

Czy polifenolowe pochodne stilbenu są nową  
nadzieją w walce z nowotworami?



**Combretum caffer, Combretaceae - wierzba afrykańska**

*Szkoła Chemii Medycznej, 17-18.10.2013  
Wydział Farmaceutyczny, Wrocław*



# Judah Folkman.

(Image courtesy of Jon Chase/Harvard News Office.)

Już w 1971 roku Folkman wysunął hipotezę, że wzrost i progresja nowotworów litych jest uzależnione od powstawania nowych naczyń. Dopiero jednak od lat 90. badania dotyczące angiogenezy nowotworowej prowadzone są na dużą skalę w wielu ośrodkach.

Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* **1971**; 285: 1183-.

Angiogeneza (neowaskularyzacja) jest wieloetapowym procesem, który prowadzi do powstania nowych naczyń krwionośnych z istniejących naczyń gospodarza.

Towarzyszy ona zarówno zjawiskom fizjologicznym, jak i patologicznym.

W dorosłym organizmie ludzkim proces ten występuje tylko w kilku stanach fizjologicznych, a mianowicie:

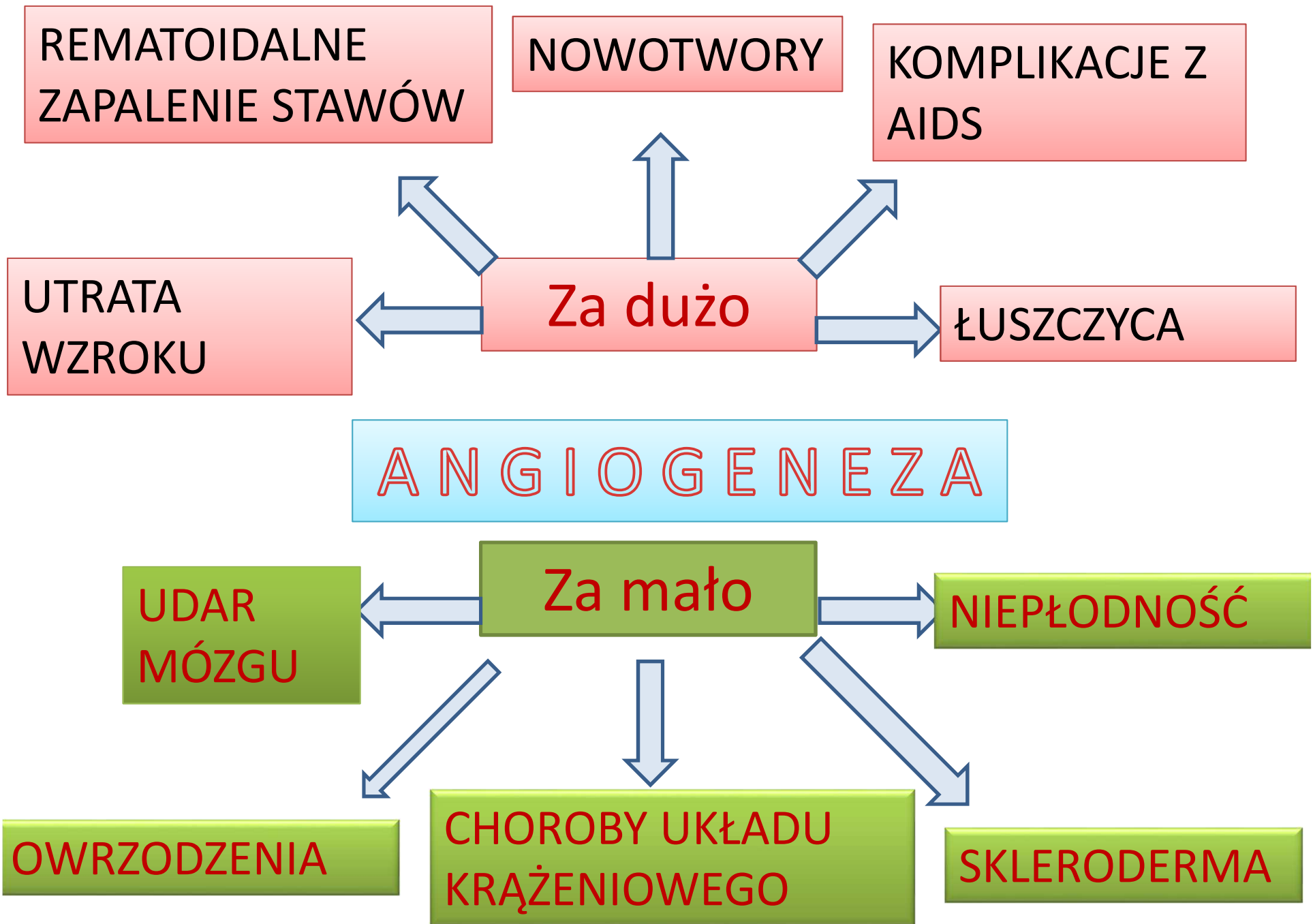
- gojenie ran i przywrócenie przepływu krwi do tkanek po urazie,
- u kobiet podczas miesięcznego cyklu reprodukcyjnego przy rozwoju endometrium,
- u kobiet podczas ciąży przy budowie łożyska .

W stanach patologicznych **nadmierna** neowaskularyzacja jest obecna w:

- w stanach zapalnych (m.in.: łuszczyca, choroby autoimmunologiczne, retinopatia cukrzycowa)
- oraz nowotworach, gdzie okazała się procesem niezbędnym dla wzrostu guza i powstawania przerzutów.

**Nieskuteczna angiogeneza jest** przyczyną takich chorób jak zawał serca czy udar mózgu. Zakłada się, że zaburzenia tego procesu mogą dotyczyć ponad 1 mld ludzi na całym świecie, a leki wpływające na proces angiogenezy mogą odegrać taką samą rolę w XXI wieku, jaką miały antybiotyki w XX wieku II]

W stanach patologicznych nadmierna neowaskularyzacja została opisana w zapaleniach (m.in.: łuszczyca, choroby autoimmunologiczne, retinopatia cukrzycowa) oraz nowotworach, gdzie okazała się procesem niezbędnym dla wzrostu guza i powstawania przerzutów.

