

INTRAMOLEKULÁRNÍ CYKLIZACE VYUŽÍVANÉ K UVOLŇOVÁNÍ ÚČINNÝCH LÁTEK Z PROLÉČIV

JARMILA VINŠOVÁ a ALEŠ IMRAMOVSKÝ

Farmaceutická fakulta UK, Heyrovského 1203, 500 05
Hradec Králové
vinsova@faf.cuni.cz

Došlo 4.6.04, přijato 9.12.04.

Klíčová slova: proléčivo, cyklizace, eliminace

Obsah

1. Úvod
2. Požadavky na proléčiva
3. Aktivace pomocí intramolekulární cyklizační eliminace
 - 3.1. Cyklizační eliminace způsobená basicou skupinou
 - 3.2. Cyklizační eliminace působením amidické skupiny
 - 3.3. Cyklizační eliminace působením karboxylátové funkce
 - 3.4. Cyklizační eliminace působením hydroxyskupiny
4. Závěr

1. Úvod

Při hledání nových forem léčiv hrají významnou úlohu typy tzv. proléčiv („prodrugs“). Termín proléčivo byl zaveden již v roce 1958 Adrienem Albertem¹. Podle jeho definice se jedná o terapeutické látky, které podléhají biotransformaci dříve než vyvolají farmakologický efekt. Dnes jsou definovány jako biologicky aktivní látky, které jsou neúčinné při podání, v organismu jsou pak přeměňovány na jeden nebo několik aktivních metabolitů. Většina v současné době úspěšně používaných proléčiv vznikla náhodně, bez jejich cílené přípravy. U mnoha z nich nebylo dlouhou dobu známo, že působí vlastně ve formě jiné struktury, než v jaké byly podávány. Vhodně volenou formou proléčiv lze zlepšit mnoho nepříznivých doprovodných faktorů jako je např. toxicita, špatná rozpustnost, nízká koncentrace v místě působení, které snižují aktivitu léčiva. Proto je cílenému modelování molekul proléčiv věnována v poslední době velmi intenzivní pozornost.

2. Požadavky na proléčiva

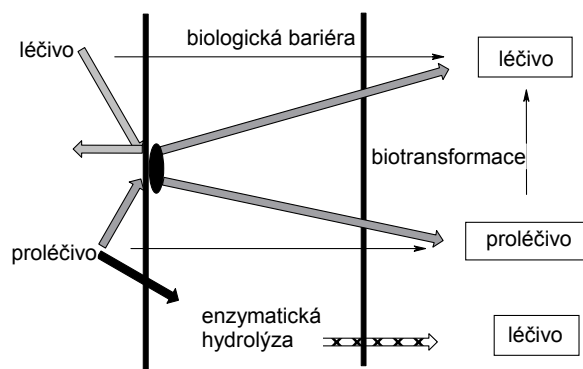
Hlavním důvodem strukturálních obměn různých forem proléčiv je překonání četných bariér (farmaceutických, farmakokinetických, farmakodynamických) a dosažení co nejvyššího terapeutického účinku bez

vedlejších efektů za minimalizování toxicity. Strukturální modifikace molekuly proléčiva hraje významnou roli např. při prostupu léčiva přes biologickou bariéru (sliznice žaludku, střeva, kůže, rohovky, stěny krevních kapilár), kterou musí zdolat dříve, než se dostane do místa svého účinku (orgánu, buňky). Optimální fyzikálně-chemické vlastnosti léčiva dovolí vstup pasivním transportem nebo přes transportní receptory^{2,3}. U polárnějších látek nebo látek, které nemají vhodné fyzikálně-chemické vlastnosti, je tento vstup zpomalen či zastaven. Zlepšení vstřebávání lze potom dosáhnout přípravou vhodné formy proléčiva, která může procházet pasivně nebo přes transportní receptory beze změny nebo s enzymaticky či chemicky obměněnou strukturou, jak znázorňuje obr. 1 (cit.⁴).

Výhody, které přináší proléčiva:

- zdokonalení formy (např. vzrůst rozpustnosti ve vodném prostředí),
- zlepšení chemické stability,
- přijatelnost a vhodnost pro pacienta (odstranění nepříjemné chuti, zápachu, dráždivosti, bolestivosti),
- zvýšení biologické přístupnosti (dostatečná absorpce *per os*, intravenosně, permeabilita krev/mozek),
- prodloužení působení, tzv. protražované formy, které vedou k postupnému uvolňování léčiva,
- zvýšení orgánové selektivity – specifická distribuce („targeting“) do cílové buňky, tkáně (selektivní aktivace),
- potlačení vedlejších účinků, potenciální toxicity metabolických intermediátů, nosičové části nebo vytvořeného metabolitu,
- reagují na požadavky obchodu a racionálně slouží pro vědecké účely.

Proléčiva mohou být klasifikována podle mnoha kritérií



● - transportní receptor

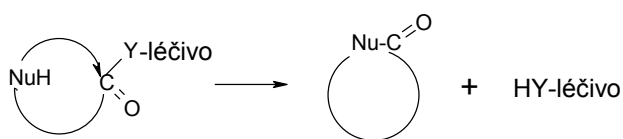
Obr. 1. Princip působení proléčiva

rií. Z chemického hlediska podle typu labilní vazby na nosičovou část proléčiva (esterová vazba, amidická, karbamátová), jako bioprekursory, makromolekulární proléčiva, konjugáty látka-protilátka. Důležitým kritériem je mechanismus aktivace (enzymatická versus neenzymatická – chemická aktivace)⁵. I když je enzymatická aktivace velmi často preferována, především tam, kde existuje možnost selektivní aktivace specifickými enzymy, chemická aktivace (oxidace, redukce, hydrolýza) má řadu výhod, nepodléhá biologické variabilitě. Enzymatické reakce mohou ovlivňovat biologické faktory, které jsou dány individuální rozlišností a způsobují nečekané reakce na podané proléčivo. Aby se tyto obtíže obešly, zvyšuje se počet studií a výzkum aktivovaných proléčiv čistě nebo predominantně neenzymatickými mechanismy.

