

# Protinádorová chemoterapie

# Historie

Před naším letopočtem:

sloučeniny **Cu, Sb, As** a **kolchicin**  
(alkaloid izolovaný z ocúnu; inhibuje  
mitózu)

# Colchicum autumnale



# Systematické snahy

**60. léta 19. stol.**

**podofylotoxin** (látko izolovaná  
z kořene himálajské rostliny

Podophyllum emodii a americké  
rostliny Podophyllum peltatum –  
inhibuje mitózu), **arsen**.



**Podophyllum emodii**



*Podophyllum peltatum*

## **40. léta 20. století:**

chemoterapie je doplňková metoda  
k jiným způsobům léčby nádorových  
onemocnění

**dusíkatý yperit** a některé jeho deriváty,  
**aktinomycin, estrogeny, kortikoidy**

## **Přelom 60./70. let 20. stol.**

Chemoterapie je rovnocenná jiným postupům.

## **80. léta 20. stol.**

Multimodální léčba (kombinace více postupů)

## **Přelom 20./21. století:**

? genová terapie (zatím nelze očekávat uplatnění v širším měřítku).



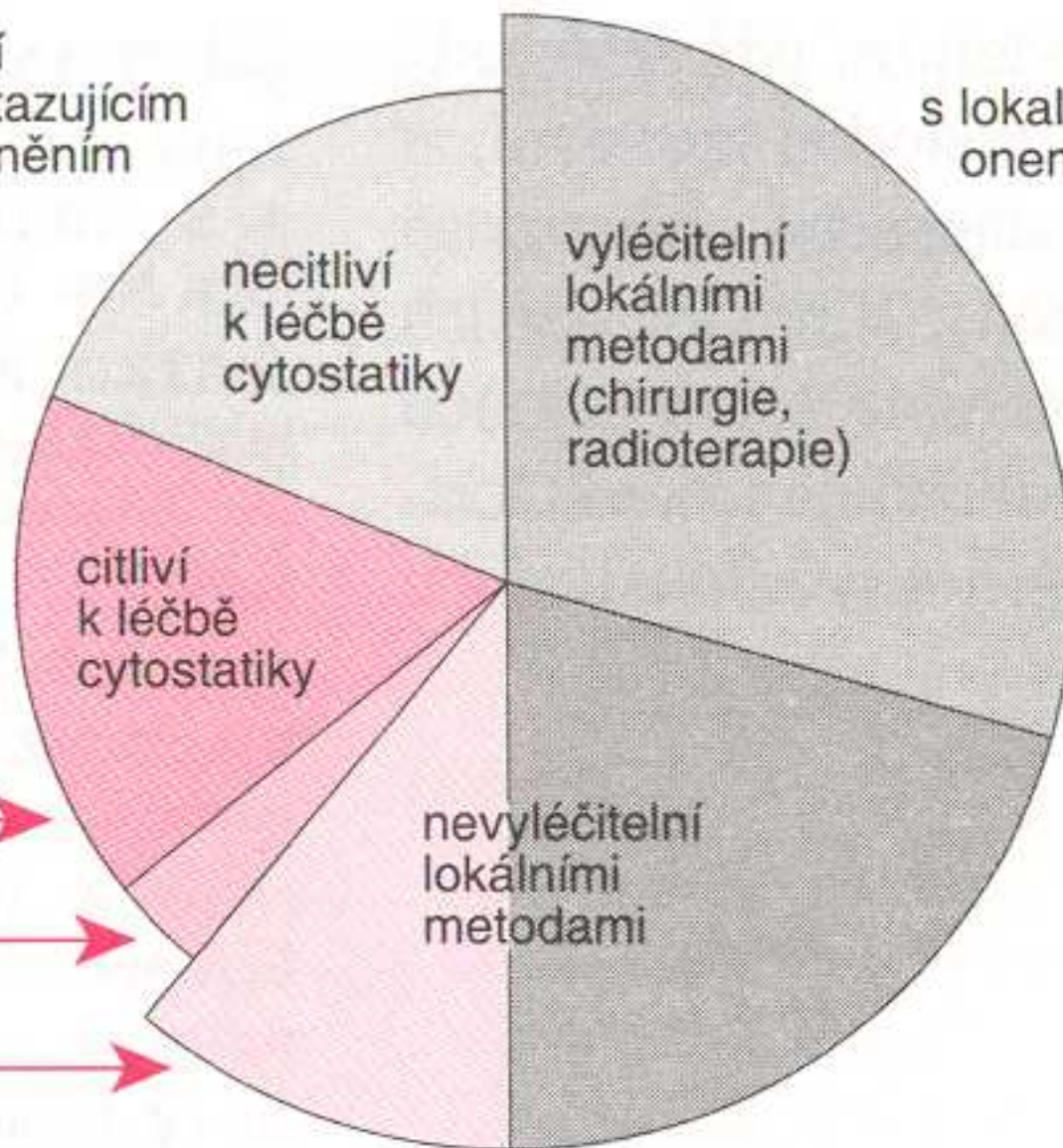
# Typy nádorových onemocnění podle účinnosti chemoterapie

- 1. Léčebný účinek** (asi 7-8 % z celkového počtu nádorů; spíše u mladších lidí)
- 2. Paliativní účinek** (zlepší kvalitu života, často jej prodlouží, ale nevyléčí) – asi 25-28 %
- 3. Nejednoznačné a nespolehlivé výsledky** (30-35 %)
- 4. Neúčinné** (20 %)

CHEMOTERAPIE

nemocní  
s metastazujícím  
onemocněním

nemocní  
s lokalizovaným  
onemocněním



I. skupina	II. skupina	III. skupina	IV. skupina
akutní lymfoblastická leukémie u dětí	akutní myeloblastická leukémie u dospělých	nádory orofaciální oblasti	Grawitzův nádor
Burkittův nádor	lymfocytární lymfom	karcinomy trávicího ústrojí	karcinom močového měchýře
Hodgkinova choroba	mnohočetný myelom	nádory CNS	karcinom jícnu
histiocytární lymfom	neuroblastom	maligní melanom	bronchogenní karcinom (nemalobuněčný)
Wilmsův nádor	karcinom prostaty	karcinoid	karcinom pankreatu
Ewingův sarkom	bronchogenní karcinom (malobuněčný)	sarkomy měkkých tkání	hepatocelulární karcinom
testikulární nádory	karcinom prsu		karcinom žlučníku
ovariální karcinomy	karcinom endometria		karcinom štítné žlázy
choriokarcinom (postgestační)	karcinom kůry nadledvin		
embryonální rabdomyosarkom	insulinom		
retinoblastom	osteosarkom		
(kožní karcinomy)			

# Preklinický výzkum cytostatik

# **Dnešní zdroje cytostatik**

- 1. chemická syntéza**
- 2. fermentace plísní s následnou izolací protinádorových antibiotik**
- 3. extrakce látek přirozeného původu**

**Syntetické látky: 15 000/rok**

**Přírodní látky: 400/rok**

# **Postup preklinického výběru (5-10 let)**

- 1. Orientační výběr: 500-1000/rok**
- 2. Prvotní výběr: 30-35/rok**
- 3. Hledání lékové formy: 8-10/rok**
- 4. Toxikologie a preklinická farmakologie: 5/rok**

# 1. Orientační výběr

- metody in vitro
  - váže se testovaná látka k DNA?
  - váže se dostatečně silně?
  - na jaké místo DNA se váže?
  - jak rychle se váže?
  - jak se touto vazbou změní vlastnosti DNA?
- test na myších (leukémie P-388)

# 2. Prvotní výběr

## **in vivo**

Myši Nu/nu Swiss (úplná ztváta srsti, nízká fertilita, krátká doba života, velmi nízká imunita  
⇒ snadno přijímají různé transplantáty, např. lidské nádory)

## **in vitro**

asi 10× rychlejší, sleduje se účinek cytostatika na kulturu nádorových buněk v tekutém médiu a na agaru.



