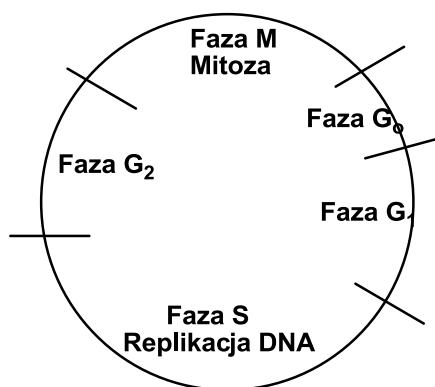




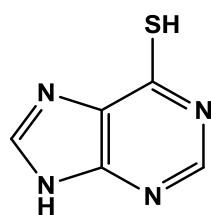
Nukleozydy o znaczeniu terapeutycznym

Nukleozydy są składnikami kwasów nukleinowych. Tworzą łańcuchy poprzez połączenie grupy hydroksylowej 3'-OH jednego nukleozydu z grupą 5'-OH drugiego, grupą fosforanową, co w konsekwencji prowadzi do powstania diestru kwasu fosforowego. Fakt ten stanowi podstawę koncepcji zastosowania nukleozydów i nukleotydów w terapii chorób zarówno nowotworowych jak i wirusowych. Związki antynowotworowe blokują biosyntezę lub transkrypcję kwasów nukleinowych. Mogą także zapobiegać podziałowi komórki przez oddziaływanie na wrzeciono podziałowe. Komórki w fazie biosyntezy DNA (faza S) i podziału (faza M) są wysoce podatne na działanie chemoterapeutyków (Rys. 1). Natomiast w stanie spoczynkowym (fazy G_0 , G_1 i G_2) komórki wykazują oporność na działanie wielu terapeutyków.

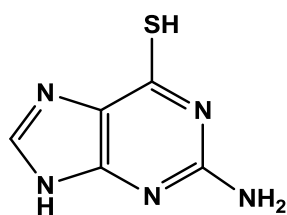


Rys. 1 Fazy cyklu życiowego komórki

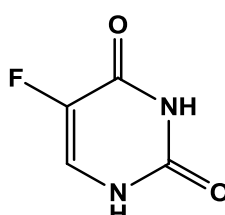
Obecnie dopuszczonych jest w terapii kilka analogów nukleozasad oraz nukleozydów (Rys. 2 i 3). W przypadku nukleozydów ich działanie polega na zapobieganiu biosyntezie lub utylizacji metabolitów komórkowych, same są zatem antymetabolitami. Ich działanie spowodowane jest podobieństwem strukturalnym do metabolitów naturalnych, zatem mogą współzawodniczyć z nimi o miejsce aktywne enzymu, będącego celem biologicznym. Mogą także łączyć się z enzymem w miejscu allosterycznym, i blokować reakcje biosyntezy na zasadzie sprzężenia zwrotnego. Jak widać z rys.2, jako aktywne leki stosowane są analogi nukleozasad (5-fluorouracyl, merkaptopuryna), które wewnątrz organizmu są transformowane we właściwy lek (rybozylacja i fosforylacja) w procesie wewnątrzkomórkowej przemiany anabolicznej. 6-Merkaptopuryna jest transformowana w obecności rybozylofosforano transferazy hipoksantyno-guaninowej w rybonukleotyd.