Dosud používaná chemicky aktivovaná proléčiva zahrnují Mannichovy base, oxazolidiny, estery s basickými vedlejšími řetězci schopné katalyzovat intramolekulární hydrolýzu, estery a amidy podléhající intramolekulární nukleofilní cyklizační eliminaci⁶.

3. Aktivace pomocí intramolekulární cyklizační eliminace

Intramolekulární cyklizačně eliminační reakce se uplatní při designu proléčiv typu fenolů, alkoholů a aminů. Obecný princip těchto reakcí je naznačen ve schématu 1. V tomto jednoduchém nákrese je nukleofilní skupina (Nu) vázána na nosičovou část vedlejšího řetězce, připojenou karbonylovou skupinou (např. u esterové či amidické funkce) k aktivní části molekuly. Nukleofilní atak karbonylu vede k uvolnění molekuly vlastní látky cyklizační nosičové části. Cyklizační aktivace mohou být spuštěny přímou aktivací. Je-li nukleofilní složka v tzv. latentní formě, hovoříme o dvoustupňové aktivaci, tj. nukleofil se aktivuje uvolněním z chráněné (maskované) formy (enzymaticky/chemicky) a proběhne nukleofilní substituce za vzniku cyklické formy nosičové části⁷. Cyklizační aktivace vedou většinou k uvolnění cyklu vedlejší molekuly nebo k cyklizaci vlastní aktivní látky.



Y = O, NH, S
Nu = nukleofil

Schéma 1

Aktivním nukleofilem u těchto cyklizačně eliminačních reakcí je dusíkatá funkce (basická aminoskupina, amidická aminoskupina), nebo kyslíkatá funkce (karboxylát, fenolický či alkoholický hydroxyl).

3.1.1. Cyklizační eliminace způsobená basickou skupinou

Úspěšnou strategií cyklizační eliminace se ukázal nukleofilní atak basickou aminoskupinou. Aktivace basického esteru typu proléčiv radiačního senzitizeru 5-brom-2'-deoxyuridinu, který byl esterifikován v poloze 3' nebo 5' substituovanými basickými aminokyselinami, vede k cyklizaci piperazin-2-onu za uvolnění 5-brom-2'-deoxyuridinu bez tvorby dalších produktů (schéma 2, cit.⁸). V kyselém prostředí nebyla pozorována hydrolýza, při pH 7,4 a 37 °C v pufru byl poločas rozpadu pro dvě proléčiva (R=H, cyklohexyl) 23 resp. 30 min. V této sérii byla intramolekulární aktivace cyklickou eliminací regulována sterickými faktory. Uvolnění relativně lipofilní a neutrální látky z basické hydrofilní formy proléčiva nabízí netušené možnosti pro využití u lékové distribuce.

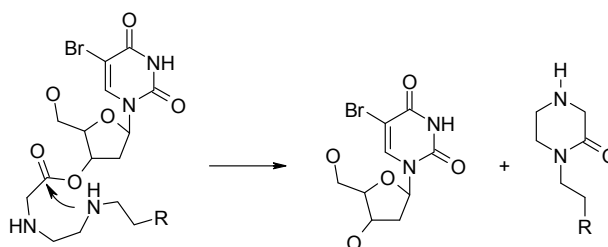


Schéma 2

Další typ intramolekulární cyklizační reakce byl použit u basických karbamátů 4-methoxyfenolu, které jsou klinicky účinné melanocytotoxické látky. Esterová proléčiva alkoholů a fenolů jsou využívána pro zvýšení rozpustnosti, absorpce, biologické vhodnosti a prodloužení působení. Struktura těchto basických karbamátů je ukázána na schématu 3, kde X=OCH₃, vodík a n=2 nebo 3. Kratší řetězec (n=2) podporuje intramolekulární cyklizaci. Rychlejší intramolekulární cyklizace byla pozorována u N,N'-dimethyl a N,N',N'-trimethylovaných analogů, zatímco N- nebo N'-monosubstituované deriváty byly 10× méně reaktivní, N,N'-nesubstituovaná sloučenina byla ještě méně reaktivní. Pro rychlou aktivaci jsou tedy důležité minimálně dvě methylové skupiny. Zvětšující se velikost substituentů, např. již ethyl, působí sterickým bráněním pokles reaktivity^{8,9}.

Karbamáty jsou oproti esterům stabilní v kyselém prostředí (pH 4) a jsou reaktivnější při hodnotách pH 7,4 a teplotě 37 °C.