# 3. Hledání lékové formy a způsobu výroby cytostatika

- rozpustnost
- vstřebatelnost
- stabilita
- způsob stabilizace
  - je stabilizovaná látka také protinádorově účinná?
  - nejsou stabilizátory zdraví škodlivé?
- jak se látka vyrobí ve velkém množství?
- jak účinek závisí na způsobu aplikace?
- jak se mají časově rozdělit dávky léčiva?

# 4. Preklinická farmakologie a toxikologie

5-10 let, 500 000 USD/látku

- toxicita po jednom podání u dvou druhů zvířat obojího pohlaví při různých způsobech podání (ústí, do žíly, aj.)
- chronická toxicita
- lokální toxicita
- ovlivnění životních funkcí (dýchání, srdeční činnost,...)
- vlastnosti v kombinaci s jinými cytostatiky

# Klinické zkoušení cytostatik

# 1. etapa

- určit maximální, bezpečně tolerovanou dávku pro člověka
- stanovit nežádoucí a toxické účinky pro člověka
- doplnit základní farmakologické ukazatele pro člověka

# Výběr pacientů:

Je potřeba 15-30 nemocných, nejlépe z jednoho pracoviště. Musí být mladší než 70 let, s nádorovým onemocněním v pokročilém stadiu, u nichž se doba přežití odhaduje na 2-3 měsíce a jsou neúčinně vyčerpány všechny dosud známé způsoby léčby. Podmínkou je písemný souhlas nemocného.

## 2. etapa

- orientační zjištění protinádorové účinnosti u člověka
- zjistit účinnost vůči různým druhům nádorů u člověka
- zjistit, u jakého procenta pacientů je léčivo účinné
- upřesnit informace o nežádoucích vedlejších účincích

# 3. etapa

Komplexně zvážit účinnost léku,  
nežádoucí účinky, aplikační cesty,  
nutnost hospitalizace, cena léku,  
srovnání s dosud známými léky,...

Studie je problematická (výběr pacientů  
a lékařů, placebo-efekt,...)

## 4. etapa

Sledování výsledků dosažených s léčivem po jeho registraci a širokém nasazení v praxi. Platí obecná povinnost hlásit nečekané nežádoucí účinky léčiva (směrnice Světové zdravotnické organizace).



# Mechanismus účinku současných cytostatik

- I. Alkylační látky:** kovalentní vazba léčiva na dusík purinové báze guaninu v DNA  $\Rightarrow$  znemožní replikaci. První léčivo této řady: dusíkatý yperit. Nejznámější: cisplatina.
- II. Antimetabolity:** Inhibice enzymů nutných pro syntézu nukleových kyselin.
- III. Interkalační látky:** Mechanismus účinku podobný jako alkylační látky, ale vážou se interkalací. Většina protinádorových antibiotik.

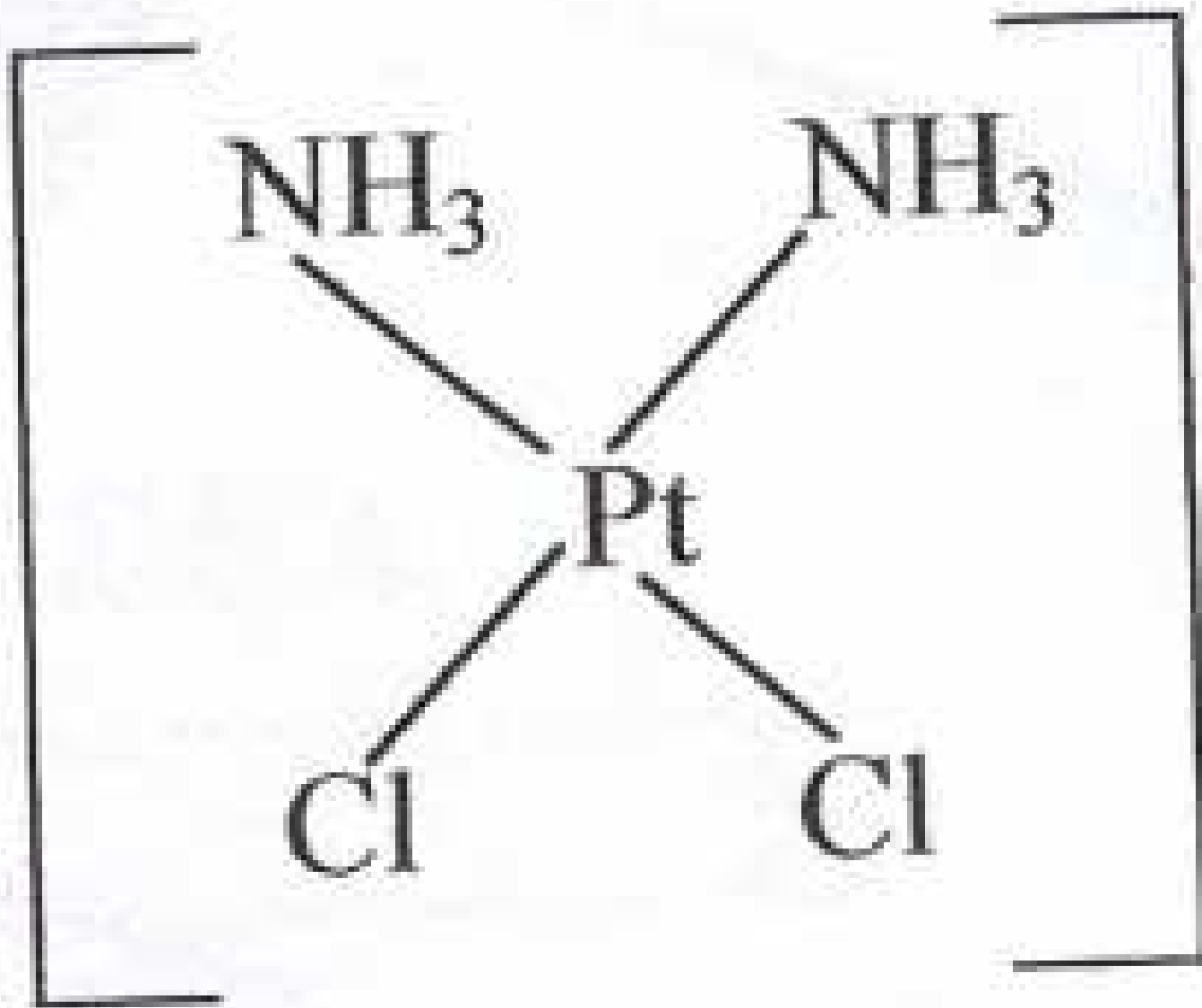
**IV. Radiomimetika:** Působí zlomy v jednom nebo v obou řetězcích DNA.

