

# Sintezne zdravilne učinkovine v onkologiji

## Synthetic drugs in oncology

Aleš Obreza

**Povzetek:** V prispevku je predstavljen kratek pregled najpomembnejših sinteznih učinkovin in učinkovin naravnega izvora, ki se uporabljajo v onkologiji. Razlikujejo se po mehanizmu delovanja, njihovi uporabnosti za zdravljenje rakavih obolenj in po sposobnosti zagotavljanja selektivne toksičnosti.

**Abstract:** The most important synthetic and natural drugs used in oncology are presented in the article. They differ in their mechanism of action, the clinical use in the therapy of different cancer diseases and their selective toxicity.

### 1 Uvod

V prispevku je predstavljen širok spekter sinteznih zdravilnih učinkovin in zdravilnih učinkovin naravnega izvora, ki se uporabljajo v onkologiji. Pisni izdelek je namenoma pripravljen bolj na široko, medtem ko se bom na sami predstavitvi osredotočil le na najpomembnejše skupine in predstavnike. Največji poudarek je namenjen učinkovinom, ki so registrirane v državah EU, pri izboru pa sem si pomagal z že klasično literaturo: Registrom zdravil RS [1], Hagerjevo podatkovno zbirko [2], in zbirko informacij o zdravilnih učinkovinah: AHFS Drug information index [3]. Posebno pozornost bom namenil tudi pregledu novejših prijemališč za protitumorne učinkovine, kjer se bom na kratko dotaknil učinkovin, ki so trenutno še v fazah kliničnih testiranj. Tekom celotnega prispevka bom uporabljal le mednarodna nezaščitenjena imena INN, zdravilne učinkovine pa razdelil na osnovi veljavne ATC klasifikacije.

Že na začetku vas želim opozoriti tudi na podiplomsko izobraževanje za farmacevte, ki je v letu 2005 potekalo na Fakulteti za farmacijo. V predavanjih in spremljajočem gradivu [4] so bile predstavljene učinkovine, ki imajo svoje prijemališče na nukleinskih kislinah, eno izmed predavanj pa je bilo v celoti namenjeno prav protitumornim učinkovinom [5]. Razvoj prvih učinkovin, ki so jih uporabljali v kemoterapiji raka sega na začetek 20. stoletja, ko so pri uporabi bojnega strupa iperita opazili pojav aplazije kostnega mozga in to povezali z možnostjo zdravljenja različnih oblik levkemije. Zmanjšanje reaktivnosti iperitov z uvedbo dušikovega atoma namesto žvepla in strukturne modifikacije so privedli do številnih alkilirajočih citostatikov, ki so se jim sčasoma pridružili drugi razredi protitumornih učinkovin (antimetaboliti, rastlinski alkaloidi, citotoksični antibiotiki...). Največji problem povezan s kemoterapijo raka so relativno majhne razlike med normalnimi in rakavimi celicami, kar otežuje doseganje selektivne toksičnosti. Pri klasičnih protitumornih učinkovinah temelji njeno doseganje na predpostavki, da se maligne celice razmnožujejo hitreje od normalnih in hitreje privzemajo ekstracelularne snovi. Obstajajo pa tudi normalne celice, ki se hitro delijo (celice kostnega mozga,

epitelijske celice v črevesju...), kar povzroča številne resne neželene učinke pri uporabi zdravil.

V zadnjih nekaj desetletjih, predvsem pa od leta 2000 dalje so napredek na področju razumevanja molekularnih osnov kancerogeneze, projekt človeškega genoma in posledično odkrivanje številnih novih potencialnih tarč, omogočili razvoj novih, selektivnejših učinkovin. Načrtovanje novih protitumornih učinkovin je eno izmed najhitreje razvijajočih se področij farmacije. Pri pregledu sodobnih učinkovin sem se v glavnem osredotočil na strokovno literaturo, objavljeno v obliki znanstvenih člankov v zadnjem desetletju.

### 2 Alkilirajoči citostatiki

Alkilirajoči citostatiki so strukturno izredno raznolika skupina spojin, ki jim je skupna zelo elektrofilna skupina, sposobna tvorbe kovalentnih vezi z različnimi nukleofili (aminske, hidroksilne, tiolne skupine). Citotoksični učinek je neposredno povezan z alkiliranjem molekule DNA, pri čemer je najbolj reaktivno mesto N-7 v gvaninu. Druga pomembna mesta za alkiliranje DNA so O-6 gvanina, N-3 citozina, N-1 in N-3 adenina. Primer prečne povezave dveh gvaninov v DNA z molekulo dušikovega iperita kot modelne učinkovine je predstavljen v sliki 1 [6]. Zaradi neselektivnega delovanja so poleg rakavih prizadete tudi normalne, zlasti hitro se deleče celice.

#### 2.1. Dušikovi iperiti

Za vse dušikove iperite je značilna bis(2-kloroetil)aminska skupina, ki se pretvori v zelo reaktiven etileniminski derivat (aziridinijev kation). Dušikovi iperiti se med seboj strukturno razlikujejo le v skupini, ki je vezana na dušikov atom in vpliva na farmakodinamične in farmakokinetične lastnosti [7]. Najenostavnejši alkilirajoči citostatik je **mekloreタミン (1)**, ki pa so ga zaradi velike reaktivnosti in posledično hitre hidrolize ( $t_{1/2} = 15$  min) nadomestili z bolj stabilnimi in selektivnimi derivati z manj neželenimi učinki. Nastanek aziridinijevega kationa olajšajo elektrondonorske skupine, kot so npr. alkilne skupine, medtem

**Preglednica 1:** Razdelitev učinkovin naravnega in sinteznega izvora, ki se uporabljajo za zdravljenje rakavih obolenj po mehanizmu delovanja.

**Table 1:** Classification of natural and synthetic antitumour compounds according to the mechanism of action.

| ALKILIRAJOČI<br>CITOSTATIKI                                                                                                          | ANTIMETABOLITI                                                                                                                                                                          | SPOJINE NARAVNEGA<br>IZVORA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | OSTALE PROTITUMORNE<br>UČINKOVINE                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | HORMONI IN SRODNE<br>SPOJINE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DUŠIKOVI IPERITI<br>- bendamustin<br>- ciklofosamid<br>- ifosfamid<br>- klorambucil<br>- melfalan<br>- prednimustin<br>- trofosfamid | ANALOGI FOLNE KISLINE<br>- metotreksat<br>- pemetreksed<br><br>ANALOGI<br>PURINSKIH BAZ<br>- fludarabin<br>- kladribin<br>- klofarabin<br>- merkaptopurin<br>- nelarabin<br>- tiogvanin | VINKA ALKALOIDI<br>- vinblastin<br>- vinkristin<br>- vindesin<br>- vinorelbin<br><br>DERIVATI<br>PODOFILOTOKSINA<br>- etopozid<br>- tenipozid<br><br>KOLHICINOVI<br>DERIVATI<br>- demokolcin<br><br>TAKSANI<br>- docetaksel<br>- paklitaksel<br><br>CITOTOKSIČNI<br>ANTIBIOTIKI<br>- <i>Aktinomycini</i><br>• daktinomycin<br>- <i>Antraciklini</i><br>• aklarubicin<br>• daunorubicin<br>• doksorubicin<br>• epirubicin<br>• idarubicin<br>• mitoksantron<br>- <i>Drugi citotok.</i><br><i>antibiotiki</i><br>• bleomicin<br>• mitomicin<br>• plikamicin | PLATINOVE SPOJINE<br>- karboplatin<br>- cisplatin<br>- oksaliplatin<br><br>METILHIDRAZINI<br>- prokarbazin<br><br>OSTALO<br>- arzenov trioksid<br>- bortezomib<br>- desatinib<br>- erlotinib<br>- gefitinib<br>- iksabepilon<br>- imatinib<br>- irinotekan<br>- lapatinib<br>- sorafenib<br>- sunitinib<br>- temisirolimus<br>- topotekan | ESTROGENI<br>- dietilstilbestrol<br>- etinilestradiol<br><br>GESTAGENI<br>- medroksiprogesteron<br>- megestrol<br><br>ANALOGI GnRH<br>- goserelin<br>- levprorelin<br>- triptorelin<br><br>ANTIESTROGENI<br>- fulvestrant<br>- tamoksifen<br>- toremifen<br><br>ANTIANDROGENI<br>- bicalutamid<br>- eksemestan<br>- formestan<br>- letrozol<br>- testolakton |
| ALKILSULFONATI<br>- busulfan<br>- treosulfan                                                                                         |                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| ETILENIMINI<br>- tiotepa                                                                                                             | ANALOGI<br>PIRIMIDINSKIH BAZ<br>- azacitidin<br>- citarabin<br>- decitabin<br>- fluorouracil<br>- gemcitabin<br>- kapecitabin<br>- tegafur                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| NITROZOSEČNINE<br>- karmustin<br>- lomustin<br>- nimustin<br>- semustin<br>- streptozocin                                            |                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| DRUGI ALKILIRAJOČI<br>CITOSTATIKI<br>- dekarbazin<br>- mitobronitol<br>- temozolomid                                                 |                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

ko prisotnost elektronprivlačnih skupin intramolekularno ciklizacijo otežuje [5]. **Klorambucil (2)** ima na dušik vezano fenilbutanojsko kislino, ki podaljša razpolovni čas učinkovine (1,5h) in izboljša biološko uporabnost po peroralni aplikaciji (50%). Učinkovit je tudi derivat fenilacetne kisline, ki nastane v procesu metabolizma klorambucila. Učinkovina se uporablja za zdravljenje kronične limfocitne levkemije in ne-Hodgkinovega limfoma [8]. **Melfalan (3)** je L-fenilalaninski derivat dušikovega iperita, ki za vstop v celice lahko izkorišča transportne sisteme za aminokisline. Kljub temu obstajajo velike razlike med posamezniki glede biološke uporabnosti po peroralni aplikaciji. Pri aplikaciji radioaktivno označene učinkovine je le-ta znašala od 5-60%. Uporablja se sam ali pa v kombinacijah za zdravljenje multiplega mieloma, raka na dojkah in jajčnikih, včasih pa tudi pri malignem melanomu [9].