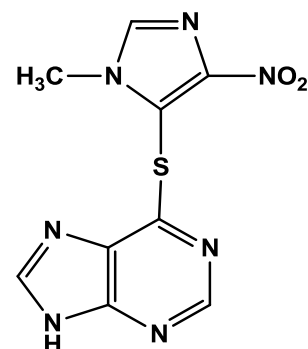
6-Merkaptopuryna



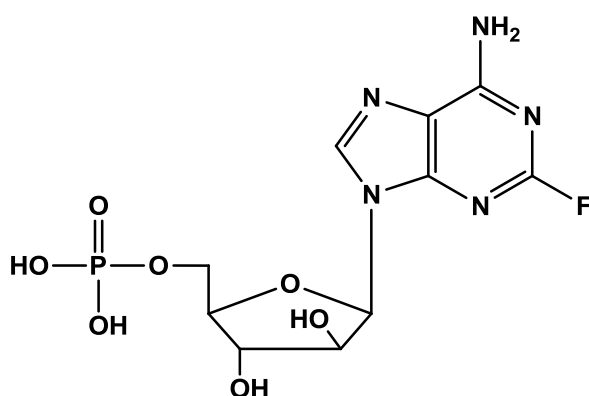
6-Merkaptoguanina



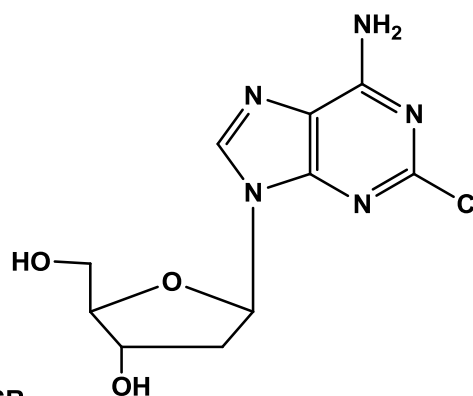
5-Fluorouracyl



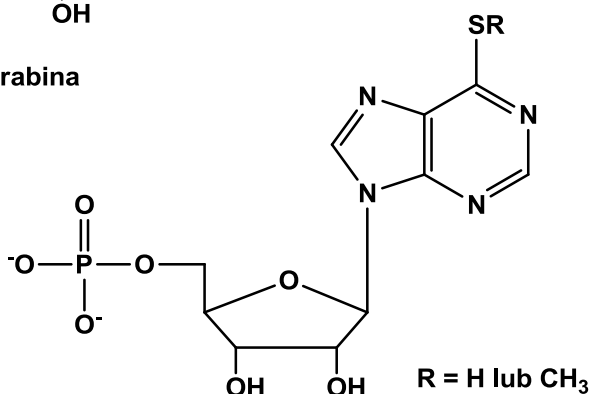
Azatioprim



Fludarabina



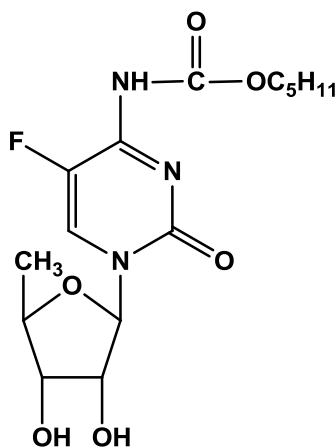
Kladribina



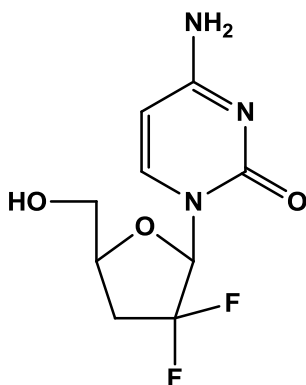
Monofosforan tiinozyny

Rys. 2. Analogii nukleozad i nukleozydów stosowane w terapii antynowotworowej.

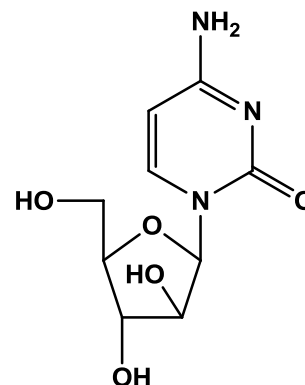
Monofosforan tiinozyny jest inhibitorem przemiany 5-fosforybozylo-1-pirofosforan w 5-monofosforan D-rybofuranozyloaminy, produktu drugiego etapu w biosyntezie puryn (Schemat 1). Monofosforan tiinozyny inhibuje także dwa etapy przemiany monofosforanu inozyny w monofosforan adenozyne: etap addycji kwasu asparaginowego do inozyny i etap następnym, eliminację kwasu fumarowego co prowadzi do monofosforanu adenozyne (AMP) (Schemat 2).



