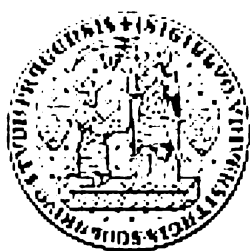


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA BIOCHEMIE



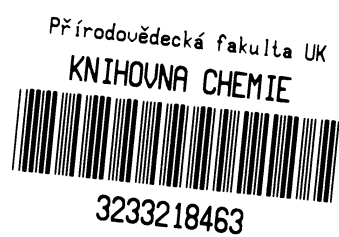
Protinádorová léčiva a jejich mechanismus působení

Bakalářská práce

Renata Beránková

Školitelka: Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.

Praha 2008



Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod odborným vedením Prof. RNDr. Marie Stiborové, DrSc. a všechny použité prameny jsem řádně citovala.

V Praze dne 3. 6. 2008

Renata Beránková.....

Renata Beránková

Ráda bych poděkovala své školitelce Prof. RNDr. Marii Stiborové, DrSc. za zadání tématu a odborné vedení při vypracování této práce.

Obsah

1.	Cíl práce	8
2.	Úvod	9
3.	Mechanismus účinku látek s protinádorovou účinností	10
3.1.	Mechanismus účinku konvenčních cytostatik	10
3.1.1.	Inhibice biosyntézy nukleových kyselin	12
3.1.1.1.	Analoga kyseliny listové	12
3.1.1.2.	Purinová analoga	13
3.1.1.3.	Pyrimidinová analoga - fluorované pyrimidiny	13
3.1.1.4.	Inhibitory ribonukleotidreduktázy	14
3.1.1.5.	Analoga aminokyselin	14
3.1.2.	Poškození struktury a funkce nukleových kyselin	14
3.1.2.1.	Alkylace	14
3.1.2.2.	Interkalace (vmezeření)	15
3.1.2.3.	Inhibice topoizomeráz	15
3.1.2.4.	Rozštěpení molekuly DNA (radiomimetický účinek)	16
3.1.3.	Alterace mikrotubulárního proteinu	16
3.1.4.	Inhibice proteosyntézy	17
3.1.5.	Kombinované účinky	17
3.1.6.	Poškození buněčné membrány	17
4.	Alkylační a arylační látky	19
4.1.	β -chloraminy	19
4.2.	Oxazofosforiny	21
4.3.	Estery sulfonových kyselin	23
4.4.	Ethyleniminy (aziridiny)	24
4.5.	Deriváty platiny	25
4.6.	Alkylační deriváty močoviny	26
4.7.	Antibiotika s převážně alkylačním mechanismem účinku	28
4.8.	Alkylační deriváty alkoholických cukrů	29
4.9.	Látky s kombinovaným mechanismem účinku	30
5.	Cyklofosfamid	32
5.1.	Metabolismus cyklofosfamidu	32

5.2.	Imunosupresivní účinky a vylučování cyklofosfamidů.....	33
5.3.	Indikace cyklofosfamidů	33
5.4.	Nežádoucí účinky cyklofosfamidů.....	33
6.	Doxorubicin (adriamycin)	34
6.1.	Struktura a mechanismus účinku doxorubicinu	34
6.2.	Metabolismus doxorubicinu	34
6.3.	Indikace doxorubicinu.....	35
6.4.	Nežádoucí účinky doxorubicinu.....	36
7.	Ellipticin	37
7.1.	Struktura ellipticinu	37
7.2.	Mechanismus účinku ellipticinu.....	37
7.2.1.	Interkalace do DNA.....	37
7.2.2.	Inhibice topoizomerázy II	38
7.2.3.	Inhibice fosforylace p53	38
7.3.	Indikace ellipticinu	38
7.4.	Ellipticin jako „pro-léčivo“	39
7.5.	Metabolismus ellipticinu	39
7.6.	Oxidace ellipticinu peroxidasami	40
8.	Závěr.....	42
	Seznam použité literatury	43

Seznam použitých zkratek

ACNU	nimustin
ADA	adenosindeamináza
AMP	adenylová kyselina
ara-U	arabinofuranosyluracil
AZQ	diazichon
BCNU	karmustin
C	cytosin
CBDCA	karboplatina
CCNU	lomustin
CDDP	cisplatina
CNS	centrální nervová soustava
COX-1	ovčí cyklooxygenasa
COX-2	lidská cyklooxygenasa
CYP	cytochrom P450
DADAG	dianhydrodiacetylgalaktitol
DAG	dianhydrogalaktitol
DBD	dibromdulcitol
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DSU	diarylsulfonylurea
DTIC	dakarbazin
EKG	elektrokardiogram
ENP	enloplatina
FdUMP	5-fluorodeoxyuridinmonofosfát
5-FUMP	fluorouridinmonofosfát
FUTP	5-fluorouridintrifosfát
G	guanin
G ₀ fáze	klidová fáze
G ₁ fáze	presyntetická fáze
G ₂ fáze	postsyntetická fáze
GMP	guanylová kyselina
HECNU	elmustin

HGPRT	hypoxantin-guaninfosforibožyltransferáza
HMM	hexamethylmelamin
HRP	křenová peroxidasa
IMP	inosinová kyselina
INN	mafosfamid
I-OHP	oxaliplatina
LPO	hovězí laktoperoxidasa
M fáze	mitóza
MCNU	ranomustin
metyl-CCNU	semustin
MPO	lidská myeloperoxidasa
NAD ⁺	nikotinamidadeninukleotid – oxidovaná forma
NADH	nikotinamidadeninukleotid – redukována forma
NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát – redukována forma
OP	ormaplatina
ORL	otorinolaryngologie
PALA	dvojsodná sůl kyseliny N-fosfonacetyl-L-asparagové
PMM	pentamethylmelamin
p.o.	per os
RNA	ribonukleová kyselina
S fáze	syntetická fáze
SN1	nukleofilní substituce 1
SN2	nukleofilní substituce 2
T	thymin
TCNU	tauromustin
TEPA	triethylenfosforamid
TESPA	thiotepa
ZP	zeniplatina

1. Cíl práce

Cílem této práce bylo shromáždit poznatky týkající se některých protinádorových léčiv a jejich mechanismu působení se zvláštním zřetelem na alkylační a arylační látky, především na cyklofosamid, doxorubicin a ellipticin.

Vypracování bakalářské práce bylo podporováno granty GAČR (203/06/0329) a MŠMTČR (MSM0021620808).

2. Úvod

Nádorová onemocnění jsou jedním z nejzávažnějších problémů klinické medicíny [1]. Postihujícího každého třetího až pátého člověka v populaci [2]. Podle statistických údajů je v ČR u každého pátého občana příčinou úmrtí nádorové onemocnění [3]. Tato civilizační choroba postihuje stále nižší věkové ročníky [1]. Ačkoliv výskyt zhoubných nádorů narůstá každoročně o 2-2,5 %, mortalita se zvyšuje přibližně o 0,9 %, což svědčí o určitém pokroku v léčbě těchto onemocnění. Terapeutické úspěchy však zůstávají ve srovnání s jinými oblastmi medicíny značně omezené. Proto je nutno se zvláštní pozorností sledovat každou novou možnost, která může ke zlepšení léčebných úspěchů přispět [3].

Protinádorová chemoterapie představuje nejdůležitější složku v léčbě zhoubných nádorů [4]. I když základní principy této metody byly formulovány již koncem 70. let minulého století, objevují se stále nové poznatky, kterých lze v klinické praxi účinně využít [3]. Přes významné pokroky, kterých bylo v léčbě nádorových onemocnění chemoterapií dosaženo, je třeba mít na paměti že tato léčebná metoda může mít v samostatném podání kurativní účinek jen u omezeného počtu nádorových onemocnění (např. u choriokarcinomu, u nádorů varlete, u některých druhů leukémií, u Hodgkinovy choroby). V mnoha případech má však chemoterapie významný účinek paliativní a přispívá k prodloužení života nemocného. Přes nežádoucí účinky, kterými je její podání pravidelně provázeno, významně zlepšuje i kvalitu života nemocných. Aby tomu tak skutečně bylo, je třeba indikovat chemoterapii uvážlivě a racionálně, využívat možností její kombinace s jinými metodami protinádorové léčby a důsledně čelit nežádoucím účinkům komplexní podpůrnou léčbou [5].

Chemoterapie může terapeuticky působit tam, kde chirurgická léčba nebo radioterapie se již nemůže uplatnit, případně může účinná chemoterapie omezit jinak nezbytné radikální a současně mutilující chirurgické zákroky [4]. Chemoterapie se používá i v případě, že příznaky rakoviny navenek zmizely, ale je životně nutné zabránit možnému šíření přeživších rakovinných buněk [6].

Léky používané pro protinádorovou léčbu se nazývají cytostatika. Nádorové buňky se rychle dělí a rostou, protinádorová chemoterapie musí tedy ničit rychle rostoucí buňky. Cytostatika však nedokážou rozpoznat nádorovou buňku od normální, a tedy poškozují i rychle rostoucí buňky našeho těla. Důsledkem jsou pak nežádoucí účinky protinádorové chemoterapie [7].

3. Mechanismus účinku látek s protinádorovou účinností

Látky s protinádorovými účinky lze rozdělit do několika skupin:

- konvenční cytostatika
- hormony
- regulační peptidy
- látky omezující metastazování
- inhibitory angiogeneze
- chemosenzibilizátory a chemoprotektiva
- látky indukující diferenciaci a apoptózu [3]

Tato bakalářská práce se zaměřuje na mechanismus účinku konvenčních cytostatik.

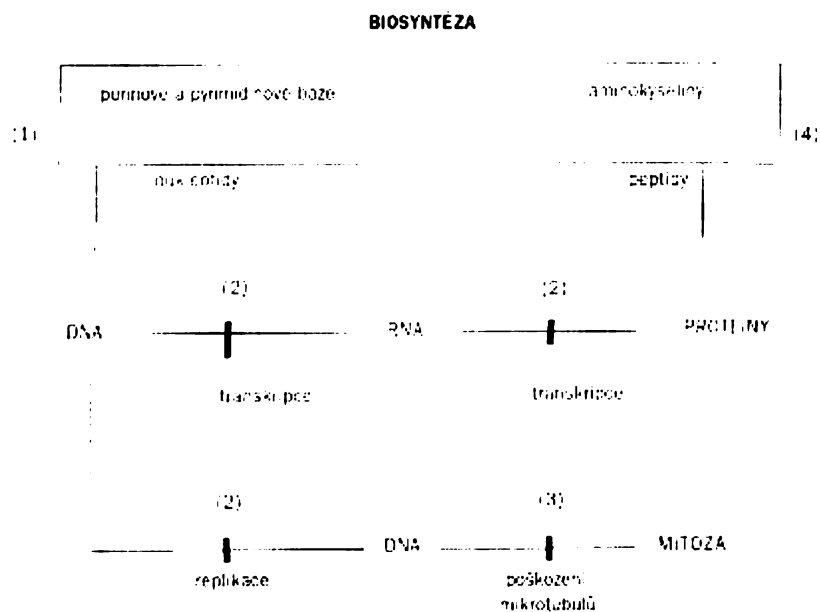
3.1. Mechanismus účinku konvenčních cytostatik

I přes významné pokroky, které vedly k poznání základních mechanismů účinku většiny běžně používaných cytostatik na molekulární úrovni, není dosud mechanismus jejich působení probádán do všech podrobností. Každé cytostatikum může totiž zasahovat do nejrůznějších metabolických pochodů, blokovat rozmanité enzymové systémy, jak fyziologické, tak patologické. Protože zejména patologické cesty metabolismu jsou značně spletené, je velmi obtížné postihnout všechny možnosti [3].

