

СОЗДАНИЕ ПРОЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ АНТРАЦИКЛИНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

А.Н. Тевяшова, старший научный сотрудник

Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе,
Москва, 119021 Россия

*Автор для переписки, e-mail: chulis@mail.ru

В обзоре рассмотрены достижения последних лет в области создания пролекарств на основе антрациклиновых антибиотиков. Описаны основные принципы создания пролекарств, в том числе, различия в биологии и метаболизме опухолевых клеток, которые позволяют конструировать пролекарства, селективно расщепляющиеся в опухолевых клетках. Рассмотрены двухступенчатые стратегии «фермент–пролекарство» (ADEPT/GDEPT/VGEPT).

Ключевые слова: антрациклиновые антибиотики, доксорубин, даунорубин, пролекарства, антипролиферативная активность, противоопухолевая активность.

Введение

Антрациклины – важнейшая группа антибиотиков, использующихся в химиотерапии злокачественных опухолей и онкологических заболеваний крови. Первый представитель группы, даунорубин (дауномицин (1)) (рис. 1) открыт в 1959 году [1]. Однако наиболее значимым с точки зрения практической онкологии оказался доксорубин (2) (рис. 1) благодаря широкому спектру противоопухолевого действия [2, 3]. Доксорубин (2) является основой большинства терапевтических режимов при лечении рака молочной железы, мелкоклеточного рака легкого, сарком, детских опухолей и гемобластозов. Даунорубин (1) применяется в основном для лечения лейкозов у взрослых и детей [4].

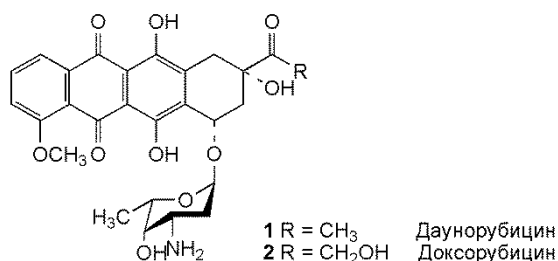


Рис. 1. Структура природных антрациклиновых антибиотиков даунорубина и доксорубина.

Антрациклиновые антибиотики содержат тетрагидротетраценхиноновый хромофор, состоящий из алициклического кольца А и трех шестичленных копланарных ароматических колец. Хромофор связан с одним или несколькими остатками моносахаридов. В случае даунорубина и доксорубина, различающихся строением агликоновой части молекулы, углеводным остатком является 2,3,6-тридезоксигексапираноза (даунозамин) (рис. 1).

Несмотря на интенсивное клиническое использование антрациклиновых антибиотиков, механизм их действия до сих пор остается предметом дискуссий. Предполагается, что здесь могут играть роль следующие процессы: интеркаляция в молекулу ДНК с последующим ингибированием биосинтеза макромолекул (ДНК,

РНК, белков); образование свободных радикалов, вызывающих повреждение молекул ДНК или перекисное окисление липидов; связывание с ДНК и алкилирование; образование сшивок в молекулах ДНК; повреждение клеточной мембраны; индукция апоптоза; ингибирование активности топоизомеразы II, приводящее к появлению разрывов в цепи ДНК. Проведенный обзор [5] критический анализ работ, посвященных изучению цитотоксического действия даунорубина и доксорубина, позволил сделать вывод о том, что множество предложенных механизмов действия может быть объяснено различными концентрациями препаратов, использованных в экспериментах. Тем не менее, некоторые факты можно считать установленными: при проникновении антрациклинового антибиотика в клетку большая часть его накапливается в ядре, где происходит интеркаляция хромофора антрациклина между нуклеиновыми основаниями двухцепочечной ДНК и образование тройного комплекса с ДНК-топоизомеразой (последовательность образования тройного комплекса ДНК–антрациклин–топоизомераза остается пока не выясненной). Ферменты класса топоизомераз (топоизомеразы I и топоизомеразы II) катализируют образование разрывов и сшивок (лигирование) участков ДНК, контролируя таким образом топологию молекулы ДНК во время процессов транскрипции и репликации [5, 6]. Образование тройного комплекса ДНК–антрациклин–топоизомераза приводит к потере лигирующей активности топоизомеразы и, как следствие, появлению разрывов в цепи ДНК. Показано, что доксорубин и даунорубин являются ингибиторами топоизомеразы II. В то же время известны антрациклины, в том числе полусинтетические производные, являющиеся ингибиторами топоизомеразы I [7, 8].

Клиническое применение антрациклиновых антибиотиков ограничивают две основные проблемы: высокая токсичность, прежде всего, кардиотоксичность, и развитие резистентности

опухолевых клеток к используемым препаратам. Кроме того, ряд опухолей, например, карцинома кишечника, простаты и немелкоклеточный рак легкого, изначально не чувствительны к антрациклиновым антибиотикам. Другой важнейшей проблемой является устойчивость опухолевых клеток к антрациклинам, в частности, устойчивость к доксорубину. Наиболее хорошо изученным является механизм возникновения множественной лекарственной устойчивости (multiple drug resistance, MDR), связанный с уменьшением накопления лекарственного препарата внутри опухолевой клетки из-за суперэкспрессии мембранного белка-насоса Р-гликопротеина Р-170 (Pgp), обеспечивающего выброс антрациклинов из нормальных и опухолевых клеток (так называемая классическая, или типичная MDR) [9]. Другие механизмы развития резистентности к антрациклинам включают изменения в способности топоизомеразы II связываться с ДНК (атипичная MDR), снижение способности устойчивых клеток к выработке глутатиона и их способности к детоксикации активированных радикальных форм кислорода.

Возможность модификации молекулы антрациклинов, выявление зависимости между строением и биологическим эффектом, существование клеточных линий, резистентных к антрациклинам способствовали созданию новых препаратов этой группы [10–12]. Поиск новых антрациклинов направлен на получение препаратов с более высоким терапевтическим индексом, сниженной кардиотоксичностью, способных преодолеть лекарственную устойчивость.

Интенсивные попытки создания новых, более избирательно действующих препаратов продолжаются. Одним из современных подходов к получению желаемого «идеального» препарата, обладающего высокой селективностью и низкой токсичностью, является создание так называемых пролекарств (prodrug) на основе антрациклиновых антибиотиков. Обзор последних достижений в этих областях представлен ниже.

Общие принципы создания пролекарств

Пролекарство (prodrug) (термин был впервые введен А. Albert в 1951 г. [13]) представляет собой соединение с видоизмененным по сравнению с основным лекарственным средством химическим строением, способное в организме под влиянием ферментов или спонтанно превращаться в активное лекарство. Создание пролекарств направлено на преодоление определенных недостатков «родительского» препарата (низкая растворимость в воде, токсичность, неприятный вкус или запах), повышение специ-

фичности воздействия, изменение фармакологических характеристик препарата (абсорбции, распределения), получение препаратов пролонгированного действия. Пролекарства условно можно разделить на два основных типа: пролекарства, напрямую или через спейсер связанные ферментативно гидролизуемой связью с каким-либо носителем (carrier-linked prodrug), и пролекарства, являющиеся биопредшественниками (bioprecursor) активных соединений (в этом случае для получения активного препарата из пролекарства необходима некая биотрансформация самой молекулы пролекарства). В случае пролекарств первого типа существенную роль играет выбор «носителя» (carrier), а также типа связи между носителем и активным началом пролекарства, который обуславливается имеющейся информацией о мишени пролекарства. Пролекарства второго типа создают на основе данных о путях метаболизма лекарственного препарата в организме.

Создание пролекарств на основе антрациклиновых антибиотиков

Создание пролекарств на основе антрациклинов (главным образом, на основе наиболее широко используемых в клинике доксорубина и даунорубина) направлено на повышение специфичности воздействия противоопухолевого агента (повышение селективности в отношении опухолевых клеток по сравнению с нормальными клетками) при одновременном снижении токсичности. С этой целью были получены пролекарства, использующие такие специфические особенности опухолевых клеток, как пониженное значение pH, низкий уровень оксигенации опухолевых клеток по сравнению с нормальными клетками, наличие повышенного уровня определенных ферментов. Были также созданы пролекарства, являющиеся частью двухступенчатой направленной терапии фермент–пролекарство (directed enzyme prodrug therapy, DEPT).

Пролекарства, использующие разницу в значении pH между нормальными и опухолевыми клетками

При нормальных физиологических условиях значение pH плазмы и тканей поддерживается несколько выше нейтрального. Во многих опухолях наблюдается локальное понижение значения pH на 0.7–1.0, связанное с гиперметаболической активностью и гипоксическим состоянием опухолевых клеток. Эта разница в значениях pH между нормальными и опухолевыми клетками была использована для создания более избирательных пролекарств на основе даунорубина (3) и доксорубина (4) (рис. 2).