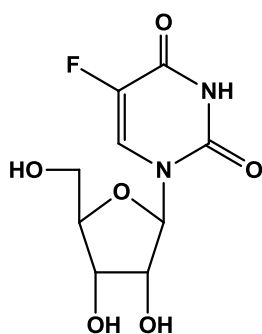
Kapecytabina



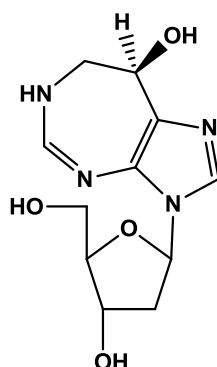
Gemcytabina



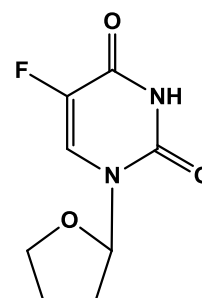
Cytarabina



Fluorourydyna

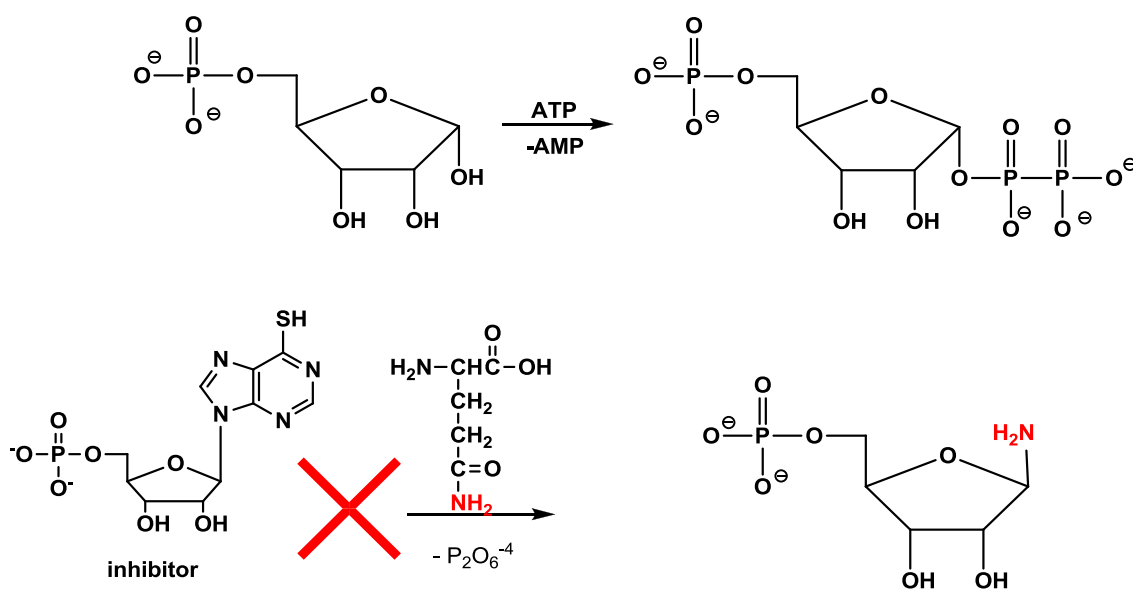


2-Deoksykoformycyna

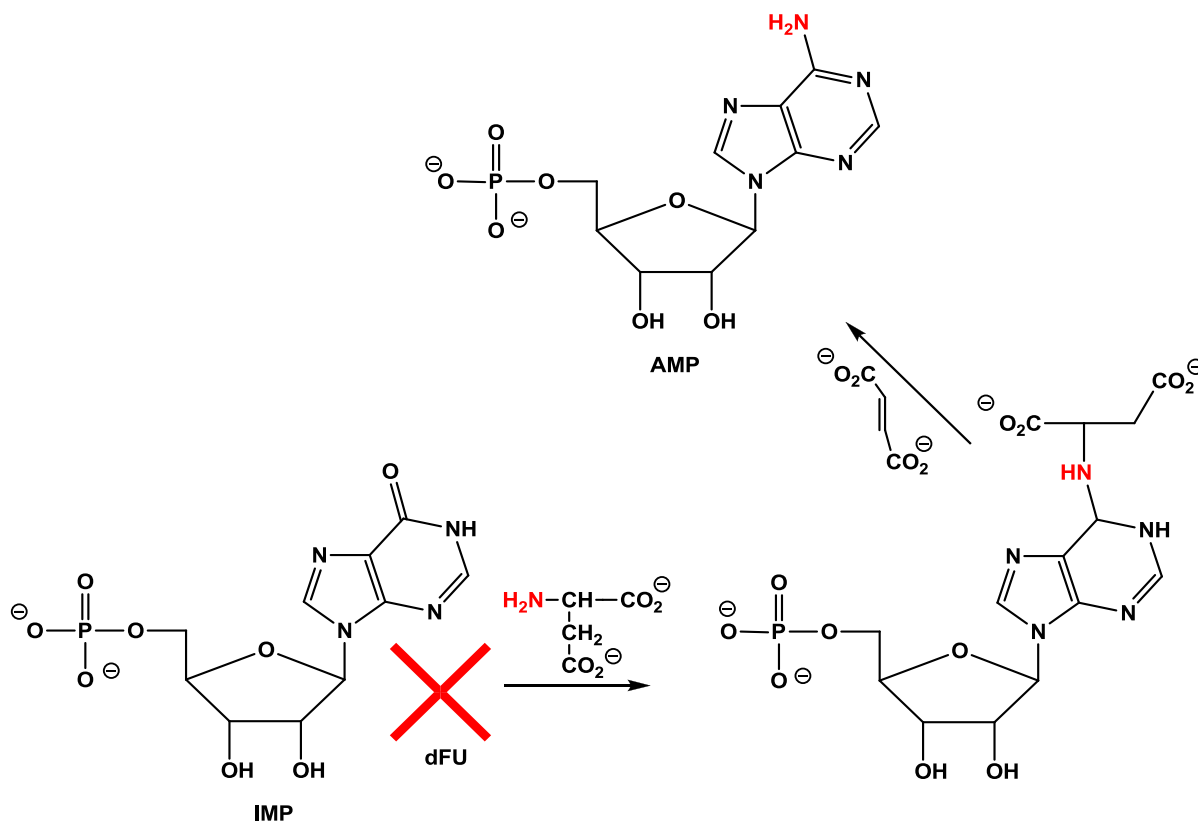


Tegafur

Rys. 3. Analogii nukleozasad i nukleozydów stosowane w terapii antynowotworowej.