Cytotoxický účinek chemoterapeutik lze rozdělit podle mechanismu tohoto účinku do šesti základních skupin, na látky, které způsobují:

- 1) inhibici klíčových enzymů metabolismu, jež vede k poruše biosyntézy nukleových kyselin s následnou inhibicí buněčného dělení
- 2) přímé poškození struktury již hotových nukleových kyselin, které vede k poruše jejich funkce a následně k inhibici buněčné proliferace
- 3) alteraci mikrotubulárního proteinu vedoucí k abnormálnímu průběhu mitózy a její blokádu v metafázi
- 4) poruchu syntézy proteinů
- 5) kombinované účinky
- 6) poškození buněčné membrány [4]

Na obrázku 1 jsou znázorněny nejčastější mechanismy účinku cytostatik.



Obrázek 1: Mechanismus působení cytostatik: (1) inhibice proteosyntézy, (2) poškození funkce nukleových kyselin, (3) inhibice mitózy, (4) inhibice proteosyntézy (převzato z [4])

Tabulka 1 zobrazuje základní skupiny cytostatik.

Tabulka 1: Skupiny cytostatik (převzato z [8])

Antimetabolity			Interkalační látky a inhibitory topoizomeráz		
<i>Analoga kys. listové</i>	<i>Purinová analoga</i>	<i>Pyrimidinová analoga</i>	<i>Antracykliny</i>	<i>Inhibitory topo I</i>	<i>Inhibitory topo II</i>
methotrexát	merkaptopurin	5-florouracil	doxorubicin	irinotekan	etoposid
	kladribin	gemcitabin	epirubicin	topotekan	teniposid
	fludarabin		mitoxantron		
	pentostatin				
Alkylační látky	Mitotické inhibitory		Radiomimetika	Cytostatika s různými mechanismy účinku	
	<i>Vinka alkaloidy</i>	<i>taxany</i>			
cyklofosamid	vinkristin	paktitaxel	bleomycin	dakarbazin	
ifosamid	vinblastin	docetaxel		prokarbazin	
cisplatina	vinorelbin				
karboplatina					
karmustin					
mitomycin C					

3.1.1. Inhibice biosyntézy nukleových kyselin

Inhibice syntézy DNA vede k inhibici buněčného dělení, a tím pádem k protinádorové účinnosti [9].

Látky strukturně podobné přirozeným metabolitům se nazývají analoga metabolitů. Podle způsobu účinku se také mohou nazývat antimetabolity [4]. Mohou mít přímý inhibiční účinek na dílčí reakce intermediárního metabolismu nebo na enzymy, jejichž aktivita je nutná pro normální průběh metabolických a biosyntetických reakcí. Častěji jsou však antimetabolity nejprve samy metabolicky pozměněny, aktivovány (většinou na nukleotidy) a v této formě inkorporovány do nukleových kyselin. Jindy antimetabolity způsobují inhibici metabolických reakcí mechanismem zpětné vazby [10].

Inhibice syntézy DNA a RNA postihuje normální i nádorové buňky, a v závislosti na velikosti dávky a trvání účinku cytostatika je příčinou zániku buňky. U zhoubných nádorových onemocnění jsou antimetabolity nejúčinnější tam, kde převládají v buněčné populaci rychle proliferující buňky. Proliferující buňky jsou buňky nacházející se v buněčném cyklu. Látky blokující syntézu DNA působí přednostně ve fázi S buněčného cyklu [3].

Antimetabolity se třídí podle substrátů, jejichž metabolismus ovlivňují, na analoga kyseliny listové (antifolika), purinová a pyrimidinová analoga [8]. Dále do této skupiny patří inhibitory ribonukleotidreduktázy a analoga aminokyselin, které se však používají minimálně.

3.1.1.1. Analoga kyseliny listové

Antifolika mohou působit kompetici s foláty o průnik do buňky, inhibici folátových koenzymů, nebo inhibici reakcí katalyzovaných folátovými koenzymy [3].

Methotrexát je nejdéle používaným antifolikem [3]. Způsobuje blokádu enzymu dihydrofolátreduktázy. Tím znemožňuje redukci kyseliny listové (dihydrolistové) na kyselinu tetrahydrolistovou [4]. Za normálních okolností je kyselina tetrahydrolistová kofaktorem pro metabolismus jednouhlíkatých zbytků, které jsou nepostradatelné pro biosyntézu purinů *de novo* a dále pro syntézu kyseliny thymidylové [10]. Inhibici dihydrofolátreduktázy antifolikem lze zrušit současným podáním redukovaných folátů (např. N-formyltetrahydrofolát), popřípadě podáním thymidinu [3].

Antifolika, stejně jako foláty, pronikají do buňky aktivním transportním mechanismem, v buňce jsou přeměněny na polyglutamát, jenž vzniká navázáním 2-4 glutamátů na mateřskou sloučeninu γ -peptidickou vazbou [3].

3.1.1.2. Purinová analoga

Purinové báze (adenin, guanin), resp. jejich nukleotidy, patří k základním stavebním jednotkám nukleových kyselin [10].

Jsou známa analoga guaninu a hypoxantinu, v jejichž molekule je dusík v 6. poloze nahrazen sírou (6-thioguanin, 6-merkaptopurin) [4]. Biologickou účinnost nabývají 6-thiopuriny až po intracelulární aktivaci, tj. po přeměně na příslušný nukleotid, účinkem enzymu hypoxantin-guaninfosforibozyltransferázy (HGPRT). Ve formě nukleotidmonofosfátu inhibují purinová analoga mechanismem zpětné vazby syntézu purinů *de novo* a konverzi kyseliny inosinové (IMP) na kyselinu adenyllovou (AMP) nebo guanylovou (GMP). Do DNA jsou inkorporovány ve formě nukleotidtrifosfátu a vedou k „falešné syntéze“ [3].

Mezi analoga adeninu, resp. adenosinu patří adeninarabinosid [11]. Jeho protinádorové účinky byly ověřeny pouze u laboratorních zvířat [10]. Jeho 2-fluoromonofosfátový analog (fludarabin) nepodléhá deaminaci a má značný cytotoxický účinek na lymfoidní tkáň. Inkorporuje se též do RNA a poškozuje nejen transkripci, ale i translaci. Mezi analoga adenosinu patří též 2'-deoxykoformycin, který je silným inhibitorem adenosindeaminázy (ADA). Nahromadění deoxyadenosinu (a následně deoxyadenosintrifosfátu) v buňce inhibuje ribonukleotidreduktázu, a tím tvorbu deoxyribonukleotidů nutných pro syntézu DNA [3]. Mezi další adenosinová analoga patří 2-chlorodeoxydenosin, kladribin, který působí inhibicí opravy poškozené DNA [10].

3.1.1.3. Pyrimidinová analoga - fluorované pyrimidiny

Mezi analoga uracilu patří 5-fluorouracil, který působí nejméně dvěma mechanismy [4]. Po intracelulární konverzi na nukleotid (fluorouridinmonofosfát, 5-FUMP) může teprve vzniknout vlastní aktivní látka, kterou je buď 5-fluorouridintrifosfát (FUTP) nebo 5-fluorodeoxyuridinmonofosfát (FdUMP) [3]. První antimetabolit se inkorporuje do DNA a poškodí její funkci, druhý je mohutným inhibitorem thymidylátsyntetázy. Blokuje tedy tvorbu deoxythymidintrifosfátu (kyseliny thymidylové), a tím i syntézu DNA. Důležitým kofaktorem pro tvorbu FUMP je fosforibosylpyrofosfát [10].

Cytosin arabinosid je analog cytidinu, kde ribóza je nahrazena arabinosou [4]. V organismu je velmi rychle inaktivován (deaminován) na arabinofuranosyluracil (ara-U) [10].

3.1.1.4. Inhibitory ribonukleotidreduktázy

Mezi tyto inhibitory patří hydroxymočovina („hydroxyurea“), která blokuje účinek ribonukleotidreduktázy. Tím se znemožní konverze ribonukleotidů na deoxyribonukleotidy a zablokuje se syntéza DNA [3]. „Hydroxyurea“ blokuje též opravu poškozené DNA, omezuje vazbu vitamínu B₁₂ na transkobalamin II a působí deficit vitamínu B₁₂ [10].

3.1.1.5. Analoga aminokyselin

Analoga aminokyselin jsou látky strukturně blízké přirozeným aminokyselinám a jejich podání interferuje s normálním metabolismem aminokyselin [3]. Analoga kyseliny L-asparagové, L-alanosin a PALA, inhibují syntézu pyrimidinů *de novo* [10]. Použití těchto látek jako protinádorových léčiv je minimální.

3.1.2. Poškození struktury a funkce nukleových kyselin

Poškození má za následek alteraci biologických funkcí nukleových kyselin. Z hlediska cytotoxického účinku má největší význam inhibice replikace a inhibice transkripce, méně často se uplatní inhibice translace [10].

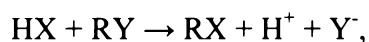
Ke strukturnímu poškození nukleových kyselin může dojít různými způsoby:

- alkylace
- interkalace
- inhibice topoizomeráz
- rozštěpení molekuly DNA [3]

3.1.2.1. Alkylace

Tento způsob zásahu do buněčné proliferace se předpokládá nejen u látek zařazovaných mezi tzv. alkylační činidla neboli alkylaminy, ale uplatní se i u některých jiných skupin syntetických přípravků (např. u derivátů nitrózomočoviny, mitomycinu C, derivátů manitolu, platinových derivátů, aj.) [3].

Z chemického hlediska se lze na alkylici dívat jako na konverzi:



kde R je alkylační skupina a X substrát (nukleová kyselina nebo molekula bílkoviny, která je alkylována na dusíku, síře nebo kyslíku) [10].

Předpokladem reakce je přítomnost vhodného substrátu, resp. schopnost chemické skupiny substrátu uvolnit elektron (elektrofilní povaha intermediátu). Aktivace alkylační látky nastává buď enzymově, nebo spontánně ve vodném roztoku např. intramolekulární cyklizací za tvorby ethylenimonia a postupné přeměny v aktivní karbeniový ion [3]. Alkylační látky porušují funkce buňky navázáním alkylačních skupin na amino, karboxy, sulfohydrylové nebo fosfátové skupiny [8].

Chemické změny vyvolané alkylicí a působící změnu biologické funkce mohou být několikerého typu. Je to prostá substituční reakce, která spočívá buď v substituci bázi, nebo v esterifikaci fosfátů. Dále to je bifunkční substituční reakce, která vyžaduje, aby alkylační látka měla dvě funkční skupiny schopné reakce [3].

Alkylace má kromě cytotoxického účinku též účinek mutagenní, s nímž nepochybně souvisí též účinek kancerogenní. Cytotoxický účinek převažuje u bifunkčních nebo polyfunkčních alkylačních látek, kdežto monofunkční látky jsou odpovědné spíše za mutagenní účinky. Přítomnost substituované skupiny je totiž odpovědná za chybné párování bázi při replikaci a transkripci (G-T namísto G-C), může také dojít k oslabení glykosidové vazby a k následné depurinaci (uvolnění celého alkylovaného nukleotidu). Depurinace pozmění molekuly DNA natolik, že dojde k rozštěpení řetězce DNA [10].

3.1.2.2. Interkalace (vmezeření)

Je to nekovalentní vazba cytostatika na molekulu DNA [4]. Molekula cytostatika se zasune mezi řetězce DNA, kde se podle charakteru své molekuly váže různými typy interakcí. Inhibuje se tak replikace a transkripce, tedy i syntézy RNA závislé na DNA [3]. Tímto mechanismem působí antracyklinová antibiotika, aktinomycin D, deriváty antrachinonu, deriváty akridinu, ellipticiny či nově zaváděné deriváty rebecamycinu [10].