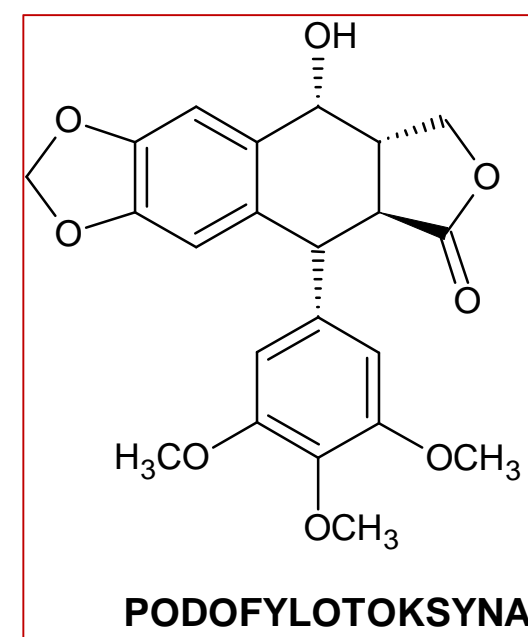
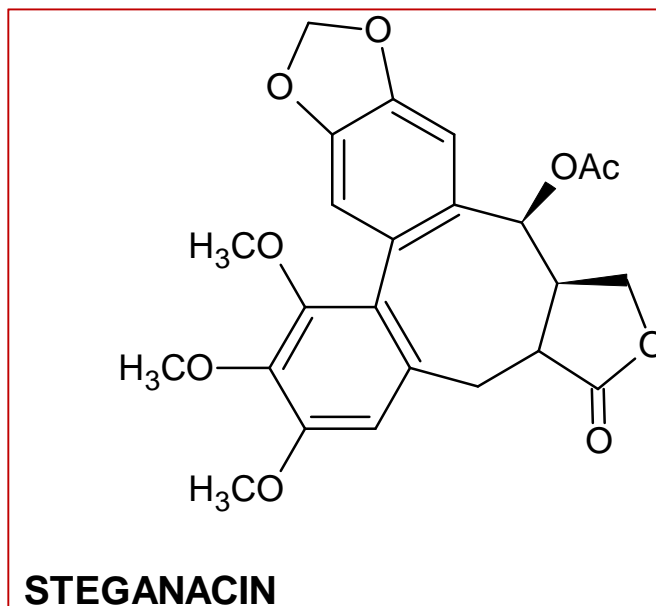
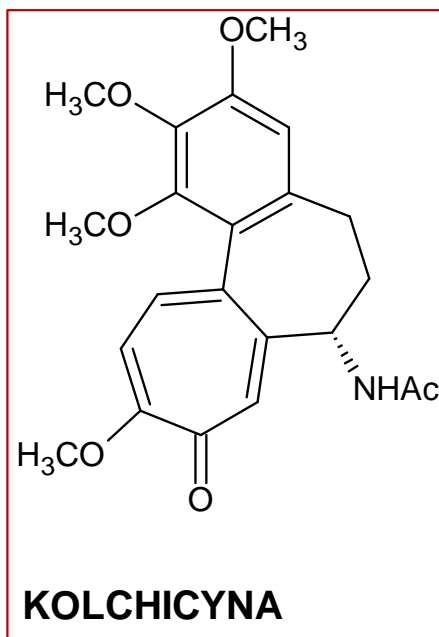
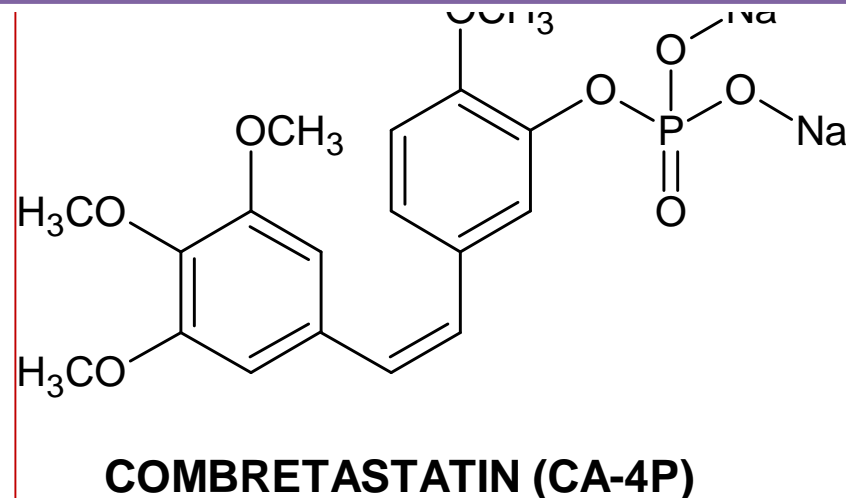
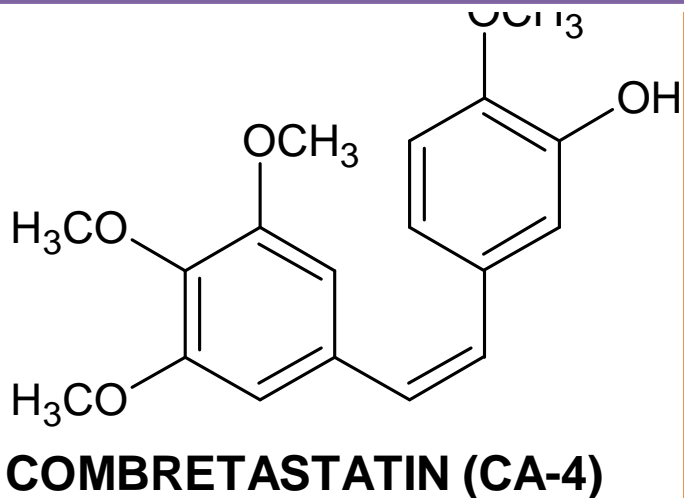


## Neowaskularyzacja:

- w organizmie zdrowym prowadzi zawsze do wytworzenia w pełni sprawnych nowych naczyń krwionośnych.
- W sytuacji gdzie brak równowagi między stężeniami poszczególnych czynników kontrolujących neowaskularyzację przyczynia się do powstania nieprawidłowych struktur naczyniowych, które przydatne są do dalszego rozwoju nowotworu, np.: zaburzenia przepływu krwi utrudniają penetrację chemioterapeutyków, a zmieniona architektonika ściany naczyń ułatwia wędrówkę komórek nowotworowych do krwiobiegu.

