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e imunossupressoras (Daehn et al, 2013).

2.2.1.1. 6-Mercaptopurina

A 6-mercaptopurina (6-MP) (Xaluprine®, Purixan®) (Figura 18) quando ativada no nucleótido citotóxico tioguanina, inibe a síntese do DNA e RNA ao competir com as bases das purinas endógenas na síntese do DNA (Karim et al., 2013; Lansiaux, 2011).

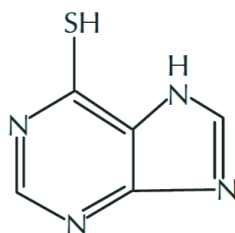


Figura 18. Estrutura da 6-mercaptopurina (Lansiaux, 2011).

Nas células, a 6-MP é convertida em dois metabolitos, o 6-tioinosina-5'-monofosfato (TIMP) pela hipoxantina-guanina-fosforibosil-transferase (HGPRT) que, por sua vez, pode ser convertida em 6-tioguanosina-5'-monofosfato (TGMP) pela inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH) e pela guanosina 5'-monofosfato sintase (GMPS), o que vai inibir a biossíntese *de novo* das purinas (Figura 19). A sua metabolização pode ocorrer por diversos mecanismos, como hidroxilação pela xantina oxidase, adição de um grupo fosforibosil pela HGPRT, ou ainda metilação pela tiopurina metiltransferase (TPMT). Esta metilação, para além de resultar no metabolito inativo metilmercaptopurina, fornece propriedades anti proliferativas à 6-mercaptopurina (Karim et al., 2013; Lansiaux, 2011).

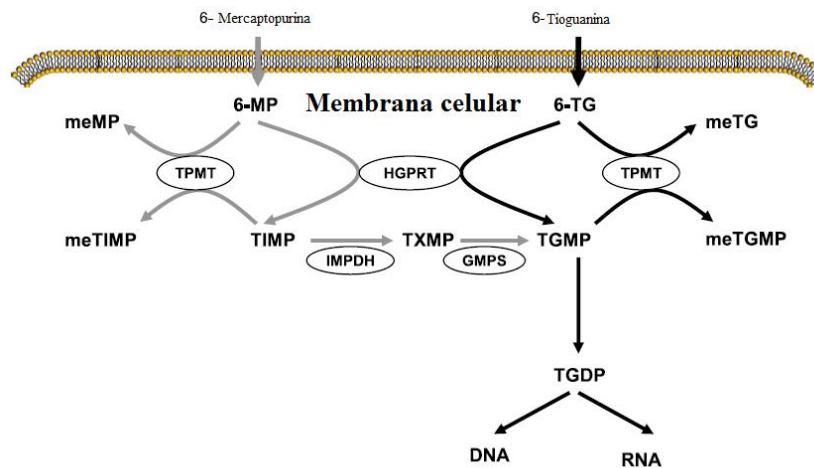


Figura 19. Metabolismo da 6-mercaptopurina e da 6-tioguanina pelas células leucémicas humanas (adaptado de Karim et al., 2013).

6-MP: 6-mercaptopurina; **6-TG:** 6-tioguanina; **TIMP:** 6-tioinosina-5'-monofosfato; **IMPDH:** inosina monofosfato desidrogenase; **GMPS:** guanossina 5'-monofosfato sintase; **TGMP:** 6-tioguanina-5'-monofosfato; **TGDP:** 6-tioguanina-5'-difosfato; **DNA:** ácido desoxirribonucleico; **RNA:** ácido ribonucleico

A 6-mercaptopurina é prescrita em casos de LLA e leucemia mieloide aguda (LMA) em crianças, em doenças inflamatórias crônicas e em transplantes. Quando há uma deficiência de TPMT relacionado com o seu polimorfismo, pode haver uma toxicidade grave. Existem evidências que uma diminuição ou inexistência da TPMT e da HGPRT podem levar a uma sensibilidade e resistência de 6-mercaptopurina nas células leucémicas. O mesmo acontece com a 6-tioguanina (Allison, 2000; Karim et al, 2013; Lansiaux, 2011; Sahasranaman et al., 2008).

2.2.1.2. 6-Tioguanina

A 6-tioguanina (Lanvis®) (Figura 20) exerce a sua atividade citotóxica por incorporação no DNA ao ser convertida em TGMP pela HGPRT (Karim et al., 2013).

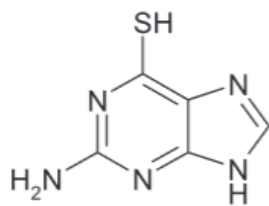


Figura 20. Estrutura da 6-tioguanina (Almeida, 2005).

Os seus metabolitos, S⁶-metiltio-2-aminopurina e ácido 2-aminopurina-6-sulfônico, afetam o DNA de cadeia dupla mais fortemente do que a 6-tioguanina. Assim, estes metabolitos têm um papel potencialmente importante no bloqueio da síntese do DNA e apresentam menos sensibilidade ao polimorfismo do TPMT. A metilação pelo TPMT resulta no metabolito inativo metilguanina (Karim et al., 2013; Lansiaux, 2011).

A 6-tioguanina é usada principalmente na LLA pediátrica e em casos de intolerâncias imunoalérgicas a outros análogos de purina ou quando não são obtidos resultados com esses compostos. Tal como a 6-mercaptopurina é um dos tratamentos pilar protocolados na leucemia aguda infantil. Contudo, ambas apresentam um índice terapêutico estreito que pode resultar em mielossupressão. A 6-tioguanina não é mielotóxica mas pode provocar a citólise do fígado e doenças associadas a este órgão. Pelo facto de não realizar todas as passagens enzimáticas como a 6-mercaptopurina, apresenta maior toxicidade (Karim et al, 2013; Lansiaux, 2011).

2.2.1.3. Azatioprina

A azatioprina (Imuran®) (Figura 21) é um derivado do imidazol da 6-mercaptopurina que inibe a síntese do DNA, RNA e algumas proteínas (Allison, 2000; Hardman e Limbird, 2005a).

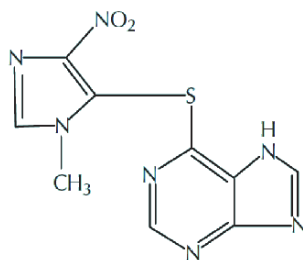


Figura 21. Estrutura da azatioprina (Lansiaux, 2011).

Inicialmente, a azatioprina é reduzida a 6-mercaptopurina na presença de glutatona e de derivados de nitroimidazol, sendo posteriormente metabolizada noutros metabolitos ativos, inibindo a síntese *de novo* das purinas (Figura 22). Estes metabolitos ativos desempenham um papel imunossupressor, sendo um dos pontos que a distingue da 6-mercaptopurina (Allison, 2000; Hardman e Limbird, 2005a; Lansiaux, 2011).

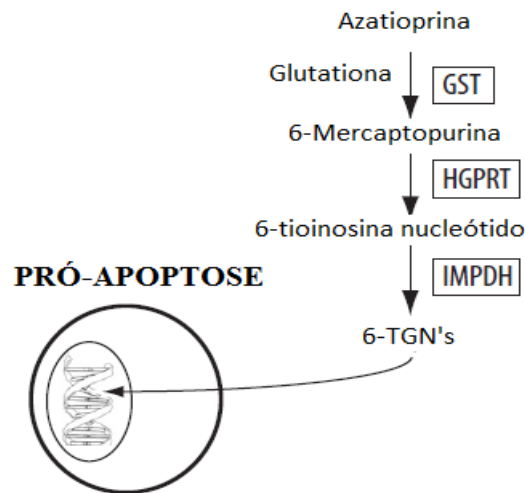


Figura 22. Mecanismo de ação da azatioprina (adaptado de Cara et al., 2004).

GST: glutatona S-transferase; **HGPRT:** hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase; **IMPDH:** inosina monofosfato desidrogenase; **6-TGN's:** metabolito de 6-tioguanina

A azatioprina é indicada na prevenção da rejeição de transplantes de órgãos e no tratamento de doenças autoimunes devido ao seu efeito imunossupressor, como também possui atividade anti leucêmica (Allison, 2000; Lansiaux, 2011).

2.2.2. Fludarabina

A fludarabina (Fludara®) (Figura 23) é um análogo de purina derivado de um nucleótido-monofosfato, a adenina arabinosido 5'-monofosfato, por adição de um átomo de fluor na posição 2 (Lansiaux, 2011).

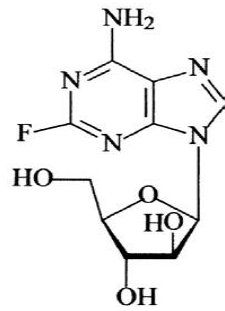


Figura 23. Estrutura da fludarabina (Robak e Robak, 2013).

Para exercer atividade citotóxica, a fludarabina é convertida pela desoxicitidina cinase (dCK) ou desoxiguanosina cinase (dGK) na sua forma trifosfatada, após a sua absorção para as células. Este, tem a capacidade de inibir não só a síntese do DNA e as DNA e RNA polimerases mas também a ribonucleótido redutase (RR) e a reparação do DNA. A sua solubilidade limitada, assim como dificuldades na formulação, levaram à síntese do seu pró-fármaco, a fludarabina 5'-monofosfato, disponível comercialmente (Christopherson et al., 2014; Robak e Robak, 2013).

A fludarabina é utilizada no tratamento da leucemia linfocítica crónica (LLC) em combinação com a ciclofosfamida e rituximab, bem como no tratamento de NHL. Quando usada em monoterapia, ou em combinação com outros fármacos, tem atividade em doentes com LMA recidivante ou refratária, sendo a combinação de fludarabina e citosina arabinosido (ara-C) mais eficaz em doentes que apresentam bom cariótipo ou um cariótipo com risco intermediário. Para prevenir o aparecimento de leucemia secundária tardia, a fludarabina é usada em monoterapia por parecer menos tóxico do que em combinação com a ciclofosfamida (Lukenbill e Kalaycio, 2013; Robak e Robak, 2013).

A fludarabina é principalmente mielotóxica, provocando náuseas e reações alérgicas. Apresenta ainda risco de citólise maciça após provocar a rápida destruição do tumor. Por outro lado, causa deficiência imunológica prolongada. Ao longo do tempo vão surgindo novas formas de tratamento da LLC com novas associações mas o genótipo de

cada doente é um fator importante, uma vez que pode indicar um tratamento mais personalizado (Lansiaux, 2011).

2.2.3. Pentostatina

A pentostatina (Nipent®) (Figura 24) é um nucleósido de purina que atua como inibidor da adenosina desaminase, enzima indispensável para a síntese de bases de purinas, e como inibidor da síntese do DNA e da sua reparação, sendo o único composto desta classe aprovado pela FDA que é ativo sem necessidade de ser metabolizado. É usada em monoterapia no tratamento da leucemia de células pilosas em adultos e no tratamento de doenças malignas do foro hematológico. Contudo, não tem sido administrado na consolidação de remissão em doentes com leucemias agudas (Lansiaux, 2011; Parker, 2009; Robak e Robak, 2013).

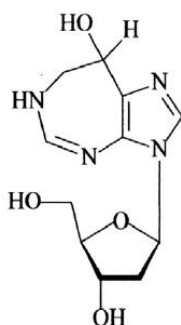


Figura 24. Estrutura da pentostatina (Robak e Robak, 2013).

2.2.4. Cladribina

A cladribina (Leustatin®) (Figura 25) é um derivado de nucleósido da 2-desoxiadenosina com um átomo de cloro na posição 2, o que condiciona a desaminação pela adenosina desaminase (Goodman et al., 2003).

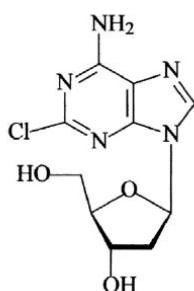


Figura 25. Estrutura da cladribina (Robak e Robak, 2013).

