EPOTHILONY – NOVÁ PROTINÁDOROVÁ LÉČIVA

Epothilones – new anti-cancer medicines

IX: 213–458, 2007
ISSN 1212–4117**Jiří Patočka a Zdeněk Hon**

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, katedra radiologie a toxikologie

Summary

Epothilones are a new group of cytotoxic molecules, originally identified as metabolites produced by the myxobacterium *Sorangium cellulosum*. Clinical success of paclitaxel and docetaxel stimulated the research of further substances with the same mechanism of effects and resulted in discovering three new types of natural substances of non-taxane type: Epothilones A and B from a soil bacterium, discodermolide from a sponge and eleutherobines and sarcodictyines from corals. All the three groups of substances stabilize microtubules and competitively inhibit the bond of paclitaxel to polymers of tubulin, which suggests that their binding sites are the same. Epothilones are natural substances stabilizing microtubules with strong *in vivo* and *in vitro* anti-cancer activity. Thus, epothilones were considered as potential chemotherapeutic drugs due to their intervention into the cytoskeleton. Recent studies in cancer cell lines and in humans with cancer diseases indicate their higher efficacy compared with taxanes. The mechanism of their effects is similar to that of taxanes, but their chemical structure is simpler and their solubility in water is higher. In addition, epothilones may be prepared in large amounts by the fermentation of bacteria and they also exert activities against cell lines and tumours, which are resistant to many other drugs. Due to their high activity and to clinical requirements for the treatment of cancer, epothilones are targets of many studies. The purpose of the present article is to familiarize Czech readers with problems of epothilones.

Key words: Chemotherapeutic drug – inhibitor of microtubules – *Myxobacteria* – review**Souhrn**

Epothilony jsou novou skupinou cytotoxických molekul, původně identifikovaných jako metabolity produkované myxobakterií *Sorangium cellulosum*. Klinický úspěch paclitaxelu a docetaxelu stimuloval výzkum dalších látek se stejným mechanismem účinku a vedl k objevu tří nových typů přírodních látek netaxanového typu: epothilony A a B z půdní bakterie, discodermolid z mořské houby a eleutherobiny a sarcodictyiny z korálů. Všechny tři skupiny látek stabilizují mikrotubuly a kompetitivně inhibují vazbu paclitaxelu na polymery tubulinu, což svědčí o tom, že jejich vazebné místo je stejné. Epothilony jsou přírodní látky stabilizující mikrotubuly se silnou *in vivo* a *in vitro* protinádorovou aktivitou. Proto byly epothilony uvažovány jako potenciální chemoterapeutické léky v důsledku jejich zásahu do cytoskeletu. Nedávné studie na rakovinách buněčných liniích a u lidí s nádorovým onemocněním signalizují jejich vyšší účinnost ve srovnání s taxany. Mechanismus jejich účinku je podobný s taxany, ale jejich chemická struktura je jednodušší a jsou lépe rozpustné ve vodě. Navíc mohou být epothilony připravovány ve velkém množství fermentací bakterií a vykazují rovněž aktivitu proti buněčným liniím a tumorům, které jsou rezistentní vůči mnoha jiným lékům. Kvůli vysoké aktivitě a klinické potřebě léčení rakoviny jsou epothilony cílem mnoha studií. Cílem tohoto článku je přiblížit problematiku epothilonů českému čtenáři.

Klíčová slova: chemoterapeutický lék – inhibitor mikrotubulů – *Myxobakterie* – přehled

ÚVOD

Protinádorová léčiva, jako například vinca-alkaloidy, taxol, camptothecin, podophylotoxiny nebo deriváty platiny, patří mezi nejdůležitější složky chemoterapie nemocných s maligním onemocněním. Přes nesporné úspěchy dosažené jejich použitím v klinické praxi zůstávají výsledky protinádorové léčby nadále neuspokojivé a vyžadují aktivní přístup ze strany lékařů a vědeckých pracovníků při hledání nových preparátů s novými mechanismy účinku, menší toxicitou a schopností odolávat mechanismům odpovědným za navození rezistence nádoru na cytostatika.

Nadějnou skupinou protinádorově účinných látek jsou takové, které zasahují do cytoskeletárního systému buňky, zejména mikrotubulů a bývají proto označovány jako inhibitory mikrotubulů (Patočka et al., 2001). Narušením výstavby cytoskeletu dochází k zastavení buněčného cyklu v G₂/M fázi, takže tyto látky fungují jako cytostatika. Ze známých a již používaných léčiv patří mezi inhibitory mikrotubulů např. taxany či podophylotoxiny. Patří sem ale také zhruba před deseti lety objevená skupina sekundárních metabolitů myxobakterie *Sorangium cellulosum*, nazvaná epothilony (Bollag et al., 1995). Epothilonům je věnován tento článek, který se snaží o stručné shrnutí výsledků, kterých bylo na

tomto poli nových, potenciálních cytostatik dosaženo.