3.1.2.3. Inhibice topoizomeráz

DNA-topoizomerázy jsou nukleární enzymy, které mají zásadní význam pro hladký průběh replikace. Dvojspirála DNA prodělává torzi kolem vlastní osy, jež by vedla k „překroucení“ šroubovice a ke zlomu v řetězci. Kritické období nastává při vzniku

replikační vidličky v S-fázi buněčného cyklu. Topoizomeráza I se váže na jeden řetězec dvojspirály, který rozpojí, uvolní nadměrnou torzi a přerušovaný řetězec opět spojí. Dočasné přerušení řetězce umožní zahájení replikačního procesu. Topoizomeráza II se váže na oba řetězce dvojspirály, působí jejich přerušení a vzápětí opětné spojení a umožní separaci chromozomů při mitóze. Obě topoizomerázy tedy ovlivňují tzv. topologii DNA [3].

Při blokádě funkce obou topoizomeráz nedojde k opětovnému spojení rozštěpených řetězců a tyto zlomy v DNA mají pro další osud buňky letální účinek [10]. Mezi cytostatika působící inhibici topoizomerázy I patří kamptotecin a jeho deriváty. Mezi cytostatika působící inhibici topoizomerázy II patří tenipozid, etopozid a většina interkalačních látek [3].

3.1.2.4. Rozštěpení molekuly DNA (radiomimetický účinek)

Zlomy v jednom, popřípadě v obou řetězcích DNA (rozštěpení molekuly DNA) způsobují některá protinádorová antibiotika polypeptidové povahy (bleomycin, neokarcinostatin). Pro podobnost s účinkem záření se označují jako radiomimetika. Tento účinek je zprostředkován kyslíkovými radikály, které vznikají z komplexu bleomycinu se železem jako výsledek několikasupňové reakce [3]. Nejprve dochází k aktivaci komplexu bleomycin-Fe(II)-O₂, poté mikrosomální enzymy za přítomnosti NADPH a NADH konvertují komplex na bleomycin-Fe(III) za současné redukce molekulárního kyslíku na superoxid nebo hydroxylový radikál [10].

Polypeptidová antibiotika jsou v organismu inaktivována aminopeptidázami [3].

3.1.3. Alterace mikrotubulárního proteinu

Přípravky, které poškozují strukturu a funkci mikrotubulů, se někdy též označují jako „mitotické jedy“. Svůj cytotoxický účinek uplatňují převážně v průběhu mitózy.

Alterace mikrotubulů poškodí funkci dělicího vřetenka, které zajišťuje správnou migraci chromozómů k pólům dělicí se buňky. Většina používaných cytostatik této skupiny omezuje syntézu tubulinu, bílkoviny tvořící buněčné mikrotubuly [10]. Mikrotubuly se též podílejí na udržení tvaru buňky, na buněčné motilitě a na přenosu signálů mezi povrchovými membránovými receptory a jádrem. Inhibice polymerace (inhibice tvorby mikrotubulů) nebo jejich rozrušení (krystalizace) ovlivní všechny zmíněné funkce a zablokuje průběh mitózy v metafázi. Tímto mechanismem se vysvětluje protinádorový účinek kolchicinu a alkaloidů z *Vinca rosea* [3].

Látky, které urychlují tvorbu mikrotubulů a stabilizují již vytvořené mikrotubuly (inhibice depolymerizace), se nazývají taxany. Taxany též blokují tranzit buněk z fáze G₀ do fáze M [3].

3.1.4. Inhibice proteosyntézy

Jednou z podmínek růstu normálních i nádorových buněk je syntéza bílkovin [10].

L-asparagináza je enzym, který vyvolává depleci L-asparaginu jeho přeměnou na kyselinu asparagovou a amoniak. Extracelulární nedostatek L-asparaginu poruší selektivně buňky s deficitem vlastní L-asparaginsyntetázy, který byl zjištěn zejména v buňkách lymfoproliferací vycházejících z řady T. L-asparaginsyntetázu je možno inhibovat některými nově studovanými látkami (acivicin) [3].

Syntéza bílkovin může být ovlivněna i nepřímo, inhibicí translačních pochodů (anguidin, homoharingtonin, didemnin B) [10]. Inhibitory proteosyntézy (kromě L-asparaginázy) jsou vysoce toxické, proto se tato cytostatika v klinické praxi zatím příliš nepoužívají [3].

3.1.5. Kombinované účinky

Cytostatikum může účinkovat současně jako antimetabolit i jako alkylační látka, většina interkalačních látek působí současně inhibicí topoizomerázy II a podobně [10]. Komplexnějším mechanismem patrně účinkují i látky řazené některými autory k alkylačním činidlům (např. prokarbazin, hexamethylmelamin), označované někdy pro svou odlišnost jako neklasické alkylační látky [3]. Jejich metabolity vzniklé mikrosomální aktivací mají sice alkylační účinek, ale není jisté, do jaké míry je tento účinek rozhodující pro cytotoxicitu přípravku [10].

3.1.6. Poškození buněčné membrány

Letální účinek pro buňku může mít změna fluidity, permeability, poškození membránových receptorů a porušení integrity membrány. Interkalace cytostatik s buněčnou membránou byly prokázány u antracyklinů. Jejich vazbou na bílkovinu membrány, spektrin a na membránový fosfolipid kardiolipin, může dojít k hrubému porušení membrány a k inhibici buněčné proliferace [10].

Látky, jejichž protinádorový účinek se vysvětluje převážně účinkem na buněčnou membránu se nazývají alkyl-lyzofosfolipidy (edelfosin, miltefosin, ilmofosin). Inhibují

vazbu růstových faktorů na receptory membrány, mění aktivitu proteinkináz a fosfolipáz [3].

Povrchové vlastnosti membrán mohou být ovlivněny též účinkem tzv. polyelektrolytů (polyanionty, polykationty – polyaminy). Polyaminy ovlivňují membránové receptory, ale mají též význam v proliferaci normálních i nádorových buněk, neboť jejich koncentrace nápadně vzrůstá v proliferujících tkáních [3].

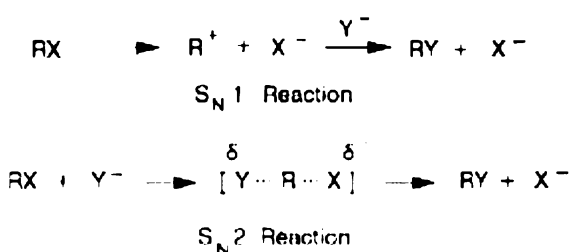
V tabulce 2 jsou uvedeny některé léky užívané v chemoterapii nádorů.

Tabulka 2: Některé léky užívané v chemoterapii nádorů (převzato z [12])

Třída látek	Příklad	Místo účinku	Užití v léčbě
Alkylační látky	Melfalan	Alkyluje DNA a ostatní molekuly	Myelom
Antimetabolity Antagonisté purinů	Merkaptopurin	Mění se na „podvojně“ nukleotidy a inhibuje syntézu purinů	Akutní myelocytová leukemie
Antagonisté pyrimidinů	Fluorouracil	Mění se na „podvojně“ nukleotidy a inhibuje thymidylátsynthetasu	Kolorektální karcinom
Antagonisté folátu	Methotrexát	Inhibují dihydrofolátreduktasu	Choriokarcinomy
Protinádorová antibiotika	Doxorubicin	Vmezeřuje se do DNA a stabilizuje komplex DNA-topoisomerasa II	Hodgkinova choroba
Ostatní látky	Cisplatina „Hydroxyurea“	Způsobuje zlomy v řetězci DNA Inhibuje ribonukleotidreduktasu	Karcinom plic Chronická myelocytová leukemie

4. Alkylační a arylační látky

Mezi nejdéle používaná cytostatika patří alkylační látky (alkylderiváty, alkylaminy) [4]. Mateřská látka celé početné skupiny je dusíkatý yperit [5]. Mezi alkylační substance se počítají všechny látky, které mohou prostřednictvím svých radikálů či jiných reaktivních intermediátů reagovat s nukleofilními centry molekul buněčných struktur, a mají tedy podobný mechanismus účinku [3]. Tyto látky se dělí na dvě slupiny: ty, které reagují přímo s biologickými molekulami a ty, které tvoří reaktivní meziprodukt, který pak reaguje s biologickými molekulami. Tyto reaktivní skupiny jsou označovány jako skupiny participující na SN1 a SN2 reakcích (obr. 2). Do skupiny tzv. SN1 patří například dusíkatý yperit, do tzv. SN2 busulfan [13]. Alkylační látky poškozují jak buňky klidové, tak i buňky, které se množí [14]. Proto je nevýhodou těchto látek nejen riziko značné hematologické toxicity, ale též možnost indukce druhotných malignit [5].



Obrázek 2: SN1 a SN2 reakce alkylačních a arylačních látek (převzato z [13])

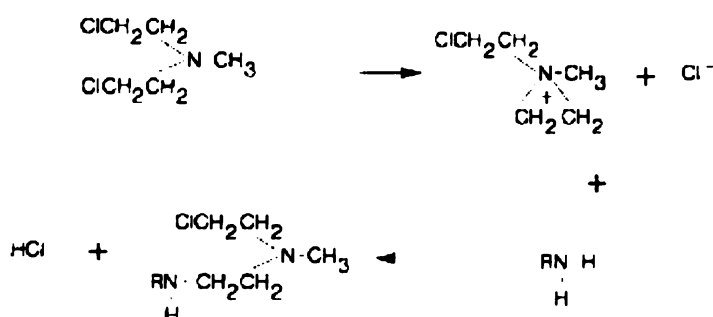
Alkylační a arylační látky lze třídit podle druhu funkční skupiny do několika podskupin:

- β -chloraminy
- Oxazofosforiny
- Estery sulfonových kyselin
- Ethyleniminy (aziridiny)
- Deriváty platiny
- Alkylační deriváty močoviny
- Antibiotika s převážně alkylačním mechanismem účinku
- Alkylační deriváty alkoholických cukrů [3]

4.1. β -chloraminy

Jedním z nejdéle používaným cytostatikem je dusíkatý yperit (N-mustard, NSC 762, bis-(β -chlorethyl)-methylamin, mechlorethamin) [3]. Na obrázku 3 je znázorněn jeho

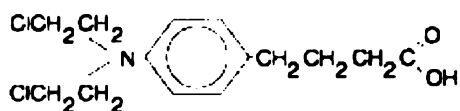
mechanismus alkylace. Ve vodném roztoku je vysoce aktivní, ale záhy se rozkládá a ztrácí aktivitu [3]. Působí nejen na dělící se buňky, ale také na buňky v G₀ fázi, tzv. buňky klidové, což zvyšuje jeho účinnost, ale také toxicitu [4]. Dusíkatý yperit je značně toxické cytostatikum, které se dnes používá pouze při léčbě syndromu horní duté žíly [5]. Mezi nežádoucí účinky patří útlum krvetvorby, nevolnost, zvracení, hypersenzitivní reakce, azoospermie, poruchy menstruačního cyklu, hyperurikémie a vznik sekundárních malignit [3].



Obrázek 3: Alkylační mechanismus účinku dusíkatého yperitu (převzato z [13])

Dalším zástupcem β -chloraminů je trichlormethin (NSC 30211, tris-(β -chloroethyl)amin). Je to derivát dusíkatého yperitu, kde je methylová skupina nahrazena dalším chlorethylem. Indikace a nežádoucí účinky jsou obdobné jako u dusíkatého yperitu [3].