A atividade citotóxica da cladribina acontece quando esta entra na célula por transporte ativo e ocorre a fosforilação pela dCK tornando-a num derivado trifosfatado, a 2-cladribina-trifosfato. Assim, consegue suprimir a síntese do DNA por inibição das DNA polimerases, incorporação no DNA ou inibição da sua reparação. Tem a capacidade de condicionar o metabolismo celular bloqueando o ciclo celular na fase S (Robak e Robak, 2013).

Este composto condiciona um desequilíbrio no reservatório de desoxinucleótidos trifosfatados por inibir a atividade da RR e origina quebras da cadeia do DNA através da ativação das endonucleases (Robak e Robak, 2013).

A cladribina é usada em monoterapia na LMA em adultos e crianças, alcançando melhores resultados em crianças. Não tem resposta terapêutica em doentes com LLA. A associação cladribina-ciclofosfamida é uma das combinações terapêuticas utilizadas no NHL tratados tardiamente (Lansiaux, 2011; Robak e Robak, 2013).

2.2.5. Clofarabina

A clofarabina (Evoltra®) (Figura 26) é um análogo de segunda geração da desoxiadenosina (Lansiaux, 2011).

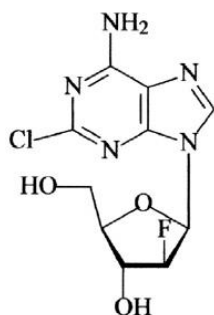


Figura 26. Estrutura da clofarabina (Robak e Robak, 2013).

Depois da sua entrada nas células, a clofarabina é convertida nos metabolitos 5'-monofosfato pela dCK e na sua forma ativa 5'-trifosfato pelas mono- e di-fosfocinases. O derivado trifosfatado da clofarabina é um substrato para as DNA polimerases que comprometem a síntese do DNA ao diminuir a quantidade de desoxinucleótidos disponíveis para a sua síntese mas, pode também apresentar um efeito inibidor na RR e ser incorporada acidentalmente no DNA. Tal como a cladribina, também está aumentada a resistência à desaminação pela adenosina desaminase pois mantém a estrutura da 2-cloroadenina. O flúor na posição 2' é determinante na diminuição da suscetibilidade da clofarabina a clivagem pela purina nucleósido fosforilase (PNP) e aumento da estabilidade da molécula (Lansiaux, 2011; Robak e Robak, 2013).

A clofarabina apresenta uma boa eficácia no tratamento de leucemias mieloides e linfoides, quer em crianças quer em adultos quando utilizada em monoterapia, tendo sido desenvolvida com o objetivo de melhorar a sua incorporação e limitar a toxicidade da dose limitante (Robak e Robak, 2013).

Em estudos de ensaios clínicos de fase I a clofarabina, seja em monoterapia ou em combinação com outros fármacos citotóxicos, mostrou uma atividade anti leucémica promissora em crianças e adultos doentes de LLA recidiva ou refratária, dando seguimento a vários ensaios clínicos de fase II. Foi também sugerido que a clofarabina combinada com a ciclofosfamida e o etoposido podem induzir uma resposta clínica relevante em crianças com LLA refratária ou recidiva (Robak e Robak, 2013).

A clofarabina foi usada em monoterapia como tratamento de indução em 112 adultos com LMA não tratada num estudo de fase II. As toxicidades mais frequentes relacionadas com este composto foram náuseas, neutropenia, febre, vômitos, diarreia, erupção cutânea e fadiga (Robak e Robak, 2013).

Foi também testada a eficácia da clofarabina com outros fármacos antineoplásicos em adultos com LMA não tratada, recidiva ou refratária. Assim, num estudo de fase II em 60 adultos com LMA e síndrome mielodisplásico de alto risco, foi administrada a combinação de clofarabina e ara-C como tratamento de primeira linha, tendo-se revelado um tratamento eficaz e seguro de indução da remissão em ambos os doentes com LMA tratados e não tratados previamente (Robak e Robak, 2013).

A clofarabina está aprovada nos EUA desde dezembro de 2004 pela FDA e desde maio de 2006 pela Comissão Europeia para o tratamento da LMA recidiva ou refratária em crianças, após pelo menos dois regimes de quimioterapia anteriores (Robak e Robak, 2013).

2.2.6. Nelarabina

A Nelarabina (Atriance®) (Figura 27) é um novo análogo da guanina e um pró-fármaco da guanina arabinosido (ara-G) que tem como alvo as células T. O grupo hidrogénio do grupo hidroxilo na posição 6 do anel da guanina é substituído por um grupo metoxi. Difere dos compostos atrás mencionados uma vez que é fosforilado pela dCK para araguanosina 5'-trifosfato (ara-GTP) citosólica ou pela dGK para ara-GTP mitocondrial (Robak e Robak, 2013; Yamauchi et al., 2014).

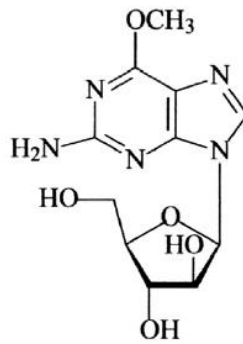


Figura 27. Estrutura da nelarabina (Robak e Robak, 2013).

A nelarabina deve a sua ação citotóxica por competição com desoxinucleósidos nativos como substrato para incorporação no DNA pela DNA polimerase, provocando uma inibição da síntese do DNA e da iniciação da apoptose. Ou seja, é convertida em ara-G pela adenosina desaminase que, por sua vez é transportada para as células T-linfoblastoides por transportadores nucleósidos (Cooper, 2007; Robak e Robak, 2013).

A nelarabina é usada em doenças malignas das células T (leucemias e linfomas) cujo tratamento anterior não obteve resposta, ou em recaídas após o tratamento com pelo menos dois regimes de quimioterapia. A sua combinação com quimioterapia intensiva em crianças com leucemia linfóide aguda de células T (LLA-T) continua a ser estudada (Robak e Robak, 2013).

Recebeu o estatuto de Medicamento Órfão pela Agência Europeia de Medicamentos em junho de 2005 e, foi aprovado pela FDA em outubro de 2005 para o tratamento de LLA-T e do linfoma linfoblástico de células T, ambos recidivos que não tenham respondido ou que tenham sofrido uma recaída após o tratamento com, pelo menos, dois regimes de quimioterapia (Robak e Robak, 2013).

2.2.7. Forodesine

A forodesine (Immucillin H) (Figura 28) é um inibidor da PNP, ainda em estudos pré-clínicos, que tem mostrado atividade em células malignas, nomeadamente na LLA de células T e em linfomas cutâneos de células T (Robak e Robak, 2013).

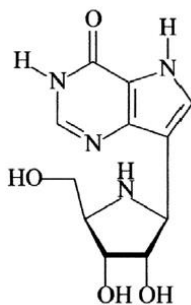


Figura 28. Estrutura da forodesine (Robak e Robak, 2013).

A forodesine é eficaz e bem tolerada quando usada em monoterapia na LLA-T recidiva ou refratária, apresentando toxicidade mínima. Quando administrada aos doentes, possui a capacidade de inibir a PNP, aumentando os níveis plasmáticos da desoxiguanosina (dGuo) e da desoxiguanosina 5'-trifosfato (dGTP) intracelular em células T imaturas. Na ausência do PNP, a concentração do dGuo no plasma é elevada, não sendo clivado em guanosina mas sim convertido intracelularmente em desoxiguanosina 5'-monofosfato. Seguidamente, é convertida na sua forma ativa, a dGTP, reação catalisada pela mono- e difosfocinase. Contudo, estudos futuros ajudarão a definir o seu papel na terapia padrão das doenças acima mencionadas (Robak e Robak, 2013).

2.3. Análogos de Pirimidinas

Os análogos de pirimidinas englobam dois grandes grupos de compostos, os análogos da desoxicitidina e da desoxitimidina, responsáveis pela inibição da síntese do DNA, e

um análogo do uracilo, o 5-fluorouracilo, responsável pela inibição do processamento do RNA e timidilato (Hardman e Limbird, 2005d).

2.3.1. 5-Fluorouracilo

O 5-fluorouracilo (Agicil®, Adrucil®) (Figura 29) foi sintetizado pela primeira vez em 1957 nos Estados Unidos da América. É uma das moléculas anticancerígenas mais antigas, sendo usada atualmente em mais de 60% das poliquimioterapias (Lansiaux, 2011).

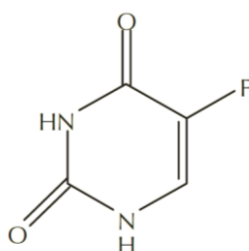


Figura 29. Estrutura do 5-fluorouracilo (Lansiaux, 2011).

O 5-fluorouracilo é um antimetabolito citotóxico que atua na fase S do ciclo celular. É ativado a fluorodesoxiuridina 5'-monofosfato (FdUMP) inibindo a TS, o que impede a síntese do DNA. Quando a molécula do 5-fluorouracilo substitui o uracilo, a TS deixa de poder adicionar o grupo metilo, o que impossibilita a síntese do DNA devido à falta do ácido timidílico. A coenzima folínica da reação ajuda na estabilização do complexo do 5-fluorouracilo com a TS e no aumento da atividade do 5-fluorouracilo (Lansiaux, 2011; Tanriverdi, 2014).

Um outro mecanismo de ação citotóxica do 5-fluorouracilo é a sua ativação no seu derivado trifosfatado e incorporação no RNA. Devido à deficiência em dTTP provocada, o uracilo incorpora-se no DNA, ao que se segue uma tentativa inútil de reparação dos danos, o que aumenta a toxicidade da reação. A sua atividade anticancerígena passa também pela inibição das enzimas da transcrição do RNA por cessar a sua síntese (Figura 30). Isto porque o 5-fluorouracilo é um composto com

forma semelhante ao uracilo apesar de não terem a mesma ação (Lansiaux, 2011; Palasz e Ciez, 2015).

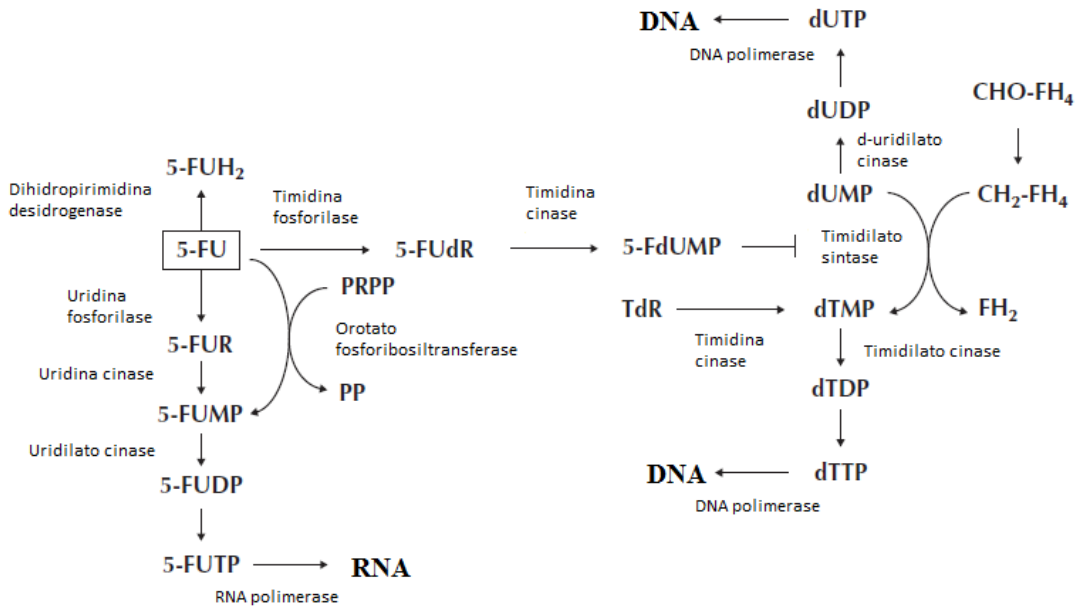


Figura 30. Via de ativação e desintoxicação do 5-fluorouracilo (adaptado de Lansiaux, 2011).