Chemie epothilonů

Epothilony jsou 16členné polyketidové makrolaktony s methythiazolovou skupinou. Jejich biosyntéza je několikastupňová a podílí se na ní řada enzymů (Julien et al., 2000; Gerth et al., 2000). Hlavním bioaktivním sekundárním metabolitem gram-negativní bakterie *Sorangium cellulosum*, která má největší známý bakteriální genom (12,2 milionů nukleotidů) (Predella et al., 2002), je epothilon A, epothilon B se objevuje v množství 20 až 30 % (Gerth et al., 1996). Epothilony A a B mají ve své molekule epoxidovou skupinu. Název epothilon vznikl složením názvů nejvýznamnějších stavebních prvků jejich molekuly: **epoxid**, **thiazol**, **keton**.

Epothilony C a D neobsahují epoxidovou skupinu, místo ní je ve stejném místě dvojná vazba. Epothilony vzbudily velký zájem nejen mezi biology a lékaři, ale také mezi chemiky. Bylo navrženo několik syntetických přístupů k jejich přípravě a dnes jsou všechny epothilony dostupné synteticky (Bertinato et al., 1996; Nicolaou et al., 1997; Valluri et al., 2001; Zhu a Panek, 2000), stejně jako mnohé jejich deriváty (Nicolaou et al., 1998).

EPOTHILON A (R = H)
EPOTHILON B (R = CH₃)

EPOTHILON C (R = H)
EPOTHILON D (R = CH₃)

Inhibitory mikrotubulů

Mikrotubuly jsou součástí cytoskeletu všech eukaryotických buněk. Tvoří vlákna složená ze dvou typů proteinových molekul, z α -tubulinu (53 kDa) a z β -tubulinu (55 kDa). Heterodimer α -tubulin/ β -tubulin polymerizuje tak, že vytváří šroubovicovou strukturu v podobě dutého válce o vnějším průměru 28 nm a vnitřním 14 nm. Cytoskelet buňky, jehož jsou mikrotubuly důležitou součástí, není rigidní kostrou, ale dynamic-

kým systémem. Ten se podílí na všech fyziologických procesech v buňce. Mikrotubuly se podílejí zejména na procesech spojených s dělením buňky. Je doprovázeno dynamickými změnami tubulů, jejich prodlužováním (polymerace) a zkracováním (depolymerace).

Polymerace a s ní spojené prodlužování mikrotubulů je podmíněno navázáním guanosintrifosfátu (GTP) na heterodimer tubulinu. Vazebné místo pro GTP se nachází na β -

subjednotce tubulinu. Prodlužování mikrotubulu se děje postupným navazováním heterodimeru na tzv. plus konec vlákna, které se šroubovitě stáčí a vždy 13 dimerů vytváří jeden úplný závit.

Depolymerace mikrotubulů je spojena s postupným oddělováním dimeru z minus konce vlákna a vede k jeho zkracování. Stabilita mikrotubulů ve zdravé buňce je regulována proteiny, nazývanými MAP (microtubule-associated proteins), které kontrolují koncentrace intracelulárního Ca^{2+} .

Látky, které se váží na mikrotubuly a blokuji jejich polymeraci či depolymeraci, mají cytostatický účinek a jsou označovány jako mitotické jedy, antitubulinové látky nebo inhibitory mikrotubulů. Jejich účinek na buňku je smrtící, ale cíleným zásahem mikrotubulárních inhibitorů do dělení nádorových buněk lze dosáhnout zastavení jejich dalšího růstu. Takové látky proto našly uplatnění v medicíně jako léčiva různých forem zhoubného bujení (Altman, 2001).

Mechanismus účinku epothilonů

Epothilony patří do skupiny látek, které blokuji depolymeraci mikrotubulů. Způsobí jejich stabilizaci a zabrání tak výkonu jejich fyziologické funkce. Nejznámějším reprezentantem této skupiny látek je paclitaxel, tetracyklický diterpen získaný z pacifického tisu *Taxus brevifolia*. Paclitaxel a jemu podobné látky, tzv. taxany, našly již praktické využití v medicíně a představují účinný nástroj v boji s některými druhy rakoviny. Jejich nevýhodou je malá rozpustnost ve vodě a náročná syntéza, takže jejich cena je vysoká.

Epothilony jsou stejně účinnými stabilizátory tubulinu jako paclitaxel a zastavují buněčný cyklus v G_2/M fázi. Epothilon B je desetkrát účinnější než epothilon A.