Dále do této skupiny patří chlorambucil (NSC 3088, kyselina 4-/4-di(2-chlorethyl)aminofenyl/máselná) (obr. 4). Je to alkylamin obsahující terminální karboxyl. Resorbuje se dobře z trávicího ústrojí. Je eliminován β -oxidací [3]. Používá se hlavně k léčbě lymfoproliferativních onemocnění. Je základním lékem chronické lymfatické leukémie [5]. Nežádoucí účinky jsou relativně vzácné. Po vyšších dávkách je to útlum krvetvorby, poškození jaterního parenchymu, trávicí potíže a občas drobné kožní nekrozy [3].



Obrázek 4: Chlorambucil (převzato z [13])

Melfalan (NSC 8806, p-di-(2-chlorethyl)aminofenylalanin) (obr. 5) je alkylační látka se značnou hematologickou toxicitou [3, 5]. Vstřebává se velmi nespolehlivě z trávicího traktu [4]. Používá se k léčbě mnohočetného myelomu. Přípravek má mutagenní a kancerogenní účinky [3]. V popředí nežádoucích účinků stojí myelotoxicita [5]. Častá je nevolnost a zvracení [3].



Obrázek 5: Melfalan (převzato z [13])

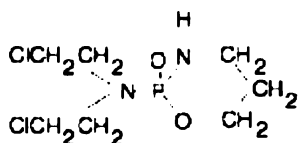
Mezi jiné β -chloraminy patří:

- Peptichemio
- Spiromustin
- Nitromin
- Asalin
- Uracil mustard [3]

4.2. Oxazofosforiny

Oxazofosforiny jsou alkylační látky, které byly připraveny jako méně toxické transportní formy alkylačních činidel. Mateřskou látkou a nejpoužívanějším cytostatikem této skupiny je cyklofosfamid [10].

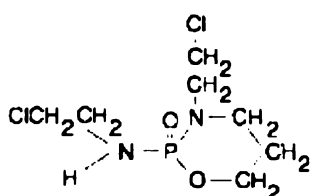
Cyklofosfamid (NSC 26721, 2/bis - (2 - chlorethyl) - amino/ - tetrahydro - 2H - 1,2,3 – oxazofosforin – 2 - oxid) (obr. 6) patří mezi bifunkční alkylační látky [3]. Cyklofosfamid je fázově nespecifický a má výrazné imunosupresivní účinky [4]. Používá se k léčbě hematologických malignit a solidních nádorů [5]. Nežádoucí účinky jsou při konvenčních dávkách mírné (nevolnost, zvracení, alopecie). Mezi pozdní účinky patří poruchy fertility, azoospermie a vznik druhotných malignit [3].



Obrázek 6: Cyklofosfamid (převzato z [13])

Cyklofosfamid a jeho působení podrobněji popisuje kapitola 5.

Mezi oxazofosforiny patří dále ifosfamid (NSC 109724, 3-(2-chlorethyl)-2-/(2-chloethyl)-amino/-tetrahydro-2H-1,3,2-oxazafosforin-2-oxid) (obr. 7), který je metabolicky aktivován v játrech na aldoifosfamid a ifosforamid „mustard“, který se kovalentně váže na DNA, kdežto další metabolit akrolein se váže na urotel a je příčinou urotoxicity [3]. Stal se nepostradatelnou součástí kombinací u bronchogenního karcinomu, u sarkomů měkkých tkání, ale též u karcinomu prsu a gynekologických nádorů [5]. Z nežádoucích účinků je dominantní již zmíněná urotoxicita (zejména po vyšších dávkách). Po vyšších dávkách je to také nevolnost, zvracení, alopecie a projevy hematologické toxicity. Z pozdních účinků je nutno zmínit poruchu funkce gonád a možnost vzniku sekundární malignity [3].



Obrázek 7: Ifosfamid (převzato z [13])

Trofosfamid (NSC 109723) je derivát cyklofosfamidů se třemi funkčními chlorethylovými skupinami [10]. Má nižší toxicitu a omezený imunosupresivní účinek než cyklofosfamid. Používá se k léčbě maligních lymfomů, chronické lymfatické leukémie, malobuněčného karcinomu plic, karcinomů ovaria a testikulárních nádorů. Mezi nežádoucí účinky patří nevolnost a mírná alopecie [3].

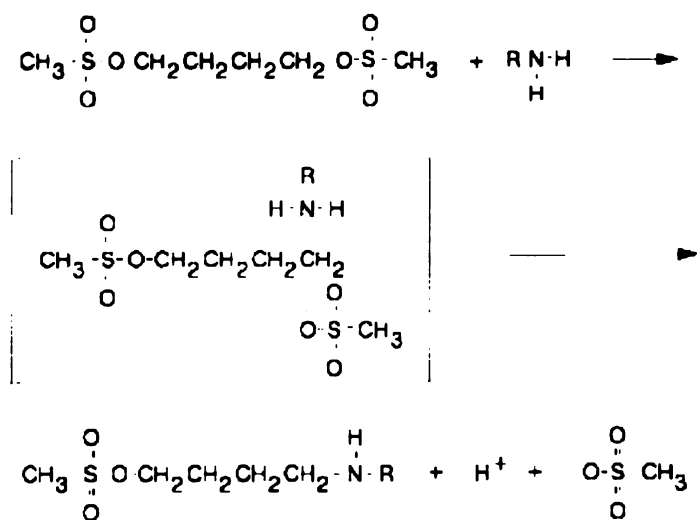
Mafosfamid (INN, NSC 345842, cis-4-sulfoethylthiocyklofosfamid) je derivát cyklofosfamidů, který se po rozpuštění spontánně přeměňuje na účinný 4-hydroxycyklofosfamid, tzn. *in vitro* – bez nutnosti metabolické přeměny v játrech. Používá se k testování citlivosti nádorových buněk vůči cytostatikům této skupiny a především k čištění kostní dřeně *in vitro* před jejím podáním pacientovi [4].

4-hydroxyperoxyklofosfamid (NSC 181815) je další derivát cyklofosfamidů. Ve vodném roztoku se spontánně rozkládá na biologicky účinné metabolity. Používá se také při transplantaci kostní dřeně [3].

4.3. Estery sulfonových kyselin

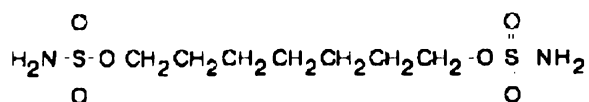
Základem sloučenin této skupiny jsou dvě alkylsulfonové kyseliny esterifikované methanolem, oddělené vzájemně různým počtem uhlíků [10].

Busulfan (NSC 750, 1,4-dimethylsulfonybutan) je rozpustný ve vodě. V trávicím ústrojí dochází rychle k jeho hydrolyze, k resorpci a k okamžitému vytvoření karbeniového iontu způsobujícího alkylaci DNA [3]. Obrázek 8 zobrazuje jeho mechanismus alkylace. Je to „perorální“ cytostatikum, donedávna základní lék pro chronickou myeloidní leukémii, primární polycytémii a primární trombocytémii. Dnes se v těchto indikacích používá omezeně pro značnou hematologickou toxicitu a riziko druhotných malignit [5]. Busulfan je fázově nespecifickým cytostatikem a působí tudíž i na buňky v G₀ fázi [4]. Mezi nežádoucí účinky patří útlum krvetvorby, po předávkování těžká dřeňová aplazie, amenorea a sterilita. Dlouhodobé užívání může vést ke vzniku plicní fibrózy [3].



Obrázek 8: Mechanismus alkylace busulfanu (převzato z [13])

Do této skupiny patří také hepsulfan (sulfamin, NSC 329680, 1,7-heptanediol-bis-sulfamát) (obr. 9). Má širší spektrum protinádorové účinnosti než busulfan, zahrnující i některé solidní nádory (karcinom prsu, kolorektální nádory) [3].



Obrázek 9: Hepsulfan (převzato z [13])

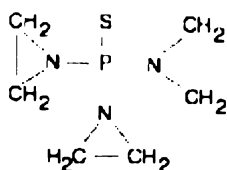
Další sloučeniny této skupiny jsou:

- Treosulfan
- Improsulfan (Yoshi 864) [3]

4.4. Ethyleniminy (aziridiny)

Mezi alkylační látky patří také ethyleniminy, které jsou charakteristické přítomností ethyleniminové (aziridové) skupiny, vázané v různém počtu na rozmanité chemické struktury [10]. Jejich klinické použití je značně omezeno výraznou toxicitou [4].

Nejznámějším cytostatikem této skupiny je thiotepa (NSC 6396, TESP, N, N', N''-triethylenfosforamid) (obr. 10) [3, 4]. Thiotepa byl připraven jako méně toxická forma triethylenfosforamidu (TEPA). Je to polyfunkční alkylační látka [3]. Přípravek našel uplatnění hlavně v lokální (intravezikální) aplikaci u karcinomů močového měchýře [5]. V poslední době se používá v předtransplantačních režimech [4]. Mezi nežádoucí účinky patří nevolnost, zvracení, po nitrožilní aplikaci je častá hematologická toxicita [3].

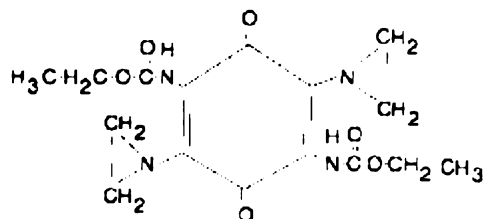


Obrázek 10: Thiotepa (převzato z [13])

Hexamethylmelamin (NSC 13875, altretamin, HMM) po své aktivaci jaterními mikrosomy působí inhibicí syntézy DNA a účinkuje tedy částečně jako antimetabolit. V játrech je demetylován a jeho metabolity se vylučují ledvinami [3]. HMM je perorální cytostatikum s účinností u ovariálních karcinomů [10]. Má význam doplňkového léku, většinou jako součást kombinací. V léčbě jiných nádorových onemocnění se neuplatňuje [5]. Nežádoucí účinky jsou zvracení, křeče v břiše, po vyšších dávkách halucinace [3].

Pentamethylmelamin (NSC 118742, PMM) je demetylovaný derivát hexamethylmelaminu, který byl syntetizován jako ve vodě rozpustná alternativa pro parenterální aplikaci. Mechanismus účinku a indikace jsou podobné jako u hexamethylmelaminu. Z nežádoucích účinků to je nevolnost, zvracení a trombocytopenie [3].

Diazichon (AZQ, NSC 182986, aziridinybenzochinon) (obr. 11), patří mezi novější látky. Snadno proniká do centrální nervové soustavy (CNS). Používá se k léčbě mozkových nádorů a neuroblastomu. Mezi nežádoucí účinky patří nevolnost, zvracení, mukozidita, tinitus, trombocytopenie [3].



Obrázek 11: AZQ (převzato z [13])

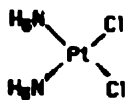
Mezi etyleniminy patří dále:

- Triethylenmelamin
- Triazichon (trenimon) [3]

4.5. Deriváty platiny

Kromě derivátů platiny byly protinádorové účinky zjištěny ještě u dalších sloučenin s prvky II. skupiny (galium, aluminium, indium) [3].