5-FUH₂: 5-fluoro-5,6-dihidrouacilo; **5-FU**: 5-fluorouracilo; **5-FUdR**: 5-fluorouridina; **5-FUMP**: 5-fluorouracilo monofosfato; **5-FUDP**: 5-fluorouridina difosfato; **5-FUTP**: 5-fluorouridina trifosfato; **RNA**: ácido ribonucleico; **PRPP**: 5-fosforibosil-1-pirofosfato; **DNA**: ácido desoxirribonucleico; **dUTP**: desoxiuridina 5'-trifosfato; **dUDP**: desoxiuridina 5'-difosfato; **dUMP**: desoxiuridina 5'-monofosfato; **5-FdUMP**: fluorodesoxiuridina monofosfato; **dTMP**: desoxitimidina 5'-monofosfato; **dTDP**: desoxitimidina 5'-difosfato; **dTTP**: desoxitimidina 5'-trifosfato; **CH₂-FH₄**: metilenotetrahidrofolato; **CHO-FH₄**: formil tetrahidrofolato; **CH₂-FH₄**: metilenotetrahidrofolato

O 5-fluorouracilo é administrado em neoplasias do trato digestivo superior, cancro mamário e cancro do ovário. Pode também ser administrado com o ácido fólico no caso do cancro colorretal, possibilitando o aumento da eficácia do composto, o que revelou ter um efeito benéfico na sobrevivência. Para além desta combinação, a associação ácido fólico-5-fluorouracilo-oxaliplatina ou irinotecano são obrigatórias no tratamento desta neoplasia (Lansiaux, 2011).

Os seus efeitos secundários são diversos, desde vômitos, náuseas, diarreia, alopecia e leucopenia e raramente apresenta toxicidade a nível cardíaco e vascular endotelial (Tanriverdi, 2014).

Tem havido várias tentativas de sintetizar derivados do 5-fluorouracilo de maneira a poder contornar os seus efeitos secundários e melhorar o seu índice terapêutico. Para tal, estão a ser realizadas experiências com conjugados do 5-fluorouracilo (Palasz e Ciez, 2015).

No que respeita à farmacocinética, o 5-fluorouracilo pode comportar-se de diferentes formas, mas pode ser otimizado quando devidamente monitorizado. Esta monitorização consiste em modular a prescrição de 5-fluorouracilo durante a infusão para ciclos subsequentes de acordo com os resultados dos níveis plasmáticos de 5-fluorouracilo em diferentes tempos de amostragem. Este procedimento permite melhorar a tolerabilidade e a sobrevida global, em alguns casos. Pensa-se que os determinantes da resposta ao 5-fluorouracilo são o nível de expressão da TS, da dihidropirimidina desidrogenase e de outras enzimas, tais como a desoxiuridina 5'-difosfato nucleotidohidrolase, a timidina cinase, a orotato fosforibosil transferase e a timidina fosforilase (TF). Verificam-se resistências neste fármaco quando existe uma diminuição ou perda da atividade das enzimas requeridas para a sua ativação, diminuição da pirimidina monofosfato cinase e alteração e modificação da TS (Hardman e Limbird, 2005d; Lansiaux, 2011).

2.3.2. Capecitabina

A Capecitabina (Xeloda®) é um análogo oral de pirimidina, sendo um pró-fármaco rapidamente convertido em 5-fluoruracilo (Figura 31) (Silvestris et al., 2010).

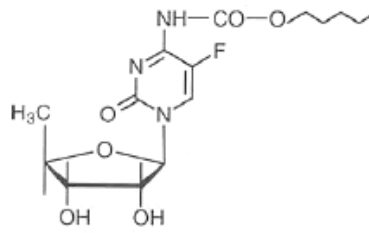


Figura 31. Estrutura da capecitabina (Hardman e Limbird, 2005d).

Depois de entrar no organismo é convertido no fígado por uma carboxilesterase em 5'-desoxi-5-fluorocitidina, que por sua vez é convertido em 5'-desoxi-5-fluorouridina pela citidina desaminase do tecido hepático e em 5-fluoruracilo a nível celular pela TF, enzima expressa muitas vezes no tecido tumoral (Figura 32). São sensíveis a este fármaco tumores que apresentem maior atividade de TF (Hardman e Limbird, 2005d; Lansiaux, 2011).

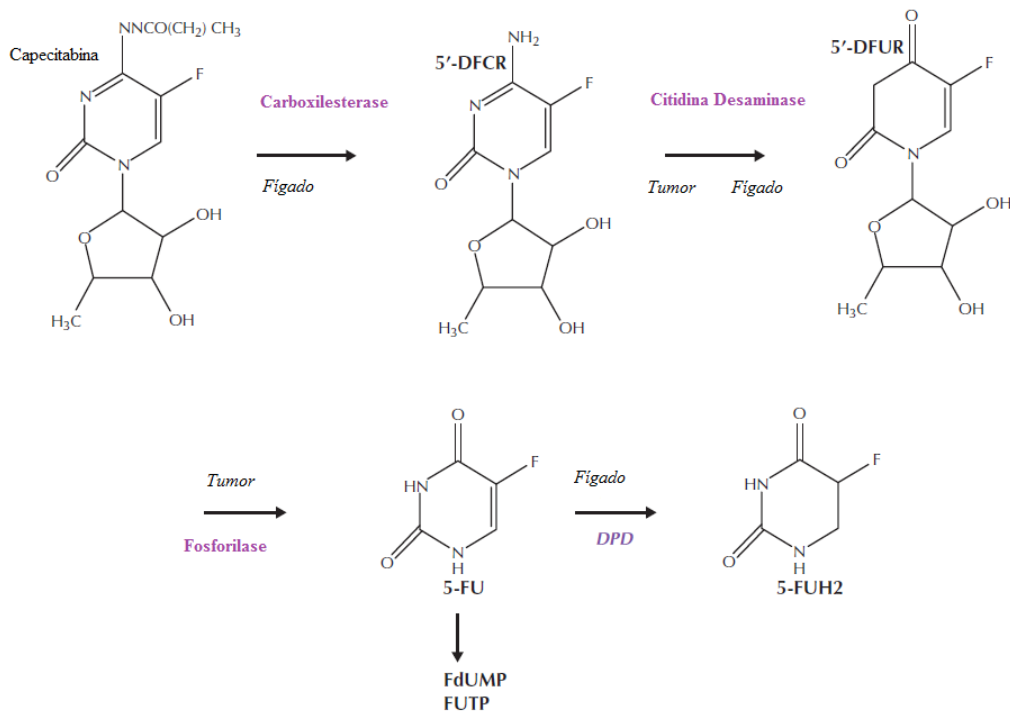


Figura 32. Via de ativação e desintoxicação da capecitabina (adaptado de Lansiaux, 2011).

5'-DFCR: 5'-desoxi-5-fluorocitidina; **5'-DFUR:** 5'-desoxi-5-fluorouridina; **FdUMP:** fluorodesoxiuridina monofosfato; **FUTP:** fluorouridina 5'-trifosfato; **5-FUH2:** 5-fluoro-5,6-dihidrouacilo

A capecitabina é frequentemente administrada em vez do 5-fluoruracilo graças à sua biodisponibilidade. A sua atividade clínica é equivalente ao 5-fluoruracilo-leucovorina no cancro colorretal. Atualmente está autorizada em diversas situações tais como em monoterapia de primeira linha no cancro colorretal metastático, no tratamento adjuvante do cancro do cólon, no tratamento do cancro gástrico avançado como primeira linha e em combinação com a quimioterapia à base de sais de platina e no tratamento do cancro da mama localmente avançado ou metastático em combinação com o docetaxel. A associação 5-fluoruracilo-leucovorina-irinotecano é uma boa opção no que diz respeito à sobrevida da progressão e à toxicidade (Lansiaux, 2011; Silvestris et al., 2010).

2.3.3. Citarabina

A citarabina (citosina arabinosido, ara-C) (Cytosar®) é um análogo da 2'-desoxicitidina (Figura 33). Há vários anos que confere o tratamento padrão para LLA, LMA e certos linfomas (NHL, linfoma de grandes células e linfoma de Burkitt), sendo o composto mais importante na remissão da LMA (Hardman e Limbird, 2005d; Rang et al., 2008a).

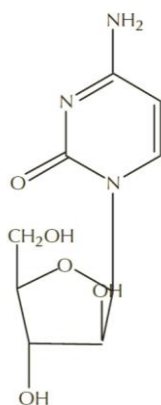


Figura 33. Estrutura da citarabina (Lansiaux, 2011).

A citarabina penetra nas células por transportadores, por difusão simples ou por transporte ativo, e seguidamente ocorre a formação sucessiva de citosina monofosfato

(por ação da desoxicitidina cinase), citosina difosfato (por ação da desoxicitidina monofosfato cinase) e citosina trifosfato (pela nucleósido difosfato cinase) (Figura 34) (Lansiaux, 2011).

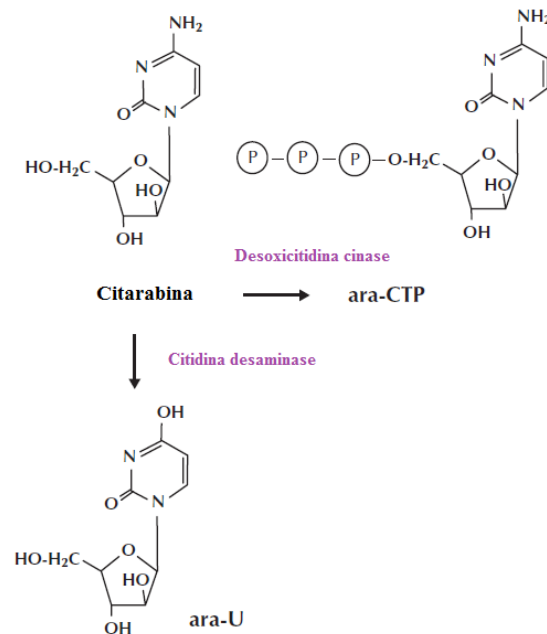


Figura 34. Via de ativação e desintoxicação da citarabina (adaptado de Lansiaux, 2011).

ara-CTP: citosina arabinosido 5'-trifosfato; **ara-U:** uracilo arabinosido

A inibição da DNA polimerase pela citosina arabinosido-5'-trifosfato (ara-CTP) e a inibição da transformação da citidina em desoxicitidina conferem atividade citotóxica à citarabina. A citarabina incorpora-se no DNA e retarda o alongamento da sua cadeia com uma falha de ligação dos fragmentos de DNA sintetizados *de novo* e interfere com a reparação enzimática do DNA, inibindo as polimerase α e β (Lansiaux, 2011; Makin, 2013).

Existem diversos processos que podem conduzir a uma resistência à citarabina. Esta resistência pode ser devida a mudanças nos níveis enzimáticos (citidina desaminase e desoxicitidina 5'-monofosfato desaminase) e alterações na afinidade da ara-CTP para a

DNA polimerase. Contudo, a deleção da desoxicitidina-cinase devido a intervenientes no processo de degradação da citarabina e um aumento do reservatório intracelular de desoxicitidina 5'-trifosfato (dCTP), que atua por competição com a ara-CTP, são também fatores de resistência (Lansiaux, 2011).

Os efeitos adversos descritos passam por náuseas, vômitos e perturbações na medula óssea e no trato gastrointestinal (Rang et al., 2008a).

2.3.4. Gemcitabina

A gemcitabina (2'-desoxi-2, 2'-difluorocitidina) (Gemzar®) é um análogo do ara-C (Figura 35) e um inibidor da síntese do DNA e dos desoxirribonucleótidos. É um pró-fármaco da citarabina de ativação intracelular que, por ação de desoxicitidina cinases gera anabolitos ativos fosforilados responsáveis pela citotoxicidade do processo. É um análogo estrutural da desoxicitidina com dois átomos de flúor substituídos na posição 2', sendo um dos mais importantes análogos da citidina com propriedades farmacológicas diferentes (Lansiaux, 2011; Mini et al., 2006).

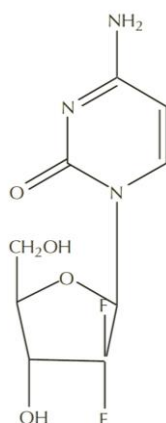


Figura 35. Estrutura da gemcitabina (Lansiaux, 2011).