**V. Inhibitory topoizomeráz:** Topoizomerázy jsou enzymy, které působí rozpojení a opětné spojení řetězce DNA.

**VI. Inhibitory mikrotubulů.** Mikrotubuly jsou buněčné struktury nutné např. pro správnou migraci chromozómů v průběhu mitózy.

**VII. Inhibitory proteosyntézy (= syntézy bílkovin):** malé využití (značná toxicita).

**VIII. Hormonální přípravky:** u hormonálně závislých nádorů (např. karcinom prsu).



cisplatina

Syntéza analog cisplatiny: VCU, Richmond, USA.

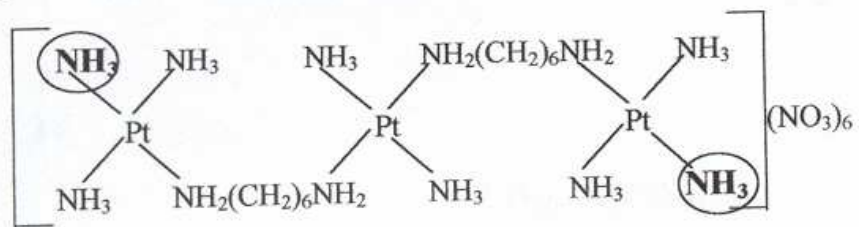
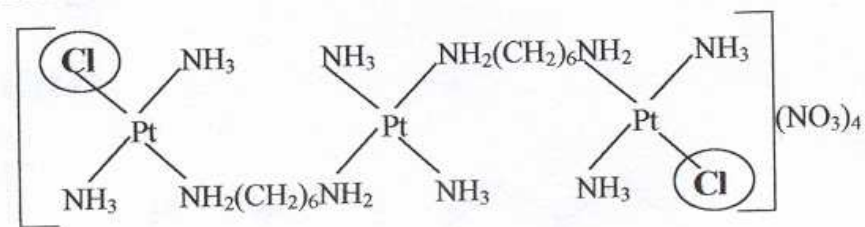
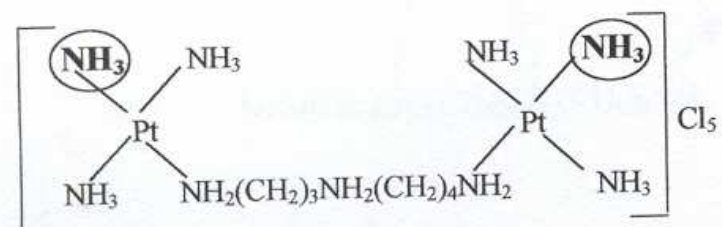
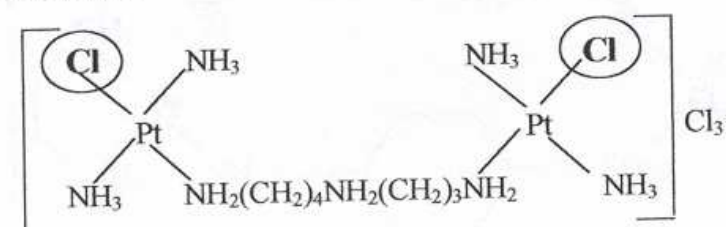
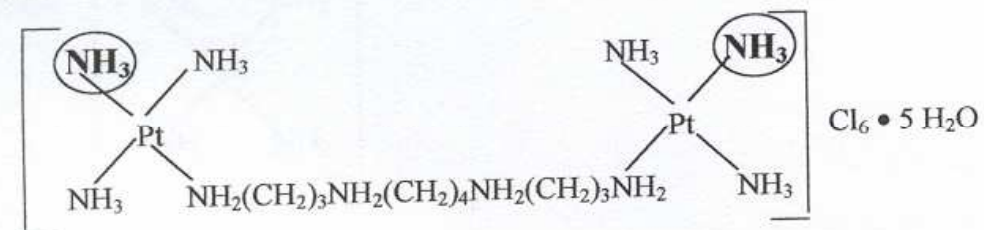
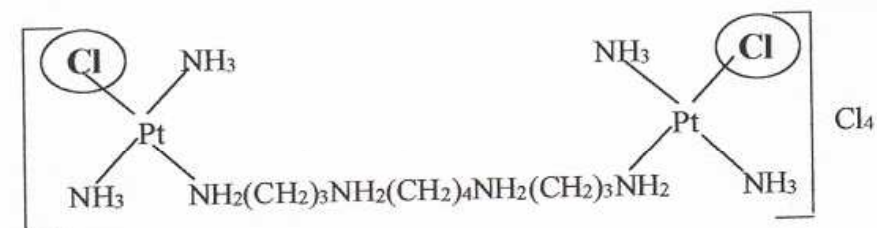
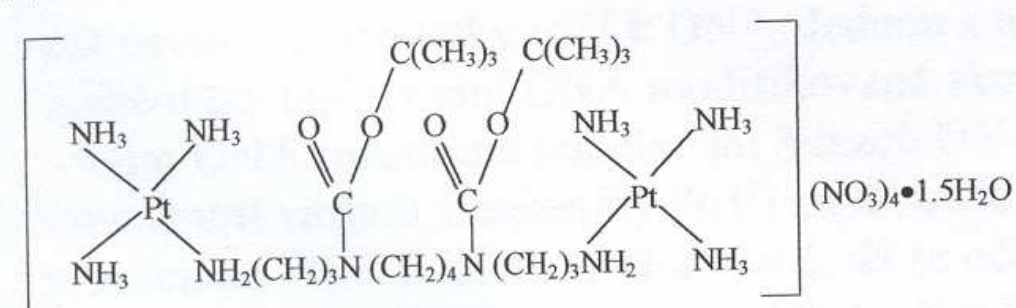
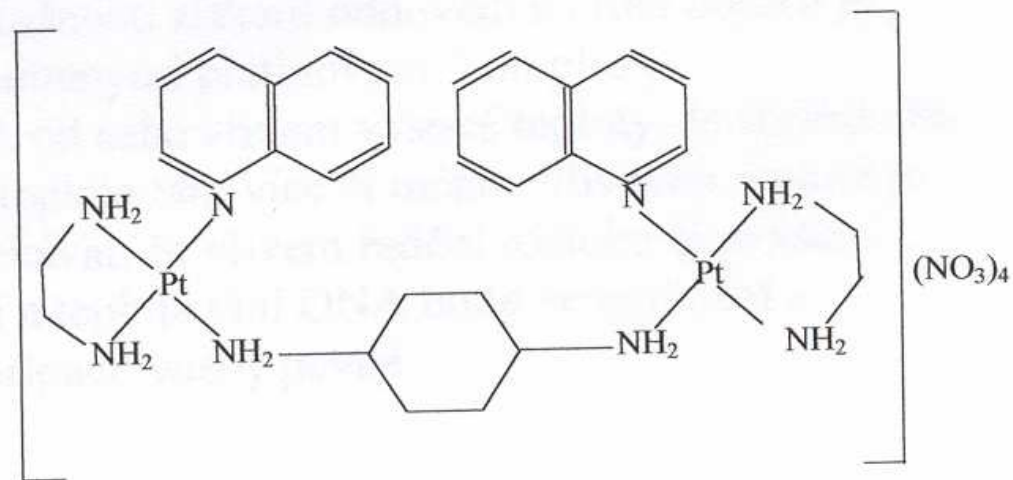
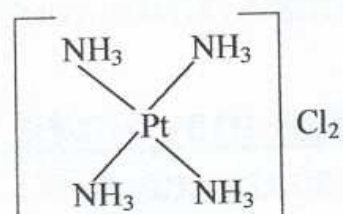
Preklinické testování těchto látek: BFÚ AV ČR, Brno

