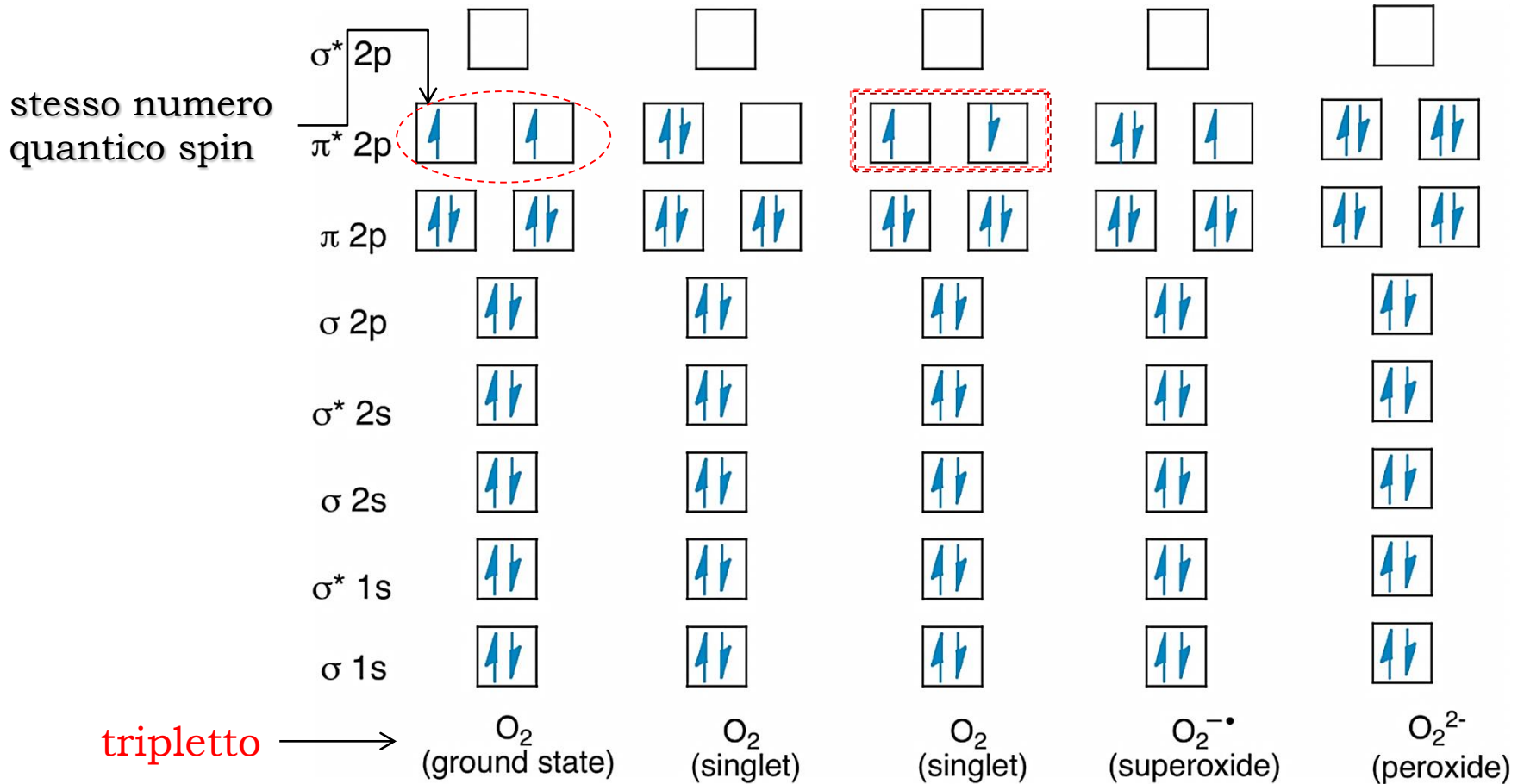


Chimica Farmaceutica e Tossicologica 2

Antitumorali III parte

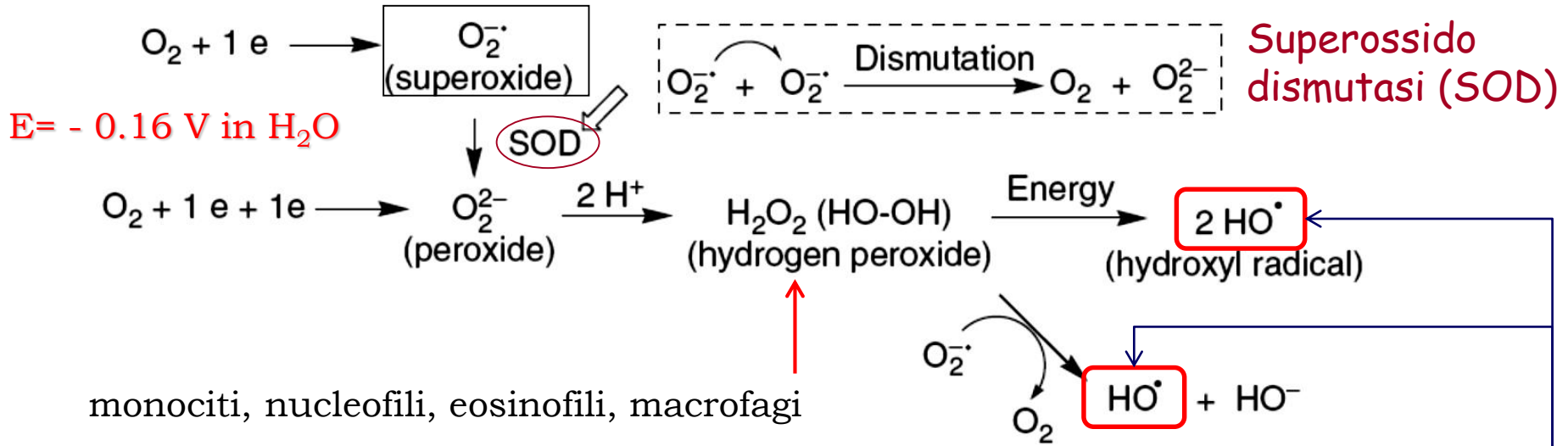
- Effetti biologici di Radicali ed altre Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS);
 - Antracicline;
 - Mitoxantrone;
 - Actinomicina D;
 - Bleomicine
- Intercalanti ed inibitori topoisomerasi

L'ossigeno pur essendo assolutamente necessario per la vita degli organismi aerobici (animali, piante e batteri aerobici), si dimostra tossico quando la sua concentrazione supera anche di poco quella presente nell'aria. E' tossico, non di per se, in quanto è scarsamente reattivo, ma a causa dei vari intermedi di riduzione, molto più reattivi dell'ossigeno molecolare.



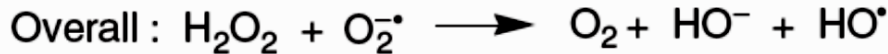
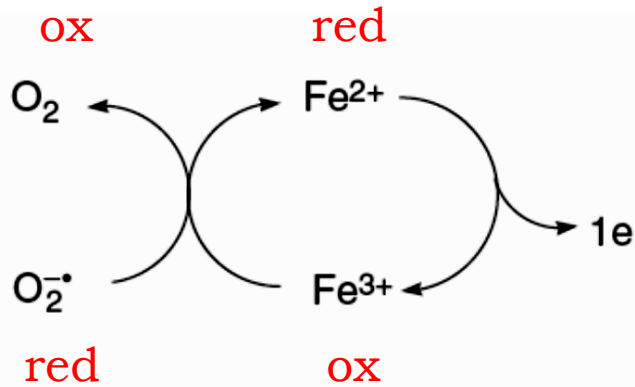
L'ossigeno molecolare è il principale promotore della formazione di radicali all'interno delle cellule poiché nello stato fondamentale contiene due elettroni di non-accoppiati, ognuno in un diverso orbitale π^* di antilegame (biradicale).

primo prodotto della riduzione univalente dell'ossigeno (**aldeide ossidasi, NADH ossigenasi, xantina ossidasi**)



Reazione di Haber-Weiss

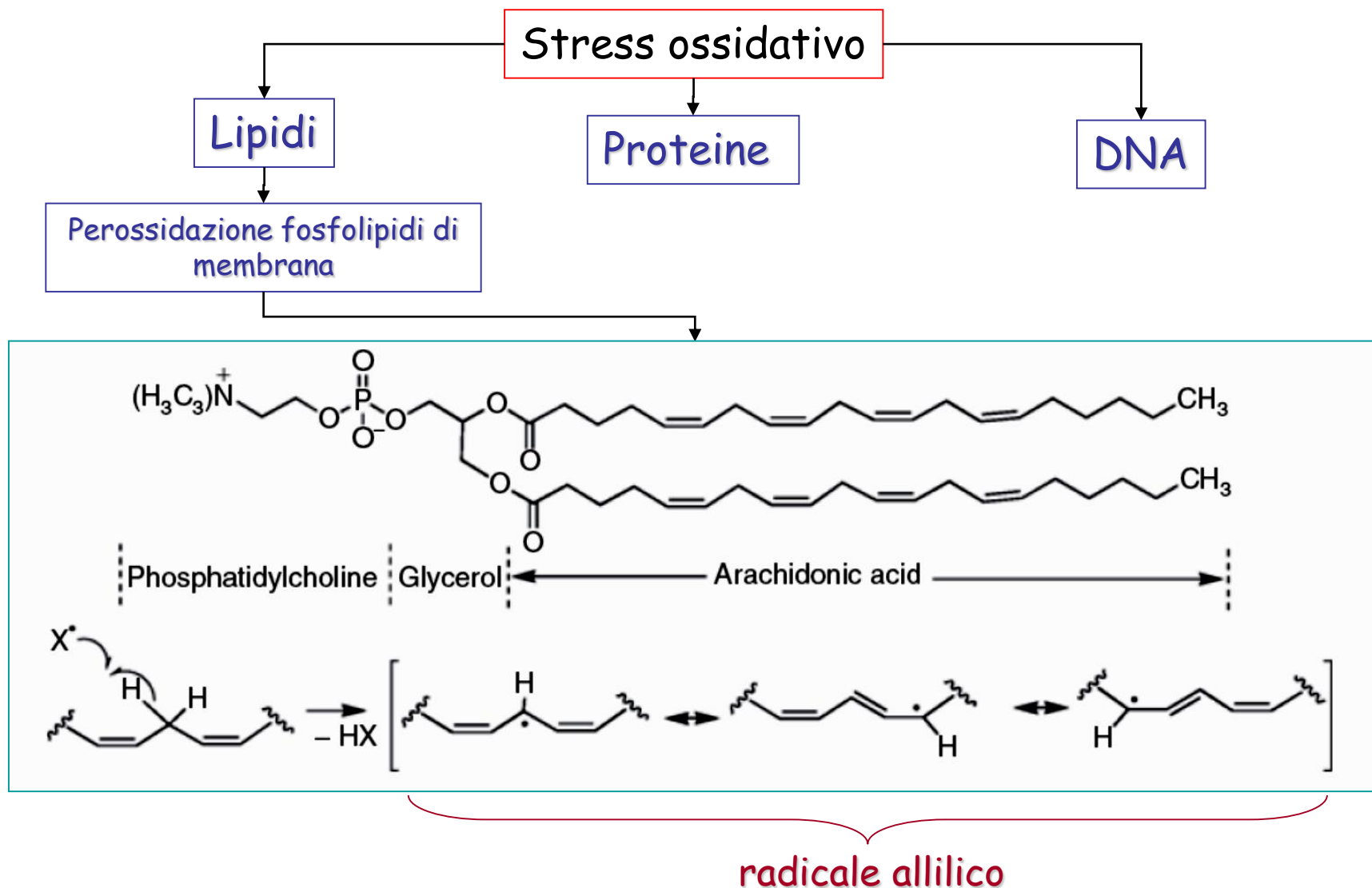
Non può diffondere dal sito di formazione e deve essere generato in prossimità del target; una delle specie radicaliche conosciute più reattive



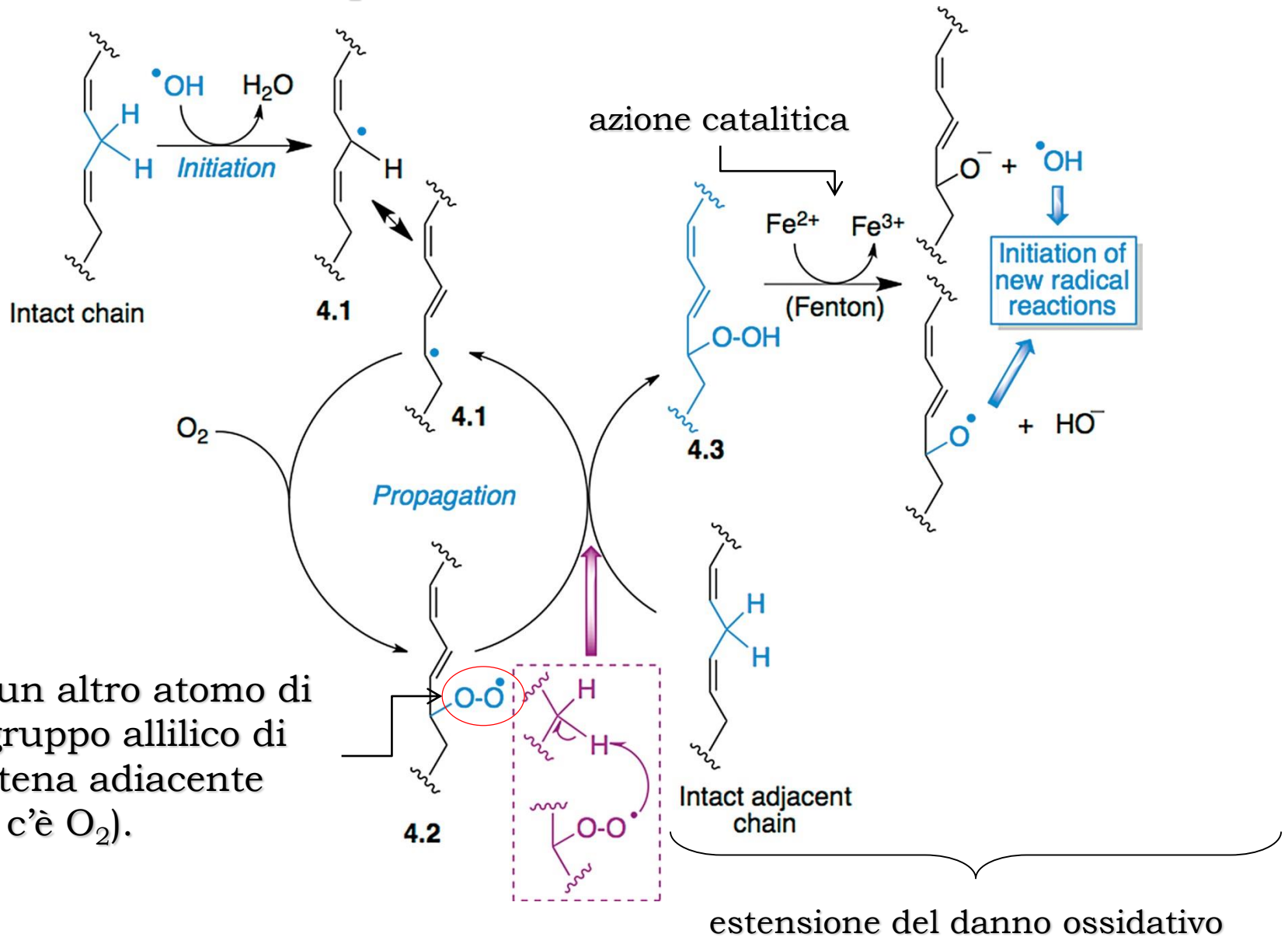
Reazione di Fenton

coppia redox, HO^{\cdot}/HO^- con potenziale $E^{\circ} = 1.9 \text{ V}$ in acqua, reattività ~ diffusione (1msec)

Effetti biologici dei ROS: meccanismo d'azione di molti antitumorali è in parte fondato sulla produzione di ROS e conseguente danno molecolare in cellule tumorali



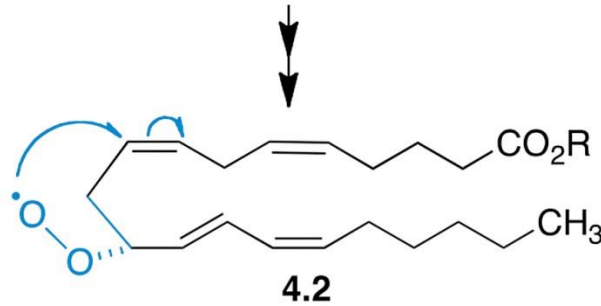
Perossidazione fosfolipidi e danno alla membrana



estrae un altro atomo di H dal gruppo allilico di una catena adiacente (finchè c'è O_2).

