

## Protinádorová léčiva II – standardní terapie

Škála protinádorových léčiv zahrnuje dnes řadu preparátů různé chemické povahy a s různým mechanismem účinku. Mohou být rozděleny do různých skupin podle chemické povahy, mechanismu účinku nebo použití, ale i na léčiva pro „standardní“ i selektivnější „cílenou“ terapii.

Podle mezinárodní ATC klasifikace jsou protinádorová léčiva zařazena do terapeutické kategorie L Antineoplastika a imunomodulační látky. Ta má čtyři skupiny. Do tří z nich, L01 Antineoplastika, L02 Endokrinní terapie a L03 Imunomodulační látky jsou zařazena léčiva používaná v protinádorové léčbě, do čtvrté skupiny L04 Imunosupresivní látky, jsou zařazena léčiva, která se v onkologii nepoužívají – uplatňují se při potlačování nežádoucí imunitní reakce při transplantacích – odmítnutí transplantovaného orgánu organismem příjemce.

Skupina L01 se dále člení do pěti podskupin: L01A, Alkylační látky, L01B, Antimetaboly, L01C, Rostlinné alkaloidy a jiné přírodní látky, L01D, Cytostatická antibiotika a podobné látky a konečně L01X, Jiná cytostatika. Skupina L02 má dvě podskupiny: L02A, Hormony a příbuzné látky a L02B, Antagonisté hormonů a příbuzné látky. Skupina L03 má jedinou podskupinu L03A, Imunostimulanty, která se dále člení na L03AA, Faktory stimulující kolonie [buněk kostní dřeně v tkáňových kulturách] (jde o růstové faktory, které stimulují růst hemopoietických kmenových buněk a jejich diferenciaci na krvinky nebo jiné buňky krve), L03AB Interferony, L03AC, Interleukiny a L03AX, Jiné imunomodulační látky.

V onkologii našla významné uplatnění i léčiva jiných ATC skupin, zejména A04, Antiemetika, B03, Antianemika, M05, Léčiva pro léčení kostních chorob a V03AF, Detoxikující látky pro antineoplastickou léčbu. Léčiva z těchto skupin se používají k potlačení projevů vedlejších účinků cytotoxické terapie.

### Skupina L01: Antineoplastika

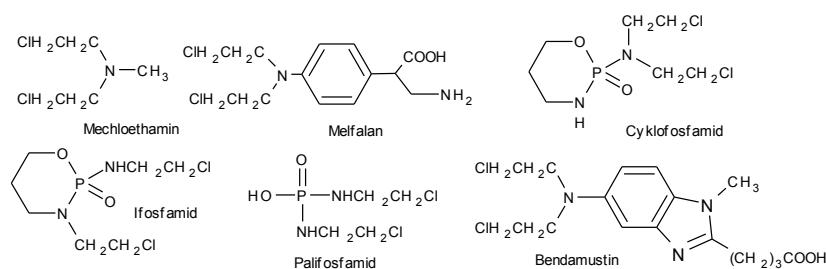
#### L01 A: Alkylační látky

Do skupiny alkylačních látek patří nejdéle používaná cytostatika. Z chemického hlediska je lze rozdělit do několika skupin:  $\beta$ -chlorethylaminy (včetně derivátů steroidů a oxazafosforinů), aziridiny, sulfonáty, nitrosomočoviny a triazeny.

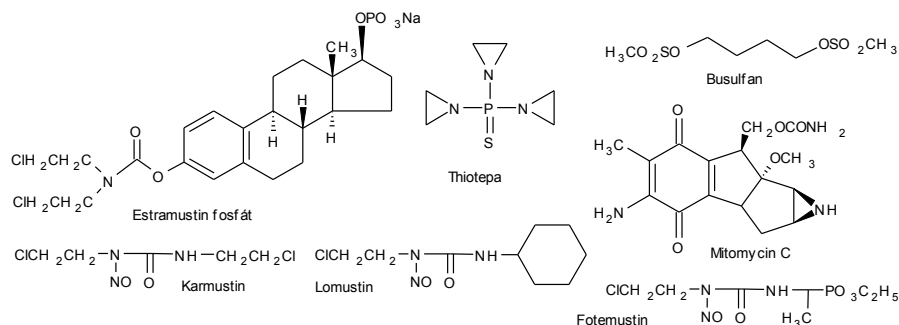
Alkylační cytostatika jsou málo specifická. Používají se dodnes, ale jejich použití se omezuje. Reagují s nukleofilními skupinami biopolymerů, nejčastěji s imidazolovým dusíkem N-7 guaninu, mohou ale alkylovat i aminoskupiny guaninu, adeninu a cytosinu v DNA, popř. i aminoskupiny některých bílkovin. Chlorethylnitrosomočoviny, temozolomid a některé další látky mohou alkylovat i kyslík  $O^6$  molekuly guaninu. Většina alkylačních cytostatik je bifunkčních. Výsledkem jejich působení pak může být propojení bází uvnitř jednoho řetězce, mezi dvěma řetězci i mezi dvěma dvojitými spirálami DNA, popř. i spojení DNA s bílkovinami. Alkylace DNA může vést k mutacím, např.  $O^6$ -alkylguanin se při replikaci může párovat s thyminem místo s cytosinem. Propojí-li se dva řetězce DNA, nemohou se při replikaci oddělit, čímž se zastaví buněčné dělení a buňka dostává signál k apoptóze.

Alkylovanou DNA mohou opravovat reparační enzymy buněk, které dovedou vystříhnout nukleotidy s pozměněnou bází a nahradit je normálními nukleotidy. Zvýšená aktivita reparačních enzymů se může projevit v **rezistenci** nádorových buněk vůči alkylačním cytostatikům.

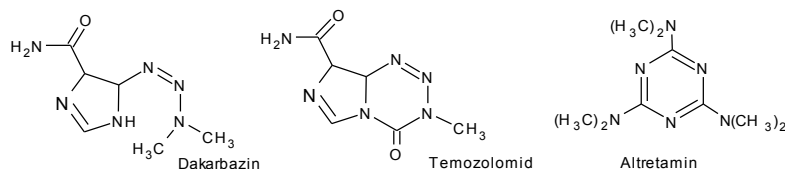
K zavedení alkylačních látek do terapie přispěly paradoxně chemické zbraně. Lékaři si již během 1. světové války všimli, že u vojáků zasažených yperitem („hořčičným plynem“) došlo k přechodnému poškození rychle rostoucích buněk. Ve 2. světové válce sice chemické zbraně nebyly použity, vojska je však měla připravené k okamžitému nasazení. V r. 1943 bombardovali Němci u Bari spojeneckou loď s nákladem chemických zbraní. Přitom byla yperitem zasažena řada osob, u nichž pak byla zjištěna leukopenie, snížení počtu bílých krvinek. Lékaře pak napadlo, že by tento účinek mohl být využit k léčbě leukémie nebo lymfomů, při nichž naopak vzniká bílých krvinek nadbytek. Nepoužili však yperit, ale jeho dusíkatý analog, N,N-bis- $\beta$ -chlorethyl-N-methylamin (chlormethin, generický název **mechlorethamin**). Při zkoušce u pacienta s Hodgkinovým lymfomem se rychle snížila velikost pacientova nádoru. V r. 1947 pak byl mechlorethamin zaveden do protinádorové terapie. Přes své mnohé nevýhody (snadná hydrolyzáza, vysoká alkalita a toxicita), se někde používá dodnes (Mustargen, Merck), nově bylo zahájeno zkoušení mechlorethaminového gelu.



Po mechlorethaminu následovala další analoga dusíkatého yperitu (dusíkaté „hořčičné“ látky, anglicky „nitrogen mustards“) s otupenou alkalitou a selektivnějším účinkem, z nichž se používají bis- $\beta$ -chlorethylderiváty aminokyselin (**chlorambucil**, **melfalan**), benzimidazolu (**bendamustin**) a zejména pak oxazafosforinů (**cyklofosamid**, **ifosamid**, **trofosamid**). Bendamustin (Ribomustin, nový název Treanda) je „nové“ (připravené již v r. 1963) alkylační činidlo. Postup jeho syntézy byl optimalizován v Brně pro německou firmu Ribosepharm. Cyklofosamid a ifosamid patří stále mezi nejvýznamnější protinádorová léčiva. Nepoužívají se však samostatně, v „monoterapii“, ale jako součást různých režimů kombinované chemoterapie. Jak již bylo zmíněno (Farm04) mají oxazafosforinové deriváty charakter profarmak, účinné látky z nich vznikají až v organismu. Nově je však zkoušen **palifosamid**, sůl trishydroxymethylaminomethanu s N,N'-bis-(2-chlorethyl)diamidofosforečnou kyselinou, která je aktivním metabolitem ifosfamidu. Charakter profarmak mají i zajímavá alkylační cytostatika odvozená od steroidních hormonů – **prednimustin** (ester prednisolonu a chlorambucilu) a **estramustin**, estradiol 3-bis-(2-chlorethylkarbamát), resp. jeho rozpustnější **17-fosfát**. Jejich předností je selektivnější účinek ve srovnání s jinými alkylačními cytostatiky – estramustin se váže na estrogenní receptory, prednimustin na receptory pro glukokortikoidy a teprve pak se rozštěpí na účinné látky.



Jinou skupinu alkylačních cytostatik tvoří aziridiny. Ty mohou vznikat jako reaktivní meziproducty při intramolekulární cykлизaci alkylačních cytostatik obsahujících 2-chlorethylovou skupinu vázanou na primární nebo sekundární aminoskupinu. Při reakci s nukleofilními skupinami biopolymerů se aziridinový kruh otevře za vzniku substituovaného 2-aminoethyl-derivátu. V současné protinádorové terapii se ze syntetických aziridinů používá jen **thiotepa**, tris-(1-aziridinyl)fosfinsulfid. Aziridinový kruh mají ve své molekule i alkylačně působící protinádorová antibiotika mitomyciny a porfiromyciny. Jako protinádorové léčivo používá **mitomycin C**, zkoušen je jeho syntetický analog **apazichon**. Dalším typem alkylačních cytostatik jsou estery alkoholů s alkylsulfonovými kyselinami. Z nich se používá **busulfan**, 1,4-butandioldimesylát a jeho *threo*-2,3-dihydroxyderivát, **treosulfan**. Bifunkční charakter mají  $\beta$ -chlorethylderiváty nitrosomočoviny, jako je např. **karmustin** (BCNU), **lomustin** (CCNU) nebo **fotemustin**. Chlorethylované nitrosomočoviny jednak alkylují DNA, jednak jsou v organismu degradovány na isokyanáty reagující s bílkoviny. Přitom mohou poškozovat enzymy, které se účastní opravy alkylované DNA. Jsou poměrně lipofilní. Pronikají i přes hematoencefalickou bariéru a mohou se tak používat k léčbě nádorů mozku. Zajímavým přípravkem je „oplatka“ Gliadel (Gliadel wafer) obsahující karmustin, která se vkládá do dutiny vzniklé po odstranění nádoru mozku. Z oplatky se pak zvolna uvolňuje cytostatikum ničící okolní nádorové buňky, které nemohly být chirurgicky odstraněny. Zvláštní skupinu alkylačních cytostatik tvoří triazenové deriváty odvozené od aminoimidazolkarboxamidu, imidazolového prekurzoru purinových bází nukleových kyselin. Patří mezi ně dakarbazin a jeho cyklický analog temozolomid, které vedle alkylačního účinku (methylace) působí i jako antimetabolity brzdící biosyntézu purinů. Dakarbazin, 5-(3,3-dimethyltriazen-1-yl)-1H-imidazol-4-karboxamid je v játrech demetylován na alkylačně účinný monomethyltriazen. Z temozolomidu zvolna vzniká stejná látka hydrolytickým štěpením v tělních tekutinách při fyziologickém pH. Temozolomid je dostatečně lipofilní. Po perorálním podání je proto dobře absorbován, díky své lipofilitě proniká i přes hematoencefalickou bariéru. Může proto být využit k léčbě nádorů mozku. Mezi alkylační cytostatika je řazen i altretamin (hexamethylmelamin), který se používá hlavně v kombinacích s jinými cytostatiky. Po aktivaci (oxidaci) jaterními enzymy alkyluje DNA, přitom účinkuje i u nádorových buněk, u nichž se vyvinula rezistence vůči alkylačním cytostatikům. Kromě toho působí také jako antimetabolit, přesný mechanismus jeho účinku není však znám.

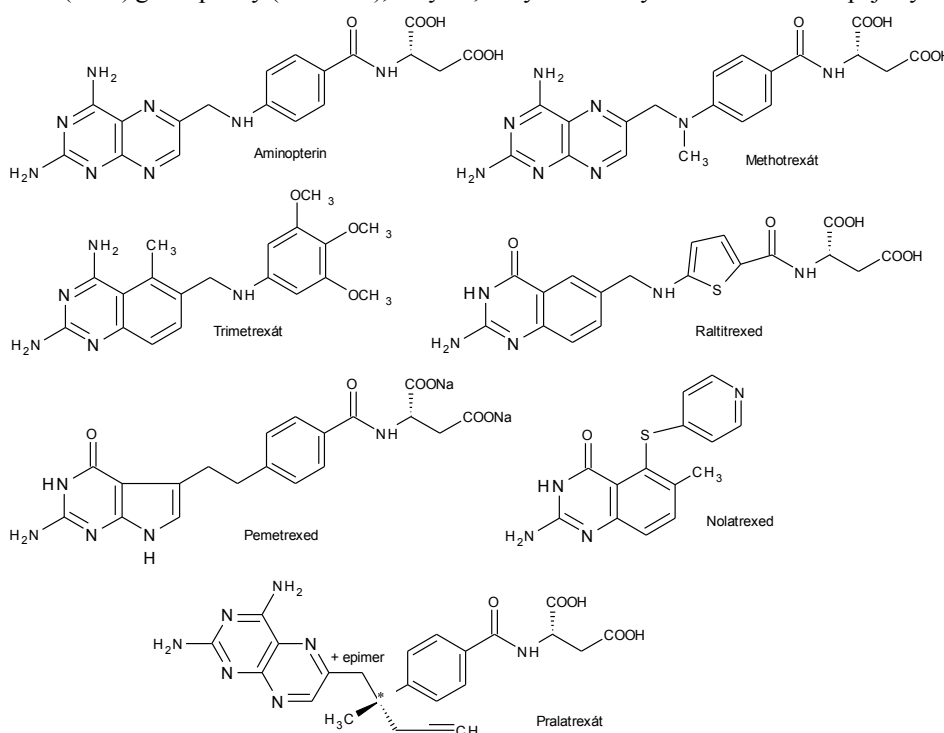


## L01 B Antimetabolity

Důležitými protinádorovými léčivy jsou **antimetabolity enzymů podílejících se na vzniku a transformacích nukleových kyselin**. Obvykle se dělí podle chemické struktury na **analoga kyseliny listové** (antifoláty) a **analoga purinových a pyrimidinových složek nukleových kyselin**. Antimetabolity mohou být členěny i podle mechanismu účinku.