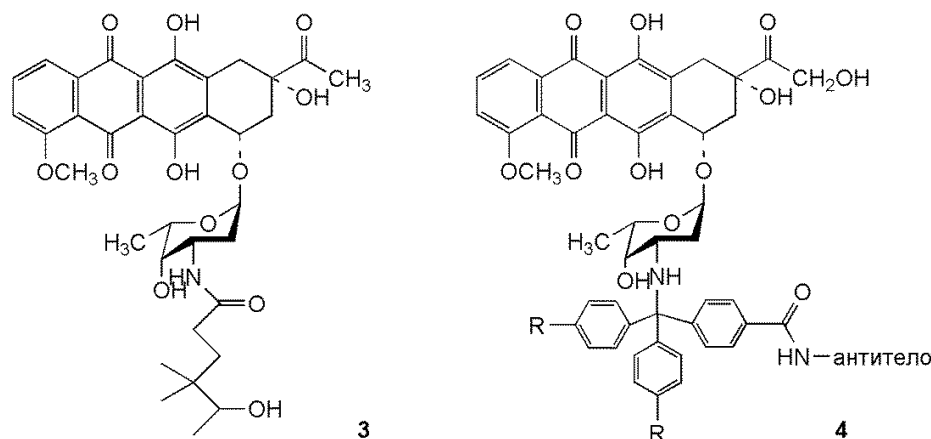


Рис. 2. Пролекарства на основе антрациклиновых антибиотиков, использующие разницу в значениях pH между опухолевыми клетками и нормальными тканями.

Пролекарство на основе даунорубина (3) было синтезировано Eillat и Arad-Yellin [14]. Это соединение устойчиво при значении pH 7.2, в диапазоне значений pH 4.0–7.0 подвергается циклизации, образуя 6-ти-членный лактон и свободный даунорубин. Противоопухолевая активность этого соединения при значении pH 6.0 в экспериментах *in vitro* сравнима с активностью даунорубина.

Другой подход был выбран компанией Eli Lilly для создания пролекарства на основе доксорубина (4) [15]. Для синтеза пролекарств, а также конъюгатов с антителами были использованы тритильные производные, лабильные при слабокислых значениях pH. Стабильность тритильной связи можно контролировать, варьируя радикалы R в бензольных кольцах. Предпочтительным оказался вариант с R = H или OCH₃. Время полураспада производного 4 при значении pH 7.4 составляло 150–180 ч, при значении pH 5.4–3.5 – 17 ч.

Пролекарства, действующие на опухолевые клетки в состоянии гипоксии

Во многих солидных опухолях есть участки с пониженной оксигенацией вследствие недостаточного развития сосудов микроциркуляторного русла. Явление гипоксии в тканях опухоли создает серьезные проблемы для лечения раковых заболеваний, поскольку опухолевые клетки в отсутствие кислорода становятся более устойчивыми к воздействию облучения и цитостатиков. Недостаточное кровоснабжение опухолевых клеток приводит не только к недостатку кислорода, но и к нехватке питательных веществ, что тормозит их пролиферацию. Поскольку большинство противоопухолевых препаратов наиболее эффективны в отношении быстро пролиферирующих клеток, на опухолевые клетки в состоянии гипоксии цитостатики действуют значительно слабее, чем на обеспеченные кислородом опухолевые клетки

[16]. С другой стороны, низкий уровень оксигенации опухолевых клеток может быть использован в качестве мишени для создания пролекарств. Компания Bristol-Myers Squibb разработала серию пролекарств, нацеленных на опухолевые клетки в состоянии гипоксии [17]. Примером может служить дисульфид бензилкарбамата даунорубина (5) (рис. 3).

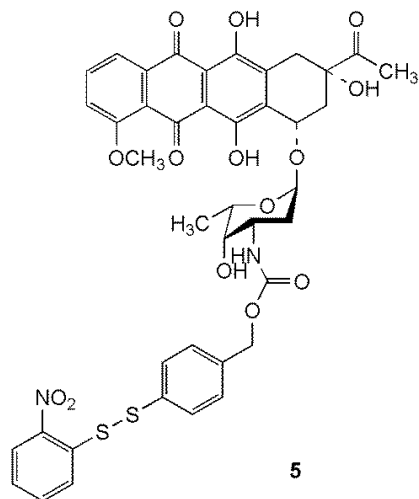
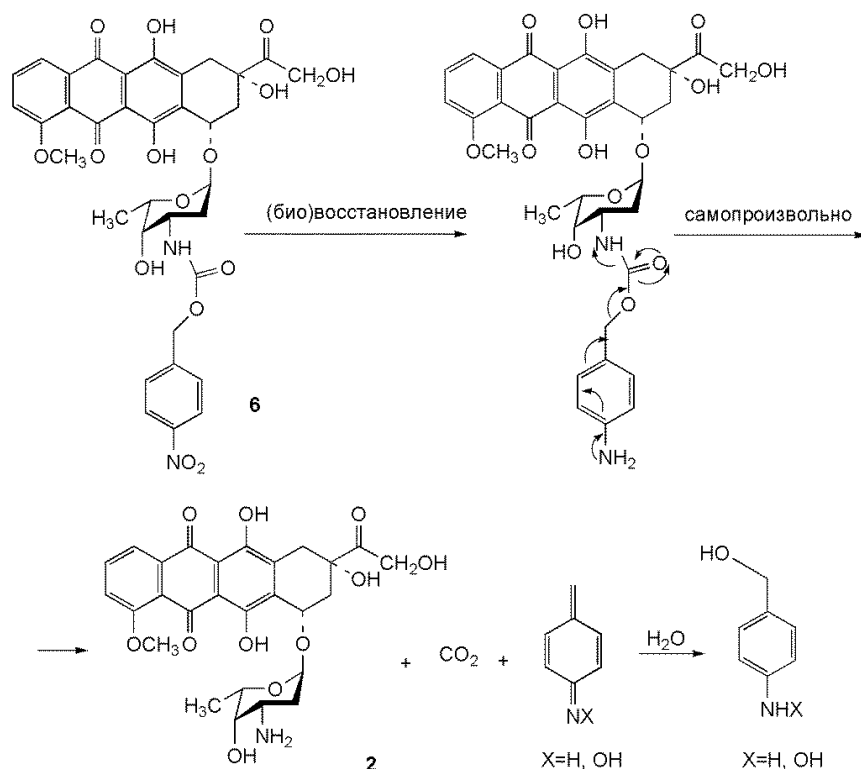


Рис. 3. Пролекарство на основе даунорубина, направленное на опухолевые клетки в состоянии гипоксии.

В экспериментах было показано, что в условиях гипоксии происходит расщепление (восстановление) дисульфидной связи в молекуле 5 и дальнейшая фрагментация молекулы с выделением свободного даунорубина.

Другим примером пролекарства, активируемого в условиях недостатка кислорода, может служить соединение 6 (рис. 4). В условиях гипоксии может протекать восстановление ароматической нитрогруппы до аминогруппы, после чего самопроизвольно протекает 1,6-элиминирование карбамоильного фрагмента с выделением свободного доксорубина (рис. 4) [18].

Рис. 4. Схема активации пролекарства **6**, протекающей в условиях гипоксии.

Эксперименты *in vitro* показали, что пролекарство **6** обладает низкой цитотоксичностью по сравнению с доксорубицином, а в присутствии фермента нитроредуктазы *E. coli* происходит восстановление ароматической нитрогруппы и выделение доксорубицина [18].

Конъюгаты антрациклиновых антибиотиков с формальдегидом

В начале 1990-х годов было установлено, что *in vitro* комплексы ДНК с антрациклиновыми антибиотиками в присутствии формалина претерпевают существенные изменения. В этих условиях взаимодействие антрациклинов с ДНК

не ограничивается образованием комплекса ДНК – антибиотик за счет интеркаляции, а образуется сшивка между 3'-аминогруппой антрациклина и 4-аминогруппой 2'-дезоксигуанозина. Открытие нового механизма алкилирования ДНК антрациклиновыми антибиотиками привело к созданию нового поколения антрациклиновых препаратов. Были получены димерные оксазолидиновые конъюгаты даунорубицина (**7**) (дауноформ), доксорубицина (**8**) (доксоформ) и эпирубицина (эпидоксоформ) с формальдегидом, способные распадаться на исходные антибиотики и формальдегид (рис. 5) [19–22].

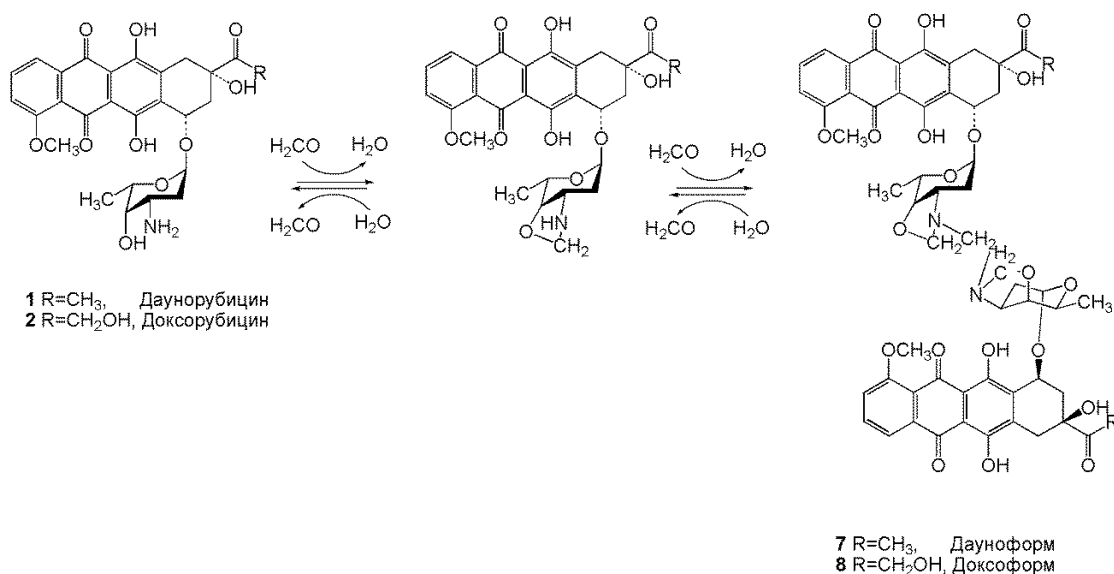


Рис. 5. Синтез и активация конъюгатов антрациклиновых антибиотиков с формальдегидом.