A gemcitabina e a citarabina partilham a estrutura, mecanismos de ação e vias metabólicas. Intracelularmente sofre várias fosforilações catalisadas por diversas cinases. Inicialmente pela ação da dCK, a gemcitabina é convertida a gemcitabina monofosfato (inibidora da TS) e seguidamente a gemcitabina difosfato pela ação da pirimidina nucleósido monofosfato cinase, não sendo conhecida a enzima responsável pela conversão a gemcitabina trifosfato (a nucleósido difosfato cinase é uma possibilidade para esta fosforilação). A incorporação da sua forma trifosfatada no DNA resulta num alongamento inicial de uma unidade de desoxinucleótido e numa interrupção da polimerização, o que leva à não atuação da DNA polimerase, inibindo a síntese do DNA (Figura 36). A gemcitabina trifosfato causa também uma inibição da RR, responsável pela formação de desoxinucleótidos na síntese do DNA, de modo que uma diminuição da dCTP e da desoxiadenosina 5'-trifosfato (dATP) são responsáveis pela radiosensibilização (Cavalcante e Monteiro, 2014; Lansiaux, 2011).

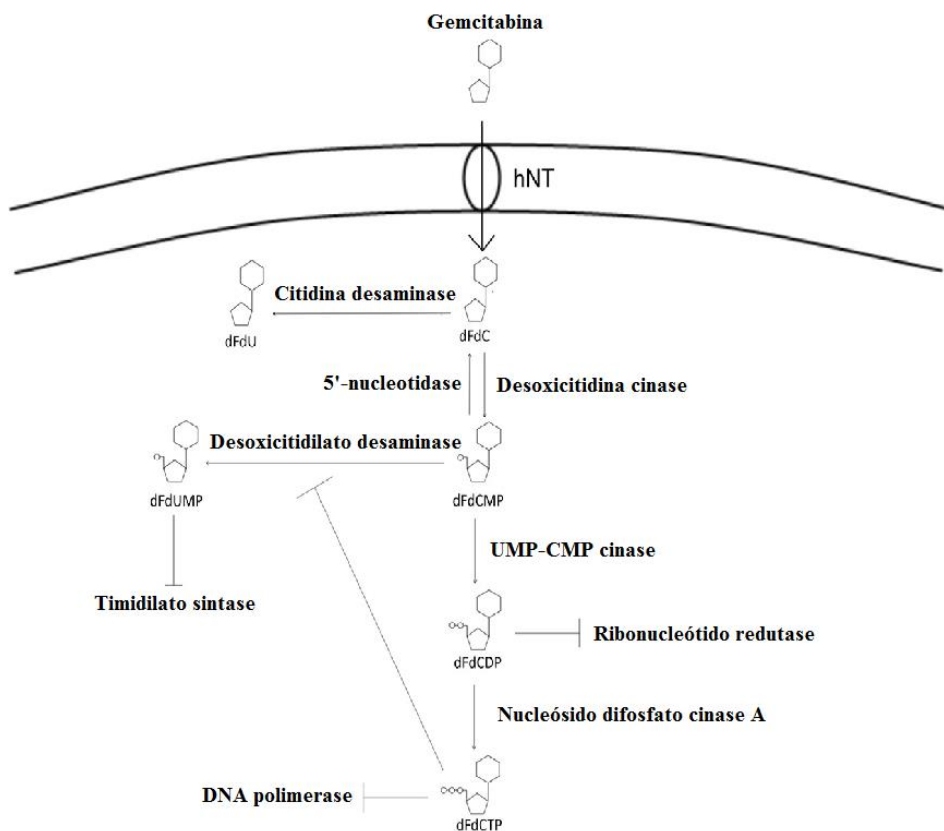


Figura 36. Metabolismo celular da gemcitabina (adaptado de Cavalcante e Monteiro, 2014).

hNT: transportadores nucleósidos humanos; **dFdC:** gemcitabina; **dFdCMP:** gemcitabina monofosfato; **dFdCDP:** gemcitabina difosfato; **dFdCTP:** gemcitabina trifosfato

Existem algumas diferenças entre a gemcitabina e a citarabina. Ao contrário da citarabina, a gemcitabina apresenta um largo espectro de atividade e diversos alvos intracelulares. Os seus compostos trifosfatados são muito mais estáveis, a permeabilidade à membrana celular é muito mais elevada e a acumulação intracelular do composto trifosfatado é 20 vezes mais elevado. Estas diferenças induzem uma inibição prolongada da síntese do DNA, sendo a concentração um fator determinante (Lansiaux, 2011; Mini et al., 2006).

A gemcitabina é administrada isoladamente na terapia do cancro pancreático sendo um tratamento pilar nesta neoplasia. Está também indicada em combinação com a cisplatina no tratamento do NSCLC em estado avançado ou com metástases, no tratamento do cancro da bexiga e no cancro da cabeça e do pescoço; em combinação com a carboplatina no tratamento do cancro do ovário local avançado ou metastático; e em combinação com o paclitaxel no cancro da mama metastático. A gemcitabina não apresenta muitas reações adversas, evidenciando-se uma mielotoxicidade branda e um síndrome semelhante à gripe (Lansiaux, 2011; Mini et al., 2006; Rang et al., 2008a).

2.4. Agentes Desmetilantes

2.4.1. Azacitidina e Decitabina

A azacitidina (Vidaza®) e a decitabina (Dacogen®) (Figura 37) são também antimetabolitos análogos de pirimidina, nomeadamente da citarabina. Estes apresentam um novo mecanismo de ação utilizado no tratamento do síndrome mielodisplásico, também evidenciando eficácia clínica no tratamento da leucemia mielomonocítica crónica e na LMA (Derissen et al., 2013; Lansiaux, 2011).

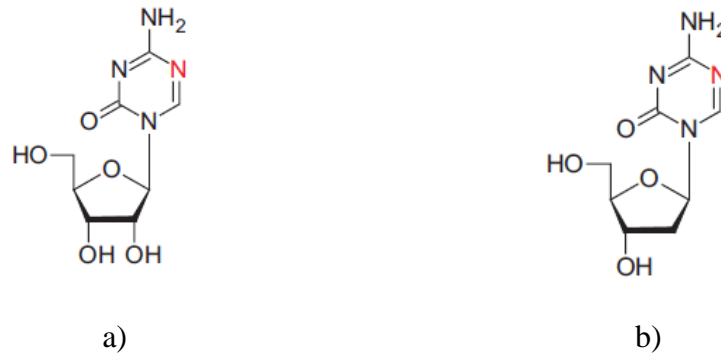


Figura 37. Estruturas da (a) azacitidina e da (b) decitabina (Derissen et al., 2013).

Estes compostos desmetilantes são considerados os fármacos mais avançados na terapia epigenética do cancro. Possuem a capacidade de reverter a hipermetilação induzida pelo silenciamento de genes supressores de tumores, restaurando as funções celulares normais (Derissen et al., 2013; Stresemann e Lyko, 2008).

Uma vez situados no meio intracelular, são convertidos em monofosfatos, difosfatos e trifosfatos, reações catalisadas pela uridina cinase e citidina cinase (para a azacitidina) e pela desoxicitidina cinase (para a decitabina). Após convertidos no seu metabolito ativo, tornam-se substratos para a replicação do DNA e impedem a reação de metilação do DNA (Derissen et al., 2013; Stresemann e Lyko, 2008).

Depois de incorporados no DNA inibem a DNA metiltransferase (enzima responsável pela metilação da citosina), o que impede os genes responsáveis pelo crescimento e diferenciação celular de finalizarem a sua função. Desta metilação podem surgir células hematopoiéticas (Lansiaux, 2011).

III. Antivirais

Tal como nos anticancerígenos, os análogos de nucleótidos e de nucleósidos desempenham um papel importante no tratamento de doenças antivirais, nomeadamente no HIV, HSV e HCV. Ao longo do tempo assistiu-se a um crescimento do número de moléculas antivirais, principalmente devido ao aparecimento do HIV. Contudo, devido a mutações virais resistentes, esta terapia pode apresentar falhas na resposta aos tratamentos (Hardman e Limbird, 2005a; Macchi e Mastino, 2002; Palasz e Ciez, 2015).

3.1. Antirretrovirais

Em relação ao HIV existem várias classes de antivirais, entre as quais os NRTIs como a zidovudina, estavudina, lamivudina, abacavir, emtricitabina e didanosina, e inibidores nucleótidos da transcriptase reversa (NtRTIs) como o tenofovir. Tanto os NRTIs como os NtRTIs apresentam como alvo a RT do HIV. Para tal, é necessário que ocorram fosforilações. Estas são catalisadas por cinases celulares, responsáveis pela eficácia terapêutica dos antivirais (De Clercq, 2009; Menéndez-Arias, 2008).

As duas classes apresentam efeitos secundários comuns, tais como distúrbios gastrointestinais, efeitos músculos esqueléticos e dermatológicos, distúrbios sanguíneos e metabólicos e distúrbios a nível do sistema nervoso central (Rang et al., 2008b).

Visto que o HIV é uma doença que carece de um tratamento urgente, existe a necessidade de criar e desenvolver novas moléculas antivirais para a sua cura. (Menéndez-Arias, 2008).

3.1.1. Inibidores nucleósidos da transcriptase reversa (NRTIs)

Os NRTIs para exercerem atividade antiviral inibitória precisam de sofrer fosforilações pelas cinases celulares hospedeiras de modo a formarem os análogos desoxinucleósidos trifosfatados (dNTP), 5'-monofosfato, 5'-difosfato e 5'-trifosfato, sendo apenas ativos na sua forma trifosfatada (De Clercq, 2005a).

Os NRTIs apresentam uma estrutura parecida com os análogos de purinas e pirimidinas e são metabolizados a análogos dos dNTP endógenos durante a síntese do DNA (Cihlar e Ray, 2010; Esposito et al., 2012).

Dentro do grupo dos análogos nucleósidos de pirimidinas encontram-se os análogos de timidina que incluem a zidovudina (3'-azido-2',3'-didesoxitimidina) e a estavudina (2',3'-didihidro-2',3'-didesoxitimidina), e os análogos da citosina que incluem a lamivudina ((-)-2',3'-didesoxi-3'-tiacitidina) e a emtricitabina ((-)-2',3'-didesoxi-5-fluoro-3'-tiacitidina) (Esposito et al., 2012).

Do grupo dos análogos nucleósidos das purinas encontram-se o abacavir ((IS-4R)-4-[2-amino-6-(ciclopropilamino-9Hpurina-9yl)]-2-ciclopentano-1-metanol) como análogo nucleósido da guanosina e a didanosina (2',3'-dideoxiinosina) como análogo nucleósido da adenina (Esposito et al., 2012).

Seguidamente os NRTIs atuam na RT, sendo incorporados no DNA viral após competição com os dNTP endógenos. A RT é catalisada por uma DNA polimerase dependente do RNA. Esta enzima tem a capacidade de retrotranscrever o genoma viral do RNA de cadeia simples em DNA proviral de cadeia dupla. Assim, os NRTIs têm a capacidade de bloquear a síntese do DNA devido à falta do grupo 3'-hidroxilo. No caso do HIV, após este processo, o DNA viral de cadeia dupla é posteriormente veiculado para o núcleo da célula hospedeira e introduzido no cromossoma hospedeiro pela integrase, uma proteína codificada pelo vírus (Cihlar e Ray, 2010; De Clercq, 2009; De Clercq, E., 2010; Esposito et al., 2012).

Os NRTIs atuam de duas maneiras diferentes para a ligação ao sítio ativo da RT polimerase, como substratos alternativos ou como inibidores competitivos do substrato normal dNTP após a sua fosforilação nas células. Quando atua como substrato alternativo, a forma ativa 5'-trifosfato é incorporada na cadeia do DNA terminando a polimerização deste. Ao atuar como inibidor competitivo, o 5'-trifosfato inibe a incorporação do substrato normal durante o crescimento da cadeia do DNA (De Clercq, 2009; De Clercq, 2010).

