

Antybiotyki przeciwnowotworowe

Henryk Myszka

Zakład Chemii Cukrów, Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański,
ul. Sobieskiego 18, 80-952 Gdańsk

W 1877 roku Ludwik Pasteur odkrył, że niektóre pleśnie mogą wytwarzać substancje toksyczne zabijające bakterie. Niestety, związki te były również toksyczne dla ludzi i nie znalazły zastosowania terapeutycznego. Jednak te badania zwróciły uwagę na pleśnie jako potencjalne źródło związków przeciwbakteryjnych. W tym czasie, w Niemczech prace badawcze w dziedzinie bakteriologii i immunologii prowadził współpracownik Roberta Kocha, Paul Ehrlich, który odkrył pierwszy chemioterapeutyk (*salvarsan*) zastosowany do leczenia kiły i wprowadził do medycyny pojęcie *chemioterapia*. Natomiast, w Anglii, w 1928 roku Alexander Fleming pracując nad wirusem grypy zauważył, że kultury bakterii pozostawione przez kilka tygodni, zostały zainfekowane przez kolonię grzybów. Interesującym był fakt, że wokół kolonii grzybów zginęły kolonie bakterii. Fleming zidentyfikował grzyb i wykazał, iż jest to stosunkowo rzadki gatunek *Penicillium*. Uczony ten spędził wiele lat na badaniu nowej substancji przeciwbakteryjnej - penicyliny, wykazał jej pożyteczne właściwości oraz godną uwagi małą toksyczność u ludzi. Niestety, ta substancja była nietrwała, Fleming nie był w stanie jej wyizolować i oczyścić. Dopiero w 1941 roku Ernst Chain i Howard Florey przeprowadzili pierwsze badania kliniczne surowego wyciągu penicyliny, a w 1944 roku wyprodukowano go już wystarczająco dużo, by leczyć poszkodowanych w czasie bitwy w Normandii. Pracę tych trzech uczonych uhonorowano w 1945 roku Nagrodą Nobla. Kolejny nurt badań, a wkrótce także wielkich odkryć, związany był z osobą Selmana Waksmana, pracującego w USA. Waksman wprowadził do nauki termin *antybiotyk*, jest odkrywcą kilku antybiotyków, w tym m.in. aktynomycyny, streptomycyny i neomycyny, które zostały odkryte w latach 40-tych XX w.

Antybiotyki to substancje wytwarzane przez mikroorganizmy, głównie przez promienowce, grzyby, bakterie i porosty, mające zdolność hamowania wzrostu lub niszczenia mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych. W dzisiejszych czasach termin ten obejmuje również półsyntetyczne pochodne, jak również całkowicie syntetyczne związki naśladujące działanie antybiotyków naturalnych.

Pod względem chemicznym antybiotyki stanowią grupę mocno zróżnicowaną i czasami trudno jest dany związek zaliczyć do określonej klasy. Jedną z takich grup stanowią antybiotyki przeciwnowotworowe.

Nazwa nowotwór używana jest do określania nowotworów niezłośliwych, jak i nowotworów złośliwych, których cechą wspólną jest zdolność do nowotworzenia tkanki. Taka utworzona *de novo* tkanka żywego, ukształtowanego organizmu zdołała wyłamać się spod kontroli rozmaitych mechanizmów regulujących jego funkcje. Nowotwór na ogół tworzy się na bazie tkanki już istniejącej i jego najważniejszą cechą jest niepohamowane rozrastanie się. Potem wykracza poza granice tkanki niejednokrotnie deformując narząd i upośledzając jego czynność. Niektóre komórki nowotworu mogą odrywać się od głównej jego masy i drogą krwionośną lub limfatyczną wędrują do innej tkanki (narządu), „zakotwiczyć się” tam i nadal dzieląc się tworzą ognisko przerzutowe.

Komórki zdrowe namnażają się (proliferują) tylko wtedy, gdy dostaną sygnał od innych komórek z sąsiedztwa. Dzięki takiemu współdziałaniu każda tkanka otrzymuje właściwe rozmiary i odpowiednią budowę. Komórki nowotworowe wyłamują się z tego schematu, ignorują systemy kontrolne proliferacji realizując swój własny program reprodukcji.

