

Drug targeting to the kidney : N-acetyl-L-y-glutamyl derivatives as kidney-selective prodrugs

Citation for published version (APA):

Drieman, J. C. (1989). *Drug targeting to the kidney : N-acetyl-L-y-glutamyl derivatives as kidney-selective prodrugs*. Datawyse. <https://doi.org/10.26481/dis.19891117jd>

Document status and date:

Published: 01/01/1989

DOI:

[10.26481/dis.19891117jd](https://doi.org/10.26481/dis.19891117jd)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

SUMMARY

The goal of drug targeting is to achieve high levels of drug in the target tissue and low levels in other tissues. In this way a maximal pharmacologic effect can be produced with a minimum of side effects, i.e. the therapeutic index is optimized. In the introduction (chapter 1), a survey is given of the different strategies used for drug targeting. The experimental section of this thesis focuses upon prodrugs as a drug delivery system to achieve a site-specific effect; in particular the mechanism of the renal selectivity of N-acetyl-L- γ -glutamyl prodrugs was investigated.

Part one of the experimental section describes studies into the renal selectivity of the vasodilator prodrug CGP 22979. It was shown (chapter 2) that upon prodrug administration the active drug (CGP 18137) accumulates in renal tissue compared to other tissues. The half-life of the active drug appeared to be very short, due to a chemical reaction with ketones or aldehydes that are present in the blood. Because of this short half-life, the active drug can only interact with the resistance vessels near the site where the active drug is liberated from the prodrug. This is an important factor in the renal selectivity of CGP 22979.

Studies on the possible involvement of active transport of the prodrug in the renal accumulation of the active drug and the possibility of intracellular conversion are described in chapter 3. It was found that the enzyme γ -glutamyl transpeptidase is not involved in the renal accumulation of the active drug. Inhibitors of the transport of γ -glutamyl compounds and of other anions, on the other hand, sharply decreased renal active drug levels. Furthermore, it appeared that cytosolic systems are able to convert the prodrug, in contrast to microsomal systems.

In order to correlate the renal levels of active drug to the pharmacologic effects, the consequences of enzyme and transport inhibitors on the renal hemodynamic responses to CGP 22979 were investigated (chapter 4). The results of this study confirm the importance of active transport in the renal selectivity of the prodrug. Inhibition of γ -glutamyl transpeptidase, however, caused a significant decrease in effect, while no attenuation of the tissue levels of active drug was found. This shows that the levels of active drug do not always correlate well with the pharmacologic responses when the concentration measurement and the interaction of the active drug with its target are not at the same site. As conclusion of part 1, a model is proposed for the renal handling of the prodrug.

In part 2 (chapter 5-7), experiments are described which were carried out in order to validate and extend this model, especially with respect to the active transport of the prodrug and the nature of the intracellular conversion. For this purpose, a prodrug was chosen of which not only the active drug, but also the prodrug itself and the deacetylated prodrug could be analysed, namely N-acetyl- γ -glutamyl sulfamethoxazole (chapter 5). In *in vitro* studies it was found that the prodrug is activated in two steps, the first one being deacetylation, followed by removal of the γ -glutamyl group. *In vivo*, it was found that the prodrug accumulated in the kidney,

and that this accumulation was due to carrier-mediated transport, sensitive to buthionine sulfoximine and probenecid (see also chapter 7).

A disadvantage of the sulfa-prodrug is that no pharmacologic effect can be measured. Hence, a prodrug was wanted with an intracellular site of action (as opposed to CGP 22979, which has an extracellular site of action). The N-acetyl- γ -glutamyl prodrug of 4'-aminowarfarin was designed as a possible application of the prodrug approach to renal selective drug action. Unfortunately, this prodrug did not have a renal selective action. The cause hereof appeared to be a combination of a high plasma protein binding and a limited transport into the kidney (chapter 6). These findings are important for the design of new renal prodrugs. The structure-transport relationship of N-acetyl- γ -glutamyl prodrugs will have to be investigated in order to be more able to predict the selectivity of these prodrugs.

In chapter 7, the use of kidney slices as a method to assess the renal accumulation of the prodrugs is evaluated. These experiments provide additional proof of the existence of a carrier system for N-acetyl- γ -glutamyl compounds. Incubations with kidney slices are also suited for the determination of intracellular conversion of the prodrug and of the ability of the slices to retain the active drug. Part 2 of this thesis is concluded by a discussion on the importance of some pharmacokinetic parameters on the renal selectivity by carrier-transported prodrugs. It is shown that it is very important to control the plasma concentration of the prodrug at a relatively low level, especially if the same carrier system is also present in non-target tissue.

The possibilities and limitations of the prodrug approach to site-specific drug delivery are discussed in chapter 8. Emphasis is laid on the possibility to achieve site-specificity through carrier-mediated transport for (future) drugs with an intracellular site of action; several tissues are reviewed with respect to their transport capabilities. Finally, some possible applications for kidney-selective prodrugs are given.

SAMENVATTING

"Drug targeting" is het zodanig veranderen van een geneesmiddel dat het zo selectief mogelijk op het doelorgaan werkt. Hierdoor wordt een zo groot mogelijk farmacologisch effect met een minimum aan bijwerkingen bereikt, of, met andere woorden, de therapeutische index wordt geoptimaliseerd. In de introductie (hoofdstuk 1) wordt een overzicht gegeven van de verschillende benaderingswijzen tot drug targeting. Het experimentele gedeelte van dit proefschrift behandelt prodrugs als manier om een orgaan-specifieke werking te verkrijgen; met name is het mechanisme achter de nier-selectiviteit van N-acetyl-L- γ -glutamyl prodrugs onderzocht.

