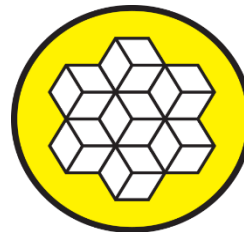




UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta



BIOCEV

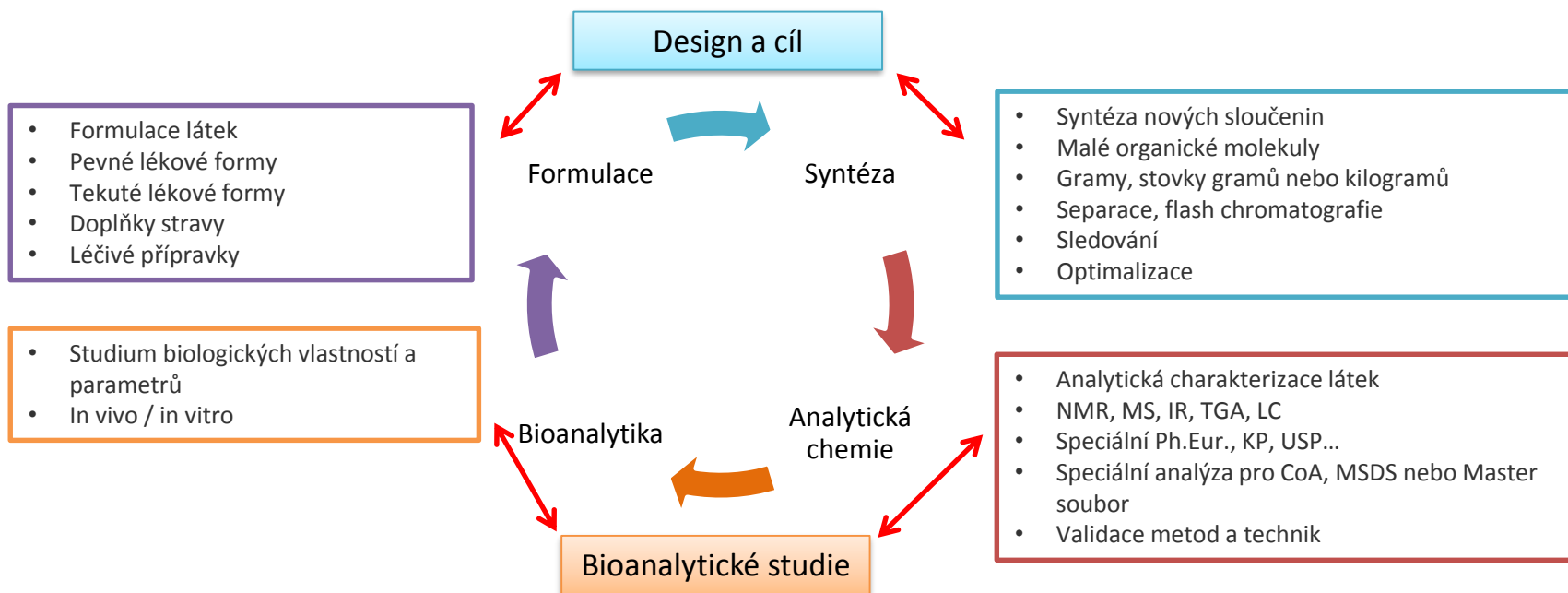
Nové trendy medicínální chemie v onkologii

PragueONCO, Základní výzkum v onkologii

Ing. Milan Jakubek, Ph.D.



Medicínální chemie



Dílčí trendy

- **Repurposing léčiv v onkologii**
- **Funkční nanoroboti pro navigovanou kombinovanou nádorovou terapii**

Repurposing léčiv v onkologii



Úvod

Repurposing = Změna indikace léčiva (také nazývaná reprofilace) je strategie, která pro identifikaci nových indikací používá schválené nebo zkoušené léky, které jsou mimo rozsah původní zdravotní indikace.

Tato strategie nabízí různé výhody oproti vývoji zcela nových léčiv pro danou indikaci

- Riziko selhání vývoje je nižší; protože již bylo zjištěno, že repurposing léčivo je dostatečně bezpečné u preklinických modelů
- Časový rámec pro vývoj léčiva může být rychlejší
- Dostupnost údajů o farmakokinetice, farmakodynamice a dávkování.
- Znalost bezpečnosti a toxicity, včetně vzácných nežádoucích účinků
- Klinické zkušenosti odvozené z původních indikací
- Široká dostupnost – zejména u léků zařazených do seznamu WHO Essentials Medicines (EML)
- Nízká cena – zejména u generických léků od více výrobců
- Pochopení mechanismů účinku a/nebo molekulárních cílů

Možnosti repurposingu léčiv

- Již registrované léčiva
- Nové formulace léčiv (API)
- Výchozí bod pro nový molekulární design
- Off-label použití