As cinases responsáveis pelas fosforilações destes compostos são a dCK citosólica, timidina cinase 1 (TK1), dGK mitocondrial e timidina cinase 2 (TK2), enzimas envolvidas na síntese de recuperação de nucleósidos endógenos (Cihlar e Ray, 2010).

As 5'-nucleotidases são um grupo de enzimas muito diversificadas que substituem a ação das cinases nucleosídicas na fosforilação dos nucleósidos monofosfato. As cinases de nucleósidos monofosfato, como a timidina cinase (TK) e outras, são responsáveis pela adição do segundo grupo fosfato aos nucleósidos análogos de monofosfato. A fase final da terceira fosforilação dos NRTIs é catalisada por várias enzimas formando os respetivos análogos de trifosfato com atividade antiviral (Cihlar e Ray, 2010).

O uso a longo prazo de qualquer composto desta família pode causar efeitos adversos tóxicos tais como neuropatia, pancreatite, lipodistrofia e acidose láctica (Menéndez-Arias, 2008).

3.1.1.1. Zidovudina

A zidovudina (Retrovir®) (Figura 38) foi o primeiro composto antiviral na prática clínica a ser comercializado devido às suas propriedades inibitórias, quer a nível da infeção quer do efeito citopático. Está aprovado para tratamento do HIV desde 1987 e devido ao seu aparecimento, a classe dos análogos nucleósidos tem sido usada para o tratamento de infeções causadas pelo HIV (De Clercq, 2009; Menéndez-Arias, 2008).

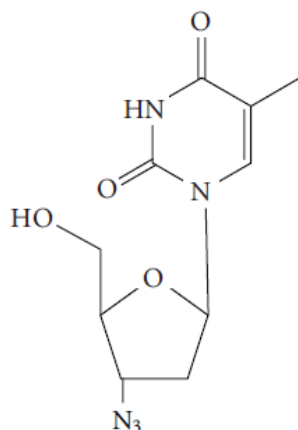


Figura 38. Estrutura da zidovudina (Esposito et al., 2012).

A zidovudina, ou azidotimidina, é um análogo da timidina ativo contra o vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (HIV-1) e o vírus da imunodeficiência humana do tipo 2 (HIV-2) que efetua o transporte para as células por difusão passiva, sendo posteriormente fosforilado à sua forma ativa trifosfatada por cinases celulares, permitindo inibir o alongamento da cadeia do DNA, por inibição da RT ao incorporar-se na cadeia do DNA (Cihlar e Ray, 2010; Hardman e Limbird, 2005b; Macchi e Mastino, 2002).

A TK é responsável pela fosforilação deste composto em zidovudina monofosfato. A sua conversão à sua forma difosfatada é realizada pela timidilato difosfato cinase e a nucleósido difosfato cinase é responsável pela conversão da zidovudina à forma trifosfatada (Figura 39) (Macchi e Mastino, 2002; Menéndez-Arias, 2008).

Compostos que interferem no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos: Utilização como agentes terapêuticos

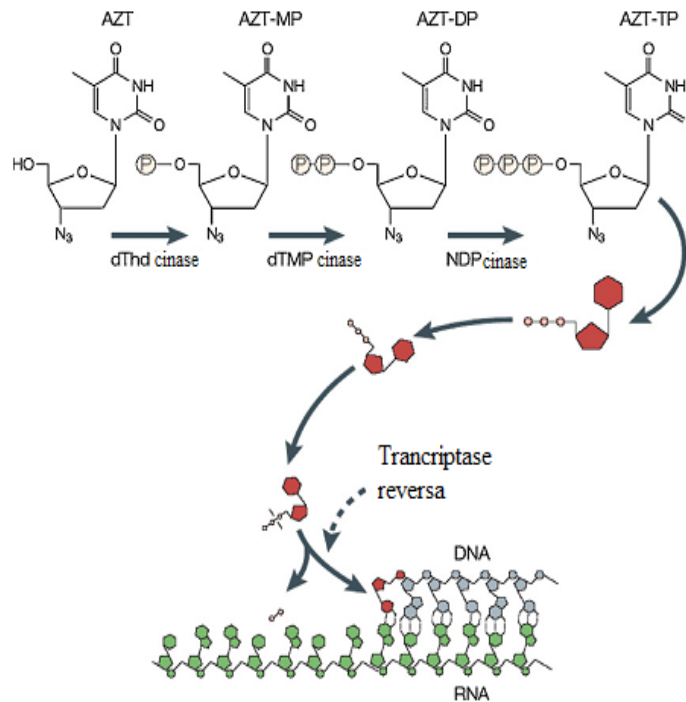


Figura 39. Mecanismo de ação da zidovudina (adaptado de De Clercq, 2009).

AZT: zidovudina; **AZT-MP:** zidovudina monofosfato; **AZT-DP:** zidovudina difosfato; **AZT-TP:** zidovudina trifosfato; **dThd:** timidina cinase mitocondrial; **dTMP:** desoxitimidina 5'-monofosfato; **NDP:** nucleósido difosfato; **DNA:** ácido desoxirribonucleico; **RNA:** ácido ribonucleico

A zidovudina é usada em combinação com outros compostos antivirais e em monoterapia, mas podem ser verificadas resistências associadas a mutações nos codões da RT, sendo diminuta a sua eficácia com o uso ao longo do tempo. O seu uso é justificado em profissionais de saúde em quimioprofilaxia quando expostos ao HIV e em casos de prevenção da transmissão pré-natal do HIV. Os seus efeitos benéficos passam por redução das irregularidades neurológicas na infecção pelo HIV (mielopatia, encefalopatias, entre outras) e pelo aumento na contagem de linfócitos CD4⁺. Porém podem originar cefaleias, anorexia, insônia, mialgia, fadiga ou ainda anemia (Hardman e Limbird, 2005b; Macchi e Mastino, 2002; Rang et al., 2008b).

3.1.1.2. Estavudina

A estavudina (Zerit®) (Figura 40) é um análogo da timidina que está indicada em casos de infecção por HIV avançado em combinação com outros agentes NRTIs (De Clercq, 2001; Macchi e Mastino, 2002).

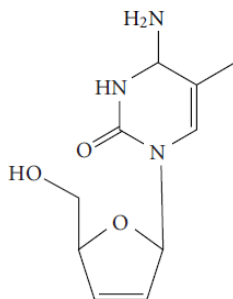


Figura 40. Estrutura da estavudina (Esposito et al., 2012).

A estavudina penetra nas células por difusão passiva, sendo fosforilada a estavudina 5'-trifosfato pela TK e inserida no extremo 3' da cadeia do DNA viral como estavudina 5'-monofosfato. Assim, atua como finalizador da cadeia do DNA por inibição da RT do HIV ao competir com a 2'-desoxitimidina-5'-trifosfato celular (De Clercq, 2001; Hardman e Limbird, 2005b).

A estavudina apresenta atividade contra o HIV-1 e HIV-2 em combinação com outros agentes antirretrovirais mas pode apresentar como efeitos secundários acidose lática e neuropatia periférica (Hardman e Limbird, 2005b).

3.1.1.3. Lamivudina

A lamivudina (Epivir®) (Figura 41) é um análogo da citidina que, após competir pela incorporação no DNA viral, atua como finalizador da cadeia do DNA. Para tal, tem de estar fosforilado (Fung et al., 2011).

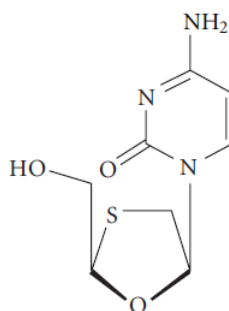


Figura 41. Estrutura da lamivudina (Esposito et al., 2012).

A lamivudina, para além de ser ativa contra o HIV, foi o primeiro composto antiviral a ser introduzido contra o HBV, o que deu início a uma evolução de compostos antivirais para doentes crónicos desta patologia. A lamivudina consegue suprimir a replicação viral e, é usada em doentes com hepatite B crónica (CHB) com exacerbação aguda, por evitar descompensação hepática (Chen et al., 2014; De Clercq, 2001; Kim et al., 2012).

O seu mecanismo de ação assemelha-se em tudo ao da estavudina, com a exceção que para além de ter como alvo a RT do HIV tem a RT do HBV (De Clercq, 2001).

Apesar de exibir menor eficácia que a zidovudina e a didanosina, a lamivudina apresenta menos efeitos tóxicos para a célula hospedeira e menos complicações a nível da descompensação hepática e de carcinomas hepatocelulares. Um ano de tratamento com este composto permite obter uma remissão virológica em doentes crónicos com hepatite B (Fung et al., 2011; Pipilli et al., 2013; Macchi e Mastino, 2002).

3.1.1.4. Abacavir

O abacavir (Ziagen®) (Figura 42) é um análogo da guanosina. Compete com o substrato natural dGTP e incorpora-se no DNA viral, permitindo inibir a atividade da RT do HIV-1. Consegue inibir o alongamento da cadeia do DNA devido à falta do segmento 3'-

hidroxilo no abacavir que evita a formação da ligação fosfodiéster 3'-5' na cadeia do DNA (Macchi e Mastino, 2002; Rang et al., 2008b).

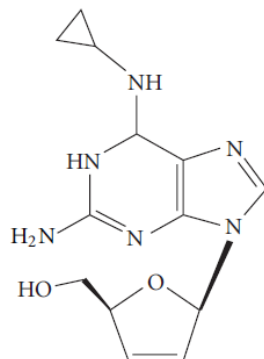


Figura 42. Estrutura do abacavir (Esposito et al., 2012).

O abacavir é o mais eficaz da classe dos NRTIs e consegue ser convertido em didesoxiadenosina trifosfato e carbovir trifosfato devido a alterações que ocorrem na estrutura química do anel purínico (Menéndez-Arias, 2008; Rang et al., 2008b).

É ativo no tratamento do HIV em combinação com outros agentes antirretrovirais, quer em adultos quer em crianças. Os seus efeitos adversos passam por distúrbios gastrointestinais e neurológicos, tais como cefaleias e insónias (Hardman e Limbird, 2005b).

3.1.1.5. Emtricitabina

A emtricitabina (Emtriva®) (Figura 43) é um nucleósido análogo da citidina. É o composto mais recente desta classe aprovado desde 2003 pela FDA, sendo ativo contra o HIV e HBV (Cihlar e Ray, 2010; De Clercq, 2001).

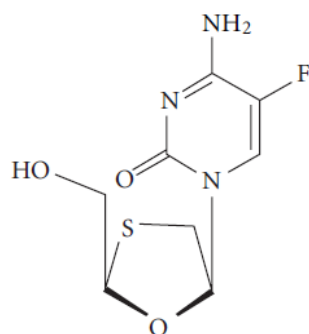


Figura 43. Estrutura da emtricitabina (Esposito et al., 2012).

A sua conversão na forma difosfatada é catalisada pela desoxicidina cinase e desoxicitosina monofosfato cinase e a conversão na forma trifosfatada é catalisada por cinases nucleósidos difosfatadas. Possui capacidade para inibir competitivamente a RT do HIV, finalizando a cadeia de DNA, diminuindo a carga viral do HIV no organismo (Menéndez-Arias, 2008).

A emtricitabina é usualmente administrada na mesma forma farmacêutica com outro antirretroviral, o tenofovir, sob o nome comercial de Truvada®, na profilaxia da transmissão sexual por HIV. Pode apresentar como efeitos adversos distúrbios gastrointestinais, diarreia, cefaleias, erupções cutâneas, alterações no fígado e pâncreas, anemia entre outros (De Clercq, 2012).

3.1.1.6. Didanosina

A didanosina (Videx®) (Figura 44) é um análogo da desoxiadenosina (Rang et al. 2008b).

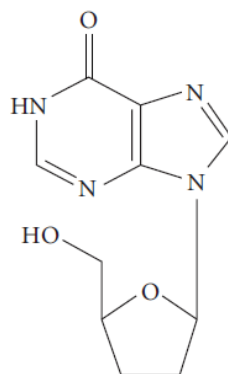


Figura 44. Estrutura da didanosina (De Clercq, 2001)

Para exercer a sua ação, a didanosina sofre metabolização intracelular para a sua forma ativa, didesoxiadenosina 5'-trifosfato (ddATP), inibindo a RT do HIV, competindo com a dATP endógena pela incorporação no DNA viral. Atua assim como finalizador da cadeia de DNA viral ao incorporar-se no segmento 3' da cadeia do DNA viral (De Clercq, 2001; Hardman e Limbird, 2005b).