Syntetické deriváty epothilonů

Jedním z prvních synteticky připravených derivátů epothilonů s nadějnou biologickou aktivitou byl Z-12,13-desoxyepothilon B (Chou et al., 1998). Velkou zásluhu na syntéze nových derivátů epothilonů má skupina chemiků vedená profesorem Nicolaouem ze Scrippsova výzkumného ústavu v La Jolle v Kalifornii. Připravili desítky nových látek, z nichž mnohé naleznou využití v praxi (Nicolaou et al., 2000).

Vědecké skupiny se kromě preklinického a klinického výzkumu rovněž zabývají i různými způsoby výroby epothilonů. Cílem vědeckého

bádání je poskytnout dostatečné množství epothilonů a zajistit tak jejich použití pro farmaceutické přípravky, především k léčbě nádorových onemocnění.

Epothilony v preklinickém výzkumu

26-Fluoroepothilon B byl účinný u myších samic s rakovinou prostaty (Newmann et al., 2001). U patupilonu (derivát epothilonu B) byl prokázán výraznější protinádorový vliv na buněčné linie hepatocelulárního karcinomu ve srovnání s taxany a doxorubicinem (Mok et al., 2007). Rovněž byla prokázána jeho účinnost inhibovat růst a rozvoj metastáz u myši s rakovinou prostaty (O'Reilly et al., 2005).

Epothilony v klinickém výzkumu

Deriváty epothilonu B (ixabepilon a patupilon) jsou v současné době testovány jako nové protinádorové preparáty u celé řady nádorových onemocnění. Tyto deriváty vykazují významnou účinnost u nádorů rezistentních na léčbu taxany (paclitaxel a docetaxel), tj. jako léky druhé volby.

V nedávné době bylo zveřejněno několik randomizovaných studií II. fáze s ixabepilonem v léčbě metastazujícího karcinomu prsu, nemalobuněčného karcinomu plic, rozvinutého pankreatického adenokarcinomu a metastazujícího karcinomu prostaty. U nemocných s metastazujícím karcinomem prsu výsledky studií prokázaly slibnou protinádorovou aktivitu s přijatelným bezpečnostním profilem, a to i u pacientek, kde selhala počáteční léčba taxany a antracykliny nebo byla kontraindikována (Thomas et al., 2007; Roché et al., 2007; Gianni, 2007). Rovněž u nemalobuněčného karcinomu plic, kde v první linii léčby selhala cisplatina či karboplatina (Vansteenkiste et al., 2007), u rozvinutého pankreatického adenokarcinomu (Whitehead et al., 2006) a metastazujícího karcinomu prostaty (Galsky et al., 2005) výsledky studií prokázaly klinicky významnou protinádorovou aktivitu ixabepilonu a přijatelný bezpečnostní profil. Nejčastější vedlejší účinky ixabepilonu, které byly pozorovány u těchto studií, byly spojeny s mírnou senzorickou neuropatií a neutropénií.

Dalším derivátem epothilonu B je patupilon, u kterého byla prokázána klinická aktivita v celé řadě solidních tumorů, a to zejména vaječníků, prostaty, prsu, žaludku, ledvin, kolorektálního karcinomu, nemalobuněčného karcinomu plic, melanomu a karcinoidních tumorů (Rubin et al.,

2005; Osterlind et al., 2005; O'Reilly et al., 2005). U patupilonu byla rovněž prokázána *in vivo* a *in vitro* účinnost inhibovat růst a přežití buněk mnohočetného myelomu včetně buněk, které byly odolné vůči konvenční chemoterapii paclitaxelem (Lin et al., 2005). Klinické studie I. fáze s patupilonem ukázaly nižší výskyt vedlejších nežádoucích účinků, jako je diareja, neurotoxicita a neutropénie ve srovnání s dalšími epothilony a taxany, u kterých je dávka limitována. V několika studiích II. fáze byla prokázána významná protinádorová aktivita u nádorů citlivých na léčbu taxany, jako jsou nádory plic, vaječníků a prostaty (Larkin et al. 2007). V současné době probíhají randomizované studie III. fáze s tímto preparátem, které by měly přesně vymezit roli patupilonu v léčbě nádorových onemocnění.

Výsledky neoadjuvantních studií III. fáze s epothilony (ixabepilone, patupilone, BMS - 310705, ZK - EPO, KOS - 862) jsou netrpělivě očekávány především pro možné uplatnění epothilonů v léčbě karcinomu prsu, který představuje nejčastěji se vyskytující solidní nádor v ženské populaci (Cortes a Baselga, 2007).

ZÁVĚR

Protinádorová chemoterapeutika ze skupiny epothilonů jsou velmi účinnými inhibitory depolymerizace mikrotubulů a představují nový druh cytostatických léků pro onkologické pacienty. Jejich intenzivní výzkum a úspěšné klinické zkoušky představují novou naději pro terapii nádorů.