Zjawisko nowotworzenia ma ścisły związek z genetyką. Nowotwory pojawiają się w wyniku mutacji, błędów genetycznych zachodzących w komórkach zdrowej tkanki. Jednak

mutacje genetyczne nie są wystarczające do powstania klinicznie istotnego nowotworu. Przyпуска się, że w zdrowym organizmie stale pojawiają się zmutowane komórki, które dzieląc się tworzą klon nowotworowy, ale nie zawsze osiąga on stadium rozwoju stanowiące zagrożenie dla zdrowego organizmu. Nośnikiem genów są cząsteczki chromosomalnego DNA w jądrze komórkowym. Mutacje w genie zaburzają ten proces. Dwie klasy genów odgrywają główną rolę w zapoczątkowaniu nowotworu, są to *protoonkogeny* stymulujące wzrost i *geny supresorowe*, które go hamują. Gdy *protoonkogeny* ulegną mutacji to stają się rakotwórczymi (kancerogennymi) *onkogenami* i napędzają nadmierne namnażanie się komórek. Z kolei *geny supresorowe* przyczyniają się do nowotworzenia, wówczas, gdy na skutek mutacji zostaną zdezaktywowane.

Organizm człowieka jest wyposażony w pewne systemy zabezpieczające przed niekontrolowanymi podziałami. Jeden z takich systemów, obecny w każdej ludzkiej komórce, skłania ją do popełnienia samobójstwa – wejścia w apoptozę, w przypadku rozregulowania systemów kontrolnych lub uszkodzenia podstawowych komponentów. Obecnie naukowcy uświadomili sobie, że zdolność do unikania apoptozy naraża pacjentów nie tylko na niebezpieczeństwo rozrostu nowotworu, ale i na to, że stanie się on oporny na leczenie. Drugi mechanizm zabezpieczający komórki przed niekontrolowanymi podziałami, a odmienny od programu apoptozy, polega na zliczaniu i ograniczaniu liczby wszystkich podziałów, które komórka przechodzi w ciągu swojego życia. O liczbie podziałów komórkowych decydują segmenty DNA na końcu chromosomów, zwane *telomerami*. Jeżeli w komórkach nowotworowych telomerowy system liczenia podziałów funkcjonuje prawidłowo, to ich namnażanie się zostaje wstrzymane zanim guz osiągnie duże rozmiary.

Metody leczenia nowotworów:

- zabieg chirurgiczny – usunięcie guza lub chorej tkanki;
- radioterapia – niszczenie komórek nowotworowych przez napromieniowanie;
- terapie biologiczne – m.in. immunoterapia mająca na celu skierowanie sił układu odpornościowego organizmu na walkę z nowotworem;
- blokowanie lub wspomaganie działania hormonów – hormony wpływają na szybkość wzrostu nowotworu, tempo podziałów i obumierania komórek rakowych;
- przeszczepianie szpiku – zazwyczaj nie jest to zasadnicza metoda leczenia, lecz stosuje się ją w celu wzmocnienia układu krwiotwórczego pacjenta osłabionego wysokimi dawkami promieniowania lub leków chemioterapeutycznych.
- chemioterapia – leczenie za pomocą związków chemicznych zabijających komórki nowotworowe.

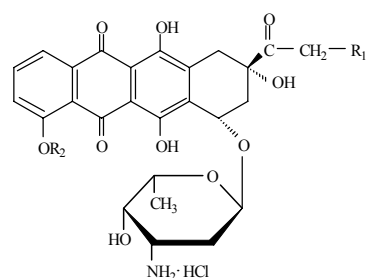
Poszczególne kategorie leków przeciwnowotworowych (cytostatyków) działają w odmienny sposób, najczęściej zakłócają zdolności podziału i mnożenia się komórek nowotworowych. Komórki poddane działaniu leków najpierw ulegają uszkodzeniu, a potem giną. Często używa się łącznie kilku leków (tzw. *terapia wielolekowa*), ponieważ istnieje większe prawdopodobieństwo, że nowotwór nie zdoła się obronić przed kilkoma czynnikami atakującymi go na różne sposoby. Cytostatyki przenoszone są przez krew i dzięki temu mogą dotrzeć do komórek nowotworowych w obrębie całego organizmu. W przypadku stosowania terapii wielolekowej należy uwzględnić specyficzny sposób oddziaływania każdego związku na komórki nowotworowe.