Regulace v EU a USA

Evropská unie

- Směrnice 2001/83/ES (zejména články 6, 8(3), 10(3) a 10(5)) stanoví hlavní právní základ pro žádosti o léčiva pro repurposing léčiva.
- Žádost by měla obsahovat informace o farmaceutickém (fyzikálně-chemické, biologické nebo mikrobiologické testy, neklinické (toxikologické a farmakologické) testy a klinické testy.
- Charakterizace bezpečnosti může být podpořena předchozí klinickou studií
- Všechny žádosti by měly být doprovázeny plánem řízení rizik
- Všechny žádosti podle článku 8(3) vyžadují plán pediatrické studie nebo výjimku odsouhlasenou Evropskou lékovou agenturou (EMA)

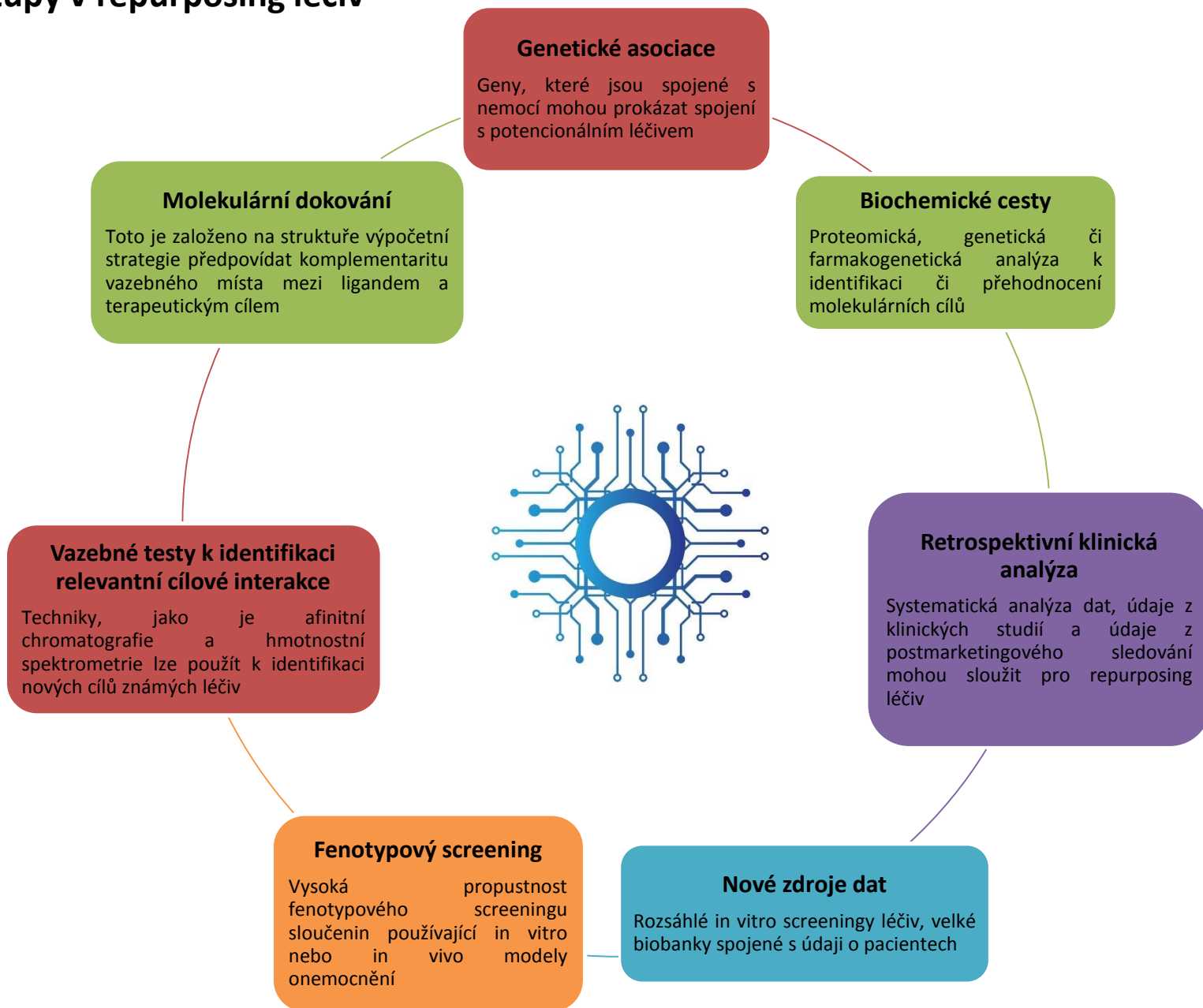
Spojené státy

- Žádost pro repurposing léčiva lze podat podle jedné z možných regulačních cest, konkrétně § 505(b)(1), §505(b)(2) nebo § 505(j)
- Provést drobné změny (štítek, nové dávkování atd.) v produktu, který již má schválenou žádost o nové léčivo (NDA; nebo žádost o licenci pro biologické přípravky (BLA) či biologické produkty).