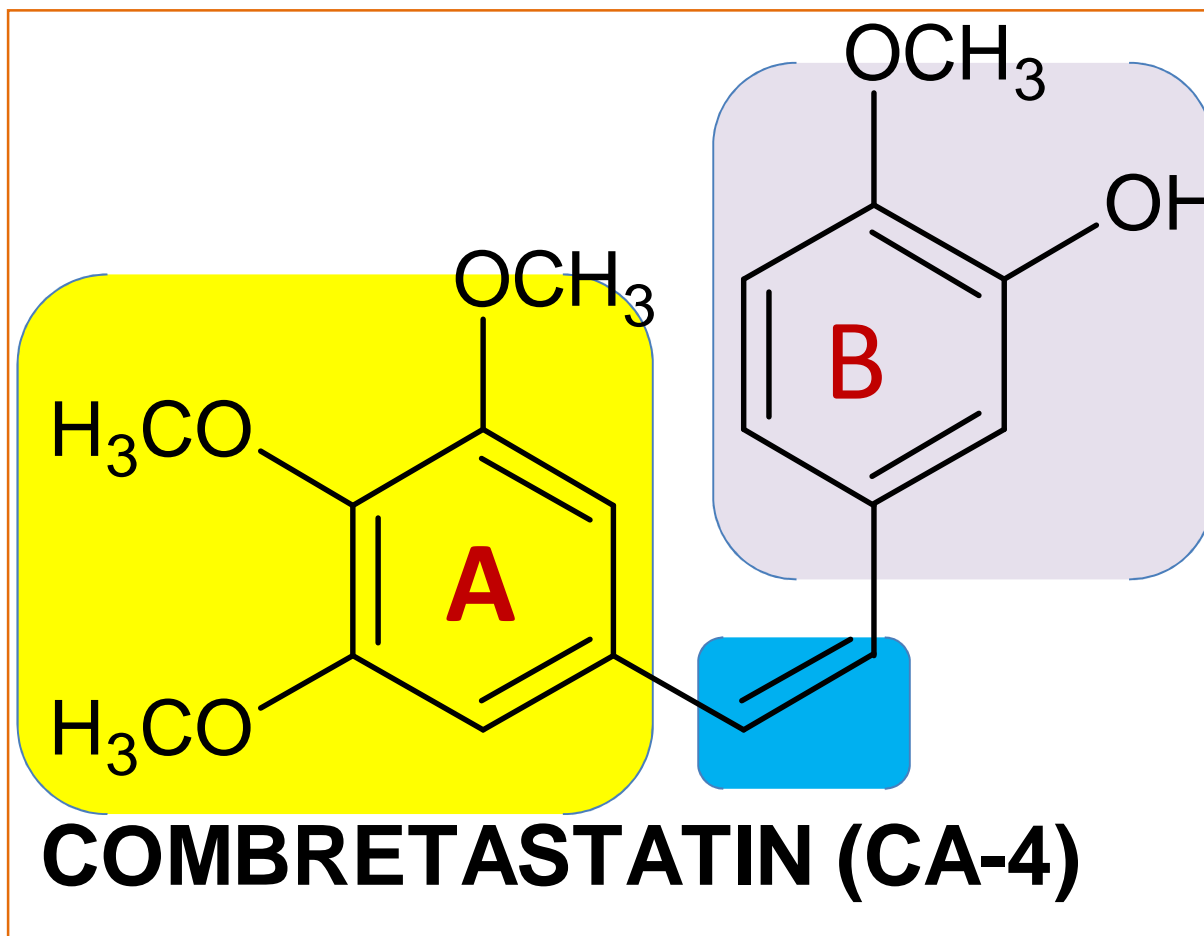


# PREPARATY WYKAZUJĄCE BARDZO WYSOKĄ AKTYWNOŚĆ PRZECIWI ANGIOGENEZIE W KOMÓRKACH NOWOTWOROWYCH



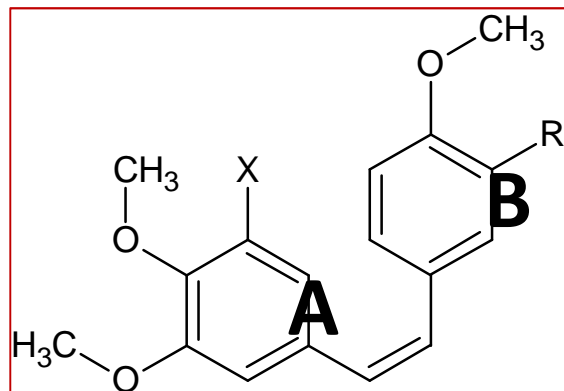
## Badania kliniczne dla obiecujących preparatów przeciw angiogenezie nowotworów

środek lecz.	firma	typ związku	poziom realizacji	informacje dodatkowe
CA – 4, CA – 4P Zybrex at	OxiGene	kombretastatyna	faza I/II	Związki pojedyncze CA-4 i CA-4P – badania zakończone, obecnie prowadzi się badania w kombinacji z chemio radiotherapeutykami
ZD6126	Astra Zeneca	Analog kolchicyny	faza I/II	Badania pomyślnie zakończone dla ZD6126
AVE-8062	Aventis	Synt. pochodna CA-4	faza I/II	-----
ABT751	Abbot	$\beta$ -tubulin inhibitor	faza I/II	Początek badań
TZT-1027	Daiichi	Synt. pochod. dolastyny	faza I	-----
TRISEOX	Cell Therapeutics	Tritlenek arsenu	Rekomend. przeciw ostr. Biał. e	Badania arszeniku pozytywnie skompletowano . Trwają próby z innymi specyfikami
AS1404	Antisoma	Poch. kw. flawonoidowy	Faza II	Badania AS1404 pozytywnie skompletowano . Trwają próby z innymi specyfikami przeciwnowotworowymi