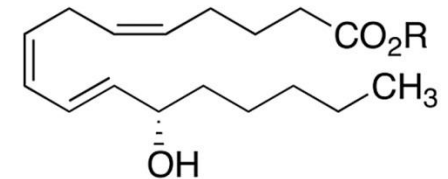
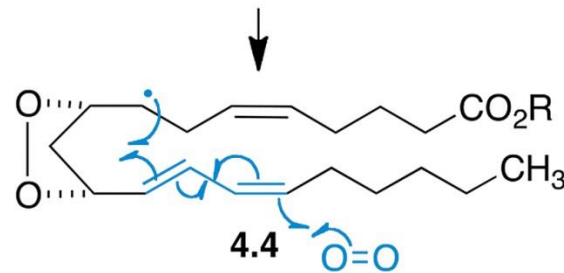
Arachidonic acid esterified
in membrane

Processo simile a quello
catalizzato dalle cicloossigenasi



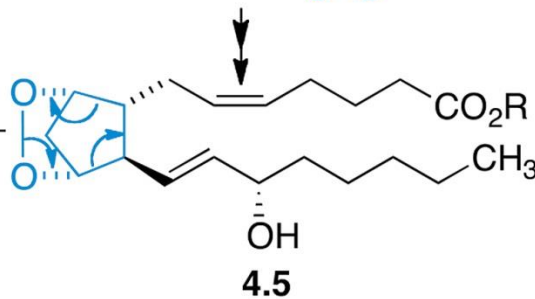
Lipid peroxidation
(figure 4.5)

Endoperossidi
ciclici

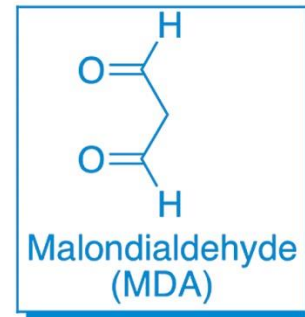


12-hydroxyeicosatrienoic
acid (12-HETE) ester

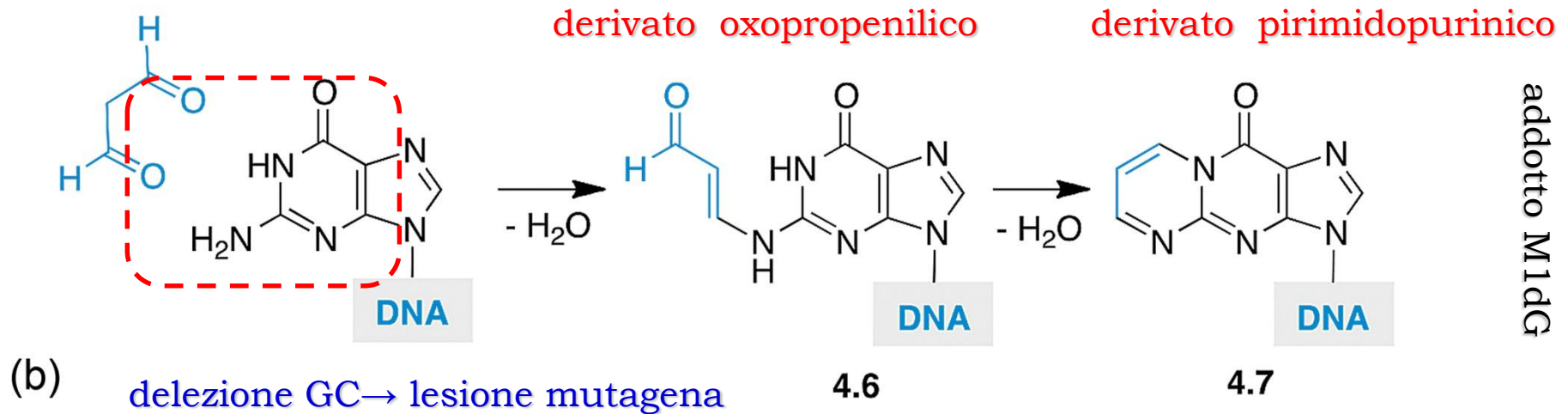
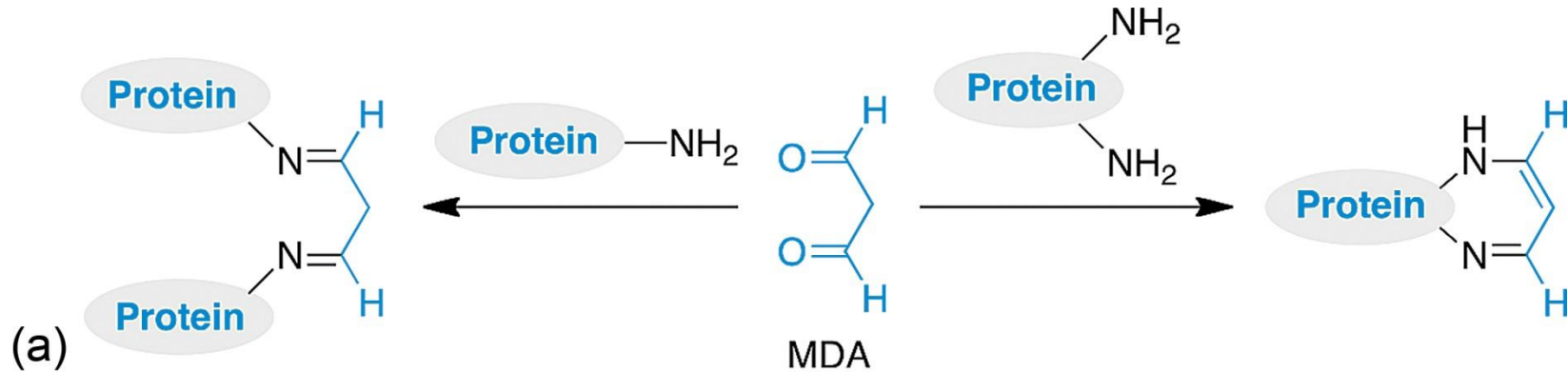
Other products



Retro
Diels-Alder



MDA può legarsi covalentemente ai gruppi amminici (Lys) delle proteine:
cross-links intra- ed intermolecolari



In cellule in proliferazione, la formazione di addotti M1dG è accompagnata da arresto del ciclo cellulare ed inibizione delle chinasi cicline-associate. Le **antracicline**, a basse concentrazioni, aumentano l'oxoprenilazione del DNA, MDA dipendente.

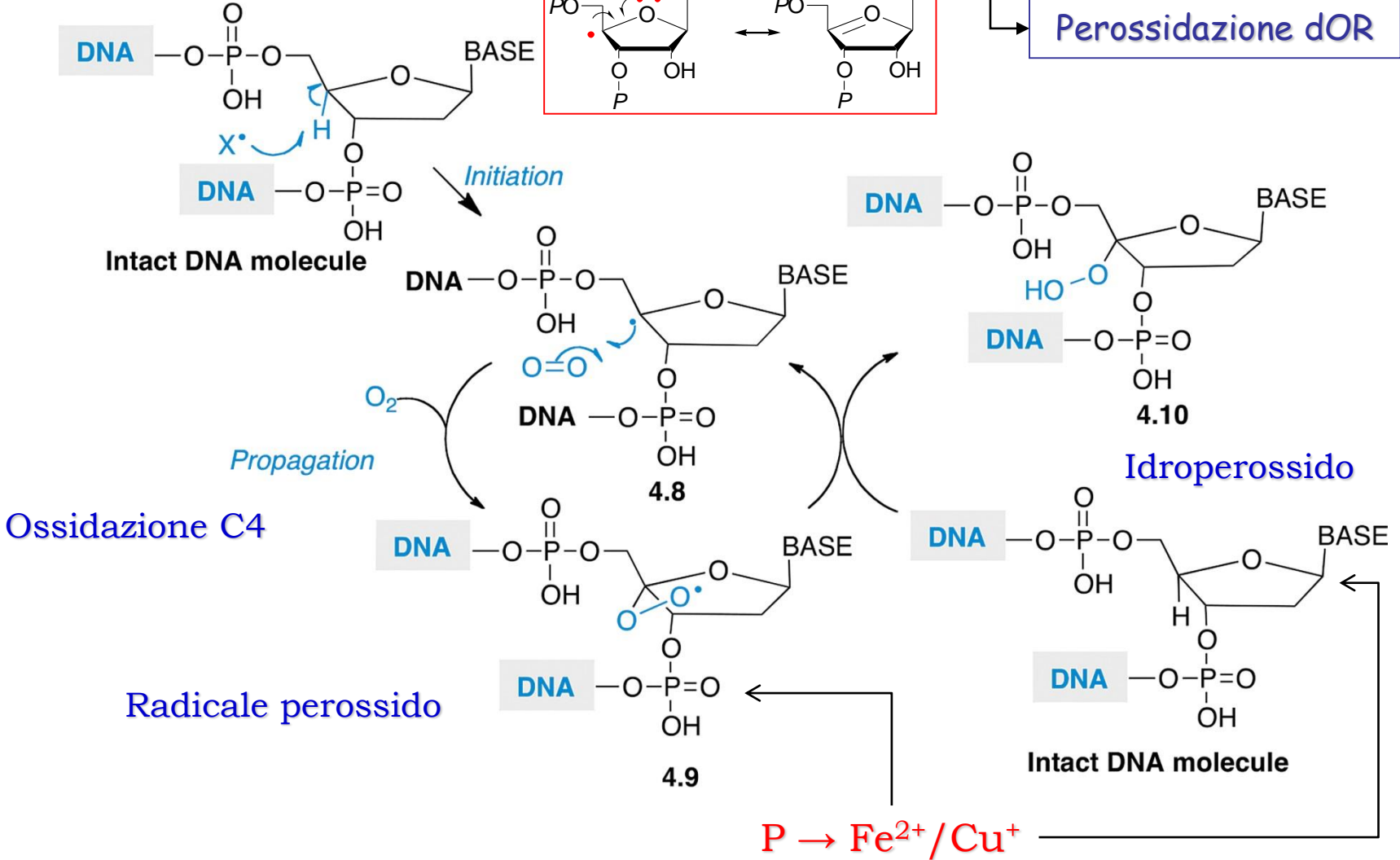
Stress ossidativo

Lipidi

Proteine

DNA

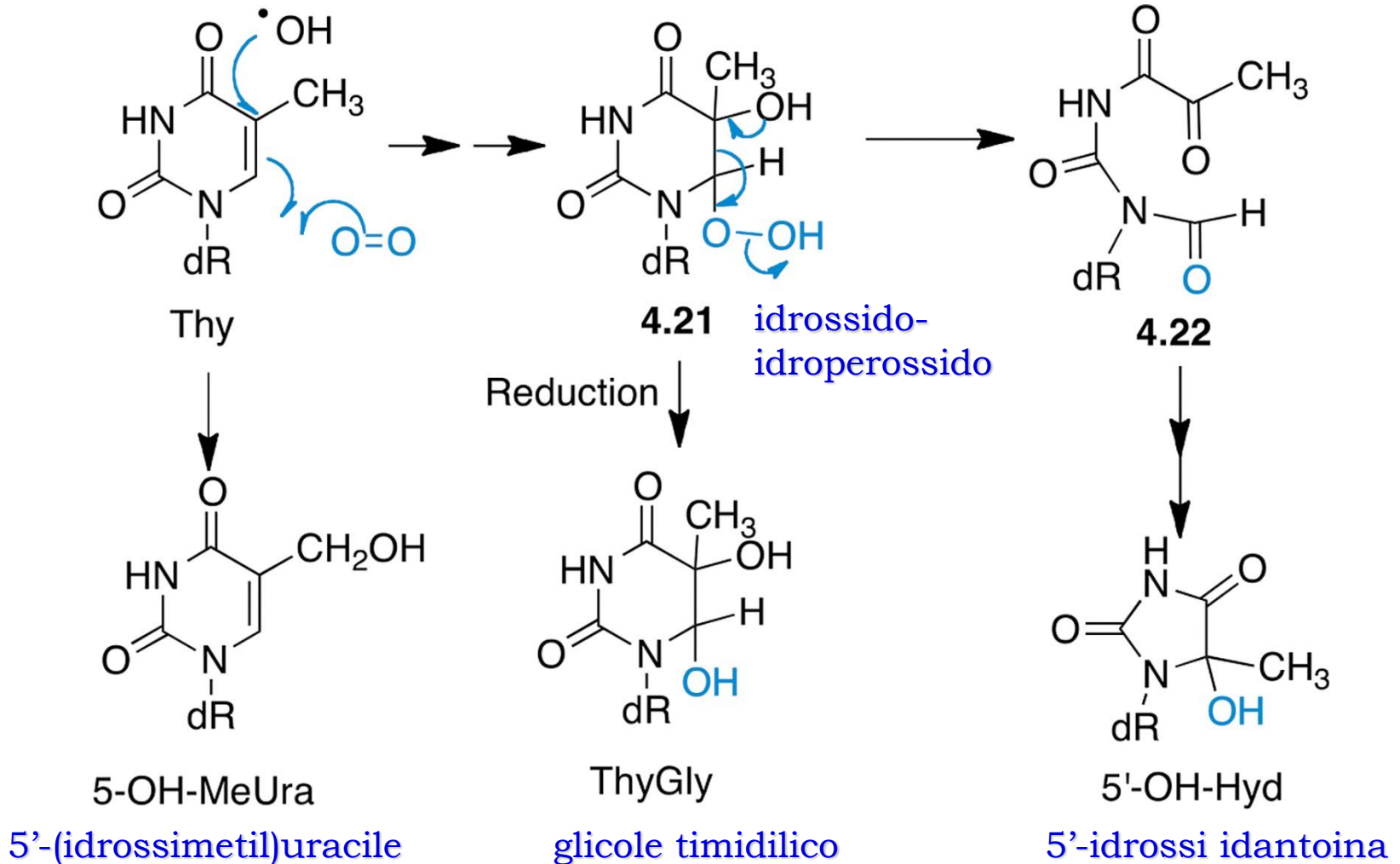
Perossidazione dOR



Processo autocatalitico

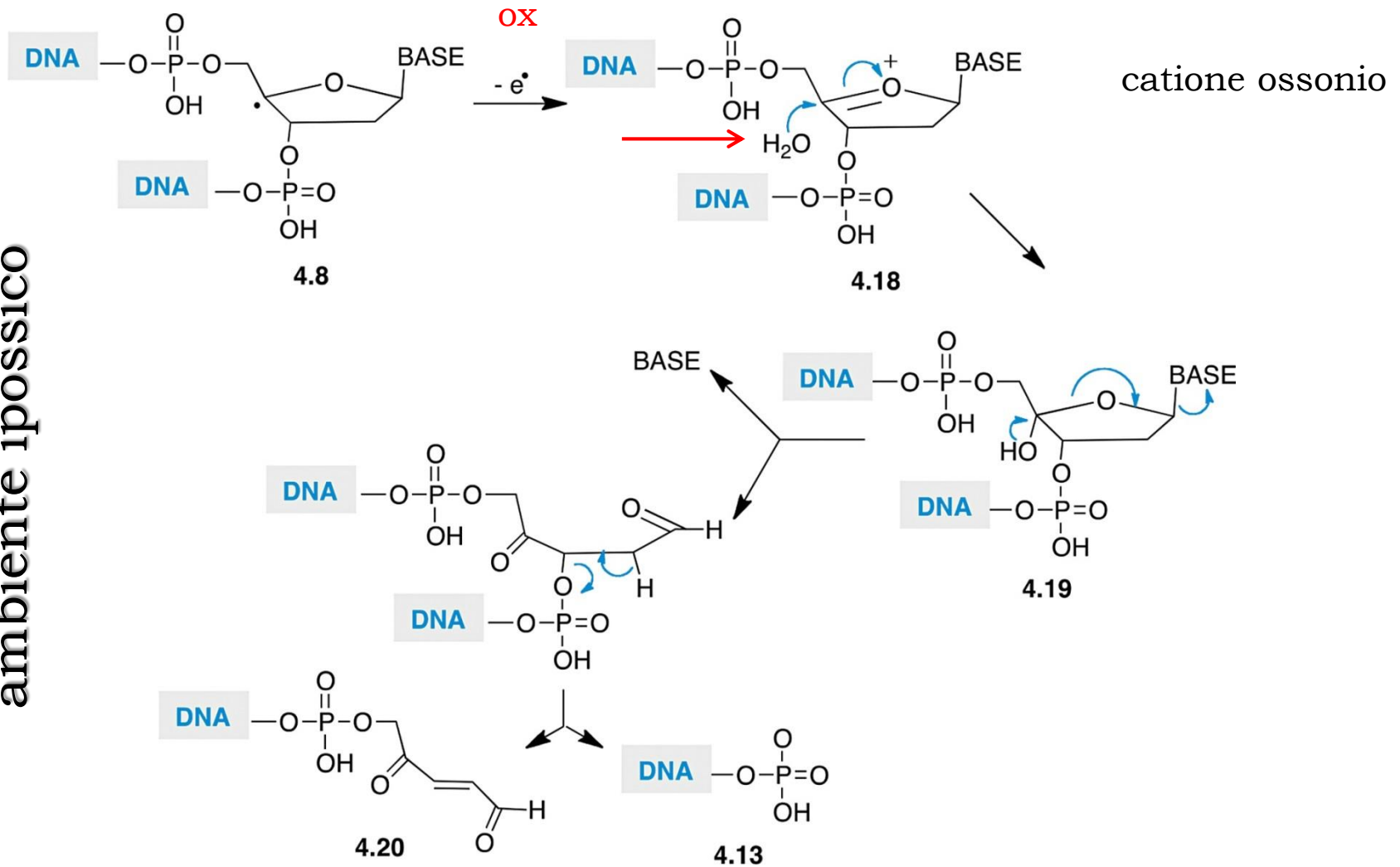
ossidazione basi pirimidiniche

prodotti di degradazione identificati a seguito di studi sugli effetti di radiazioni ionizzanti effettivamente rilevate in campioni di tumori al seno di pazienti in cura con antracicline.