Deel 1 (hoofdstuk 2-4) beschrijft het onderzoek naar het mechanisme van de nierselectiviteit van CGP 22979, een prodrug van de vaatverwijder CGP 18137. Het werd aangetoond (hoofdstuk 2) dat wanneer CGP 22979 toegediend wordt aan ratten, CGP 18137 zich selectief in de nier ophoopt. De halfwaardetijd van CGP 18137 bleek zeer kort te zijn als gevolg van een chemische reactie in het bloed met ketonen of aldehydes, zoals bijvoorbeeld pyrodruivezuur. Door deze korte halfwaardetijd kan het actieve geneesmiddel alleen reageren met de weerstandsvaten in de buurt van de plaats waar de prodrug omgezet wordt naar de actieve verbinding. Dit is een belangrijke factor in de nierselectiviteit van CGP 22979.

Hoofdstuk 3 beschrijft het onderzoek naar de mogelijke betrokkenheid van actief transport en intracellulaire omzetting van de prodrug in de nieraccumulatie van CGP 18137. Het bleek dat het enzym γ -glutamyltranspeptidase niet betrokken was bij de nieraccumulatie van de actieve verbinding. Remmers van het transport van γ -glutamylverbindingen en van andere anionen daarentegen, veroorzaakten een scherpe daling van de concentratie CGP 18137 in de nier. Bovendien werd gevonden dat cytosolische systemen in staat zijn om de prodrug om te zetten, in tegenstelling tot microsomale systemen.

Om de gehalten aan geneesmiddel in de nier te kunnen correleren met de grootte van het farmacologische effect, werden de gevolgen van enzym- en sportremming op het hemodynamische effect van CGP 22979 onderzocht (hoofdstuk 4). De resultaten van dit onderzoek bevestigen het belang van actief transport voor de nierselectiviteit van de prodrug. Echter, remming van het enzym γ -glutamyl transpeptidase veroorzaakte een significante daling van het effect van de prodrug, terwijl dit geen invloed had op de concentraties aan actieve verbinding in de nier (hoofdstuk 3). Dit laat zien dat de geneesmiddelconcentraties niet altijd goed correleren met de farmacologische effecten wanneer de plaats van concentratiemeting en de plaats van werking van het geneesmiddel niet dezelfde zijn. Aan het eind van deel 1 wordt een model voorgesteld voor de opname en omzetting van de prodrug in de nier.

In deel 2 (hoofdstuk 5-7) zijn de experimenten beschreven welke uitgevoerd zijn om dit model te valideren en uit te breiden, met name wat betreft het actieve

transport en de aard van de intracellulaire omzetting. Hiervoor werd een prodrug uitgekozen waarvan niet alleen de actieve verbinding, maar ook de prodrug en de desacetylprodrug gemeten kunnen worden, namelijk N-acetyl- γ -glutamyl sulfamethoxazol (hoofdstuk 5). In vitro onderzoek liet zien dat de prodrug in twee stappen geactiveerd wordt: eerst deacetylering, gevolgd door afsplitsing van de γ -glutamyl groep. In vivo werd gevonden dat de prodrug zelf ophoopt in de nier, en dat die ophoping een gevolg is van carrier-gemedieerd transport, welke gevoelig is voor buthionine sulfoximine en probenecid (zie ook hoofdstuk 7).

Een nadeel van de sulfa-prodrug is dat er geen farmacologisch effect gemeten kon worden. Daarom is er gezocht naar een prodrug met een intracellulaire plaats van werking (in tegenstelling tot CGP 22979, welke een extracellulaire plaats van werking heeft). De N-acetyl- γ -glutamyl prodrug van 4'-aminowarfarine (een verbinding met een intracellulaire plaats van werking) werd ontworpen als een mogelijke toepassing van de prodrug benadering tot het verkrijgen van een nierselectief effect. Helaas bleek dat deze prodrug niet nierselectief is. De oorzaak hiervan bleek te liggen in een combinatie van een hoge plasma-eiwit binding en een beperkt transport de nier in (hoofdstuk 6). Deze bevindingen zijn belangrijk voor het ontwerpen van nieuwe renale prodrugs. De structuur-transport relatie van N-acetyl-L- γ -glutamyl prodrugs moet onderzocht worden om beter in staat te zijn de selectiviteit van prodrugs te kunnen voorspellen.

In hoofdstuk 7 wordt het gebruik van nier-slices voor het bepalen van de renale accumulatie van prodrugs geëvalueerd. Deze proeven geven extra bewijs voor het bestaan van een carrier systeem voor N-acetyl- γ -glutamyl verbindingen. Incubaties met nier-slices zijn ook geschikt voor het bepalen van de intracellulaire omzetting van de prodrug en het vermogen van de slices om de actieve verbinding vast te houden. Deel 2 van dit proefschrift wordt afgesloten met een discussie over het belang van enkele farmacokinetische parameters voor de nierselectiviteit van carrier-getransporteerde prodrugs. Hierin wordt aangetoond dat het belangrijk is om de plasma concentraties van de prodrug op een relatief laag niveau te houden, vooral als dezelfde carrier ook in andere weefsels dan het doelorgaan voorkomt.

De mogelijkheden en beperkingen van de prodrug-benadering voor het verkrijgen van een orgaanspecifieke afgifte van geneesmiddelen worden besproken in hoofdstuk 8. Hierbij wordt de nadruk gelegd op de mogelijkheid voor (toekomstige) geneesmiddelen met een intracellulaire plaats van werking om orgaan specificiteit te bereiken via carrier-gemedieerd transport. De transportmogelijkheden van verschillende weefsels worden besproken. Tenslotte worden enkele mogelijke toepassingen voor nier-selectieve prodrugs gegeven.