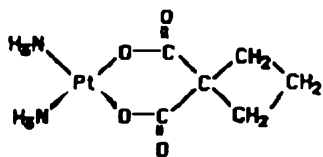
Cisplatina (CDDP, NSC 119875, cis-diamin-dichlorplatnatý komplex) (obr. 12) je koordinační sloučenina dvojmocné platiny se dvěma labilními atomy chloru v poloze cis [10]. Vytváří vazbu s dusíkem purinových a pyrimidinových bází v molekule DNA [3]. Indikace CDDP je velmi široká od karcinomů přes sarkomy i některé typy nehodgkinských lymfomů [4]. Z nežádoucích účinků je kromě nefrotoxicity v popředí nevolnost, úporné zvracení a ototoxicita [5].



Obrázek 12: Cisplatina (převzato z [13])

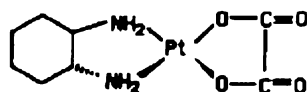
Dalším zástupcem je karboplatina (CBDCA, NSC 241240, JM-8, cis-diamin-(1-cyklobutandikarboxylato)platnatý komplex (obr. 13) [3]. Představuje platinový derivát druhé generace [4]. Je stabilnější než cisplatina. Za hlavní indikace lze považovat karcinom ovaria, nádory varlat, bronchogenní karcinomy, karcinom prsu a nádory

otorinolaryngologické (ORL) oblasti. V popředí nežádoucích účinků stojí hematologická toxicita [3].



Obrázek 13: Karboplatina (převzato z [13])

Oxaliplatina (I-OHP, Oxalatoplatin, oxalato(1R,2R-cyklohexandiammine)platinum II) (obr. 14) je diaminocyklohexanový platinový komplex se substitucí atomů chloru oxalátem [3]. Má nízkou nefrotoxicitu a protinádorovou účinnost u kolorektálních karcinomů [5]. Mezi nežádoucí účinky patří nevolnost a zvracení, neurotoxicita, mírná hematologická toxicita a ojediněle ototoxicita [3].



Obrázek 14: Oxaliplatina (převzato z [13])

Další platinové deriváty jsou:

- Ormaplatina (tetraplatina, OP)
- Iproplatina
- Zeniplatina (ZP)
- Enloplatina (ENP)
- Lobaplatina
- Galiumnitrát [3]

4.6. Alkylační deriváty močoviny

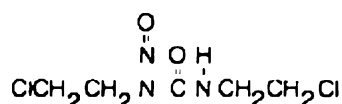
Deriváty nitrózomočoviny

Liší se od klasických alkylačních látek tím, že metabolickou degradací jejich molekuly vzniká kromě alkylující struktury (většinou chloethylu) ještě izokyanátová struktura ($O=C=N-R$), která reaguje s aminoskupinami aminokyselin a inhibuje „opravu“ poškozené

DNA [10]. Tyto deriváty jsou značně lipofilní a na rozdíl od většiny cytostatik pronikají hematoencefalickou bariérou [5].

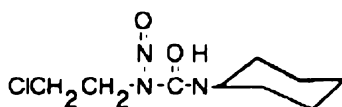
Deriváty sulfonylmočoviny (své uplatnění našel pouze jeden přípravek) [3]

Karmustin (BCNU, NSC 409962, 1,3-bis-2-chlorethyl-1-nitrózourea) (obr. 15) je syntetická látka s významným cytostatickým účinkem. Působí inhibicí syntézy DNA, snižuje koncentraci NAD^+ v nádorových buňkách a zasahuje do některých dalších metabolických pochodů (inhibuje formiminotransferázu) [3]. Užívá se k léčbě nádorů CNS, Hodgkinovy choroby, maligního melanomu i *Mycosis fungoides* [4]. Hematologická toxicita bývá opožděná. Z dalších nežádoucích účinků se popisuje nefrotoxicita, nevolnost a zvracení [5].



Obrázek 15: Karmustin (převzato z [13])

Lomustin (CCNU, NSC 79037, 1-(2-chloethyl)-3-cyklohexylnitrózourea) (obr. 16) je perorální nitrózomočovina s podobnými vlastnostmi jako BCNU [3, 5]. Lipofilita je však téměř dvojnásobná, což usnadňuje průnik léku buněčnými membránami a snadnou distribuci do mozkomíšního moku [10]. Používá se v léčbě nádorů CNS, maligního melanomu, bronchogenního karcinomu a Hodgkinovy choroby. Z nežádoucích účinků je nejčastější nevolnost, zvracení a opožděná hematologická toxicita [5].



Obrázek 16: Lomustin (převzato z [13])

Fotemustin je derivát chlorethylnitrózomočoviny s vysokou lipofilitou a s mimořádným průnikem hematoencefalickou bariérou [5]. Proto je vhodný k léčbě primárních i sekundárních mozkových nádorů [10]. Vyvolává nevolnost, zvracení, někdy průjmy. Hematologická toxicita je rovněž častá [5].

Dále do této skupiny cytostatik patří streptozotocin (NSC 85998, 1-methyl-3-(glukosamin)-1-nitrózourea). Na rozdíl od jiných derivátů nitrózomočoviny má slabší

alkylační aktivitu, což se přisuzuje přítomnosti cukerné složky v molekule léčiva [3]. Je hlavním chemoterapeutikem k léčbě inzulinomu a maligního karcinoidu. Má nižší hematologickou toxicitu, časté je však poškození ledvin [5]. Právě nefrotoxicita je nejzávažnějším nežádoucím účinkem tohoto léku. Dalším častým projevem toxicity je nevolnost a zvracení [3].

Mezi další deriváty nitrózomocoviny se řadí též:

- Semustin (methyl-CCNU)
- Chlorozotocin
- Nimustin (ACNU)
- Ranomustin (MCNU)
- Tauromustin (TCNU)
- Elmustin (HECNU)
- Diarylsulfonylurea (DSU) [3]

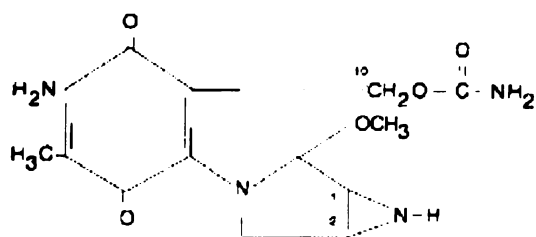
4.7. Antibiotika s převážně alkylačním mechanismem účinku

Antibiotika, která vykazují alkylační mechanismus účinku obsahují 3 typické kancerostatické skupiny – chinon, aziridin a uretan. Aziridin a uretan jsou odpovědné za alkylační mechanismus účinku těchto látek [10].

Do této skupiny patří:

- Mitomyciny
- Porfiromyciny [3]

Mitomycin C (NSC 26980) (obr. 17) byl poprvé izolován v roce 1958 z bakterií *Streptomyces caespitosus* [15]. Je to antibiotikum, jehož hlavním mechanismem účinku je alkylace. Z dalších mechanismů se uplatňuje tvorba kyslíkových radikálů působících zlomy v DNA [3]. Je značně myelotoxický, používá se v kombinované léčbě karcinomu žaludku a nádorů děložního čípku, v lokální aplikaci u karcinomu močového měchýře a v kombinaci s vinblastinem pro léčbu karcinomu prsu [5]. Jeho nežádoucím účinkem je útlum krvetvorby. Nausea, zvracení a alopecie jsou jen mírného stupně [3].



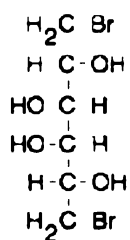
Obrázek 17: Mitomycin C (převzato z [13])

4.8. Alkylační deriváty alkoholických cukrů

Syntéza alkylačních derivátů alkoholických cukrů byla vedena myšlenkou vázat účinný radikál na substanci, která se účastní metabolických pochodů a normálně se vyskytuje v organismu. Vazbou alkylační skupiny na cukerné deriváty hexitolu vznikla početná skupiny sloučenin s protinádorovým účinkem [10].

Do této skupiny léčiv se řadí dibrommanitol (NSC 94100, 1,6-dibrom-1,6-dideoxy-D-manitol). Je stabilnější než většina alkylačních látek. Také jeho mechanismus účinku bude patrně odlišný. Nejde výhradně o alkylační účinek, ale předpokládá se též antimetabolické působení. Po proniknutí do buňky podléhá dibrommanitol hydrolytickému štěpení za vzniku bromovodíku. Vznik této kyseliny významně mění intracelulární pH, což může ovlivnit řadu nitrobuněčných enzymových pochodů včetně syntézy nukleových kyselin. Používá se zejména pro léčbu chronické myeloidní leukémie, primární polycytémie a primární trombocytémie. Nejzávažnějším nežádoucím účinkem je pancytopenie až těžký dřeňový útlum, ojediněle alopecie nebo kožní pigmentace [3].

Dibromdulcitol (mitolaktol, NSC 104800, DBD, 1,6-dibrom-1,6-dideoxydulcitol) (obr. 18) je povahou své struktury bifunkční alkylační látkou [3]. Používá se při léčbě epitelových a mozkových nádorů [10]. V hematologii může sloužit jako alternativní lék pro chronickou leukémii. Jediným nežádoucím účinkem může být granulocytopenie a trombocytopenie [3].



Obrázek 18: Dibromdulcitol (převzato z [13])

Dále se do této skupiny řadí:

- Manomustin
- Tetramesylmanitol
- Dianhydrogalaktitol (DAG)
- Dianhydrodiacetylgalaktitol (DADAG)
- Ritrosulfan [3]

4.9. Látky s kombinovaným mechanismem účinku

Doxorubicin (adriamycin, NSC 123127, 14-hydroxydaunorubicin) [3], patří mezi cytostatika s interkalačním mechanismem účinku. Kromě tohoto účinku se uplatňuje také arylace. Je to mimořádně účinné cytostatikum s širokým uplatněním, jak pro hematologické malignity, tak u solidních nádorů [5]. Za hlavní indikace lze považovat karcinom prsu, karcinomy ovaria, endometria, bronchogenní karcinom, karcinom žaludku, sarkomy měkkých tkání a karcinom močového měchýře [3]. Pravidelným nežádoucím účinkem je alopecie, častá je též mukozitida [5].

O doxorubicinu je pojednáno detailněji v kapitole 6.

Do látek s kombinovaným mechanismem účinku patří také dakarbazin (NSC 45388, DTIC, 5-(3,3-dimethyl-1-triazeno)-imidazol-4-karboxamid). Mechanismus jeho účinku částečně tkví v alkylaci (uvolněním diazomethanu). DTIC má však též povahu antimetabolitu (jako purinové analogon) a přispívá k inhibici syntézy DNA [3]. Má omezenou hematologickou toxicitu [5]. Používá se v léčbě maligního melanomu, Hodgkinovy choroby a některých nádorů CNS [4].

Temozolomid (NSC 362856) je imidazotetrazinový derivát, strukturálně podobný dakarbazinu. Jeho cytotoxický účinek se vysvětluje převážně alkylací [3]. Je silně lipofilní a byla prokázána jeho specifická účinnost u astrocytomů a gliomů [5]. Z nežádoucích účinků je nejčastější nevolnost a zvracení [3].

Prokarbazin (NSC 77213, ibenzmethycin) je methylhydrazinový derivát, který má povahu alkylační látky i antimetabolitu. Je účinný u Hodgkinovy choroby, u bronchogenního karcinomu, maligního melanomu [3, 5]. Vyvolává nevolnost, zvracení a anorexii. Někdy se objeví psychické poruchy [3].

Mechanismus účinku piperazindionu (NSC 135758) je komplexní povahy. Uplatňuje se alkylace i antimetabolický účinek. Z hlediska buněčného cyklu působí hlavně ve fázi G₂. Mezi nežádoucí účinky patří myelosuprese, nauzea, zvracení [3].