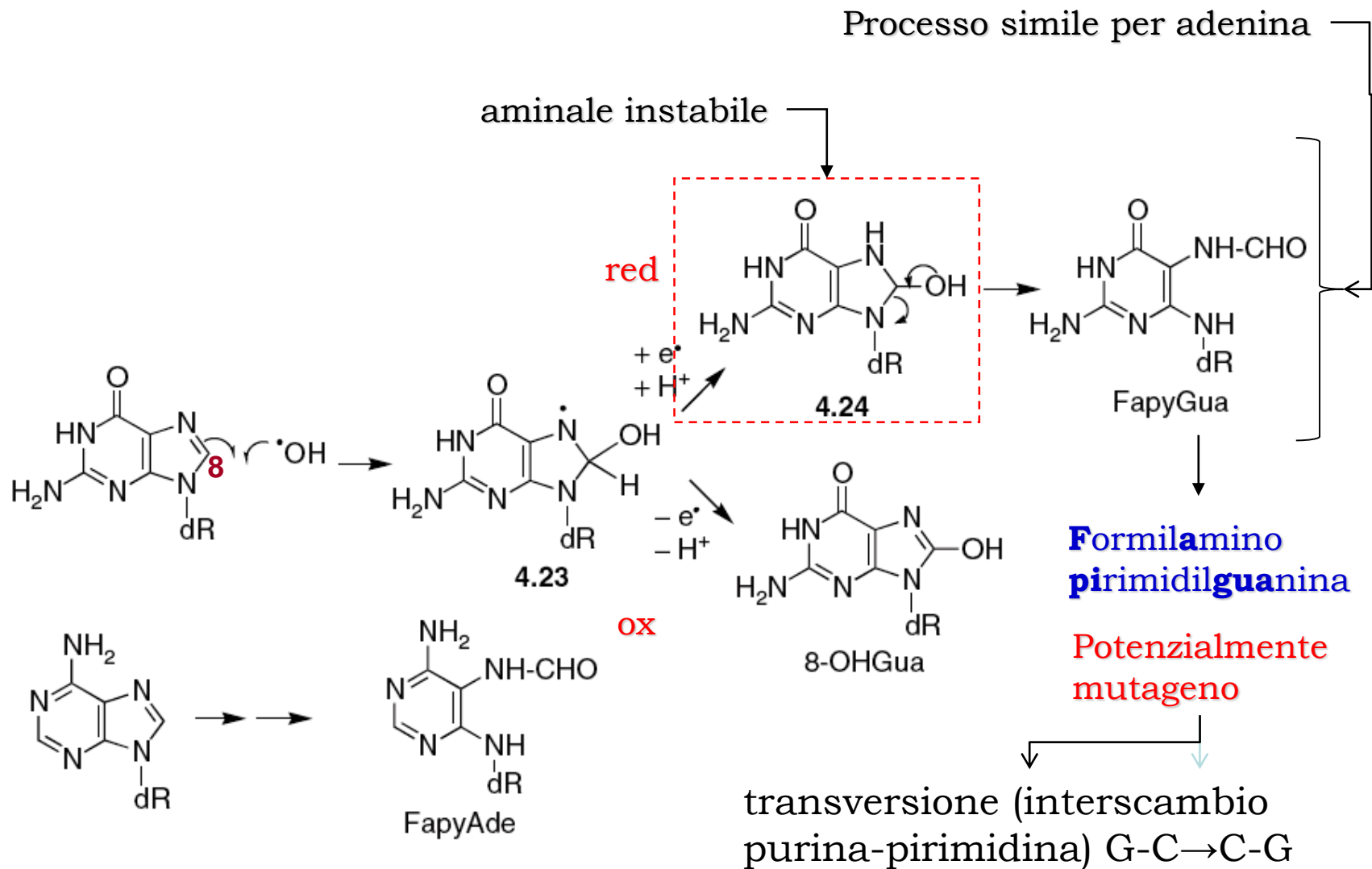


Reazioni di depurinazione e la depirimidinazione

ambiente ipossico



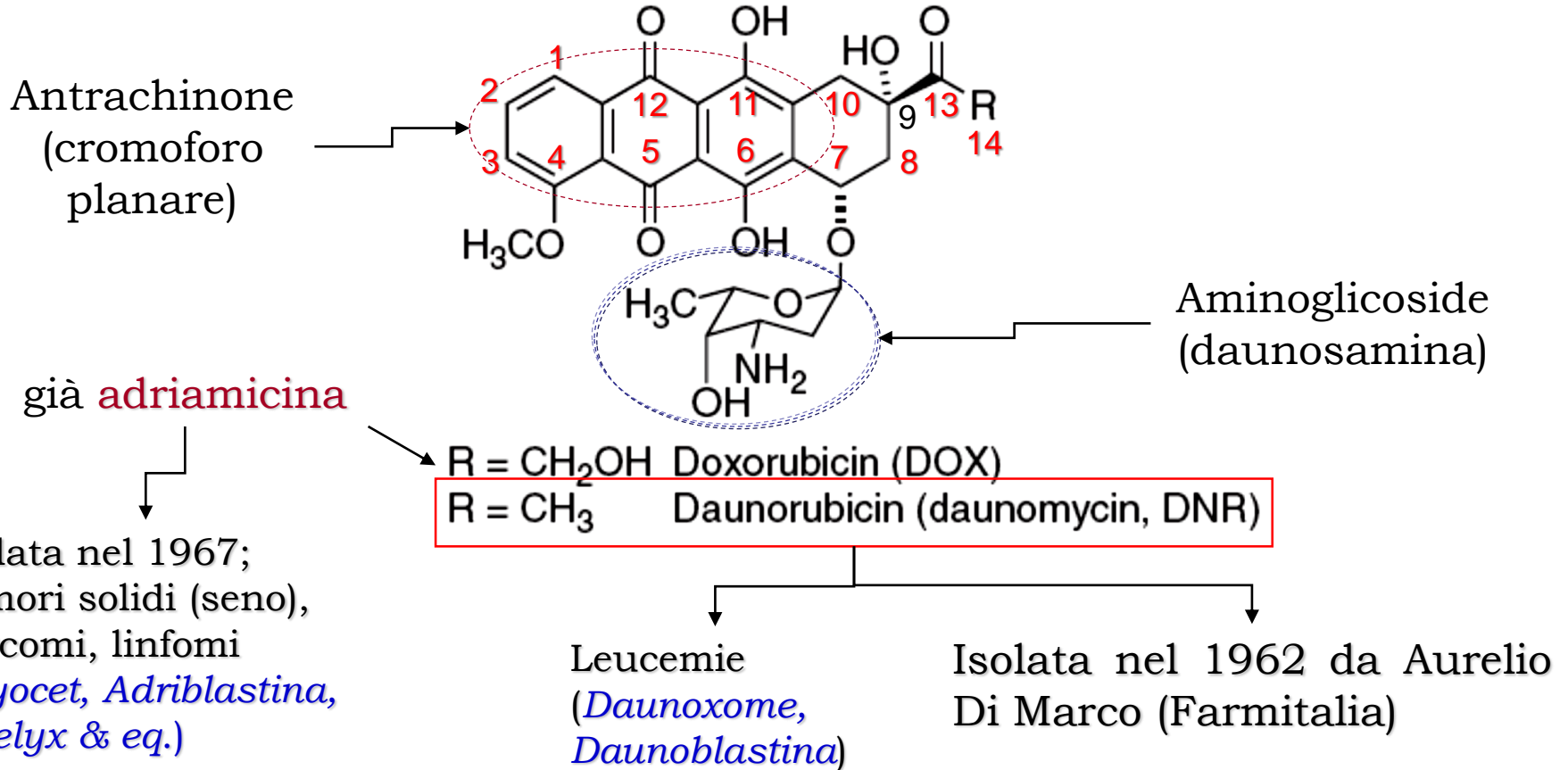
ossidazione basi puriniche



- Effetti biologici di Radicali ed altre Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS);
 - **Antracicline;**
 - Mitoxantrone;
 - Actinomicina D;
 - Bleomicine;

Antraciclina (antibiotici da *streptomices*)

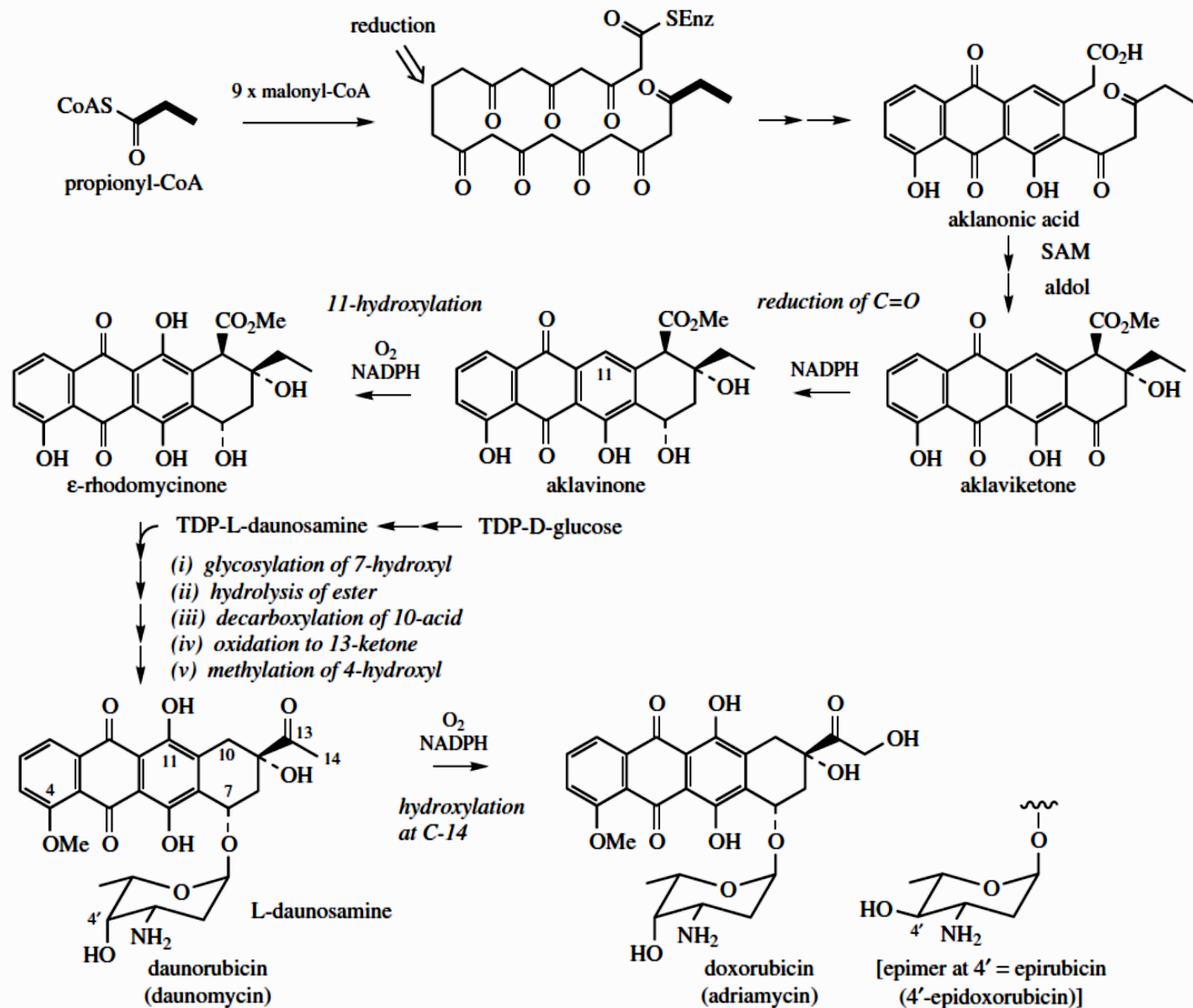
Agenti chemioterapici di ampio uso (dosaggio controllato, severa cardiotoxicità).



✓ generazione specie radicaliche;

✓ intercalazione nel DNA e conseguente inibizione della biosintesi di macromolecole;

✓ inibizione topoisomerasi II.

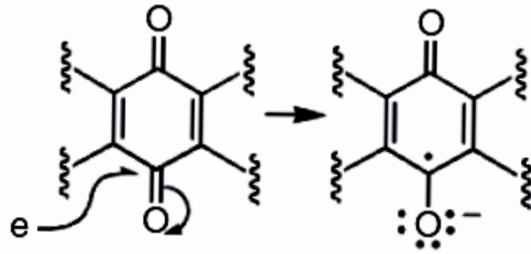


Antracicline (meccanismo d'azione ROS)

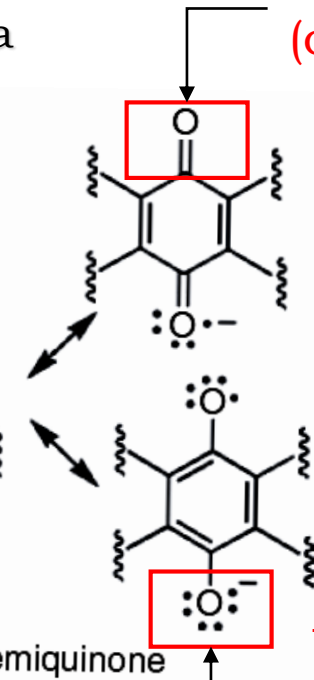
cardiotossicità

apoptosi

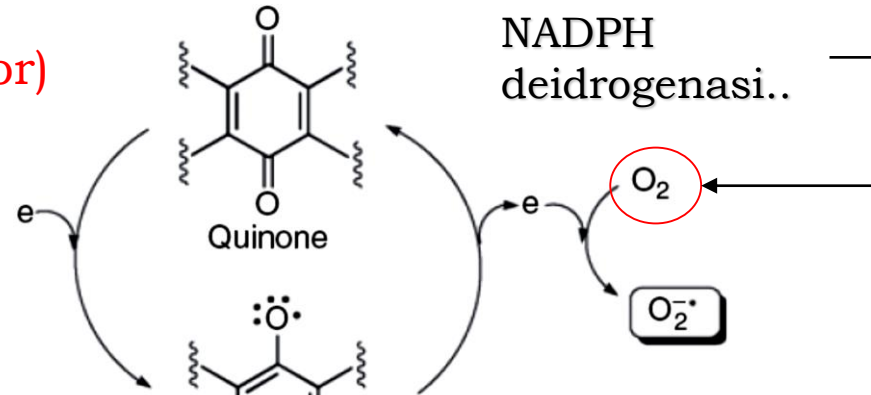
Stabilizzazione radicali da
sostituenti **-I** e **+I**
(effetto captodativo)



-I/-M
(captor)



+I/+M
(dative)



Quinone

Semiquinone
4.25

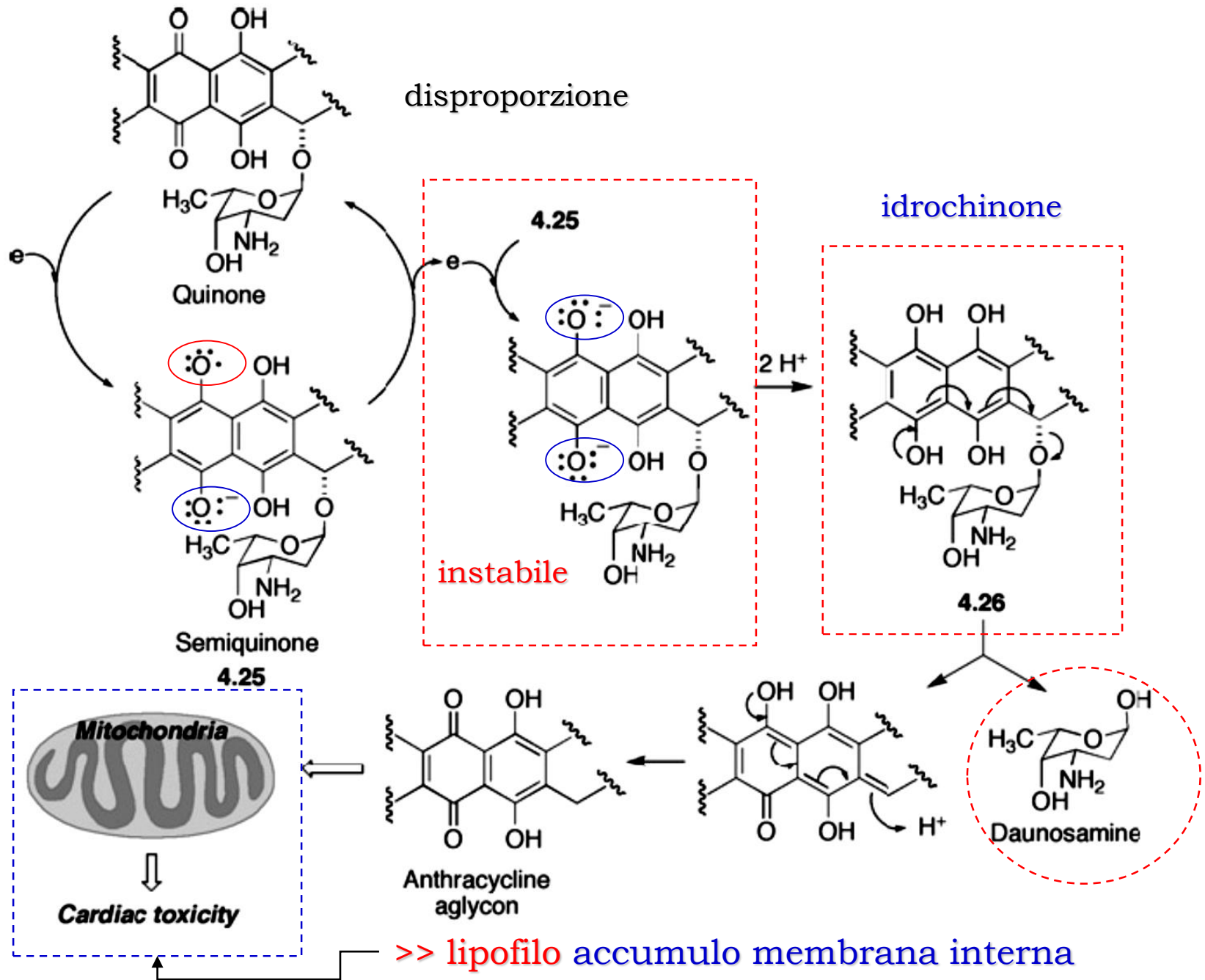
Ciclo redox
DOX e DNR

NADPH
deidrogenasi..

reversibilità
semichinone

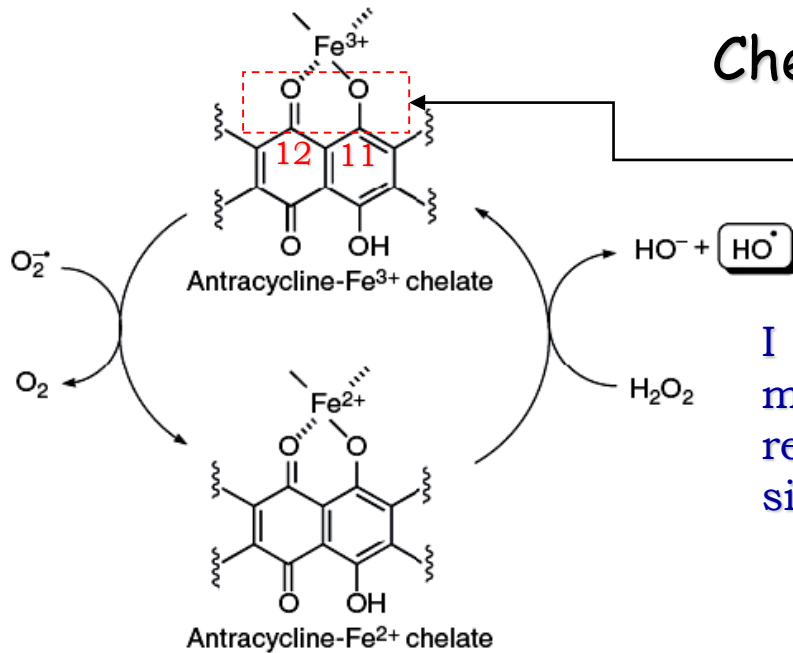
Il limite principale associato all'uso delle antracicline è riconducibile all'insorgenza di cardiomiopatia cronica, correlata alla generazione di ROS e conseguente induzione di apoptosi. **Inibizione catalasi e glutatione perossidasi cardiaca selenio-dipendente** **detossificazione H₂O₂**. Attivazione NF-kB → apoptosi, # cellule tumorali.