Snaha o získání nových antibakteriálně aktivních látek je dána vzrůstající rezistencí bakteriálních patogenů vůči již existujícím antibiotikům. Proto je věnována maximální pozornost přípravě sloučenin s jiným, novým mechanismem účinku antibakteriální aktivity. Enzym peptid deformylasa (PDF), který je zodpovědný za uvolňování N-koncové formylové skupiny u nově syntetizovaných polypeptidů, je esenciální pro všechny druhy bakterií a je nepostradatelný pro jejich přežití. U savčích buněk se však nevyskytuje. 5'-Dipeptidyllové deriváty 5-fluor-2'-deoxyuridinu jeho

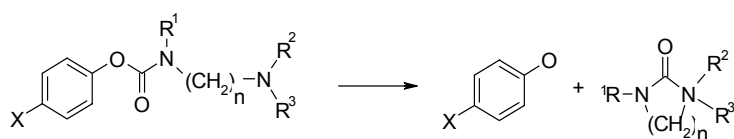


Schéma 3

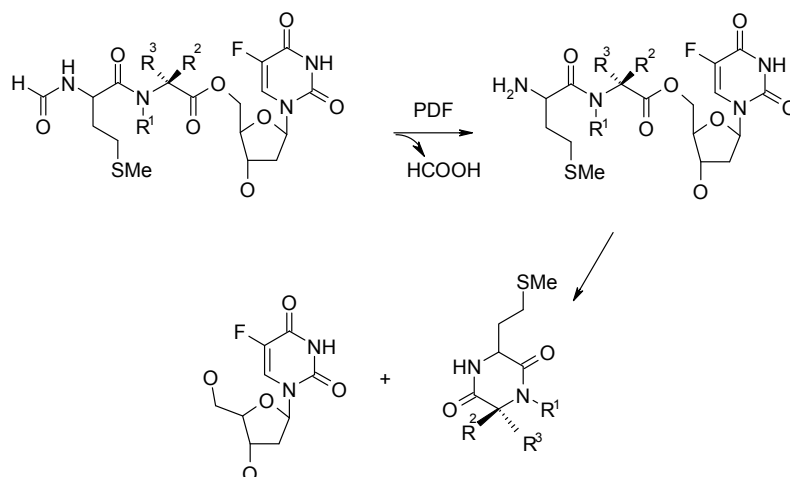


Schéma 4

působením uvolňují koncovou *N*-formylovou skupinu vázanou na methionin. Tím se aktivuje aminoskupina dipeptidu a dochází k nukleofilní cyklizaci na piperazin-2,5-dion za uvolnění 5-fluor-2'-deoxyuridinu (schéma 4). Protože je PDF přítomna pouze v buňkách bakterií, aktivní forma se uvolňuje až v místě působení, čímž se minimalizuje toxicita pro hostující organismus¹⁰.

Dipeptidy jako nosiče našly všeobecné využití pro svoji samovolnou cyklizaci¹¹. Modifikací sulfonamidových prodrugs s antimalarickou a bakteriostatickou aktivitou byla získána antimalarika dlouhodobě působící proti chlorochin rezistentním kmenům *Plasmodium falciparum*. Dipeptid je navázán na anilínovou aminoskupinu nebo na skupinu sulfonamidovou. Neenzymatickým mechanismem