Klíčové problémy spojené s off-label používáním léčivých přípravků

- **Nedostatek vědeckých důkazů:** Klinické údaje o rizicích a přínosech léku v nové indikaci nebyly oficiálně hodnoceny lékovými regulátory (FDA/EMA). To může podporovat (někdy mylný) dojem, že důkazy jsou nedostatečné, a může bránit šíření informací předepisujícímu lékaři.
- **Nedostatek systémů sběru dat:** Dosud bylo vytvořeno jen málo systémů nebo platforem, které by rutinně shromažďovaly údaje o klinické účinnosti léků předepisovaných mimo certifikaci, a zdravotničtí pracovníci mají malou motivaci shromažďovat tato data z reálného světa.
- **Otázky odpovědnosti:** Předepisováním mimo povolenou indikaci léčivého přípravku čelí lékaři zvýšené právní odpovědnosti – a v důsledku toho se mnozí mohou rozhodnout nepředepisovat.
- **Problémy s proplácením:** I když je off-label použití široce známé, ukázalo se jako účinné a je zahrnuto do léčebných pokynů, nemusí být v některých zemích úhrada za off-label použití povolena.
- **Problémy s dodávkami:** Léky mohou být odstraněny z receptur a/nebo výroby, protože jsou nahrazeny jinými léky pro jejich schválené indikace, čímž se také odstraní léky pro uživatele off-label v přeměněných indikacích. Některé léky jsou již „ohrožené“ tím, že na některých trzích již nejsou dostupné, přestože byly schváleny.
- **Obavy pacientů:** Skutečnost, že předepsaná indikace není uvedena v příbalové informaci pro pacienty, může ztížit vysvětlení pacientům, proč by léčba byla přínosná.