A didanosina é utilizada em estados avançados de infecção por HIV e em combinação com outros compostos anti-HIV. Apresenta como efeitos adversos pancreatite e neuropatia e ainda comumente diarreia associada aos tampões usados nas preparações (Hardman e Limbird, 2005b; Macchi e Mastino, 2002).

3.1.2. Inibidores nucleótidos da transcriptase reversa (NtRTIs)

Ao contrário do que acontece com o grupo anterior, os NtRTIs apenas precisam de duas fosforilações para serem convertidos na sua forma ativa, uma vez que apresentam um grupo fosfonato resistente à hidrólise (De Clercq, 2009; Esposito et al., 2012).

Este grupo age também como um finalizador da síntese do DNA, uma vez que são incorporados no DNA viral após a sua fosforilação por enzimas celulares, servindo

como substrato alternativo. A este grupo apenas pertence o tenofovir (Esposito et al., 2012).

3.1.2.1. Tenofovir

O tenofovir (Viread®) (Figura 45) tem como pró-fármaco o tenofovir disoproxil fumarato (Figura 46), atravessando mais facilmente as membranas das células alvo, o que aumenta a sua biodisponibilidade (De Clercq, 2009; Esposito et al., 2012; Menéndez-Arias, 2008).

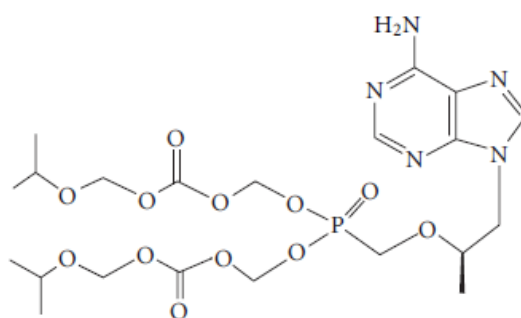


Figura 45. Estrutura do tenofovir (Esposito et al., 2012).

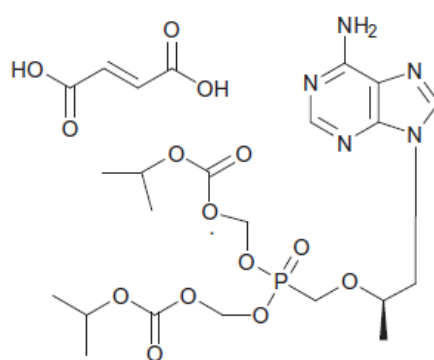


Figura 46. Estrutura do tenofovir disoproxil fumarato (Palazzolo et al., 2012).

O tenofovir é um derivado acíclico que apresenta capacidade supressora na replicação do HBV e está aprovado para o tratamento da CHB desde 2008. Compete com o substrato natural desoxiadenosina 5'-trifosfato, atuando como finalizador de cadeia quando inserido na DNA polimerase do HBV. É usado como primeira linha devido à baixa resistência ao fármaco (Chen et al., 2014; Enomoto et al., 2013; Fung, et al., 2011).

Este composto não sofre monofosforilação por conter um grupo fosfato, e assim apenas é metabolizado em derivados fosfatados. Ambas as fosforilações são catalisadas pela adenosina monofosfato (AMP) cinase (Figura 47) (Menéndez-Arias, 2008).

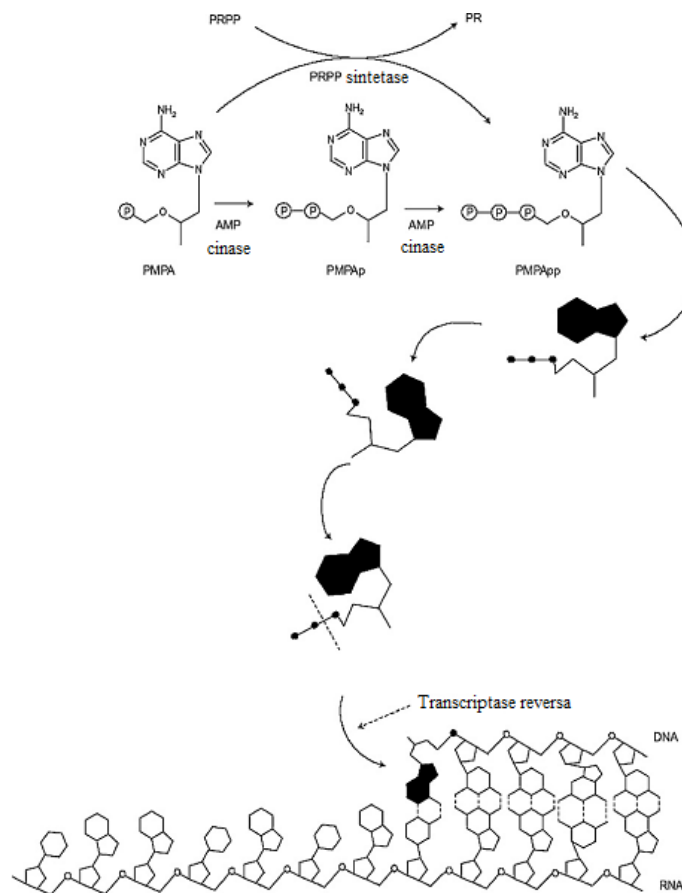


Figura 47. Mecanismo de ação do tenofovir (adaptado de De Clercq, 2009).

PRPP: 5-Fosforibosil-1-pirofosfato; **PR:** 5-Fosforibosil; **AMP:** adenosina 5'-monofosfato; **DNA:** ácido desoxirribonucleico; **RNA:** ácido ribonucleico

No tratamento do HBV pode ser usado em combinação com outros fármacos antivirais. Pode ser administrado diariamente em combinação com a emtricitabina num único comprimido, Truvada®, para o tratamento do HIV e prevenção da transmissão sexual do HIV (De Clercq, 2012).

3.2. Não antirretrovirais

Os análogos nucleósidos e nucleótidos para o tratamento da CHB atuam a nível da HBV polimerase mediante três formas distintas, por inibição direta, por ligação competitiva aos substratos endógenos ou por incorporação no DNA viral como finalizadores da cadeia do DNA. A HBV polimerase possui RNA e DNA dependentes da DNA polimerase, necessárias para a replicação viral. A terapia com estes compostos para o HBV têm como objetivo melhorar a histologia do fígado por redução da inflamação e da fibrose, prevenir a cirrose, a descompensação hepática e o carcinoma hepatocelular (Fung et al., 2011).

Relativamente ao tratamento do HSV, apesar dos compostos atuarem em vias metabólicas diferentes, apresentam um mecanismo de ação semelhante, o de inibir a DNA polimerase evitando a síntese do DNA viral (James e Prichard, 2014).

3.2.1. Aciclovir

O aciclovir (Aciclovax®, Cicloviral®, Zovirax®) (Figura 48) é um análogo acíclico da guanosina com uma ação antiviral no grupo dos vírus herpes. É bastante eficaz no tratamento do HSV e do vírus da Varicela Zóster, continuando a ser um dos pilares no tratamento destes. Porém, é também ativo contra outros elementos pertencentes ao grupo dos vírus herpes, os vírus Epstein-Barr e citomegalovírus, apesar de não ser tão potente como no tratamento dos vírus acima mencionados (De Clercq, 2012; Hardman e Limbird, 2005b; Piret e Boivin, 2011; Wójtowicz-Rajchel, 2012).

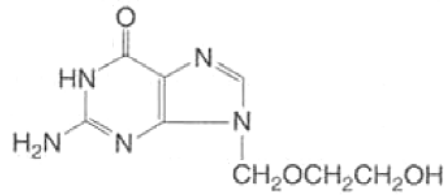


Figura 48. Estrutura do aciclovir (Hardman e Limbird, 2005b).

Nas células infetadas o aciclovir é transformado em aciclovir monofosfato pela ação da TK. Posteriormente, pela ação da GMP cinase é transformado num composto difosfatado, o aciclovir difosfato e por fim à sua forma ativa trifosfatada, o aciclovir trifosfato por um nucleósido difosfato cinase. O aciclovir trifosfato tem a capacidade de atuar como finalizador da cadeia da síntese do DNA viral ao inibir competitivamente com a DNA polimerase viral (Figura 49) (James e Prichard, 2014; Piret e Boivin, 2011; Wechmann et al., 2015).

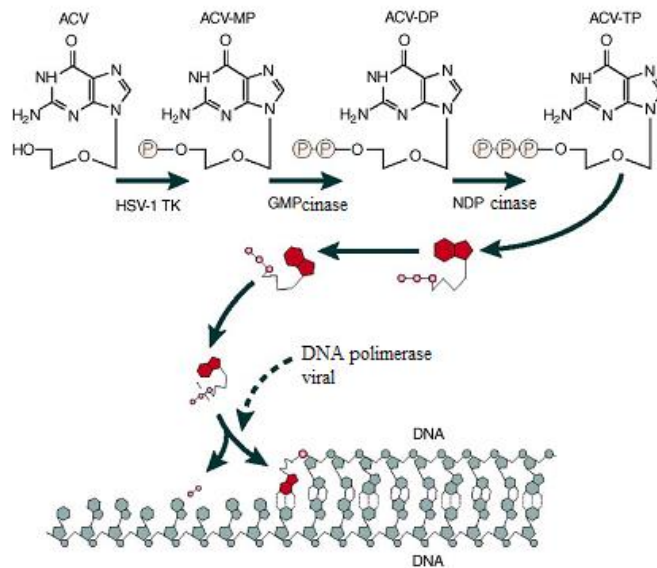


Figura 49. Mecanismo de ação do aciclovir (adaptado de De Clercq, 2004).

ACV: aciclovir; **ACV-MP:** aciclovir monofosfato; **ACV-DP:** aciclovir difosfato; **ACV-TP:** aciclovir trifosfato; **HSV-1 TK:** timidina cinase do vírus herpes simplex 1; **GMP:** guanosina 5'-monofosfato; **NDP:** nucleósido difosfato cinase; **DNA:** ácido desoxirribonucleico

Apesar do aciclovir ser um composto que raramente apresenta resistências, alterações a nível da TK podem impedir que o aciclovir sofra as fosforilações necessárias para a sua atividade. Este fenómeno pode acontecer devido à TK estar ausente ou ser parcialmente produzida, a alterações da especificidade do seu substrato ou ainda alterações a nível da DNA polimerase viral, sendo a deficiência na sua atividade o mecanismo de resistência mais comum (Hardman e Limbird, 2005b; James e Prichard, 2014; Miwa et al., 2005).

O aciclovir pode apresentar como efeitos adversos insuficiência renal, neurotoxicidade, distúrbios gastrointestinais e cefaleias (Hardman e Limbird, 2005b).

3.2.2. Valaciclovir

O valaciclovir (Valavir®) (Figura 50) é um pró-fármaco do aciclovir, nomeadamente um éster que permitiu ultrapassar os problemas de solubilidade e administração do aciclovir (De Clercq, 2012).

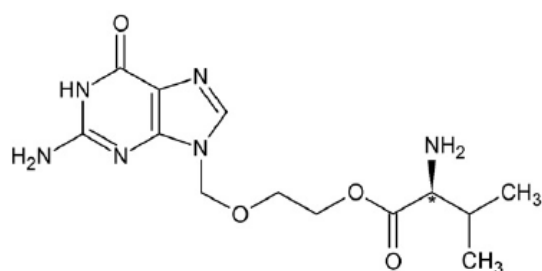


Figura 50. Estrutura do valaciclovir (Jadhav et al., 2007).