Kyselina listová, vitamin objevený v r. 1937, byl ve 40. letech podezříván z toho, že podporuje proliferaci leukemických buněk. Později se sice ukázalo, že šlo o mylný předpoklad, nicméně toto podezření vedlo k přípravě účinných protinádorových léčiv ze skupiny **analog kyseliny listové**, „antifolátů“, **inhibitorů enzymu dihydrofolát reduktasy**.

Inhibicí dihydrofolát reduktasy je blokován přenos C<sub>1</sub> uhlíkatých fragmentů (metylenová a methylová skupina) potřebných např. pro biosyntézu thymidin-5' fosfátu, jednoho ze základních stavebních kamenů DNA. Prvním zkoušeným antifolátem byl **aminopterin** zavedený do protinádorové terapie již v r. 1948. Ten však byl brzy nahrazen méně toxickým **methotrexátem**, který i po šedesáti letech zůstává stále důležitým protinádorovým léčivem široce používaným při léčbě různých nádorů. Nově se používá i při léčbě autoimunitních onemocnění, zejména reumatoidní artritidy. Aplikuje se v běžných (20–40 mg/m<sup>2</sup>) nebo ve velmi vysokých dávkách (až 12000 mg/m<sup>2</sup>). Při vysokodávkové terapii se jeho cytotoxický účinek přerušuje podáním antidota, přirozeného metabolitu, leukovorinu (kyseliny folinové neboli 5-formyl-5,6,7,8-tetrahydrolistové- viz FarmChem11). Organismus některých pacientů methotrexát odbourává příliš pomalu. Zrychlit detoxikaci takových pacientů by mělo podávání nedávno povolené (FDA) glukarpidasy (Voraxaze), enzymu, který z molekuly methotrexátu odštěpuje kyselinu glutamovou.

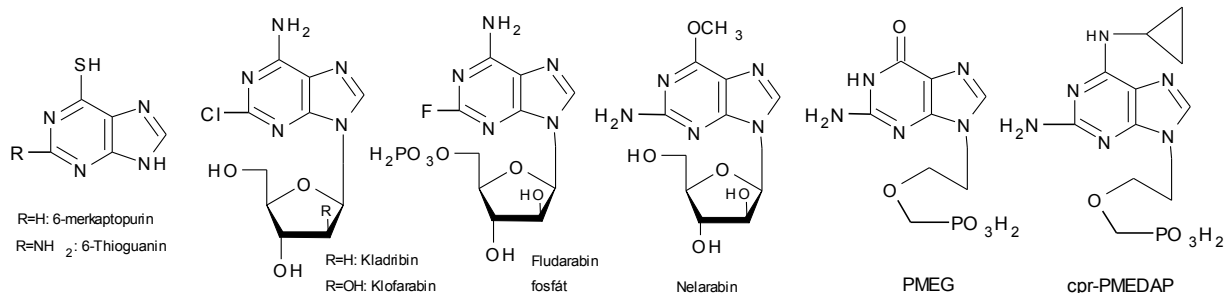


Methotrexát byl dlouho jediným používaným antifolátem a teprve v posledních letech se mezi protinádorovými léčivy objevila nová analoga kyseliny listové. Převážně jde o „neklasičké“ antifoláty, které nemají ve své molekule pteridinový systém: **trimetrexát** (Neutrexim, US Bioscience, používaný jako sůl s kyselinou glukuronovou), který však našel hlavní uplatnění v léčbě zánětu plic způsobeného prvokem *Pneumocystis carinii* u pacientů s AIDS, dále pak **raltitrexed** (Tomudex, Astra-Zeneca, nádory tlustého střeva), **pemetrexed** (Alimta, Eli Lilly, nádory plic) a **nolatrexed** (Thymitaq, Eximia, nádory jater). Derivátem pteridinu je nejnovější přírůstek do rodiny antifolátů **pralatrexát** (Foloty, Allos Therapeutics, lymfomy vycházející z T-lymfocytů), který je kritizován za abnormálně vysokou cenu (30 tis. USD za měsíční terapii)

Prvními léčivy ze skupiny **analogů purinových bází nukleových kyselin** byly **6-merkaptopurin** a **6-thioguanin**, které připravili Elionová a Hitchings.

Tyto látky jednak inhibují mechanismem zpětné vazby syntézu purinových složek nukleových kyselin; po metabolické aktivaci (převedení na deoxyribonukleosid 5'-trifosfát) mohou být zabudovány do DNA, kde pak mohou být příčinou chyb v replikaci a transkripci některých genů. V omezené míře se používají dodnes při léčbě některých akutních leukemií. V ČR byla vyvinuta dvě protinádorová léčiva odvozená od 6-merkaptopurinu: buthiopurin, ω-(6-purinylthio)-valerová kyselina a butocin, ethylester N-[ω-(6-purinylthio)-valeroyl]-glycinu, dnes se však již nevyrábí.

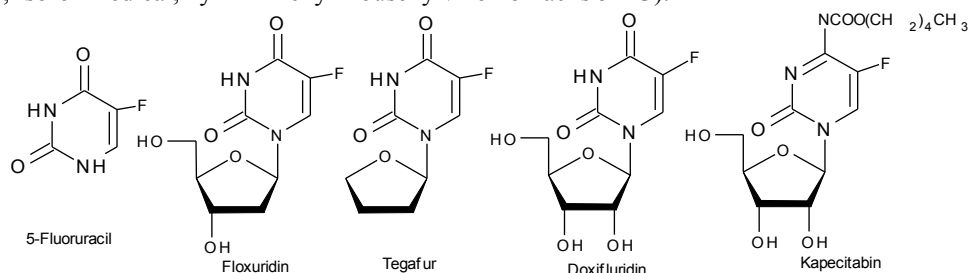
Na rozdíl od analogů purinových bází se více uplatňují **analogy purinových nukleosidů** a **nukleotidů**, jako je **kladribin** (Leustatin, Janssen-Cilag), **klofarabin** (Evoltra, Bioenvision), **nelarabin** (Arranon, GlaxoSmithKline) a **fludarabin fosfát** (Fludara, Schering), a to opět při léčbě leukemií a příbuzných hematologických maligních onemocnění. Kladribin se používá i při léčbě roztroušené sklerózy. Do skupiny analog purinových nukleotidů lze zařadit i fosfonátový analog **PMEG** vyvinutý prof. Holým z ÚOChB AV ČR resp. jeho profarmakum **cpr-PMEDAP** připravené ve firmě Gilead.



Tyto antimetabolity mohou působit několika mechanismy. Blokují biosyntézu purinových složek nukleových kyselin a inhibují adenosindeaminasu. Kladribin ještě inhibuje reparační enzymy opravující poškozenou DNA, kiofarabin blokuje ribonukleotid-reduktasu a DNA polymerasu. Po aktivaci převedením na 5'-trifosfáty mohou být analoga purinových nukleosidů a nukleotidů zabudována do nukleových kyselin, což má za následek narušení mechanismů replikace a translace. Nelarabin a fludarabin jsou ve vodě rozpustná profarmaka. Nelarabin je v organismu rychle převáděn na arabinosid guaninu, který inhibuje biosyntézu DNA. Fludarabin fosfát je nejprve defosforylován na fludarabin, který proniká přes buněčnou membránu do buněk. V buňkách je fludarabin znovu fosforylován deoxycytidin kinasou na 5'-trifosfát, který pak inhibuje DNA-polymerasu  $\alpha$  a několik dalších enzymů podílejících se na replikaci DNA resp. biosyntéze jejich stavebních kamenů. cpr-PMEDAP je v buňkách převáděn adenosin deaminasou na PMEG, který po následné fosforylaci narušuje tvorbu DNA. PMEG se při testování na pokusných zvířatech projevoval jako velmi účinný protinádorový lék, klinické zkoušky však ukázaly, že pro člověka je příliš toxický.

Největší uplatnění mezi protinádorovými léčivy ze skupiny antimetabolitů nalezla **analoga pyrimidino-**vých bází a nukleosidů. Patří mezi ně především 5-fluorouracil (5-FU). Ten blokuje vznik thymidin-5'-fosfátu podobně jako methotrexát, působí však na jiný enzym biosyntetické dráhy (thymidylásynthasu).

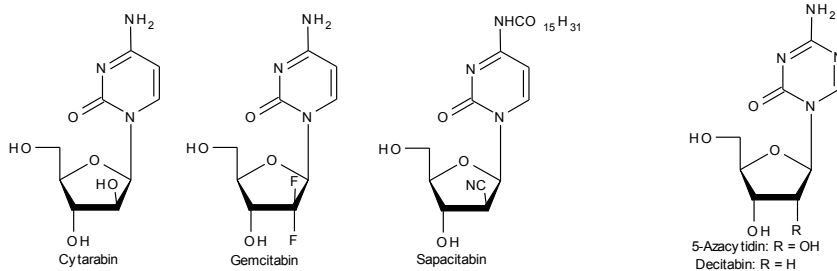
5-Fluorouracil, který byl syntetizován Ch. Heidelbergerem již v r. 1957, patří, podobně jako methotrexát, mezi nejstarší a přitom stále široce používané protinádorové léky. Předpokladem jeho účinku je metabolická aktivace v buňkách – převedení na 5-fluor-2'-deoxyuridin-5'-monofosfát (5-FdUMP), který inhibuje metylaci 2'-deoxyuridin-5'-fosfátu na thymidin-5'-fosfát katalyzovanou thymidylásynthasou. Tím blokuje vznik DNA. V terapii se obvykle používá v kombinaci s leukovorinem, který však přitom nepůsobí jako antidotum, jako tomu bylo u methotrexátu. 5-FU má závažné vedlejší účinky. Při hledání možností, jak tyto účinky potlačit, byla v r. 1978 vyzkoušena jeho kombinace s leukovorinem. Přitom se ukázalo, že leukovorin nejen vedlejší účinky 5-fluorouracilu zmírňuje, ale současně zvyšuje i jeho účinek. Je to proto, že se produkt redukce leukovorinu, 5,10-methylentetrahydrolistová kyselina (MTHF), podílí na vzniku ternárního komplexu MTFH – 5-FdUMP – thymidylásynthasa, který je stabilnější než binární komplex 5-FdUMP s enzymem. Ne všichni pacienti jsou ale schopni redukovat leukovorin na účinný metabolit. Připravena proto byla MTFH, nejprve jako racemát (schválený jako lék pro vzácná onemocnění) a později jako účinný (*S*)-enantiomer (Modufolin, Isofol Medical, nyní klinicky zkoušený v kombinaci s 5-FU).



Kromě 5-fluorouracilu se jako protinádorová léčiva používají i jeho profarmaka zejména **floxuridin**, 2'-deoxy-5-fluoruridin (Furtulon, Roche) **tegafur**, 1-(tetrahydrofuran-2-yl)-5-fluoruracil, (Ftorafur, Grindex), a **kapecitabin** (Xeloda, Roche), 5'-deoxy-5-fluor-N-pentyloxykarbonylcytidin, zatím nebyl povolen **doxifluridin** (5'-deoxy-5-fluoruridin). Na rozdíl od 5-fluorouracilu mohou být tyto látky podávány perorálně. Tegafur se přitom podává spolu s uracilem (UFT, Bristol-Myers Squibb, licence of fy Taiho, Japonsko, resp. Orzel – společné balení UFT s tabletami vápenaté soli leukovorinu) nebo se kombinuje s gimeracilem a oteracilem (2,4-dihydroxy-5-chlorpyridin a oxonát draselný, kombinace má název Teysuno, dříve byla označována jako S-1). Uracil, gimeracil a oteracil efektivně brzdí metabolickou degradaci 5-fluorouracilu, při níž je štěpen pyrimidinový kruh. Ve srovnání s injekčním 5-fluorouracilem nebylo při klinických zkouškách kombinace Orzel při léčbě metastázujícího kolorektálního karcinomu prokázáno prodloužení doby do progresu nádoru. Poradní výbor FDA pro onkologii přípravek Orzel sice doporučil s tím, že orální cytostatikum je pro pacienty přijemnější a kombinace má ve srovnání s injekčním 5-fluorouracilem menší vedlejší účinky, ale použití dlouho nebylo povoleno, protože Orzel neprodlužoval přežití pacientů. V Japonsku a v Evropě včetně ČR je kombinace povolena, v ČR však bylo z pojištění hrazeno pouze 30% ceny přípravku.

Dalšími důležitými protinádorovými léčivy jsou analoga cytidinu s pozměněnou cukernou složkou – **cytarabin** a zejména **gemcitabin**, který obsahuje dva geminální atomy fluoru v cukerné části molekuly.

Cytarabin je v buňkách aktivován fosforylací na trifosfát, který blokuje inkorporaci dCTP do DNA, je však v organismu rychle inaktivován deaminací. Inaktivaci lze zpomalit podáním cytarabinu uzavřeného v liposomech, částicích tvořených fosfolipidy. Gemcitabin se používá k léčbě řady nádorových onemocnění, důležitou indikací jsou zejména nádory pankreatu a nemalobuněčné nádory plic. V organismu je fosforylován a pak zabudován do DNA což má za následek inhibici replikace a indukci apoptózy. Cytarabin a gemcitabin potřebují k průniku do nádorových buněk transportní bílkovinu, hENT1 (human equilibrative nucleoside transporter) a špatně pronikají do buněk, kde je tato bílkovina nedostatečně exprimovaná. Tuto nevýhodu mají eliminovat jejich lipidické konjugáty **elacytarabin** a **CP-4126**, což jsou estery kyseliny elaidové (trans-9-oktadecenové) s cytarabinem resp. gemcitabinem (acyl je připojen na 5'-hydroxyl cukerného zbytku), které lze proto použít i k léčbě rezistentních nádorů, které jsou zatím ještě klinicky zkoušené. Nejnovějším analogem cytidinu je **sapacitabin**,  $\beta$ -D-(2-kyano-2-deoxyarabinofuranosyl) derivát palmitoylovaného cytosinu, který je zkoušen při léčbě leukemie a nádorů plic.