**ZWIĄZEK WIODĄCY**

# Wpływ zmiany podstawników w pierścieniu fenylowym **A** na aktywność antymitotyczną

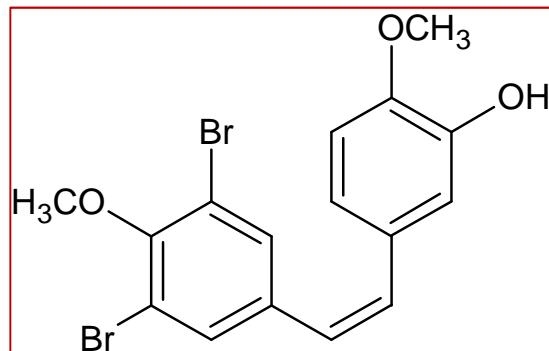


X = F, Cl, Br, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>

R = OH, OPO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>, O

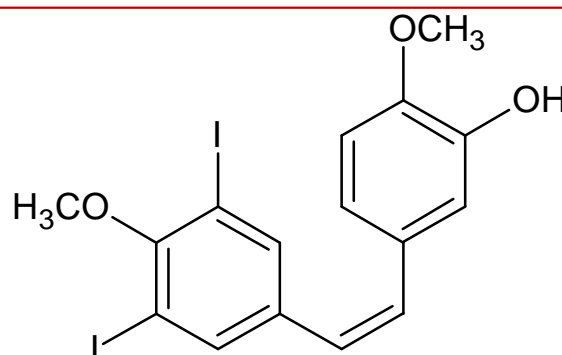
K  
Li  
Mg  
Ca

Podstawienie trzech grup metoksyowych pierścienia **A** grupami metylowymi spowodowało bardzo znaczący spadek cytotokscznoci i około dwukrotnie mniejszy w stosunku do CA-4P



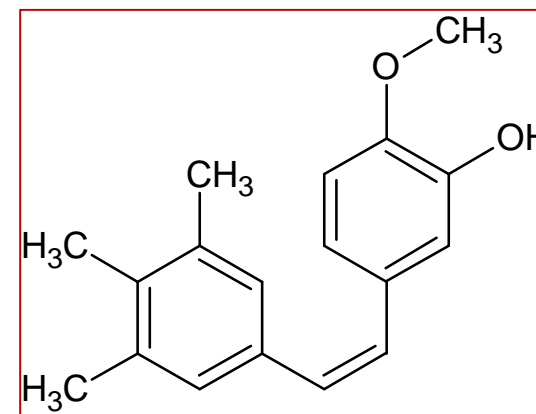
IC<sub>50</sub>=3,0 nM (HUVEC)

IC<sub>50</sub>=5,0 nM (SK-OV-3)



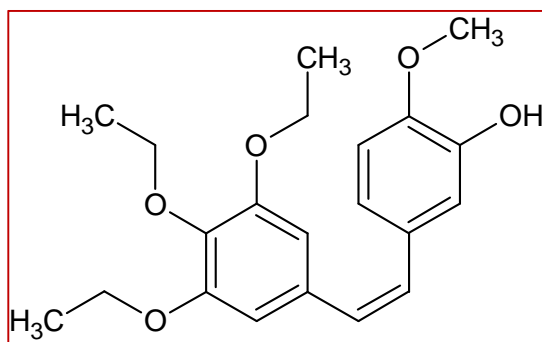
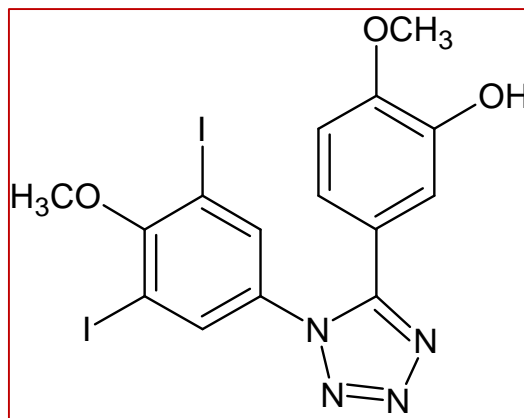
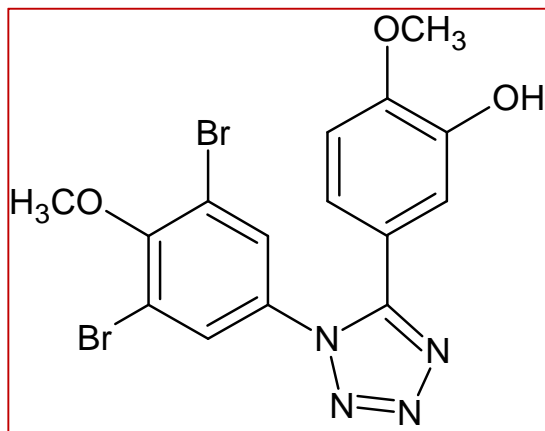
IC<sub>50</sub>=1,9 nM (HUVEC)

IC<sub>50</sub>=5,0 nM (SK-OV-3)