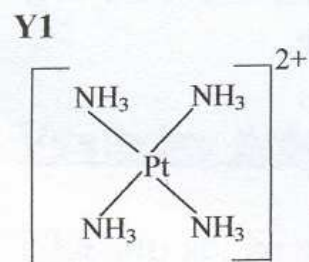
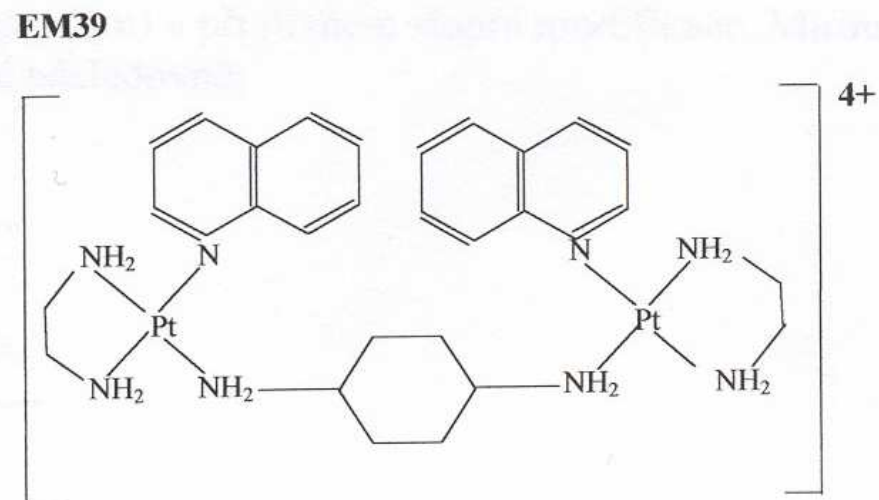
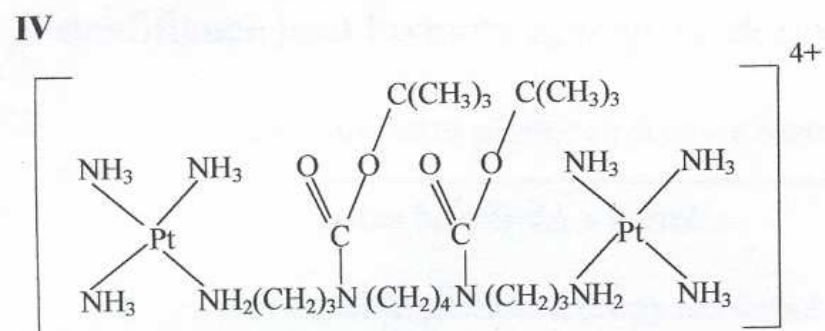
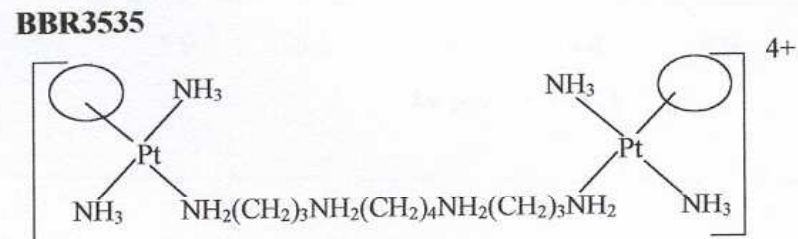
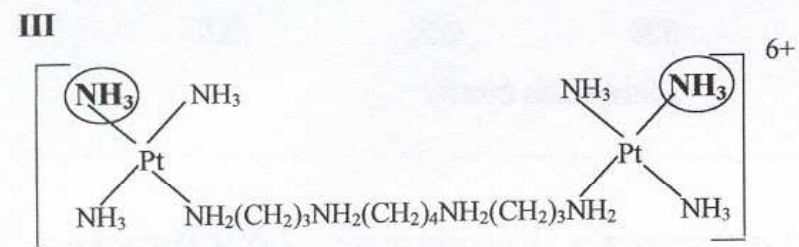
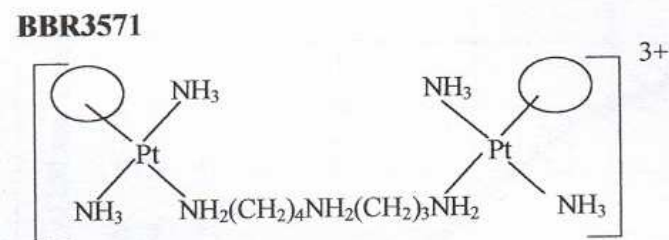
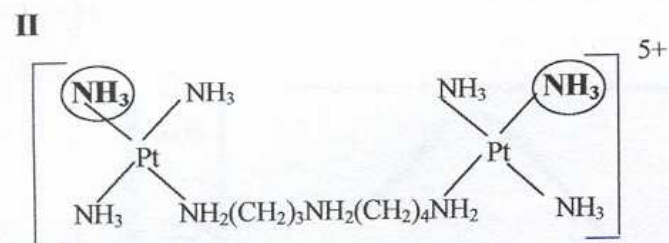
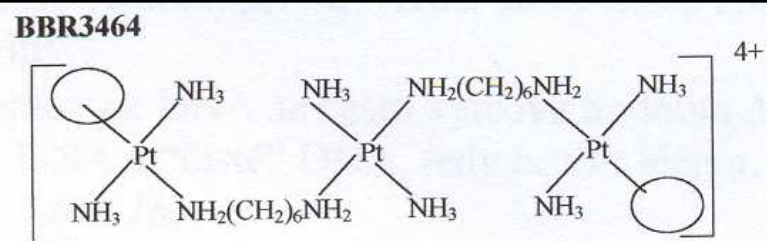
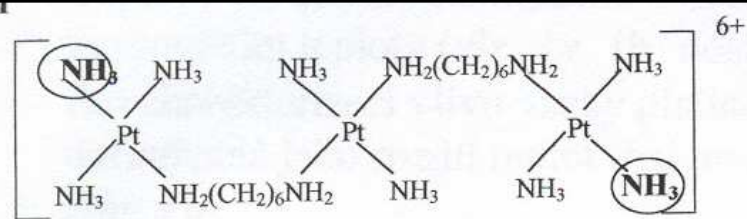
Např.: BBR3464, (v roce 2002 byla ve 3. fázi klinického testování), BBR 3571 a BBR 3535.

Tyto látky obsahují tzv. slabý ligand Cl, který při interakci s DNA může odstoupit a místo něj se naváže pevnější koordinačně kovalentní vazbou dusík z bází DNA.

Laboratoř VCU syntetizovala také analoga sloučenin BBR3464, BBR 3571 a BBR 3535, lišící se pouze záměnou Cl za  $\text{NH}_3$  (silný ligand  $\Rightarrow$  při interakci s DNA neodstupuje). Tyto látky se tedy k DNA nemohou vázat kovalentní vazbou.

Viz následující přehled.

**I****BBR3464****II****BBR3571****III****BBR3535****IV****EM39****Y1**



Při studiu nových alkylačních cytostatik je vždy důležitou otázkou, zda (a jak pevně) se tyto látky váží k DNA. Jednou z možností získání odpovědi na tuto otázku je zjištění tzv. **teploty tání DNA** modifikované zkoumanými cytostatiky.