Řada dalších nukleosidických antimetabolitů byla nebo stále je studována. Zmínit je třeba zejména azaanaloga pyrimidinových bází a nukleosidů, které byly vyvinuty v 60. letech 20. století v pražském Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR. Jako slibné se nejprve jevíly 6-azaderiváty (**6-azauracil**, **6-azauridin**), které se však nakonec v terapii neuplatnily pro nežádoucí vedlejší účinky. Podobná 5-azaanaloga: 5-azacytosin, **5-azacytidin** a **5-aza-2'-deoxycytidin** (decitabin) syntetizovaná Pískalou v 60. letech minulého století měla zajímavý osud. 5-Azanukleosidy byly klinicky studovány v řadě našich onkologických pracovišť, výsledky sice byly slibné a licence na jejich výrobu byla prodána do zahraničí, neprosadily se však. Oživení zájmu přineslo až studium epigenetických změn provázejících nádorovou transformaci buňky. Přitom se ukázalo, že nukleosidy 5-azacytosinu mohou blokovat metylaci DNA. V r. 2002 byl po nových klinických zkouškách decitabin (Dacogen) schválen FDA a o rok později i EMA pro léčbu myelodysplastického syndromu a později byl povolen FDA i pro léčbu srpkové anemie. V únoru 2012 ale výbor pro onkologii FDA nedoporučil schválení decitabinu jako léku pro akutní myeloidní leukemii. 5-Azacytidin (Vidaza, Pharmion) byl FDA povolen jako „nová chemická entita“, v r. 2004 rovněž pro léčbu myelodysplastického syndromu.

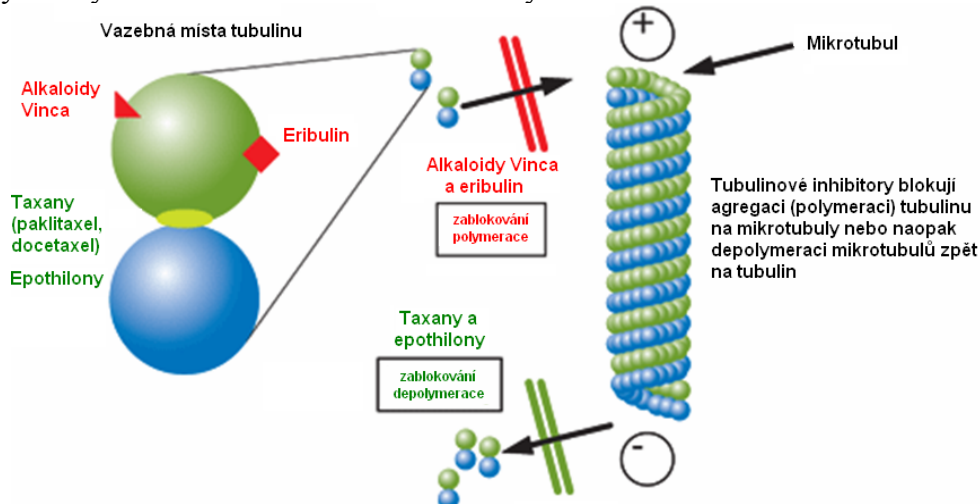
### L01 C Rostlinné alkaloidy a jiné přírodní látky.

Z rostlin a některých dalších organismů byla izolována řada přirozených látek s významnými protinádorovými účinky, další podobné látky byly připraveny synteticky.

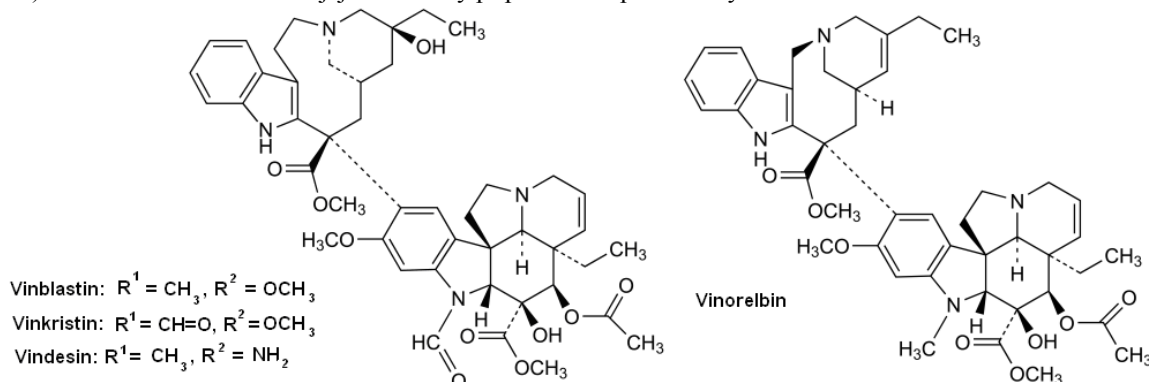
Některé z nich se v terapii uplatnily přímo, jiné po chemické modifikaci, kterou byla zvýšena jejich účinnost a/nebo potlačena toxicita a nežádoucí vedlejší účinky, popř. upraveny některé vlastnosti (rozpustnost). Rozdělit je lze podle chemického charakteru na alkaloidy, terpenoidy, lignany a jiné typy přírodních látek nebo podle mechanismu účinku.

Podle mechanismu účinku se rostlinné alkaloidy a jiné přírodní látky dělí zejména na **inhibitory mitosy** (buněčného dělení) a **inhibitory topoisomeras**.

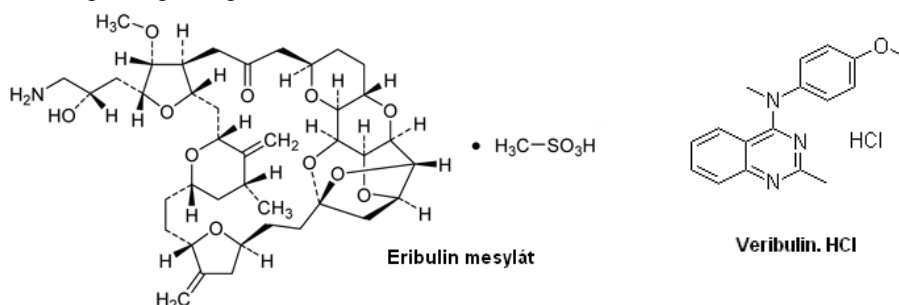
Inhibitory mitosy mohou zabrzdit buněčné dělení svým účinkem na **tubulin**.



Jak už bylo zmíněno (Farm02), tubulin je strukturní bílkovina, která agreguje na mikrotubuly, vlákna mitotického vřeténka. Na mikrotubuly se při mitose napojují duplikované sesterské páry chromosomů, aby pak byly odtaženy do opačných pólů buňky. Některé alkaloidy **blokuji agregaci tubulinu na mikrotubuly**. V minulosti byly z této skupiny inhibitorů mitózy intenzivně studovány **kolchinoidy**, alkaloidy ocúnu, především **kolchicin**. Protinádorově účinnější je **demekolcin**, který izoloval v r. 1950 prof. Šantavý z olomoucké university Kolchinoidy se však v protinádorové terapii významněji neuplatnily, kolchicin je používán jen jako lék proti dně. Naproti tomu jsou důležitou složkou souboru protinádorových léčiv „**alkaloidy Vinca**“ připravené izolací z madagaskarského barvínku *Catharanthus roseus* (dříve *Vinca rosea*) **vinblastin** a **vinkristin** a jejich deriváty připravované parciální syntézou **vindesin** a **vinorelbin**.



Do skupiny látek blokujících polymeraci tubulinu patří i makrolidový polyether **halichondrin B** izolovaný v r. 1986 z mořské houby *Halichondria okadai*. Halichondrin B je špatně dostupný, v listopadu 2010 byl ale povolen FDA jeho polosyntetický analog se zjednodušenou strukturou **eribulin mesylát** (Halaven, Eisai) jako lék 3. volby pro pacientky s metastázujícími nádory prsu, u nichž selhala léčba anthracykliny a taxany). Eribulin se váže na kladně nabitě konce již existujících mikrotubulů a pak brání jejich prodlužování. Podobný účinek má mít i klinicky zkoušený **veribulin hydrochlorid** (Azixa, Myriad Pharmaceuticals), syntetický derivát chinazolinaminu s ještě mnohem jednodušší molekulou, který může překonávat hematoencefalickou bariéru a může se proto uplatnit při léčbě nádorů mozku.



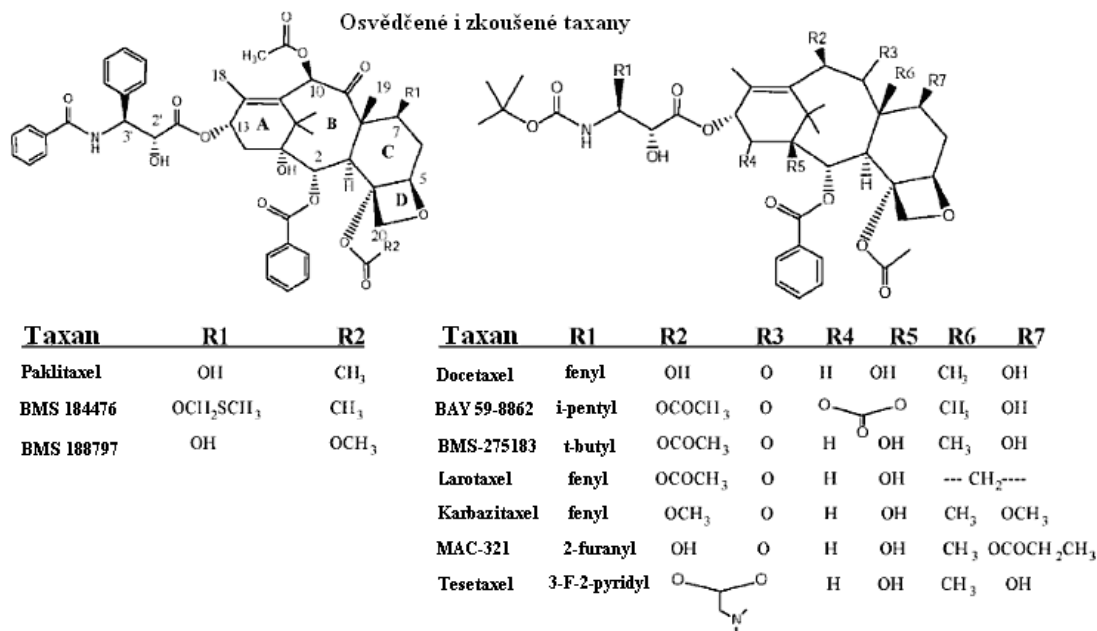
Polymeraci tubulinu blokuje rovněž řada dalších přírodních látek a analogů připravených modifikací jejich molekuly nebo synteticky. Patří mezi ně makrolid **maytansin** izolovaný z etiopské křoviny *Maytenus serrata* a jeho derivát **mertansin**, fenolický derivát **kombretastatin** z kůry jihoafrické keřovité vrby *Combretum caffrum*, z níž Zuluové připravovali šípový jed, pentapeptid derivát **dolastatin 10** izolovaný z mořského měkkýše *Dolabella auricularia*, který ale je ve skutečnosti produktem měkkýšem zkonsumovaných kyanobakterií, příbuzný **auristatin E** a jeho monomethylethyleter **vedotin**. Některé z těchto látek jsou silně toxické. Jsou proto připravovány a zkoušeny jejich konjugáty s protilátkami, které je nasměrují na nádorové buňky.

Jiné typy inhibitorů naopak blokuji **depolymeraci mikrotubulů** zpět na tubulin, čímž opět zabrzdí dělení buněk.

Jsou to zejména **taxany** patřící mezi diterpeny. První taxan, **paklitaxel**, izoloval z kůry pacifického tisu M.E. Wall v r. 1966 a nazval jej taxol. Firma Bristol-Myers Squibb pak stejně nazvala svůj přípravek, takže pro látku musel být vytvořen nový generický název paklitaxel. Paklitaxel měl vynikající protinádorovou účinnost, ale jeho širšímu využití bránila omezená dostupnost. Izolace a purifikace paklitaxelu byla velmi obtížná. Obsah v kůře tisu činí jen asi 0,03% a látka je provázena řadou jiných taxanů i dalších obtížně oddělitelných látek. Kromě toho pacifický tis roste velmi pomalu a strom zbavený kůry hyne. Obrat přinesla až v r. 1988 parciální syntéza vycházející z 10-deacetylbaikkatinu, poměrně dobře dostupného prekurzoru obsaženého ve větvičkách i jehličkách evropského tisu, tedy v obnovitelné surovině. Z této látky byl předtím parciální syntézou připraven druhý povolený taxan **docetaxel**. Nejnověji byla zvládnuta biotechnologická příprava jiného prekurzoru terapeutických derivátů s taxanovým skeletem, taxadien-5 $\alpha$ -olu, pomocí geneticky modifikované bakterie *E.coli*.

Paklitaxel se používá zejména při léčbě nádorů vaječníků, prsu, plic a Kaposiho sarkomu provázejícího AIDS, docetaxel u nádorů prsu, plic, hlavy a krku, žaludku a prostaty. Oba taxany se přitom kombinují s různými jinými cytostatiky. Kolem roku 2000 přinášel paklitaxel největší tržby ze všech známých cytostatik (až 1,5 mld \$) a není divu, že se kolem něho strhly velké patentoprávní bitvy. Jako přírodní produkt nebylo možné paklitaxel patentově chránit. Stejně tak nebylo možné chránit původní léčivý přípravek, který byl vyvinut v americkém Národním ústavu pro rakovinu, aniž by byl patentován. Patentové aktivity se proto zaměřily na stabilizaci léčivého přípravku, nové indikace a způsoby podání.

Paklitaxel se ve vodě nerozpouští. Dodáván je proto rozpuštěný v ethanolu. Aby se po naředění vodnými složkami infuze nevyučovala sraženina, musela být do etanolického koncentráту přidána vhodná povrchově aktivní látka. Při zkouškách různých povrchově aktivních látek přineslo uspokojivé výsledky pouze použití oxetylovaného ricinového oleje. Ten se připravuje reakcí ethylenoxidu s ricinovým olejem v přítomnosti bazických katalyzátorů (alkalických hydroxidů nebo alkoholátů). Získává se přitom produkt, který obsahuje malá množství alkalických solí vyšších mastných kyselin, zejména kyseliny ricinolejové. Ty jako silné báze katalyzují transesterifikaci paklitaxelu ethanolom. Přítomnost bazických nečistot v koncentrátu pro infuze – ethanolickém roztoku paklitaxelu – proto urychlovala pokles obsahu účinné látky. Stabilitu koncentrátu zajistila eliminace katalyticky aktivních bází – buď přidávkem kyseliny citronové nebo jiných kyselin vytvářejících slabší a proto méně katalyticky účinné konjugované báze než vyšší mastné kyseliny, nebo absorpcí vyšších mastných kyselin a jejich solí z oxetylovaného ricinového oleje na vhodných sorbentech. Oba způsoby stabilizace přípravku byly chráněny dvěma patenty, které přes řadu formálních a věcných nedostatků dlouho blokovaly vstup generické konkurence na trh (viz případovou studii Paklitaxel).