Assim, o valaciclovir pode ser administrado sob a forma de gotas oculares e em pequenos volumes como injetáveis intramusculares e subcutâneos, tendo substituído o

aciclovir no tratamento de infecções provocados pelo HSV e pelo vírus da Varicela Zóster graças à sua biodisponibilidade oral. A biodisponibilidade é 70% mais elevada do que quando administrado o próprio aciclovir devido a transportadores peptídicos no intestino humano (De Clercq, 2012; Hardman e Limbird, 2005b; Jadhav et al., 2007).

O mecanismo de ação do valaciclovir é igual ao do aciclovir. É mais eficaz que o aciclovir no vírus do herpes Zóster e está também aprovado pela FDA para tratamento do HSV e do vírus da Varicela Zóster. É também ativo no tratamento do herpes genital e pode ainda erradicar o vírus Epstein-Barr (De Clercq, 2001; De Clercq, 2012).

3.2.3. Ganciclovir

O ganciclovir (Cymevene®, Virgan®, Vitrasert®) (Figura 51) é um análogo acíclico da guanosina usado no tratamento do citomegalovírus (De Clercq, 2005b; Rang et al., 2008b).

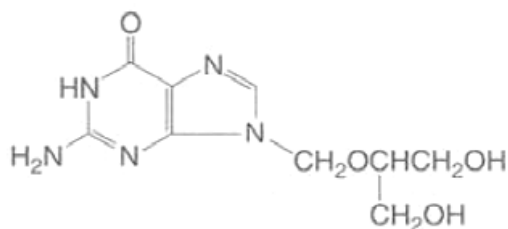


Figura 51. Estrutura do ganciclovir (Hardman e Limbird, 2005b).

A monofosforilação é catalisada pela TK induzida pelo vírus, enquanto que a difosforilação e a trifosforilação são catalisadas por enzimas celulares (Figura 52). Depois de fosforilado à sua forma ativa inibe a síntese da DNA polimerase viral após competição com o trifosfato da guanosina pela incorporação no DNA viral (De Clercq, 2001; Hardman e Limbird, 2005b; Rang et al., 2008b).

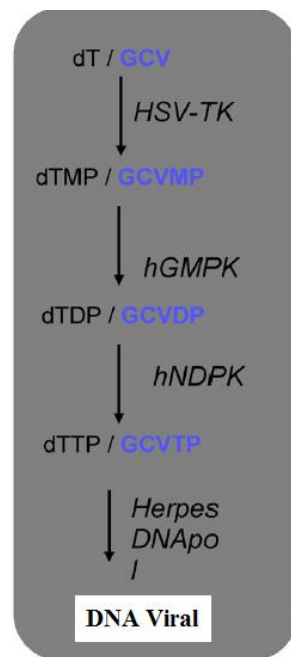


Figura 52. Mecanismo de ação do ganciclovir (adaptado de Deville-Bonne et al., 2010).

dT: desoxitimidina; **dTMP:** desoxitimidina 5'-monofosfato; **dTDP:** desoxitimidina 5'-difosfato; **dTTP:** desoxitimidina 5'-trifosfato; **DNA:** ácido desoxirribonucleico

Assim como o aciclovir, o ganciclovir é um composto que apresenta baixa toxicidade na célula hospedeira (Wójtowicz-Rajchel, 2012).

3.2.4. Entecavir

O entecavir (Baraclude®) (Figura 53) é um análogo nucleósido da desoxiguanosina, ativo contra o HBV mas também usado globalmente no tratamento de doentes com CHB devido à supressão do DNA do HBV e à baixa resistência genotípica. O entecavir é recomendado como primeira linha pela *Associação Americana do Estudo das Doenças do Fígado* e pela *Associação Europeia do Estudo do Fígado* (Kim et al., 2012).

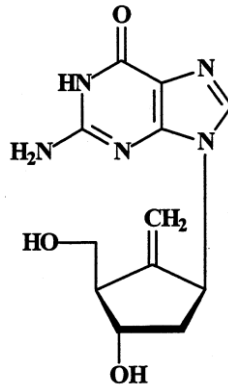


Figura 53. Estrutura do entecavir (De Clercq, 2001).

O metabolito 5'-trifosfato é o responsável pela inibição da DNA polimerase do HBV por competição com a desoxiguanosina trifosfato. Por conter um grupo 3'-hidroxilo na metade da parte ativa do entecavir, não atua obrigatoriamente como finalizador da cadeia do DNA, permitindo que diversos nucleótidos sejam incorporados na cadeia antes da sua finalização. Ao inibir a replicação viral permite que, nas lesões histológicas do fígado, as transaminases sejam normalizadas e melhoradas em doentes com CHB (Fung et al., 2011; Pipilli et al., 2013).;

O entecavir apresenta uma boa administração oral, com um bom perfil de segurança, tolerabilidade, eficácia e ação anti viral, sendo mais eficaz a reduzir a replicação do DNA viral que a lamivudina. Por ser necessário uma combinação de três mutações, este composto apresenta baixa resistência (Fung et al., 2011; Pipilli et al., 2013).

3.2.5. Vidarabina

A vidarabina (Vira-A®) é um análogo nucleósido da adenosina (Figura 54) usado no tratamento de viroses causadas pelo vírus da Varicela Zóster e pelo HSV (Seifert, 2014).

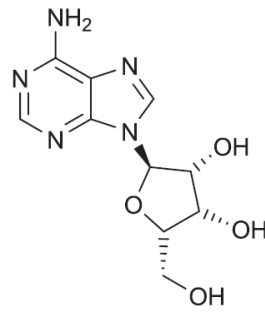


Figura 54. Estrutura da vidarabina (Seifert, 2014).

A vidarabina atua por inibição da síntese do DNA viral na sua forma ativa trifosfatada pela ação de cinases celulares, finalizando a cadeia do DNA por inibição da DNA polimerase viral (Miwa et al., 2005; Seifert, 2014).

Uma das vantagens relativamente ao aciclovir é a capacidade de atuar na DNA polimerase viral e apresentar sensibilidade face aos dois tipos de mutações da DNA polimerase ao qual o aciclovir é resistente. Contudo, é mais tóxico que o aciclovir e por isso, é apenas usado em queratite herpética (Miwa et al., 2005; Seifert, 2014).

3.2.6. Ribavirina

A ribavirina (Rebetol®) (Figura 55) é um análogo da guanosina que inibe a síntese do RNA viral (Antonelli e Turriziani, 2012).

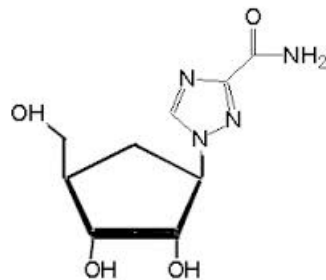


Figura 55. Estrutura da ribavirina (LookForDiagnosis, 2015).

A ribavirina é o único composto usado em monoterapia ou em combinação com outros agentes antivirais, interferão- α ou interferão- α peguilado, para o tratamento do vírus da hepatite C crônica (CHC) (Choi et al., 2010).

Dentro das células é convertida nas três formas fosforiladas sendo a forma trifosfatada a forma ativa que, por ação de uma RNA polimerase viral, é incorporada numa cadeia de RNA viral. A sua atividade é exercida pela inibição da IMP desidrogenase (Choi et al., 2010).

3.2.7. Clevudina

A clevudina (Revovir®) (Figura 56) é um análogo da timidina, com uma boa resposta virológica no vírus da CHB positivos para o antígeno da hepatite B (AgHBe) e negativos para o AgHBe (Fung et al., 2011).

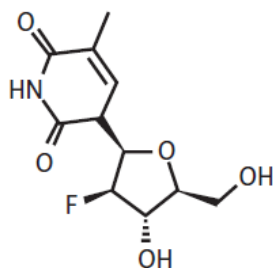


Figura 56. Estrutura da clevudina (Fung et al., 2011).

A clevudina tem atividade antiviral quando fosforilado ao seu metabolito ativo trifosfatado, tendo como alvo a DNA polimerase do HBV, a transcriptase reversa e o DNA circular covalentemente fechado (Fung et al., 2011).

Um dos seus efeitos adversos é a miopatia e toxicidade mitocondrial (Fung et al., 2011; Kim et al., 2012).

IV. Conclusão

Os diversos tipos de neoplasias e algumas doenças virais são consideradas doenças emergentes pelo número crescente de casos verificados, número de mortes e repercussões na qualidade de vida, carecendo de um tratamento célere e totalmente eficaz. Assim, a ciência tem caminhado no sentido de desenvolver e sintetizar novos compostos que permitam combater estas patologias.

Os compostos que atuam no metabolismo dos purina- e pirimidina-nucleótidos têm sido pilares no tratamento destas enfermidades, uma vez que têm mostrado um perfil farmacológico eficiente e seguro na prática clínica.

Na última década assistiu-se a um aumento significativo do número destes compostos. Nos anticancerígenos pelo número de mortes causadas e nos antivirais como resposta à infecção pelo HIV.

Estes são análogos endógenos de nucleótidos ou de nucleósidos que têm como função interferir na síntese do DNA e/ ou do RNA, permitindo inibir o crescimento das células cancerígenas ou inibir a replicação viral. Existem várias classes de compostos, sendo cada uma delas mais adequada quer ao tipo de neoplasia (antifolatos, análogos de purinas, análogos de pirimidinas e agentes desmetilantes) quer ao tipo de infecção viral (antirretrovirais, inibidores nucleósidos da transcriptase reversa, inibidores nucleótidos da transcriptase reversa e não antirretrovirais).

Em suma, tudo indica que pela evolução das tecnologias associadas à medicina, surgirão terapias mais satisfatórias e eficazes comparativamente às já existentes, com novos compostos com propriedades farmacocinéticas melhoradas, maior potência e perfis de toxicidade mais reduzidos.

V. Bibliografia

- Allison, A. (2000). Immunosuppressive drugs: the first 50 years and a glance forward. *Immunopharmacology*, 47(2-3), pp. 63-83.
- Almeida, V. *et al.* (2005). Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Quim. Nova*, 28(1), pp. 118-129.
- Anderson, D. D. e Stover, P. J. (2009). SHMT1 and SHMT2 Are Functionally Redundant in Nuclear De novo Thymidylate Biosynthesis. *PLoS ONE*, 4(6), e5839.
- Antonelli, G. e Turriziani, O. (2012). Antiviral therapy: old and current issues. *Int J Antimicrob Agents*, 40(2), pp. 95-102.
- Buqué, A. *et al.* (2013). Thymidylate Synthase Expression Determines Pemetrexed targets and Resistance Development in Tumor Cells. *PLoS ONE*, 8(5), e63338.
- Cara, C. J. *et al.* (2004). Reviewing the mechanism of action of thiopurine drugs: Towards a new paradigm in clinical practice. *Med Sci Monit*, 10(11), pp. 247-254.
- Cavalcante, L. S. e Monteiro, G. (2014). Gemcitabine: Metabolism and molecular mechanisms of action, sensitivity and chemoresistance in pancreatic cancer. *Eur J Pharmacol*, 741(15), pp. 8-16.
- Chen, C. H. *et al.* (2014). Entecavir vs. lamivudine in chronic hepatitis B patients with severe acute exacerbation and hepatic decompensation. *J Hepatol*, 60(6), pp. 1127-1134.

- Cherian, C. *et al.* (2013). Therapeutic targeting malignant mesothelioma with a novel 6-substituted pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine thienoyl antifolate via its selective uptake by the proton-coupled folate transporter. *Cancer Chemother and Pharmacol*, 71(4), pp. 999-1011.
- Choi, W. J. *et al.* (2010). Synthesis and anti-hepatitis C virus (HCV) activity of 3'-C-substituted-methyl pyrimidine and purine nucleosides. *Bioorg Med Chem*, 18(13), pp. 4812-4820.
- Cihlar, T. e Ray, A. S. (2010). Nucleoside and nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors: 25 years after Zidovudine. *Antiviral Res*, 85(1), pp. 39-58.
- Cipriani, P. *et al.* (2014). Methotrexate in Rheumatoid Arthritis: Optimizing Therapy Among Different Formulation. Current and Emerging Paradigms. *Clin Ther*, 36(3), pp. 427-435.
- Christopherson, R. I. *et al.* (2014). Mechanisms of action of fludarabine nucleoside against human Raji lymphoma cells. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 33(4-6), pp. 375-383.
- Cooper, T. M. (2007). Role of nelarabine in the treatment of T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma. *Ther Clin Risk Manag*, 3(6), pp. 1135-1141.
- Daehn, I. *et al.* (2011). 6-Thioguanine damages mitochondrial DNA and causes mitochondrial dysfunction in human cells. *FEBS Lett*, 585(24), pp. 3941-3946.
- De Clercq, E. (2009). Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV. *Int J Antimicrob Agents*, 33(4), pp. 307-320.
- De Clercq, E. (2005a). Antiviral drug discovery and development: Where chemistry meets with biomedicine. *Antiviral Res*, 67(2), pp. 56-75.