Target → acidi nucleici → produttori radicali liberi sito-specifici.



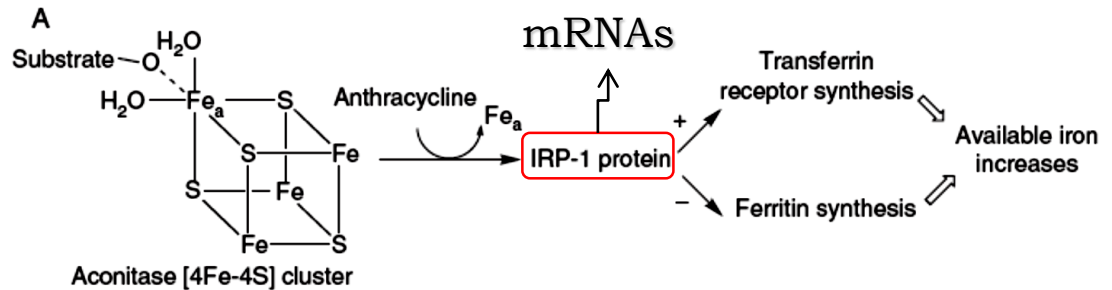
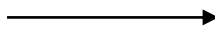
Chelanti del DNA

gruppo β -idrossicarbonilico C11, C12



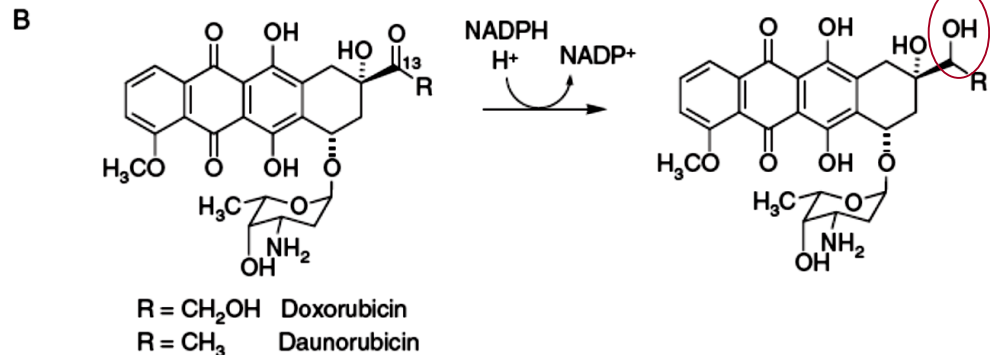
I chelati antracicline-Fe³⁺ legano il DNA con maggiore affinità e possono generare Fe²⁺ per reazione con anione superossido. Fe²⁺ forma in situ idrossi radicali con H₂O₂.

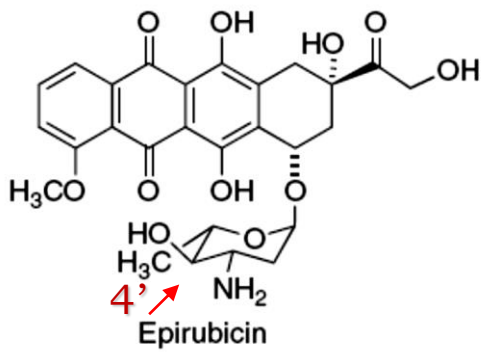
aconitasi-ciclo di Krebs (citrato-isocitrato)



Disregolazione omeostasi del Fe (tossicità cronica)

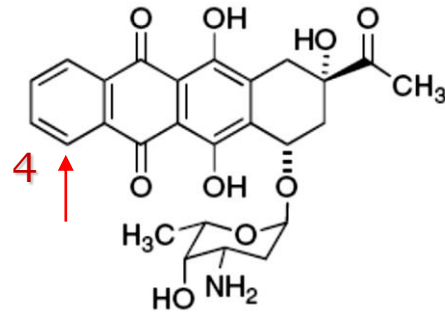
IRP (iron regulatory protein)





Epirubicina (EPI)
Epimero DOX C4'
(Farmorubicina & eq)

Analoga cardiotossità,
>>eliminazione >
4'-O-glucuronidazione

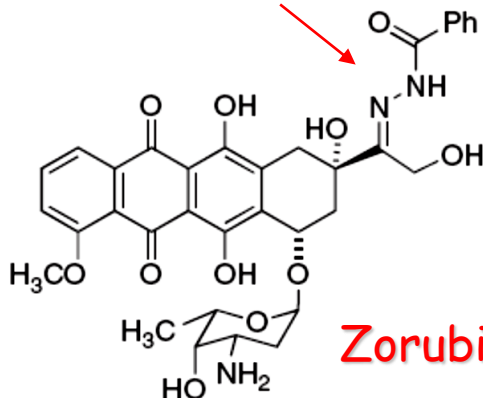


Idarubicina (IDA)
Demetossi daunorubicina
(Zavedos & eq)

Ricerca di “migliori antracicline” prive di cardiotossicità e insensibili ad efflusso cellulare da pompe ABC

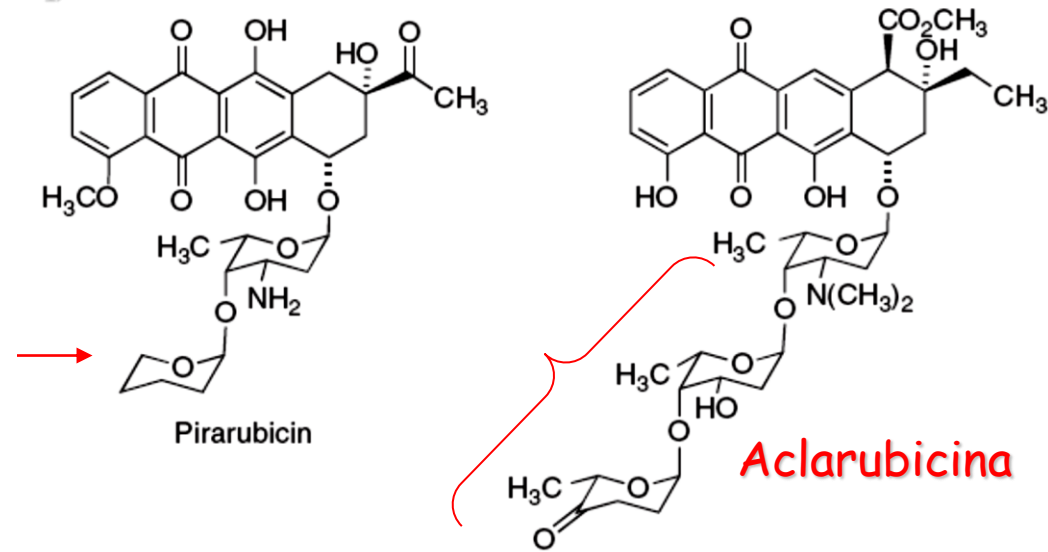
>> lipofilia, >>uptake cellulare, > stabilizzazione complesso ternario topo II

Benzoilidrazzone DNR

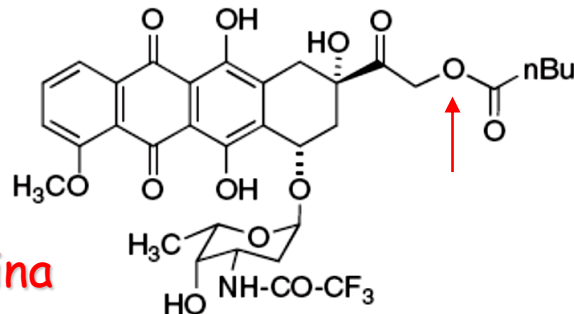


Zorubicina

Pirarubicina
(4'-tetraidropiraniil derivato)

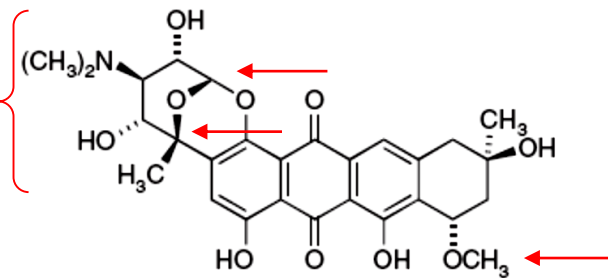
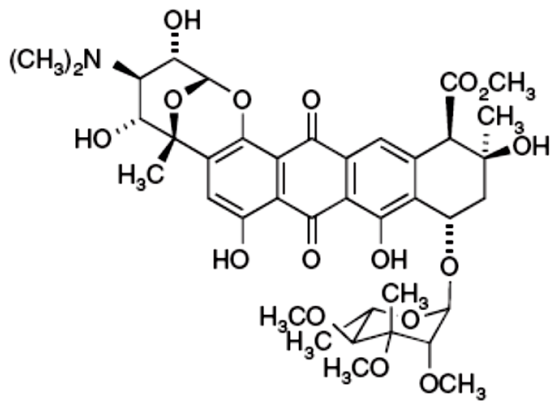


Aclarubicina



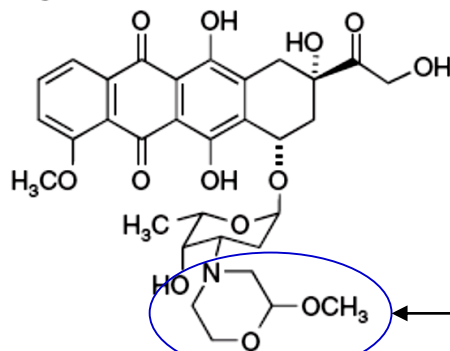
Valrubicina

Negli ultimi 20 anni sono stati identificati o sintetizzati più di 300 composti e più di 2000 analoghi



Menogaril (linfoma, mieloma multiplo, LLC)

1968-Nogalamicina



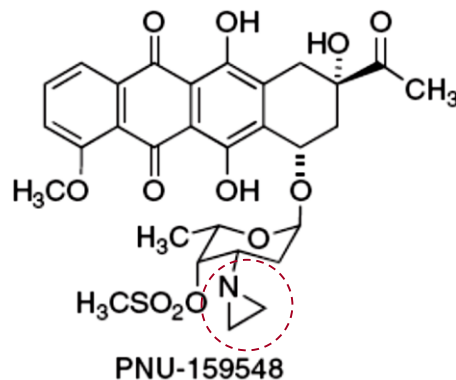
Nemorubicin (MMRA)

Nemorubicina

< cardiotossicità,
> diffusione vasale,
Fase III

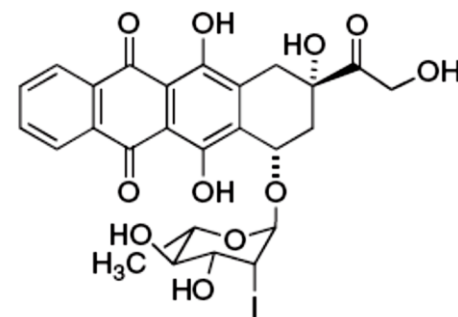
metossi morfolina

Drug hybridization
(intercalante+alchilante)



PNU-159548

BBB, tumori intercraniali)



Anamycin

liposomi

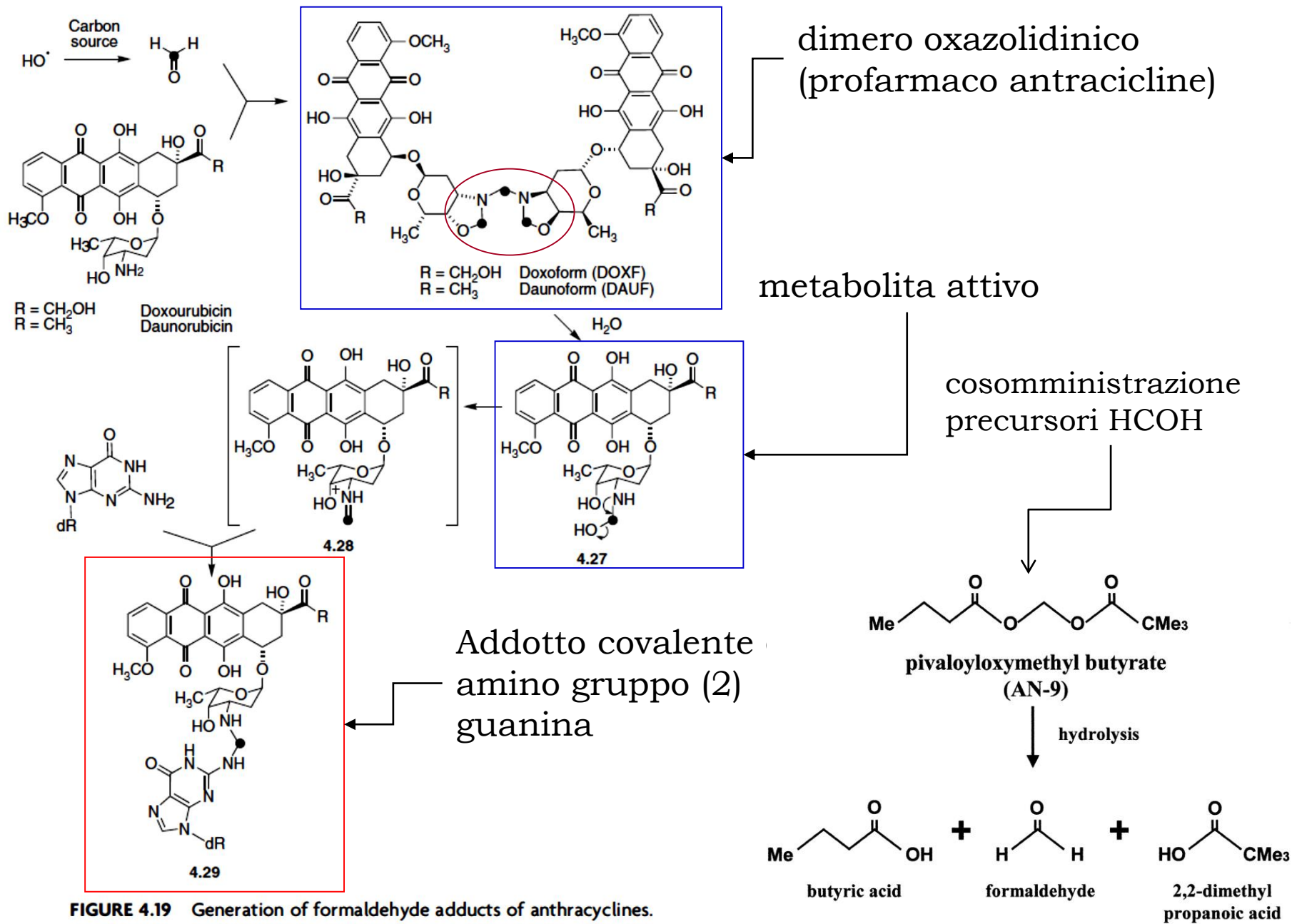


FIGURE 4.19 Generation of formaldehyde adducts of anthracyclines.

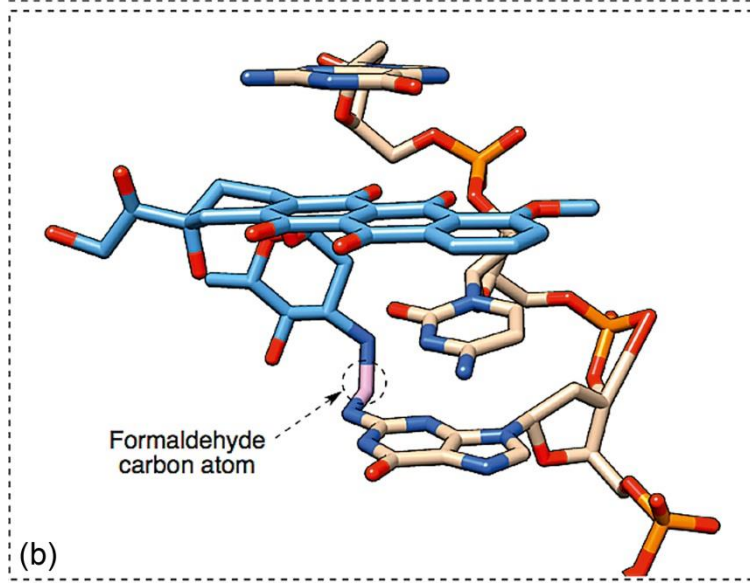
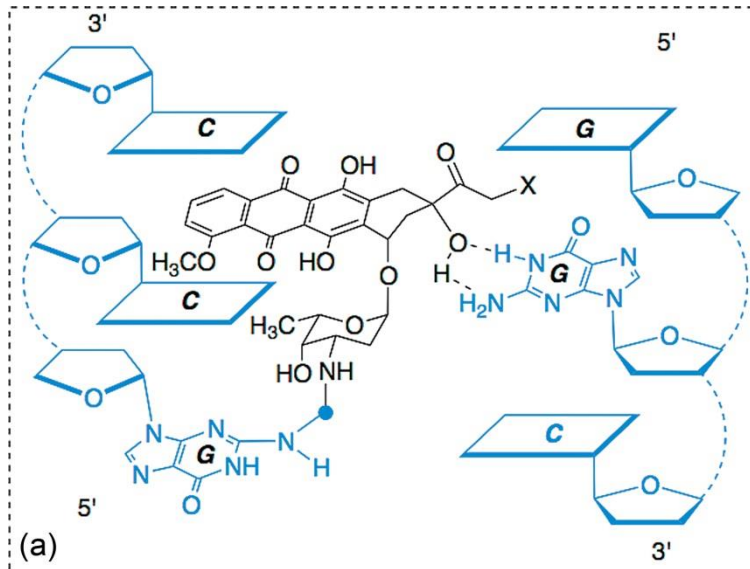


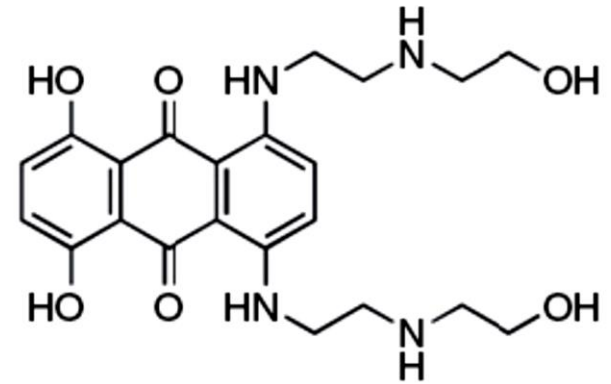
Figure 4.22

- Effetti biologici di Radicali ed altre Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS);

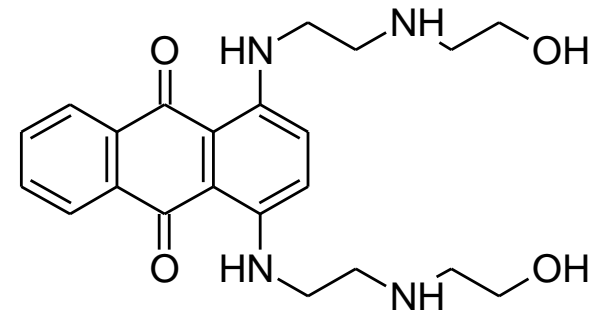
- Antracicline;
- **Mitoxantrone;**
- Actinomicina D;
- Bleomicine.