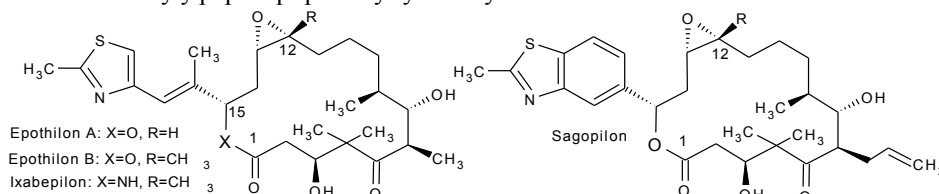


V léčivém přípravku Taxotere obsahujícím docetaxel se používá jiná povrchově aktivní látka, polysorbát 80. Problém případné transesterifikace je řešen tak, že ethanol je dodáván odděleně, před přípravou infuze se lahvička s koncentrátem smísí s ethanolom a roztok se pak naředí fyziologickým nebo jiným isotonickým vodným roztokem.

Nově byla vyvinuta léčiva, které některé problémy podávání paklitaxelu řeší jeho navázáním na hydrofilní polymery (**Abra-xan**, paklitaxel s albuminem nebo **Xyotax** s připojenou polyglutamovou kyselinou) nebo naopak navázáním lipidu, dokosahe-xaenové kyseliny (**Taxoprexin**), uzavřením do liposomů přípravou nanočásticových systémů apod.

Vysoká protinádorová účinnost, ale současně i špatná biologická dostupnost a problémy s podáváním prvních taxanů, jakož i vznik rezistence nádorových buněk vyvolal potřebu vývoje derivátů druhé generace. V polovině roku 2010 byl zaregistrován **karbazitaxel** (Jevtana), další deriváty jsou zkoušeny. Do multicentrických klinických zkoušek **larotaxelu**, který má hydroxylovou a methylovou skupinu v polohách 7 resp. 8 paklitaxelu nahrazenou cyklopropanovým kruhem, se mimo jiná pracoviště zapojil i brněnský MOÚ. Zajímavým novým derivátem je **tesetaxel**, klinicky zkoušený (fáze IIb) při léčbě pokročilých nádorů žaludku, který má mít výhodu perorálního podání ve formě tobolek. Ve stadiu preklinických i klinických zkoušek je několik dalších cytostatik s taxanovým skeletem.

Stejně jako taxany blokují depolymeraci mikrotubulů zpět na tubulin i **epothilony**. Epothilony jsou produkovány myxobakteriemi, takže mohou být připravovány fermentačně, ve srovnání s taxany mají výhodu i v rozpustnosti ve vodě. Jsou to makrolidy (makrocyclické laktony) s 16-členným kruhem, které byly izolovány z kultur *Sorangium cellulosum*, bakterie štěpící celulózu. V r. 1996 byly poprvé připraveny synteticky.



Epothilony C a D (a také E a F) mají na místě oxiranového kruhu dvojnou vazbu. Epothilon B (**patupilon**, Novartis) a některá analoga přirozených epothilonů (**sagopilon** a **dehydelon** - 9,10-dehydro-12,13-desoxyepothilon B) jsou klinicky zkoušeny. V říjnu 2007 schválil americký Úřad pro potraviny a léčiva, FDA, použití první z těchto látek, **ixabepilonu** (BMS-247550, Ixempra, Bristol-Myers Squibb) v terapii pokročilých stadií nádorů prsu. Ixabepilon je azaanalogem epothilonu B, který má v molekule místo laktonového kruhu stabilnější laktamový kruh.



Depolymeraci mikrotubulů brání také některé produkty izolované z mořských hub: makrolid **laumalid** z mořské houby *Cacospongia mycofijiensis*, polyketid **diskodermolid** (*Discodermia dissoluta*), **pelorusid A** (*Mycale hentschel*) nebo **diktyostatin** (*Spongia* sp.), dále diterpeny **eleutherobin** a podobné látky obsažené v karibských korálech, **sarkodiktiny** z japonských korálů, rostlinný produkt steroidního charakteru **takkanolid A** nebo polyketid **cyklostreptin** produkovaný aktinomycetami. Tyto látky jsou preklinicky, popř. i klinicky testovány. Jejich předností je, že mohou inhibovat i růst nádorových buněk, u nichž se vyvinula rezistence na taxany, zatím však není jasné, zda obohatí současný sortiment cytostatik.

Mikrotubuly v buňkách neplní pouze úlohu „provazů“, které při dělení přitahují jednotlivé chromosomy z páru na opačná místa, ale spolu s dalšími strukturálními bílkoviny (aktin a keratin) vytvářejí cytoskelet, kostru buňky. Inhibitory mitosy, které ovlivňují dynamiku tvorby nebo naopak odbourání mikrotubulů v buňce, proto mohou negativně působit i na nedělící se buňky. Jsou proto hledány možnosti selektivnějšího zásahu. Jednou je blokáda kinesinů, buněčných molekulárních motorů, které transportují buněčné struktury podél mikrotubulů k opačným pólům buňky a zřejmě se účastní procesu oddělování chromosomů. Další možnosti představuje inhibice některých kinas, jako je kinasa podobná kinase polo (PLK1, polo-like kinase 1) a Aurora A nebo Aurora B kinasa (AurKA nebo AurKB), které se podílejí na fungování mitotického vřetánka a centrosomů při buněčném dělení. Inhibice má za následek zástavu mitosy, vznik monopolárního dělicího vřetánka, chybné oddělování chromosomů (aneuploidie, polyploidie) a nakonec buněčnou smrt. Inhibitory těchto kinas nebo blokátory kinesinu jsou proto připravovány a zkoušeny ve snaze nalézt nová selektivnějších protinádorová léčiva.

Předpokladem dělení buněk je **replikace DNA**, zdvojení genetického materiálu buňky. Přitom se musí oba řetězce DNA oddělit. Aby k tomu došlo, je třeba uvolnit torzní napětí v nadšroubovicové struktuře, do níž bývá dvojité spirála DNA v buňkách stočena. To zajišťují enzymy nazvané topoisomerasy.

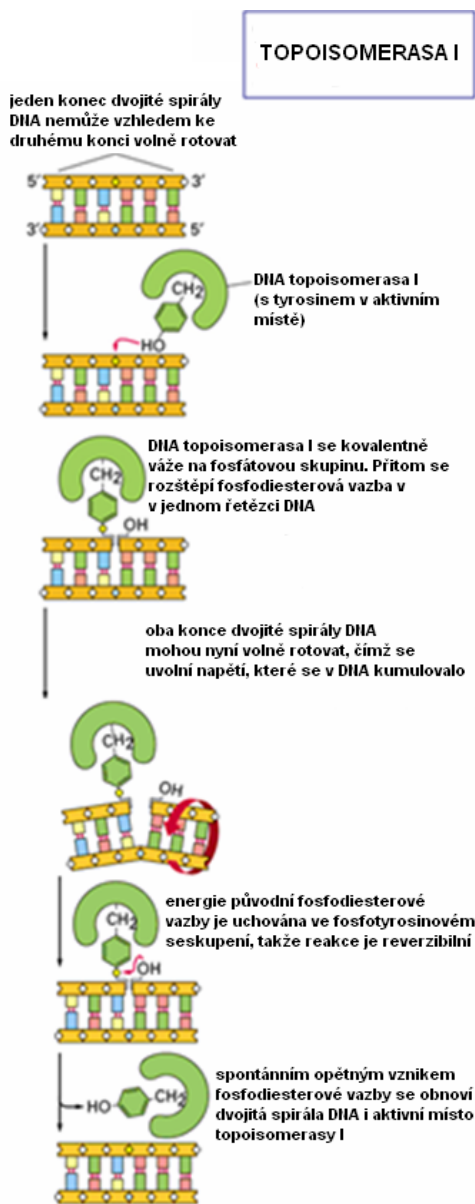


Figure 5-25 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

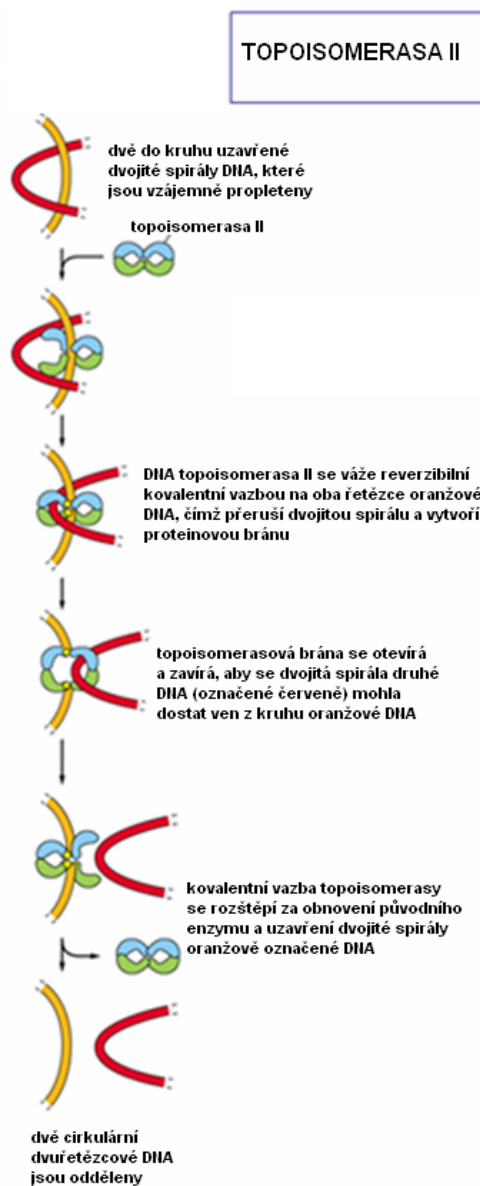
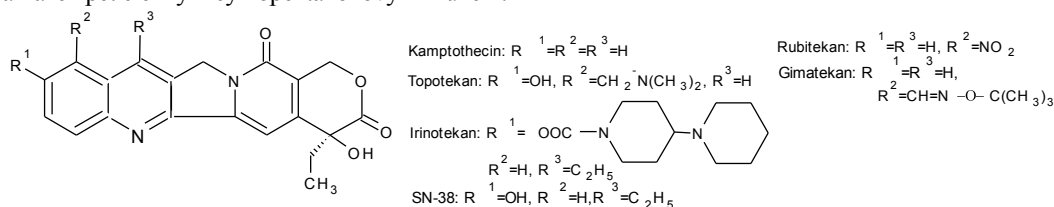


Figure 5-27 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

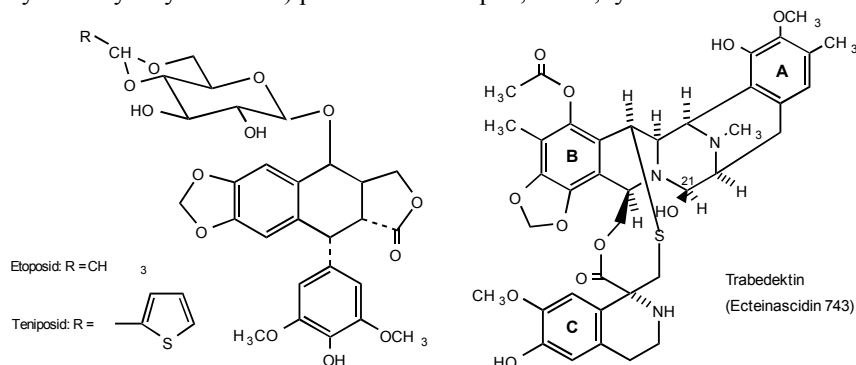


Topoisomerasa I. se váže na jeden řetězec DNA, rozpojí jej a po uvolnění torzního napětí v prostorové struktuře DNA jej opět spojí fosfodiesterovou vazbou. Topoisomerasa II se váže na oba řetězce dvojité spirály, dočasně je přeruší a pak znovu spojí. V nádorových buňkách je koncentrace topoisomeras zvýšená. **Inhibitory topoisomeras** se váží na komplex enzymu s DNA, čím zabrání opětovnému propojení přerušených řetězců. Tím je blokována replikace DNA, DNA je fragmentována a dělení buněk se zastaví. Inhibitory topoisomeras proto našly uplatnění v protinádorové terapii

**Topoisomerasu I** inhibuje alkaloid kamptothecin a jeho deriváty. **Kamptothecin** izoloval v 60. letech M.E. Wall z extraktů dřeva a kůry čínského stromu *Camptotheca acuminata*. První klinické studie však přinesly určité zklamání. K oživení zájmu o kamptothecin pak došlo až v 80. letech, kdy se ukázalo, že jde o účinný inhibitor topoisomerasy I. Kamptothecin je ale vysoce toxický a přitom málo rozpustný. V terapii se proto spíše uplatnily jeho deriváty **topotekan** (Hycamtin) a **irinotekan** (Campto nebo Camptosar) připravované z kamptothecinu parciální syntézou, nově jsou však zkoušeny konjugáty **CRLX101**, kamptothecin navázaný na nanočástice kopolymeru se střídajícími se jednotkami  $\beta$ -cyklodextrinu a oligoethylenglykolu a podobný **XMT-1001** s biodegradabilním polymerem. Irinotekan je profarmakum se zvýšenou rozpustností, které v organismu přechází na účinný derivát označovaný jako **SN-38**. Ten sám není použitelný, jako alternativa k irinotekanu je však zkoušen pegylovaný SN-38. Perorálně podávaný nový derivát **gimatekan** obdržel statut léčiva pro vzácná onemocnění, jeho klinické zkoušení v řadě protinádorových indikací pokračuje. U jiného perorálně podávaného derivátu, **rubitekanu** (Orathecin, 9-nitrokamptothecin), který je vlastně profarmakem, z něhož vzniká účinný 9-aminokamptothecin až v organismu redukcí, proběhly klinické zkoušky. Jejich výsledky však nepovažovala FDA za dostačující, firma Supergen proto stáhla již podanou žádost o registraci v USA i Evropě. Další deriváty jsou zkoušeny, zajímavá mohou být stabilní analoga, která mají šestičlenný laktonový kruh nahrazen pětičlenným cyklopentanovým kruhem.