Wprowadzony do organizmu środek antynowotworowy, zanim dotrze do miejsca działania napotyka na swojej drodze wiele barier, np. błony biologiczne, które chronią komórki oraz zbudowane z nich tkanki i narządy. Proces przenikania leku zależy nie tylko od budowy błony biologicznej, ale ma też na niego wpływ konfiguracja przestrzenna leku, jego właściwości fizykochemiczne i związana z tym jego rozpuszczalność w lipidach, wiązanie się z białkami i innymi substancjami wielkocząsteczkowymi w płynach ustrojowych. Idealnym

lekiem byłby preparat, który po wprowadzeniu do organizmu wybiórczo zniszczył komórki nowotworowe, nie działając szkodliwie na leczony organizm. Selektywność działania jest zatem podstawowym kryterium wartości i przydatności leków w terapii antynowotworowej. Najczęściej cytostatyczne działanie chemioterapeutyków skierowane jest równocześnie przeciw komórkom nowotworowym i komórkom zdrowym. Wynikiem tego jest uszkodzenie zdrowych komórek układu krwiotwórczego i błon śluzowych, uszkodzeniu ulega skóra, włosy, szpik kostny. Ponieważ w chemioterapii chorób nowotworowych stosuje się leki cytostatyczne, często o dużej toksyczności to celowe i konieczne są poszukiwania nowych, skuteczniejszych leków, które będzie cechowała niższa toksyczność wobec komórek zdrowych. Penetracja leków do wnętrza komórki nowotworowej ma kluczowe znaczenie dla ich efektywnego działania a związki ułatwiające wnikanie cytostatyków do komórek rakowych mogą odgrywać istotną rolę w terapii nowotworów. Umożliwiają one podwyższenie efektywnego stężenia leków wewnątrz komórek nowotworowych poprzez zmiany w ich ścianie komórkowej. Komórki zdrowe, w odróżnieniu od komórek nowotworu, szybko się regenerują, dlatego zwykle ich uszkodzenia są okresowe i większość skutków ubocznych znika po zakończeniu leczenia.

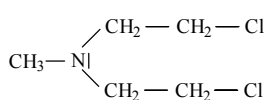
Mechanizm działania leków przeciwnowotworowych jest bardzo różnorodny. Należy wymienić tu m.in. zakłócanie transkrypcji i replikacji kwasów nukleinowych, działania zaburzające syntezę białek, syntezę ściany komórkowej, działanie na strukturę błon komórkowych.

Leki działające na kwas dezoksyrybonukleinowy (DNA) można podzielić na trzy grupy: cytostatyczne interkalatory, czynniki alkilujące i „przecinacze” łańcucha. Interkalatory są związkami zdolnymi do wślizgnięcia się między warstwy par zasad kwasów nukleinowych i rozerwania podwójnej helisy. To rozerwanie zapobiega replikacji i transkrypcji. Takimi cytostatykami są glikozydy antracyklinowe daunorubicyna i adriamycyna, stosowane w leczeniu ostrej białaczki szpikowej, ostrej białaczki limfoblastycznej a także w leczeniu raka sutka, jajnika, pęcherza moczowego, tarczycy czy też ziarnicy złośliwej.

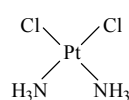


daunorubicyna $R_1 = H, R_2 = CH_3$
adriamycyna $R_1 = OH, R_2 = CH_3$

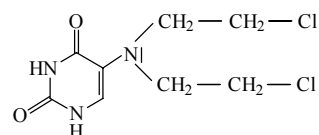
Czynniki alkilujące mają charakter elektrofilowy i mogą reagować z nukleofilami tworząc silne wiązania kowalencyjne. DNA zawiera wiele grup nukleofilowych, jest nim np. atom azotu w cząsteczce guanidyny. Leki z grupami alkilującymi mogą reagować z takimi nukleofilami na obu niciach helisy i wiązać je krzyżowo w taki sposób, że nie mogą się rozpleść w czasie replikacji lub transkrypcji. Przykładem tego typu cytostatyku jest chlormetyna, cisplatyna czy też iperyt uracylowy.