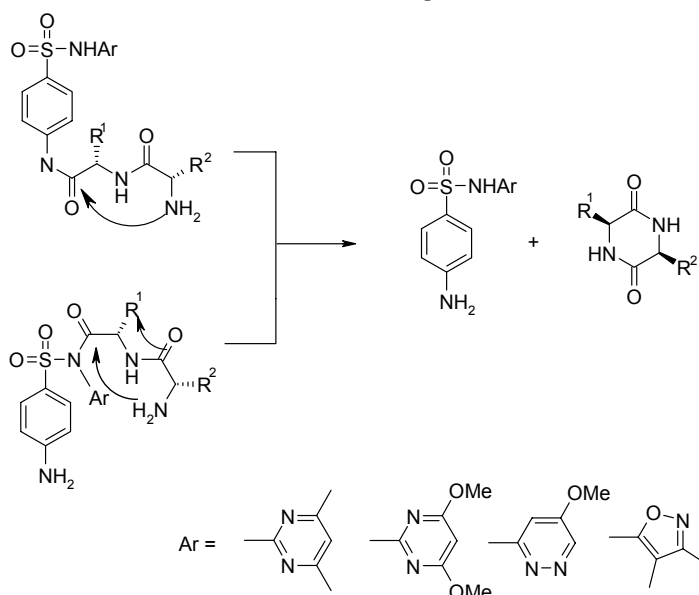


Schéma 5

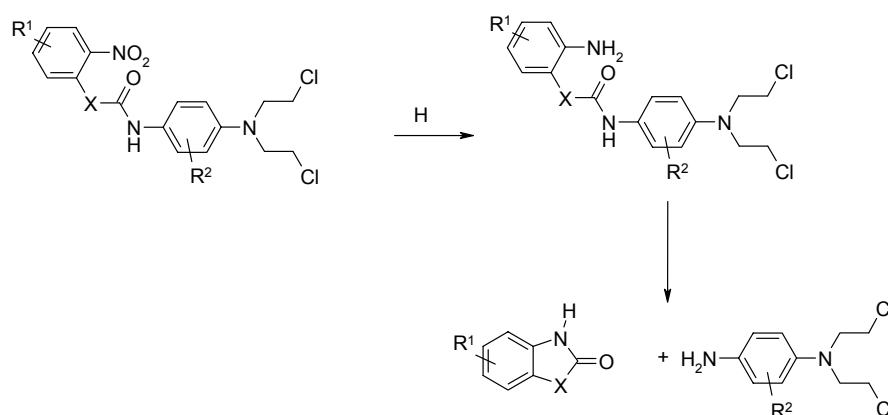


Schéma 6

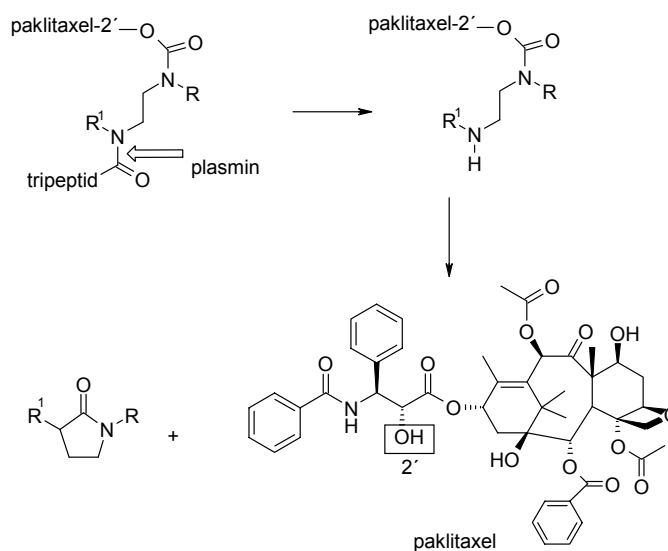


Schéma 7

se cyklizuje na piperazindiony a uvolňuje aktivní sulfonamid (schéma 5, cit.¹²).

Cyklizační aktivace cytotoxických aromatických prolečiv typu aromatických dusíkatých yperitů jsou selektivně aktivovány až v hypoxických nádorových buňkách. Aktivace je založena na vzniku aminoskupiny, která je v latentní formě jako nitroskupina. V hypoxickém prostředí nádorových buněk dochází k redukcí nitroskupiny na aminoskupinu, tím se spustí cyklizační eliminace za uvolnění vlastního cytotoxického aromatického yperitu (schéma 6, cit.¹³).

Paklitaxel (taxol) je chemoterapeutikum se selektivní protinádorovou aktivitou, používaný proti rakovině ovarií, prsu a plic. Pro klinické využití je však málo rozpustný ve vodě. Ke zlepšení jeho rozpustnosti vede konverze na karbamátové prolečivo, které je selektivně hydrolyzováno proteasou plasminem přítomným v nádorové tkáni. Proteo-

lytický aktivní plasmin je tvořen z proenzymové formy plasminogenu aktivátorem urokinasového typu produkovaným v buněčné tkáni nádorové buňky. Aktivací aminoskupiny spojovacího članku dochází k cyklizaci na pyrrolidin-2-on a eliminaci molekuly paklitaxelu (schéma 7, cit.¹⁴).

3.2. Cyklizační eliminace působením amidické skupiny

U modelu *N*-substituovaných fenyl-[(2-amino-karbonyl)fenyl]karbamátů ($X=H, Cl, OCH_3$) atakuje deprotonovaná karboxamidová skupina karbamátový karbonyl za tvorby 1*H*,3*H*-chinazolin-2,4-dionu a uvolnění fenolu (schéma 8).

Stabilita této série karbamátů byla sledována v pufru a v lidské plazmě. Rychlost neenzymatické cyklizační