Mezi **inhibitory topoisomerasy II** patří látka s lignanovou strukturou **podofylotoxin** a jeho deriváty. Podofylotoxin je obsažen v extraktu kořene americké rostliny *Podophyllum peltatum*, který byl již dříve používán k léčbě kožních nádorů. Pro jiné než topické použití je však podofylotoxin velice toxický. Široké uplatnění v protinádorové terapii našly však jeho polosyntetické deriváty **etoposid** a **teniposid**. Obě látky kromě toho, že jsou protinádorově účinné, synergicky potencují účinek jiných cytostatik. Používají se proto zejména v kombinaci s jinými léčivy (zejména platinovými cytostatiky a cytarabinem) při léčbě nádorů plic, varlat, lymfomů a leukémie.

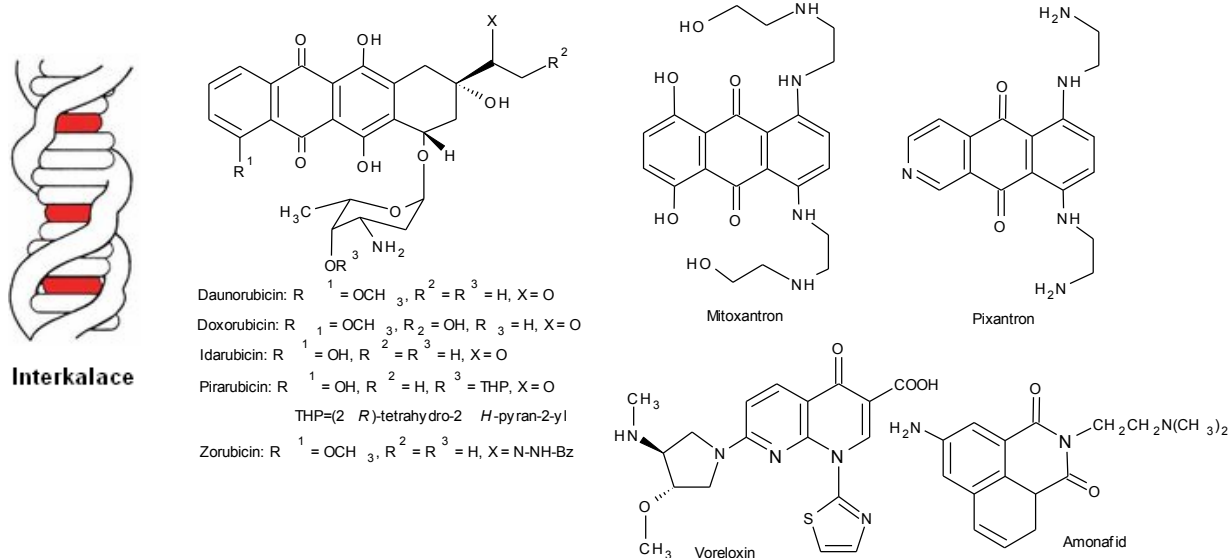


Zajímavým protinádorově účinným alkaloidem je **trabedektin** (dříve ecteinascidin, ET 743; Yondelis, Pharma Mar), který nebyl izolován z rostlin, ale z mořského živočicha *Ecteinascidia turbinata* (sumka z podkmene pláštěnců). Mechanismus jeho účinku zatím není přesně znám. Používá se k léčbě pokročilých sarkomů měkkých tkání.

## LO1 D Cytostatická antibiotika a podobné látky

Některé mikroorganismy produkují látky, které mohou brzdit růst nádorových buněk. Podle mechanismu protinádorového účinku lze **cytostatická antibiotika** rozdělit na alkylační látky, kam patří **mitomyciny** s aziridinovou skupinou (zmiňované již mezi alkylačními cytostatiky), **radiomimetika**, jako je **bleomycin**, tj. látky, které mohou – podobně jako záření – produkovat volné radikály a způsobit tak zlomy dvoušroubovice DNA a konečně **interkalační látky**. Interkalace (vmezeření) je zasunutí cytostatika (s planární strukturou) mezi dvojitou spirálu DNA, přičemž dojde k jeho navázání vodíkovými můstky na DNA. Výsledkem je zablokování replikace a transkripce. Interkalační látky přitom většinou také inhibují topoisomerasu II.

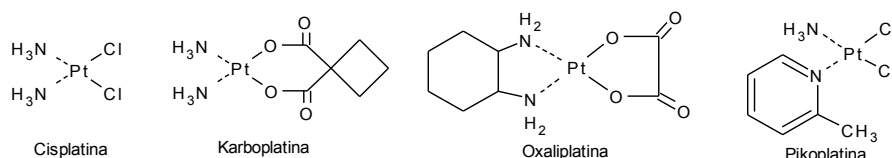
Interkalačními látkami jsou nejvýznamnější protinádorová antibiotika. Ta chemicky patří mezi **deriváty anthracyklinu**. Používají se od 60. let, zejména v kombinované terapii. Největší uplatnění mají **doxorubicin** (dříve nazývaný adriamycin, při označování kombinací doxorubicinu se stále používá zkratka A) a **daunorubicin**, dále pak látky s modifikovanou strukturou, jako je **idarubicin**, **pirarubicin** a některé další. Anthracyklinová antibiotika mají řadu nepříznivých účinků, jsou např. vysoce kardiotoxická. Byly proto hledány možnosti, jak tyto účinky potlačit. Jednou je pegylace, navázání na polyethylenglykol, jinou uzavření do liposomálních částic (do podobné formy, jako v případě liposomálního cytarabinu). Další možností je navázání cytostatika na polymerní nosič současně s protilátkou proti nádorovým antigenům. Ta „polymerní léčivo“ nasměruje k nádorovým buňkám, které mohou léčivo pohltit endocytózou. V buňce odštěpí lysosomální enzymy léčivo a to buňku zahubí. Konjugáty protinádorových antibiotik doxorubicinu nebo daunorubicinu s poly(hydroxypropylmethakrylamidem) s navázanou protilátkou jsou řadu let studovány v Ústavu makromolekulární chemie a Ústavu molekulární genetiky AV ČR ve spolupráci s britskými a americkými vědci. Jejich zkoušení zahájila Zentiva, když se stala součástí koncernu Sanofi, byly však klinické zkoušky ukončeny. Charakter interkalátorů a současně i inhibitorů topoisomerasy II má také několik syntetických léčiv s planární strukturou, z nichž některé lze považovat za příbuzné látky s anthrachinonovými antibiotiky. Další však mají dosti odlišný charakter a podle ATC klasifikace patří spíše do skupiny „jiných cytostatik“. Nejstarším z nich je i v ČR vyráběný **mitoxantron**, který se nepoužívá jen jako protinádorový lék, ale i při léčbě roztroušené sklerózy. Několik nových léčiv s planární strukturou postoupilo do závěrečných fází klinického testování. Je mezi nimi azaanalog anthrachinonu **pixantron** (Pixuvri, Cell Therapeutics), naftyridinový derivát **voreloxin** (SNS-595, Sunesis) v r. 2009 schválený jako lék pro „lék sirotek“ k léčbě akutní myeloidní leukemie a je úspěšně zkoušen při léčbě nádorů vaječníků rezistentních na platinová cytostatika a substituovaný benzoisochinolindion **amonafid** (Quinamed, Antisoma).



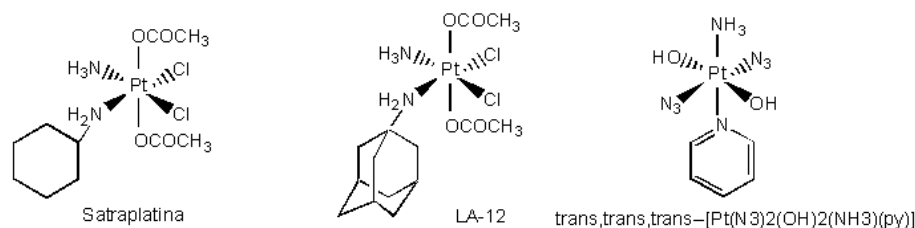
## L01 X Jiná cytostatika

Do této skupiny patří řada látek, které se nepodařilo zařadit do žádné z předchozích skupin. Jsou to především platinová cytostatika, hydroxymočovina, deriváty hydrazinu, melaminu, enzymy, fosfolipidy, analoga vitaminů, porfyriny a další látky pro fotodynamickou terapii a některé jiné protinádorové léky, které mohou být později přerazeny do nových skupin ATC klasifikace

**Cytostatické deriváty platiny** mají podobný účinek jako alkylační cytostatika. Váží se koordinační vazbou na dusík bázi DNA, zejména guaninu. Protože jsou bifunkční, mohou propojit dvě báze ze stejného nebo komplementárního řetězce DNA. Tím účinně blokuje replikaci a transkripci DNA. Patří mezi nejpoužívanější cytostatika, do protinádorové terapie se však dostaly spíše náhodou. V r. 1964 studoval americký biofyzik Rosenberg vliv elektrického pole na dělení buněk. Při svých pokusech umístil suspenzi bakterií *Escherichia coli* v roztoku chloridu amonného mezi dvě platinové elektrody, do nichž zavedl elektrický proud. Překvapující bylo, že se buňky přestaly dělit. Vysvětlení nebylo snadné, ale nakonec se ukázalo, že příčinou byl vznik komplexu dvojmočné platiny, cis-diammindichloroplatiny, „**cisplatinu**“, který se tvořil z „inertního“ kovu elektrod a  $\text{NH}_4\text{Cl}$  pod vlivem elektrického proudu a světla. Rosenberga pak napadlo vyzkoušet, zda tento komplex nebude také inhibovat růst nádorových buněk. Výsledek byl kladný. Na konci 60. let následovaly zkoušky na zvířatech a od r. 1971 byly prováděny klinické zkoušky. Od r. 1979 se cisplatinu začala rutinně používat v protinádorové terapii, a to jak samotná (v „monoterapii“), tak i v kombinaci s dalšími cytostatiky s jiným mechanismem účinku. Současně byla syntetizována a zkoušena platinová cytostatika 2. generace se sníženou toxicitou. Z nich byl nejúspěšnější derivát cyklobutandikarboxylové kyseliny, **karboplatina**, která je dnes nejpoužívanějším platinovým cytostatikem. Poměrně novým platinovým cytostatikem přípravkem je **oxaliplatinu** komplex platiny s (1R,2R)-diaminocyklohexanem a kyselinou šfavelovou (Eloxatin, Sanofi-Synthelabo). Řada dalších platinových cytostatik je v různých stadiích vývoje, z platných komplexů to je především pikolinový komplex, **pikoplatina**.

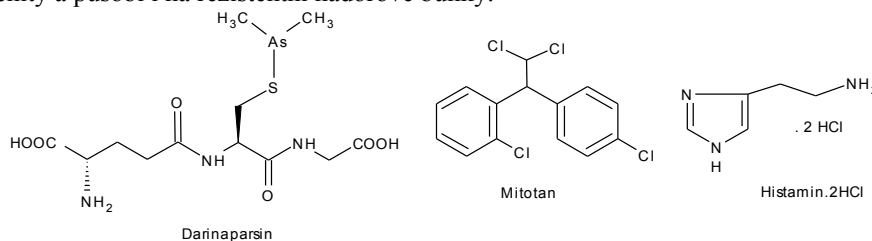


Z dalších vyvíjených derivátů jsou zajímavé některé komplexy čtyřvalentní platiny, které lze považovat za profarmaka: aby byly cytostaticky účinné, musí být v organismu nejprve být redukovány na planární platnaté komplexy. Jejich výhodou je, že mohou být podávány orálně, ve formě tobolek. Nejdále pokročil vývoj **satraplatiny** (JM 206, Orplatna, Pharmion), která se v kombinaci s prednisonem dostala až do fáze III klinických zkoušek k léčbě metastazujících nádorů prostaty nereagujících na hormonální léčbu. Výsledky však nebyly uspokojivé a firma Pharmion proto zatím stáhla žádost o registraci. Podobným komplexem je LA-12, **adamplatina**, originální platinové cytostatikum s adamantanovým ligandem, které v Brně vyvinula PLIVA-Lachema za grantové podpory státu. Komplex LA-12 je účinný i vůči nádorům rezistentním vůči cisplatině, nyní je klinicky zkoušen. Zajímavým platinovým cytostatikem je i pyridinový komplex čtyřvalentní platiny s azidovými ligandy, *trans,trans,trans*-[Pt(N<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)(py)], na jehož studiu se podíleli ve spolupráci s britskými vědci i pracovníci Biofyzikálního ústavu AV ČR v Brně. Komplex je stabilní a netoxický, působením světla však z něj vznikne vysoce cytotoxický derivát. Ten je o řád účinnější než cisplatin a zastavuje růst a dělení i takových nádorových buněk, které jsou vůči jiným platinovým cytostatikům rezistentní.



**Hydroxymočovina**, NH<sub>2</sub>CONHOH, je chemicky jednoduchá látka. Inhibuje ribonukleotidreduktasu, není však řazena mezi antimetabolity. Používá se zejména při léčbě chronické myeloidní leukemie a některých typů melanomů, uplatňuje se však i při léčbě AIDS a při potlačování bolesti u pacientů trpících srpkovou anémií.

Po chemické stránce je ještě jednodušší další „nové“ cytostatikum – **oxid arsenitý** (Trisenox, Cell Therapeutics). Používá se k léčení akutní promyelocytické leukemie, zkouší se u dalších typů leukemie a mnohočetného myelomu. Na zastavení růstu nádorových buněk oxidem arsenitým se podílí několik mechanismů – vyvolání tvorby cytotoxicky působících volných radikálů, zásah do buněčného cyklu, indukce apoptózy apod. Je zajímavé, že oxid arsenitý byl k léčbě leukemie použit již v r. 1865. Pak však byl vytlačen jinými léky resp. postupy léčby (radioterapie), na konci 20. století však prožil svoji renesanci. Předpokládá se, že v organismu je oxid arsenitý enzymaticky přeměněn na dimethylarsinoderivat glutathionu, **darinaparsin** (Zinapar, Zio Oncology), který je při vyvolání apoptózy účinnější, než oxid arsenitý a působí i na rezistentní nádorové buňky.