Strukturno sorodna je učinkovina **bendamustin (4)**, ki so jo razvili v 60-ih letih prejšnjega stoletja v vzhodni Nemčiji in vsebuje namesto fenilnega obroča benzimidazol. Slednji oponaša purinske baze, zato imamo v eni molekuli kombinacijo antimetabolita in dušikovega iperita. Resnejše klinične študije na pacientih so se ponovno pričele pred kratkim in v ZDA so v letu 2008 registrirali učinkovino za zdravljenje določenih oblik ne-Hodgkinovih limfomov in kronične limfocitne levkemije [10, 11]. **Prednimustin (5)** je prednizolonski ester klorambucila, pri čemer naj bi bil steroidni del molekule namenjen transportu učinkovine v celice. Na ta način so se zmanjšali neželeni in toksični učinki, spojina pa se je v večini študij izkazala za učinkovitejšo od klorambucila v terapiji različnih oblik levkemije in ne-Hodgkinovih limfomov.

**Ciklofosamid (6), ifosfamid (7) in trofosfamid (8)** so strukturno sorodne spojine z oksazafosfinamiskim obročem, ki so zelo slabo reaktivne in dobro vodotopne, kar omogoča peroralno aplikacijo. V gladkem endoplazmatskem retikulumu hepatocitov poteče oksidativna oksidacija, pri kateri nastanejo 4-hidroksi derivati, ki so v ravnotežju z neciklično aldofosfamidno strukturo. Obe obliki se po krvi preneseta do tumorskih celic, kjer aldofosfamid spontano razpade do ustreznega iperita in akroleina. Slednji je lahko odgovoren za nekatere neželene učinke, npr. za hemoragični cistitis, vendar se ti učinki zmanjšajo z vnosom večje količine vode in sočasno aplikacijo snovi, ki vežejo urotoksične metabolite (mesna). Zaviralno delovanje vseh treh učinkovin na B in T-limfocite privede do imunosupresivnega delovanja, ki lahko poveča možnost različnih okužb, po drugi strani pa se izkorišča v terapiji avtoimunih bolezni (idiopatična trombocitopenična purpura, sistemski lupus eritematosus, revmatoidni artritis). Ciklofosamid, pogosto tudi v kombinacijah z drugimi protitumornimi učinkovinami, spada med najpogostejše uporabljane citostatike [12].

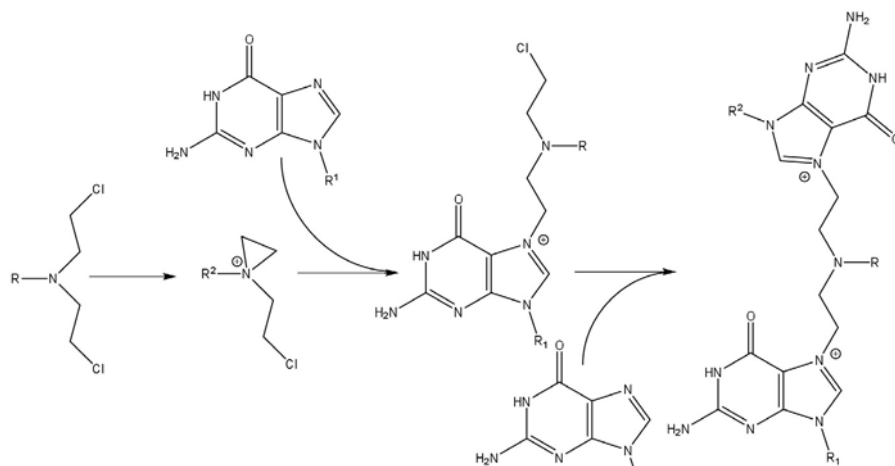
## 2.2 Alkilsulfonati

Estri metansulfonske kisline so zelo močni alkilanti zaradi prisotnosti dobre izstopajoče skupine. Najpomembnejše tarče v organizmu so poleg N-7 gvanina v DNA tudi tiolne skupine proteinov. **Busulfan (9)**,

ester disulfonske kisline, je v vodi praktično netopen, zato ga uporabljamo v obliki obloženih tablet. Učinkovina se po peroralni aplikaciji hitro in skoraj v celoti absorbira in doseže maksimalno plazemsko koncentracijo približno 1 uro po aplikaciji. Pred uvedbo zaviralcev tirozin-kinaz se je pogosto uporabljal zlasti v terapiji kronične granulocitne levkemije in policitemije. Glavni neželeni učinek busulfana je mielosupresija. Z uvedbo dodatnih hidroksilnih skupin na alkilno verigo med obema sulfonatoma dobimo bolj vodotopen derivat **treosulfan (10)**, ki se je nekaj časa uporabljal v terapiji raka na jajčnikih, vendar so ga v zadnjem desetletju nadomestile druge protitumorne učinkovine [2].

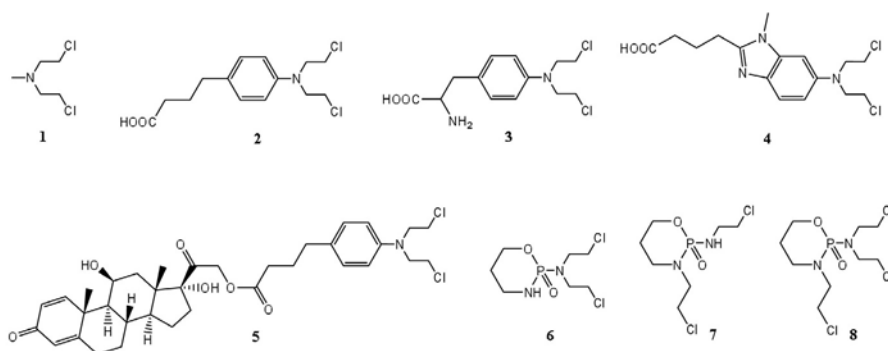
## 2.3 Etilenimini

Etilenimini so po mehanizmu delovanja podobni dušikovim iperitom, le da imamo v primeru etileniminov že prisoten aziridinski obroč, tako da intramolekularna ciklizacija ni potrebna. Edini pomemben predstavnik je **tiotepa (11)**, ki se po reaktivnosti lahko primerja s ciklofosfamidom zaradi tiofosfamidne skupine. Učinkovina se je najpogostejše uporabljala v terapiji raka na sečnem mehurju, medtem ko je o smiselnosti uporabe pri raku na dojki in jajčnikih manj ustreznih podatkov. Metabolična odstranitev žvepla privede do toksičnega metabolita trietilenfosforamida [6].



**Slika 1:** Mehanizem aktivacije dušikovih iperitov in kovalentne vezave na N-7 gvanina

**Figure 1:** Mechanism of nitrogen iperite activation and covalent binding to the N-7 of guanine.



**Slika 2:** Strukture dušikovih iperitov.

**Figure 2:** Structures of nitrogen mustards.

## 2.4 Nitrozosečnine

Nitrozosečnine se po reaktivnosti lahko primerjajo z dušikovimi iperiti in reagirajo z vodo po mehanizmu, predstavljenem na **sliki 3**. Po deprotoniranju na dušiku nastane ciklični oksazolidinski derivat, ki razpade na vinildiazohidroksid in nato vinilni kation, ki je izredno močan alkilant. **Karmustin (12)** ima na nitrozosečnino vezani dve kloroetilni skupini, od katerih je ena nujna za delovanje, druga pa je pri ostalih derivatih zamenjana z raznimi obroči, ki nekoliko zmanjšajo reaktivnost.

Karmustin je nevtralna in slabo vodotopna molekula, ki se uporablja le parenteralno v kombinacijah s 5-fluorouracilom in vinkristinom pri metastatskih karcinomih v prebavnem traktu (želodec, debelo črevo). Nepolarne lastnosti in dobro prehajanje skozi hematoencefalno bariero lahko izkoristimo pri zdravljenju različnih možganskih tumorjev, možna pa je uporaba tudi pri multiplu mielomu in različnih limfomih. Izocianatni preostanek je prav tako reaktiven in lahko tvori kovalentno vez z različnimi encimi, kar je vzrok neželenih učinkov, ki so pri nitrozosečninah precej pogosti. Znano je, da omenjeni fragment reagira z DNA-polimerazo.

Pri **lomustinu (13)** in **semustinu (14)** je ena kloroetilna skupina zamenjana s cikloheksanovim obročem, kar posledično nekoliko zmanjša reaktivnost izocianatnega fragmenta. Po lastnostih in uporabi se ne razlikujeta bistveno od karmustina, najpomembnejša indikacija so tudi v tem primeru možganski tumorji. **Nimustin (15)** in **streptozocin (16)** se od prej omenjenih derivatov razlikujeta po večji vodotopnosti; prvi zaradi aminopirimidinskega obroča, streptozocin pa ima nitrozosečninski del vezan na sladkorni del molekule. Zaradi slednjega lahko učinkovina za vstop v celice izkorišča glukozni transportni protein GLUT2. Zlasti  $\beta$ -celice Langerhansovih otočkov trebušne slinavke vsebujejo večje število omenjenih transmembranskih transportnih proteinov, zato so v večji meri podvržene citotoksičnemu

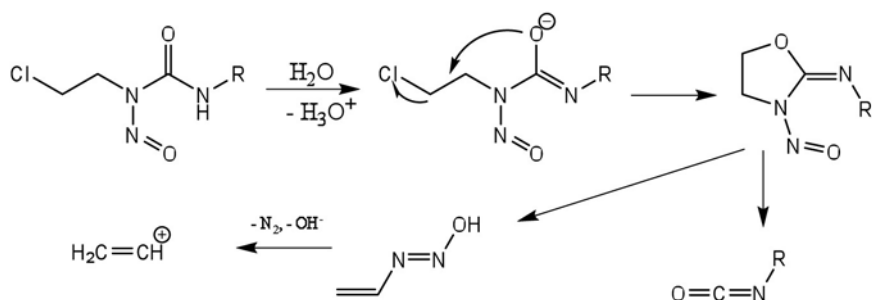
delovanju streptozocina. Uporaba streptozocina pri raku na trebušni slinavki je zaradi številnih neželenih učinkov omejena na primere, ko ni možen operativni poseg [2,6,7].