LITERATURA

ALTMANN, K. H.: Microtubule-stabilizing agents: a growing class of important anticancer drugs. *Curr Opin Chem Biol.* 2001. Vol. 5, no 4, s. 424–431.
BERTINATO, P. et al.: Studies toward a Synthesis of Epothilone A: Stereocontrolled Assembly of the Acyl Region and Models for Macrocyclization. *J. Org. Chem.* 1996. Vol. 61, no 23, s. 8000–8001.
CORTES, J., BASELGA, J.: Targeting the microtubules in breast cancer beyond taxanes: the epothilones. *Oncologist.* 2007. Vol. 12, no 3, s. 271–280.
GALSKY, M. D. et al.: Multi-institutional randomized phase II trial of the epothilone B analog ixabepilone (BMS-247550) with or without estramustine phosphate in patients with progressive castrate metastatic prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005. Vol. 23, no 7, s. 1439–1446.
GERTH, K. et al.: Epothilons A and B: antifungal and cytotoxic compounds from *Sorangium cellulosum* (Myxobacteria). Production, physico-chemical and biolo-

gical properties. *J. Antibiot* (Tokyo). 1996. Vol. 49, no 6, s. 560–563.

GIANNI, L.: Ixabepilone and the narrow path to developing new cytotoxic drugs. *J. Clin. Oncol.* 2007. Vol. 25, no 23, s. 3389–3391.

JULIEN, B. et al.: Isolation and characterization of the epothilone biosynthetic gene cluster from *Sorangium cellulosum*. *Gene.* 2000. Vol. 249, no 1–2, s. 153–160.

LARKIN, J. M. G. et al.: Patupilone. *Drugs Fut.* 2007. Vol. 32, no 4, s. 323.

LIN, B. et al.: Patupilone (epothilone B) inhibits growth and survival of multiple myeloma cells *in vitro* and *in vivo*. *Blood.* 2005. Vol. 105, no 1, s. 350–357.

MOK, T. S. et al.: Effects of patupilone (epothilone B; EPO906), a novel chemotherapeutic agent, in hepatocellular carcinoma: an *in vitro* study. *Oncology* 2006. Vol. 71, no 3–4, s. 292–296.

NEWMAN, R. A. et al.: Antitumor efficacy of 26-fluoroepothilone B against human prostate cancer xenografts. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2001. Vol. 48, no 4, s. 319–326.

O'REILLY, T. et al.: Patupilone (epothilone B, EPO906) inhibits growth and metastasis of experimental prostate tumors *in vivo*. *Prostate.* 2005. Vol. 65, no 3, s. 231–240.

OSTERLIND, K. et al.: Phase I/II dose-escalation trial of patupilone every 3 weeks in patients with non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings. Vol 23, no 16S: 7110.

PATOČKA, J., STRUNECKÁ, A., STIBOROVÁ, M.: Inhibitory mikrotubulů. *Chem listy.* 2001. Vol. 95, no 11, s. 700–707.

PRADELLA, S. et al.: Characterisation, genome size and genetic manipulation of the myxobacterium *Sorangium cellulosum* So ce56. *Arch. Microbiol.* 2002. Vol. 178, no 6, s. 484–492.

ROCHÉ, H. et al.: Phase II clinical trial of ixabepilone (BMS-247550), an epothilone B analog, as first-line therapy in patients with metastatic breast cancer previously treated with anthracycline chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2007. Vol. 25, no 23, s. 3415–3420.

RUBIN, E. H. et al.: Phase I dose-finding study of weekly single-agent patupilone in patients with advanced solid tumors. *J. Clin. Oncol.* 2005. Vol. 23, no 36, s. 9120–9129.

THOMAS, E. et al.: Phase II clinical trial of ixabepilone (BMS-247550), an epothilone B analog, in patients with taxane-resistant metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2007. Vol. 25, no 23, s. 3399–3406.

VALLURI, M. et al.: Total synthesis of epothilone B. *Org. Lett.* 2001. Vol. 3, no 23, s. 3607–3609.

VANSTEENKISTE, J. et al.: Phase II clinical trial of the epothilone B analog, ixabepilone, in patients with non small-cell lung cancer whose tumors have failed first-line platinum-based chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2007. Vol. 25, no 23, s. 3448–3455.

WHITEHEAD, R. P. et al.: A Phase II trial of epothilone B analogue BMS-247550 (NSC #710428) ixabepilone, in patients with advanced pancreas cancer: a Southwest Oncology Group study. *Invest New Drugs.* 2006. Vol. 24, no 6, s. 515–520.

ZHU, B., PANEK, J. S.: Total synthesis of epothilone A. *Org. Lett.* 2000. Vol. 2, no 17, s. 2575–2578.

*Jiří Patočka a Zdeněk Hon
prof.patocka@gmail.com*