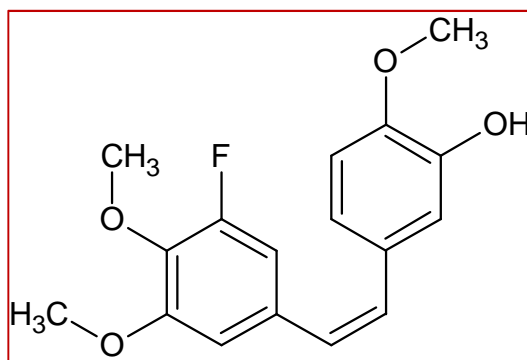


HUVEC = human umbilical vein endothelial cells

SK-OV-3 = ovarian cancer cells

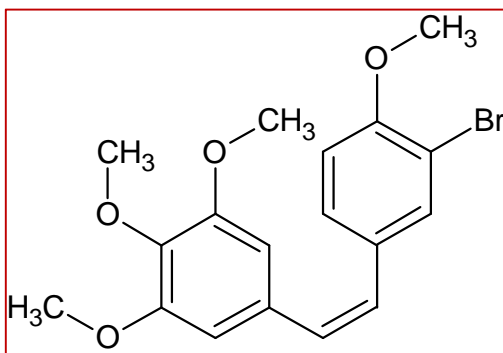
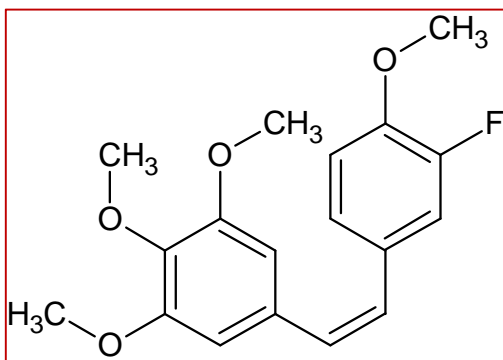
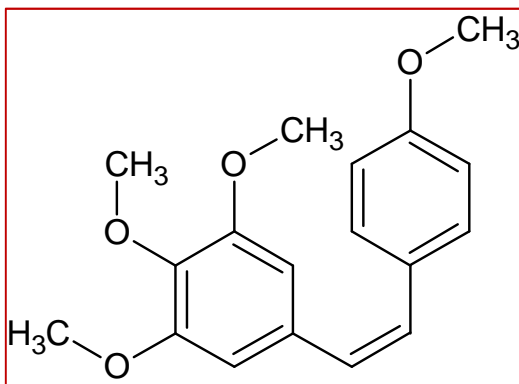


Wprowadzenie trzech grup etoksyłowych spowodowało utratę właściwości cytotoksycznych. Późniejsze obserwacje pozwoliły postawić sugestię o znaczącym udziale negatywnych sterycznych efektów na aktywność cytotoksyczną tego związku.

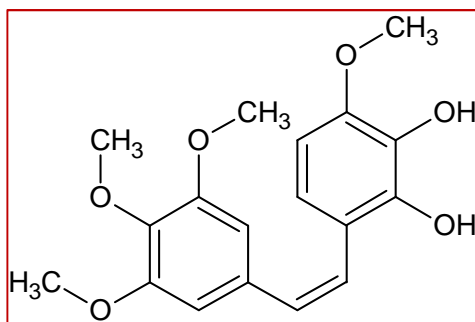
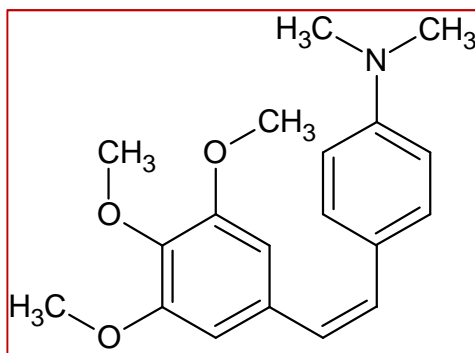
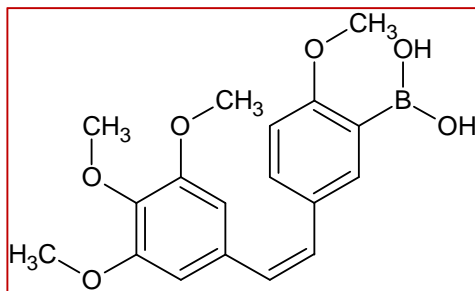
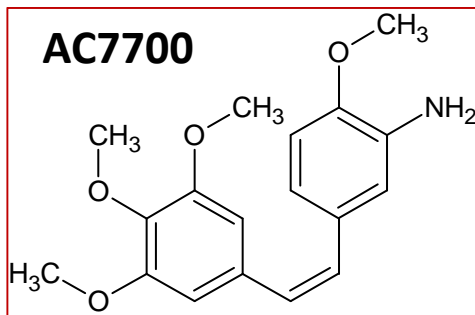


Wymiana grupy metoksyłowej na atom fluoru pozwoliła otrzymać związek o nieznacznie zmniejszonej aktywności cytotoksycznej przy jednoczesnej wysokiej aktywności antytubulinowej porównywalnej z CA-4. Jeśli zamieniono atom fluoru na chlor albo brom aktywność cytotoksyczna była nieznacząca. Podstawienie wszystkich grup metoksyłowych w pierścieniu A spowodował utratę właściwości cytotoksycznych

## Wpływ zmiany podstawników w pierścieniu fenylowym **B** na aktywność antymitotyczną



Badania (Cushman et al.) wykazały, że obecność grupy metoksyowej w pierścieniu B jest konieczna. Wyeliminowanie tej grupy powoduje znaczący spadek aktywności cytotoksycznej i około dwukrotne w stosunku do CA-4. Wymiana grupy metoksyowej na etoksyową propoksylową butoksyową spowodowała zmniejszenie aktywności czterokrotnie w stosunku do CA-4. Usunięcie grupy fenolowej z pierścienia B spowodowało minimalny spadek aktywności biologicznej. Wymiana grupy OH na atom fluoru pozwoliła otrzymać produkt o porównywalnej aktywności do CA-4. Co więcej związek ten charakteryzuje się wolniejszym metabolizmem w porównaniu z CA-4, którego okres półtrwania jest stosunkowo krótki. Wprowadzenie dwóch atomów fluoru w pozycjach 3,5 lub 2,3 zmniejsza aktywność ponad 10-krotnie. Wprowadzony atom chloru i bromu wybitnie obniżyły aktywność w stosunku do CA-4

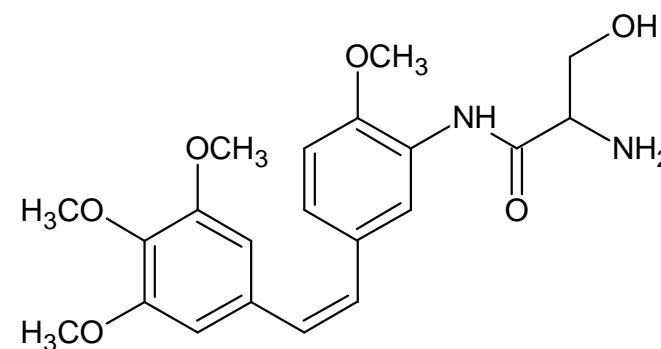


Grupa aminowa wstawiona w miejsce grupy fenolowej spowodowało podwyższenie aktywności cytotoksycznej ponad trzykrotnie. Związek ten jest obecnie w badaniach klinicznych pod kryptonimem AC7700 i AVE8062

Wprowadzenie zamiast grupy fenolowej reszty kwasu bornego pozwoliło otrzymać związek o aktywności porównywalnej do CA-4.