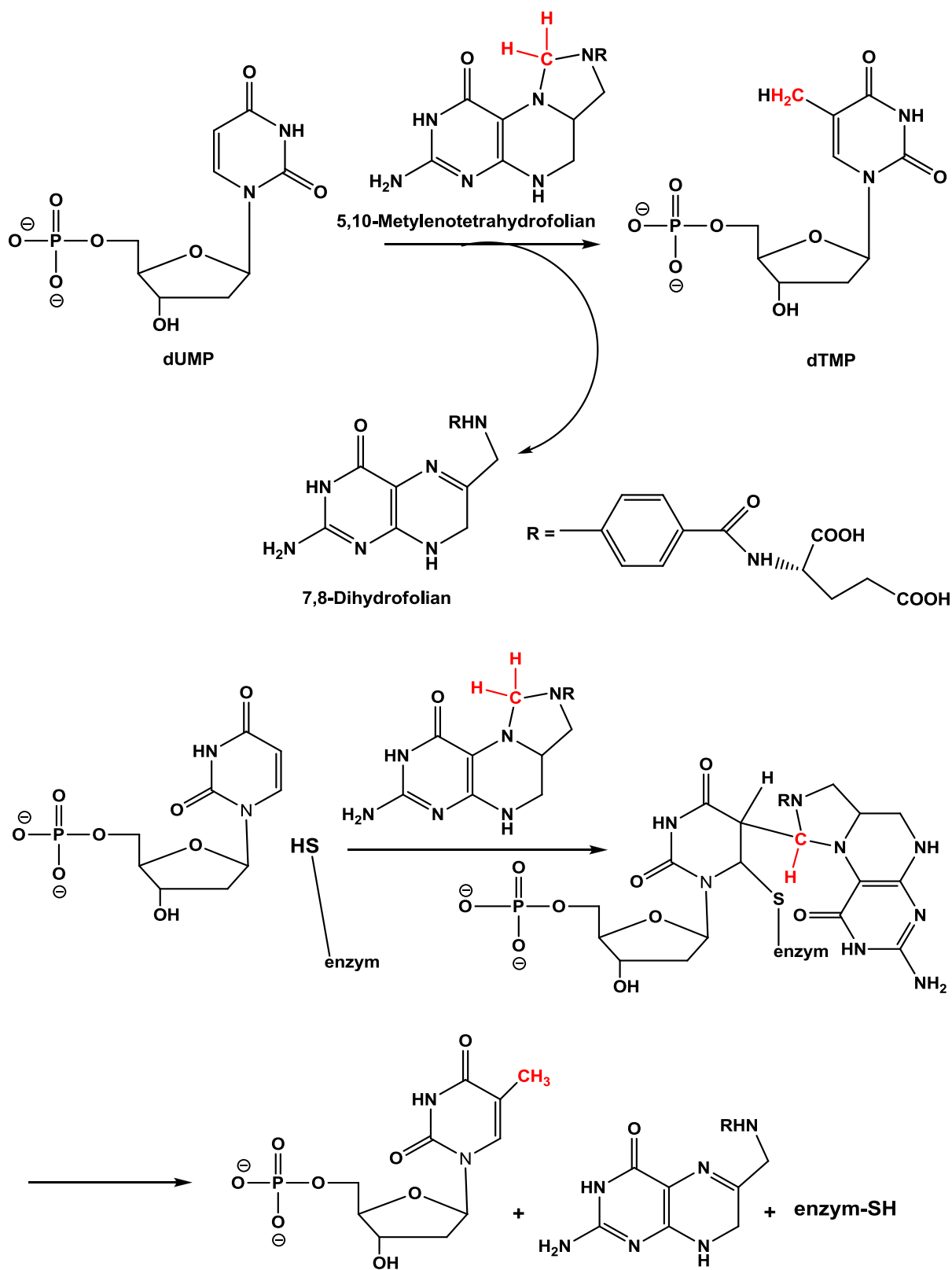


Schemat 1. Inhibicja szlaku biosyntezy puryn (przemiany 5-fosforybozylo-1-pirofosforan w 5-monofosforan D-rybofuranozyloaminy)

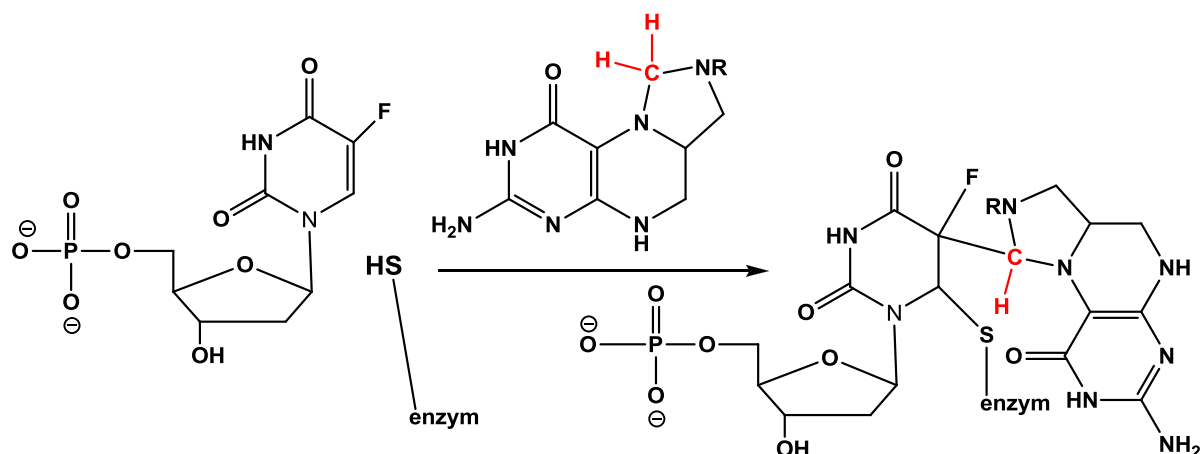


Schemat 2. Inhibicja przemiany IMP w AMP

Jednym z najstarszych antymetabolitów stosowanych w chemioterapii nowotworów jest 5-fluorouracyl. W komórkach ulega on przemianie do monofosforanu 5-fluoro-2-deoksyurydyny. Jego działanie polega na blokowaniu przemiany monofosforanu 2-deoksy-D-urydyny w monofosforan tymidyny, a tym samym zatrzymuje syntezę DNA. W szlaku biosyntezy pirymidyn 5'-fosforan 2-deoksy-D-urydyny jest metylowany w pozycji 5-pierścienia uracylowego przy udziale tetrahydrofolianu. Metylację inicjuje atak nukleofilowy grupy merkaptanowej cysteiny obecnej w cząsteczce enzymu na pozycję 6 i utworzenie wiązania kowalencyjnego z grupą metylenową tetrahydrofolianu, a następnie przeniesienie atomu wodoru do grupy metylenowej na atom węgla C-5 uracylu i utworzenie cząsteczki tymidyny (Schemat 3). W procesie inhibicji 5-fluorouracyłem lub jego anabolitami również następuje przyłączenie reszty cysteinowej do 5-fluorouracylu i utworzenie wiązania pomiędzy węglem C-5 a grupą metylenową tetrahydrofolianu. Jednak atom fluoru nie jest podatny na przeniesienie, końcowym produktem jest trwały addukt enzymu, 5-fluorouracylu i tetrahydrofolianu (Schemat 4).



Schemat 3. Konwersja dUMP w dTMP



Schemat 4. Inhibicja syntazy tymidylanowej przez 5-fluorouracyl

Gemcytabina jest analogiem 2-deoksycytydyny. Ulega fosforylowaniu do trifosforanu i współzawodniczy z trifosforanem 2-deoksycytydyny w syntezie DNA. W budowana w łańcuchach DNA zaburza jego strukturę przez terminację łańcucha. Dodatkowo jest inhibitorem reduktazy rybonukleotydu. Trifosforan 1-(β-D-arabinozylo)cytozyny jest inhibitorem reduktazy rybonukleotydu a także polimerazy DNA.