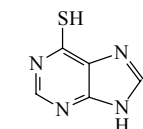
chlormetyna (nitrogranulogen)



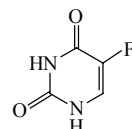
cisplatyna



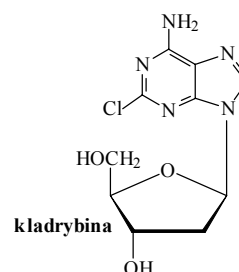
iperyt uracylowy



6-merkaptopuryna



5-fluorouracyl



kladrybina

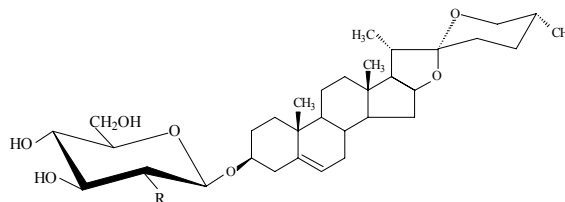
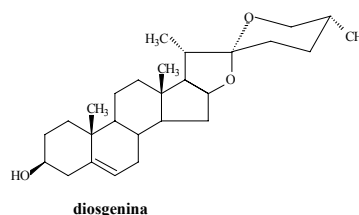
Te leki stosowane są m.in. w leczeniu chronicznej leukemii limfatycznej oraz w leczeniu nowotworów jąder i jajników. Z kolei do grupy leków działających przez „cięcie” łańcucha DNA należy m.in. bleomycyna.

Oprócz wymienionych kilku rodzajów medykamentów dużą grupę stanowią antymetabolity, czyli leki zaburzające metabolizm komórki. Należy wymienić tu: 6-merkaptopurynę – stosowaną w leczeniu białaczki, 5-fluorouracyl – użyteczny w zwalczaniu nowotworów skóry, czy też kladrybinę (2-chlorodeoksyadenozyna) – wykorzystywana w terapii białaczki włochatokomórkowej.

Duże znaczenie w zwalczaniu nowotworów odgrywają również środki pochodzenia roślinnego. Jednak z przebadanych substancji czynnych zawartych w roślinach aktywność cytostatyczną wykazuje stosunkowo niewielka ich liczba, wśród nich są m.in. alkaloidy barwinka: winkrystyna i winblastyna.

Także połączenia chemiczne diosgeniny z różnorodnymi cukrami – zaliczane do grupy związków zwanych saponinami – są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie. Występują w kłączach roślin gatunku *Dioscorea* oraz liściach i łodygach roślin liliowatych. Część hydrofobową tych połączeń stanowi steroidowy aglikon – diosgenina, a fragment hydrofilowy – połączony wiązaniem *O*-glikozydowym z diosgeniną – składa się zwykle z jednej lub kilku jednostek cukrowych (najczęściej są nimi reszty D-glukozy i L-ramnozy). Suche zioła lub ekstrakty ziołowe zawierające m. in. mieszaninę glikozydów diosgenyłu bywają stosowane w medycynie ludowej jako leki przeciw malarii, ukąszeniom węży i owadów oraz jako preparaty ułatwiające gojenie się ran. Niektóre z tych glikozydów hamują proces osadzania się lipidów w ścianie aorty, wykazując działanie przeciwmiażdżycowe, przeciwgrzybicze i przeciwbakteryjne, wykazują też aktywność adjuwantową. Stwierdzono też przydatność tej grupy glikozydów w zwalczaniu komórek nowotworowych. Jednakże mechanizm działania glikozydów diosgenyłu na komórki nowotworowe jest słabo poznany, a skąpe doniesienia literaturowe sugerują, że może on być zbliżony do tego jaki ma miejsce podczas terapii antybiotykami antracyklinowymi.