- De Clercq. E. (2001). Antiviral drugs: current state of the art. *J Clin Virol*, 22(1), pp. 73-89.
- De Clercq. E. (2004). Antiviral drugs in current clinical use. *J Clin Virol*, 30(2), pp. 115-133.
- De Clercq. E. (2010). HIV-1 RT Inhibitors with a Novel Mechanism of Action; NNRTIs that Compete with the Nucleotide Substrate. *Viruses*, 2(4), pp. 880-899.
- De Clercq. E. (2012). Milestones in the discovery of antiviral agents: nucleosides and nucleotides. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2(6), pp. 535-548.
- De Clercq. E. (2005b). Recent highlights in the development of new antiviral drugs. *Curr Opin Microbiol*, 8(5), pp. 552-560.
- Desmoulin, S. K. *et al.* (2012). The human proton-coupled folate transporter: Biology and therapeutic application to cancer. *Cancer Biol Ther*, 13(14), pp. 1355-1373.
- Deville-Bonne, D. *et al.* (2010). Human and viral nucleoside/nucleotide kinases involved in antiviral drug activation: Structural and catalytic properties. *Antiviral Res*, 86(1), pp. 101-120.
- Devlin, T. M. *et al.* (1997). Purine And Pyrimidine Nucleotide Metabolism: *In*: Devlin, T. M. *et al.* (Ed.). *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. 4^o edition. New York, Wiley-Liss, pp. 490, 493-494, 501, 503-504.
- Derissen, E. *et al.* (2013). Concise Drug Review: Azacitidine and Decitabine. *Oncologist*, 18(5), pp. 619-624.

- Di Cresce, C. *et al.* (2011). Combining Small Interfering Targeting Thymidylate Synthase and Thymidine Kinase 1 or 2 Sensitizes Human Tumor Cells to 5-Fluorodeoxyuridine and Pemetrexed. *J Pharmacol Exp Ther*, 388(3), pp. 952-963.
- Egeblad, L. *et al.* (2012). Pan-Pathway Based Interaction Profiling of FDA Approved Nucleoside and Nucleobase Analogs with Enzymes of the Human Nucleotide Metabolism. *PLoS One*, 7(5), e37724.
- Enomoto, M. *et al.* (2013). Combination therapy with a nucleos(t)ide analogue and interferon for chronic hepatitis B: simultaneous or sequential. *J Gastroenterol*, 48(9), pp. 999-1005.
- Esposito, F. *et al.* (2012). HIV-1 Reverse Transcriptase Still Remains a New Drug Target: Structure, Function, Classical Inhibitors, and New Inhibitors with Innovative Mechanisms of Action. *Molecular Biology International*, 2012, pp. 1-23.
- Frings, V. *et al.* (2013). Pemetrexed Induced Thymidylate Synthase Inhibition in Non-Small Cell Lung Cancer Patients: A Pilote Study with 3'-Deoxy-3'-[¹⁸F]fluorothymidine Positron Emission Tomography. *PLoS ONE*, 8(5), e63705.
- Fung, J. *et al.* (2011). Nucleoside/nucleotide analogues in the treatment of chronic hepatitis B. *J Antimicrob Chemother*, 66(2), pp. 2715-2725.
- Goodman, G. R. *et al.* (2003). Cladribine in the treatment of hairy-cell leukaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 16(1), pp. 101-116.
- Gonen, N. e Assaraf, Y. G. (2012). Antifolates in cancer therapy: Structure, activity and mechanisms of drug resistance. *Drug Resist Updat*, 15(4), pp.183-210.

- Hardman, J. G. e Limbird, L. E. (2005b). Imunomoduladores: Agentes Imunossupressores, Tolerógenos e Imunoestimulantes. *In: Hardman, J. G. e Limbird, L. E. (Ed.). As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman*. 10ª edição. Rio de Janeiro, McGraw Hill Companies, p. 1103.
- Hardman, J. G. e Limbird, L. E. (2005b). Antimicrobianos: agentes antivirais (não-retrovirais). *In: Hardman, J. G. e Limbird, L. E. (Ed.). As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman*. 10ª edição. Rio de Janeiro, McGraw Hill Companies, pp. 986-988.
- Hardman, J. G. e Limbird, L. E. (2005c). Antimicrobianos: agentes anti-retrovirais. *In: Hardman, J. G. e Limbird, L. E. (Ed.). As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman*. 10ª edição. Rio de Janeiro, McGraw Hill Companies, pp. 985, 1014-1017.
- Hardman, J. G. e Limbird, L. E. (2005d). Antineoplásicos. *In: Hardman, J. G. e Limbird, L. E. (Ed.). As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman*. 10ª edição. Rio de Janeiro, McGraw Hill Companies, pp. 1049-1054, 1059.
- Hunsucker, S. A. *et al.* (2005). The 5'-nucleotidases as regulators of nucleotide and drug metabolism. *Pharmacol Ther*, 107(1), pp. 1-30.
- Izbicka, E. *et al.* (2009). Distinct mechanistic activity profile of pralatrexate in comparison to other antifolates in in vitro and in vivo models of human cancers. *Cancer Chemother Pharmacol*, 64(5), pp. 993-999.
- Jadhav, A. S. *et al.* (2007). Development and validation of enantioselective high performance liquid chromatographic method for Valacyclovir, an antiviral drug in drug substance. *J Pharm Biomed Anal*, 43(4), pp. 1568-1572.

- James, S. H. e Prichard, M. N. (2014). Current and future therapies for herpes simplex virus infection: mechanism of action and drug resistance. *Curr Opin Virol*, 8, pp. 54-61.
- Jordheim, L. P. *et al.* (2013). Advances in the development of nucleosid and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 12(6), pp. 447-464.
- Karim, H. *et al.* (2013). Differential role of thiopurine methyltransferase in the cytotoxic effects of 6-mercaptopurine and 6-thioguanine on human leukemia cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 437(2), pp. 280-286.
- Kim, S. B. *et al.* (2012). Long-term treatment outcomes of clevudine in antiviral-naive patients with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol*, 18(47), pp. 943-6950.
- Kremer, J. M. (2004). Toward a Better Understanding of Methotrexate. *Arthritis Rheum*, 50(5), pp. 1370-1382.
- Lansiaux, A. (2011). Les antimétabolites. *Bolletín du Cancer*, 98(11), pp. 1263-1274.
- Loffler, M. *et al.* (2005). Pyrimidine pathways in health and disease. *Trends Mol Med*, 11(9), pp. 430-437.
- LookForDiagnosis. [Em linha]. Disponível em <http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Ribavirina&lang=3>. [Consultado em 28/08/2015].
- Lukenbill, J. e Kalaycio, M. (2013). Fludarabine: A review of the clear benefits and potential harms. *Leukemia Research*, 37(9), pp. 986-994.

- Macchi, B. e Mastino, A. (2002). Pharmacological and biological aspects of basic research on nucleoside-based reverse transcriptase inhibitor. *Pharmacol Res*, 46(6), pp. 473-482.
- Makin, G. (2013). Principles of chemotherapy. *Paediatrics and Child Health*, 24(4), pp. 161-165. Principles of chemotherapy
- Marchi, E. e O'Connor, O. A. (2012). Safety and efficacy of pralatrexate in the treatment of patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma. *Ther Adv Hematol*, 3(4), pp. 227-235.
- Menéndez-Arias, L. (2008). Mechanisms of resistance to nucleoside analogue inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Virus Res*, 134(1-2), pp. 124-146.
- Mini, E. *et al.* (2006). Cellular pharmacology of gemcitabine. *Ann Oncol*, 17(5), pp. v7-v12.
- Miwa, N. *et al.* (2005). Comparative efficacy of acyclovir and vidarabine on the replication of varicella-zoster virus. *Antiviral Res*, 65(1), pp. 49-55.
- Nelson, D.L. e Cox, M. M. (2005a). Nucleotides and Nucleic Acids. *In: Nelson, D.L. e Cox, M. M. (Ed). Lehninger, Principles of Biochemistry*. 4^a ed, Nova Iorque, Worth Publishers, pp. 273-275.
- Nelson, D.L. e Cox, M. M. (2005b). Biosynthesis of Amino Acids, Nucleotides and Related Molecules. *In: Nelson, D.L. e Cox, M. M. (Ed). Lehninger, Principles of Biochemistry*. 4^a ed, Nova Iorque, Worth Publishers, pp. 864-867,873, 875.
- Palasz, A. e Ciez. D. (2015). In search of uracil derivates as bioactive agents. Uracils and fused uracils: Synthesis, biological activity and application. *Euro J Med Chem*, 97(5), pp. 582-611.

- Palazzolo, M. A. *et al.* (2012). Organocatalytic synthesis of novel purine and pyrimidine acyclic nucleosides. *Tetrahedron Letters*, 53(50), pp. 6797-6800.
- Parker, W. B. (2009). Enzymology of purine and pyrimidine antimetabolites used in treatment of cancer. *Chem Rev*, 109(7), pp. 2880-2093.
- Pipilli, C. *et al.* (2013). Review article: nucleos(t)ide analogues in patients with chronic hepatitis B virus infection and chronic kidney disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 39(1), pp. 35-46.
- Piret, J. e Boivin, G. (2011). Resistance of Herpes Simplex Viruses to Nucleoside Analogues: Mechanisms, Prevalence, and Management. *Antimicrob Agents and Chemother*, 55(2), pp. 459-472.
- Rang. H., P. *et al.* (2008a). Fármacos Anticâncer. *In: Rang. H., P. et al. (Ed.). Farmacologia*. 6ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier, p. 726.
- Rang. H., P., *et al.* (2008b). Fármacos Antivirais. *In: Rang. H., P., et al. (Ed.). Farmacologia*. 6ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier, pp. 686-687.
- Robak, P. e Robak, T. (2013). Older and new purine nucleoside analogs for patients with acute leukemias. *Cancer Treat Rev*, 39(8), pp.851-861.
- Seifert, R. (2014). Vidarabine is neither a potent nor a selective AC5 inhibitor. *Biochem Pharmacol*, 87(4), pp. 543-546.
- Sahasranaman, S. *et al.* (2008). Clinical pharmacology and pharmacogenetics of thiopurines. *Eur J Clin Pharmacol*, 64(8), pp. 753-767.
- Stresemann, C. e Lyko, F. (2008). Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int J Cancer*, 23(1), pp. 8-13.

- Tanriverdi, O. (2014). Is there any effect of bolus and/or infusion 5-fluorouracil treatment on microalbuminuria in immediate or long term?. *Medical Hypotheses*, 83(1), pp.116-118.
- Voorde, J. V. *et al.* (2012). Inhibition of pyrimidine and purine nucleoside phosphorylase by a 3,5-dichlorobenzoyl-substituted 2-deoxy-D-ribose-1-phosphate derivative. *Biochem Pharmacol*, 83(10), pp.1358-1363.
- Yamauchi, T. *et al.* (2014). Reduced drug incorporation into DNA and antiapoptosis as the crucial mechanisms of resistance in a novel nelarabine-resistant cell line. *BMC Center*, 14(547).
- Wechmann, Z. J. *et al.* (2015). Bioactive fused heterocycles: Nucleoside analogs with an additional ring. *Eur J Med Chem*, 97, pp. 388-396.
- Wójtowicz-Rajchel, H. (2012). Synthesis and applications of fluorinated nucleoside analogues. *Journal of Fluorine Chemistry*, 143, pp. 11-48.