- Intercalanti ed inibitori topoisomerasi

- Actinomicine;
- Acridine;
- Camptotechine



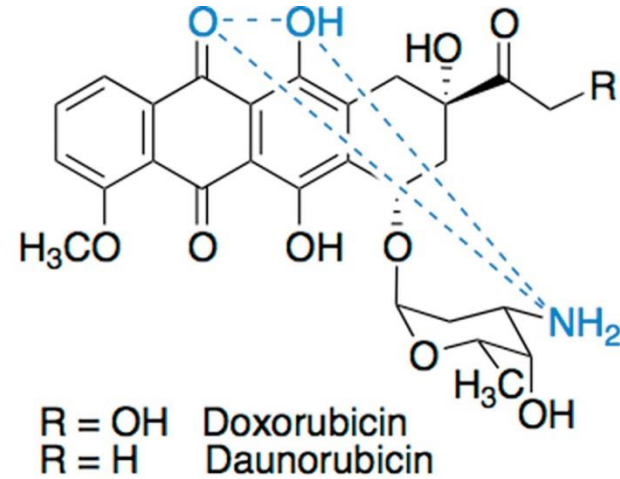
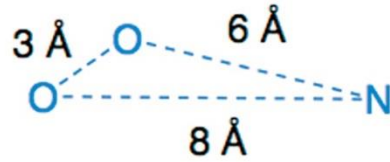
Derivato antrachinonico -catena poliamminica



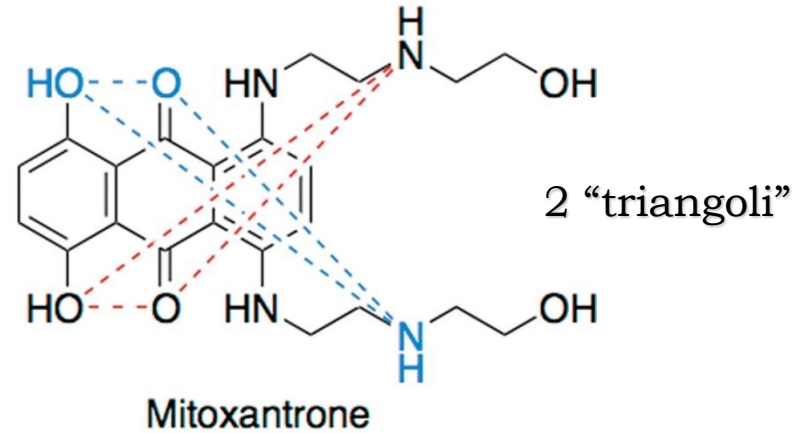
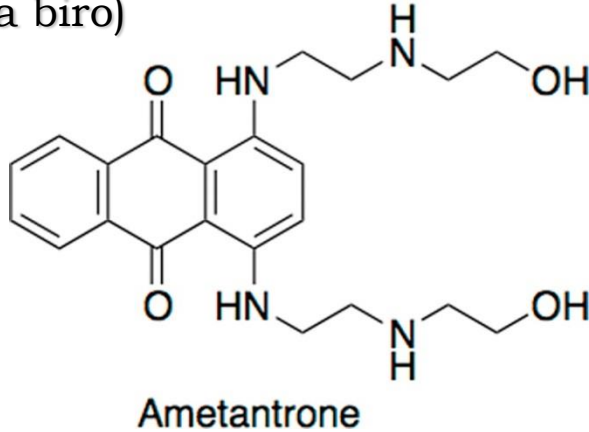
ametantrone

- tumore del seno;
- leucemie;
- tumori della prostata;
- sclerosi multipla progressiva;

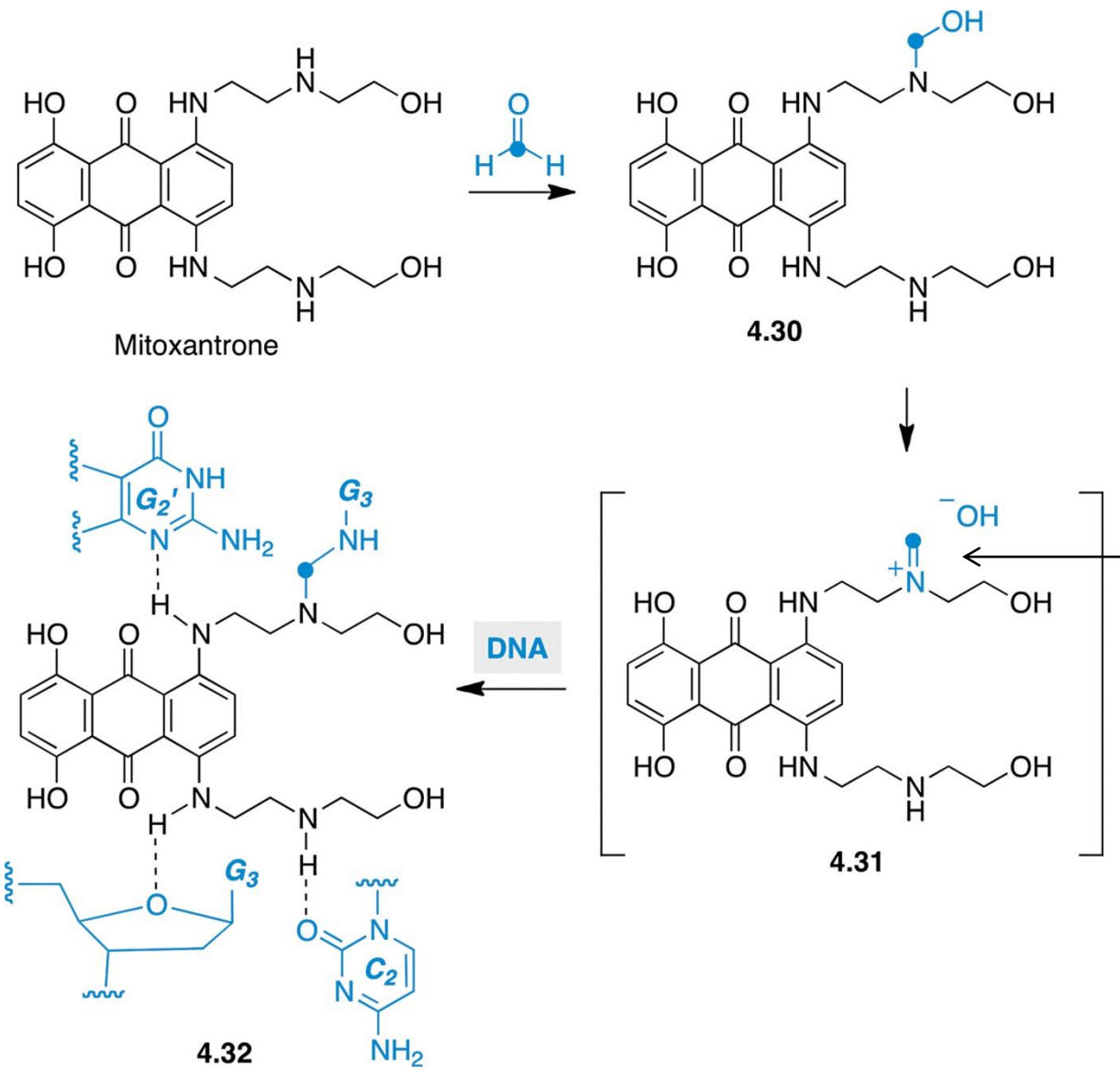
farmacoforo **N-O-O** “**triangolare**” comune a molti antileucemici
(anche antracicline)



Screening NCI
(**colore** penna biro)



Sclerosi multipla (secondaria progressiva); Patologia autoimmune → riduzione globuli bianchi; neoplasie mieloidi;



HCOH: Alti livelli in tumori mieloidi (spermina e altre poliammine da ROS generati da neutrofili)

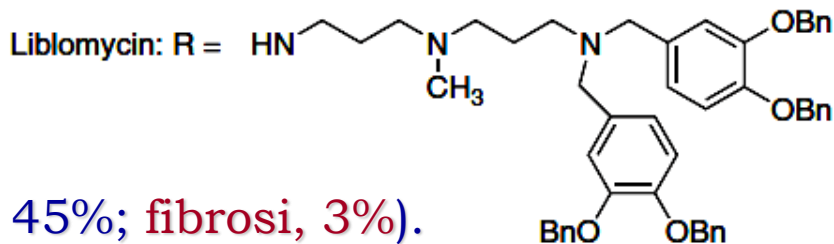
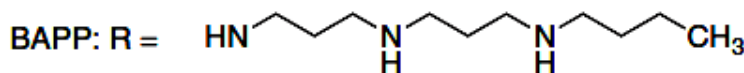
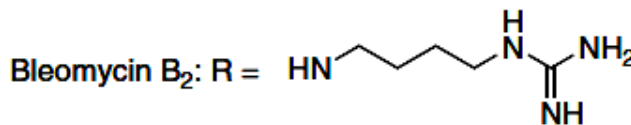
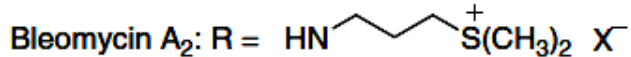
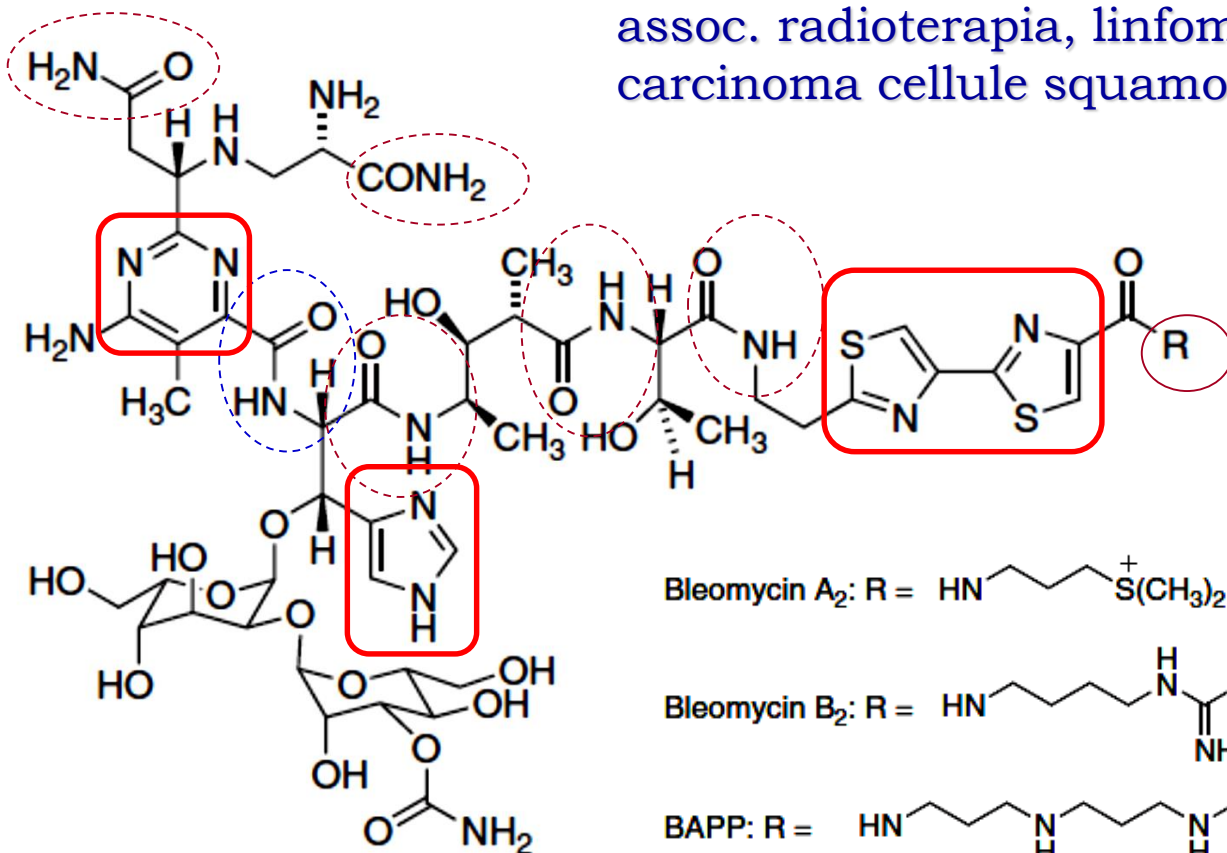
catione imminio

Figure 4.25

Bleomicine (BLMs) - (antibiotici glicopeptidici, *Streptomyces verticillus*)

assoc. radioterapia, linfoma (ABVD)
 carcinoma cellule squamose; carc. testicolare;

~ 1400 Da



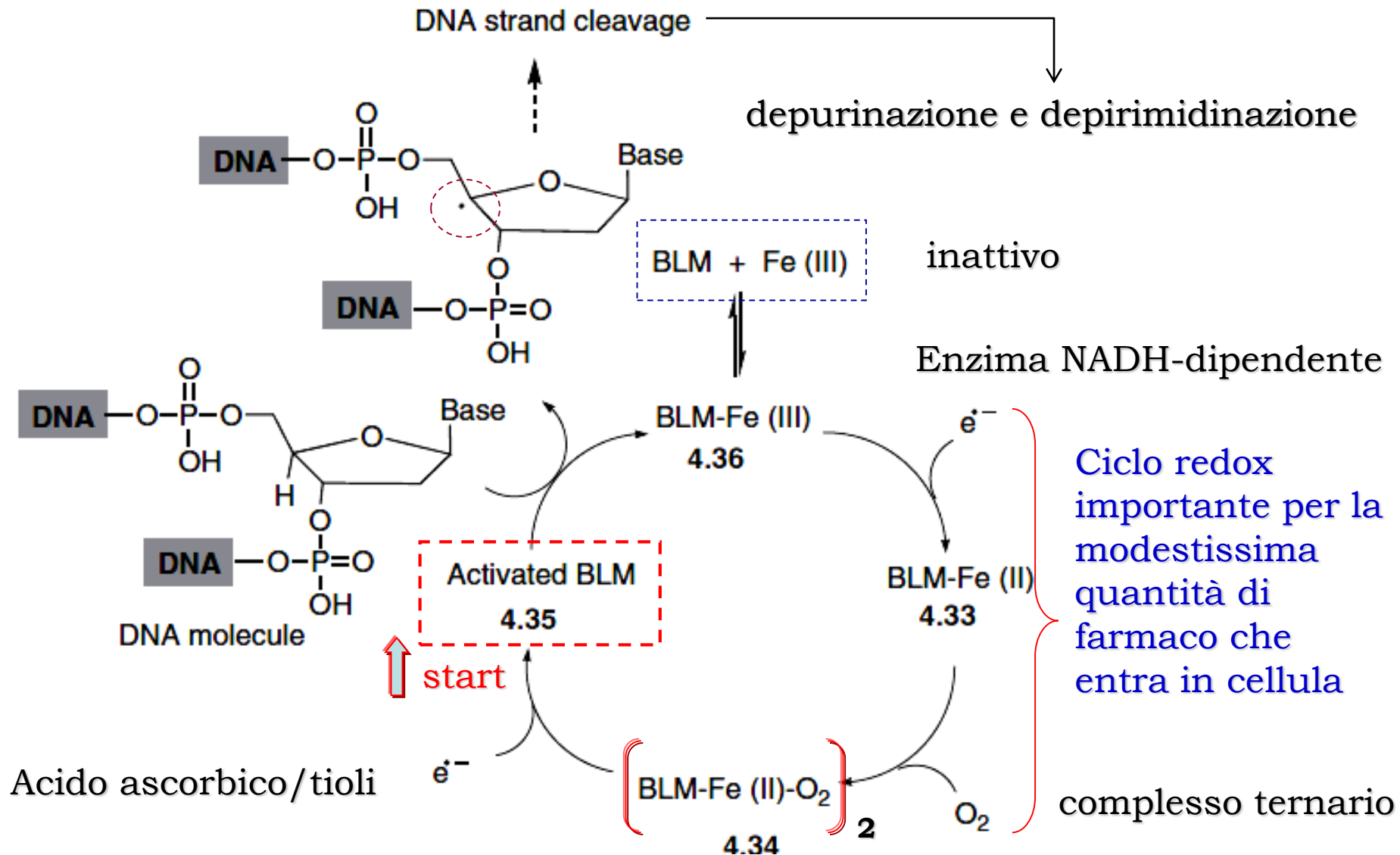
blenoxane

Tossicità polmonare (polmoniti, 45%; fibrosi, 3%).