Nukleozydy w terapii antywirusowej

Większość analogów nukleozydów stosowanych w terapii antywirusowej inhibuje replikację wirusów według trzech możliwych mechanizmów:

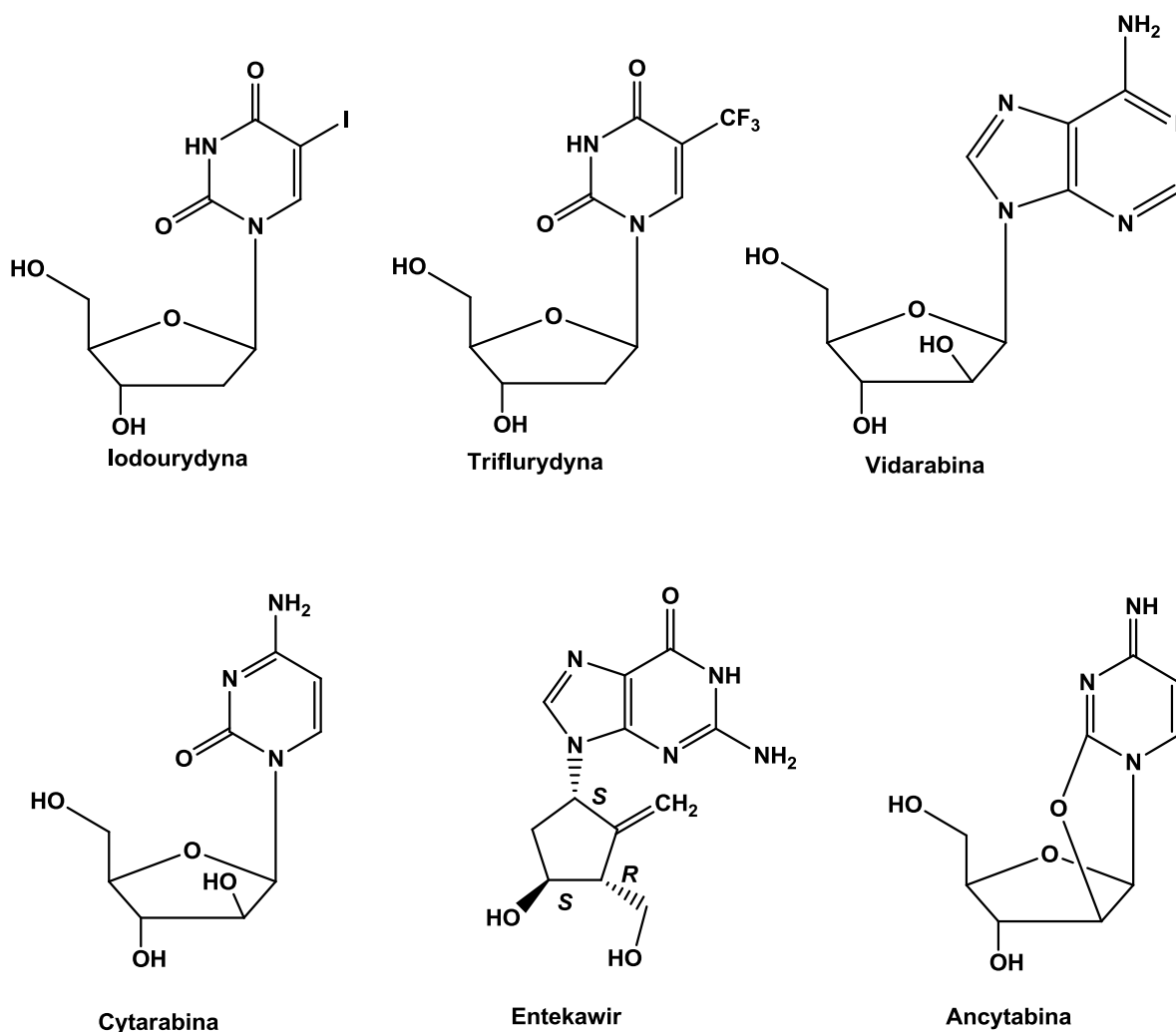
- po fosforylacji do monofosforanu wpływa na biosyntezę prekursorów nukleotydu niezbędnych dla syntezy genomu
- po fosforylacji do trifosforanów współzawodniczą jako inhibitory polimerazy
- po fosforylacji do trifosforanu są wbudowywane w rosnący genom wirusa zaburzając jego wzrost lub jego funkcje

Inhibitory polimerazy DNA

Iodourydyna (1-(2-deoksy-β-D-rybofuranosylo)-5-jodouracyl) stosowana jest od roku 1963 w leczeniu zakażeń rogowki wywołanych wirusem opryszczki. Po wnikięciu do komórki,



ulega fosforylacji do trifosforanu przez wirusową kinazę tymidylanową i wbudowana do wirusowego genomu, zaburza jego działanie.