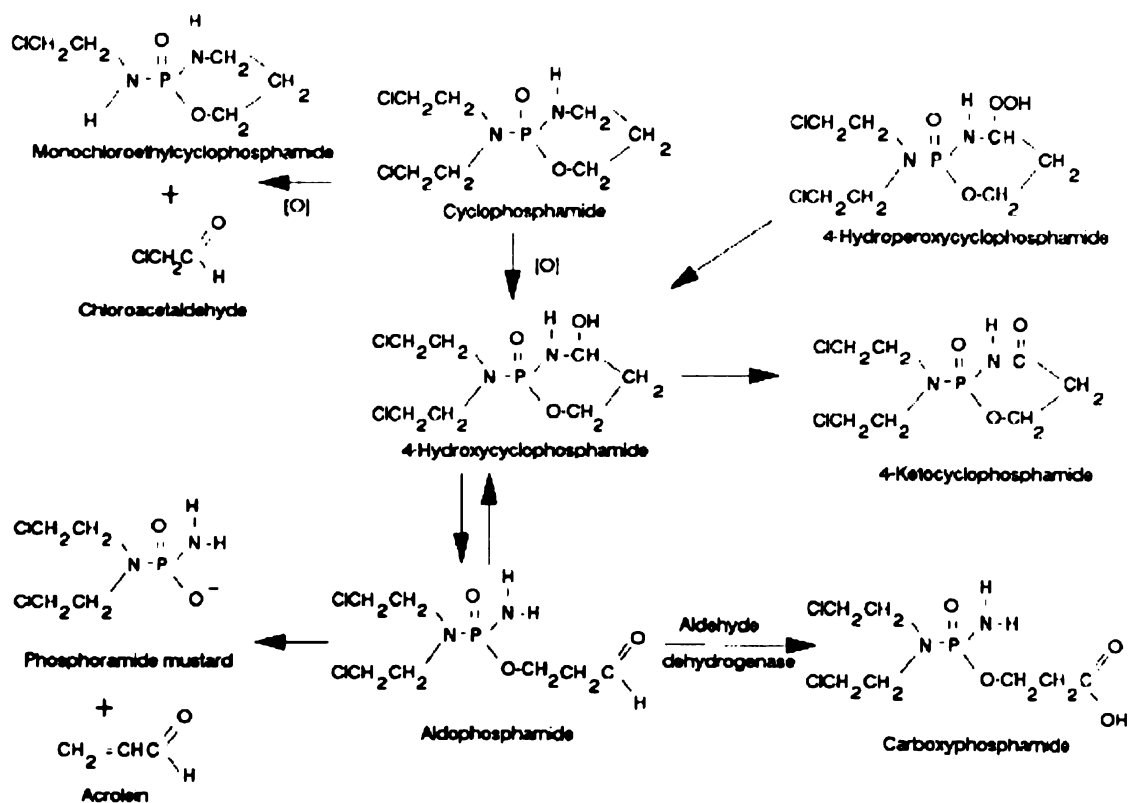
Ellipticin (5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]karbazol) chemicky patří do skupiny pyridokarbazolů [3]. Jedná se o protinádorové léčivo, jehož mechanismus účinku není ještě přesně rozluštěn. Předpokládá se, že převládajícím mechanismem jeho protinádorového účinku je interkalace [1]. Mezi nežádoucí účinky patří nefrotoxicita [3].

Podrobněji se tímto cytostatikem zabývá kapitola 7.

5. Cyklofosamid

5.1. Metabolismus cyklofosamidu

Cyklofosamid (NSC 26721, 2/bis-(2-chlorethyl)-amino/-tetrahydro-2H-1,2,3-oxazafosforin-2-oxid) (obr. 19), byl zaváděn do praxe koncem 50. let a za více než 40 let neztratil své postavení jednoho ze základních cytostatik [3]. Cyklofosamid je jedním z nejrozšířenějších a nejpoužívanějších cytostatik [5]. Patří mezi bifunkční alkylační látky [3]. Z hlediska ovlivnění buněčného cyklu patří mezi fázově nespecifické látky [16]. Cyklofosamid je *in vitro* neúčinný, teprve po aktivaci v játrech ho mikrosomální enzymy hepatocytů přemění na 4-hydroxycyklofosamid, jež podléhá spontánní tautomerizaci na aldofosamid [4]. Ten je hydrolyzován na konečný aktivní produkt fosforamid-N-yperit [3]. Vedlejším produktem těchto přeměn je akrolein, látka, která je zodpovědná za vznik typické toxicity po vyšších dávkách cyklofosamidu – urotoxicitu [4]. Rychlost biotransformace cyklofosamidu může být ovlivněna stimulací mikrosomálních enzymů, např. fenobarbitalem [3]. Obrázek 19 znázorňuje metabolismus cyklofosamidu.



Obrázek 19: Metabolismus cyklofosamidu (převzato z [13])

5.2. Imunosupresivní účinky a vylučování cyklofosfamidů

Cyklofosfamid má výrazné imunosupresivní účinky [4]. Za zmínku stojí pozoruhodné zjištění, že v malých dávkách může cyklofosfamid imunitu stimulovat (selektivním potlačením supresorových T_S-lymfocytů). Po nitrožilním podání dochází k rychlé distribuci do tkání, vazba na plazmatické bílkoviny je nízká (12-14%). Biologický poločas se udává v rozmezí 0,5-8,5 h. Vylučuje se převážně močí, asi 25 % v nezměněné formě. Jen 4 % cyklofosfamidů se vylučují do stolice. Cyklofosfamid proniká placentární bariérou. Může se též vylučovat mateřským mlékem. Farmakologické vlastnosti po perorálním podání jsou velmi podobné vlastnostem při nitrožilním podání. Biologická dostupnost je vysoká, po dávce 100 mg p.o. činí 97 %, po dávce 300 mg 74 % [3].

5.3. Indikace cyklofosfamidů

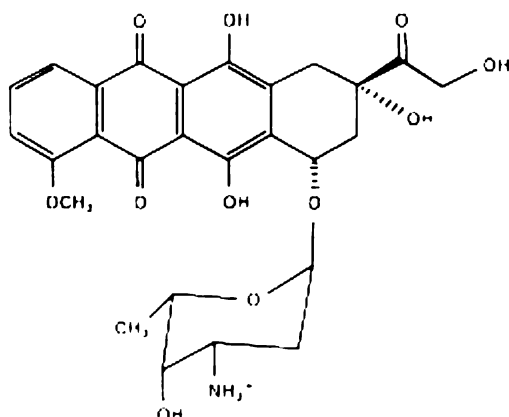
Indikace cyklofosfamidů jsou mnohostranné. V hematologii je součástí některých kombinací pro léčbu akutních lymfoblastických leukémií, dále je vhodným lékem pro chronickou lymfatickou leukémii. U Hodgkinovy choroby je součástí lékové kombinace, u nehodgkinských lymfomů se kombinuje s antracyklinovými antibiotiky. U mnohočetného myelomu je vedle melfalanu nejúčinnějším lékem. Ze solidních nádorů jeví největší citlivost ovariální karcinomy, karcinom prsu, bronchogenní karcinom, neuroblastom, Ewingův sarkom, retinoblastom, sarkomy měkkých tkání. Podává se vždy v kombinaci s jinými cytostatiky. Zvláštní indikací je použití cyklofosfamidů ve vysokých (gramových) dávkách v přípravných režimech před transplantací kostní dřeně. Také mimo onkologii našel cyklofosfamid široké uplatnění pro své imunosupresivní účinky. Používá se v různých autoimunních onemocnění, u revmatoidní artritidy, u systémových vaskulitid, u chronických membranózních glomerulonefritid a u nefrotického syndromu [3].

5.4. Nežádoucí účinky cyklofosfamidů

Nežádoucí účinky jsou při konvenčních dávkách mírné. Je to nevolnost a zvracení [3]. Příznaky se projeví několik hodin po podání a obvykle trvají do příštího dne [17]. Dále je to alopecie. Z pozdních účinků je nutno zmínit poruchy fertility, azoospermii, popřípadně vznik druhotných malignit. Po vysokých dávkách nad 1 g je nejčastější urotoxicita, jež se projeví dysurickými potížemi, hematurií a hemoragickou cystitidou. Vzácnějším nežádoucím příznakem je pneumotoxicita. Lokální toxicita je minimální, takže po paravenózním podání nehrozí poškození tkáně [3].

6. Doxorubicin (adriamycin)

6.1. Struktura a mechanismus účinku doxorubicinu



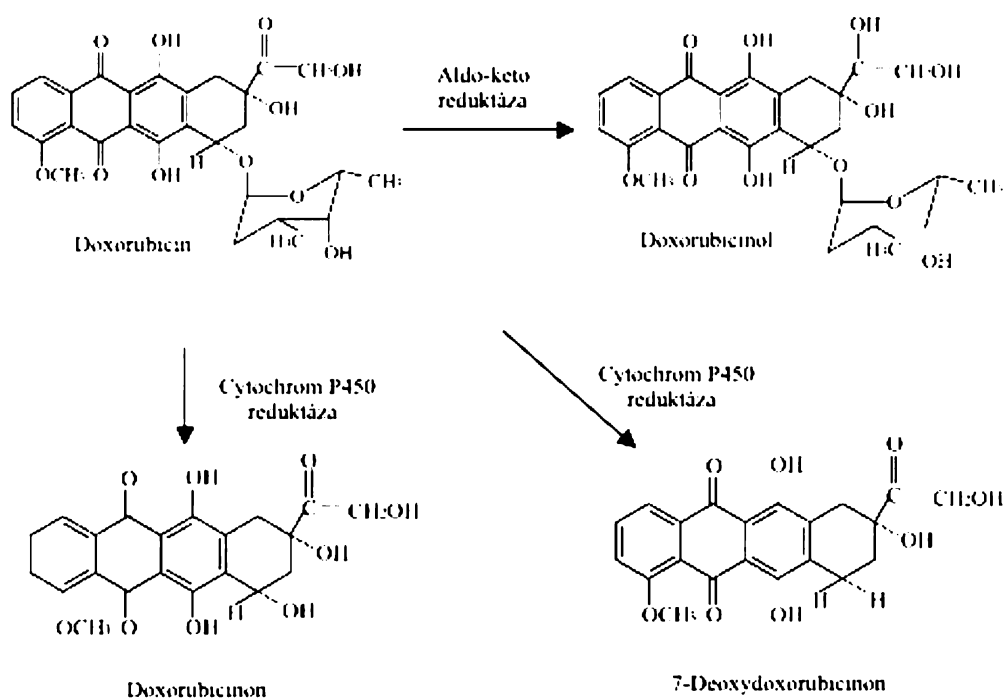
Obrázek 20: Struktura doxorubicinu (převzato z [18])

Doxorubicin, NSC 123127, 14-hydroxydaunorubicin (obr. 20), byl izolován z kultur plísně *Streptomyces peuceotius*, var. *caesius* [3]. Patří mezi antibiotika s interkalačním mechanismem účinku. Uplatňuje se též arylace. Je to cytostatikum ze skupiny antracyklinů, tvořící komplex s DNA interkalací mezi páry nukleotidových bází, důsledkem je narušení syntézy DNA, DNA-dependentní syntézy RNA a proteosyntézy. Interkalátor též často způsobí, že topoizomerase II nemůže plnit svou funkci a dochází ke štěpení DNA. Doxorubicin podléhá řadě oxidačních a redukčních reakcí. Řada NADPH-dependentních buněčných reductáz je schopna redukovat doxorubicin na volné radikály semichinonu, které reagují s molekulárním kyslíkem za vzniku vysoce reaktivních sloučenin, aktivních forem kyslíku [19].