## 2.5 Drugi alkilirajoči citostatiki

**Dakarbazin (17)** je imidazoltriazinski derivat, ki se v telesu metabolično aktivira, kar privede do nastanka močnega alkilirnega sredstva diazometana. Aplicira se parenteralno in je indiciran za zdravljenje bolnikov z metastazami malignega melanoma. Do remisije pride pri slabi tretjini pacientov zdravljenih z dakarbazinom. Uporablja se tudi v različnih kombinacijah (npr. doksorubicin, bleomicin, vinkristin) pri napredovalem sarkomu mehkih tkiv in pri Hodgkinovi bolezni. Pri večini pacientov povzroči uporaba dakarbazina izrazito slabost z bruhanjem, pogosto tudi diarejo [2,6]. Novejša učinkovina, imidazotetrazinski derivat **temozolomid (18)** je predzdravilo, ki se v organizmu pretvori v N-desmetilni derivat dakarbazina in deluje po enakem mehanizmu. Za razliko od dakarbazina ga lahko uporabljamo peroralno za zdravljenje možganskih tumorjev (malignih gliomov). Najpogostejše mesto alkiliranja je O-6 gvanina. Encim O<sup>6</sup>-alkilgvanin-DNA-alkiltransferaza lahko odstrani metilno skupino s tega mesta in predstavlja najpomembnejši mehanizem rezistence, ki ga nekateri tumorji izkazujejo napram dakarbazinu in temozolomidu. Spojino so v zadnjem desetletju z mešanimi uspehi testirali še pri raznih drugih oblikah rakavih obolenj [13].

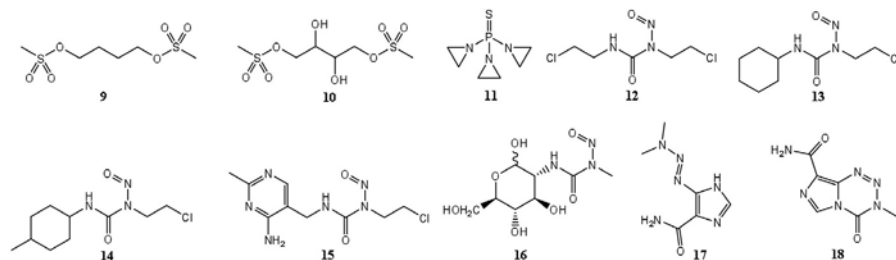
## 3 Antimetaboliti

Antimetaboliti so spojine, ki preprečujejo biosintezo ali presnovo normalnih celičnih metabolitov, zato lahko upočasnijo celično rast ali delitev. Navadno so strukturno sorodni običajnim substratom pri različnih biokemičnih reakcijah in vstopajo v reakcije namesto njih, zato jih pogosto imenujemo lažni substrati. Po mehanizmu delovanja so



**Slika 3:** Mehanizem nastanka elektrofila pri nitrozosečninah.

**Figure 3:** Mechanism of electrophile formation in nitrosoureas.



**Slika 4:** Strukture ostalih alkilirajočih citostatikov.

**Figure 4:** Structures of other alkylating agents

pogosto encimski inhibitorji, ali pa ustavijo verižno biokemično reakcijo na določeni stopnji. V terapiji rakavih obolenj se uporabljajo analogi folne kisline, purinskih in pirimidinskih baz.

### 3.1 Analogi folne kisline

Antagonisti folne kisline historično zavzemajo posebno mesto med protitumornimi učinkovinami, saj so z njihovo pomočjo dosegli prvo pomembnejše izboljšanje pri pacientih z različnimi oblikami levkemij in solidnih tumorjev. Folna kislina je zgrajena iz treh fragmentov: pteridina, p-aminobenzojske kisline in L-glutaminske kisline. Na glutamat se lahko nato veže do pet glutaminskih kislin, ki tvorijo poliglutamatni rep, kar prepreči izstopanje molekule iz celice (podobno pri sorodnih inhibitorjih). Tetrahidrofolna kislina (**19**) lahko prenaša različne C<sub>1</sub> fragmente, kovalentno vezane na mestih N-5 in N-10, in je nujno potrebna za biosintezo timina in purinskih nukleotidov, ki so osnovni gradniki DNA. Zaradi tega je posebej pomembna za hitro deleče celice. **Metotreksat (20)** zaradi strukturne podobnosti s folno kislino deluje kot kompetitivni reverzibilni inhibitor dihidrofolat-reduktaze. Afiniteta metotreksata do encima je približno tisočkrat večja kot pri naravnem substratu zaradi večje bazičnosti N-1 v metotreksatu, ki tvori ionske interakcije z Asp27 dihidrofolat-reduktaze (pri folni kislini sodeluje N-5). Pteridinski sistem je popolnoma aromatiziran, metilna skupina na dušiku p-aminobenzojske kisline pa je močno kovalentno vezana in ni labilna kot pri derivatih tetrahidrofolne kisline. Posledično se poveča znotrajcelična koncentracija 7,8-dihidrofolne kisline, ki zavira timidilat-sintetazo. Metotreksat zavira tudi delovanje encima glicinamid:ribonukleotid-formiltransferaze, ki je pomemben v biosintezi purinskih nukleotidov.

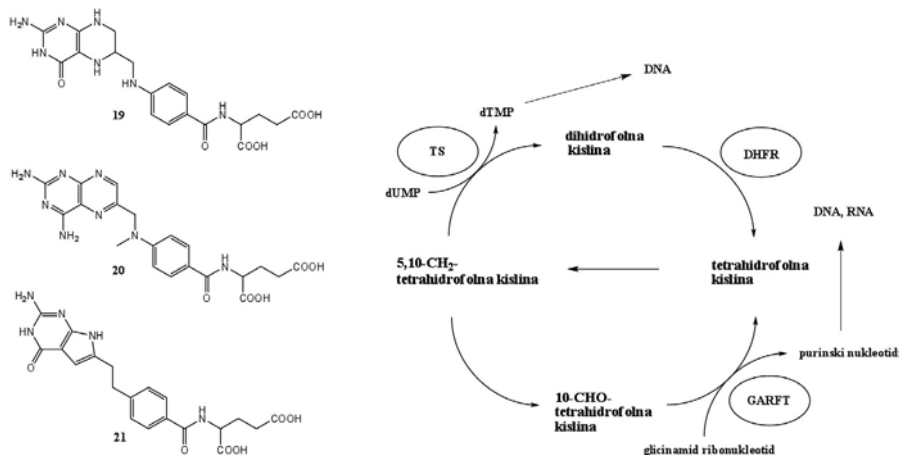
Metotreksat je uspešen v terapiji različnih oblik levkemije, raka na pljučih, dojki, vratu. Poleg tega ga lahko v nižjih odmerkih uporabljamo v terapiji različnih avtoimunih bolezni: luskavice, Crohnove bolezni, revmatoidnega artritisa in kot imunosupresiv pri presajanju organov. Med neželenimi učinki omenimo zaviranje kostnega mozga, ulcerativni stomatitis, hemoragični enteritis, pneumonitis in nefrotoksičnost (kristalurija). Pri visokih odmerkih metotreksata se preventivno zaradi pojava toksičnih učinkov uporablja levkovorin (5-formiltetrahidrofolat), ki pri normalnih celicah omogoča sintezo pirimidinskih in purinskih baz [2,3,5,6].

Metotreksatu in folni kislini je strukturno podobna novejša učinkovina **pemetreksed (21)**, ki se lahko uporablja v obliki vodotopne natrijeve soli. Inhibira številne encime, ki so povezani s folno kislino, zlasti timidilat-sintetazo, z nekoliko nižjo afiniteto pa tudi glicinamid:ribonukleotid-formiltransferazo in dihidrofolat-reduktazo. Vezava poliglutamatnega dela, ki zadrži molekulo v celici je hitrejša v malignih celicah, kar omogoča določeno selektivnost. Za zmanjšanje toksičnih učinkov je potrebno dodajanje folatov in vitamina B<sub>12</sub>, kot preventiva pri alergijskih reakcijah pa se dodajajo kortikosteroidi. Pemetreksed je indiciran za zdravljenje relativno redkega malignega plevralnega mezotelioma. V monoterapiji se uporablja tudi za zdravljenje nedrobnoceličnega raka pljuč (FDA 2008) [14].

### 3.2 Analogi purinskih baz

Proučevanje protitumornih in imunosupresivnih lastnosti različnih purinov sega že v štirideseta leta prejšnjega stoletja. Purinski antimetaboliti sočasno delujejo na več biokemičnih tarč: zavirajo biosintezo purinov, ovirajo sintezo RNA in DNA, podvajanje kromosomov in sintezo glikoproteinov in se najpogosteje uporabljajo pri različnih levkemijah. **Tiogvanin (22)** in **merkaptopurin (23)** sta analoga naravnih purinskih derivatov gvanina in hipoksantina. Učinkovini sta substrata za hipoksantin:gvanin-fosforilriboziltransferazo, ki ju pretvori v ustrezna nukleotida. Nastala produkta v naslednjih encimsko kataliziranih reakcijah reagirata počasneje kot običajni nukleotidi, zato se kopičita v celicah in inhibirata biosintezo purinov in pretvorbo inozinmonofosfata v adenozinmonofosfat. Poleg tega se lahko žveplo-vsebujoči nukleotidi vgrajujejo v molekulo DNA, kjer se metilirajo na žveplu in motijo nadaljnje podvojevanje in prepisovanje DNA, v končni fazi se sprožijo mehanizmi apoptoze. Obe učinkovini se lahko uporabljata peroralno, vendar je zlasti pri merkaptopurinu velika razlika v biološki uporabnosti med posamezniki [2,5,7].