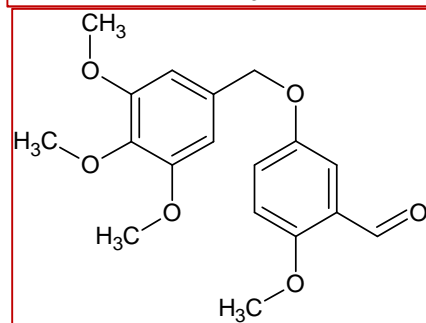
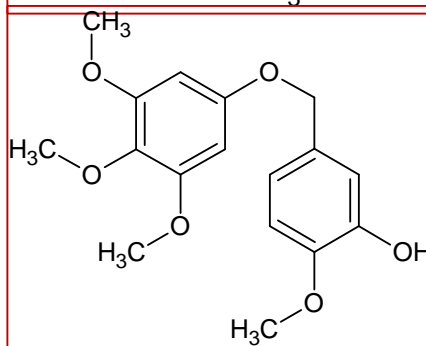
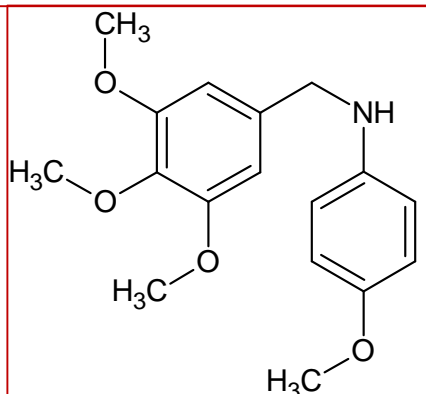
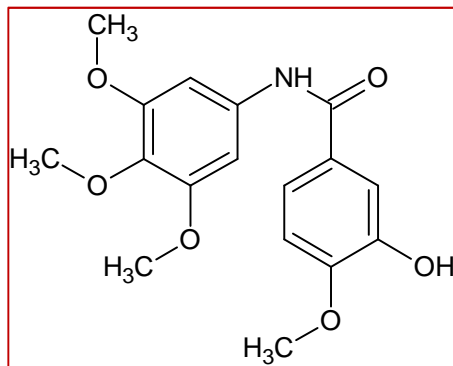
Grupa azydowa w pozycji meta pierścienia B w badaniach *in vitro* wykazała nieco mniejszą aktywność w stosunku do ca-4

**c.d.**



Dwie grupy fenolowe posiada naturalny związek wyizolowany z kory wierzby afrykańskiej CA-1

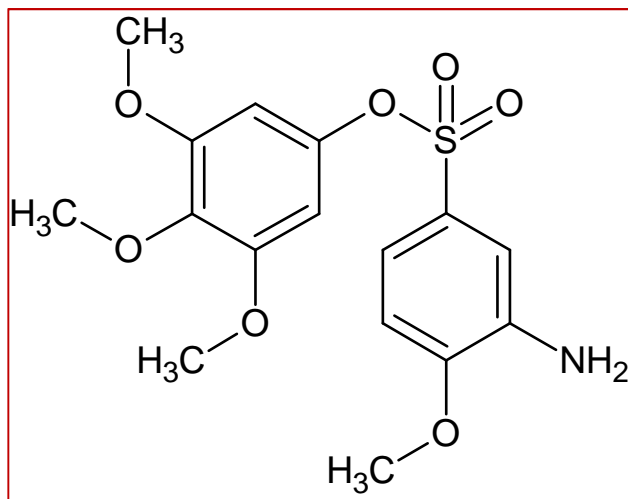
## Modyfikacje na wiązaniu podwójnym



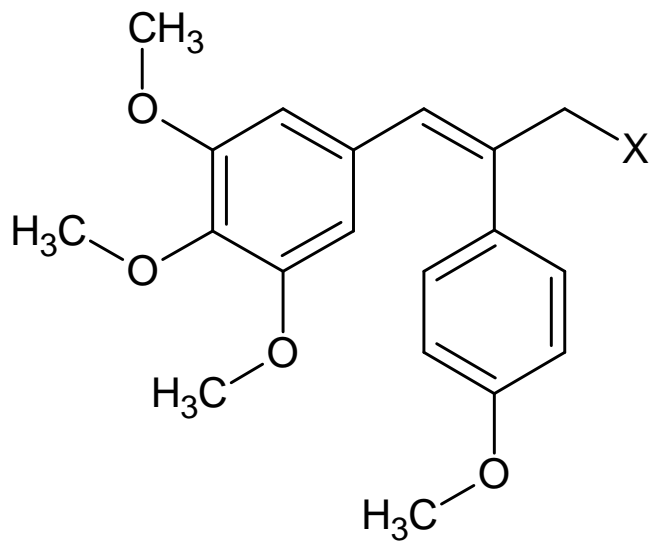
Przeprowadzenie wiązania podwójnego w pojedyncze jest związane całkowitą utratą aktywności biologicznej. Zastąpienie wiązania podwójnego za pomocą ugrupowania amidowego powoduje efekcie spadek aktywności znacznie w stosunku do CA-4. Redukcja grupy karbonylowej do grupy CH<sub>2</sub> w tym związku stworzył układ drugorzędowej amin której aktywność cytotoksyczna i antytubulinowa dramatycznie spadł.

Wprowadzenie między dwa pierścienie benzenowe A i B charakterystyczne dla CA-4, mostka metoksyłowego nie spowodowało nadzwyczajnej aktywności. Ciekawą jednak sytuacją jest fakt, gdy mostek metoksyłowy jest tak umieszczony, że atom tlenu przłączony jest do pierścienia A to związek wykazują aktywność antytubulinową z jednoczesną utratą aktywności cytotoksycznej biologicznej



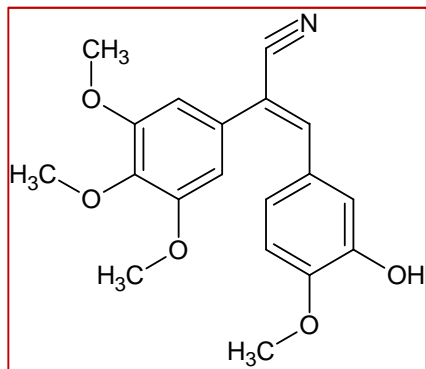


Zamiana mostka etenowego na grupę sulfonylową powoliło otrzymać związek o bardzo dobrej aktywności w stosunku do CA4. Pomimo takiej atywności pogłębione badania farmakologiczne nie są prowadzone ze względu na łatwość hydrolizy grupy estrowej.