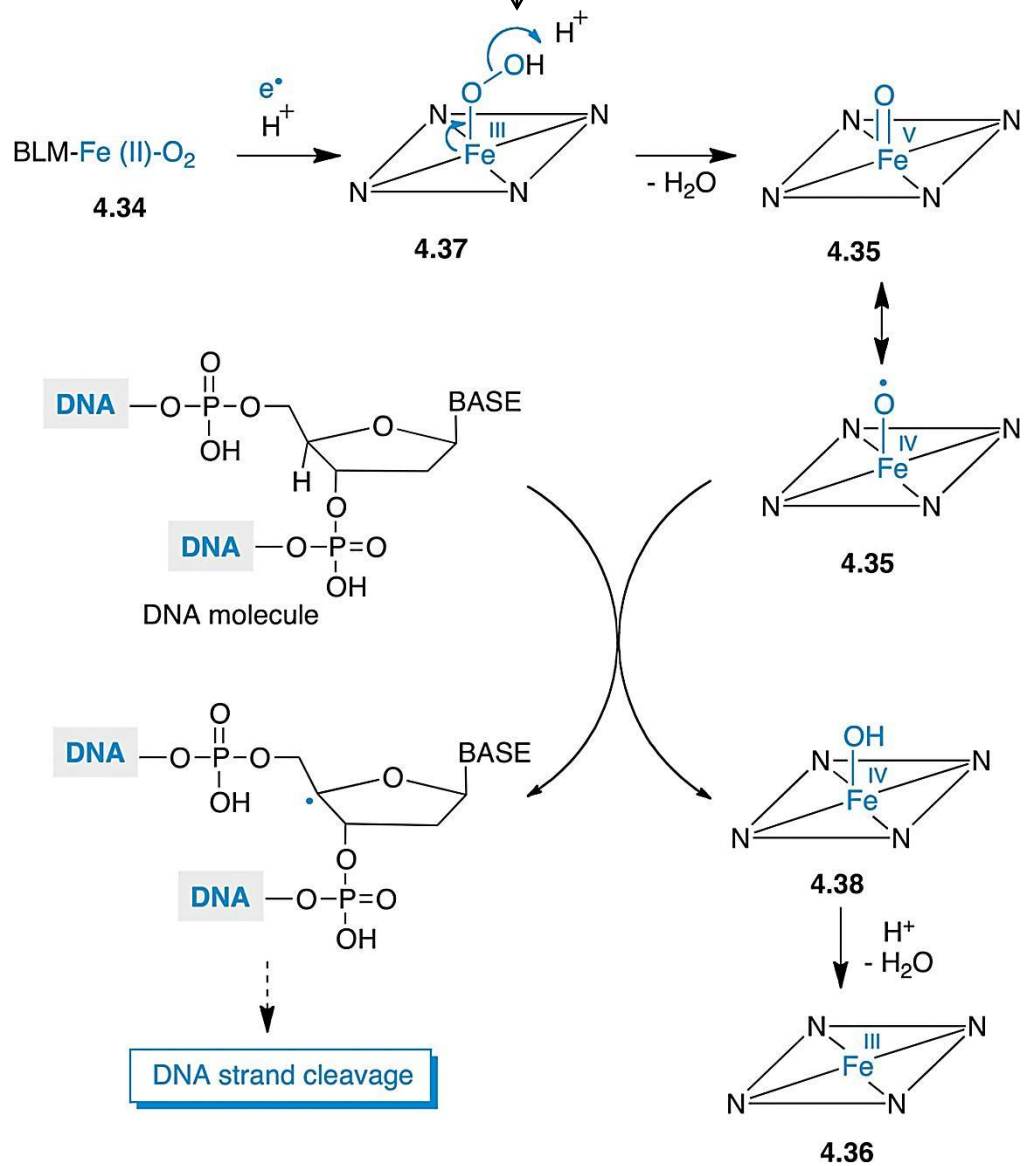
Ciclo redox delle Bleomicine

BLM entra in cellula tumorale solo in piccola quantità

BLM richiede Fe(II) o Cu(I), O₂, red 1e⁻ per generare la BLM-attivata

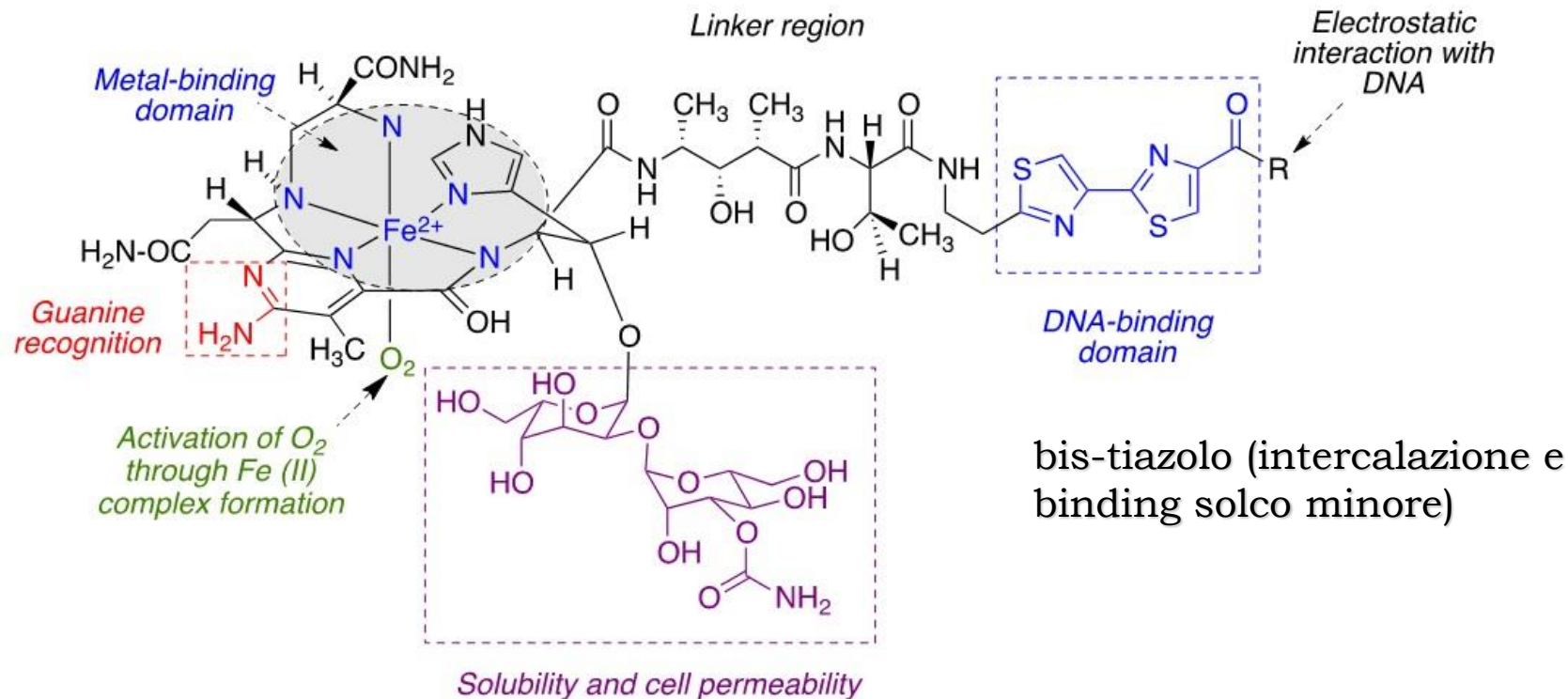


complezzo Fe(III)-idroperossido



β -aminoalanina-pirimidina- β -idrossiistidina
(5N ad una distanza tale da chelare Fe (II),
6^a valenza per O₂)

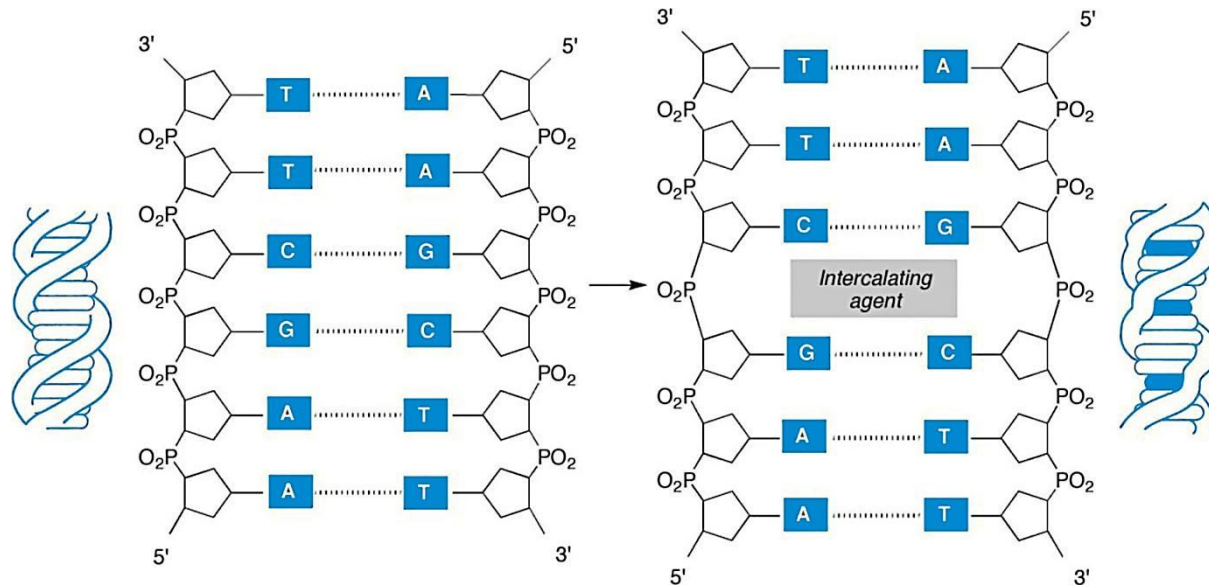
Essenziale per la preorganizzazione
e stabilizzazione di una
conformazione compatta



BLM mostra selettività verso le sequenze 5'-GC-3' e 5'-GT-3'

- Effetti biologici di Radicali ed altre Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS)+ intercalanti;
 - Antracicline;
 - Mitoxantrone;
 - Actinomicina D;
 - Bleomicine.
- Intercalanti (+ROS) ed inibitori topoisomerasi
 - Actinomicine;
 - Acridine;
 - Camptotecine

Intercalanti: composti con sistemi planari aromatici (etero) capaci di inserirsi, perpendicolarmente all'asse delle α -eliche, tra coppie adiacenti di basi



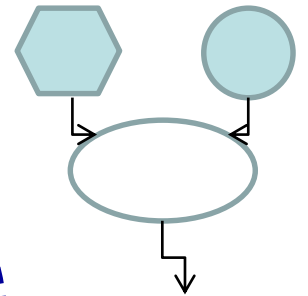
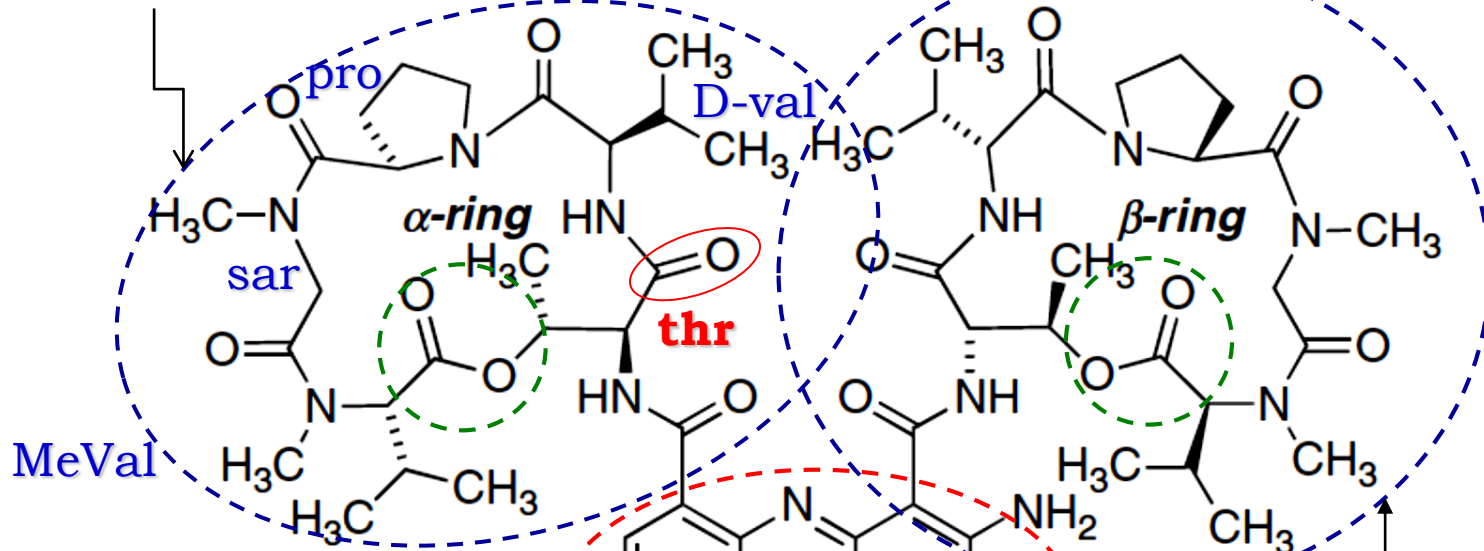
3/4 anelli; cromofori (ass. UV); Intercal. da ambiente idrofilico ad idrofobico (spazio tra coppie adiacenti), termodin. $>$ entropia; Variazione conformaz. del DNA per accomodare intercalanti (R^+) \rightarrow rilascio controioni (effetto polielettrolitico);

Gli intercalanti sono meno *sequenza-selettivi* rispetto agli agenti che interagiscono con il solco minore (preferenza regioni G-C);
Principio di esclusione del prossimo più vicino.

Actinomicina D (dactinomomicina)-(Streptomyces)

depsipetide ciclico

α (5a.a.)



non cationica,
momento
dipolare elevato

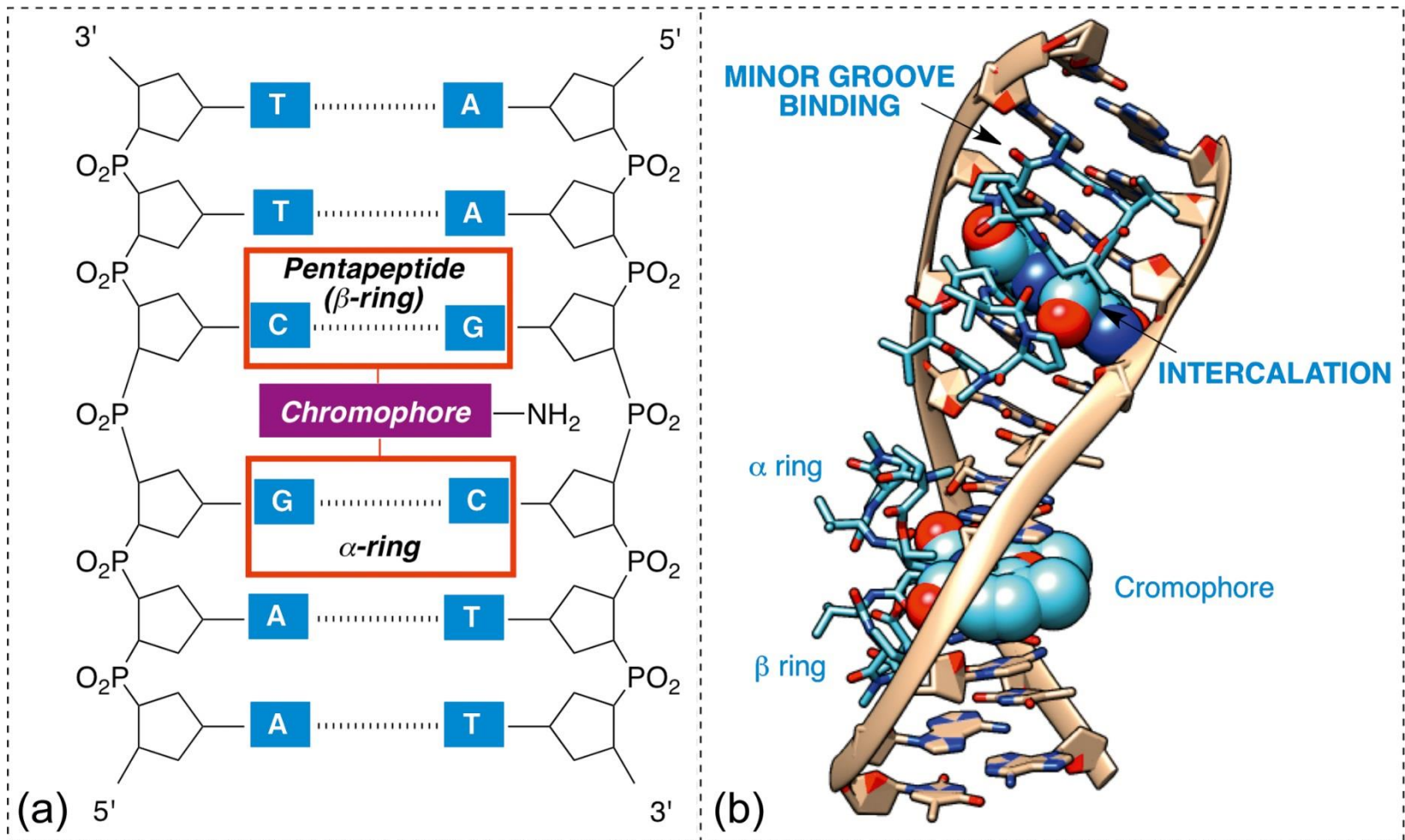
fenossazina
(cromoforo planare)

Actinomycin D (dactinomycin)

depsipetide ciclico
 β (5a.a.)