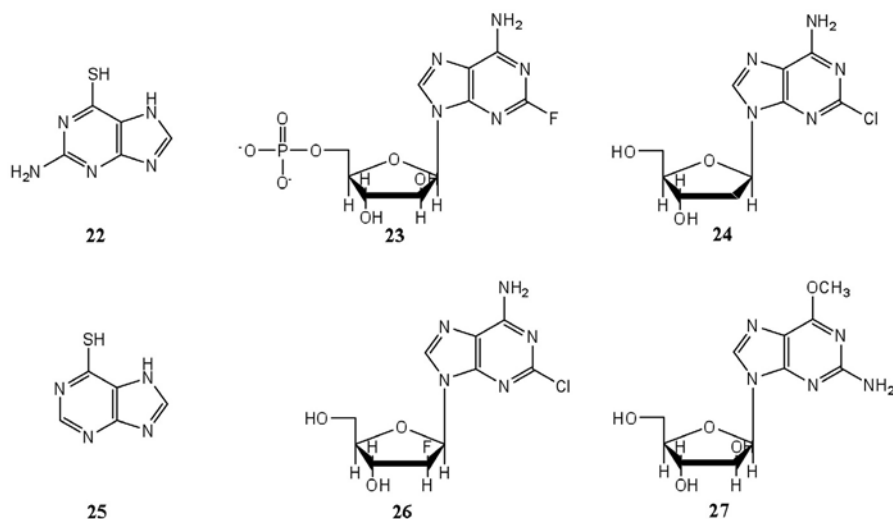
V različnih kombinacijah in tudi samostojno se za zdravljenje kronične limfocitne levkemije B celic uporablja derivat arabinoze **fludarabinfosfat (24)**, ki se uporablja v omenjeni obliki zaradi boljše vodotopnosti. Učinkovina se pred vstopom v celice defosforilira, nato pa se pretvori v fludarabintrifosfat pod vplivom deoksicitidin-kinaze. Nukleotid se lahko vgradi v molekule nukleinskih kislin in sproži



**Slika 5:** Strukture tetrahidrofolne kisline, njenih analogov in metabolizma folatov s tarčami za delovanje metotreksata in pemetrekseda. TS – timidilat-sintetaza, DHFR – dihidrofolat-reduktaza, GARFT – glicinamid:ribonukleotid-formiltransferaza.

**Figure 5:** Structures of tetrahydrofolic acid, its analogs and metabolism of folates with targets for methotrexate and pemetrexed. TS – thymidylate synthase, DHFR – dihydrofolate reductase, GARFT – glycineamide ribonucleotide formyltransferase





Slika 6: Strukture analogov purinskih baz.

Figure 6: Structures of purine analogs.

apoptozo, poleg tega pa zavira številne encime: ribonukleotid-reduktazo, der DNA-polimerazo in DNA-ligazo. Učinkovit je tudi v terapiji številnih drugih levkemij in limfomov, v zadnjem času pa potekajo intenzivne raziskave uporabe fludarabina kot imunosupresiva. Sturkturno in po mehanizmu delovanja sorodna učinkovina je **kladribin (25)**, ki ima namesto fluora kovalentno vezan klorov atom in se uporablja v obliki nukleozida v terapiji dlakavocelične levkemije. Dokaj selektivno vstopa v limfocite, kjer se fosforilira in deluje apoptotično in kot močan inhibitor ribonukleotid-reduktaze.

Toksičnost fludarabina in kladribina je med drugim povezana tudi s hidrolizo glikozidne vezi in nastankom 2-fluoroadenina oziroma 2-kloroadenina. Hidrolizo lahko upočasnijsi ustrezni substituenti na mestu 2' arabinoznega dela, zlasti halogeni [2,6,7]. **Klofarabin (26)** je predzdravilo, derivat 2-kloroadenina in fluoroarabinoze, ki za vstop v celico izkorišča transportne mehanizme za nukleozide, hkrati pa lahko zaradi ustrezne lipofilnosti prehaja membrano s pasivno difuzijo. V celici se fosforilira in se namesto dATP vgrajuje v DNA s pomočjo DNA-polimeraze in povzroči cepitev verige DNA. Poleg tega kot inhibitor ribonukleotid-reduktaze znižuje celično koncentracijo deoksinnukleotidov, zlasti dATP in dCTP. Z neposrednim delovanjem na mitohondrije povzroči sproščanje citohroma c, apoptozo-inducirajočega faktorja in kaspaze 9 v citosol. Zaviranje sinteze DNA in indukcija apoptoze naj bi bila mehanizma, ki razlagata protitumorno delovanje klofarabina v hitro rastočih in mirujočih tumorjih. Učinkovina se uporablja zlasti v pediatriji pri nekaterih oblikah levkemije (akutna limfoblastična levkemija) [15].

Med predzdravila uvrščamo tudi drugo učinkovino, ki se je na tržišču pojavila pred kratkim, **nelarabin (27)**. Arabinofuranozilgvanin je bil sintetiziran že v 60-ih letih prejšnjega stoletja, vendar so bile raziskave opuščene zaradi slabe vodotopnosti učinkovine. Metoksi derivat ima za faktor 10 boljšo topnost in se lahko pod vplivom adenozin-deaminaze pretvori v aktivno obliko. Ta se fosforilira, vgradi v DNA in deluje po enakem mehanizmu kot prej opisane spojine. Nelarabin je v ZDA registriran kot učinkovina drugega izbora za zdravljenje akutne limfoblastne levkemije T-celic in limfoblastnega limfoma T-celic [16].

### 3.3 Analogi pirimidinskih baz

Podobno kot prej omenjeni analogi purinskih baz, tudi analogi pirimidinskih baz inhibirajo določene encime in ovirajo biosintezo nukleotidov, po drugi strani pa se kot lažni nukleotidi vgradijo v nukleinske kisline in motijo njihovo biosintezo in funkcijo. Najpogosteje se uporabljajo halogenirani derivati pirimidinskih baz ali njihovi nukleozidi. Zamenjava vodika s fluorom oziroma metilne skupine z bromom ali jodom bistveno ne vpliva na velikost molekule, spremeni pa reaktivnost spojine in posledično njeno vlogo v organizmu. **Fluorouracil (28)** je analog uracila, pri katerem je vodikov atom na mestu 5 zamenjan s fluorom. V organizmu se v več encimsko kataliziranih stopnjah pretvori v lažni nukleotid. Zaradi prisotnosti močno elektronegativnega fluora je mesto 6 bistveno bolj elektroforno kot pri uracilu in olajša nukleofilni napad Cys-195 timidilat-sintetaze. V naslednji stopnji bi se morala pod vplivom kofaktorja metiltetrahidrofolata cepiti vez med ogljikom in vodikom na mestu 5 in vezati metilna skupina, vendar je vez C-F stabilna, prav tako tudi povezava z encimom, zato ne pride do pretvorbe v timidin in regeneracije timidilat-sintetaze. Lažni metabolit se lahko vgrajuje tudi v molekulo RNA, zaradi pomanjkanja deoksitimidintrifosfata pa tudi v DNA. Popravljalni mehanizmi zaznajo napako in jo poskušajo odpraviti, vendar pride zaradi pomanjkanja deoksitimidintrifosfata do cepitve verige DNA. Fluorouracil uporabljamo peroralno ali parenteralno zlasti za zdravljenje raka debelega črevesa in trebušne slinavke, učinkovit pa je tudi pri raku dojke, jeter in nekaterih tumorjev v področju glave [2,3,6]. Analog uridina je novejša učinkovina **kapecitabin (29)**, ki se kot predzdravilo uporablja za peroralno zdravljenje metastatskega karcinoma debelega črevesa ali dojke. V jetrih in tumorskih celicah se preko deoksifluorocitidina v treh stopnjah pretvori v 5-fluorouracil. **Tegafur (30)** ima na fluorouracilni del vezan tetrahidrofuran, ki oponaša sladkorno komponento in nekoliko zmanjša polarnost molekule. V organizmu se prav tako pretvori v 5-fluorouracil [6].



delovanja niso potrdile, so pa bile živali po intravenski aplikaciji bistveno bolj dovzetne za različne infekcije zaradi zmanjšane števila levkocitov. Supresijo kostnega mozga povzročata strukturno sorodna alkaloida **vinblastin** in **vinkristin** ter njuna polsintezna derivata **vindesin** in **vinorelbin**. Vežejo se na  $\beta$ -tubulin in preprečijo, da bi polimeriziral z  $\alpha$ -tubulinom v mikrotubule. Celična delitev se ustavi v metafazi, saj se brez delitvenega vretena podvojeni kromosomi ne morejo ustrezno razporediti, kar sproži mehanizme apoptoze. Neželeni učinki, zlasti nevrotoksičnost, so povezani z vlogo, ki jo imajo mikrotubuli v številnih biokemijskih procesih [19].

Struktura vinka alkaloidov (**35**) je zelo zapletena, zgrajeni so iz dveh policikličnih sistemov katarantina in vindolina, ki sta nujna za visoko afiniteto vezave na tubulin. Posamezne učinkovine se razlikujejo le v stranskih skupinah, ki prispevajo k različni jakosti delovanja in toksičnosti. Aplicirajo se intravensko, čeprav je vinorelbin tudi peroralno učinkovit. Vinkristin se uporablja v številnih kombinacijah za zdravljenje različnih oblik levkemije, limfomov in nekaterih solidnih tumorjev (rak na dojki, bronhialni karcinom). Glavni neželeni učinek je nevrotoksičnost, ki se manifestira kot odplost, boleče parestezije v okončinah, mišična bolečina. Mielosupresija pri vinkristinu običajno ni problematična, saj se pojavi šele pri višjih koncentracijah. Vinblastin se uporablja tudi v terapiji raka na testisih in Kaposijevega sarkoma. Vinorelbin ima daljši razpolovni čas in po literaturnih podatkih manj izražene neželene učinke. Nevarna je lahko sicer redka intersticijska pnevmopatija. Sam ali pa v kombinaciji s cisplatinom se uporablja pri nedrobnoceličnem raku pljuč in pri napredovalem raku dojke [2, 20].