Tání DNA = oddělování řetězců vlivem vysoké teploty.

Je zřejmé, že vazbou léčiva na DNA je teplota tání ovlivněna.

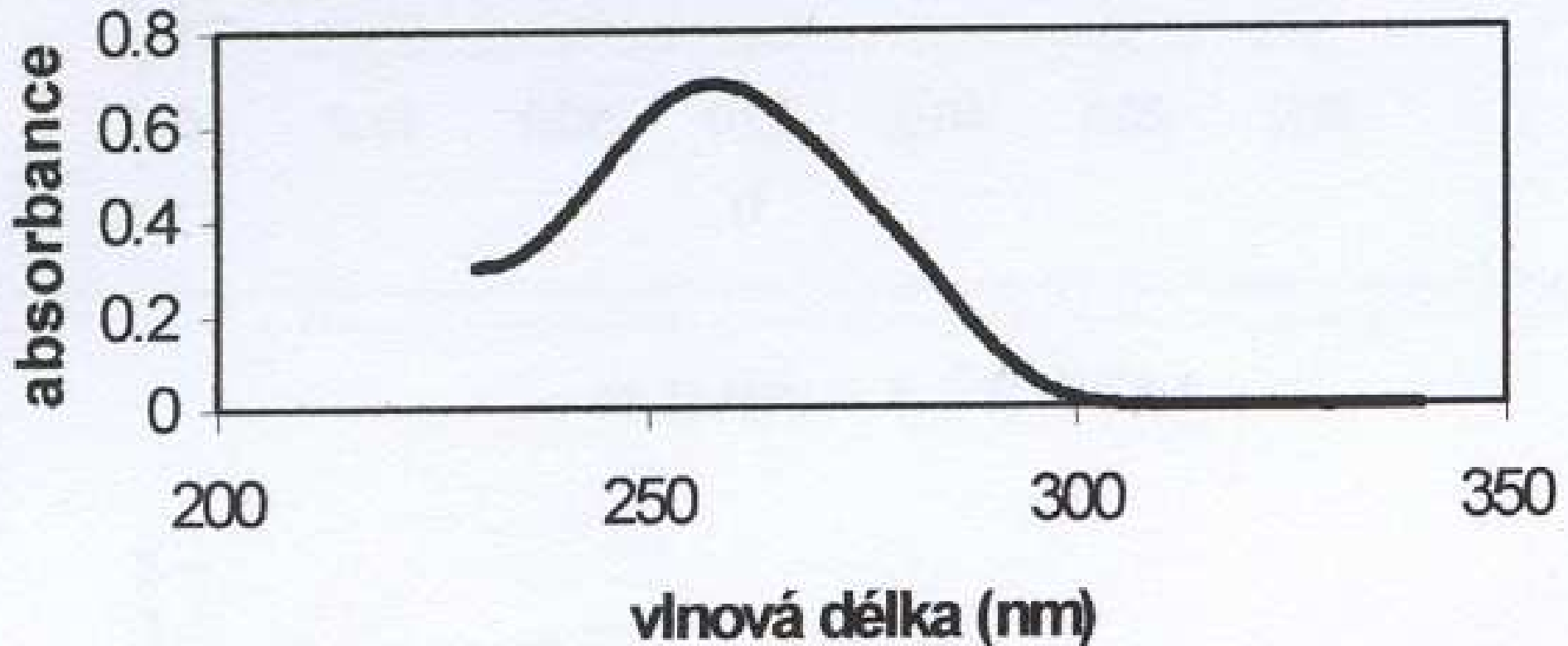
Pokud je léčivo k DNA vázáno slabě, bude teplota tání ovlivněna méně než v případě vazby pevné (kovalentní).



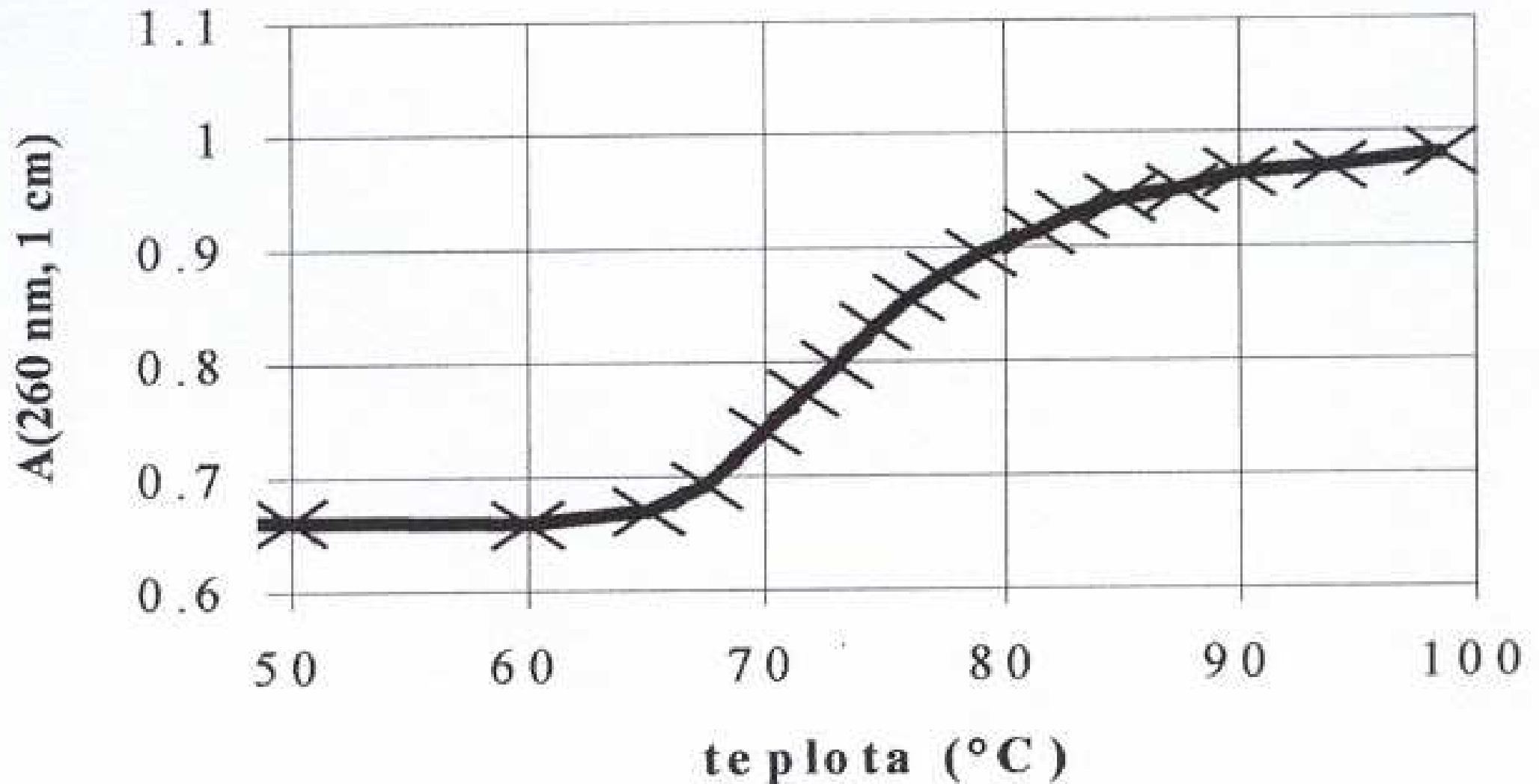
## Stanovení teploty tání DNA:

DNA absorbuje UV záření, absorpční maximum je v blízkosti vlnové délky 260 nm.

typické UV-absorpční spektrum DNA



Při tzv. tání DNA tento absorpční pás roste. Závislost  $A(260 \text{ nm}) = f(t)$  se proto využívá ke stanovení teploty tání DNA.