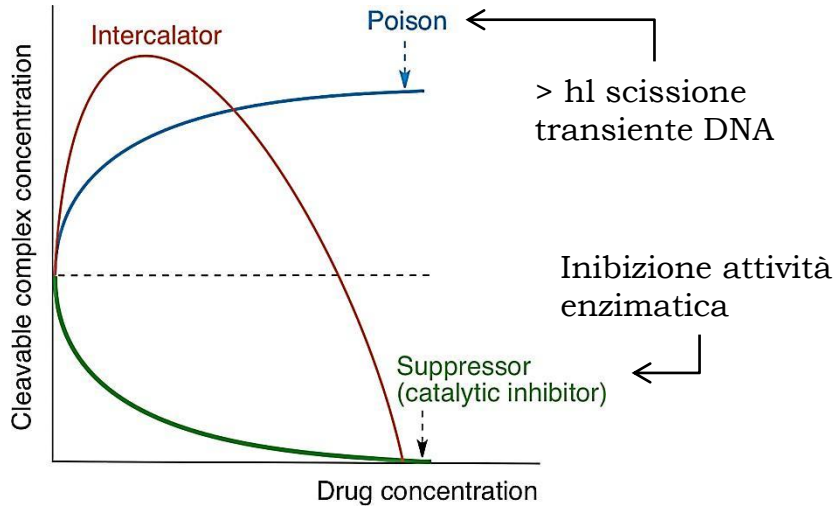
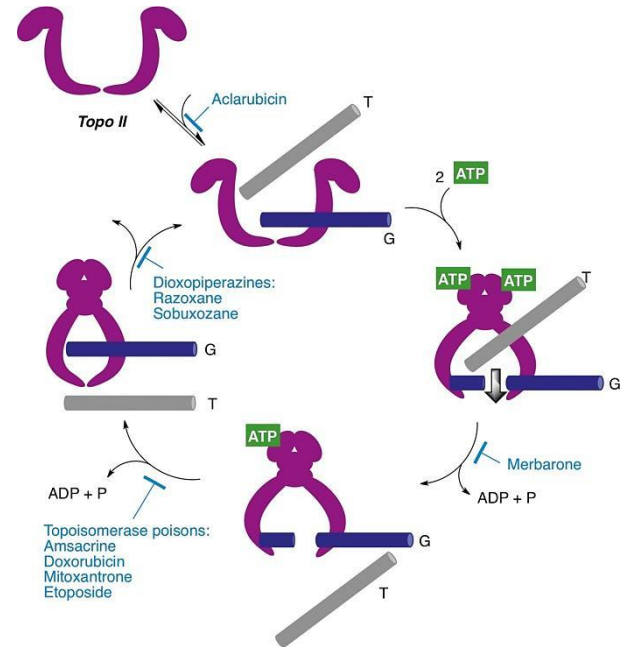
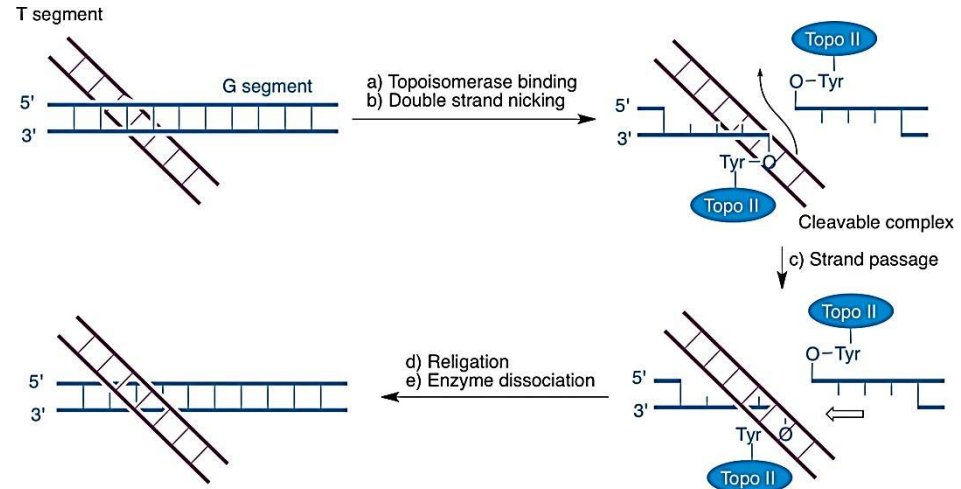
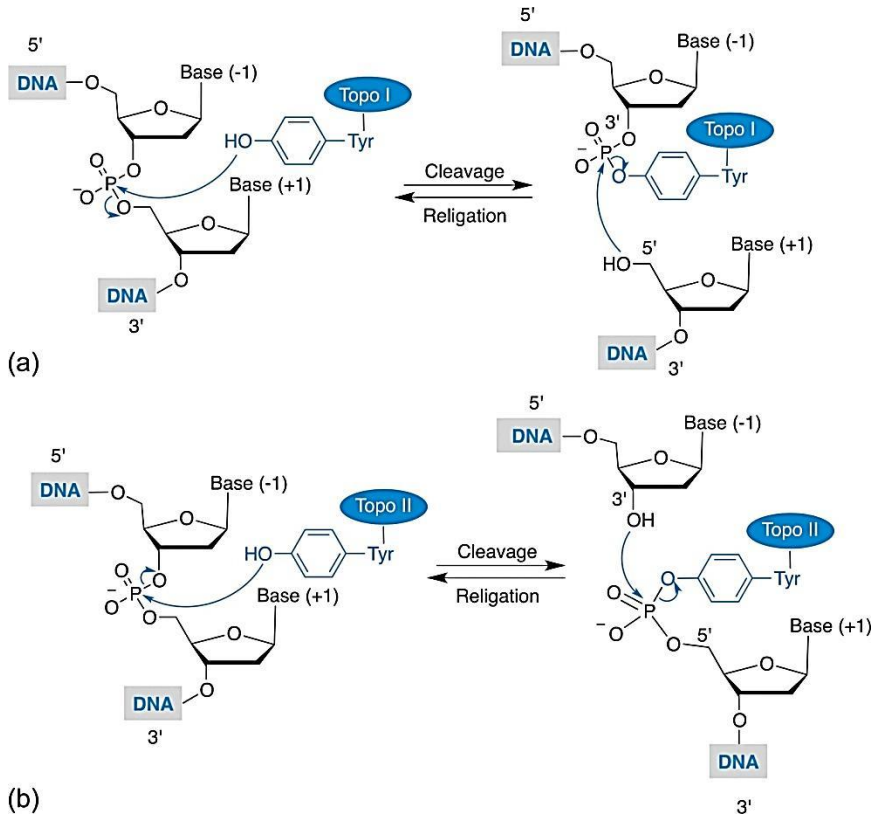
Dactinomomicina: sarcomi, tumori solid pediatrici (tumore di Wilms, renale), cancro testicolare, choriocarcinoma.

HB tra NH_2 (2-guanina) e CO treonina e N3 (guanina) e NH treonina. Prolina, sarcosina e metilvalina sono coinvolte in interazioni idrofobiche aggiuntive con il solco minore.



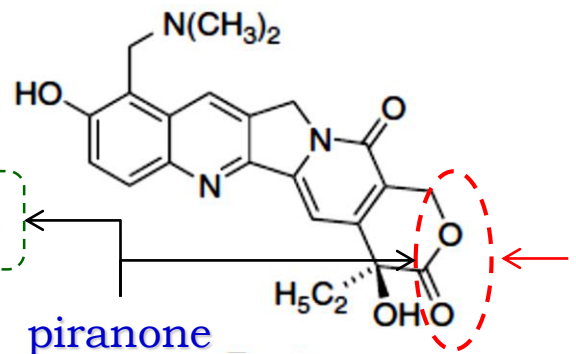
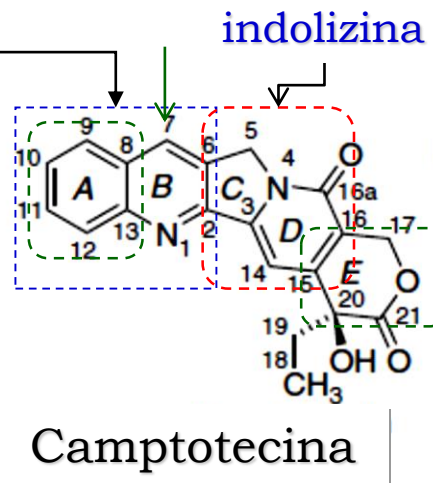
Intercalante e binding al solco minore DNA. **Complesso stabile che previene la dissociazione dell' α -elica e conseguente inibizione RNA polimerasi DNA-dipendente \rightarrow trascrizione.**

DNA TOPOISOMERASI



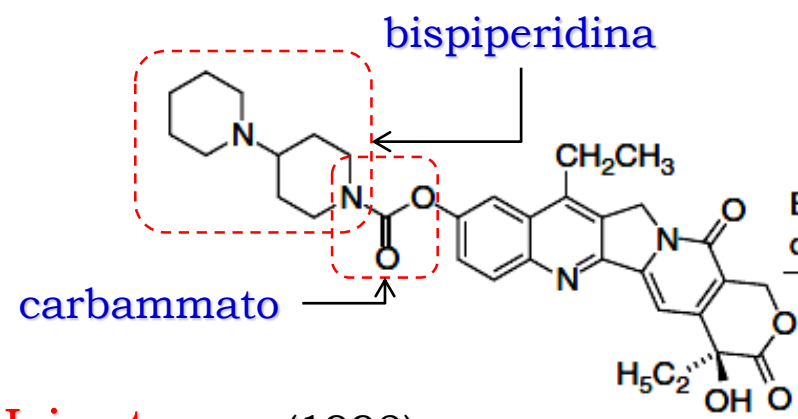
Specifici Inibitori Topoisomerasi I

estratta da
Camptotheca acuminata)
poco solubile;
tossicità elevata



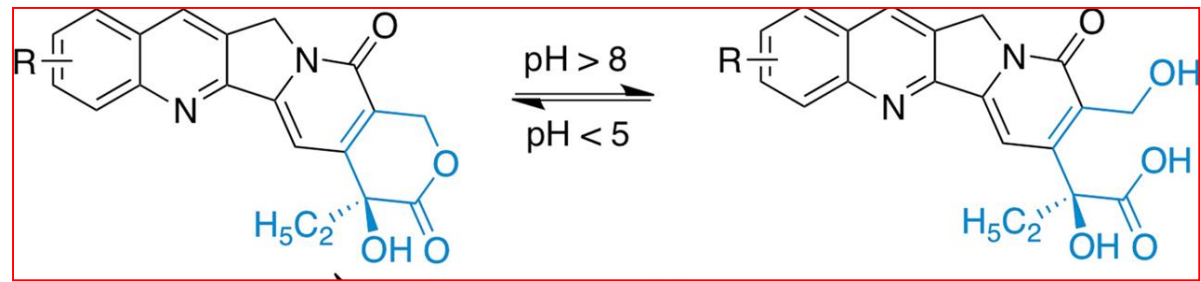
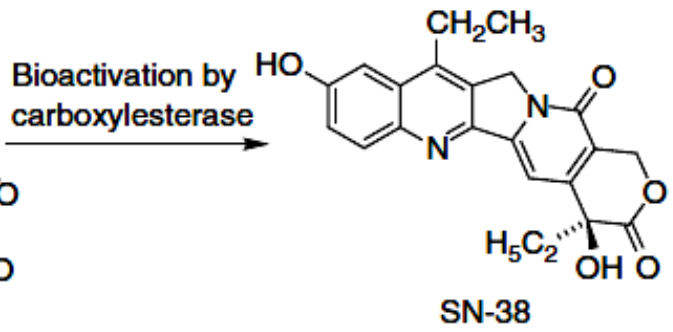
Cancro ovarico refrattario al 5-FU
Cancro polmone piccole cellule

Topotecan ('90)
(Hycamtin e equivalenti)



Irinotecan (1998)
(Campto e equivalenti)

Cancro colon-rettale
(sinergia con cisplatino)



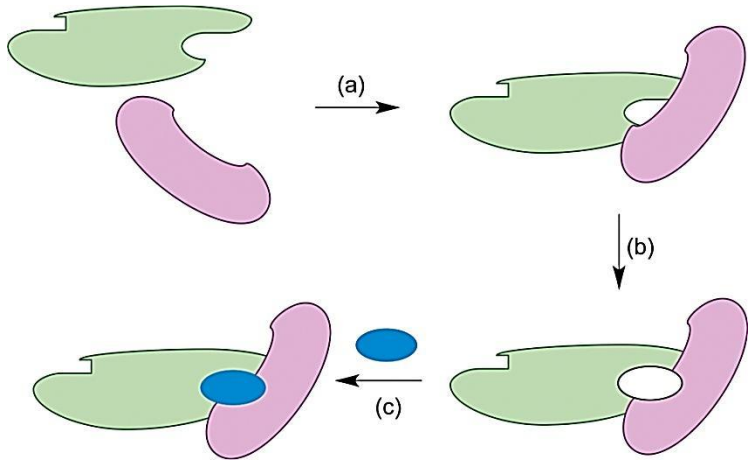
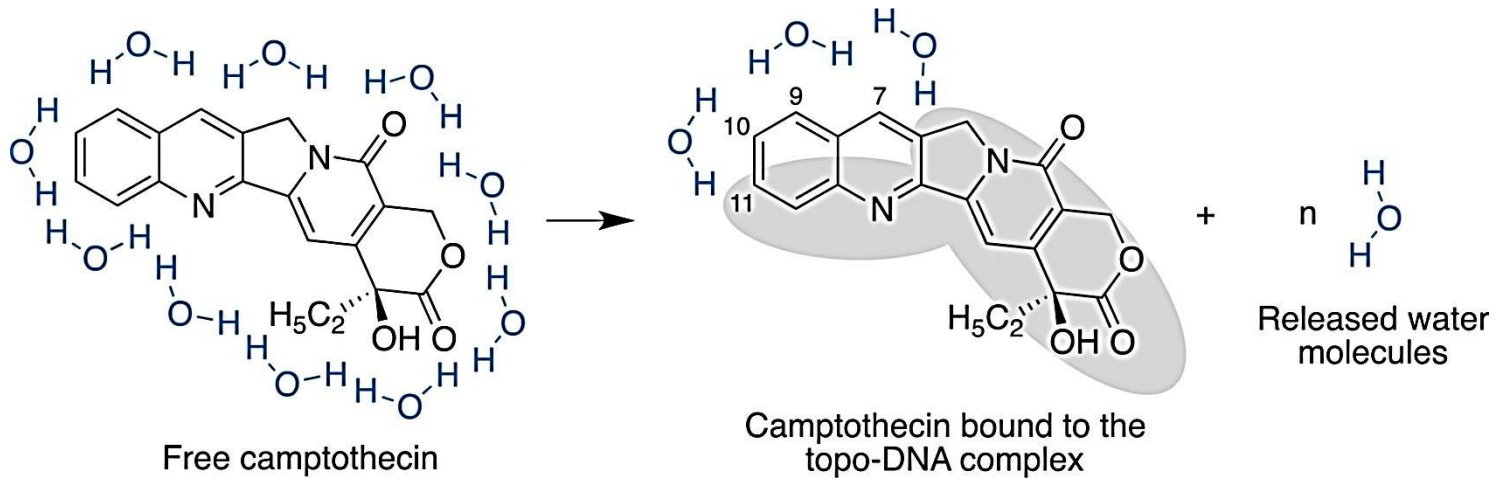
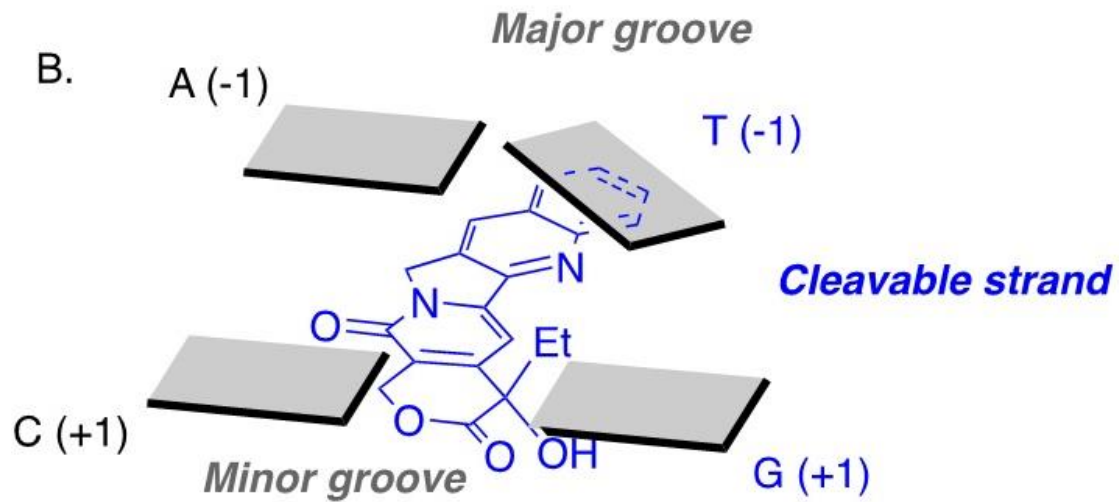
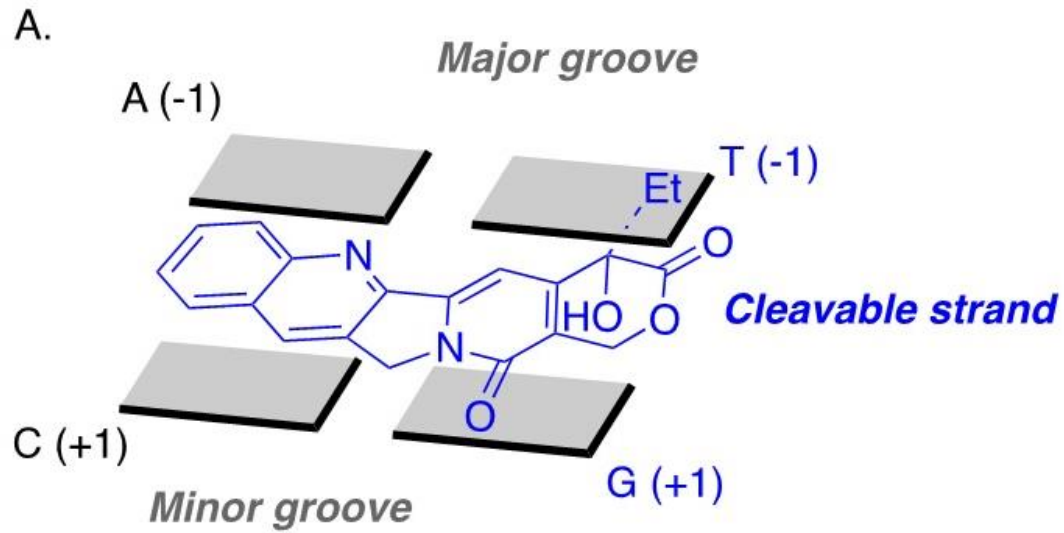
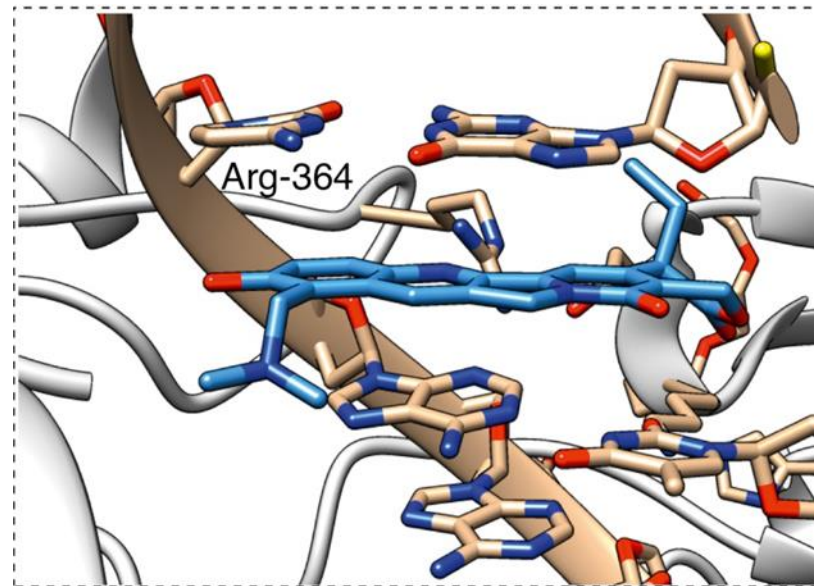
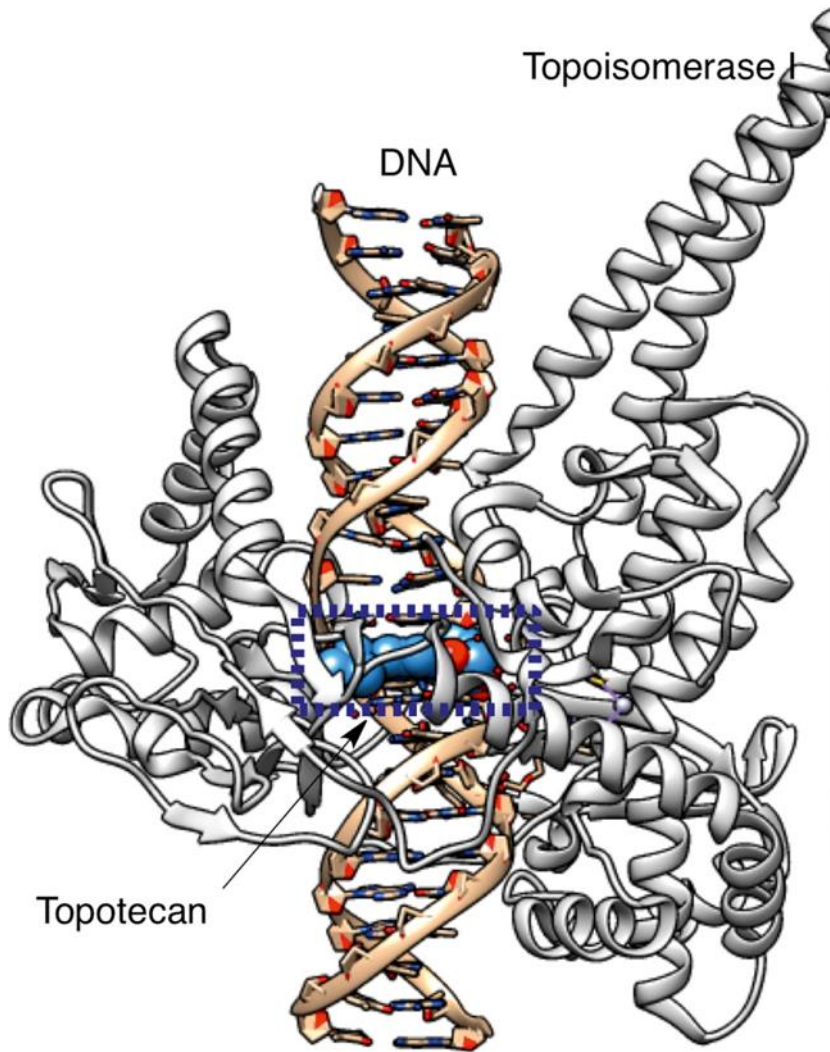