## 4.2 Derivati podofilotoksina

Sok, iztisnjen iz severnoameriške rastline *Podophyllum peltatum* so okoliški Indijanci uporabljali kot odvajalo in anthelmintik. 1880 je Podwysotski iz korenike izoliral **podofilotoksin**, ki so mu šele v 50-letih določili strukturo. V terapiji se uporabljata polsintezna derivata **etopozid** in **tenipozid**, ki se razlikujeta le v eni stranski skupini (**36**). Glavni mehanizem protitumornega delovanja je inhibicija DNA-topoizomeraze II, podobno kot pri antraciklinskih antibiotikih, v manjši

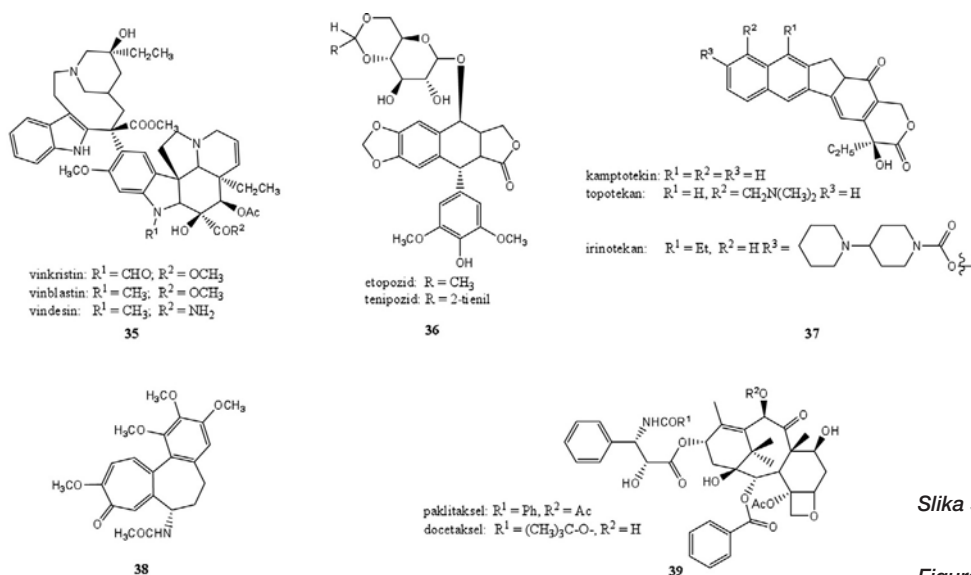
meri pa tudi zavirajo mitozo z delovanjem na citoskelet. Topoizomeraza IIa ima dve vezavni mesti za derivate podofilotoksina, ki stabilizirajo kompleks učinkovina, encim DNA in preprečujejo ponovno povezovanje fragmentov DNA. Omenjeni kompleksi se nabirajo v celici in sprožijo apoptozo. Delovanje je najbolj izraženo v S in na začetku G<sub>2</sub>-faze celičnega cikla. Obe učinkovini sta praktično netopni v vodi, pri čemer tenipozid zaradi nekoliko večje lipofilnosti lažje prehaja v celice, kar se kaže v 10x večji jakosti delovanja. Etopozid se uporablja za zdravljenje drobnoceličnega karcinoma pljuč in raka na testisih v kombinaciji z drugimi učinkovinami, učinkovitost se kaže tudi pri nekaterih limfomih. Za obe učinkovini je značilno teratogeno delovanje, zato naj se ne bi uporabljali v nosečnosti [2,6].

## 4.3 Kamptotekini

Kamptotekina **irinotekan** in **topotekan** sta v Registru RS uvrščena med ostale protitumorne učinkovine, vendar ju bom zaradi izvora, strukture in mehanizma delovanja obravnaval takoj za derivati podofilotoksina. Kamptotekini so pentaciklični laktoni, z bazičnim centrom v stranski verigi (**37**), ki omogoča pripravo vodotopnih soli. Laktonski obroč je nujen za farmakološko delovanje, vendar je podvržen reverzibilni neencimski hidrolizi. Kamptotekini so inhibitorji DNA-topoizomeraze I, vežejo se na kompleks encim-DNA, ki nastane po odprtju dvojnoveržne DNA in preprečijo ponovno povezovanje verig, podobno kot derivati podofilotoksina. Irinotekan se uporablja samostojno, ali v kombinaciji s fluorouracilom v terapiji raka debelega črevesa, v kombinaciji s cisplatinom pa je učinkovit pri nedrobnoceličnem raku pljuč. V slednjem primeru se pogosteje uporablja topotekan [2,6,7].

## 4.4 Kolhicinovi derivati

**Kolhicin (38)** je sekundarni metabolit, prisoten v jesenskem podlesku (*Colchicum autumnale*). V preteklosti se je uporabljal kot emetik in v terapiji putike, danes pa je najbolj zanimiv z vidika protitumornega delovanja. Z vezavo na tubulin prepreči polimerizacijo mikrotubulov in je na ta način podoben vinka alkaloidom [2].



Slika 9: Protitumorne učinkovine naravnega izvora

Figure 9: Natural antitumour drugs.



## 4.5 Taksani

Taksani (39), ki so jih sprva izolirali iz kanadske tise (*Taxus brevifolia*), danes pa jih pridobivajo polsintezno, pospešujejo sintezo mikrotubulov iz monomernih tubulinov. Mikrotubuli postanejo rezistentni na depolimerizacijo in se ne morejo oblikovati v delitveno vreteno, s čimer je moten proces celične delitve. Taksani so zgrajeni iz 15-členskega tricikličnega obročnega sistema, med seboj se razlikujejo po stranskih skupinah. **Paklitaksel** je indiciran v kombinaciji s cisplatinom za zdravljenje raka jajčnikov in pri nedrobnoceličnem raku pljuč. Samostojno ali v kombinacijah se uporablja pri metastatskem raku dojke, rezistentnemu na antracikline, Kaposijevem sarkomu. Podobna je tudi uporaba **docetaksel**a, ki se ne uporablja pri raku jajčnikov. Učinkovini sta teratogeni, hkrati pa povzročata mielosupresijo. Številni taksani se nahajajo v fazi predkliničnih testiranj [2, 21].

## 4.6 Citotoksični antibiotiki

V to skupino uvrščamo številne naravne in polsintezne učinkovine, ki delujejo neposredno na molekulo DNA, ali zavirajo encime, ki so nujni za normalno delovanje nukleinskih kislin. Vsem je skupno večje planarno območje, s katerim se lahko vrinejo med bazne pare DNA (interkalacija) in tvorijo močne nekovalentne vezi z baznimi pari. Struktura DNA se na mestu vrinjenja deformira, kar onemogoča nemoteno replikacijo. Učinkovine so bile sprva namenjene za terapijo bakterijskih infekcij, vendar se zaradi izraženega citostatičnega delovanja uporabljajo le še v terapiji rakavih obolenj. Najpomembnejšo skupino predstavljajo antraciklinski antibiotiki, kamor uvrščamo **aklarubicin**, **daunorubicin**, **doksorubicin**, **epirubicin**, **idarubicin** in **mitoksantron**. Z izjemo slednjega vsebujejo tetraciklični obročni sistem, na katerega je vezan neobičajni sladkor L-daunozamin, med seboj se razlikujejo le po stranskih skupinah na nesladkornem (aglikonskem) delu. Aglikonski del se vgradi med bazne pare, zlasti na področjih, kjer je veliko gvanina in citozina, nastali kompleks pa se stabilizira z vodikovimi vezmi in hidrofobnimi interakcijami. Protoniranaaminska skupina sladkornega dela molekule naj bi tvorila kovalentno vez z  $-NH_2$  na C-2 gvanina preko metilenskega mostu. Poleg tega antraciklinski antibiotiki inhibirajo topoizomerozo II (na podoben način kot derivati podofilotoksina, za vezavo na encim naj bi bil odgovoren nearomatski obroč A v strukturi antraciklinov. Pri redukciji kinonske strukture v obroču C do hidrokinona nastajajo superoksidni radikali, ki se s superoksid-dismutazo pretvorijo v vodikov peroksid, slednji pa pod vplivom katalaze do vode in tripletnega kisika. Nastali vodikov peroksid lahko v prisotnosti  $Fe^{2+}$  reagira po mehanizmu Fentonove reakcije, kar privede do nastanka hidroksilnih radikalov. Slednji mehanizem verjetno nima posebnega pomena za protitumorno delovanje, je pa nastajanje radikalov po mnenju večine strokovnjakov vzrok za kardiotskičnost antraciklinov. Antraciklini se uporabljajo za zdravljenje širokega spektra rakavih obolenj samostojno ali v kombinacijah. Indicirani so za zdravljenje raznih vrst levkemij, limfomov in solidnih tumorjev (rak na mehurju, dojki, jajčnikih, želodcu, ščitnici). Mitoksantron je antracendionski derivat, ki se uporablja pri akutni nelimfocitni levkemiji in raku prostate, ki se ne odziva na hormonsko terapijo. Metaboliti mitoksantrona so izrazito modro obarvani, kar lahko privede do obarvanja urina, včasih tudi kože in beločnice pri pacientih [2,6,7,22].

Aktinomicini, npr. **daktinomicin** so bili prvi citotoksični antibiotiki, ki so bili izolirani iz vrst *Streptomyces*. Zgrajeni so iz fenoksazinskega sistema, na katerega sta vezana dva ciklična pentapeptidna laktone. Daktinomicin se lahko interkalira med citozin in gvanin v isti verigi DNA, s čimer se razdalja med bazama poveča in pride do deformacije molekule DNA. Pentapeptidni preostanki tvorijo vodikove vezi in hidrofobne interakcije s skupinami v malem jarku DNA. Zaradi tvorbe močnih interakcij sta motena procesa replikacije in transkripcije. Uporaben je pri različnih tumorjih pri otrocih: Wilmsov tumor, Ewingov sarkom, osteosarkom, nevroblastom; in odraslih: horiokarcinom, rak testisov. Podoben mehanizem delovanja ima **plikamicin**, pri katerem sta na planarni sistem vezana dva oligosaharida. Zaradi zaviralnega delovanja na osteoklaste se uporablja pri tumorjih, ki jih spremlja izrazita hiperkalcemija [6].