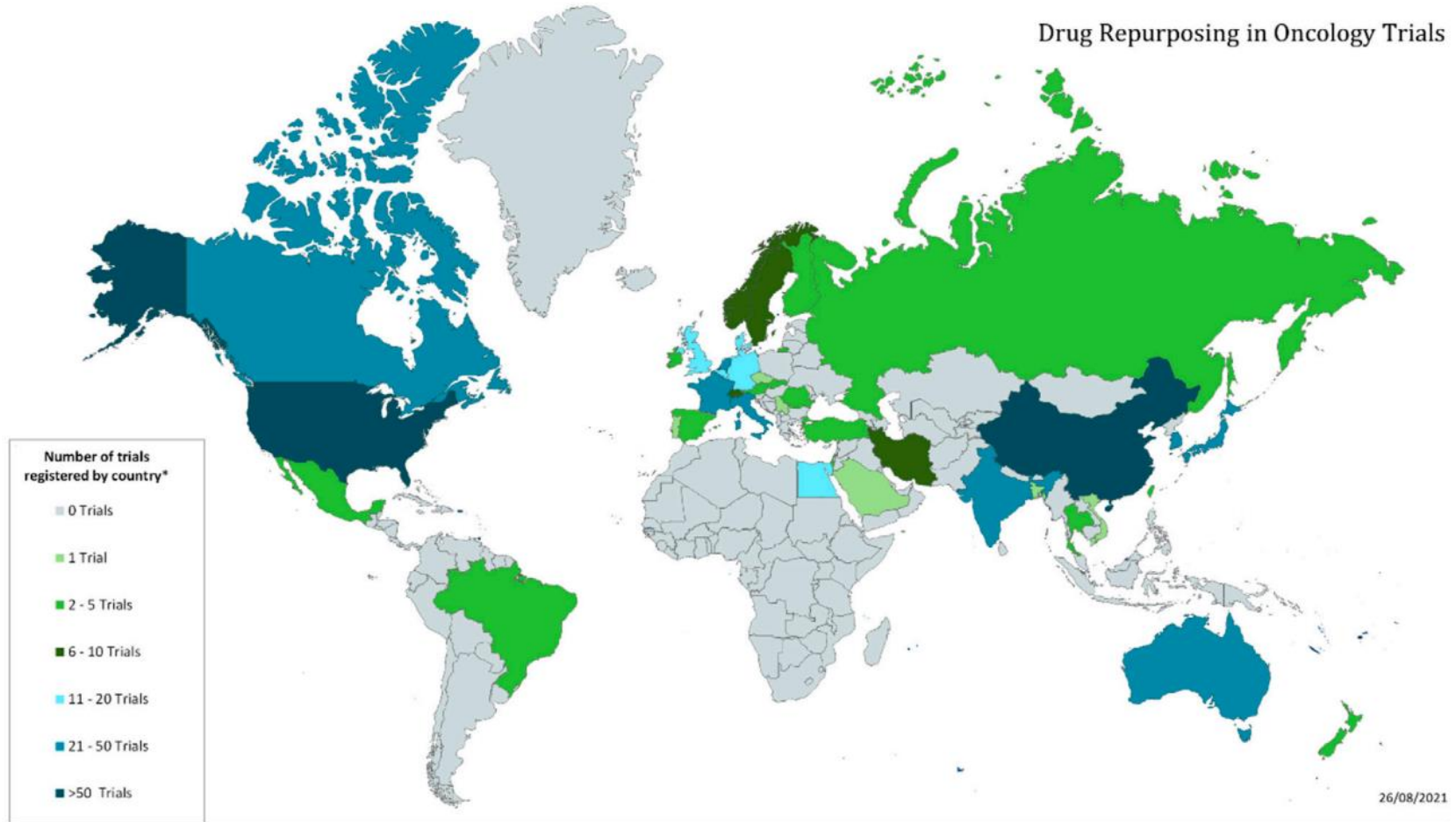
Přístupy v repurposing léčiv



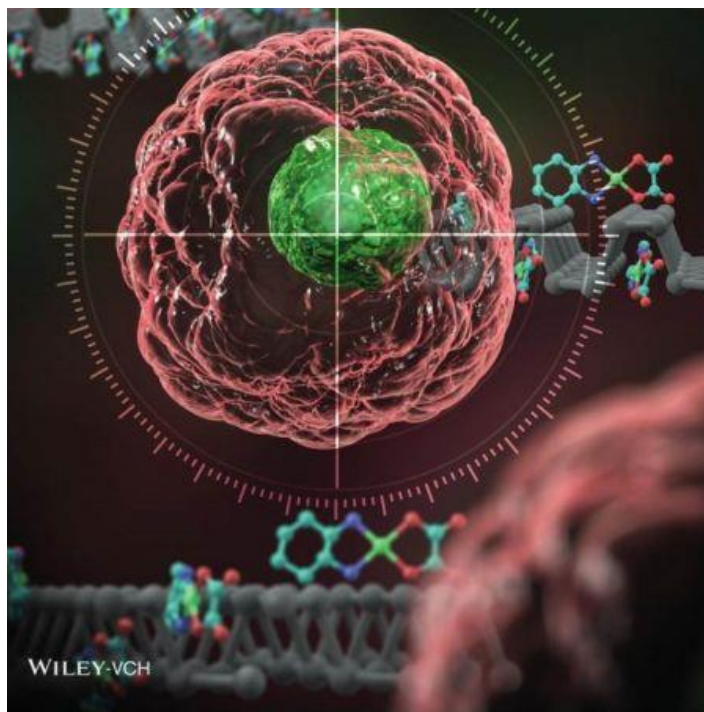
Vybrané úspěšné příklady repurposingu léčiv a použitý repurposingový přístup

Léčivo	Originální indikace	Nová indikace	Datum	Přístup repurposingu	Komentář
Zidovudin	Rakovina	HIV/AIDS	1987	in vitro screening knihoven sloučenin	Zidovudin byl prvním lékem proti HIV schválený FDA
Raloxifen	Osteoporosa	Rakovina prsu	2007	Retrospektivní klinická analýza	Schváleno FDA pro invazivní rakovinu prsu. Celosvětové tržby ve výši 237 milionů USD v roce 2015
Aspirin	Analgezie	Kolorektální karcinom	2015	Retrospektivní klinické a farmakologické rozbor	Byla vytvořena pracovní skupina pro preventivní služby USA. Návrh doporučení v září 2015 ohledně užívání aspirinu jako prevence kardiovaskulárního onemocnění a kolorektálního karcinomu
Thalidomid	Sedativum	Mnohačetný myelom	2008		V roce 2006 (USA) a 2008 byl také registrován v EU v kombinaci s melfalanem a prednisonem a je indikován jako léčba první volby u pacientů s neléčeným mnohočetným myelomem, kteří jsou ve věku 65 let a více nebo kteří nejsou způsobilí pro vysokodávkovou chemoterapii
Cimetidin	Duodenální a benigní žaludeční ulcerace	Kolorektální karcinom	2012	Neoficiální zprávy o regresi nádoru s antagonisty receptoru histaminu typu 2 vedly k sérii studií s touto třídou léků jako adjuvantní terapie, aby se pokusily zlepšit výsledky u pacientů s resekovaným kolorektálním karcinomem	V roce 2012 publikovala Cochrane Collaboration systematický přehled se závěrem, že se zdá, že cimetidin prospívá přežití, je-li podáván jako doplněk ke kurativní chirurgické resekci kolorektálních karcinomů.