Teplotu  $T_m$  tání DNA definujeme jako teplotu, při níž vzrůst absorbance (viz obr.) dosáhne poloviny.

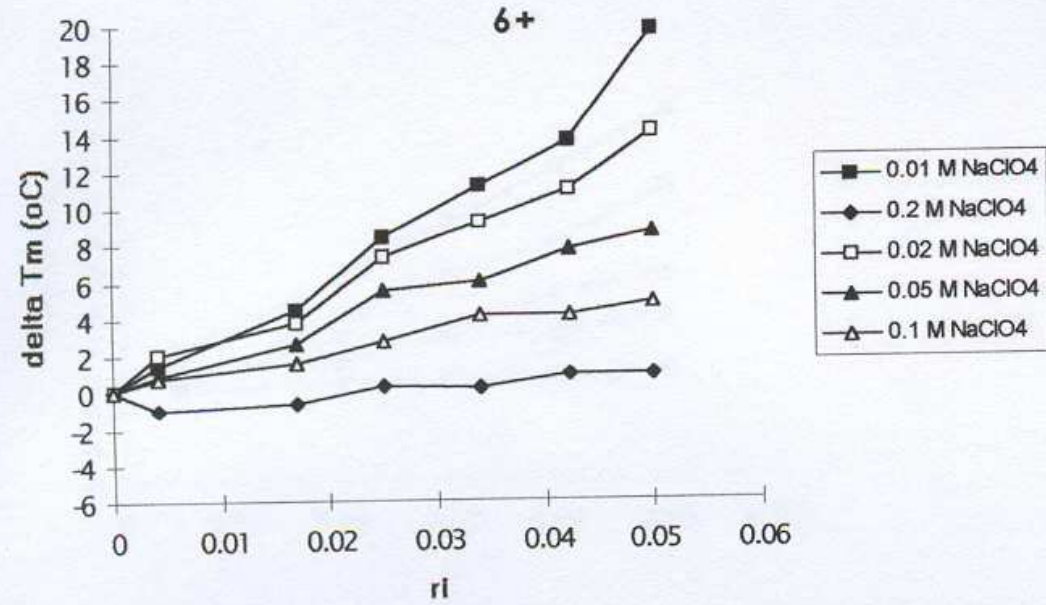
Pro popis vlivu vazby léčiva k DNA se často využívá hodnota  $\Delta T_m$ , definovaná jako rozdíl teplot tání modifikované DNA a "čisté" DNA, tedy bez léčiva.

Mírou modifikace je např. koeficient  $r_i$ , definovaný jako poměr počtu molekul léčiva v roztoku ku počtu bazí DNA v roztoku.

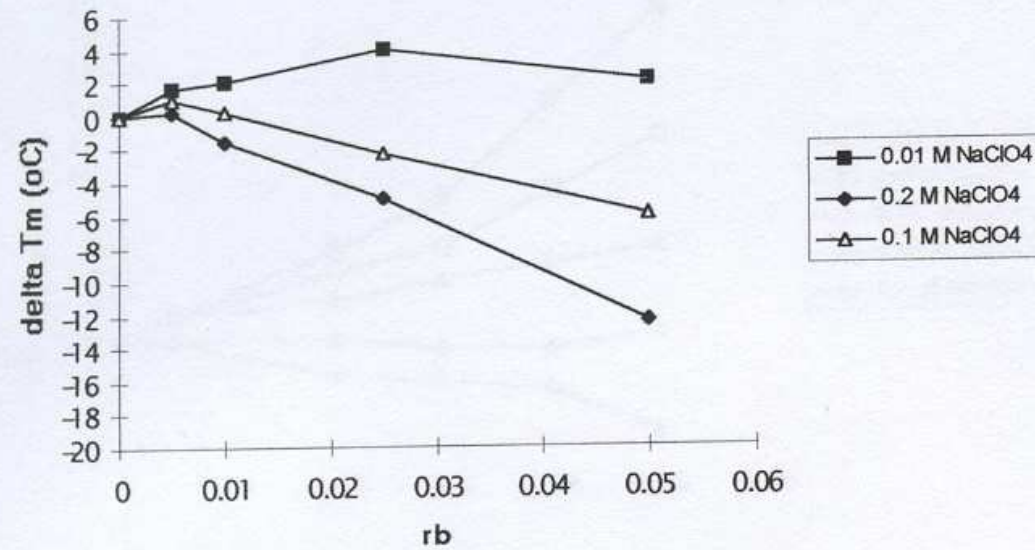
# Výsledky práce:

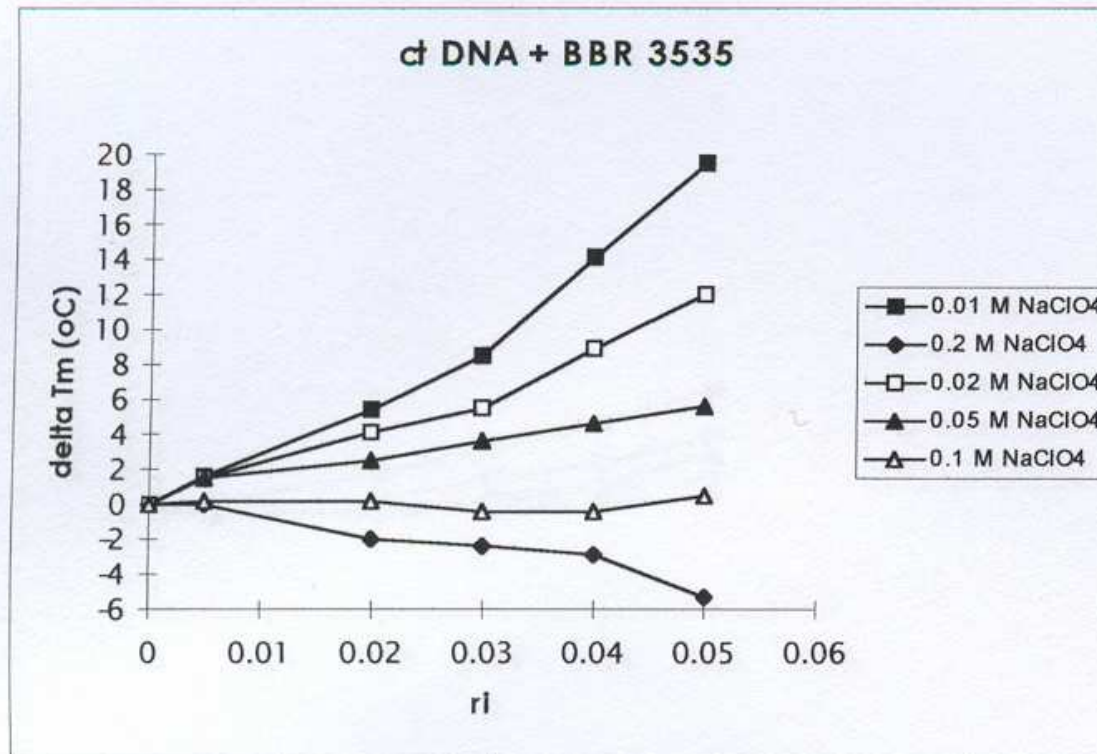
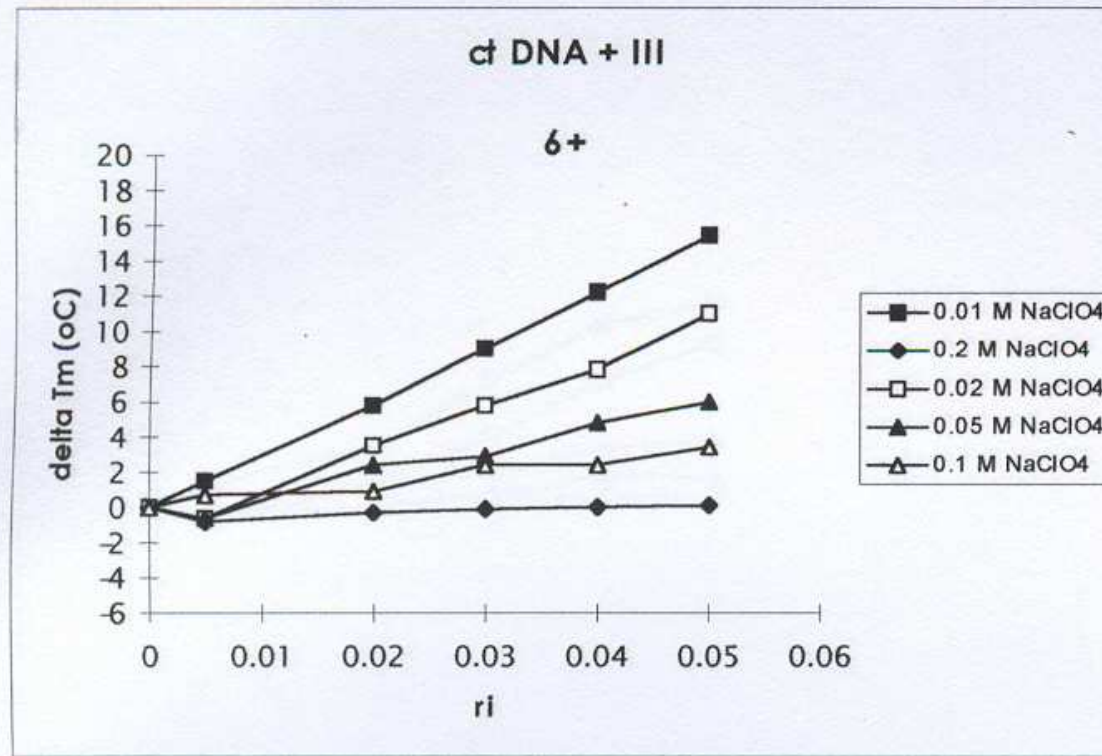
- Sloučeniny, které se k DNA nemohou vázat vazbou kovalentní, ovlivňují  $T_m$  v míře srovnatelné s látkami, které se kovalentně vázat mohou.
- Na rozdíl od kovalentně se vážících látek, které při vysoké iontové síle mohou destabilizovat dvojřetězec DNA, u "nekovalentních" sloučenin toto pozorováno nebylo.
- Míra stabilizace dvojřetězce vazbou "nekovalentních" sloučenin koreluje s elektrickým nábojem komplexního kationtu.