Mitomicini predstavljajo skupino sorodnih spojin, izoliranih iz *Streptomyces lavendulae*. Vsebujejo triciklični obročni sistem, na katerega je kondenziran aziridin. V terapiji se uporablja **mitomicin C**, ki je predzdravilo in se v tumorskih celicah aktivira z redukcijo do hidrokinona, pri kateri nastanejo superoksidni in nato hidroksilni radikali. V molekuli sta dve elektrofilni mesti, poleg aziridinskega obroča še metilenska skupina poleg karbamata, ki lahko reagira z nukleofili v molekuli DNA. Uporablja se intravezikalno za zdravljenje superficialnega karcinoma sečnega mehurja in v kombinacijah pri diseminiranemu adenokarcinomu pankreasa ali želodca. **Bleomicin** je skupno ime za skupino glikopeptidnih citotoksičnih antibiotikov, ki vsebujejo bitiazolni obroč, ki je sposoben interkalacije. Za razliko od drugih predstavljenih antibiotikov ne zavira topoizomeroze II, pač pa so stranske skupine sposobne kelirati kovinske ione (predvsem  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ), ki katalizirajo nastanek radikalov, kar povzroči pretrganje DNA [2].

# 5 Ostale protitumorne učinkovine

## 5.1 Platinove spojine

Platinove(II) koordinacijske spojine uvrščamo med najpomembnejše anorganske in organokovinske protitumorne učinkovine. Kljub nekaj tisoč preizkušnim kompleksom, je še vedno najbolj uporabljan **cisplatin (40)**, ki ima kot ligande na centralni atom platine vezani dve molekuli amoniaka in dva kloridna iona. V vodnem mediju se kloridna iona kot liganda počasi zamenjata z vodnima molekulama, reakcija je še posebej izražena v tumorskih celicah, ki imajo običajno nižjo notrajcelično koncentracijo kloridnih ionov. Nastali kompleks lahko hitro reagira z nukleofili v molekuli DNA. Najpogostejša (> 60%) je tvorba koordinacijske spojine, kjer sta kot liganda udeležena dva gvanina v isti verigi DNA. Bistveno redkejša je povezava med različnima verigama, ki pa je verjetno pomembnejša za citotoksično delovanje. S to povezavo se poruši trodimenzionalna struktura DNA, preprečeni sta replikacija in transkripcija, medtem ko lahko adukte na isti verigi DNA tvori tudi trans izomer **transplatin (41)**, ki ima le šibko izraženo citotoksično delovanje. Cisplatin apliciramo intravensko samostojno ali v kombinacijah za zdravljenje metastatskih karcinomov na testisih in jajčnikih. Na terapijo s cisplatinom so občutljivi tudi mnogi drugi solidni tumorji (rak sečnega mehurja, glave in vratu, materničnega vratu, pljuč). Cisplatin je izrazito nefrotoksična učinkovina in lahko ireverzibilno poškoduje ledvične tubule. Potrebno

je vnašati dovolj velike količine vode in kloridnih ionov, pogosto se uporabljajo tudi salinčni ali druga ozmotski diuretiki, ki pospešujejo izločanje učinkovine z urinom. Izraziti neželeni učinki se pojavijo tudi v prebavnem traktu, kjer se pojavi huda slabost s pogostim bruhanjem, zato se lahko uporabljajo antiemetiki [23, 24].

**Karboplatin (42)** in **oksaliplatin (43)** imata kloridne ione kot ligande zamenjane s karboksilnimi skupinami. Reakcija z vodo je počasnejša in učinkovini imata nekoliko šibkeje izražene neželene učinke. Pri zamenjavi amoniaka z diaminocikloheksanom se je izgubila tudi navzkrižna rezistenca s cisplatinom, tako da se lahko oksaliplatin uporablja tudi pri nekaterih na cisplatin rezistentnih tumorjih. Indiciran je za terapijo metastatskega karcinoma debelega črevesa oziroma danke [25].

## 5.2 Metilhidrazini

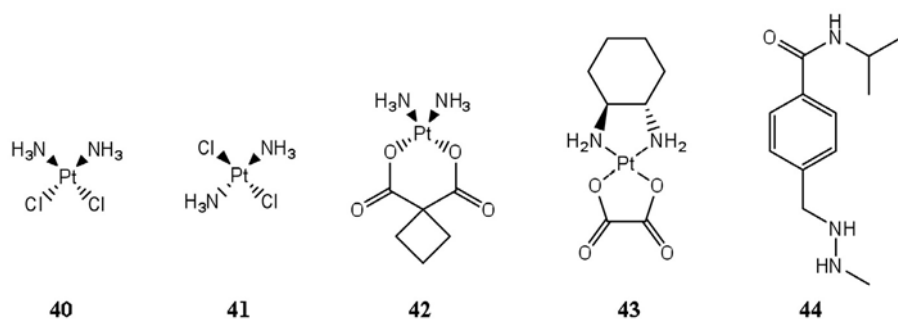
**Prokarbazin (44)** sodi med neklasična alkilirajoča sredstva. Učinkovina se v organizmu metabolično aktivira pod vplivom CYP1A in CYP2B. Oksidativna cepitev vezi med hidrazinskim fragmentom in benzilno skupino vodi do nastanka metilhidrazina, ki se oksidira do aza skupine. Iz molekule se nato odstrani dušik, nastali metilni radikali pa lahko alkilirajo DNA. Učinkovina se v glavnem uporablja peroralno v terapiji Hodgkinove bolezni. Deluje tudi kot močan imunosupresiv, inhibira pa

tudi MAO, kar je potrebno upoštevati z vidika interakcij med zdravilnimi učinkovinami.

## 5.3 Zaviralci tirozin-kinaze

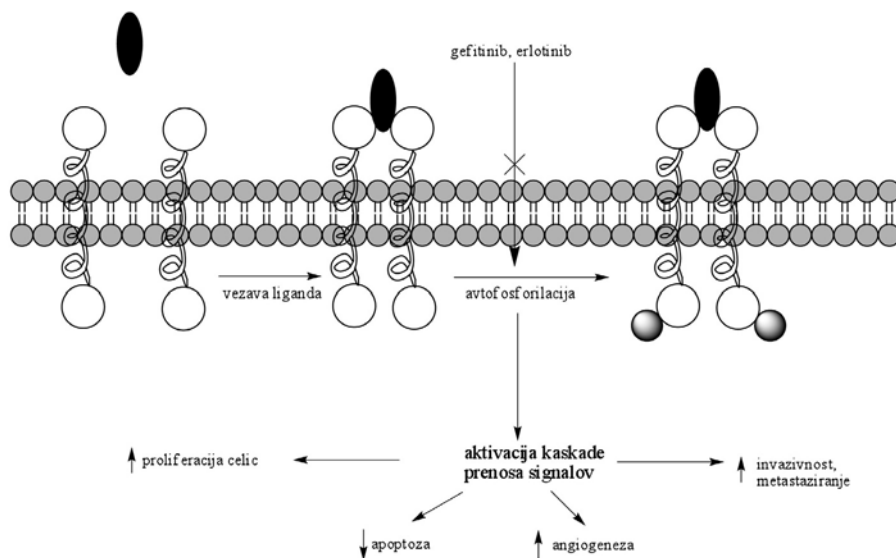
Tirozin-kinaze so skupina encimov, ki katalizirajo prenos fosfatne skupine na tirozinski preostanek tarčnega proteina in sodelujejo v znotrajceličnem signaliziranju. V človeškem genomu so našli približno 100 tirozin-kinaz, ki jih razdelimo v dve skupini. Receptorske tirozin-kinaze imajo zunajcelično vezavno območje, na katerega se vežejo ligandi, medtem ko se nerekceptorske nahajajo v citoplazmi ali celičnem jedru. Udeležene so v najrazličnejših celičnih procesih (rast, metabolizem, diferenciacija, apoptoza), nekatere so udeležene tudi v razvoju rakavih obolenj, kot posledica mutacije ali povečane ekspresije. Zaradi tega predstavljajo nove, zanimive tarče za načrtovanje zdravilnih učinkovin. Predstavljeni bodo zgolj nekateri nizkomolekularni inhibitorji tirozin-kinaz.

**Gefitinib (45)** je prvi selektivni inhibitor tirozin-kinazne domene epiteljskega rastnega faktorja (EGF-R). Vezava liganda na receptor povzroči dimerizacijo receptorja in sproži tirozin-kinazno aktivnost znotrajcelične domene. Avtofosforilacija receptorja sproži kaskadno reakcijo, ki je povezana s celično proliferacijo in zaviranjem apoptotičnih mehanizmov. Aktivacija EGF-R je povezana tudi z rastjo



Slika 10: Strukture platinovih(II) kompleksov in prokarbazina.

Figure 10: Structures of platinum(II) complexes and procarbazine.



Slika 11: Mehanizem znotrajceličnega prenosa signalov preko EGF-R.

Figure 11: Mechanism of intracellular signal-transduction through EGF-R.