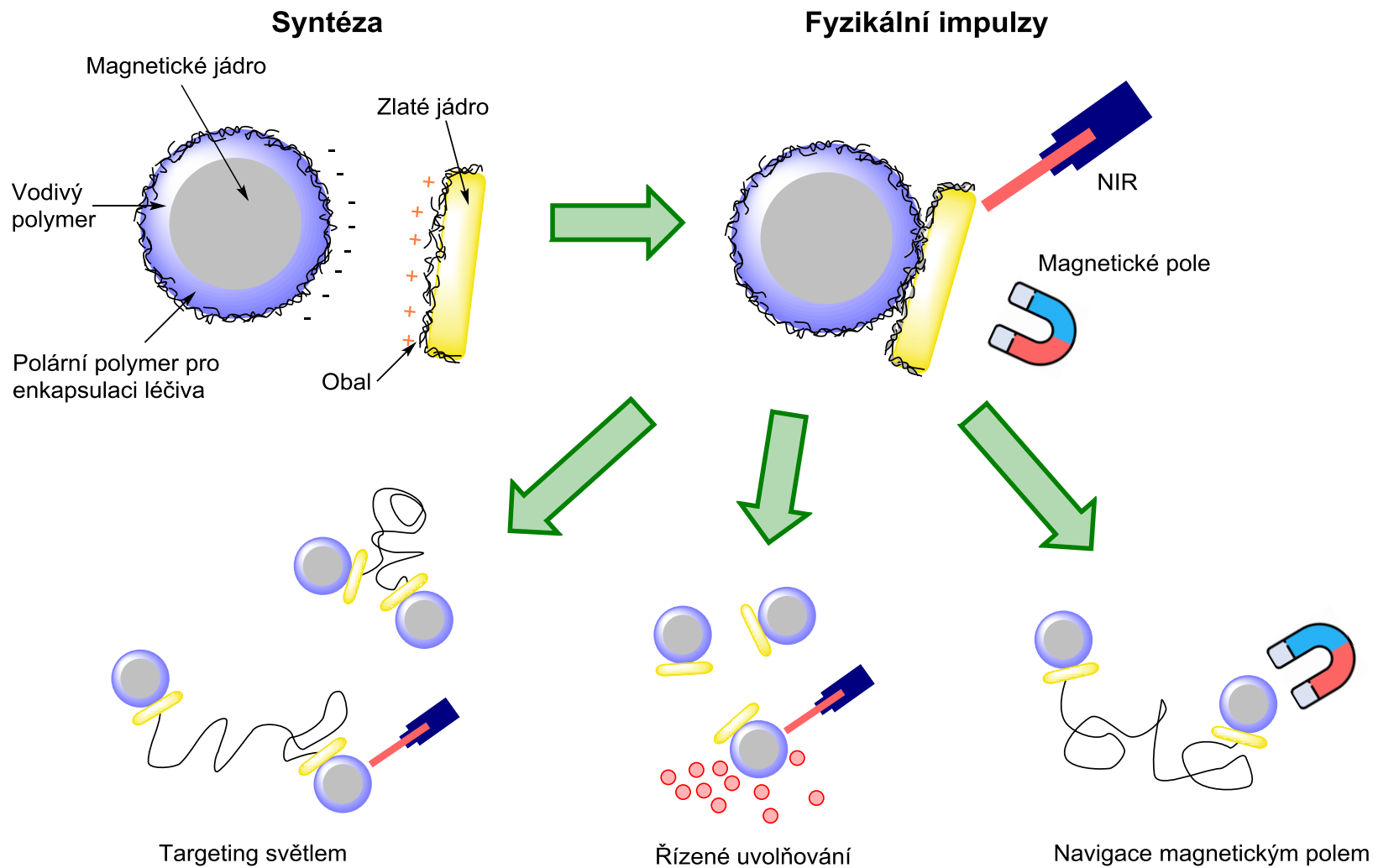
Globální přehled repurposingu v onkologii