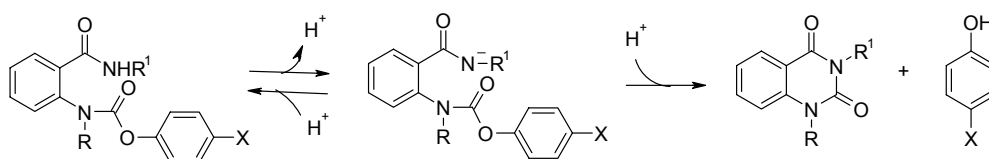


Schéma 8

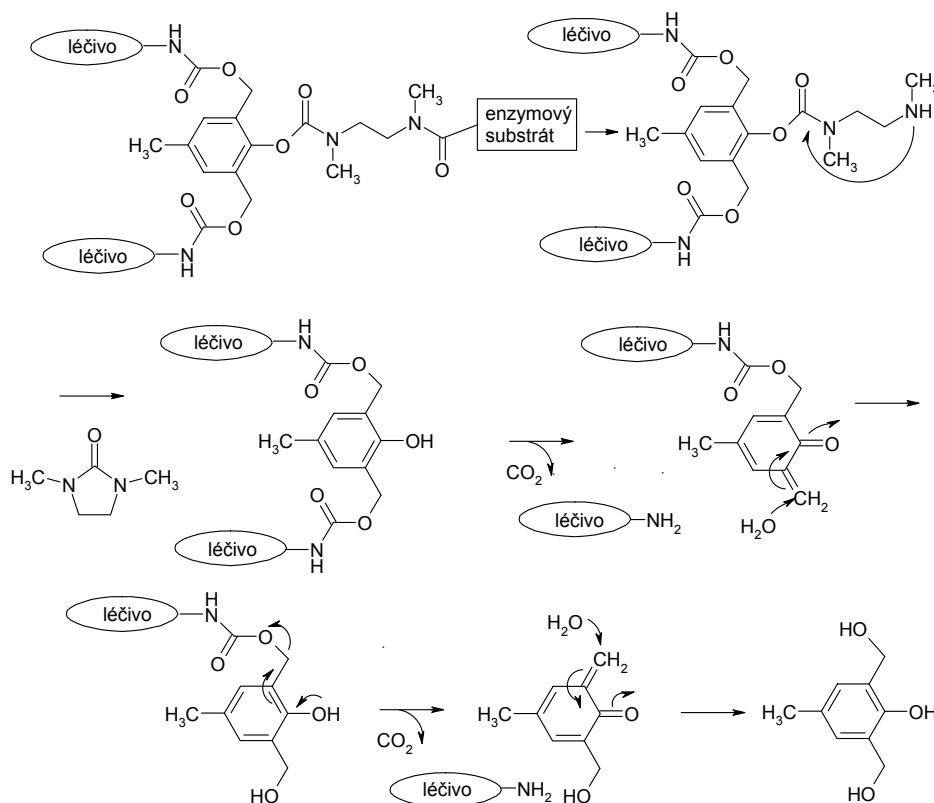


Schéma 9

eliminace závisí na charakteru karboxamidového substituentu (R^1). Větší alkyl než methyl silně snižuje reaktivitu pravděpodobně sterickou zábranou. Naproti tomu elektron akceptorní substituent (X) zvyšuje reaktivitu zprostředkováním deprotonace. Tyto efekty jsou natolik významné, že rozdíly v rychlosti uvolňování substituovaných fenolů jsou až 4 řády veličiny (podle typu substituentů). Aktivace v lidské plazmě (chemická či biochemická) byla přibližně dvakrát rychlejší než v pufru. Pro 3 proléčiva s nesubstituovanou karboxamidovou funkcí ($\text{R}^1 = \text{H}$) byla enzymatická reakce dokonce několikrát rychlejší než intramolekulární katalýza. Tyto sloučeniny jsou navrhovány jako substráty plazmatické hydrolasy¹⁵.

U dendritových proléčiv je stavební jednotkou 2,6-bis(hydroxymethyl)-4-methylfenol se třemi reaktivními hydroxyly. Každá hydroxymethylová skupina je vázána karbamátovým spojením k molekule léčiva, takže mohou být uvolňovány z molekuly proléčiva hned dvě molekuly účin-

né látky. Fenolický hydroxyl je navázán přes N,N' -dimethylethyldiaminový můstek na enzymový substrát. Uvolněním substrátu spontánně cyklizuje aminointermediát za tvorby 1,3-dimethylimidazolidin-2-onu. Fenol podléhá 1,4-chinonmethidinovému přesmyku a následující dekarboxylace poskytuje jednu z molekul léčiva. Chinonmethidin rychle zachytí molekulu vody z reakčního média a přejde na fenol, který opět podléhá 1,4-chinonmethidinovému přesmyku za odštěpení druhé aktivní molekuly. Vzniklý chinonmethidin reakcí s další molekulou vody přechází na výchozí 2,6-bis(hydroxymethyl)-4-methylfenol (schéma 9, cit.¹⁶).

3.3. Cyklizační eliminace působením karboxylátové funkce

Katalytické působení karboxylátové skupiny na cyklizační eliminaci může být demonstrováno u monoesterů

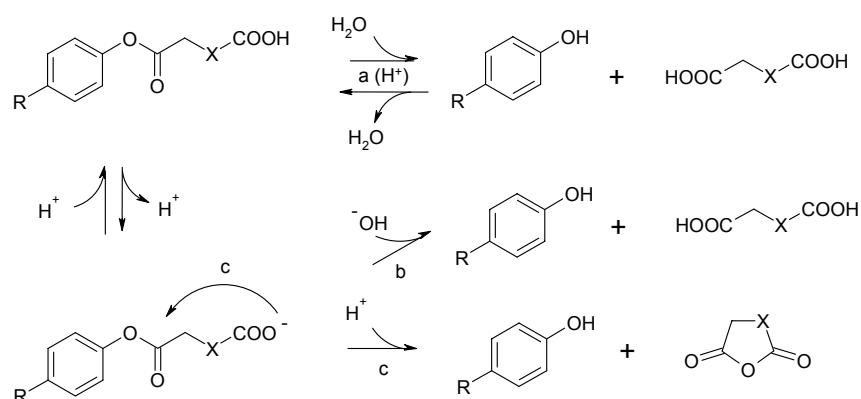


Schéma 10

alifatických dikarboxylových kyselin s fenolem ($R=H$, použit jako modelová látka) nebo paracetamolem ($R=NHCOCH_3$). Byly pozorovány 2 mechanismy chemické hydrolyzy (kyselá katalyzovaná hydrolyza **a**, basicky katalyzovaná hydrolyza **b**) a intramolekulární nukleofilní atak, který vede k cyklizační eliminaci **c** (schéma 10). Při fyziologickém pH a teplotě 37 °C byla dominantní cyklizační eliminace. Její rychlost kolísala od 1 do 350 min podle typu použité kyseliny. Reaktivita je za daných podmínek určena třemi faktory: délkou řetězce dikarboxylové kyseliny, počtem substituentů na řetězci dikarboxylové kyseliny a pK_a fenolu. Monoestery butan-1,4-diové kyseliny ($X=CH_2$) reagují 133× rychleji než např. monoestery pentan-1,5-diové kyseliny, methylace esterové části molekuly ($X=CH_2CH(CH_3)CH_2$) zvyšuje reaktivitu 3,5×. Estery paracetamolu byly degradovány dvakrát rychleji než estery fenolu¹⁷.

3.4. Cyklizační eliminace působením hydroxyskupiny

V této skupině cyklizací existuje několik příkladů, které vedou k cyklizaci vlastní účinné sloučeniny. Např. relaxans kosterních svalů chlorzoxazon je produktem intramolekulární cyklizace 5-chlor-2-hydroxyfenylkarbamátů (schéma 11, cit.¹⁸). V této práci byla prozkoumána široká paleta fenolů a alkoholů, většina z nich jako modelové látky, ale byl mezi nimi také paracetamol. Pro tento typ, kdy se z proléčiva uvolňuje ne jedna, ale dvě molekuly léčiva, byl zaveden termín vzájemné proléčivo.