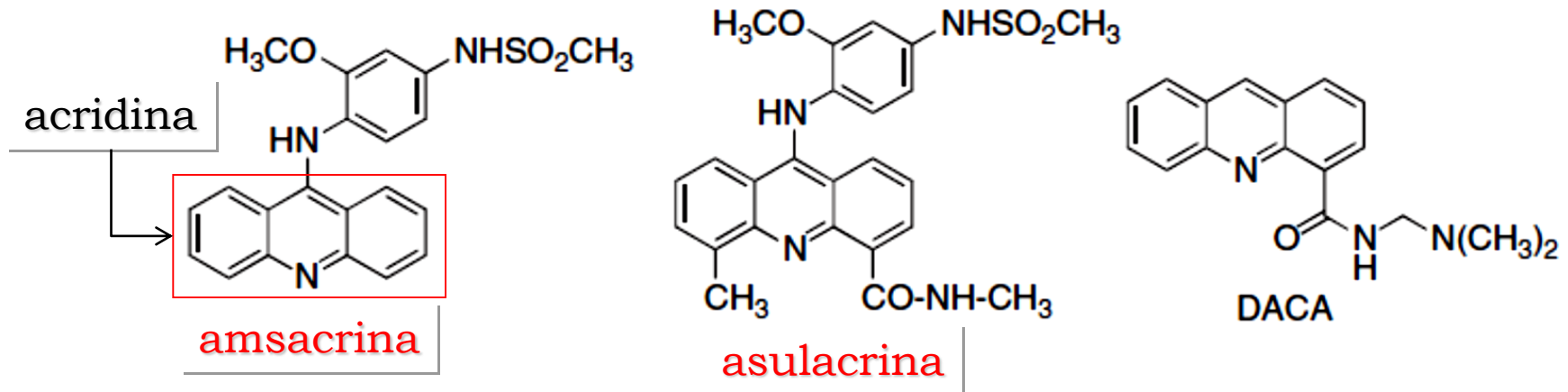
Figure 7.17



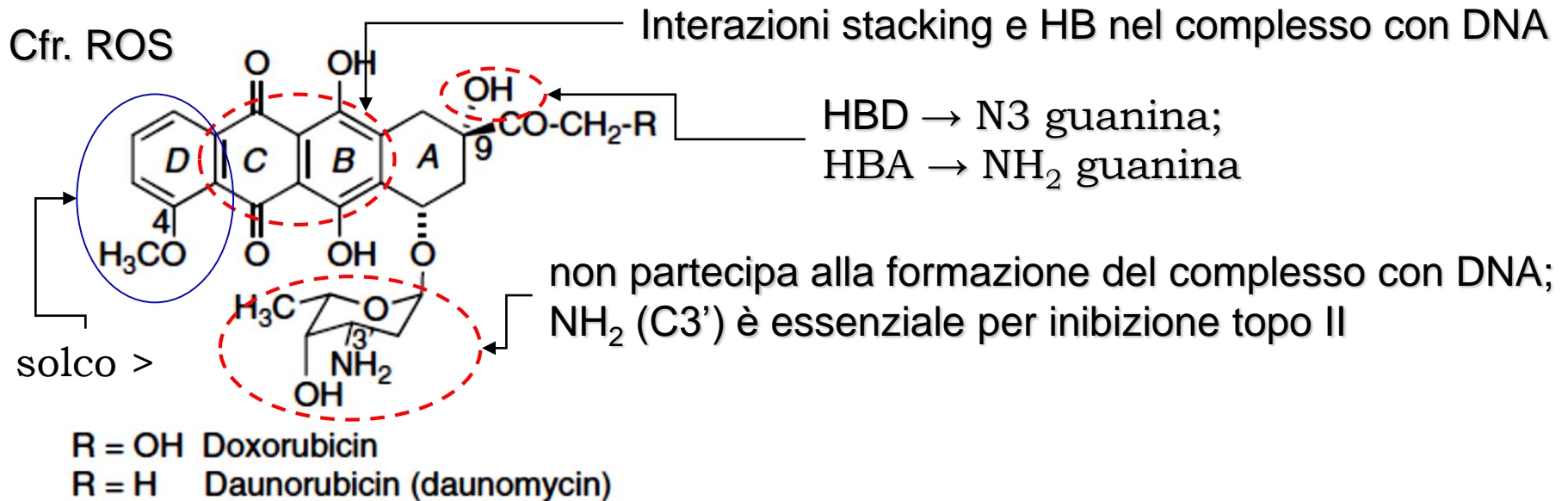




Inibitori Topoisomerasi II: **derivati acridinici** bloccano il ripristino del legame fosfodiesterico (*religation*) e lasciano il DNA permanentemente discontinuo (aperto) in due punti.



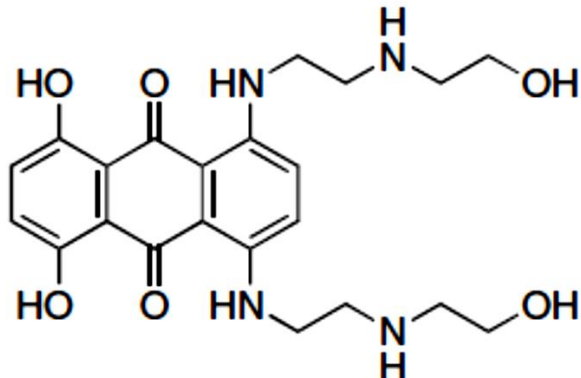
Linfoma, leucemia acuta non linfocitica; **complesso ternario con DNA e topo II**



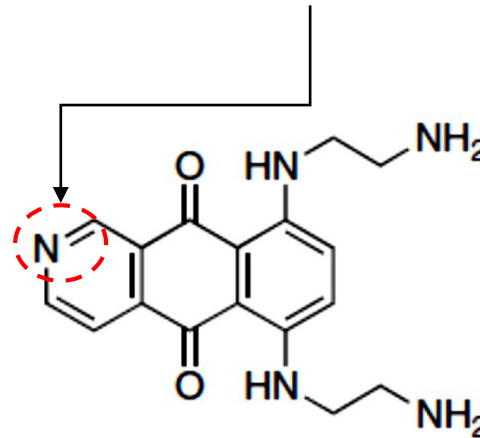
Inibitori Topoisomerasi II: derivati antrachinonici

Analoghi semplificati delle antracicline

aza-biosisostere (privo fenoli, sistema chelante, < cardiotossicità)



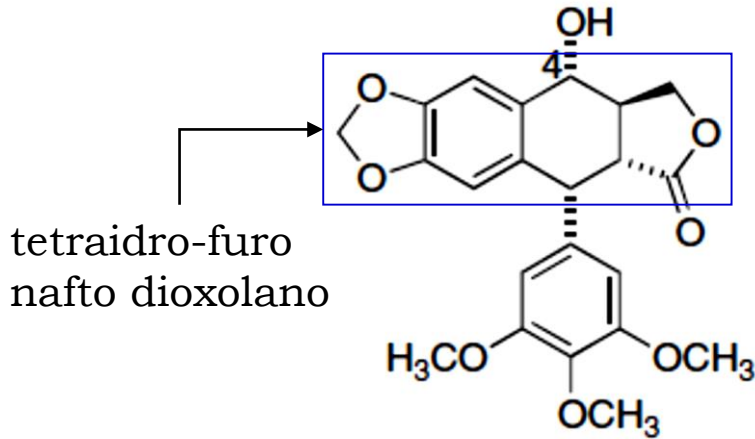
mitoxantrone



pixantrone

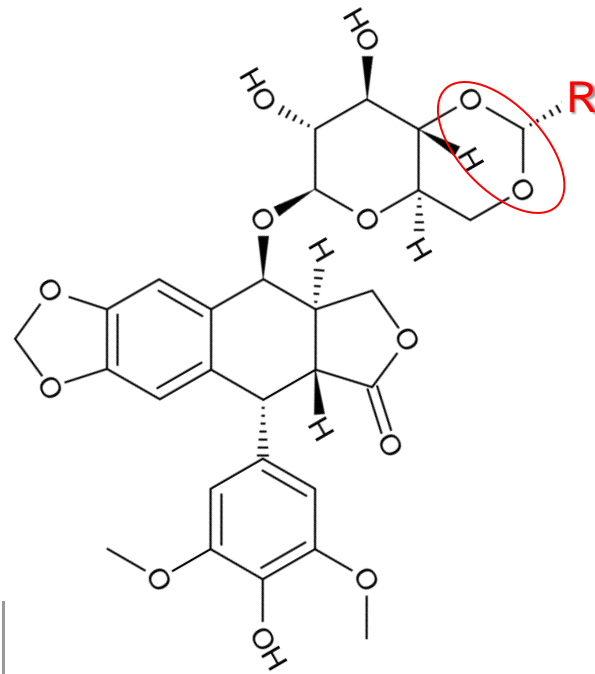
Formazione di complessi stabili **farmaco-DNA-topo II**;
Pixantrone: > **affinità DNA**; linfoma non-Hodgkin, leucemie.

Inibitori Topoisomerasi II: non intercalanti



Podofilotossina (1966, FDA 1983)
(Condylina, Wartec)

R=CH₃
R=2-tienile



Etoposide (*Vepesid & equiv*)
Teniposide

Derivati semisintetici della podofilina (resina da rizoma di *Podofillum peltatum*) 4-epipodofilotossina;

Etoposide: cancro testicolare, polmonare a piccole cellule (first line), melanoma (WHO Model List of Essential Medicines);

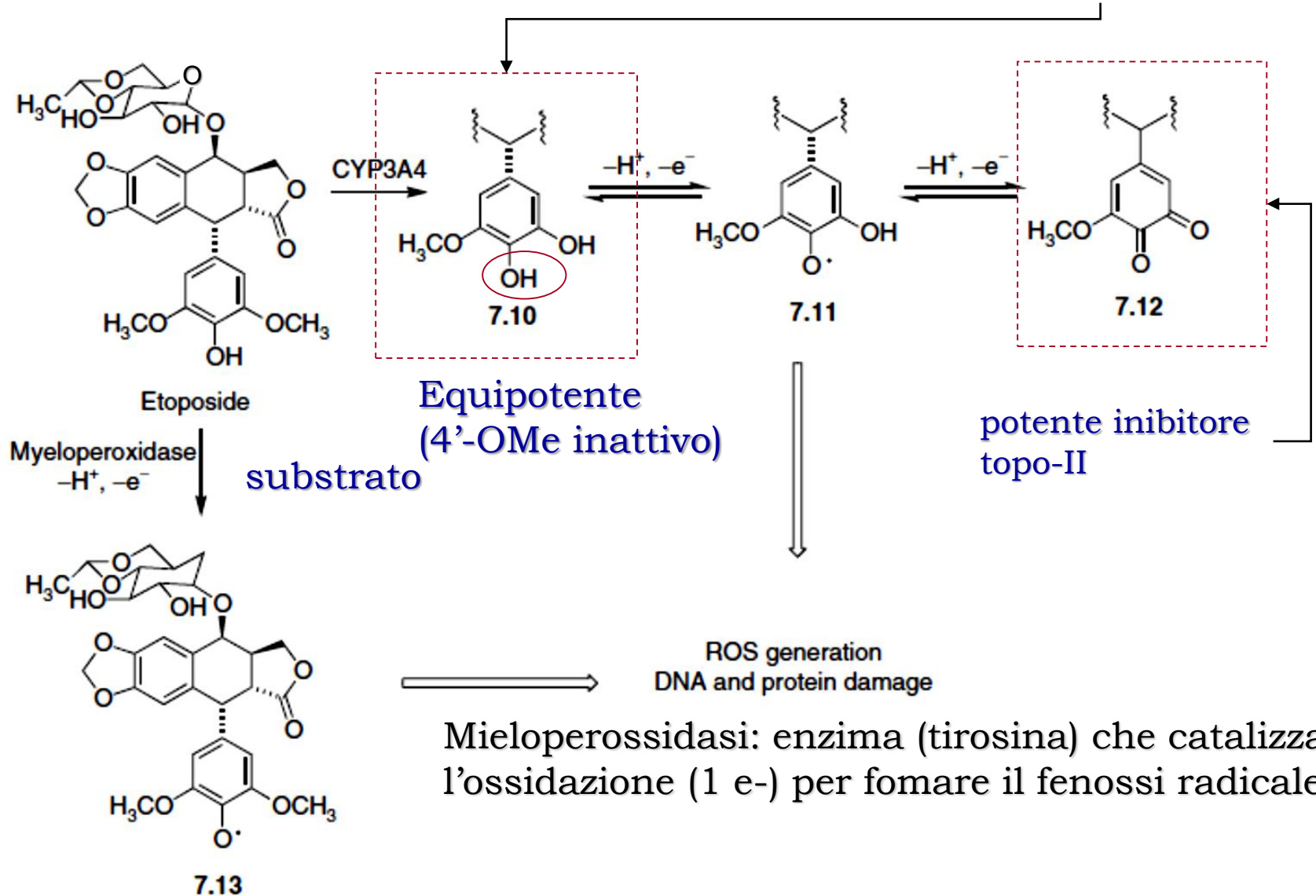
Teniposide: linfoma

Effetto massimo fasi ciclo cellulare S e G₂;

Attivazione redox che produce derivati che legano direttamente il DNA

Inibitori Topoisomerasi II: non intercalanti

metabolita O-demetilato equipotente



rischio di leucemia mieloide acuta secondaria indotta da trattamento con **etoposide** a lungo termine