Funkční nanoroboti pro navigovanou kombinovanou nádorovou terapii

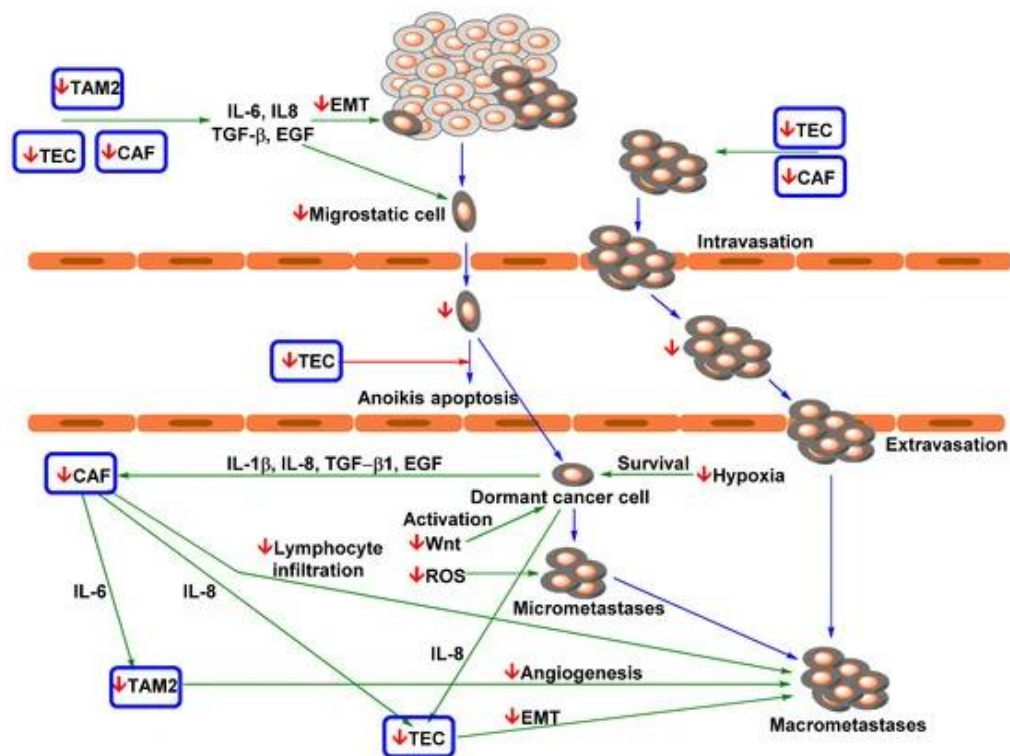


Funkční nanoroboti pro navigovanou kombinovanou nádorovou terapii



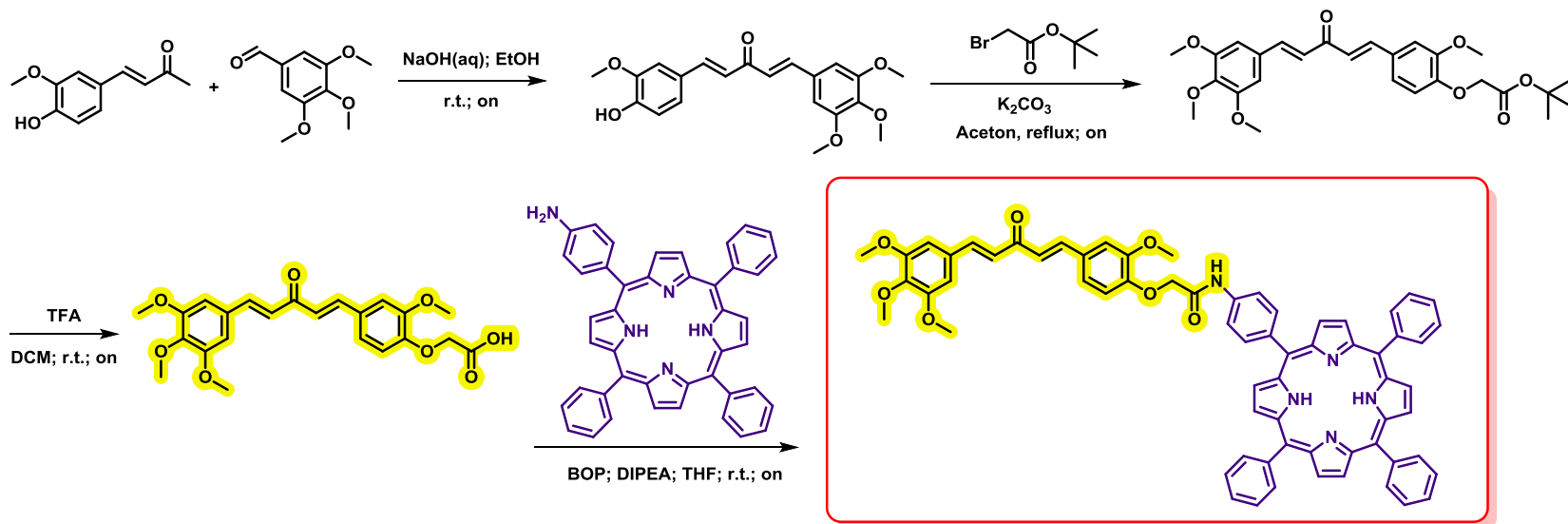
Design nových kurkuminoidů v antimetastatické léčbě

- Kurkuminoidy regulují několik fyziologických funkcí, např. přenos signálu, reakce imunitního systému či mají protizánětlivé vlastnosti
- Kurkumin potlačuje růst HNSCC inhibicí aktivity jaderného faktoru κB (NF- κB) a signálních drah Notch-1. Proto aplikace kurkuminu podporuje zástavu buněčného cyklu a inhibici růstu nádoru.
- Expze NF- κB může vést k proliferaci rakovinných buněk, přežití, invazi, metastázám a špatnému přežití pacientů a je silně spojena s chemo a radiorezistencí rakoviny.
- Důležité je, že kurkumin je silná migrastatická sloučenina, např. má inhibiční účinek na invazi nádorových buněk a zabraňuje tvorbě sekundárních nádorových lézí.