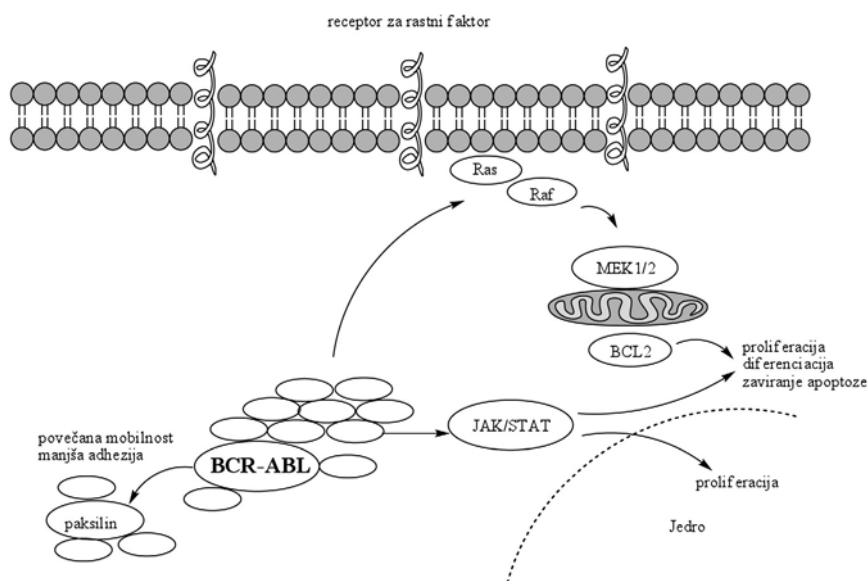
in napredovanjem raznih tumorjev, kjer je poleg omenjenih mehanizmov udeležena še angiogeneza. Gefitinib zavira vezavo ATP na tirozin-kinazno domeno in s tem onemogoča avtofosforilacijo in prenašanje signalov. Uporablja se peroralno za zdravljenje lokalno napredujočega ali metastatskega nemajhnoceličnega pljučnega raka, zlasti kadar so platinove spojine in taksani neuspešni. Obširna študija v letu 2004 ni dokazala statistično signifikantne podaljšanja preživelosti pri omenjenih pacientih. Po strukturi in mehanizmu delovanja je soroden kinazolinski derivat **erlotinib(46)**. Uporablja se tudi v kombinaciji z antimetaboliti za zdravljenje napredovalega raka trebušne slinavke [26,27].

V prenosu signalov preko EGF-R lahko sodelujejo tudi sorodni receptorji, med katere se uvršča HER2, ki se čezmerno izraža v nekaterih oblikah solidnih tumorjev, npr. v 20% primerov raka na dojki. **Lapatinib (47)** je primer dualnega inhibitorja, ki je učinkovit tudi pri nekaterih tumorjih, rezistentnih na monoklonsko protitelo trastuzumab. Lapatinib naj bi imel pred protitelesom določene prednosti. Poleg oteženega razvoja rezistence, lahko kot nizkomolekularni inhibitor prehaja hematoencefalno bariero in je učinkovit proti metastazam, ki se razširijo v CŽS (učinkovita zlasti kombinacija s kapecitabinom). Kardiotsičnost, značilna za trastazumab naj bi bila pri lapatinibu manj izražena [28].

Za večino primerov kronične mieloidne levkemije je značilna recipročna translokacija med kromosoma 9 in 22, pri kateri pride do nastanka BCR-ABL gena, ki kodira protein s izrazito tirozin-kinazno aktivnostjo. S tem je bila identificirana tarča, ki se razlikovala po aktivnosti med normalnimi in levkemičnimi celicami. S postopkoma reševanja visoke zmogljivosti in racionalnimi pristopi farmacevtske kemije je bil odkrit selektivni inhibitor **imatinib (48)**, ki poleg p210<sup>BCR-ABL</sup> zavira še nekatere druge tirozin-kinaze (PDGF-R in c-kit). Z inhibicijo omenjene tirozin-kinaze je povezano antiproliferativno delovanje učinkovine in selektivna indukcija apoptoze pri celicah, ki imajo BCR-ABL gen. Poenostavljen mehanizem prenosa signalov preko BCR-ABL je predstavljen na sliki 12.

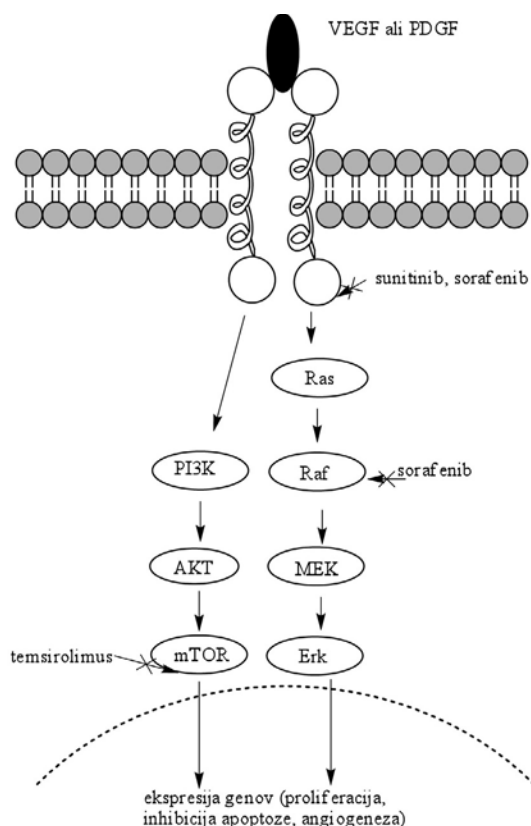
Zaviranje prenosa signalov preko tirozin-kinaz c-kit in PDGF-R se tudi izkorišča v terapevtske namene, npr. pri zdravljenju gastrointestinalnih stromalnih tumorjev, pri katerih pogosto pride do mutacij na genih, ki kodirajo omenjena proteina [29,30].

Najpomembnejši vzrok rezistence na imatinib, ki se pojavlja pri pacientih s kronično mieloidno levkemijo je mutacija, ki prepreči vezavo učinkovine na tirozin-kinazno domeno. **Dasatinib (49)** je manj selektivna učinkovina, ki zavira številne tirozin-kinaze zato so konformacijske omejitve za njegovo vezavo bolj ohlapne. Dasatinib lahko zavira proliferacijo BCR-ABL pozitivnih celic kostnega mozga, ki so se odzivale na zdravljenje z imatinibom in tudi rezistentnih [31]. Multikinazni inhibitor za zdravljenje rakavih obolenj je tudi sečninski derivat **sorafenib (50)**, ki zavira avtofosforilacijo številnih receptorskih (VEGF-R1,2,3, PDGF-R) in nerekceptorskih (izoforme Raf) kinaz. Na ta način zavira prenos signalov preko mitogeno-aktivirane tirozin-kinaze MAPK pri širokem spektru tumorjev, za katere je značilna mutacija k-ras ali b-raf onkogenih. Upočasnjena je proliferacija tumorskih celic, poleg tega pa je za sorafenib značilno zaviranje angiogeneze. Učinkovina se je izkazala za učinkovito v terapiji številnih solidnih tumorjev, indicirana pa je pri nekaterih ledvičnih in jetrnih karcinomih [32]. Več receptorskih tirozin-kinaz, ki so udeležene v rakavih obolenjih, med njimi receptor za vaskularni endotelijski rastni faktor (VEGF-R) in receptor za rastni faktor iz trombocitov (PDGF-R), zavira **sunitinib (51)**. S tem je preprečena v glavnem angiogeneza v rakavem tkivu, ki poteka pod vplivom različnih faktorjev (poleg VEGF in PDGF tudi angiopoietin-1, PIGF). Nastale žile so za razliko od običajnih nepravilno oblikovane, bolj prepustne, v njihovo steno so pogosto vključene rakave celice, imajo pa pomembno vlogo pri rasti tumorjev, saj preprečujejo nekrozo zaradi premajhnega dotoka kisika in hranilnih snovi. Osnovna prednost multikinaznih inhibitorjev je, da hkrati preprečujejo znotrajcelične procese, ki so nujni za preživetje rakavih celic, hkrati pa tudi ovirajo rast tumorjev s tem, da omejijo dotok krvi do rakavega tkiva [33,34]. **Temsirolimus** je zaviralec kinaze mTOR (tarča za rapamicin pri sesalcih), ki se aktivira s kaskado reakcij, sproženih po vezavi liganda na VEGF-R ali PDGF-R. Aktivna oblika mTOR ima ključno vlogo v celični rasti, proliferaciji in regulaciji apoptoze. Temsirolimus je derivat rapamicina, ki je indiciran za napredovali karcinom renalnih celic.



Slika 12: Poenostavljen mehanizem signaliziranja preko BCR-ABL.

Figure 12: Simplified mechanism of signal transduction through BCR-ABL.