Rys. 4 Inhibitory polimerazy DNA

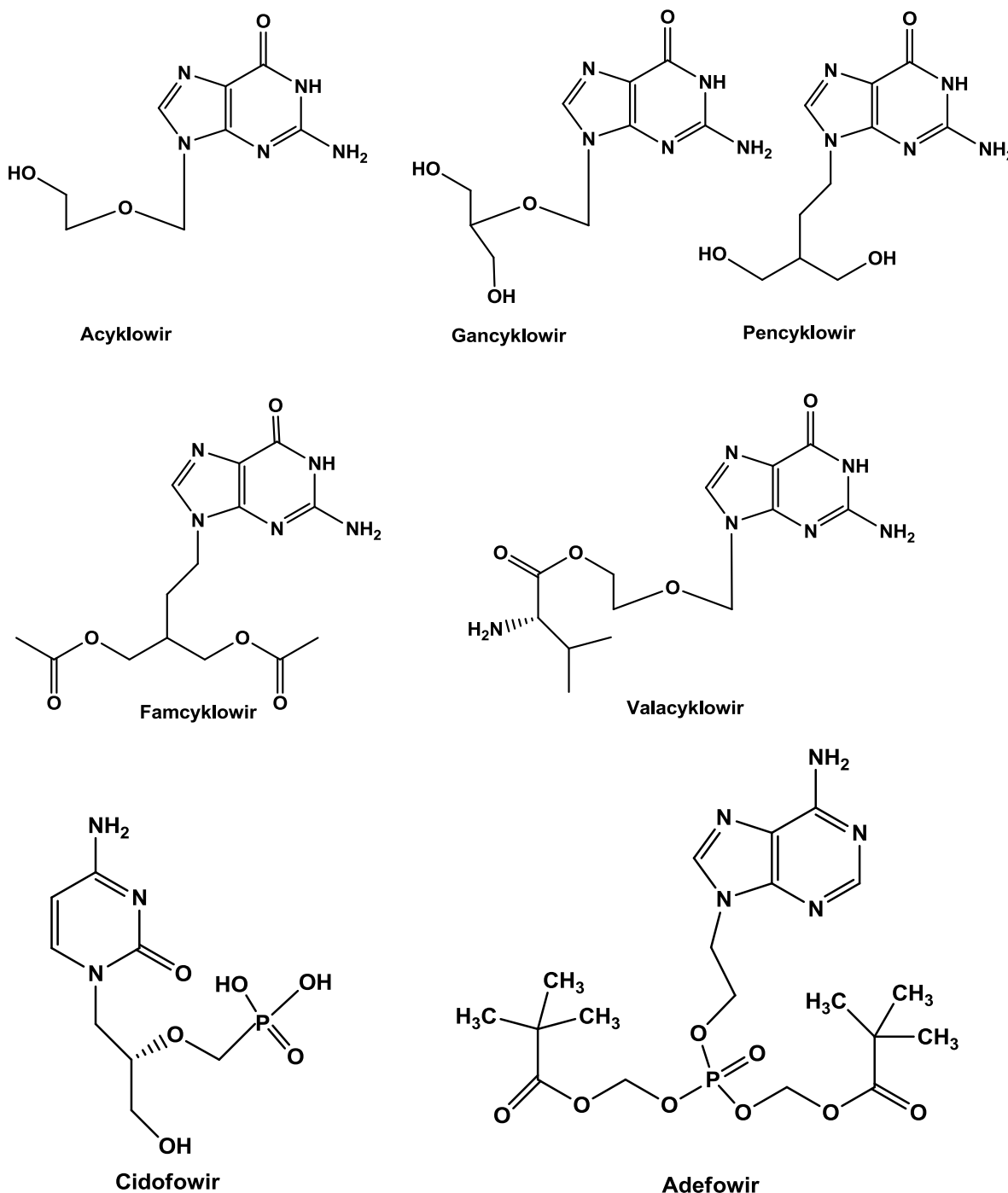
Triflurydyna ((5-trifluorometylo)-2'-deoksy-D-urydyna) jest aktywnym inhibitorem w odniesieniu do wirusów opryszczki (HSV-1 I HSV-2), cytomegalowirusów i niektórych adenowirusów. Jak już wspomniano powyżej monofosforan triflurydyny jest nieodwracalnym inhibitorem syntazy tymidylanowej. Trifosforan trifluorometylouracydyny jest inhibitorem współzawodniczącym z trifosforanem tymidyny dla polimerazy DNA. Wbudowany w genom powoduje jego uszkodzenia (skłonność do pęknięcia) a tym samym słabą aktywność.

Vidarabina (9-β-D-arabinofuranosyladenina) wykazuje znaczną aktywność w odniesieniu do wirusów DNA. Anabolizowana do trifosforanu jest inhibitorem współzawodniczącym z trifosforanem deoksyadenozyny dla polimerazy DNA. Trifosforan Vidarabiny jest także wbudowywany w wiralne i komórkowe DNA, gdzie działa jako terminator elongacji



łańcucha. Vidarabina wywołuje także efekt inhibujący na szereg enzymów zaangażowanych w syntezę prekursorów nukleotydów: syntazę tymidylanową, reduktazę rybonukleotydową, RNA poliadenylazę i hydrolazę S-adenozylhomocysteinową.

Nukleozydy acykliczne o działaniu przeciw wirusowym



Rys. 5. Acykliczne nukleozydy o działaniu przeciw wirusowym



Acyklowir (Zovirax) 9-(2-hydroksyetoksymetylo)guanina

Jest efektywnym lekiem przeciwko wirusom opryszczki. Dużą zaletą acyklowiru jest jego obojętność w odniesieniu do komórek nie zainfekowanych wirusem. Lek przenika do zainfekowanych komórek gdzie ulega monofosforylowaniu przez wiralną kinazę tymidynową. Kinaza ta wykazuje duże powinowactwo do acyklowiru, szacuje się, że jest ono ok. 200 razy większe niż kinazy ludzkiej. Kolejne fosforylacje prowadzą do trifosforanu acyklowiru, który jest efektywnym inhibitorem współzawodniczącym dla komórkowego dGTP. Powoduje to zakłócenie aktywności enzymatycznej polimerazy DNA i wzrostu łańcucha wiralnego DNA. Acyklowir wbudowany w genom, ze względu na brak możliwości przyłączenia kolejnego nukleotydu, działa na zasadzie terminatora łańcucha.

Walacyklowir

Jet to pochodna acyklowiru, jego L-walinian, estryfikacja zwiększa lipofilowość związku a tym samym i jego biodostępność, ok. 3 – 5 razy w porównaniu z acyklowirem,

Gancyklowir 9-((1,3-dihydroksypropan-2-yloksy)metylo)guanina

Wprowadzenie dodatkowej grupy hydroksymetylowej do łańcucha hydroksyetylowego spowodowało, że oprócz aktywności w odniesieniu do wirusa opryszczki i półpaśca (ospy), związek wykazuje także aktywność w odniesieniu do cytomegalowirusów. Mechanizm działania gancyklowiru jest taki sam jak acyklowiru. Ma jednak znaczny wpływ na aktywność polimerazy komórek gospodarza i powoduje efekty uboczne, objawiające się głównie zmianami w obrazie krwi. Wywiera także negatywny efekt na system nerwowy, wywołując bóle głowy, konwulsje i zmiany w zachowaniu.