Производные **7**, **8** обладали значительно большей цитотоксичностью в отношении клеток рака молочной железы MCF-7, чем исходные антибиотики. Более того, было показано, что дауноформ (**7**), доксоформ (**8**) и эпидоксоформ активны в отношении раковых клеток, устойчивых к доксорубину (их цитотоксичность в отношении клеток MCF-7/Dox в 200, 10000 и 120 раз выше активности даунорубина (**1**), доксорубина (**2**) и эпирубина соответственно) [19, 20]. Однако серьезными недостатками производных **7**, **8** и эпидоксоформа являются крайне низкая растворимость в воде и высокая скорость гидролиза при физиологических условиях (время полураспада ~10 минут). Кроме того, эксперименты *in vivo* показали, что доксоформ (**7**) обладает большей токсичностью по сравнению с доксорубином [23].

В связи с этим исследовались другие подходы, направленные на активацию антрациклиновых антибиотиков формальдегидом.

Например, изучалась возможность совместного применения даунорубина, доксорубина или идарубина и гексаметилентетрамина [24]. Гексаметилентетрамин (уротропин) в кислой среде гидролизует с образованием аммиака и шести молекул формальдегида. Было

показано, что при значении pH 6.4 *in vitro* при совместном применении уротропина и антрациклиновых антибиотиков происходит увеличение цитотоксичности антрациклинов и наблюдается значительное увеличение способности антрациклинов образовывать устойчивые аддукты с ДНК. Авторы предполагают, что применение гексаметилентетрамина в качестве пролекарства, генерирующего формальдегид, совместно с антрациклиновыми антибиотиками является перспективным для лечения ряда солидных опухолей, обладающих более низким значением pH, чем нормальные ткани. Кроме того, использование формальдегида (в форме пролекарства) для активации антрациклинового антибиотика, возможно, позволит снизить дозу цитостатика, что приведет к снижению общей токсичности. Данные об эффективности комбинации антрациклиновых антибиотиков с гексаметилентетрамином в экспериментах *in vivo* не опубликованы.

Вторым поколением конъюгатов антрациклиновых антибиотиков с формальдегидом являются конъюгаты, в которых формальдегид в скрытой форме присутствует в виде основания Манниха, связывающего молекулу антрациклина, например, с салициламидом (**9**) или формилсалициламидом (**10**) (рис. 6) [23].

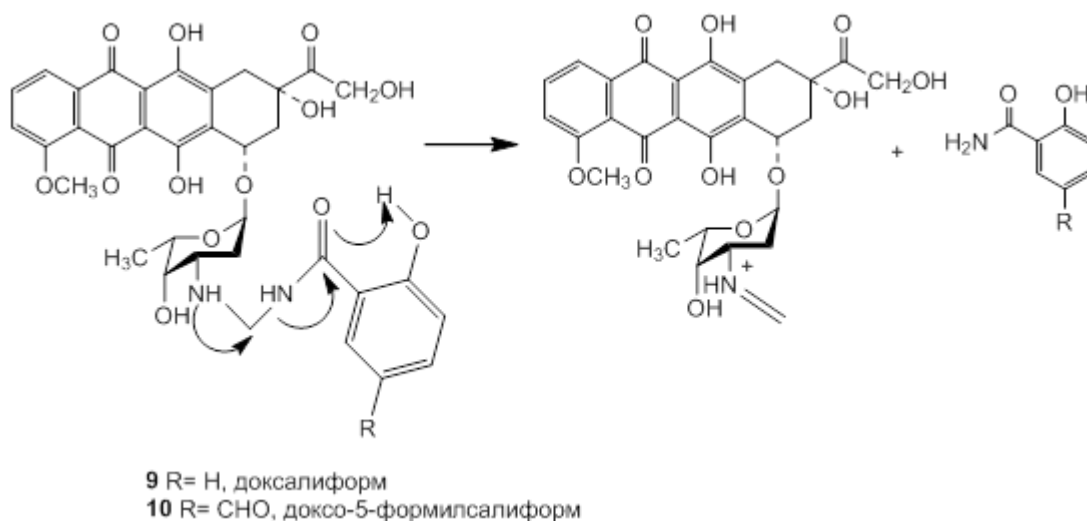


Рис. 6. Активация доксалиформа (**9**) и доксо-5-формилсалиформа (**10**).

Производные **9**, **10** были более цитотоксичны, чем доксорубин (**2**), в отношении чувствительных и устойчивых клеток рака молочной железы MCF-7 и MCF-7/Dox соответственно. Время полураспада доксалиформа (**9**) в физиологических условиях составляло ~1 ч.

Получены производные на основе доксо-5-формилсалиформа, содержащие 4-гидрокситамоксифен, присоединенный через спейсер (**11–13**) (рис. 7) [23]. Тамоксифен – нестероидный антиэстроген, используется при лечении гормон-зависимого рака молочной железы.

Введение остатка тамоксифена в молекулу конъюгата доксорубина с формальдегидом должно обеспечить адресную доставку конъюгата к опухолевым клеткам, экспрессирующим рецепторы к эстрогенам. Проведенные исследования показали, что полученные конъюгаты **11–13** сохраняли способность связываться с рецепторами к эстрогену и были более селективны, чем доксорубин и доксоформ, в отношении чувствительных и устойчивых клеток рака молочной железы MCF-7 и MCF-7/Dox соответственно.

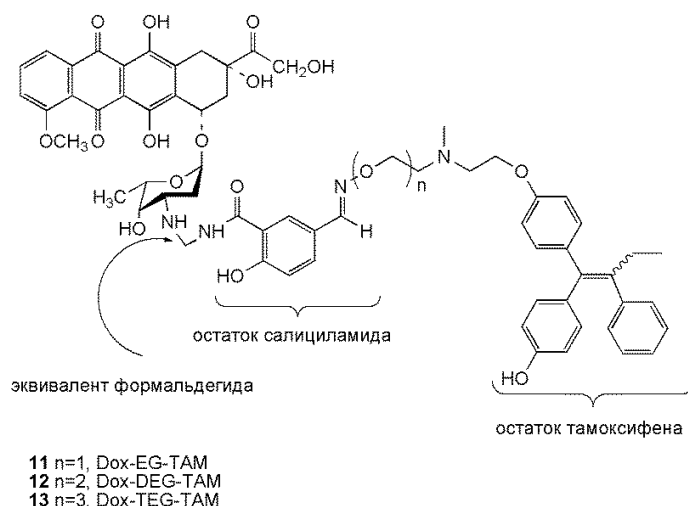


Рис. 7. Конъюгаты доксорубина с формальдегидом, нацеленные на клетки рака молочной железы.

Пролекарства, активируемые протеазами, секретируемыми опухолевыми клетками

Исследования механизмов метастазирования и прогрессии раковых опухолей выявили, что опухолевые клетки в значительных количествах продуцируют протеолитические ферменты, разрушающие стромальные элементы ткани, в которой локализуется первичная опухоль [25–27]. Наиболее важную роль в росте раковых опухолей играют следующие протеазы: катепсины, матриксные металлопротеазы и протеазы системы активации плазминогена (plasminogen activator system). Эти ферменты могут быть использованы в качестве мишеней для создания пролекарств.

Катепсины

Катепсины – это цистеиновые протеазы, играющие важную роль в протеолитическом каскаде, необходимом для прогрессирования раковой опухоли. В клетках человека высокое содержание катепсина В, одного из ферментов семейства катепсинов, обнаруживается в лизосомах, а раковые клетки экскретируют катепсин В во внеклеточную среду [10]. В начале 1990-х годов было показано, что эффективность доксорубина при лечении рака молочной железы, карциномы легкого и некоторых других видов рака увеличивается при ацилировании 3'-аминогруппы остатка даунозамина аминокислотой

L-лейцином [18]. Было показано, что 3'-N-L-лейцил-доксорубин (14) (рис. 8) обладает меньшей токсичностью и более широким спектром действия, чем доксорубин. Данные экспериментов *in vivo* позволяют предположить, что активация 3'-N-L-лейцил-доксорубина (14) до свободного доксорубина протекает с участием фермента катепсина В.

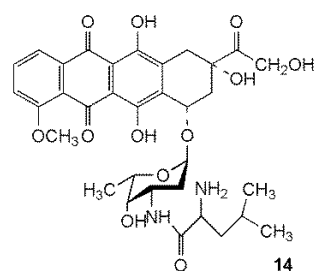


Рис. 8. Структура 3'-N-L-лейцил-доксорубина (14).