Projektowanie, synteza i badanie właściwości antynowotworowych oraz próby znalezienia reguł opisujących zależność czynności glikozydów diosgenyłu od ich budowy są od kilku lat przedmiotem mojego zainteresowania. W związku z tym podejmowane są próby ich syntezy w laboratorium chemicznym. Metody syntezy, podobnie jak i sposoby wyodrębniania z materiału roślinnego, są zwykle wieloetapowe i wymagają stosowania specjalistycznej aparatury. Z drugiej strony resynteza daje potencjalne możliwości uzyskania analogów nie występujących naturalnie i nierzadko wykazujących zwiększoną aktywność farmakologiczną. Ponadto metodami chemicznymi można zmodyfikować cząsteczkę glikozydu, na przykład przez wprowadzenie nowych grup funkcyjnych. Tego rodzaju modyfikacje stwarzają potencjalne możliwości uzyskania wielu nowych leków, często o korzystniejszych właściwościach terapeutycznych w porównaniu do substancji macierzystych. Zwykle większe możliwości modyfikacji istnieją w części cukrowej niż w aglikonie, szczególnie w przypadku gdy fragment sacharydowy zawiera grupy aminowe.



HM-9 R= NH₂·HCl

HM-10 R= $\begin{array}{c} \text{N-H} \\ | \\ \text{C=O} \\ | \\ \text{H-N-} \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$

Przykładem tego typu saponin są otrzymane przez nas dwa nowe *O*-glikozydy, mianowicie chlorowoderek O^3 -(2-amino-2-deoksy- β -D-glukopiranozylo)diosgeniny (HM-9) i O^3 -(2-deoksy-2-fenyloureido- β -D-glukopiranozylo)diosgenina (HM-10), w których diosgenina jest połączona z resztą D-glukozaminy. Zsyntezowane pochodne diosgeniny wykorzystaliśmy do przeprowadzenia wstępnych badań biologicznych mających na celu określenie ich samodzielnego wpływu oraz w połączeniu każdego z nich z kładrybiną na indukowanie apoptozy i nekrozy w komórkach nowotworowych pochodzących od chorych na przewlekłą białaczkę limfatyczną B-komórkową (PBL-B). Do badań biologicznych została pobrana krew obwodowa pochodząca od pacjentów chorych na PBL-B z progresywną lub objawową postacią choroby.

Przeprowadzone badania biologiczne dowiodły, że te glikozydy indukują apoptozę i nekrozę w komórkach nowotworowych. Stwierdziliśmy również, że wymienione związki w połączeniu z kładrybiną, powodują zwiększenie liczby komórek nekrotycznych co może wskazywać na wspomagającą rolę syntetycznych pochodnych diosgeniny w cytotoksycznym działaniu na limfocyty nowotworowe. Synteza i działanie biologiczne HM-9 i HM-10 są przedmiotem dwóch naszych zgłoszeń patentowych.

Wszystkie glikozydy diosgenyłu otrzymywane są w Zakładzie Chemii Cukrów na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego a badania farmakologiczne wykonywane są w Centrum Mikrobiologii i Wirusologii Polskiej Akademii Nauk w Łodzi.

Wskaźniki wyleczeń cytostatykami są różne. W zależności od typu nowotworu można wyleczyć większość chorych, bądź tylko nielicznych. W przypadku niektórych nowotworów wyleczenie jest mało prawdopodobne i wówczas chemoterapię stosuje się, aby zmniejszyć guz nowotworu, przedłużyć życie oraz złagodzić dolegliwości.

LITERATURA:

1. Z. Markiewicz, Z. A. Kwiatkowski, *Bakterie, antybiotyki, lekooporność*, PWN, Warszawa 2001.
2. G. Patrick, *Chemia medyczna. Podstawowe zagadnienia*, WNT, Warszawa 2003.
3. R. A. Weinberg, *Jak powstaje rak*, Świat Nauki, Listopad 1996.
4. Z. Smiatacz, H. Myszką, W. Kaca, A. Zaborowski, *Zgłoszenia patentowe A1 (21)323801 i A1 (21) 323802* (1997).
5. D. Bednarczyk, W. Kaca, H. Myszką, L. Serwecińska, Z. Smiatacz, A. Zaborowski, *Carbohydr. Res.*, **328** (2000) 249-252.
6. H. Myszką, D. Bednarczyk, M. Najder, W. Kaca, *Carbohydr. Res.*, **328** (2003) 133-141.
7. B. Ernst, G. W. Hart, P. Sinaÿ, *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Wiley-VCH, Weinheim 2000.