Pencyklowir i Famcyklowir 9-(4-hydroksy-3-(hydroksymetylo)butylo)guanina

Działanie pencyklowiru jest podobne do acyklowiru. Ma działanie słabsze na wiralną polimerazę, ale jest stabilniejszy w komórkach a tym samym jego stężenie i okres działania jest znacznie dłuższy. Inhibuje wzrost wiralnego DNA poprzez współzawodniczenie z komórkowymi trifosforanami nukleozydów o miejsce aktywne kinazy tymidynowej. Famcyklowir jest dioctanem pencyklowiru..



Cidofowir (HPMPC, Vistide) kwas (S)-(1-(4-amino-2-oksopirymidyn-1(2H)-ylo)-3-hydroksypropan-2-yloksy)metylofosfonowy

Wykazuje znaczną aktywność przeciw wirusową w odniesieniu do cytomegalowirusa i ospy. Obecny w cząsteczce kwas fosfonowy nie jest hydrolizowany przez fosfatazy komórkowe, ale fosforylowany przez kinazy komórkowe do difosforanu. Difosforan Cidowiru jest inhibitorem współzawodniczącym wiralnej polimerazy DNA, podobnie jak inni przedstawiciele tej grupy leków może być także wbudowany w rosnący łańcuch wiralnego DNA i zaburzyć jego prawidłowy wzrost.

Adefowir kwas 2-[(purynyl-9-ilo)etoksy]metylofosfonowy

Prekursor adefowiru, zawierający dwie cząsteczki piwaloilanu hydroksymetylu jest czynnie transportowany do komórek ssaków, gdzie ulega przekształceniu przez enzymy gospodarza do difosforanu adefowiru. Difosforan adefowiru hamuje odwrotną polimerazę wirusa żółtaczki B, poprzez konkutowanie z naturalnym substratem dATP, a po wbudowaniu się do DNA wirusa powoduje terminację łańcucha DNA. Związek wykazuje działanie selektywne, w odniesieniu do wiralnej polimerazy DNA, stężenie ok. 10-700 razy mniejsze niż konieczne do zahamowania ludzkich polimeraz DNA. Stosowany w leczeniu chronicznej żółtaczki typu B u dorosłych, z czynną replikacją wirusa. W przeciwieństwie do Lamiwudyny, uodpornienie wirusa następuje znacznie wolniej.

Nukleozydy o działaniu antywirusowym

AZT (Zidovudine) 1-(2',3'-dideoksy-3'-azydo-β-D-erytro-pentofuranozylo)tymina

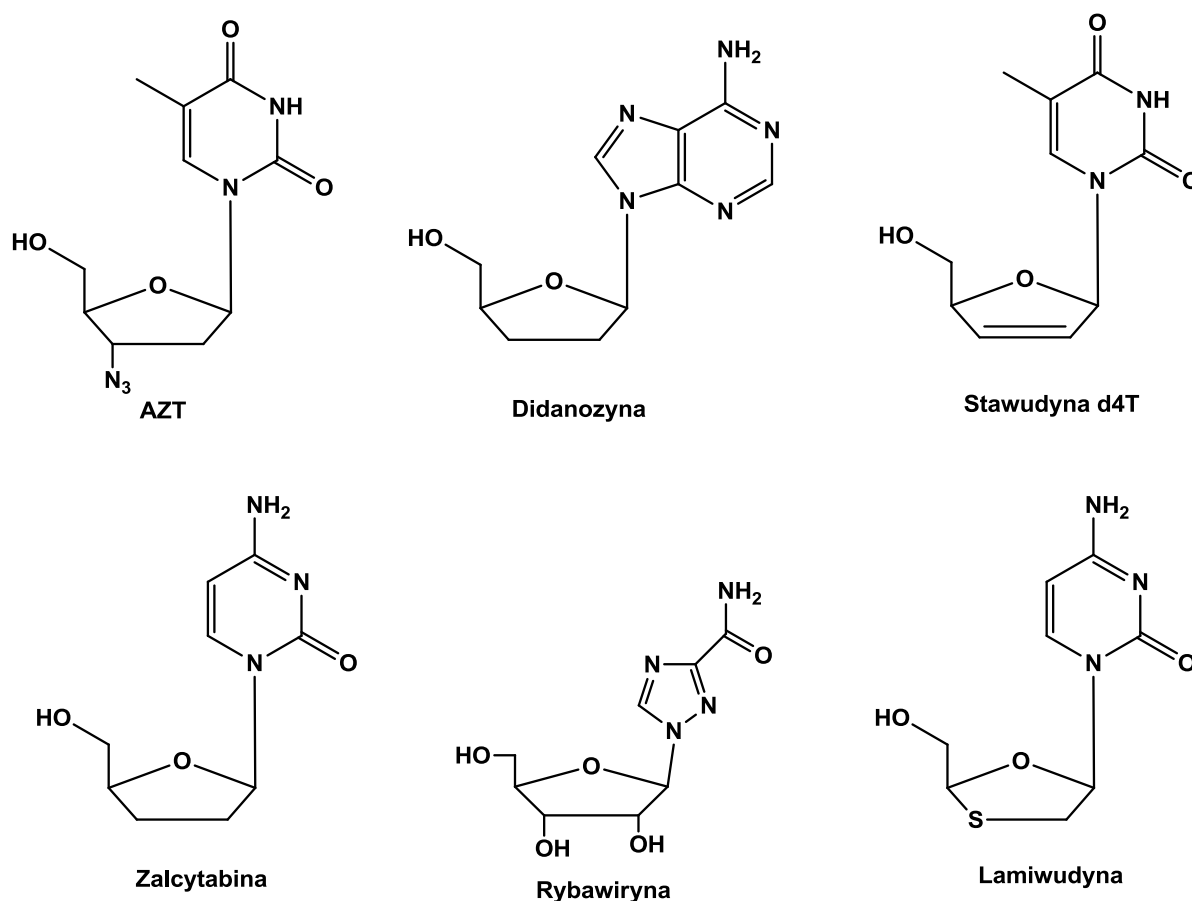
AZT i kolejne pochodne z tej serii wykazują podobne działanie: po wnikięciu do komórki są fosforylowane przez kinazy komórkowe do odpowiednich trifosforanów, które tworzą stabilne kompleksy z odwrotną transkryptazą i spowalniają syntezę wiralnego DNA (Rys. 6). Są także inhibitorami współzawodniczącymi z dTTP o miejsca aktywne polimerazy DNA. Wbudowane w transkrypt działają jako typowe terminatory wzrostu łańcucha. AZT jest aktywne w odniesieniu do wirusa HIV-1, HIV-2 i HTLV-1. AZT MP inhibuje kompetencyjnie kinazę tymidylanową. Selektywność AZT wynika z wyższej powinowactwa do odwrotnej transkryptazy HIV (ok. 100 razy) niż ludzkiej polimerazy DNA. Szczególnie wrażliwa na działanie AZT jest ludzka mitochondrialna polimeraza DNA, rezultatem może być obserwowana toksyczność azydotymidyny.