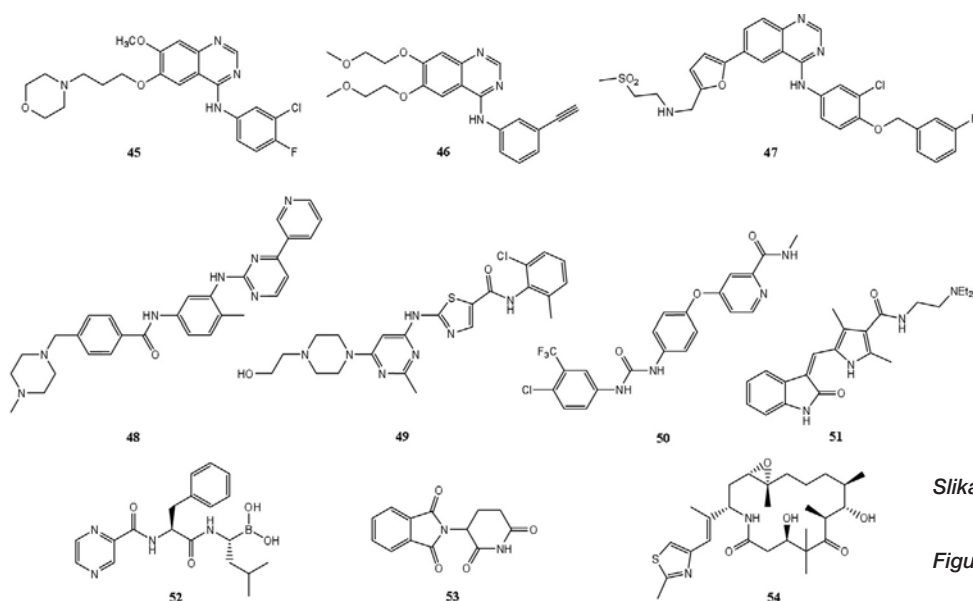


**Slika 13:** Poenostavljen prikaz prenosa signalov po aktivaciji VEGF-R s prijemaščiči učinkovin.

**Figure 13:** Simplified presentation of signal transduction following VEGF-R activation with important drug targets.

## 5.4 Strukturno in po mehanizmu delovanja različne učinkovine

**Bortezomib (52)** je bil prvi reverzibilni inhibitor proteasoma uveden v terapijo multiplega mieloma. Proteasom je multiproteinski delec, ki se nahaja v jedru ali citosolu evkariontskih celic in je odgovoren za razgradnjo številnih proteinov, udeleženi v nadzoru celičnega cikla. Proteasomi tudi selektivno razgrajujejo potencialno škodljive proteine, ki jih v večji količini sintetizirajo rakave celice. Med drugim razgrajuje tudi protein I $\kappa$ B, ki zavira pretvorbo jedrnega faktorja NF- $\kappa$ B iz neaktivnega prekursorja pod vplivom proteasoma. NF- $\kappa$ B se izraža v nekaterih rakavih celicah in ima izražene antiapoptotične lastnosti. Bortezomib je po strukturi dipeptidilboronska kislina, ki selektivno inhibira kimotripsinsko aktivno mesto proteasoma, s čimer je zavrt proteoliza [35]. Zaviranje delovanja NF- $\kappa$ B je eno izmed možnih prijemaščič **talidomida (53)**, stare učinkovine z novo indikacijo. Poleg tega se kot mehanizem delovanja omenja tudi neposredno antiproliferativno in proapoptotično delovanje ter zaviranje angiogeneze. Zanimiva učinkovina, ki se je vrnila v terapijo je **arzenov(III) oksid**. Čeprav je že Hipokrat predlagal njegovo uporabo za zdravljenje različnih »karkinoma«, so šele v 70-ih letih prejšnjega stoletja pričeli z resnimi študijami njegove uporabnosti v terapiji rakavih obolenj. Indiciran je za zdravljenje akutne promielocitne levkemije, ko odpovedo druge učinkovine. Mehanizem delovanja As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> je zelo kompleksen. Dokazano je, da zavira diferenciacijo promielocitov, ekspresijo določenih proonkogenov in spodbuja ekspresijo genov za nkatere apoptotične proteine (kaspaza 3) [2]. **Iksabepilon (54)** je polsintezni derivat epotilona B, ki se veže na  $\beta$ -tubulinsko enoto mikrotubulov in zavira celični cikel v fazi celične delitve. V kombinaciji s kapecitabinom je indiciran za zdravljenje pacientk z metastatskim ali lokalno napredovalim rakom dojke, če je bila uporaba taksanov neuspešna [36].



**Slika 14:** Strukture zaviralcev tirozin-kinaz in drugih protitumornih učinkovin.

**Figure 14:** Structures of tyrosine kinase inhibitors and other anticancer drugs.



## 6 Hormoni in sorodne spojine

Hormoni in njim sorodne spojine se uporabljajo v terapiji rakavih obolenj, ko se celice še odzivajo na hormonski nadzor (estrogene oz. androgene). Glede na mehanizem delovanja jih razdelimo na estrogene, gestagene, analoge GnRH, antiestrogene, antiandrogene in zaviralce encimov, zlasti aromataze. Estrogena etinilestradiol in dietilstilbestrol se navadno uporabljata postoperativno pri raku prostate in v primerih, ko operacija ni možna. Gestageni se uporabljajo pri napreduvalnem raku dojke ali endometriji. Antiandrogeni in analogi GnRH se lahko uporabljajo pri raku prostate, saj preprečujejo delovanje oziroma znižujejo koncentracijo testosterona.

Antiestrogeni se uporabljajo v terapiji raka na dojki v menopavzi, saj preprečijo vezavo estrogenov in na ta način upočasnijo celično delitev pri rakavih celicah. Podoben učinek imajo inhibitorji encimov, ki sodelujejo v biosintezi estrogenov. Aromataza je encim, ki katalizira pretvorbo androstendiona in testosterona v estrogene. Pri postmenopavzalnih ženskah pretvorba v glavnem poteka na periferiji, z inhibicijo encima pa se drastično zniža koncentracija estrogenov, kar upočasnjuje rast tumorjev [2, 7].

## 7 Literatura

1. Register zdravil republike Slovenije X, Inštitut za varovanje zdravja republike Slovenije, 2007.
2. Hagers Handbuch der Drogen und Arzneistoffe. CD-ROM, Springer-Verlag GmbH & Co. Heidelberg, 2008.
3. AHFS Drug information 1999, American society of health-system pharmacists, ZDA, 1999.
4. Obreza A. Od gena do rekombinantnega zdravila : podiplomsko izobraževanje. Ljubljana: Fakulteta za farmacijo, 2005. 136 str.
5. Gobec, S. DNA in terapija rakavih obolenj v: OBREZA, Aleš (ur.). Od gena do rekombinantnega zdravila : podiplomsko izobraževanje. Ljubljana: Fakulteta za farmacijo, 2005: 15-22.
6. Roche VF. Cancer and cancer chemotherapy. In: Williams DA, Lemke TL. Foye's principles of medicinal chemistry. 6<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 1147-1193
7. Chabner BA, Amrein PC, Druker BJ et al. Antineoplastic agents. In: Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 11<sup>th</sup> ed. McGraw Hill, 2006: 1315-1403.
8. Dighiero G, Maloum K, Desablens B et al. Chlorambucil in Indolent Chronic Lymphocytic Leukemia. N Engl J Med 1998; 338:1506-1514.
9. Facon T, Mary JY, Hullin C et al. Melphalan and prednisone plus thalidomide versus melphalan and prednisone alone or reduced-intensity autologous stem cell transplantation in elderly patients with multiple myeloma (IFM 99-06): a randomised trial. Lancet 2007; 370: 1209-1218.
10. Keating MJ, Bach C, Yasothan U et al. Bendamustine. Nature Rev Drug Disc 2008; 7: 473-474.
11. Kath R, Blumenstengel K, Fricke HJ et al. Bendamustine monotherapy in advanced and refractory chronic lymphocytic leukemia. J Cancer Res Clin Oncol 2001; 127: 48-54.
12. Colvin OM An overview of cyclophosphamide development and clinical applications. Curr Pharm Des 1999; 5: 555-560.
13. Newlands ES, Stevens MF, Wedge SR et al. Temozolomide: a review of its discovery, chemical properties, preclinical development and clinical trials. Cancer Treat Rev 1997; 23: 35-61.
14. Muhsin M, Gricks C, Kirkpatrick P. Pemetrexed sodium. Nature Rev Drug Disc 2004; 3: 825-826.
15. Bonate PL, Arthaud L, Cantrell WR et al. Discovery and development of clofarabine: a nucleoside analogue for treating cancer. Nature Rev Drug Disc 2006; 5: 855-863.
16. Gandhi V, Keating MJ, Bate G et al. Nelarabine. Nature Rev Drug Disc 2006; 5: 17-18.
17. Gore SD, Jones C, Kirkpatrick P. Decitabine. Nature Rev Drug Disc 2006; 5: 891-892.
18. Issa JJ, Kantarjian HM, Kirkpatrick P. Azacitidine. Nature Rev Drug Disc 2005; 4: 275-276.
19. Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. J Ethnopharmacol 2005; 100: 72-79.
20. Voss ME, Ralph JM, Xie D et al. Synthesis and SAR of Vinca analogues. Bioorg Med Chem Lett 2009; 19: 1245-1249.
21. Kumar N. Taxol-induced Polymerization of Purified Tubulin. J Biol Chem 1981; 256: 10435-10441.
22. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E et al. Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. Pharmacol Rev 2004; 56: 185-229.
23. Cepeda V, Fuentres MA, Castilla J et al. Biochemical Mechanisms of Cisplatin Cytotoxicity. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry 2007; 7, 3-18.
24. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. Nature Rev Drug Disc 2005; 4: 307-320.
25. Graham J, Muhsin M, Kirkpatrick P. Oxaliplatin. Nature Rev Drug Disc 2004; 3: 11-12.
26. Muhsin M, Graham J, Kirkpatrick P. Gefitinib. Nature Rev Drug Disc 2003; 2: 515-516.
27. Dowell J, Minna JD, Kirkpatrick P. Erlotinib. Nature Rev Drug Disc 2005; 4: 13-14.
28. Moy B, Kirkpatrick P, Kar S et al. Lapatinib. Nature Rev Drug Disc 2007; 6: 431-432.
29. Capdeville R, Buchdunger E, Zimmermann J et al. Glivec (STI571, imatinib), a rationally developed, targeted anticancer drug. Nature Rev Drug Disc 2002; 1: 493-502.
30. Weisberg E, Manley PW, Cowan-Jacob SW et al. Second generation inhibitors of BCR-ABL for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia. Nature Rev Cancer 2007; 7: 345-356.
31. Kantarjian H, Jabbour E, Grimley J et al. Dasatinib. Nature Rev Drug Disc 2006; 5: 717-718.
32. Wilhelm S, Carter C, Lynch M et al. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. Nature Rev Drug Disc 2006; 5: 835-844.
33. Atkins M, Jones CA, Kirkpatrick P. Sunitinib. Nature Rev Drug Disc 2006; 5: 279-280.
34. Faivre S, Demetri G, Sargent W et al. Molecular basis for sunitinib efficacy and future clinical development. Nature Rev Drug Disc 2007; 6: 734-745.
35. Paramore A, Frantz S. Bortezomib. Nature Rev Drug Disc 2003; 2: 611-612.
39. Conlin A, Fornier M, Hudis C et al. Ixabepilone. Nature Rev Drug Disc 2007; 6: 953-954.