N-substituovaným 2-hydroxyfenylkarbamátům se podobají 2-hydroxypropylkarbamáty substituované skupinou 2'-methoxyfenyloxy v poloze 3. Jejich aktivace vede k tranquilizéru mephenoxalu za uvolnění alkoholu, fenolu či paracetamolu (schéma 12, cit.¹⁸).

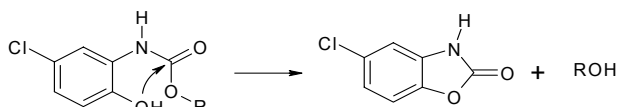


Schéma 11

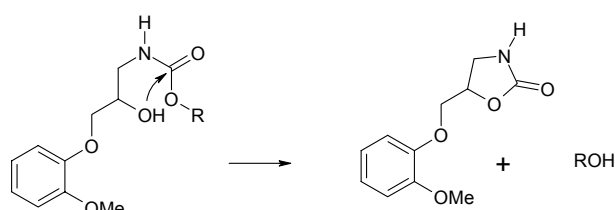


Schéma 12

Dalším příkladem je dvoustupňové proléčivo miotika pilokarpinu, který se používá v očním lékařství ke snížení nitroočního tlaku. Cílem modifikací molekuly proléčiva bylo zvýšení očního zásobování pilokarpinem. Lipofilní diestery 2-ethyl-3-hydroxymethyl-4-(3-methyl-3*H*-imidazol-4-yl)-butanové kyseliny (pilokarpové) jsou v prvním aktivačním kroku hydrolyzovány enzymatickou *O*-acylasou (reakce a). Neenzymatická hydrolyza pozorována nebyla. V druhém kroku vede nukleofilní atak alkoholické hydroxylové skupiny ke ztrátě substituovaného benzylalkoholového nosiče a k uzavření laktónového cyklu na pilokarpin (reakce b) (schéma 13, cit.¹⁹). K acylaci byly použity různé nízkomolekulární alifatické kyseliny (např. butanová, 2,2-dimethylpropionová) nebo substituované aromatické kyseliny (benzoová, 3-chlorbenzoová, pyridin-3-karboxylová).

Další příklady zahrnují léčiva s aminoskupinou (aminy nebo peptidy), převedená na proléčiva typu amidů. Dva modelové 2-(acyloxymethyl)benzamidy ($RR^1N=CH_2NH$, morfolin; $R^2CO=$ většinou acetyl) reagovaly podle očekávání za vzniku sekundárního aminu a 2*H*,5*H*-benzo[*c*]furan-2-onu v kvantitativním výtěžku (schéma 14). Chemická hydrolyza byla při pH 9,3 a 60 °C 2–10× rychlejší než následující cyklizační eliminace. Při fyziologickém pH (7,4) a 37 °C byla chemická hydrolyza velmi pomalá (přibližně 400 h), zatímco v lidské plazmě byla mnohonásobně rychlejší (1,4–3,2 h)²⁰.

N-Substituovaný 2-(2-karbamoyl-1,1-(dimethyl)ethyl)-3,5-dimethylfenylester kyseliny octové je typem dvoustupňových proléčiv aminů. Hydrolyzou esteru (reakce a) se