Lamiwudyna (3TC, (-)-(S)-ddC), (-)-β-L-(2R, 5S)-1,3-oksatiolanylocytozyna

Lamiwudyna jest aktywnym antywirusowym lekiem zarówno w odniesieniu do wirusa HIV jak i HBV. Podobnie jak związki opisane wyżej Lamiwudyna ulega fosforylacji do trifosforanu, który hamuje działanie odwrotnej transkryptazy a wbudowany w rosnący łańcuch wirusowego DNA powoduje jego terminację.

Lamiwudyna hamuje rozwój HBV, zmniejsza jego ilość we krwi do wartości niewykrywalnych w testach, a może nawet spowodować wytworzenia przeciwciał. Jej skuteczność podczas rocznego leczenia jest porównywalna z jedynym dostępnym dotychczas preparatem - interferonem alfa. Ujemną cechą stosowania Lamiwudyny jest szybko pojawiająca się oporność.



Rys. 6 Inhibitory odwrotnej transkryptazy

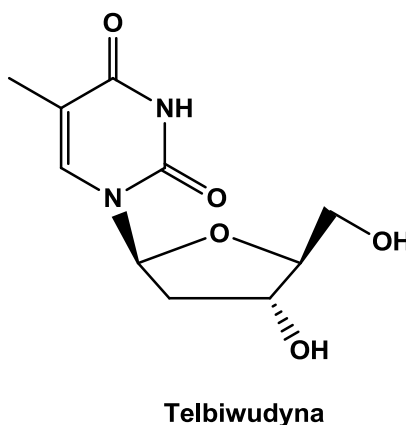
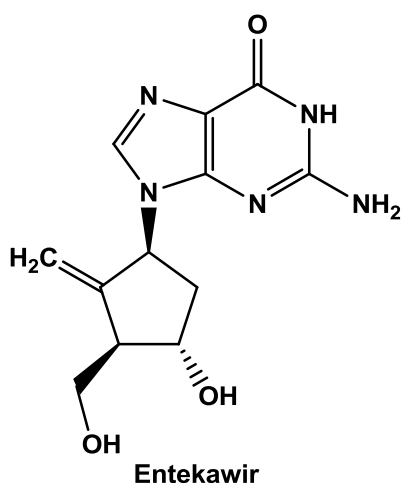
Rybawiryna (Ribavirin) 1-(β-D-rybofuranozylo)-1,2,4-triazolo-3-karbonamid

Rybawiryna wykazuje szerokie spektrum działania antywirusowego. Jest aktywna zarówno przeciw DNA jak i RNA-wirusom. Mechanizm jego działania nie do końca jest wyjaśniony.



Jest niespecyficznym substratem dla kinaz, jest fosforylowany zarówno przez kinazy wirusowe jak i ludzkie do mono- i trifosforanu. Rybawiryna jest inhibitorem dehydrogenazy monofosforanu inozyny, co powoduje hamowanie konwersji inozyny w ksantynę i dalej syntezę guanozyny. Trifosforan rybawiryny hamuje wiralna polimerazę RNA a także mRNA przez hamowanie enzymów związanych z guanylo-N-metylotransferazą. Stosowany jest w leczeniu klinicznym ostrych zakażeń dróg oddechowych wirusem RSV (Respiratory Syncytial Virus) a także w leczeniu przewlekłego zakażenia wątroby wirusem HCV

Entekawir 9-((1*S*,3*R*,4*S*)-4-hydroksy-3-(hydroksymetylo)-2-metylenocyklopentylo) guanina jest aktywny w odniesieniu do polimerazy HBV. Po podaniu ulega fosforylacji do trójfosforanu. W tej formie konkuruje z trifosforanem guanozyny i inhibuje odwrotną transkryptazę HBV poprzez uniemożliwienie odnalezienia primera, odwrotną transkrypcję z nici antysensowej za pomocą RNA i syntezę sensownej nici DNA HBV.



Telbiwudyna 1-((2*S*,4*R*,5*S*)-4-hydroksy-5-(hydroksymetylo)tetrahydrofuran-2-yl)-5-tymina

Przeznaczony do stosowania dla pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B (CHB). Powoduje szybkie zatrzymanie aktywności wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) u dorosłych pacjentów z objawami replikacji wirusa. Na razie nie jest dopuszczony w kraju.