6.2. Metabolismus doxorubicinu

Účinky doxorubicinu nejsou vázány na enzymovou aktivaci (tj. základní struktura této látky je již vlastní účinnou formou). Tato okolnost však neznamená, že by se jednalo o nemetabolizovatelnou sloučeninu. V tělech pacientů naopak dochází k poměrně rychlé transformaci, spočívající hlavně v redukcí bočního řetězce cyklohexanového jádra a v odstranění jeho aminocukerné složky (obr. 21). Na těchto přeměnách se podílí NADPH-dependentní aldo-keto reductáza, převádějící karbonyl zmíněného řetězce na hydroxyl, a NADPH-dependentní cytochrom P450 reductáza, uplatňující se při zmíněné deglykosidaci. Aktivita zmíněných enzymů dává vzniknout řadě metabolitů, z nichž bývá v literatuře

zmiňován hlavně doxorubicinol. V menší míře dochází k vylučování doxorubicinu ve formě aglykonu a konjugátů se sulfátem a kyselinou glukurovou [20].



Obrázek 21: Metabolická dráha doxorubicinu (převzato z [20])

6.3. Indikace doxorubicinu

Doxorubicin lze považovat za jedno ze základních a nepostradatelných cytostatik, jak pro léčbu hematologických malignit, tak pro solidní nádory. Používá se v hematologii jako nepostradatelná součást kombinací k léčbě Hodgkinovy choroby, nehodgkinských lymfomů a mnohočetného myelomu. Může nahradit daunorubicin i v indukční léčbě akutních leukémií. V oblasti solidních nádorů snad neexistuje nádorová lokalita, u níž by nebyl doxorubicin použit [3]. Podává se převážně v kombinacích s jinými cytostatiky ve formě krátkodobé nebo kontinuální infuze [4]. Za hlavní indikace lze považovat karcinom prsu, karcinomy ovaria, endometria, bronchogenní karcinom (zvláště malobuněčnou formou), karcinom žaludku, sarkomy měkkých tkání a karcinom štítné žlázy. Doxorubicin může být též aplikován intravezikálně, u karcinomu močového měchýře (povrchové formy). Dále je možnou alternativou k léčbě nádorových výpotků v intrapleurální nebo intraperitoneální aplikaci [3].

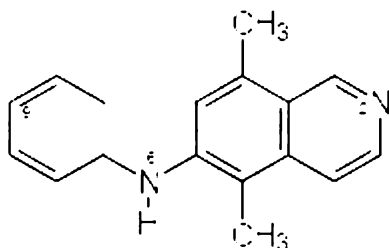
6.4. Nežádoucí účinky doxorubicinu

Z nežádoucích účinků je nejzávažnější dřeňový útlum a kardiotoxicita, která se může projevit již po prvních dávkách poruchami rytmu a změnami na elektrokardiogramu (EKG). Riziko kardiotoxicity stoupá s aplikovanou dávkou, která nesmí překročit 550 mg/m². Kardiotoxicitu lze částečně omezit podáním kardioprotektiva dexrazoxanu [3]. Pravidelným nežádoucím účinkem je reverzibilní alopecie, častá je též mukozitida [5]. Dále jsou to nekrozy v dutině ústní, ulcerózní kolitida, kožní nekroza po úniku látky mimo žílu. Méně častá je kožní pigmentace nebo pigmentace nehtů [3].

7. Ellipticin

7.1. Struktura ellipticinu

Ellipticin (5,11-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]karbazol) (obr.22) a některé jeho deriváty jsou alkaloidy vykazující významnou protinádorovou aktivitu [1].



Obrázek 22: Struktura ellipticinu (převzato z [21])

Jedná se o látky přírodního původu, které lze izolovat z rostlin čeledi *Apocyanaceae*, které se nacházejí v Austrálii, Madagaskaru, Havaji, a na dalších tichomořských ostrovech [22]. Ellipticin byl poprvé izolován v roce 1959 z listů stále zeleného stromu *Ochrosia elliptica* z čeledi *Apocynaceae* [23, 24]. Jeho protinádorové vlastnosti byly objeveny roku 1967 [25].

7.2. Mechanismus účinku ellipticinu

Jedná se o protinádorové léčivo, jehož mechanismus účinku není ještě přesně rozluštěn [26]. Předpokládá se, že převládajícími mechanismy protinádorového účinku ellipticinu jsou:

- interkalace do DNA
- inhibice topoizomerázy II
- inhibice fosforylace p53
- inhibice oxidační fosforylace v mitochondriích [1, 19, 27, 28, 29]

7.2.1. *Interkalace do DNA*

Tvar a velikost molekuly ellipticinu odpovídá komplementaritě bází při párování purin-pyrimidin, což zabezpečuje příznivé podmínky pro jeho interkalaci do dvoušroubovice DNA. Polycyklický aromatický charakter molekuly ellipticinu může být navíc výsledkem jeho ještě těsnějšího vmezeření se do DNA, s vhodně uspořádanými hydrofobními částmi

DNA. Interkalace mezi methylovou skupinou ellipticinu a thyminem v interkalačním místě je určující pro orientaci molekuly ellipticinu [30].

7.2.2. *Inhibice topoizomerázy II*

Mechanismus ellipticinu jako inhibitoru topoizomerázy II byl již důkladně prostudován [30]. Ellipticin interaguje buď s molekulou DNA nebo s proteinem topoizomerázy II za tvorby ternárního katalyticky neaktivního komplexu, který vede ke stimulaci tvorby řetězových zlomů v DNA [31].

7.2.3. *Inhibice fosforylace p53*

Tumor supresorový protein p53 se zapojuje do cytotoxické aktivity ellipticinu. Derivát ellipticinu, 9-hydroxyellipticin, způsobuje indukci apoptózy v G₁ fázi buněčného cyklu. Ellipticin a 9-hydroxyellipticin způsobují selektivní inhibici fosforylace proteinu p53 prostřednictvím inhibice specifické kinázy v několika lidských nádorových buňkách, například rakoviny tlustého střeva. Akumulace defosforylovaných proteinů p53 může přivodit apoptózu [30].

Všechna uvedená vysvětlení mechanismu protinádorové aktivity ellipticinu jsou založena na nespecifickém působení. Ellipticin interkaluje do DNA jak buněk nádorových tak i zdravých a inhibice topoisomerasy II rovněž probíhá ve všech buňkách bez ohledu na jejich zdravotní stav [1].

7.3. Indikace ellipticinu

Výhodou ellipticinu je jeho vysoká účinnost a poměrně nízká toxicita. Hematologická toxicita je prakticky nulová [32]. Ellipticin samotný a jeho polárnější deriváty (9-hydroxyellipticin, 9-hydroxy-N²-methylellipticinium, 9-chloro-N²-methylellipticinium a 9-methoxy-N²-methylellipticinium) jsou užívány zejména k léčení pokročilého karcinomu prsu s kostními metastázami, karcinomu ledvin, nádorů mozku a akutní myeloblastické leukémie [30].

Důvody zájmu o ellipticin pro klinické použití jsou dva:

- 1) vysoká účinnost proti nádorovým onemocněním (cytotoxický vůči určitým typům nádorových buněk je ellipticin již v koncentracích 0.1 M)

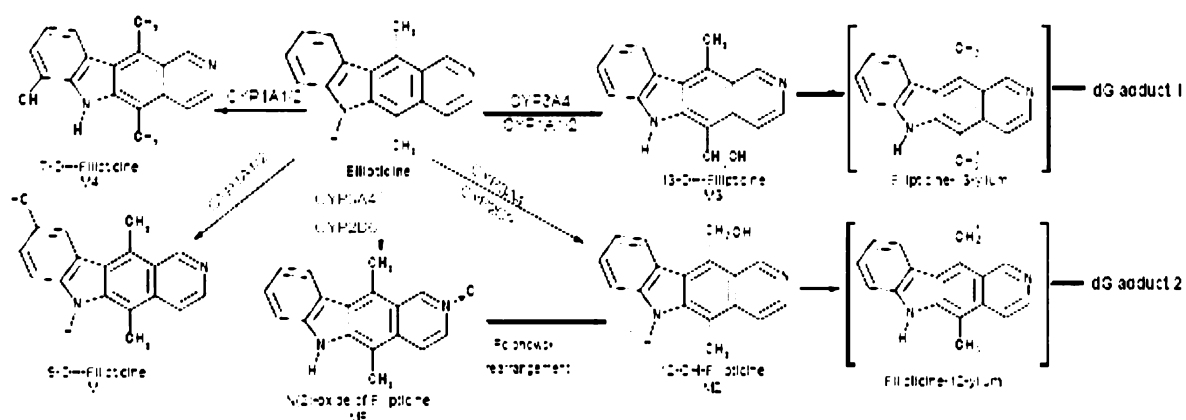
2) jeho nízké vedlejší účinky [1]

7.4. Ellipticin jako „pro-léčivo“

Ellipticin může působit jako „pro-léčivo“ („pro-drug“), které je metabolicky aktivováno enzymy exprimovanými v cílových nádorových tkáních (nádory prsu a leukemické buňky) na biologicky účinnější deriváty. V buňkách lidských prsních nádorů jsou exprimovány cytochromy P450 1A1, 2B6, 2E1 a 3A4, přítomny jsou i peroxidasy, jako je např. laktoperoxidasa. V řadě leukemických buněk je pak exprimována jiná peroxidasa, myeloperoxidasa [1].

7.5. Metabolismus ellipticinu

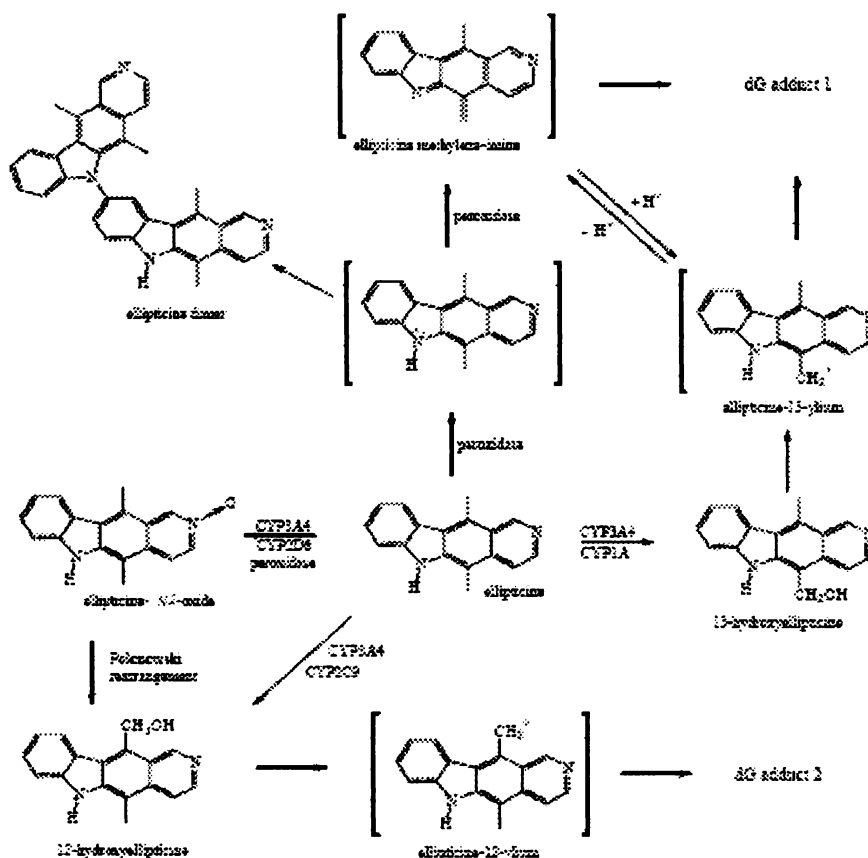
Ellipticin je cytochromy P450 oxidován na pět metabolitů (obr. 23), jejichž struktura byla určena teprve nedávno. Z nich je detoxikačním metabolitem 7-hydroxyellipticin, neboť nevykazuje žádnou cytotoxicitu. Za tvorbu jednotlivých metabolitů jsou zodpovědné různé formy cytochromu P450. 9-hydroxyellipticin a 7-hydroxyellipticin jsou tvořeny především lidskými CYP1A1, 1A2 a 1B1, minoritní metabolit 12-hydroxyellipticin pak CYP3A4 a 2C9. 13-hydroxyellipticin a N(2)-oxid ellipticinu jsou generovány především prostřednictvím CYP3A4, metabolit M3 pak rovněž CYP2D6. 13-hydroxyellipticin a N(2)-oxid ellipticinu respektive 12-hydroxyellipticin, na který se N(2)-oxid ellipticinu přesmykuje, tvoří přímo (bez aktivace) adukty s DNA [29]. 13-hydroxyellipticin se váže na DNA za tvorby majoritního aduktu 1 a 12-hydroxyellipticin za tvorby minoritního aduktu 2 (obr. 23) [1, 29, 33, 34].