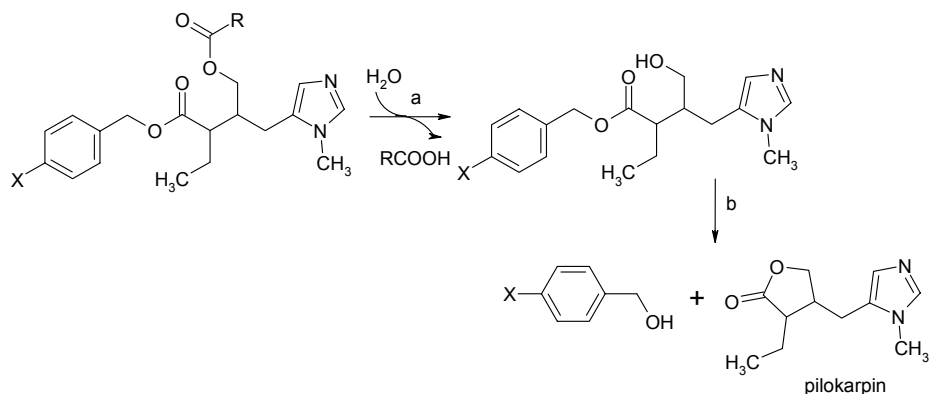


Schéma 13

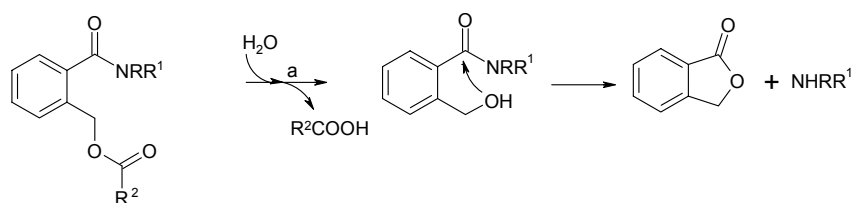


Schéma 14

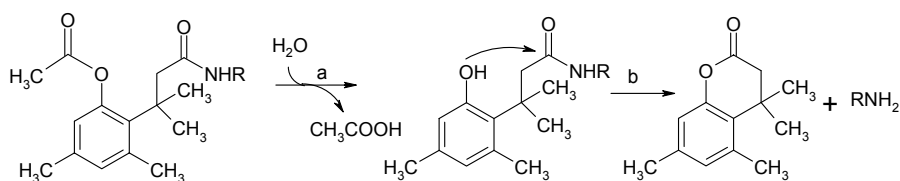


Schéma 15

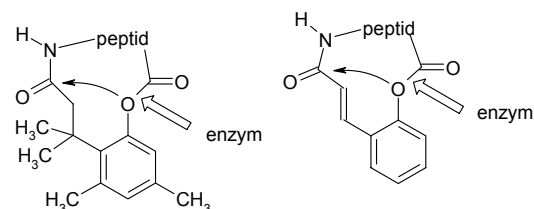
uvolní fenolický hydroxyl, který atakuje amidický karbonyl za vzniku laktonu (reakce b) a uvolnění aminu (schéma 15). Pro sledování vlastností tohoto systému byl použit jako modelová látka 2-methoxyanilin. V pufru při fyziologických podmínkách nebyl detegován žádný fenol, vymizení proléčiva a detekce 4,4,5,7-tetramethylchroman-2-onu bylo zjištěno až za 66 hodin (cit.²¹).

N-Substituovaný 2-(3-karbamoylprop-2-en-1-yl)fenyl ester kyseliny octové je další derivát používaný pro přípravu dvoustupňových proléčiv aminů. Přítomnost fenolické hydroxylové skupiny a *cis*-geometrická izomerie na dvojné vazbě napomáhá cyclizaci za vzniku nenasyceného laktonu chromen-2-onu a uvolnění příslušného aminu (schéma 16, cit.^{22,23}).

Výše uvedená analoga 3-(2'-hydroxyfenyl)propionové kyseliny mohou být spojena amidickou nebo esterovou vazbou také k *N*- nebo *C*-konci peptidu (obr. 2). Připojení fenolických kyselin na peptid vede k propeptidu, z něhož se enzymatickým štěpením esterové vazby uvolní

fenolická hydroxylová skupina, která atakuje karbonylovou skupinu peptidu za cyclizace laktonu 3-(2'-hydroxyfenyl)propionové kyseliny a eliminace aktivního peptidu^{22,24}.

Léčba systémových mykóz u hospitalizovaných pacientů vyvolala potřebu injekční aplikace širokospektrých antifungálních látek. V současné době jsou pro parenterál-



Obr. 2.

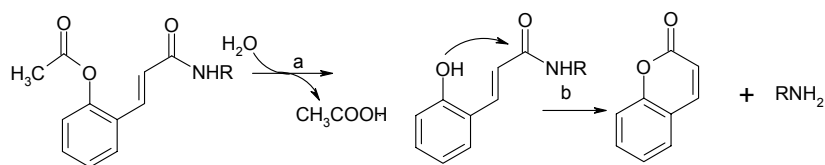


Schéma 16

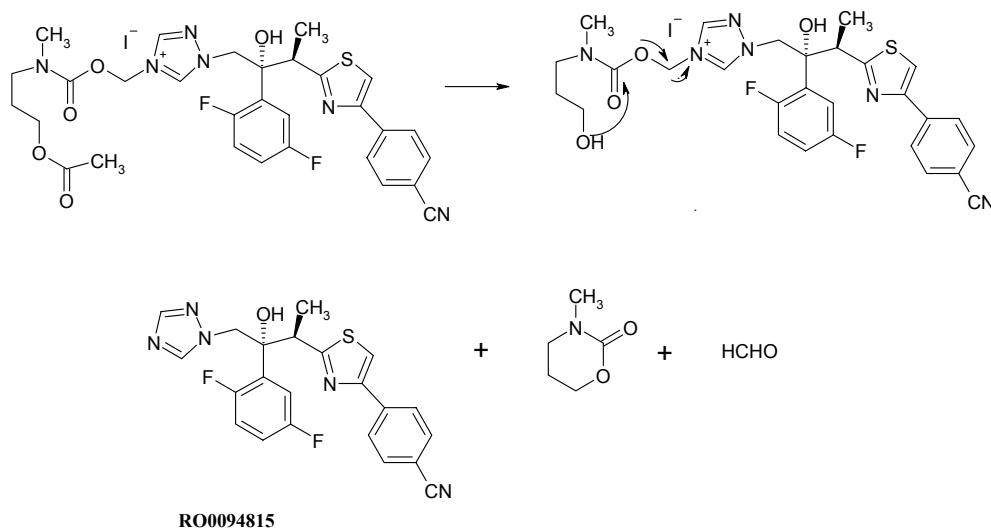


Schéma 17

ni aplikaci vhodné pouze flukonazol (FCZ) a amfotericin B. Jejich spektrum antifungální aktivity je však omezeno. Ve snaze o zvýšení rozpustnosti ve vodě bylo přistoupeno k přípravě proléčiva 4-{2-[2-(2,5-difluorfenyl)-2-hydroxy-1-methyl-3-[1,2,4]triazol-1-yl-propyl]-thiazol-4-yl}-benzonnitrilu (RO0094815), které má širokospektrou antifungální aktivitu zahrnující i FCZ-rezistentní kmeny druhů *Candida* a různé kmeny *Aspergillus*. Kvarternizace dusíku triazolu vede k ve vodě rozpustné soli. Proléčivo obsahuje [N-(3-acetoxypromyl)-N-methylamino]karboxymethylovou skupinu, jejíž esterová část může být rychle hydrolyzována nescifickými enzymy. Serovou esterásoou přechází na alkohol, který podléhá intramolekulární cyklizaci za uvolnění vlastní účinné látky, cyklického karbamátu a formaldehydu (schéma 17, cit.²⁵).