В качестве пролекарств, активируемых катепсином В, были предложены также различные серии дипептидных производных антрациклинов. Среди изученных соединений наиболее интересным оказались соединения типа PDOX (15, 16), содержащие дипептид ацил-Phe-Lys, присоединенный к аминогруппе даунозамина через *para*-аминобензилоксикарбонильный спейсер (рис. 9) [16, 28–33].

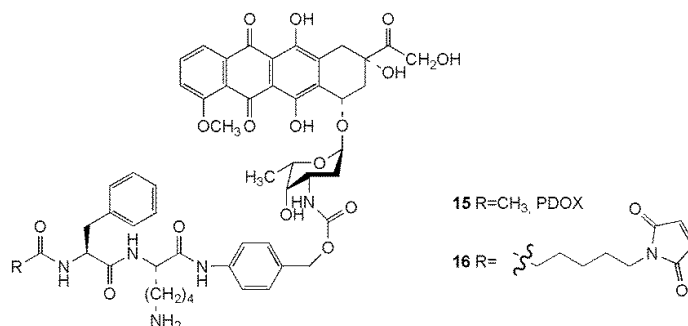


Рис. 9. Пролекарства на основе доксорубина, являющиеся субстратами для катепсина В.

После отщепления дипептида катепсином В спейсер самопроизвольно элиминируется (реакция аналогична представленной на рис. 4), приводя, таким образом, к выделению свободного доксорубина (2). Интересно отметить, что в модельных экспериментах было показано, что такой самоэлиминирующийся спейсер необходим для отщепления дипептида катепсином В. Производное PDOX (15) проходит расширенные доклинические испытания, в которых показано, что оно обладает меньшей токсичностью (в том числе меньшей кардиотоксичностью) по сравнению с 2, а также обладает способностью предотвращать метастазирование [33]. Терминальная малеимидогруппа в соединении 16 предназначена для последующего присоединения антител, которое обеспечило бы адресную доставку конъюгата к опухолевым клеткам, такие варианты также исследуются в настоящее время.

Плазмин

Плазмин – сериновая протеаза, высокий уровень которой наблюдается вблизи опухолевых образований. Есть данные, свидетельствующие о том, что плазмин играет ключевую роль в процессах метастазирования и инвазии опухоли. Плазмин в активном своем состоянии локализуется вблизи опухоли, в крови он быстро дезактивируется под действием ингибиторов, таких как, например, α_2 -антиплазмин. Примером пролекарства, являющегося субстратом для этой протеазы, может служить пептидное производное доксорубина 3'-N-(D-Val-Leu-Lys)-Dox [34]. В этом соединении N-концевая аминокислота имеет D-конфигурацию для предотвращения неспецифического протеолиза

пролекарства. Эксперименты *in vitro* показали, что 3'-N-(D-Val-Leu-Lys)-Dox в 7 раз более цитотоксичен по отношению к опухолевым клеткам, являющимся продуцентами плазмина, чем к нормальным клеткам (имеющим низкий уровень содержания плазмина). Однако *in vivo* это пролекарство показало крайне невысокую активность, возможно из-за низкой скорости расщепления пептида плазмином в условиях *in vivo*, обусловленной стерическими затруднениями. Этот недостаток может быть устранен внедрением самоэлиминирующегося *para*-аминобензилоксикарбонильного спейсера между трипептидом и антрациклиновым антибиотиком (17–19) (рис. 10) [18, 35].

Было показано, что пролекарства 17–19, содержащие в качестве трипептида последовательность 4-аминопентановая кислота-Phe-Lys, эффективно расщепляются плазмином, при этом по механизму 1,6-элиминирования происходит отщепление *para*-аминобензилоксикарбонильного спейсера и выделение свободного родительского антибиотика (даунорубина или доксорубина) [18].

Наибольшая скорость расщепления плазмином наблюдалась для пролекарства 19, имеющего атом хлора в ароматическом кольце. Цитотоксичность полученных пролекарств 17–19 в отношении опухолевых клеток, не продуцирующих плазмин, была значительно ниже, чем у соответствующих родительских антибиотиков, однако в присутствии плазмина антипролиферативная активность соединений 17–19 была сравнима с активностью родительских антибиотиков.

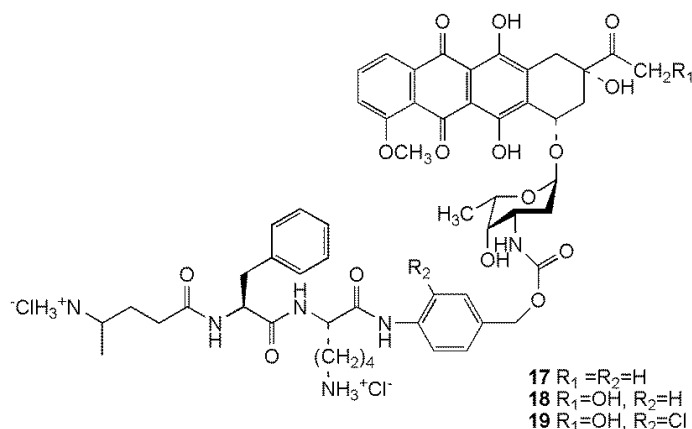


Рис. 10. Пролекарства на основе даунорубина и доксорубина, активируемые плазмином.

Антиген, специфичный для простаты (prostate specific antigen)

Внеклеточная сериновая протеаза, называемая антигеном, специфичным для простаты (prostate specific antigen) (PSA), синтезируется клетками рака простаты. Показано, что уровень PSA коррелирует с количеством опухолевых клеток и может использоваться для контроля

хода лечения рака простаты. Установлено, что типичным субстратом для PSA является пептид His-Ser-Ser-Lys-Leu-Gln. Для создания пролекарств, селективно расщепляемых этой протеазой, были синтезированы серии пептидных производных доксорубина, например, соединения 20, 21 (рис. 11) [36].

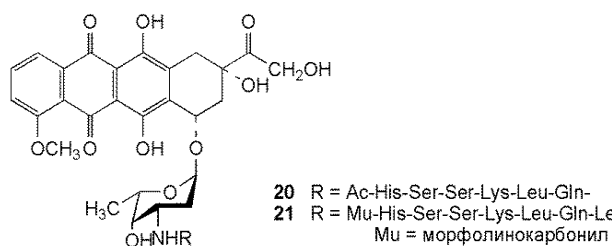


Рис. 11. Пролекарства на основе доксорубина, нацеленные на селективное расщепление PSA.

Для предотвращения гидролиза пролекарств неспецифическими эндопептидазами применялось кеппирование N-концевой аминокислоты ацетильной (20) или морфолинилкарбонильной (21) группой. Однако показано, что производное 20 не расщеплялось PSA, в то же время при инкубации соединения 21 с PSA происходило выделение 3'-N-L-лейцил-доксорубина (14), являющегося активным противоопухолевым агентом. Эксперименты *in vitro* показали, что соединение 20 намного более цитотоксично по отношению к опухолевым клеткам, являющимися продуцентами PSA, чем к нормальным

клеткам. Эксперименты на животных показали более высокую эффективность пролекарства 20 по сравнению с доксорубином и 3'-N-L-лейцил-доксорубином (14).

Пролекарства, активируемые внутриклеточными ферментами в опухолях

В опухолевых клетках часто наблюдается гиперэкспрессия определенных ферментов. Например, гиперэкспрессия фермента глутатион-S-трансферазы наблюдается в раковых клетках различных опухолей человека, в том числе карциномы легкого, рака желудка, кишечника, почек и др. [16]. Глутатион-S-трансфераза в присутствии восстановленного глутатиона способна расщеплять связь N-S в сульфонидах. Гиперэкспрессия этого фермента обычно связана с устойчивостью опухолевых клеток к цитостатикам. На основе антрациклиновых антибиотиков была получена серия пролекарств, нацеленных на активацию глутатион-S-трансферазой, например, соединения 22, 23 (рис. 12) [16].

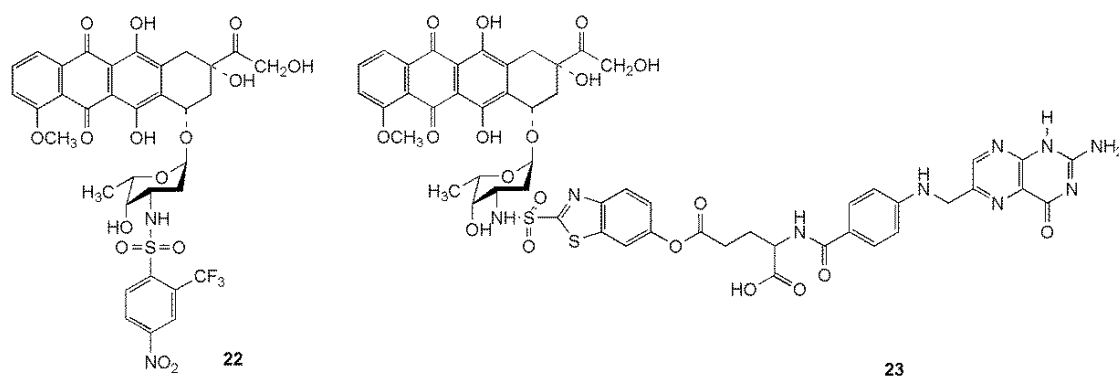


Рис. 12. Пролекарства на основе доксорубина, предназначенные для активации глутатион-S-трансферазой.