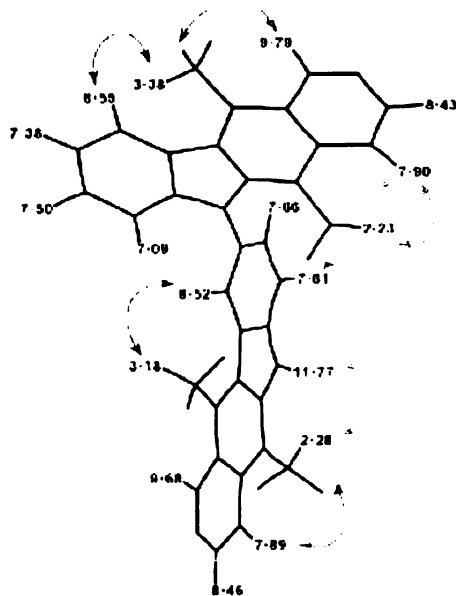
Obrázek 23: Metabolismus ellipticinu (převzato z [29, 33, 34])

7.6. Oxidace ellipticinu peroxidasami

Detailně byla studována rovněž oxidace ellipticinu peroxidasami (obr. 24). I když je známo, že mechanismus reakcí katalyzovaných peroxidasami je odlišný od mechanismu oxidací substrátů cytochromy P450, ellipticin při oxidaci těmito enzymy tvoří majoritní adukty shodné s adukty generovanými 13-hydroxyellipticinem a 12-hydroxyellipticinem či N(2)-oxidem ellipticinu (tedy produkty oxidace ellipticinu cytochromy P450) [1, 29, 33, 35]. Mezi tyto peroxidasy patří hovězí laktoperoxidasa (LPO), lidská myeloperoxidasa (MPO), ovčí cyklooxygenasa (COX-1), lidská COX-2 a křenová peroxidasa (HRP) [11, 33]. Ellipticin je peroxidasami oxidován na primární radikál, který dále poskytuje dimer ellipticinu, ve kterém jsou dva ellipticinové zbytky spojeny přes N⁶ atom pyrrolového kruhu jednoho a C9 atom uhlíku druhého ellipticinového zbytku (obr. 25) [33]. Jako druhý oxidační metabolit byl detekován N(2)-oxid ellipticinu [33, 36]. Tedy tentýž metabolit jakým je produkt oxidace ellipticinu cytochromy P450 (obr. 24) [29].



Obrázek 24: Oxidace ellipticinu peroxidasami (převzato z [33, 35])



Obrázek 25: Dimer ellipticinu (převzato z [1, 33])

8. Závěr

Tato bakalářská práce podává přehled o mechanismu působení některých protinádorových léčiv. U alkylačních a arylačních látek se také zabývá jejich indikací a nežádoucími účinky.

Poznatky uváděné v práci signalizují, že ačkoliv došlo v posledních několika letech k významným pokrokům v léčbě nádorových onemocnění, je stále třeba hledat nové a účinnější prostředky k léčbě těchto nemocí. Významný pokrok v poznání mechanismu působení látek s antineoplastickým účinkem může k poznání nových účinných léků jednoznačně přispět.

Seznam použité literatury

1. Stiborová, M.: Studium enzymů biotransformujících xenobiotika jako nástroj k poznání mechanismu působení karcinogenů a konstrukce kancerostatik nové generace, Sborník z multioborového semináře „Otevřená věda“ z 22. – 29. 10. 2005, Praha
2. Petřelová, J., Blašík, O., Průša, R., Kukačka, J., Mikelová, R., Stiborová, M., Vojtěšek, B., Adam, V., Zítka, O., Eckschlager, T., Kizek, R.: Analýza obsahu metalothioneinu u pacientů se zhoubným nádorem prsu, tlustého střeva a nebo maligním melanomem, *Klin. Onkol.*, 19:138, 2006
3. Klener, P.: Protinádorová chemoterapie, Galén, Praha, 1996
4. Koutecký, J.: Klinická onkologie I., Riopress, Praha, 2004
5. Klener, P.: Chemoterapie – minimum pro praxi, Triton, Praha, 1999
6. McKayová, J., Hiranoová, N.: Jak přežít chemoterapii a ozařování, Triton, Praha, 2005
7. Vorlíček, J., Adam, Z., Vorlíčková, H.: Chemoterapie a vy, Lachema, Brno, 1997
8. Petruželka, L., Konopásek, B., Aschermannová, A., Helmichová, E., Janků, F., Kleibl, Z., Mališ, J., Mareš, P., Novotný, J., Příbylová, O., Špička, I., Tesařová, P.: Klinická onkologie, Karolinum, Praha, 2003
9. Ancuceanu, R. V., Istador, V.: Pharmacologically active natural compounds for lung cancer, *Alt. Med. Rev.*, 2004, 9:402-419
10. Klener, P., Abrahámová, J., Fait, V., Mališ, J., Matějovský, Z., Petruželka, L., Žaloudík, J.: Klinická onkologie, Galén, Praha, 2002
11. Vráblík, A.: Bakalářská práce, Přírodovědecká fakulta UK, Praha, 2007

12. Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W.: Harperova biochemie, H & H, Jinočany, 2001
13. Colvin, M.: Cancer medicine, Lea & Febiger, Philadelphia, 1993
14. Vorlíček, J., Abrahámová, J., Vorlíčková, H.: Klinická onkologie pro sestry, Grada, Praha, 2006
15. Begleiter, A.: Clinical applications of quinone-containing alkylating agents, *Front. Biosci.*, 2000, 5: 153-171
16. Suchý, D., Komzáková, I., Grundmann, M.: Základní charakteristiky vybraných imunosupresiv, *Klin. Farmakol. Farm.*, 2004, 18: 90-95
17. Skeel, R. T.: Handbook of cancer chemotherapy, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1999
18. Hasinoff, B. B., Davey, J. P.: The iron(III)-adriamycin complex inhibits cytochrome c oxidase before its inactivation, *Biochem. J.*, 1988, 250: 827-834
19. Procházka, P., Hraběta, J., Poljaková, J., Vícha, A., Eckschlager, T.: Změny neuroblastomových linií při experimentální chemorezistenci, II. Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie, Olomouc, 2006, 13-14
20. Ondráška, P.: Diplomová práce, Přírodovědecká fakulta, MU, Brno, 2006
21. Poljaková, J., Forsterová, K., Šulc, M., Frei, E., Stiborová, M.: Oxidation of an antitumor drug ellipticine by peroxidases, *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc CZ*, 2005, 149: 449-453
22. Háčková, M.: Bakalářská práce, Přírodovědecká fakulta UK, Praha, 2006

23. Garbett, N. C., Graves, D. E.: Extending nature's leads: The anticancer agent ellipticine, *Curr. Med. Chem.*, 2004, 4: 149-172
24. Ohashi, M., Oki, T.: Ellipticine and related anticancer agents, *Expert Opin. Ther. Pat.*, 1996, 6: 1285-1294
25. Werbel, L. M., Angelo, M., Fry, D. W., Worth, D. F: Basically substituted ellipticine analogues as potential antitumor agents, *J. Med. Chem.*, 1986, 29: 1321-1322
26. Aimová, D., Stiborová, M.: Antitumor drug ellipticine inhibits the activities of rat hepatic cytochromes P450, *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc CZ*, 2005, 149: 437-440
27. Stiborová, M., Breuer, A., Aimová, D., Stiborová-Rupertová, M., Wiessler, M., Frei, E.: DNA adduct formation by the anticancer drug ellipticine in rats determined by ³²P postlabeling, *Int. J. Cancer*, 2003, 107: 885-890
28. Stiborová, M., Bieler, Ch. a., Wiessler, M., Frei, E: The anticancer agent ellipticine on activation by cytochrome P450 forms covalent DNA adducts, *Biochem. Pharmacol.*, 2001, 62: 1675-1684
29. Stiborová, M., Sejbal, J., Bořek-Dohalská, L., Aimová, D., Poljaková, J., Forsterová, K., Rupertová, M., Wiesner, J., Hudeček, J., Wiesler, M., Frei, E.: The anticancer drug ellipticine forms covalent DNA adducts, mediated by human cytochromes P450, through metabolism to 13-hydroxyellipticine and ellipticine N²-oxide, *Cancer Res.*, 2004, 64: 8374-8380
30. Stiborová, M., Rupertová, M., Schmeiser, H. H., Frei, E.: Molecular mechanisms of antineoplastic action of an anticancer drug ellipticine, *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc CZ*, 2006, 150: 13-23

31. Svobodová, L.: Diplomová práce, Přírodovědecké fakulta UK, Praha, 2007
32. Bašová, P., Křenek, K., Gažák, R., Bezouška, K., Křen, V.: Multivalentní deriváty ellipticinu, Chem. Listy, 2007, 101: 428
33. Stiborová, M., Poljaková, J., Ryšlavá, H., Dračínský, M., Eckschlager, T., Frei, E.: Mammalian peroxidases activate anticancer drug ellipticine to intermediates forming deoxyguanosine adducts in DNA identical to those found *in vivo* and generated from 12-hydroxyellipticine and 13-hydroxyellipticine, Int. J. Cancer, 2007, 120: 243-251
34. Mrázová, B., Kotrbová, V., Kořínková, M., Svobodová, L., Hudeček, J., Hodek, P., Kizek, R., Frei, E., Stiborová, M.: Kinetics of ellipticine oxidation by cytochromes P450 1A1 and 1A2 reconstituted with NADPH: cytochrome P450 reductase, Chem. Listy, 2007, 101: 237-239
35. Poljaková, J., Frei, E., Eckschlager, T., Hraběta, J., Figová, K., Kizek, R., Hudeček, J., Hodek, P., Stiborová, M.: Comparison of the cytotoxicity of and DNA adduct formation by the anticancer drug ellipticine in human breast adenocarcinoma, leukemia and neuroblastoma cells, Chem. Listy, 2007, 101: 253-255
36. Poljaková, J., Forsterová, K., Šulc, M., Frei, E., Stiborová, M.: Oxidation of an antitumor drug ellipticine by peroxidases, Biomed. Pap., 2005, 149: 449-453

Svoluji k zapůjčení této práce pro studijní účely a prosím, aby byla řádně vedena evidence vypůjčovatelů.

Jméno a příjmení	Adresa	Číslo OP	Datum vypůjčení	Poznámka