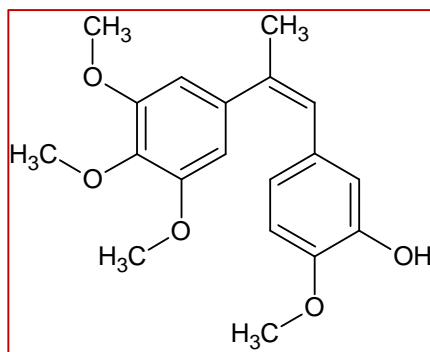


- X = -OH .....29**  
**-NH<sub>2</sub>.....30**  
**-NHC(=O)CH<sub>3</sub>.....31**

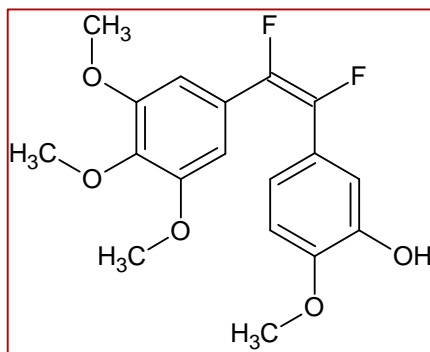
Podstawienie jednego atomu wodoru wiązania podwójnego za pomocą grupy hydroksymetylowej, aminometylowej i amidometylowej, spowodował poważne obniżenie aktywności w stosunku do wyjściowego związku, który charakteryzował się podobną aktywnością jak CA4



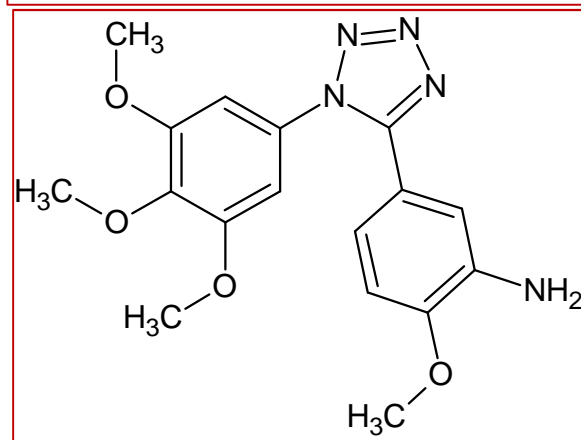
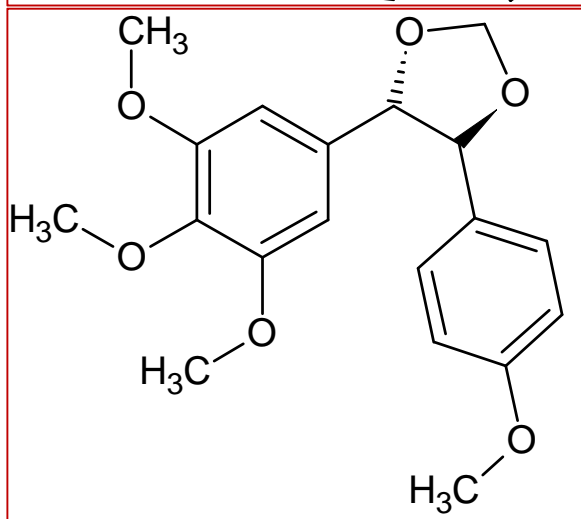
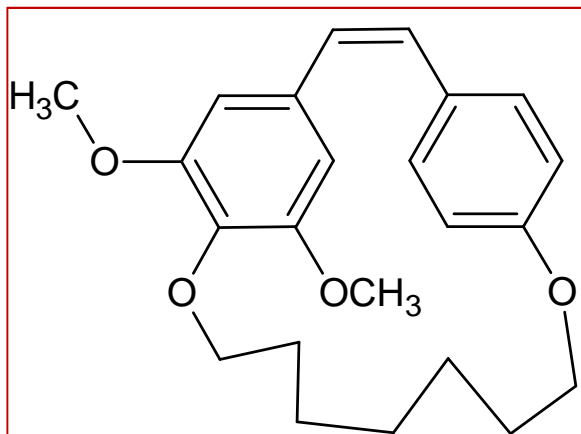
Podstawienie wodoru za pomocą grupy nitrylowej nie spowodowało obniżenia poziomu aktywności w stosunku do wyjściowej CA4