Пролекарство 23 также содержит остаток фолиевой кислоты, нацеленной на фолатные рецепторы, присутствующие в опухолевых клетках, что теоретически должно способствовать адресной доставке пролекарства к опухолевым клеткам. Данные о противоопухолевой активности этой серии пролекарств пока не опубликованы.

Стратегия фермент – пролекарство ADEPT/GDEPT/VGEPT

Для селективной активации пролекарств в опухолевых клетках разработаны методы так называемой терапии фермент – пролекарство [37, 38]. Основная идея этих подходов такова: на первом этапе в опухолевые клетки селективно внедряется определенный фермент, на втором – вводится нетоксичное пролекарство, являющееся субстратом для внедренного фермента. Пролекарство селективно превращается в активный препарат, при этом достигается высокая локальная концентрация препарата внутри опухоли. Для того, чтобы эта стратегия

работала эффективно, необходимо выполнение следующих критериев: (1) фермент, активирующий пролекарство должен быть либо чужеродного для человека происхождения, либо отсутствовать или экспрессироваться лишь на очень невысоком уровне в нормальных тканях; (2) фермент должен экспрессироваться в опухолевых клетках на высоком уровне и иметь высокую каталитическую активность; (3) пролекарство должно быть хорошим субстратом для внедренного фермента и не должно активироваться эндогенными ферментами в нормальных тканях; (4) пролекарство должно хорошо проникать через клеточную мембрану для активации внутри клетки; (5) разница в цитотоксичности между пролекарством и активным препаратом должна быть максимальной; (6) активный препарат должен хорошо проникать в соседние опухолевые клетки, не экспрессирующие фермент, для того чтобы обеспечивался так называемый *bystand killing effect*, эффект убийства соседа; (7) период

полураспада активного препарата в организме должен быть оптимальным, для того чтобы проявился *bystand killing effect* и не началось повреждение нормальных тканей.

Методы доставки ферментов к опухолевым клеткам могут быть разделены на два типа: доставка фермента с помощью антитела (anti-

body-directed enzyme prodrug therapy, ADEPT) и доставка в опухолевую клетку генов, кодирующих нужный фермент, с помощью вирусов (virus-directed enzyme prodrug therapy, VDEPT) или методами физической трансформации опухолевых клеток (gene-directed enzyme prodrug therapy, GDEPT) (рис. 13).



Рис. 13. Схема используемых стратегий фермент – пролекарство.

ADEPT

Первый шаг стратегии ADEPT (antibody-directed enzyme prodrug therapy) заключается во введении в организм фермента, присоединенного к моноклональным антителам, специфичным к определенной опухоли. Моноклональные антитела обеспечивают адресную доставку фермента к опухоли. На втором этапе происходит введение нетоксичного пролекарства, которое под воздействием доставленного антителами фермента селективно расщепляется до активного цитостатика. Таким образом реализуется главное преимущество применения стратегии ADEPT – достигается высокая локальная концентрация лекарства в опухолевых тканях. При использовании ADEPT терапии в клинике необходимо учитывать несколько важных факторов. Следует подобрать оптимальный интервал между введением пролекарства и фермента, связанного с антителом, чтобы обеспечить клиренс не связавшихся с опухолевыми мишенями конъюгатов фермент+антитело и избежать проявлений общей токсичности. Специфический опухолевый антиген должен быть либо экспрессирован на мембране опухолевых клеток, либо находится в межклеточном пространстве опухолевых клеток. Антитела, используемые против этого антигена, должны обладать к нему высоким сродством (аффинностью). Используемый для расщепления пролекарства фермент должен иметь высокую активность при значении pH среды, близком к значению pH, наблюдаемому в межклеточном пространстве в опухоли. Необходимо учитывать возможность возникновения иммунного ответа на введение конъюгата фермента с антителом. Для того, чтобы исключить возможность активации про-

лекарства вне опухоли, используемый фермент в идеале должен быть чужеродного для человека происхождения и не иметь гомологии с каким-либо из ферментов человека [37].

Поскольку на поверхности опухолевых клеток и в межклеточном пространстве раковых опухолей обнаружено и охарактеризовано достаточное количество специфических антигенов, фактором, определяющим эффективность ADEPT терапии, является выбор подходящего пролекарства и фермента для его активации.

β -Лактамаза

Бактериальный фермент β -лактамаза, вырабатываемый микроорганизмами, резистентными к β -лактамам антибиотикам, обладает высокой селективностью и относительно доступен. Были получены серии конъюгатов доксорубина с различными цефалоспоридами, предназначенные для активации β -лактамазой (рис. 14, (24)–(29)) [39, 40].

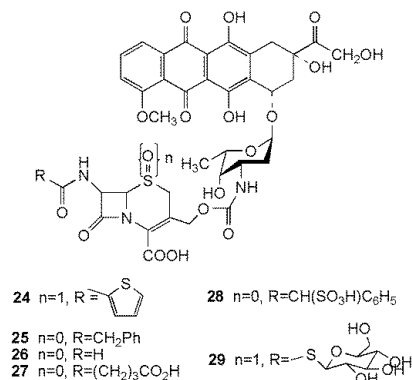


Рис. 14. Пролекарства на основе доксорубина, предназначенные для активации β -лактамазой.

Пролекарства 24–29 в экспериментах *in vitro* были значительно менее цитотоксичны, чем

доксорубин, в отношении клеток аденокарциномы человека H2981, а конъюгат β -лактамазы с антителом эффективно активировал

эти пролекарства с высвобождением свободного доксорубина (рис. 15) [40].

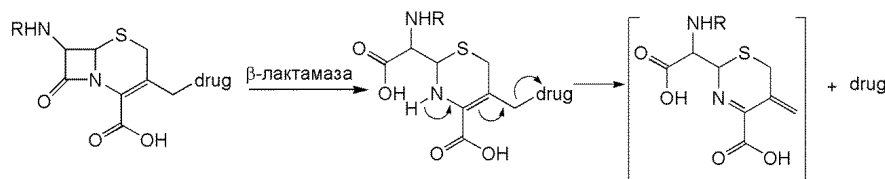


Рис. 15. Активация пролекарств β -лактамазой.

Наибольший интерес, по мнению авторов, представляет соединение **25**, обладающее цитотоксичностью в 10 раз меньшей, чем у доксорубина. Это производное активно изучалось *in vivo*, и в ряде экспериментов было показано преимущество комбинации пролекарства **25** в сочетании с конъюгатом β -лактамазы с антителом, перед терапией доксорубином, например, для лечения опухолей кишечника [16, 40].

β -Глюкуронидаза

В отличие от большинства ферментов, использование которых предложено для ADEPT стратегий, β -глюкуронидаза является ферментом человека, локализованным внутри клеток и не присутствующем в плазме. Вытекающим отсюда преимуществом является отсутствие иммунного ответа на введение β -глюкуронидазы [16]. Для активацией β -глюкуронидазой синтезированы различные конъюгаты антрациклинов с глюкуроновой кислотой, например, произ-

водные **30–32** (рис. 16) [16, 18, 41–43]. Производные **30–32** обладали сниженной цитотоксичностью по сравнению с доксорубином в отношении опухолевых клеток OVCAR-3, однако с разной скоростью гидролизировались β -глюкуронидазой. Только производное доксорубина **31**, в котором остаток глюкуроновой кислоты присоединен через самоэлиминирующий бензилоксикарбонильный спейсер, с заметной скоростью гидролизировалось под действием фермента β -глюкуронидазы с выделением свободного доксорубина (отщепление бензилоксикарбонильного спейсера после гидролиза β -глюкуроновой кислоты протекает по схеме, представленной на рис. 4) [18].

Изучены производные, содержащие в ароматическом кольце другие заместители вместо нитрогруппы (F, Cl, N(CH₃)₂, NHCOCH₃, NHCOCF₃), однако производное **31** оказалось наиболее перспективным в этой серии соединений.

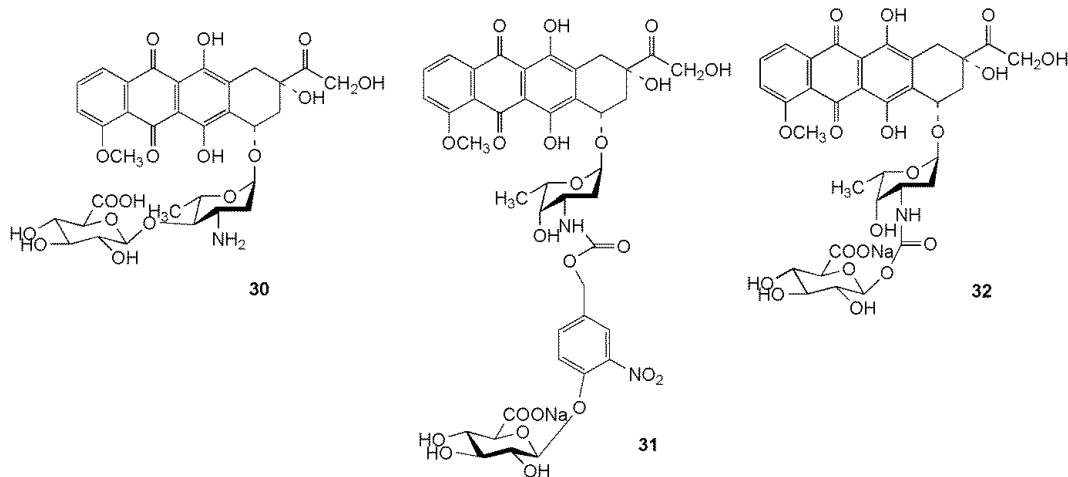


Рис. 16. Пролекарства на основе антрациклиновых антибиотиков, предназначенные для активации β -глюкуронидазой.