4. Závěr

O tom, že proléčiva hrají významnou roli ve farmaceutickém výzkumu, není jistě pochyb. Jejich design je bezesporu užitečnou strategií pro uvolňování vlastní aktivní látky v místě působení. Lze jím minimalizovat celou řadu nepříznivých vedlejších efektů, zvýšit koncentraci v místě působení a cíleně uvolňovat léčivo z vhodné formy proléčiva. Vedle enzymatických aktivací molekul proléčiv jsou zkoumány také neenzymatické, neboli chemické akti-

vace, které mohou být doprovázeny cyklizačním uvolněním nosiče, nebo cyklizací vlastní účinné molekuly. Tato oblast není zatížena individuální variabilitou metabolismu, dá se sledovat jednoduššími racionálními postupy a její výsledky přinesly mnoho užitečných informací využitelných pro přípravu nových typů léčiv. Proto je cyklizačnímu uvolňování léčiv z různých forem proléčiva věnována pozornost v předkládaném přehledu.

Práce vznikla za finanční podpory grantu IGA MZ 1A/8238-3.

LITERATURA

1. Albert A.: *Nature* 182, 421 (1958).
2. Yang Ch., Tirucherai G. S., Mitra A. K.: *Exp. Opin. Biol. Ther.* 1, 159 (2001).
3. Anand B. S., Dey S., Mitra A. K.: *Exp. Opin. Biol. Ther.* 2, 607 (2002).
4. Majumdar S., Duvvuri S., Mitra A. K.: *Advanced Drug Delivery Rev.* 56, 1437 (2004).
5. Ettmayer P., Amidon G., L., Clement B., Testa B.: *J. Med. Chem.* 47, 2393 (2004).
6. Testa B., Mayer J. M.: *Drug Metabolism Rev.* 30, 787 (1998).
7. Shan D., Nicolaou M. G., Borchardt R. T., Wang B.:

- J. Pharm. Sci. 86, 765 (1997).
8. Saari W. S., Schwering J. E., Lyle P.A., Smith S. J., Engelhardt E. L.: J. Med. Chem. 33, 2590 (1990).
 9. Thomsen K. F., Strøm F., Sforzini B. V., Begtrup M., Mørk N.: Int J. Pharmaceut. 112, 143 (1994).
 10. Wei Y., Pei D.: Bioorg. Med. Chem. Letters 10, 1073 (2000).
 11. Capasso S., Vergara A., Mazzarella L.: J. Amer. Chem. Soc. 120, 1990 (1998).
 12. Gomes P., Gomes J. R. B., Rodrigues M., Moreira R.: Tetrahedron 59, 7473 (2003).
 13. Atwell G. J., Sykes B. M., O'Connor C. J., Denny W. A.: J. Med. Chem. 37, 371 (1994).
 14. De Groot F. M. H., van Berkomp L. W. A., Scheeren H. W.: J. Med. Chem. 43, 3093 (2000).
 15. Thomsen K. F., Bundgaard H.: Int. J. Pharmaceut. 112, 143 (1993).
 16. Shamis M., Lode H. N., Shabat D.: J. Amer. Chem. Soc. 126, 1726 (2004).
 17. Fredholt K., Mørk N., Begtrup M.: Int. J. Pharm. 123, 209 (1995).
 18. Vigroux A., Bergon M., Zedde Ch.: J. Med. Chem. 38, 3983 (1995).
 19. Bundgaard H., Falch E., Larsen C., Mosher G. L., Mikkelsen T. J.: J. Pharm. Sci. 75, 36 (1986).
 20. Nielsen N. M., Bundgaard H.: Int. J. Pharmaceut. 29, 9 (1986).
 21. Amsberry K. L., Gerstenberger A. E., Borchardt R. T.: Pharm. Res. 8, 455 (1991).
 22. Wang B., Zhang H., Wang W.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 6, 945 (1996).
 23. Greenwald R. B., Choe Y. H., Conover Ch.,D., Shum K., Wu D., Royzen M.: J. Med. Chem. 43, 475 (2000).
 24. Pauletti G. M., Gangwar S., Wang B., Borchardt R. T.: Pharm. Rec. 14, 11 (1997).
 25. Ohwada J., Tsukazaki M., Hayase T., Oikawa N., Isshiki Y., Fukuda H., Mizuguchi E., Sakaitani M., Shiratori Y., Yamazaki T., Ichihara S., Umeda I., Shimma N.: Bioorg. Med. Chem. Lett. 13, 191 (2003).

J. Vinšová and A. Imramovský (*Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*): **Intramolecular Cyclization Utilized for Release of Active Substances from Prodrugs**

Modelling of appropriate structures of prodrugs is aimed at numerous barriers (pharmaceutical, pharmacokinetic, pharmacodynamic), which the drug must overcome before getting to the site of action. The requirement is to achieve as high therapeutic effect as possible, without unfavourable effects, while minimizing toxicity of the drug by its controlled release at the site of action. At that the bonding to carrier (by ester or amide bonds) and the activation mechanism (enzymatic or chemical activation) are decisive. Chemical activation possesses some advantages over the enzymatic one: first of all it is not affected by biological factors, which can lead to individual differences in drug metabolism. This is why the research and number of studies of prodrugs activated by nonenzymatic mechanisms is steadily increasing. One of the used approaches is release of the drug proper by intramolecular nucleophilic cyclization of the carrier part of the prodrug molecule or release of the cyclic drug. Drug eliminations by intramolecular cyclization occur with prodrugs of the phenol, alcohol and amine types and may proceed by one- or two-step activation.