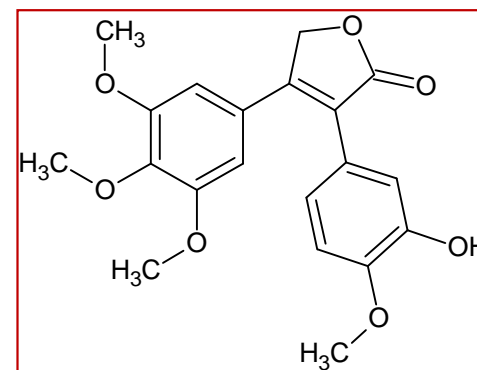
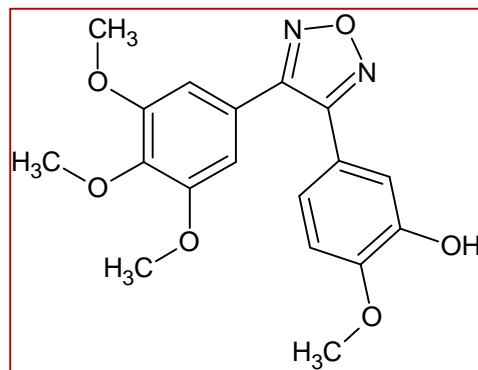
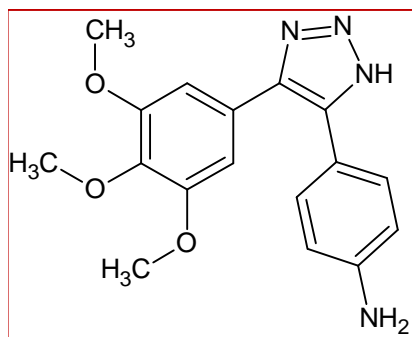
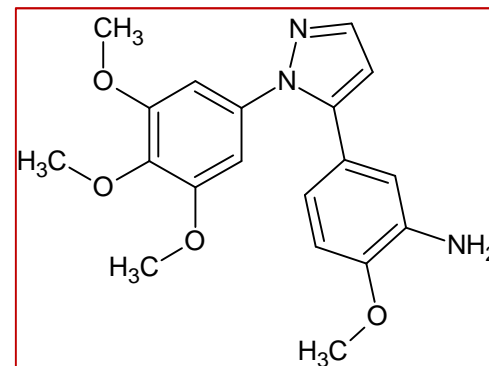
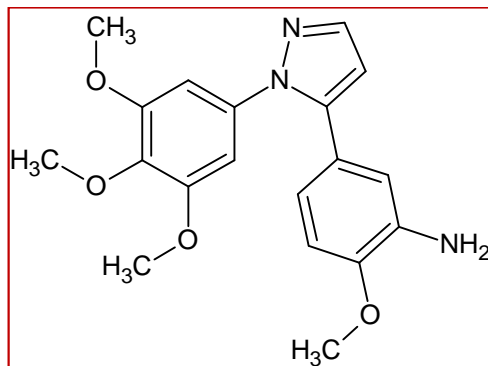
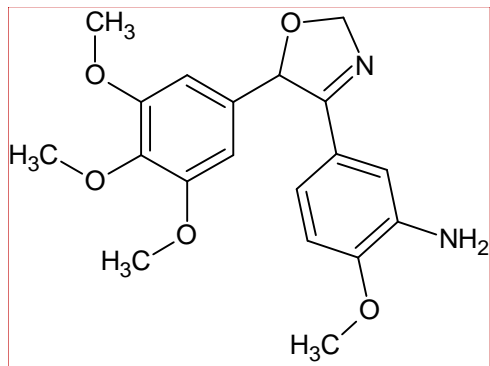
Podstawienie wodoru bliższego w stosunku do pierścienia benzenowego **A** grupą metylową albo etylową nie spowodowało znaczącej utraty właściwości antytubulinowe podczas gdy aktywność cytotoksyczna spadła około stukrotnie



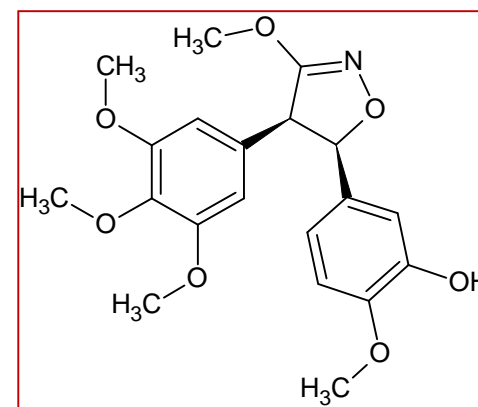
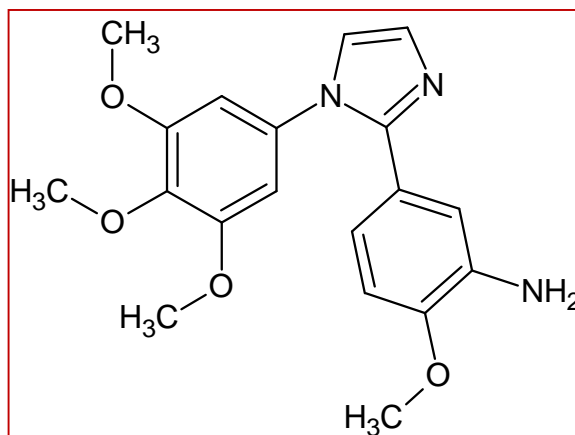
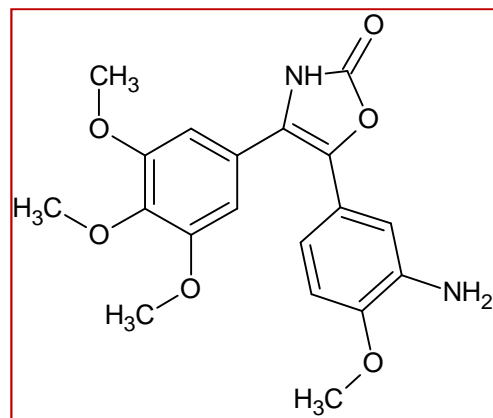
Podstawienie dwóch atomów wodoru dwoma atomami fluoru doprowadziło do otrzymania związku o nieco wyższej aktywności od wyjściowej CA-4



Po pierwszych doświadczeniach z CA-4 i zaobserwowaniu jej światłoczułości prowadzącej do izomeryzacji do *trans* stilbenu zastanawiano się w jaki sposób usztywnić cis izomer. W pierwszym etapie otrzymano związki o charakterze paracyklofanów po to aby zablokować izomeryzację do trans stilbenu. Niestety, żaden ze związków tej grupy nie zachował swojej pierwotnej aktywności. Drugie podejście związane było z utworzeniem na wiązaniu podwójnym pochodnych dioksalanów. W tej grupie również żaden z otrzymanych związków nie posiadał aktywności biologicznej. W następnym etapie przeprowadzono syntezę pochodnych kombretastatyny ze zbudowany na mostku alkilowym pięcioczłonowe związki heterocykliczne. Wielkim zaskoczeniem było odkrycie, że prawie wszystkie zachowały wysoką aktywność na poziomie swoich pierwowzorów a niektóre z nich przewyższają swoje pierwowzory, np. combretafurazon



combretofurazon



Zbudownie pięcioczłonowych pierścieni heterocyklicznych na wiązaniu podwójnym ma wiele walorów:

- blokuje możliwość zmiany orientacji pierścieni do pozycji trans
- Zwiększa specyficzność działania gdyż nie ma możliwości przejścia w wyniku izomeryzacji do układu trans, który może oddziaływać w nieoczekiwany uboczny sposób.

Do ważnych układów wykorzystanych w tego typu przubudowie można zaliczyć pochodne :

- imidazolu
- Oksazolu
- Pirazolu
- Triazolu
- Tetrazolu.