Получены производные даунорубина и доксорубина **33–40**, в которых остаток глюкуроновой кислоты был присоединен к ароматическому спейсеру карбаматной связью (рис. 17) [18], как это имело место в случае соединения **31**.

Пролекарства **33–39**, содержащие заместитель в *para*-положении, значительно быстрее гидролизировались β -глюкуронидазой, по сравнению с пролекарством **40**, в котором углеводный

заместитель находится в *ortho*-положении. Введение заместителей в ароматическое кольцо (Cl, Br) практически не влияло на скорость гидролиза пролекарства ферментом и скорость элиминирования спейсера. Для дальнейших исследований были выбраны пролекарства на основе даунорубина **33** и на основе доксорубина **39** [18]. Они были протестированы для использования в качестве составной части ADEPT-терапии в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [41–45].

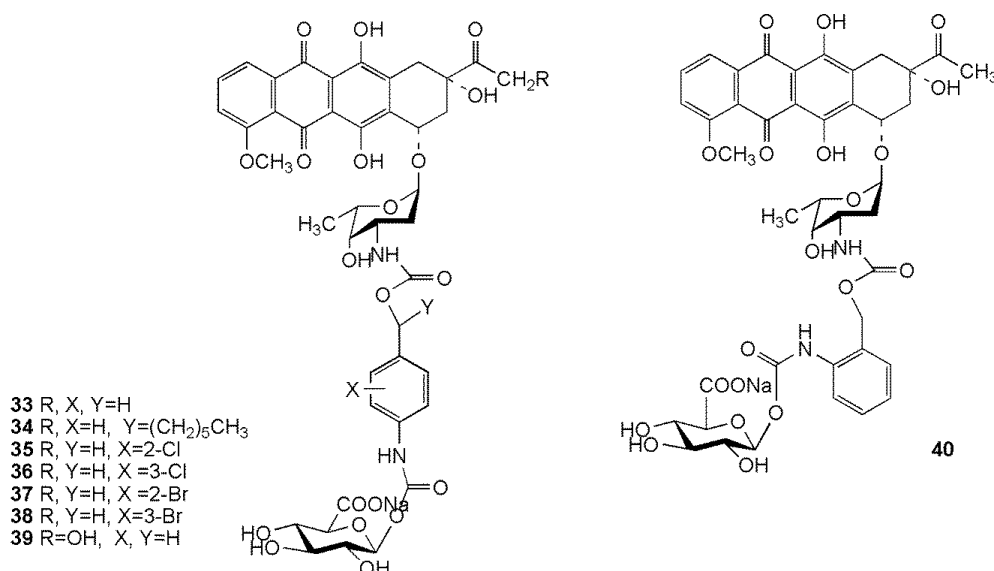


Рис. 17. Пролекарства, предназначенные для активации β-глюкуронидазой, в которых остаток глюкуроновой кислоты присоединен карбаматной связью.

Было показано, что пролекарства такого строения (**33**, **39**) обладают гораздо меньшей цитотоксичностью, по сравнению с доксорубицином. В присутствии β-глюкуронидазы, свободной или в виде конъюгата с моноклональным антителом, соединения **33**, **39** эффективно гидролизуются с образованием свободных родительских антибиотиков (даунорубицина (**1**) или доксорубицина (**2**) соответственно). В экспериментах *in vivo* было продемонстрировано преимущество терапии ADEPT с использованием β-глюкуронидазы и соответствующих пролекарств на основе

доксорубицина перед монотерапией доксорубицином [45].

Другим подходом при дизайне пролекарств, активируемых β-глюкуронидазой, является получение производных антрациклиновых антибиотиков, в которых остаток глюкуроновой кислоты присоединен к 3'-аминогруппе даунозамина через алкильный спейсер (**41**), который после отщепления остатка β-глюкуроновой кислоты подвергается циклизации, образуя высокотоксичное производное антрациклинового антибиотика (**42**) (рис. 18) [16].

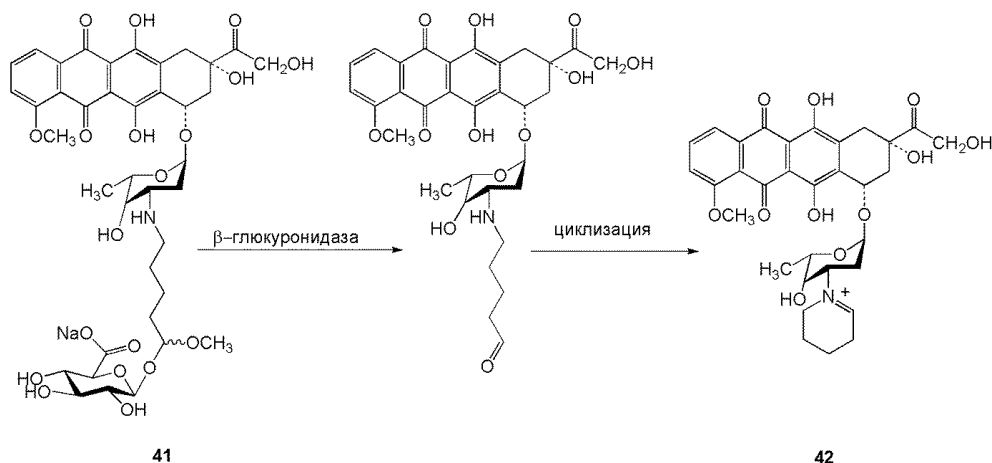


Рис. 18. Активация β-глюкуронидазой пролекарства **41** до производного доксорубицина **42**.

Производное **42** обладает в 10000 раз большей цитотоксичностью по сравнению с пролекарством **41**. Предполагают, что механизм действия **42** связан с образованием ковалентной связи с нуклеиновыми основаниями ДНК.

Интересно отметить, что пролекарства, нацеленные на активацию β-глюкуронидазой, оказались эффективны также в качестве монотерапии [16, 18, 46]. Это связано с повышенным уровнем содержания β-глюкуронидазы в некро-

тических районах опухоли. Например, пролекарство на основе даунорубицина **33**, примененное в виде монотерапии, оказалось более эффективно, чем даунорубицин для лечения животных с различными солидными опухолями, имеющими некротические участки [18].

Абзимы

Для селективной активации пролекарств в терапии ADEPT более эффективным подходом возможно, является использование каталити-

ческих антител (абзимов), которые могут катализировать протекание реакций, в принципе не встречающихся в организме человека. Таким образом, превращение пролекарства в активный препарат возможно только под действием абзима, направленная доставка которого к опухолевым клеткам обеспечивается конъюгацией с моноклональными антителами. Примером таких

абзимов могут служить антитела 38C2, катализирующие ретро-альдольный распад и реакцию ретро-Михаэля [47]. Пример активации пролекарства на основе доксорубина приведен на рис. 19. Эксперименты *in vitro* показали, что пролекарство **43**, используемое в комбинации с абзимом 39C2, эффективно подавляет рост опухолевых клеток линии LIM1215 [47].

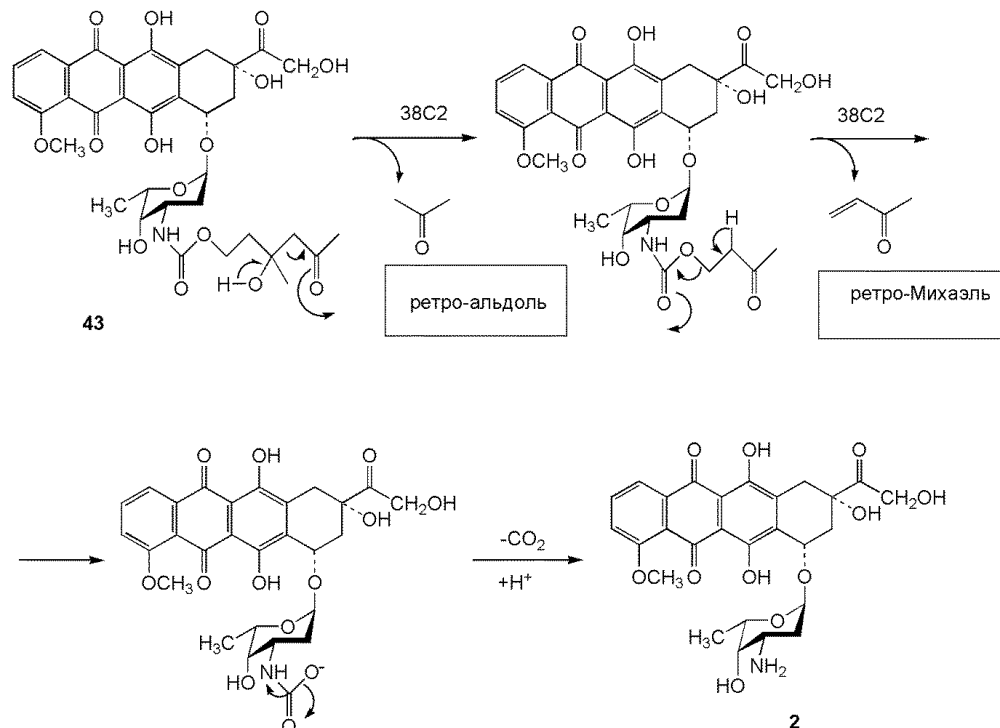


Рис. 19. Активация пролекарства на основе доксорубина (**43**) каталитическим антителом 38C2.