### ct DNA + I



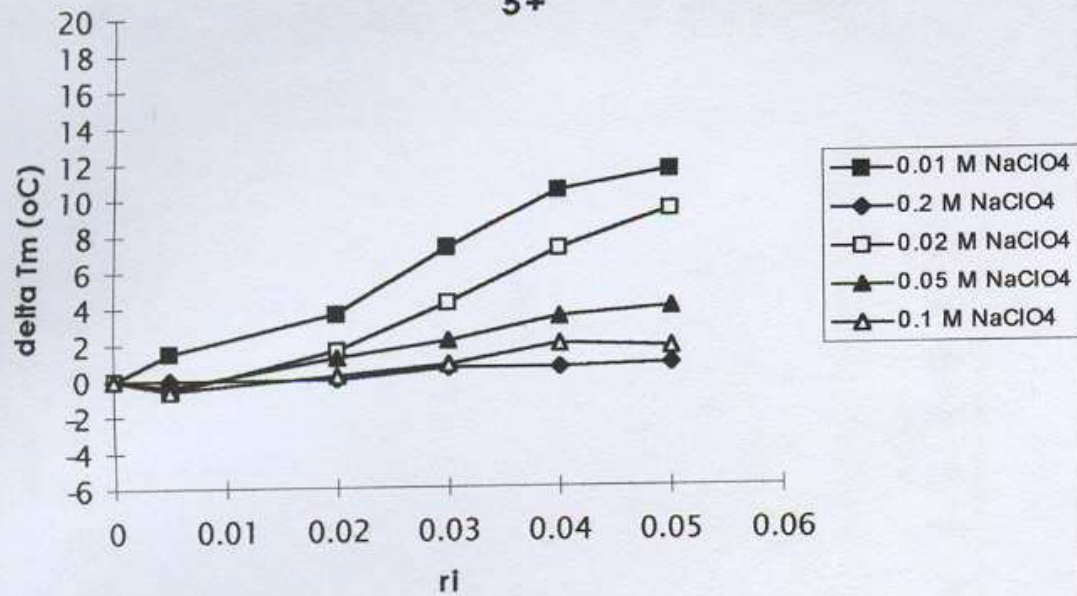
### ct DNA + BBR 3464



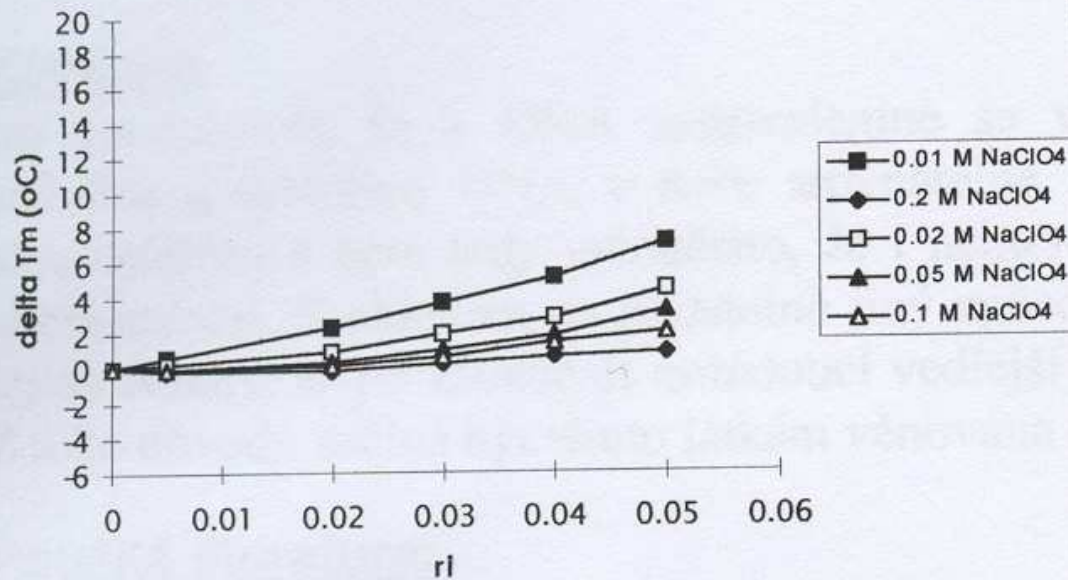


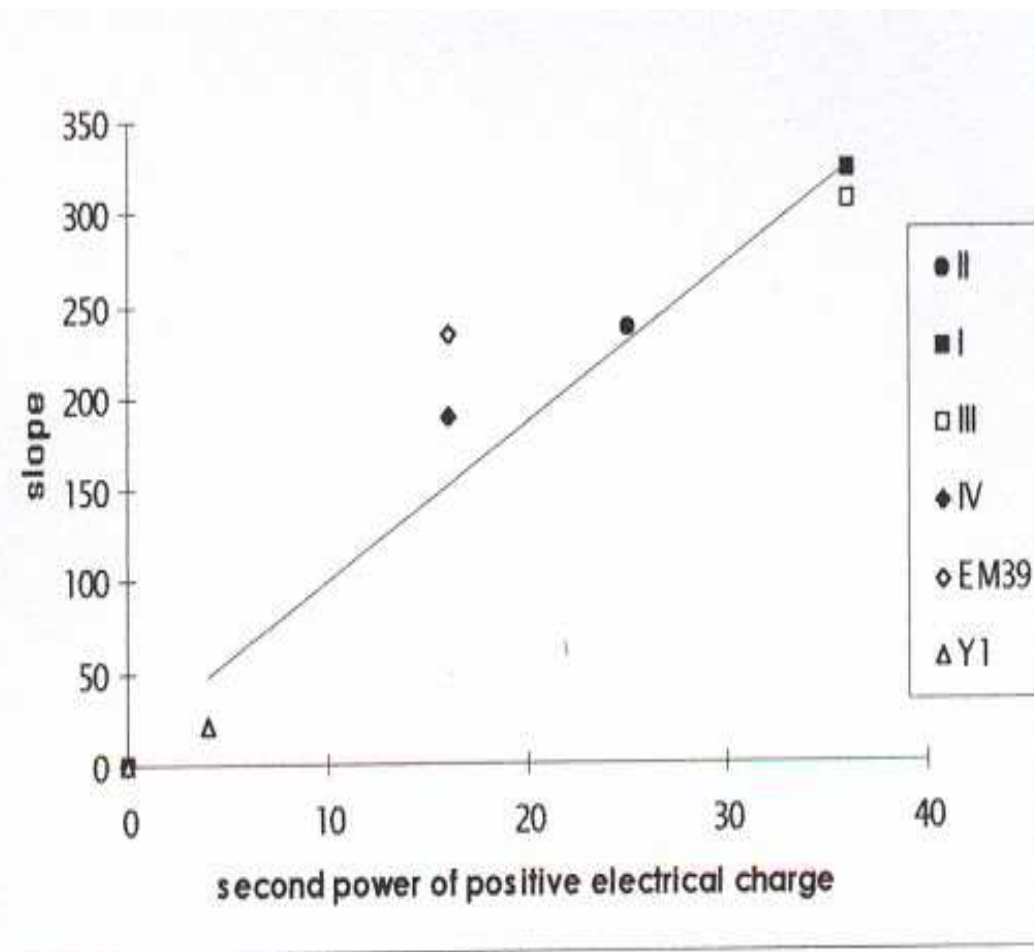
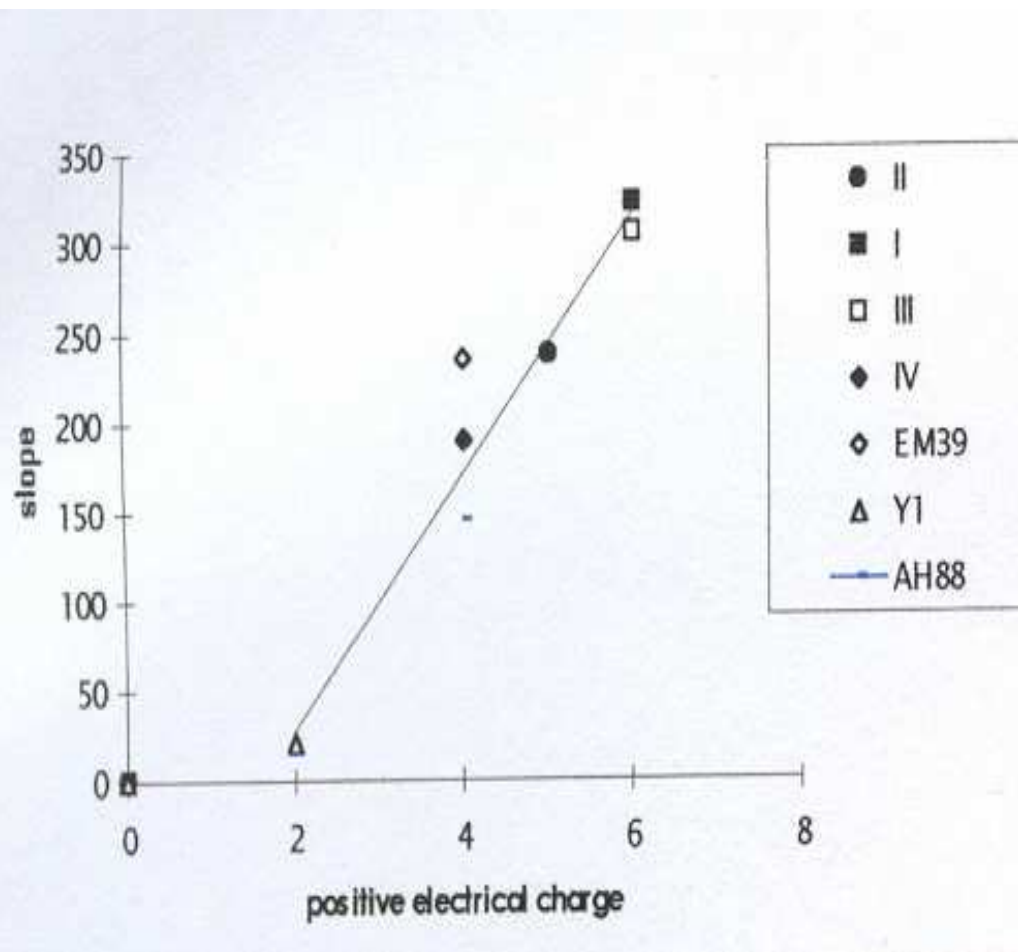
### ct DNA + II

5+



### ct DNA + BBR 3571





Jedná se o směrnici závislosti  $\Delta T_m = f(r_i)$  v prostředí 0.1 M NaClO<sub>4</sub>.



# Závěr

Sloučeniny Pt(II), které se k DNA vážou nekova-  
lentně, ovlivňují stabilitu dvojřetězce DNA v míře  
srovnatelné s dosud zkoumanými kovalentně se  
vážícími sloučeninami

⇒ **není vyloučeno, že některé z nich by mohly být  
účinné v protinádorové chemoterapii.**

S ohledem na podstatně jiný způsob jejich vazby k  
DNA **lze očekávat, že by jejich účinky mohly být  
jiné než u dosud používaných léčiv.**

Proto jim začíná být věnována zvýšená pozornost.

Děkuji za  
pozornost