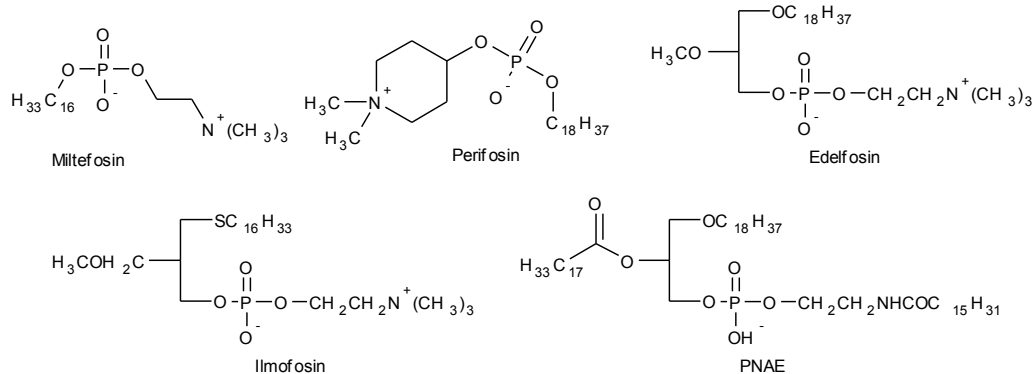
V r. 2011 byly zahájeny klinické zkoušky jiné jednoduché anorganické sloučeniny, **oxidu hafničitého** (NBTXR3, Nanobiotix). Ten působí jiným mechanismem – zesiluje účinek záření při radioterapii. Po intratumorální aplikaci a ozáření emitují nanočástice krystalického HfO<sub>2</sub> elektrony, které v nádorových buňkách vyvolávají vznik volných radikálů v mnohem větší míře než samotné záření. Zajímavostí je, že FDA klasifikuje HfO<sub>2</sub> jako léčivo, zatímco EMA jako léčebnou pomůcku.

Podobně lze klasifikovat **alfaradin**, chlorid radnatý, derivát radia-223, zkoušený při léčbě kostních metastáz. Radium může v kostech nahrazovat vápník. V terapii rakoviny bylo využíváno v první polovině 20. století, pak zájem o něj opadl. Hlavní izotopy radia a <sup>228</sup>Ra mají příliš dlouhé poločasy rozpadu. Nyní zkoušený izotop 223 má poločas rozpadu jen 11,4 dní, což je pro terapii ideální. Po injekčním podání se přednostně zachycuje v kostních metastázách, nezachycený chlorid radnatý se z těla rychle vylučuje. <sup>223</sup>Ra emituje α záření, které má jen velmi krátký dosah – působí jen na 2-10 okolních buněk, takže poškozuje zdravé buňky podstatně méně než β nebo γ záření.

**Mitotan**, 1-o-chlorfenyl-1-p-chlorfenyl-2,2-dichlorethan (Lysodren, Bristol-Myers Squibb), jeden z isomerů insekticidu DDD (analog DDT), blokuje glukosa-6-fosfátdehydrogenasu a tím i tvorbu NADPH, koenzymu, který se účastní hydroxylaci steroidů a hraje tedy důležitou roli při biosyntéze kortikoidů. Používá se k léčbě nádorů kůry nadledvinek.

**Histamin dihydrochlorid** (Ceplene, EpiCept Corp.) byl povolen v r. 2008 v EU pro léčbu akutní myeloidní leukemie (AML). V kombinaci s cytokinem interleukinem 2 (viz dále) snižuje riziko návratu onemocnění. V USA povolen zatím nebyl. Důvodem mohou být nežádoucí účinky histaminu, který je neurotransmitérem vyvolávajícím imunitní odezvu a záněty.

Z dalších „jiných cytostatik“ lze zmínit **analoga fosfolipidů**, alkylysofosfolipidy. Tyto látky jsou odbourávány v normálních buňkách alkyglycerolmonooxygenasou, která však není obsažena nebo je deficitní v nádorových buňkách. To vede k nahromadění lysofosfolipidů v buňkách a následně ke změnám v buněčné membráně. Kromě narušení integrity membrán inhibují lysofosfolipidy i fosfolipasu C, blokují vazbu růstových faktorů na receptory buněčných membrán a tím ovlivňují buněčnou signalizaci a rovněž i aktivují imunitní systém organismu. Výsledkem je potlačení růstu a dělení nádorových buněk. Protinádorové účinky přirozených alkylysofosfolipidů z oleje z jater grónských žraloků byly zjištěny švédskými vědci již počátkem 60. let. V 80. letech minulého století byla připravena řada syntetických derivátů, v protinádorové terapii však zatím našel uplatnění jen nejjednodušší z nich – **miltefosin** (Miltef, Baxter), n-hexadecylester cholinfosfátu, a to jako topický přípravek používaný při paliativní léčbě kožních metastáz nádorů prsu, zkoušeny jsou **perifosin**, vnitřní sůl 4-oktadecylfosforyloxy-1,1-dimethylpiperazina, **edelfosin**, 1-O-oktadecyl-2-O-methyl-*rac*-glycero-3-fosfocholin a **ilmofosin**, 1-hexadecylthio-2-methoxymethylpropan-3-oxofosfocholin.



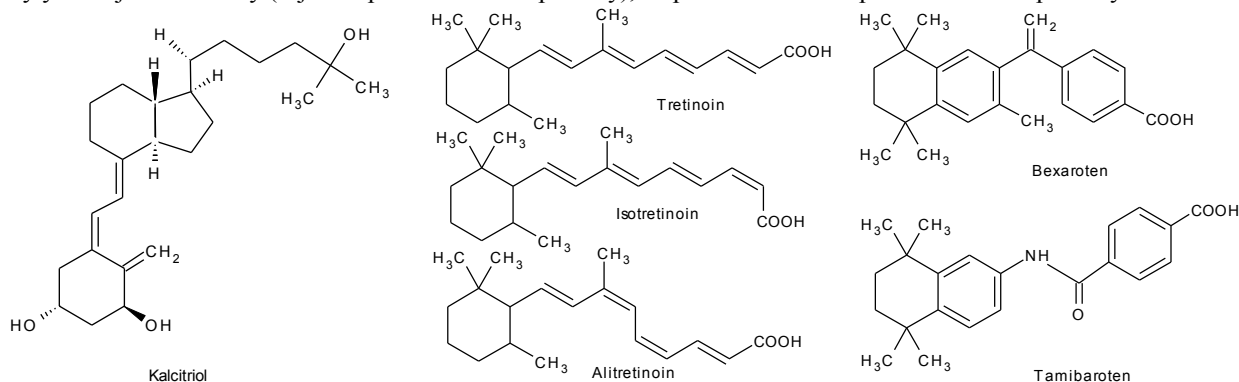
Mezi protinádorově účinné fosfolipidy lze zařadit i **plasmanyl-N-acyl-ethanolaminy (PNAE)**. Ty izoloval dr. Kára z ÚOChB ČSAV v polovině 80. let z preparátu „Cancerolyt“ vyráběného z vajec s kuřecími zárodky. Hlavní složkou byl 1-O-oktadecyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-fosfo-(N-palmitoyl)-ethanolamin. Studium PNAE vycházelo z myšlenky, že ve žloutku by měla být látka, která poskytne signál pro diferenciaci tkání ptačího embrya a že tato látka by podobně mohla působit na dediferencované nádorové buňky. Později byly tyto představy korigovány a účinek byl připsán narušení buněčných membrán, resp. indukcí apoptozy. Izolace čistého preparátu PNAE byla poměrně pracná. K údajně úspěšným klinickým zkouškám v letech 1976-1977 nebyl použit zcela definovaný preparát, zkoušky byly provedeny na malém souboru pacientů, nebyly kontrolovány proti placebo a negativní výsledky nebyly uváděny. K navození účinku byly zapotřebí značně vysoké dávky PNAE. Látka není stálá, syntéza je obtížná a pro izolaci PNAE v dostatečném množství, by bylo třeba zpracovat nejméně šestinu tuzemské produkce vajec. České farmaceutické firmy proto o preparát neprojevíly zájem. Výroby se pak ujala firma Areko původně zaměřená na likvidaci nebezpečných odpadů, V polovině roku 1999 byl na český trh uveden následovník Cancerolytu pod názvem Ovosan a později i gel Transovosan. Ty nebyly povoleny jako léčiva, ale jako doplněk stravy podporující imunitu resp. přípravek léčebné kosmetiky. Starší nabídka Ovosanu na Internetu ([www.ovosan.cz](http://www.ovosan.cz)) ale popisovala některé případy vyléčení rakoviny, popř. zmírnění metastázujícího nádorového onemocnění tak, jako by byly dosaženy jen díky léčbě Ovosanem. Přitom byl Ovosan používán jen jako doplněk chemoterapie. Reklama proto nespĺňovala etický kodex. Nyní jsou proto účinky Ovosanu popisovány opatrněji. Nicméně běžný zákazník asi nepostřehne, že účinky přípravku jsou sice vysvětlovány obsahem PNAE, ten však není specifikován – pouze je uvedeno, že 1 kapsle Ovosanu obsahuje 150 mg vaječného extraktu. Přitom je přípravek poměrně drahý: pokud se používá při nádorovém onemocnění, pak se má pacient první měsíc užívat 3 x denně po 3 kapslích, pak souběžně s jinou terapií 3 x po 2 kapslích denně. Jedno balení s 90 kapslemi přitom stojí 2.150 Kč.

V terapii nádorových onemocnění nalezly uplatnění i některé **enzymy**, zejména **asparaginasa**. Asparaginasa katalyzuje štěpení L-asparaginu na kyselinu asparagovou. Asparagin je prekurzorem purinových složek DNA a podílí se na stavbě některých bílkovin. Nádorové buňky na rozdíl od normálních buněk nejsou schopné jej syntetizovat v dostatečném množství. Intravenózní podání asparaginasy proto zbavuje nádorové buňky přísunu látky nezbytné pro jejich růst a další dělení. Vyčištěné mikrobiální enzymy z *Escherichia coli* (Kidrolase, Thiessen; Elspar, Ovation Pharma), *Erwinia carotovora* nebo *Erwinia chrysanthemi* (Erwinase, EUSA Pharma) se používají k léčbě akutní lymfoblastické leukemie. Asparaginasa nemá toxické účinky běžných cytostatik, na druhé straně může být příčinou nežádoucí imunitní odpovědi. Nižší imunogenní účinky má **pegaspargasa** (Oncospar), asparaginasa z *E. coli* vázaná na polyethylenglykol. Ta je současně i stabilnější než volný enzym, takže může být používána ve formě kapalné injekce. Jako léky pro vzácná onemocnění (léky „sirotci“, orphan drugs) byly nově povoleny enzymové preparáty Hepacid, **pegylovaná arginindeimidasa** pro léčení jaterních nádorů, jejichž buňky neumí samy syntetizovat arginin (další podobný enzymový preparát **ADI-PEG 20** fy Polaris je klinicky zkoušen při léčbě malobuněčných nádorů plic) a **ranpirnasa** (Onkonase, Alfacell), ribonukleasa, která byla původně izolována z oocytů žaby *Rana pipiens*. Ranpirnasa se endocytózou dostává do buněk, kde štěpí transferové ribonukleové kyseliny. Povolena je pro léčbu mesotheliomu, zkouší se u nádorů plic. Již zmíněná **glukarpidasa**, enzym detoxikující methotrexát, není protinádorovým, ale pomocným léčivem.

**Vitaminy** nejsou podle ATC klasifikace řazeny mezi protinádorové léky, některé vitaminy s antioxidačními vlastnostmi mají však význam v prevenci. Patří mezi ně vitamin C, jehož "megadávky" byly před časem v protinádorové terapii velmi populární. Klinické studie ale terapeutickou účinnost nepotvrdily. Antioxidační účinky má i vitamin E, jehož schopnost vychytávat volné radikály se využívá k potlačení kardiotoxických vlastností anthracyklinových antibiotik.

Na rozdíl od vitaminů mají některé jejich deriváty, především **deltanoidy** a **retinoidy** odvozené od vitaminů D a A, zřetelné protinádorové účinky: mohou brzdit proliferaci nádorových buněk, nastartovat jejich buněčnou smrt, apoptózu, potlačovat nádorovou transformaci buněk vyvolanou účinkem karcinogenů a naopak navodit rediferenciaci nádorových buněk.

**Kalcitriol**, 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (Asentar, Novacea) sice navozoval diferenciaci nádorových buněk, jeho širšímu použití v onkologii však byl na závalu hyperkalcemizující účinek. Nedávno byl zkoušen v kombinaci s docetaxelem při léčbě rezistentních nádorů prostaty, selhal však ve fázi III klinických zkoušek. Různých jiných deltanoidů bylo připraveno na 3000, některé látky se zvýrazněnou protinádorovou účinností při současném potlačení vlivu na metabolismus vápníku byly nebo jsou zkoušeny (zejména při léčbě nádorů prostaty), do protinádorové terapie však zatím nepronikly.



Podstatně širší uplatnění v protinádorové terapii mají naopak **retinoidy**. Z nich se používá především **tretinoin**, kyselina all-*trans*-retinová, ATRA, (Vesanoid, Roche). Podává se perorálně ve formě kapslí při léčbě akutních leukemií, účinná je zejména jeho kombinace s oxidem arsenitým. Hlavní použití tretinoinu je však při léčbě akné, kdy se aplikuje ve formě krému. Určité problémy působí jeho nežádoucí vedlejší účinky, jako je teratogenita. Léčebné účinky mají i geometrické isomery tretinoinu – **isotretinoin** (kyselina 13-*cis*-retinová, Roaccutan, Roche) resp. **alitretinoin** (kyselina 9-*cis*-retinová, Panretin gel, Ligand Pharmaceuticals), které však mají více nežádoucích účinků. Isotretinoin se používá jen při akné, alitretinoin při léčbě kožních lézí spojených s Kaposiho sarkomem – nádorovým onemocněním provázejícím AIDS. Novými protinádorovými léčivy jsou analoga retinoidů, **tamibaroten** (Tamibaro) účinný proti akutní promyeololytické leukemii rezistentní na tretinoin a **bexaroten** (Targretin) používaný při léčbě jednoho typu lymfomu a zkoušený, údajně s úspěšnými výsledky, při léčbě Alzheimerovy nemoci. Ve fázi II/III klinického zkoušení u jaterního karcinomu je acyklický retinoid **peretinoin**, (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,4,6,10,14-pentaenová kyselina.

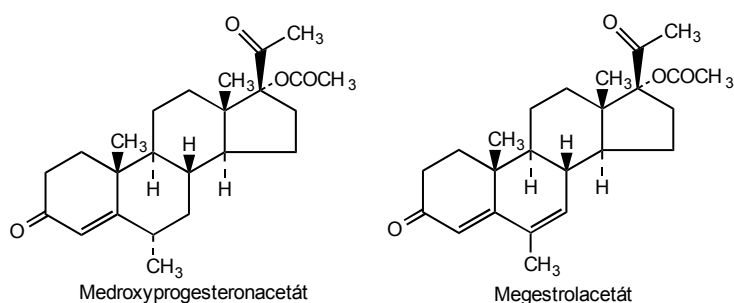
## Skupina L02: Endokrinní terapie

Růst nádorů prsu, vaječníků a ženských pohlavních orgánů a nádorů prostaty u mužů, je stimulován pohlavními hormony. V jejich léčbě se proto začalo využívat chirurgické odstranění endokrinních žláz (vaječníků nebo varlat), v nichž jsou pohlavní hormony produkovány. Pak byla kastrace nahrazena podáváním ženských hormonů mužům a naopak: estrogenů k léčbě nádorů prostaty, testosteronu u nádorů prsu. Růst hormonálně závislých nádorů tak byl sice potlačen, ale vlastní účinek hormonů léčbu komplikoval. Další vývoj přinesl antagonisty přirozených hormonů, antiestrogeny a antiandrogeny, které blokují buněčné receptory hormonů a tím i přenos signálu, který přinášejí, samy však hormonální účinek nemají. Kromě nich se začaly používat látky inhibující syntézu přirozených hormonů v nadledvinkách a pohlavních žlázách – analoga gonadoliberinů a inhibitory aromatasy.