GDEPT/VDEPT

В стратегии GDEPT доставка фермента, предназначенного для активации пролекарства, осуществляется с помощью различных методов физической трансформации клеток. Во многих случаях была использована липосомальная доставка гена, кодирующего определенный фермент [37, 38]. Для использования в рамках стратегии GDEPT выбирают обычно ферменты бактериального происхождения, например, β -лактамазу (в сочетании с пролекарствами **24–29**) [16] или β -галактозидазу (в сочетании с пролекарствами, содержащими остаток β -галактозы, через спейсер присоединенный к остатку антрациклинового антибиотика) [48].

Доставка гена, кодирующего фермент, возможна также с использованием в качестве вектора вируса (VDEPT). Описана возможность доставки гена, кодирующего β -лактамазу, с помощью вектора на основе аденовируса [16].

Преимуществом использования стратегий GDEPT и VDEPT перед использованием технологии ADEPT является тот факт, что для осуществления ферментом своих функций (в данном случае, для активации пролекарства) часто необходимы ко-факторы, присутствующие только внутри клетки. Таким образом, фер-

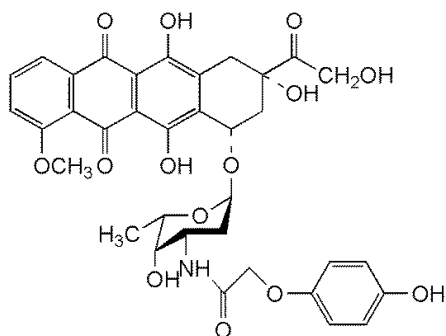
менты, доставляемые антителами (ADEPT), должны сначала проникнуть внутрь опухолевой клетки, что сильно ограничивается плохой проницаемостью конъюгатов антител с ферментами через клеточную мембрану. При доставке в опухолевую клетку гена, кодирующего необходимый фермент, экспрессия фермента заведомо протекает внутри клетки. Другими проблемами, связанными с использованием технологии ADEPT, являются возможность возникновения иммунного ответа при использовании бактериальных ферментов и антител чужеродного для человека происхождения, в случае использования β -лактамазы необходимо также учитывать возможность возникновения резистентности к β -лактамам антибиотикам. Что касается технологий GDEPT и VDEPT, то основной проблемой является возможность селективной доставки гена в опухолевые клетки. Несмотря на интенсивно ведущиеся работы в этой области, большинство попыток селективно локализовать и экспрессировать ген фермента в опухолевых клетках в экспериментах *in vivo* пока неудачно [37, 38]. Среди других проблем GDEPT можно перечислить возможность мутагенеза, локальные инфекции, возникновение антител против кДНК фермента. В случае ис-

пользования векторов для доставки гена фермента на основе вирусов возможна спонтанная мутация вируса до дикого типа. И, конечно, для всех трех технологий (ADEPT, GDEPT, VDEPT) потенциальная стоимость лечения будет очень высока.

В целом, несмотря на перспективы, открывающиеся при теоретическом формулировании стратегий ADEPT, GDEPT, VDEPT, практическое осуществление этих подходов еще нельзя считать разработанным.

Другие варианты доставки ферментов

Для селективной доставки фермента, предназначенного для активации пролекарства, возможно использование не только антител, но и достаточно небольших молекул, например, фолиевой кислоты. Этот подход был осуществлен для доставки бактериального фермента пенициллин-V-амидазы к опухолевым клеткам, экспрессирующим фолатные рецепторы [49]. К каждой молекуле фермента амидной связью были присоединены три остатка фолиевой кислоты. Было показано, что такой конъюгат селективно связывается с опухолевыми клетками, экспрессирующими фолатные рецепторы, и сохраняет возможность превращать пролекарство **44** (рис. 20) в доксорубицин (2).



44

Рис. 20. Пролекарство на основе доксорубицина, предназначенное для активации пенициллин-V-амидазой.

Эксперименты *in vitro* подтвердили, что пролекарство **44** в сочетании с ферментом пенициллин-V-амидазой, модифицированной фолиевой кислотой, обладает намного большей антипролиферативной активностью по отношению к опухолевым клеткам, экспрессирующим фолатные рецепторы, чем по отношению к клеткам, на поверхности которых такие рецепторы отсутствуют. Авторы делают вывод о перспективности использования фолиевой кислоты для доставки ферментов, предназначенных для селективной активации пролекарств на основе антрациклиновых антибиотиков [49].

Заключение

Стратегия поиска новых противоопухолевых агентов путем создания пролекарств на основе антрациклиновых антибиотиков является перспективным и актуальным направлением современных исследований в области медицинской химии. Этот подход может быть эффективен для снижения токсичности, улучшения терапевтического индекса, направленной доставки препарата, и, в ряде случаев, для преодоления резистентности опухолевых клеток. Дизайн такого рода структур, несомненно, должен быть основан на знании механизмов действия и связей структура – биологическая активность для используемых антибиотиков.

Несмотря на то, что пока ни одно из пролекарств на основе антрациклиновых антибиотиков не было одобрено для применения в клинике, исследования в этой области, несомненно, будут продолжены. В частности, в настоящее время широко изучаются возможности создания конъюгатов антрациклиновых антибиотиков с макромолекулами (полимерами, антителами), которые содержат расщепляемый спейсер и действуют по принципу пролекарств.

Благодарности

Автор выражает глубочайшую признательность профессору, д.х.н. Преображенской М.Н. и профессору, д.х.н. Олсуфьевой Е.Н. за плодотворное обсуждение обзора и критические замечания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Блохин Н.Н. Химиотерапия злокачественных опухолей. М.: Медицина, 1977. 317 с.
2. Arcamone F. Doxorubicin anticancer antibiotics. New York: Academic Press, 1981. 369 p.
3. Khadem H.S. El. Anthracycline antibiotics. New York: Academic Press, 1982. 285 p.
4. Горбунова В.А. Новые цитостатики в лечении злокачественных опухолей. М: Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН, 1998. 128 с.
5. Gewirtz D. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin // Biochem. Pharmac. 1999. V. 57. P. 727–741.
6. Silverman R. Organic chemistry of drug design and drug action. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004. 617 p.
7. Denny W. Emerging DNA topoisomerase inhibitors as anticancer drugs // Expert Opinion Emerg. Drugs. 2004. V. 9. P. 105–133.
8. Деженкова Л.Г., Цветков В.Б., Штиль А.А. Ингибиторы топоизомераз I и II: химическая структура, механизмы действия и роль в химиотерапии опухолей // Успехи химии. 2014. Т. 83. С. 82–94.
9. Garnier-Suillerot A., Marbeuf-Gueye C., Salerno M., Loetchutinat C., Fokt I., Krawczyk M.,