Kombinace Migrastatika a Cytostatika v kombinované „MiCy“ terapii

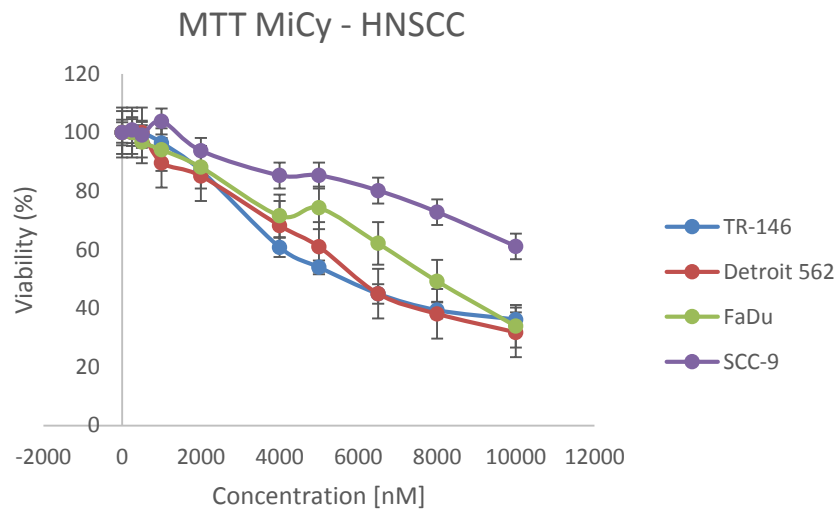
MiCy terapie: kombinace migrastatik a cytostatik



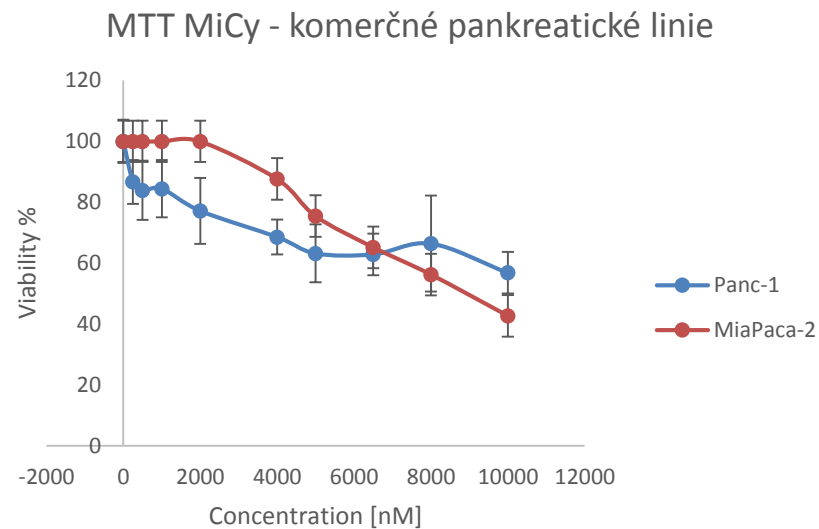
Kombinace kurkuminoidu a porfyriu

Kombinovaná fotodynamická terapie

MTT MiCy – buněčné linie

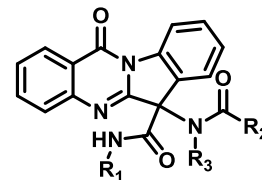
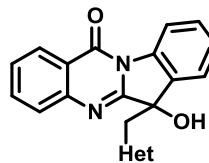
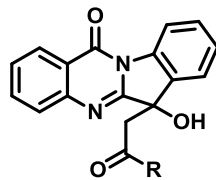
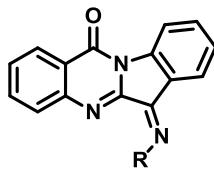
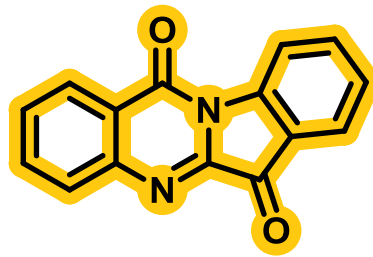


Buněčná linie	IC ₅₀ (nM)
TR-146	3699,1
Detroit 562	6117,8
FaDu	6941,0
SCC-9	14119,3



Buněčná linie	IC ₅₀ (nM)
MiaPaca-2	11233,9
Panc-1	10613,4

Tryptanthrin a jeho deriváty



Inhibice/down regulace

Indoleamine 2,3-dioxygenasa (IDO-1, IDO-2)

Tryptophan 2,3-dioxygenasa (TDO)

Multidrug genová resistance MDR1

COX-2, COX-1

5-LOX

NO synthasa (iNOS)

Prostaglandin E(2) exprese

IL-4 produkce

NF-κB

c-Jun N-terminalní kináza (JNK1-3)

Tropomyosin-kinasa (TRK) A a B

Topoisomerasa I and II

Hepatocyte růstový faktor (HGF) produkce

Interferon-γ produkce

Th2 IgE

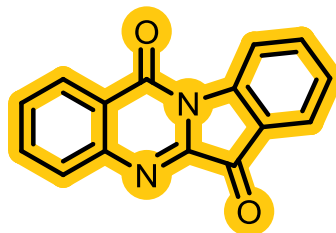
RNA-dependentní RNA polymerasa a PLP2)

COVID-19 main proteasa (Mpro)