### L02A Hormony a příbuzné látky

ATC skupina L02A má podskupiny L02AA Estrogeny, L02AB Progestogeny, L02AC Analoga hormonu uvolňujícího gonadotropin a L02AX Jiné hormony. V současné onkologii se používají hlavně léčiva podskupin L02AB a L02AC. Estrogeny mají spíše jiné uplatnění a skupina L02AX je zatím prázdná.

**Progestogeny** neboli gestageny jsou ženské hormony, které řídí přípravu a průběh těhotenství. Z látek s gestagenním účinkem se v onkologické praxi používá **medroxyprogesteron acetát**, 17- $\alpha$ -acetoxy-6- $\alpha$ -methylprogesteron. Ten mimo jiné inhibuje sekreci gonadotropinů v hypofýze, což pak má za následek potlačení tvorby estrogenů. Vyznačuje se dlouhodobým působením. Podobný účinek, avšak řádově kratší biologický poločas, má **megestrolacetát**, 17- $\alpha$ -acetoxy-6-methylpregna-4,6-dien-3,20-dion. Jako protinádorová léčiva se gestageny používají již jen jako léky třetí volby. Uplatnění však našly pro své vedlejší účinky – podpora chuti k jídlu, zvyšování retence tekutin, zvyšování tělesné hmotnosti, tlumení bolesti, vyvolávání lehké euforie a překonávání kachexie – ochablosti onkologických pacientů v terminálním stadiu onemocnění.



Produkce pohlavních hormonů je řízena z hypothalamu, spodní části mozku, kde je periodicky sekretován peptidický hormon gonadoliberin. Ten pak prostřednictvím receptorů v hypofýze, podvěsku mozkovém, řídí sekreci dalšího hormonu, gonadotropinu, který ovlivňuje produkci pohlavních hormonů. **Analoga gonadoliberinu, hormonu uvolňujícího gonadotropin**, mohou receptory v hypofýze ovlivnit tak, že se zastaví sekrece gonadotropinu a tím i produkce steroidních hormonů ve varlatech nebo vaječnících. Výsledkem je „farmakologická kastrace“, která je (na rozdíl od chirurgické kastrace) vratná.

Analoga gonadoliberinu jsou oligopeptidy, u nichž je vhodnými modifikacemi molekuly změněn její charakter. První generace těchto látek, **goserelin, leuprorelin, buserelin a triptorelin** má molekulu relativně málo pozměněnou (náhrada glycinu D-aminokyselinou, popř. záměna nebo koncového glycinamidu ethylaminem nebo azaglycinamidem). Na receptor působí spíše jako agonisté, který sekreci gonadotropinu zprvu přechodně zvýší a teprve pak ji zpětnovazebním mechanismem potlačí. Přechodné zvýšení produkce gonadotropinu a následně pohlavních hormonů se využívá při léčbě poruch pohlavních orgánů, potlačení jeho tvorby zejména při léčbě nádorů prostaty. Analoga jsou velmi účinná, pro měsíční léčbu stačí přípravek se 4 mg látky. Podávají se v depotní formě dispergované v biodegradabilních kopolymerech kyseliny glykolové a mléčné. Kopolymer s oligopeptidem se implantuje pod kůži nebo do svalu ve formě válečku nebo se podává injekčně jako suspenze kuliček, popř. tekutá disperze, která při zchlazení ze 42°C na teplotu těla ztuhne. Kopolymer je v těle postupně odbouráván. Přitom se po dobu jednoho měsíce (u nových typů až čtvrt nebo polovinu roku) postupně uvolňuje účinná látka v koncentraci potřebné pro potlačení tvorby pohlavních hormonů. Peptidy 2. generace mají charakter antagonistů. Působí okamžitě, přechodné zvýšení tvorby gonadotropinu nevyvolávají. Ve své molekule mají zachovány jen 3-4 aminokyseliny původní molekuly gonadoliberinu. Jinak obsahují nepřírodné aminokyseliny, a to nejen D-enantiomery, ale i deriváty, u nichž byly zesíleny hydrofobní i jiné interakce s receptorem. Molekuly takových peptidů obsahují např. 2-naftyl-D-alanin, p-chlorfenyl-D-fenylalanin, 3-pyridyl-D-alanin, N<sup>c</sup>-isopropyllysin a j. Schváleny byly zatím dva – **abarelix** (Plenaxis) a na konci r. 2008 **degarelix**, několik dalších peptidických, ale i nepeptidových antagonistů je ve vývoji

| gonadoliberin: | 5-oxoPro | His       | Trp   | Ser | Tyr         | Gly        | Leu | Arg    | Pro | GlyNH <sub>2</sub>    |
|----------------|----------|-----------|-------|-----|-------------|------------|-----|--------|-----|-----------------------|
| buserelin:     | 5-oxoPro | His       | Trp   | Ser | Tyr         | D-Ser(tBu) | Leu | Arg    | Pro | NH <sub>2</sub>       |
| goserelin:     | 5-oxoPro | His       | Trp   | Ser | Tyr         | D-Ser(tBu) | Leu | Arg    | Pro | azaGlyNH <sub>2</sub> |
| leuprorelin:   | 5-oxoPro | His       | Trp   | Ser | Tyr         | D-Leu      | Leu | Arg    | Pro | NH <sub>2</sub>       |
| triptorelin:   | 5-oxoPro | His       | Trp   | Ser | Tyr         | D-Trp      | Leu | Arg    | Pro | GlyNH <sub>2</sub>    |
| abarelix       | Ac-D-Nal | pCl-D-Phe | D-Pal | Ser | N-Me-Tyr    | D-asp      | Leu | iPrLys | Pro | GlyNH <sub>2</sub>    |
| degarelix      | Ac-D-Nal | pCl-D-Phe | D-Pal | Ser | pDohpca-Phe | pCa-D-Phe  | Leu | iPrLys | Pro | AlaNH <sub>2</sub>    |

Ac-D-Nal = N-acetyl-β-naftyl-D-alanyl-, pCl-D-Phe = p-chlor-D-fenylalanyl-, D-Pal = 3-(pyridin-3-yl)-D-alanyl-, pDohpca-Phe = p-[(S)-(2,6-dioxohexahydropyrimidin-4-yl)-karbonylamino]-L-fenylalanyl-, p-Ca-D-Phe = p-(karbamoylamino)-D-fenylalanyl-

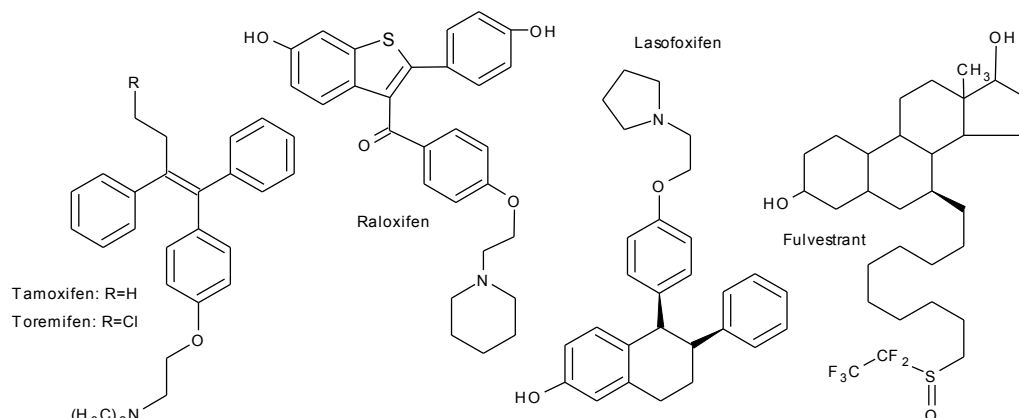
## L02B Antagonisté hormonů a příbuzné látky.

V endokrinní terapii dlouho dominovalo používání **antagonistů hormonů**, které mohou blokovat estrogenní nebo androgenní receptory, pak se k nim přiřadily i **inhibitory aromatasy**.

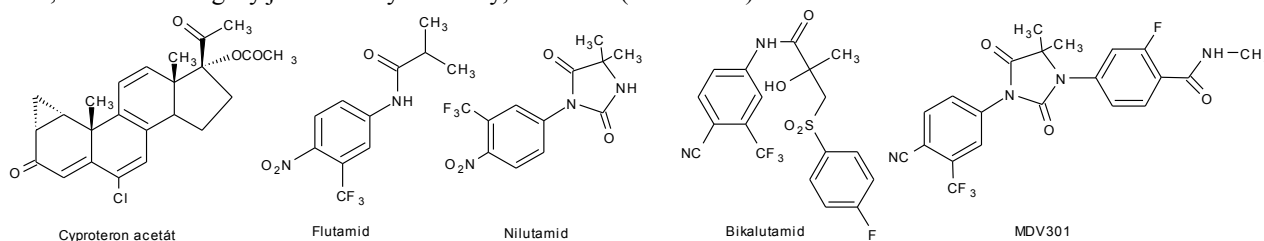
**Antiestrogeny** se používají při léčbě nádorů prsu už od 70. let 20. století. Největší uplatnění našel **tamoxifen** (viz případovou studii Tamoxifen), podobné antiestrogenní účinky má jeho chlorderivat **toremifen** (Fareston, Orien Pharma). Tyto látky se používají při tzv. adjuvantní terapii, tj. po operativním odstranění nádoru prsu k potlačení recidivy onemocnění. Používají se dlouhodobě, po dobu asi 5 let, delší podávání již není přínosné. Nedávno byl k adjuvantní terapii schválen steroidní antiestrogen **fulvestrant**. Zkoušky fulvestrantu byly rozsáhlé, avšak zkušenosti s jeho dlouhodobým podáváním zatím chybí.

Tamoxifen byl před několika lety dlouhodobě zkoušen při chemoprevenci vzniku nádorů prsu u rizikových skupin žen. Ukázalo se, že tamoxifen riziko vzniku nádorů prsu podstatně snižuje, současně však poněkud zvyšuje riziko onemocnění na nádory děložní sliznice, protože může aktivovat estrogenní receptory v pohlavních orgánech. Přínosy tamoxifenu ale výrazně převýšily nevýhody, takže jeho preventivní použití bylo povoleno FDA a později i EMEA. Současně byla hledána selektivnější léčiva.

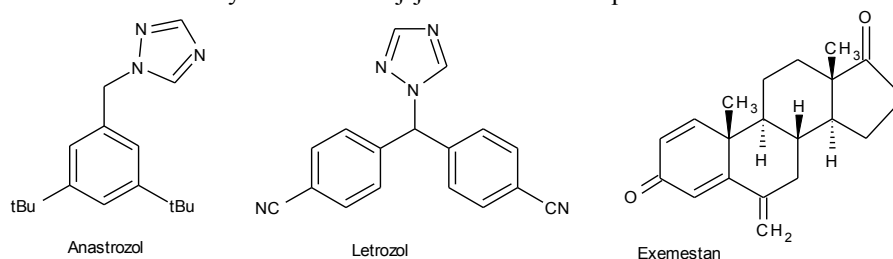
Jako prevence vzniku nádorů prsu byl zkoušen i lék proti osteoporóze **raloxifen** (Evista, Eli Lilly). Ten selektivně aktivuje estrogenní receptory v kostech, v tkáni prsu však působí jako antagonist estrogenu a na estrogenní receptory v ženských pohlavních orgánech vůbec nepůsobí. Nedávno se však zjistilo, že se při dlouhodobém podávání raloxifenu zvyšuje počet mozkových příhod s fatálními následky. Třetím, zatím však neschváleným léčivem s podobnými preventivními účinky je **lasofoxifen** (Oporia, Pfizer)



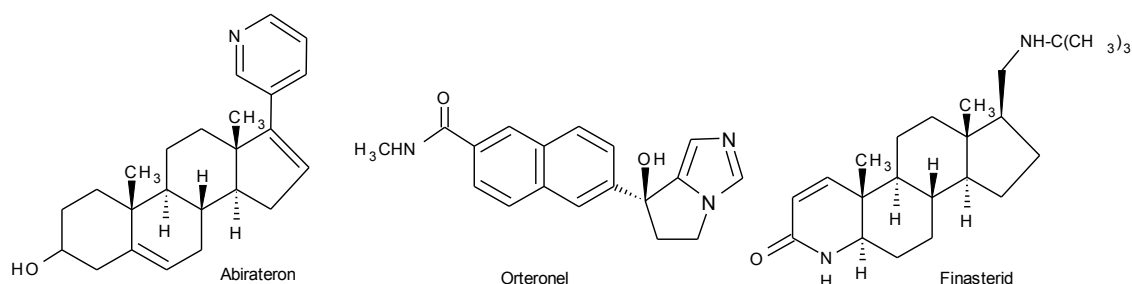
Podobný vliv, jako antiestrogeny na nádory prsu mají na nádory prostaty **antiandrogeny**, antagonisté receptorů pro mužské pohlavní hormony. Prvním byl, dnes již spíše zastaralý steroidní derivát **cyproteron acetát**. Nesteroidními antiandrogeny jsou léčiva odvozená od m-trifluormethylanilinu **flutamid**, **nilutamid** a nejnovější povolené léčivo této skupiny **bikalutamid**, další antiandrogeny jsou klinicky zkoušeny, MDV301 (Medivation) ve fázi III.



Růst hormonálně závislých nádorů lze potlačit i zabráněním vzniku hormonů. Kromě použití již zmíněných analogů gonadoliberinů toho lze dosáhnout inhibicí některých enzymů metabolismu steroidů. Vznik estrogenů lze zablokovat **inhibicí aromatasy**, enzymu z rodiny cytochromů, který katalyzuje oxidativní přeměnu androgenů spojenou s přeměnou charakteru kruhu A steroidního skeletu na aromatický. Nesteroidní inhibitory aromatasy **anastrozol** a **letrozol** a steroidní inhibitor **exemestan** blokují růst estrogenem stimulovaných nádorů účinněji než antiestrogen tamoxifen, nemají jeho vedlejší účinky, jsou však podstatně dražší a zatím chybí zkušenosti z jejich dlouhodobého podávání.