- Kowalczyk T., Priebe W. Analysis of drug transport kinetics in multidrug-resistant cells: Implications for drug action // *Curr. Med. Chem.* 2001. V. 8. P. 51–64.
10. Monneret C. Recent developments in the field of antitumor anthracyclines // *Eur. J. Med. Chem.* 2001. V. 36. P. 483–493.
11. Preobrazhenskaya M.N., Tevyashova A.N., Olsufyeva E.N., Kuo-Feng Huang, Hsu-Shan Huang. Second generation drugs – derivatives of natural antitumor anthracycline antibiotics daunorubicin, doxorubicin and carminomycin // *J. Med. Sciences.* 2006. V. 26. P. 119–128.
12. Олсуфьева Е.Н. Синтез и противоопухолевые свойства антрациклиновых антибиотиков, модифицированных по сахарному остатку // *Биоорг. химия.* 1992. Т. 8. С. 149–180.
13. Albert A., Selective Toxicity. London: Chapman and Hall, 1951. 597 p.
14. Arad-Yellin R., Eilat E. Acid labile prodrugs : pat. WO9937634, 1999.
15. Patel V.F. Acid labile immunoconjugate intermediates : pat. US5612474, 1997.
16. Damen E., de Groot F., Scheeren H. Novel anthracycline prodrugs // *Expert Opinion on Therapeutic Patents.* 2001. V. 11. P. 651–666.
17. Senter P.D. Anti-tumor prodrugs : pat. EP-0317956, 1989.
18. De Groot F., Damen E., Scheeren H. Anticancer prodrugs for application in monotherapy: Targeting hypoxia, tumor-associated enzymes, and receptors // *Curr. Med. Chem.* 2001. V. 8. P. 1093–1122.
19. Fenick D., Taatjes D., Koch T. Doxoform and daunoform: Anthracycline – formaldehyde conjugates toxic to resistant tumor cells // *J. Med. Chem.* 1997. V. 40. P. 2452–2461.
20. Taatjes D., Fenick D., Koch T. Epidoxoform: A hydrolytically more stable anthracycline – formaldehyde conjugate toxic to resistant tumor cells // *J. Med. Chem.* 1998. V. 41. P. 1306–1314.
21. Taatjes D., Koch T. Nuclear targeting and retention of anthracycline antitumor drugs in sensitive and resistant tumor cells // *Curr. Med. Chem.* 2001. V. 8. P. 15–29.
22. Burke P., Koch T. Doxorubicin – formaldehyde conjugate, doxoform: Induction of apoptosis relative to doxorubicin // *Anticancer Res.* 2001. V. 21. P. 2753–2760.
23. Burke P., Koch T. Design, synthesis and biological evaluation of doxorubicin – formaldehyde conjugates targeted to breast cancer cells // *J. Med. Chem.* 2004. V. 47. P. 1193–1206.
24. Swift L., Cutts S., Rephaeli A., Nudelman A., Philips D. Activation of adriamycin by the pH-dependent formaldehyde-releasing prodrug hexamethylenetetramine // *Mol. Cancer Therap.* 2003. V. 2. P. 189–198.
25. Ghosh S., Ellerbroek S., Wu Y., Stack M. Tumor-cell mediated proteolysis: Regulatory mechanisms and functional consequences // *Fibrin. Proteol.* 2000. V. 14. P. 87–97.
26. Lijnen H. Molecular interactions between the plasminogen/plasmin and matrix metalloproteinase // *Fibrin. Proteol.* 2000. V. 14. P. 175–181.
27. Koblinski J., Ahram M., Sloane B. Unrevealing the role of proteases in cancer // *Clin. Chim. Acta.* 2000. V. 291. P. 113–135.
28. Zhong Y.-J., Shao L.-H., Li Y. Cathepsin B-cleavable doxorubicin prodrugs for targeted cancer therapy // *Int. J. Oncol.* 2013. V. 42. P. 373–383.
29. Dubowchik G., Firestone R. Cathepsin B-sensitive dipeptide prodrugs. 1. A model study of structural requirements for efficient release of doxorubicin // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998. V. 8. P. 3341–3346.
30. Dubowchik G., Mosure K., Khipe J., Firestone R. Cathepsin B-sensitive dipeptide prodrugs. 2. Models of anticancer drugs paclitaxel (Taxol®), mitomycin C and doxorubicin // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998. V. 8. P. 3347–3352.
31. Dubowchik G.M., Firestone R.A., Padilla L., Willner D., Hofstead S.J., Mosure K., Knipe J.O., Lasch S.J., Trail P.A. Cathepsin B-labile dipeptide linkers for lysosomal release of doxorubicin from internalizing immunoconjugates: Model studies of enzymatic drug release and antigen-specific *in vitro* anticancer activity // *Bioconjug. Chem.* 2002. V. 13. P. 855–869.
32. Shao L.H., Liu S.P., Hou J.X., Zhang Y.H., Peng C.W., Zhong Y.J., Liu X., Liu X.L., Hong Y.P., Firestone R.A., Li Y. Cathepsin B cleavable novel prodrug Ac-Phe-Lys-PABC-ADM enhances efficacy at reduced toxicity in treating gastric cancer peritoneal carcinomatosis: An experimental study // *Cancer.* 2012. V. 118. P. 2986–2996.
33. Wang Q., Zhong I.J., Yuan J.-P., Shao L.-H., Zhang J., Tang L., Liu S.-P., Hong Y.-P., Firestone R. A., Li Y. Targeting therapy of hepatocellular carcinoma with doxorubicin prodrug PDOX increases anti-metastatic effect and reduces toxicity: A preclinical study // *J. Translational Med.* 2013. V. 11. P. 192–203.
34. Chakrabarty P., Carl P., Weber M., Katzenellenbogen J. Plasmin-activated prodrugs for cancer chemotherapy. 2. Synthesis and biological activity of peptidyl derivatives of doxorubicin // *J. Med. Chem.* 1983. V. 26. P. 638–644.
35. Devy L., de Groot F., Blacher S., Hajitou A., Beusker P., Scheeren H., Foidart J., Noel A. Plasmin-activated doxorubicin prodrugs containing a spacer reduce tumor growth and angiogenesis without systemic toxicity // *Faser J.* 2004. V. 18. P. 565–567.

36. Garsky V., Lumma P., Feng D., Wai J., Ramljt H., Sardana M., Oliff A., Jones R., DeFeo-Jones D., Freidinger R. The synthesis of a prodrug of doxorubicin design to provide reduced systemic toxicity and greater target efficacy // *J. Med. Chem.* 2001. V. 44. P. 4216–4224.
37. Guang X., McLeod X. Strategies for enzyme/prodrug cancer therapy // *Clinical Cancer Res.* 2001. V. 7. P. 3314–3324.
38. Tietze L.F., Schmuck K. Prodrugs for targeted tumor therapies: Recent developments in ADEPT, GDEPT and PMT // *Curr. Phar. Des.* 2011. V. 17. P. 3527–3547.
39. Vruthula V., Svensson H., Senter P. Cephalosporin derivatives of doxorubicin as prodrugs for activation by monoclonal antibody-beta-lactamase conjugates // *J. Med. Chem.* 1995. V. 38. P. 1380–1385.
40. Papot S., Tranoy I., Tilleguin F., Florent J.-C., Gesson J.-P. Design of selectively activated anticancer prodrugs: Elimination and cyclization strategies // *Curr. Med. Chem.* 2002. V. 2. P. 155–185.
41. Leenders R., Damen E., Bijsterveld E., Scheeren H., Houba P., van der Meulen-Muileman I., Boven E., Haisma H. Novel anthracycline-spacer-beta-glucuronide, beta-glucoside, and beta-galactoside prodrugs for application in selective chemotherapy // *Biorg. Med. Chem.* 1999. V. 7. P. 1597–1560.
42. Bakina E., Wu Z., Robenblum M., Farquhar D. Intensively cytotoxic anthracycline prodrugs: glucuronides // *J. Med. Chem.* 1997. V. 40. P. 4013–4018.
43. Houba P., Leenders R., Boven E., Scheeren J., Pinedo H., Haisma H. Characterization of novel anthracycline prodrugs activated by human beta-glucuronidase in antibody-directed enzyme prodrug therapy // *Biohem. Pharmacol.* 1996. V. 52. P. 455–463.
44. Haisma H., van Muijen M., Pinedo H., Boven E. Comparison of two anthracycline based prodrugs for activation by monoclonal antibody-beta-glucuronidase conjugate in the specific treatment of cancer // *Cell Biophys.* 1994. V. 24–25. P. 185–192.
45. Houba P., Boven E., van der Meulen-Muileman I., Leenders R., Scheeren J., Pinedo H., Haisma H. Pronounced antitumor efficacy of doxorubicin when given as the prodrug DOX-GA3 in combination with a monoclonal antibody beta-glucuronidase conjugate // *Int. J. Cancer.* 2001. V. 91. P. 550–554.
46. Houba P., Boven E., Erkelens C., Leenders R., Scheeren J., Pinedo H., Haisma H. The efficacy of the anthracycline prodrug daunorubicin-GA3 in human ovarian cancer xenografts // *Br. J. Cancer.* 1998. V. 78. P. 1600–1606.
47. Shabat D., Rader C., List B., Lerner R., Barbas III C. Multiple event action of a generic prodrug trigger by antibody catalysis // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999. V. 96. P. 6925–6930.
48. Bakina E., Farquhar D. Intensely cytotoxic anthracycline prodrugs: Galactosides // *Anticancer Drug Des.* 1999. V. 14. P. 507–515.
49. Lu J., Lowe D., Kennedy M., Low P. Folate-target enzyme prodrug cancer therapy utilizing penicillin-V-amidase and a doxorubicin prodrug // *J. Drug Target.* 1999. V. 7. P. 43–53.

CREATION OF ANTHRACYCLINE PRODRUGS

A.N. Tevyashova[@]

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, 119021 Russia

[@]Corresponding author e-mail: chulis@mail.ru

Although anthracycline antibiotics are widely used in the treatment of cancer, their use is limited due to severe side-effects, including irreversible cardiotoxicity and multi-drug resistance of tumor cells. One of the promising approaches towards “ideal” anthracycline is the creation of anthracycline-based prodrugs, i.e. compounds that are less active than the parent drug (or inactive) and are converted in its active form through a metabolic process. The main goal of the development of anthracycline prodrugs is to increase the selectivity of the drug (doxorubicin or daunorubicin) towards tumor cells with simultaneous decrease in toxicity to normal cells. With this aim different types of anthracycline prodrugs were designed targeting such specific characteristics of tumor cells as lower pH and oxygenation level in comparison with normal cells, higher content of different enzymes etc. Also two-stage “enzyme-prodrug” strategies which include the selective introduction of the enzyme into the tumor cells on the first step and administration of the prodrug which is the substrate for this enzyme on the second step are developed. These strategies are classified depending on the method of “introduction” of the enzyme into tumor cells: antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT), virus-directed enzyme prodrug therapy (VDEPT) and gene-directed enzyme prodrug therapy (GDEPT). The review covers recent achievements in the field of creation of different types of anthracycline prodrugs.

Keywords: anthracycline antibiotics, doxorubicin, daunorubicin, prodrug, antiproliferative activity, antitumor activity.