Blokádou enzymů účastnících se tvorby mužských pohlavních hormonů lze potlačit růst nádorů prostaty. Steroidní derivát **abirateron** blokuje tvorbu testosteronu inhibicí 17 $\alpha$ -hydroxylasy/17,20-lyasy, který stejně jako aromatasa patří do rodiny cytochromů (CYP17A1). Abirateron je podáván ve formě 3-acetylderivátu (Zytiga), který je profarmakem, v organismu dochází k jeho rozštěpení na účinný abirateron. Klinické zkoušky u pacientů s pokročilými nádory prostaty, které nereagují na antiandrogeny, byly natolik úspěšné, že etická komise rozhodla o jejich zastavení s tím, že abirateron bude podáván všem pacientům. V dubnu 2011 byl abirateron povolen FDA a následně EMA. Jak už bylo řečeno, mužské pohlavní hormony jsou prekursory ženských pohlavních hormonů. Abirateron je proto zkoušen i při potlačování růstu pokročilých nádorů prsu. Jiný inhibitor cytochromu CYP17A1, **orteronel** (TAK-700), který nemá steroidní charakter, ale je derivátem naftalenu, je klinicky zkoušen.





Enzym  $\alpha$ -reduktasu, která převádí testosteron na dihydrotestosteron, blokuje **finasterid**. Ten je primárně určen k léčbě problémů souvisejících se zvětšováním prostaty a také k potlačení plešatění, zkoušen ale byl také k prevenci vzniku nádorů prostaty. Přitom se ukázalo, že ve skupině pacientů, kterým byl podáván finasterid, se snížil výskyt nádorů prostaty o 25-30%. Vzniklo však i podezření, že finasterid zmenšuje již přítomné nádory, takže rakovina prostaty může pak být diagnostikována pozdě, až v pokročilejších stádiích. To sice bylo později vyvráceno, preventivní podávání finasteridu je však stále považováno za kontroverzní (podobně jako podávání tamoxifenu k prevenci nádorů prsu).

### Skupina L03: Imunostimulační látky

V důsledku mutací vzniká v těle mnoho nádorově pozměněných buněk, které však imunitní systém zdravého jedince dokáže rozpoznat a zlikvidovat. Nádorová onemocnění mohou být považována za selhání imunitní obrany organismu.

Protinádorová imunoterapie má za cíl rozpoznání nádorových buněk, aktivaci a stimulaci cytotoxických lymfocytů a dalších specifických buněk imunitního systému, aby mohly nádorové buňky účinněji likvidovat.

Důležitou skupinu imunostimulačních látek tvoří **cytokiny**. Jsou to malé regulační bílkoviny resp. glykoproteiny, jejichž funkce a interakce mají významnou roli při zánětlivých reakcích, astmatu, virových infekcích a také nádorových onemocněních. V současné době je známo na 200 cytokinů a jejich počet se neustále zvyšuje. Dělí se na **interleukiny**, **interferony**, **růstové faktory** a další typy cytokinů, toto dělení je však spíše historické. Zprvu byly připravovány izolací (např. interferon  $\alpha$  z leukocytů aktivovaných virem Sendai), dnes jsou vyráběny převážně biotechnologicky pomocí genově manipulovaných bakterií nebo kvasinek. Rekombinantní cytokiny získávané pomocí bakterií nejsou glykosylovány, k přípravě cytokinů obsahujících cukernou složku je třeba použít buňky vyšších organismů (nejdříve to byly leukocyty, nyní se většinou používají kvasinky). Některé cytokiny mohou mít několik podtypů, které se poněkud odlišují svojí strukturou, mají však stejné biologické účinky.

**Interferony** byly zprvu charakterizovány jako mediátory odezvy odpovědi organismu na infekci virem. Mají řadu podtypů, které se liší zastoupením aminokyselin v polypeptidickém řetězci. Objeveny byly v supernatantu tkáňové kultury buněk inkubovaných s tepelně inaktivovaným chřipkovým virem. Degradují virovou RNA a inhibují syntézu bílkovin potřebných k množení viru. Kromě toho aktivují i některé buňky imunitního systému (makrofágy a tzv. „přirozené zabijáče“), podílejí se na regulaci růstu a diferenciaci buněk a mají cytotoxický účinek na některé nádorové buňky. Izolovány byly 3 hlavní typy interferonů (někdy jsou rozeznávány 4 typy), které mají řadu podtypů. **Interferon  $\alpha$**  (IFN $\alpha$ ) je v organismu produkován leukocyty, používá se zejména při léčbě maligního melanomu a některých typů leukemií a lymfomů, mimo oblast onkologie se používá k léčbě žloutenky typu C. Pacientům s melanomem se aplikuje jako podkožní injekce nejprve 5 x a pak 3 x týdně. Výhodnější je „pegylovaný“ interferon  $\alpha$  (s navázaným polyethylenglykolem), který má prodloužený biologický poločas a může se proto aplikovat jen 1 x za týden. **Interferon  $\beta$**  je produkován fibroblasty a buňkami epitelu, má podobné indikace jako interferon  $\alpha$ , vedle toho se začal používat k léčbě roztroušené sklerózy. **Interferon  $\gamma$**  vzniká v lymfocytech, využívá se při léčbě chronické lymfocytární leukémie, Hodgkinovy nemoci s většími či menšími úspěchy byl zkoušen při léčbě různých solidních nádorů, jeho použití v onkologii je však jen okrajové.

**Interleukiny** jsou glykoproteiny produkované bílými krvinkami, jejichž úlohou je zajištění komunikace mezi leukocyty. Interleukinů je řada, mnohé z nich jsou protinádorově účinné a jsou proto předmětem intenzivního preklinického a klinického zkoušení. Praktické uplatnění našel zatím jen rekombinantní **interleukin 2**, rIL-2, aldesleukin (celmoleukin) tvořený 133 aminokyselinami. Mezi jeho účinky patří aktivace „přirozených zabíječských buněk“ (natural killer cells, NKC), které se tím stávají cytotoxické a mohou likvidovat nádorové buňky. Používá se k léčbě maligního melanomu a nádorů ledvin. Nedávno byla k léčbě relapsů akutní myeloidní leukémie povolena zajímavá kombinace histamin dihydrochloridu (Ceplene) s interleukinem 2 (histamin je mediátorem alergických reakcí, v kombinaci posiluje působení interleukinu v imunitním systému).

Z ostatních cytokinů stojí za zmínku především **tumory nekrotizující faktor**, TNF, který má významné funkce v regulaci obranných mechanismů organismu. Zprostředkuje zánětlivé reakce a zvyšuje tělesnou teplotu. Jedna z jeho forem, TNF $\alpha$ , kachektin, může vyvolávat apoptózu nádorových buněk. Účinkem TNF $\alpha$  bývá někdy vysvětlována spontánní regrese, samovolné vymizení nádoru. I když byly protinádorové účinky TNF $\alpha$  po řadu let intenzivně studovány, jeho využití v protinádorové terapii nepřekročilo experimentální rámeček. V některých případech sice bylo dosaženo pozoruhodných výsledků, na druhé straně se však ukázalo, že terapie není bez nebezpečí. TNF $\alpha$  je odpovědný za kachexii (ochablost organismu) spojenou s nádorovým onemocněním, je také mediátorem septického šoku, revmatické horečky a některých dalších autoimunitních a zánětlivých onemocnění. Pro jejich léčbu jsou dokonce připravovány látky, které TNF nebo jeho receptory blokují. Jejich použití je však kontroverzní, protože se zdá, že u léčených pacientů narůstá výskyt nádorových onemocnění.

**Kolonie stimulující faktory** (colony stimulating factors) jsou růstovými faktory kmenových buněk kostní dřeně. Indukují jejich diferenciaci, ovlivňují diferencované buňky v různých stádiích dozrávání, ale také některé regulační procesy organismu. Název dostaly, protože v tkáňových kulturách vyvolávají růst kolonií hematopoietických buněk. V protinádorové terapii se používají k potlačení neutropenie, nedostatku neutrofilů (nejčastěji zastoupeného typu bílých krvinek), který bývá nežádoucím účinkem chemoterapie. Pacienti s nedostatkem neutrofilů trpí zvýšenou náchylností k infekcím. Používán je **filgrastim**, rekombinantní faktor stimulující kolonie granulocytů, G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) resp. glykosylovaný G-CSF, **lenograstim** a faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů, GM-CSF – **molgramostim** nebo glykosylovaný GM-CSF **sargramostim** produkovaný geneticky upravenými kvasinkami. U pacientů léčených těmito růstovými faktory se však poněkud zvyšuje riziko onemocnění akutní myeloidní leukémií (AML) a myelodysplastickým syndromem.

Mezi růstové faktory patří i **epoetiny**, erythropoietiny, glykoproteiny produkované v ledvinách, které řídí tvorbu červených krvinek. **Epoetiny** jsou zařazeny do ATC skupiny B03 Antianemika, používají se ale i v onkologii jako podpůrný prostředek k obnovení růstu červených krvinek. To je sice přínosem, protože se však množí údaje o zrychlení růstu nádorů a o zvýšeném počtu úmrtí pacientů s nádory prsu a děložního čípku po podání epoetinů bylo v r. 2008 doporučeno, aby používání epoetinů v onkologii bylo omezeno. V terapii se používá **epoetin  $\alpha$** , popř. stabilnější **darbepoetin  $\alpha$**  a **epoetin  $\beta$**  navázaný na  $\omega$ -methoxy polyethylenglykol. Podobně jako u jiných růstových faktorů je jejich použití kontroverzní.

Vedle jednotlivých cytokinů se v terapii nádorů hlavy a krku zkouší (fáze III) **směs cytokinů** Multikine obsahující IL-1, IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  a GM-CSF v definovaném složení a vzájemných poměrech.

Při imunoterapii nádorových onemocnění se používají také některé **nespecificky působící imunostimulanty**. Patří mezi ně lyzáty některých inaktivovaných bakterií i některé oslabené bakterie, purifikované bílkovinné a peptidické extrakty živočišných tkání a některé definované nízkomolekulární látky.

K imunoterapii nádorů močového měchýře, popř. kolorektálního karcinomu, se používá vakcína **BCG**, *Bacillus Calmette-Guerin*, oslabené bakterie *Mycobacterium bovis*, původně určené k vakcinaci proti TBC. Vakcína BCG přitom vyvolává terapeutickou odezvu až u dvou třetin pacientů s nádorem močového měchýře. Několik vyvíjených protinádorových vakcín využívá BCG jako adjuvans, látku zvyšující účinek vakcíny. Nově byl povolen podobný přípravek **urocidin**, lyzáty bakterie *Mycobacterium phlei* obsahující komplex DNA a součástí stěn bakteriálních buněk. Vedle lyzáty bakterií jsou jako imunomodulátory studovány (mimo jiné i na ÚOChB AV ČR) **muramylpeptidy**, izolované glykopeptidy bakteriálních stěn. Nejdále je studium **mifamurtidu**, muramyltripeptid-fosfatidylethanolaminu (přípravek Junovan). Příbuzný syntetický **adamantylidipeptid** byl vyvinut na Farmakologickém ústavu AV ČR, do praxe se však nedostal.

Několik pracovišť v ČR se v minulosti zabývalo jiným nespecificky působícím imunologickým přípravkem tzv. **transfer faktorem**. Jeho použití vycházelo z předpokladu, že bílé krvinky dárců, jejichž imunitní systém se dokázal vypořádat s nádorem, mohou podpořit imunitní obranu nemocných. Podání leukocytů by však mohlo být nebezpečné, proto byly připravovány bezbuněčné dialyzované extrakty bílých krvinek resp. jejich účinná složka. Dialyzovaný extrakt leukocytů vyrábí v ČR Sevařina, a.s. Praha, pod názvem Immodin. Předepisován může být při vážných poruchách imunity. V onkologii je považován za zastaralý, používán může být nanejvýš jako podpůrný přípravek.

Syntetickým imunomodulátorem je **imikvimod**, 7-isobutylderivát benzo-1-deazaadeninu, který byl ve formě masti (Aldara) povolen v r. 2007 pro léčbu kožních a některých jiných povrchových nádorů. Přesný mechanismus jeho účinku není znám. Ví se však, že aktivuje buňky imunitního systému, některé z těchto buněk pak produkují cytokiny (INF $\alpha$ , IL6, TNF $\alpha$ ). Imunomodulační účinky mají i substituované N-dioxopiperazinylftalimidy **thalidomid**, **lenalidomid** a **pomalidomid**, které budou zmíněny mezi inhibitory angiogeneze (Farm11).

Problémem řady nespecifických imunostimulantů je, že při klinických zkouškách lze jen obtížně prokázat jejich jasný terapeutický přínos. Mohou sice působit příznivě na řadu onemocnění, ale jejich přínosy ve srovnání s placebem bývají statisticky málo významné. To pak uzavírá cestu k schválení jejich použití jako léčiva. Pokud nemusí být podávány injekčně a jsou i jinak bezpečné, dostávají se často na trh nikoliv jako léčivo, ale jen jako tzv. doplněk stravy.

Informace o dalších imunologických přípravcích, **protinádorových protilátkách a vakcínách**, budou uvedeny v souvislosti s perspektivami protinádorové terapie (Farm12).

## Kontrolní otázky pro zopakování

1. Jaké jsou hlavní skupiny protinádorových léčiv? Uveďte příklady léčiv z každé skupiny.
2. Co je cílovou strukturou alkylačních cytostatik a jaký je mechanismus jejich účinku?
3. Jaké skupiny antimetabolitů se používají v protinádorové terapii?
4. Jak působí methotrexát a podobné antifoláty?
5. Které přírodní látky se uplatňují v protinádorové terapii a jakými mechanismy působí?
6. Jaká je úloha topoisomeras a která léčiva je inhibují?
7. Co jsou interkalační látky, jaký charakter musí mít jejich molekuly a které látky mezi ně patří?
8. Jaký je mechanismus účinku platinových cytostatik?

9. Co je tubulin, jakou úlohu má při dělení buněk, která léčiva jej ovlivňují a jak?
10. Jaká je úloha vitaminů a jejich analog v protinádorové terapii?
11. Na čem je založena tzv. hormonální terapie nádorových onemocnění?
12. Proč se v protinádorové terapii používají antagonisté hormonů?
13. Které jiné typy léčiv se vedle antagonistů pohlavních hormonů používají v hormonální protinádorové terapii a jaký je mechanismus jejich účinku?
14. Jak působí imunostimulující látky, jaké se používají v onkologii a proč?
15. Jaká je úloha cytokinů v protinádorové terapii a které cytokiny se přitom používají?