Tryptanthrin

Couroupitine A

Indolo[2,1-*b*]quinazoline-6,12-dione



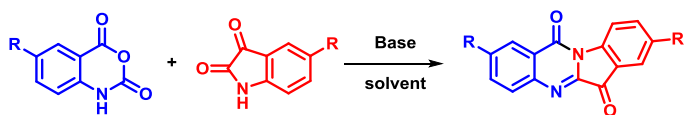
Efekt

- ✓ Antimikrobiální
- ✓ Antibakteriální
- ✓ Antimikobakteriální
- ✓ Antimalaretický
- ✓ Antiparasitický
- ✓ Antivirový
- ✓ Proti zánětlivý
- ✓ Antialergický
- ✓ Hepatoprotektivní
- ✓ Antioxidant
- ✓ Protinádorový (cytostatikum a léková multirezistence (MDR))

Chemie: syntéza bazických tryptantrínů

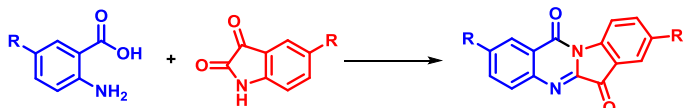
Historie: sublimace indiga za sníženého tlaku
nebo oxidace indiga KMNO_4

Anhydrid kyseliny isatové + isatin (nejefektivnější metoda)



- NaH, DMF or THF, r.t.- Δ ; Et_3N or Py, Tol, Δ ; DBU, DMAP, DMF, r.t.; K_2CO_3 , MW; DIPEA, DMF, r.t.
- β -CD, voda, r.t.
- DCC or DIC, Py, r.t.; CDI, Py, r.t.

Kyselina antranilová + isatin



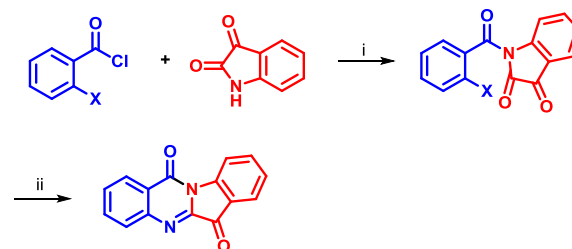
- HBTU, NMM, DBU, DMF, r.t.
- SOCl_2 , pyridin, Δ

Dimerizace isatinu



- POCl_3 or PCl_5 , benzen, Δ
- KMNO_4 , MeCN, Δ ; TBHP, K_3PO_4 , r.t.
- I₂, NaH, DMF, MW, Δ
- Elektrolýza na Hg katodě

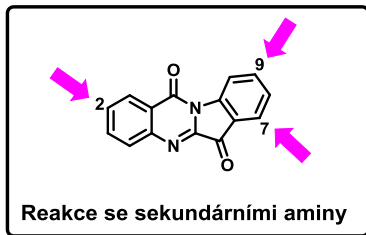
Step-by-step



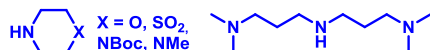
- i) Et_3N , DMAP, DCM, dioxan, r.t.
- ii) X = NO_2 SnCl_2 , HCl(aq), Δ
X = N_3 PBu_3 , dioxan, r.t.

Chemie: syntéza derivátů tryptantrinu

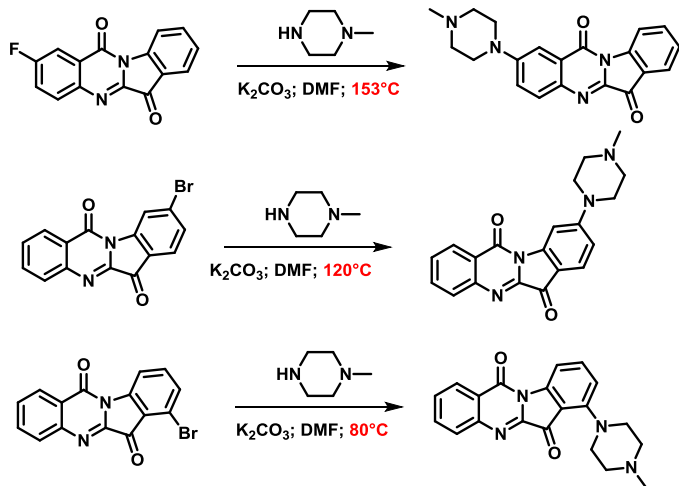
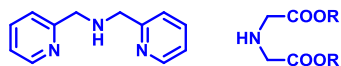
➤ Amino-deriváty Try



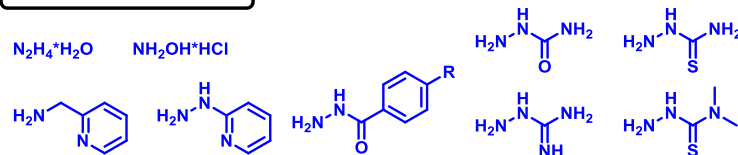
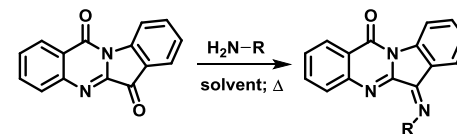
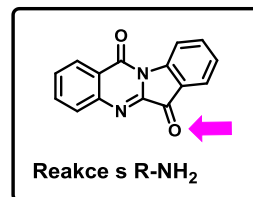
Zvýšení rozpustnosti, cílení a stavebních bloků



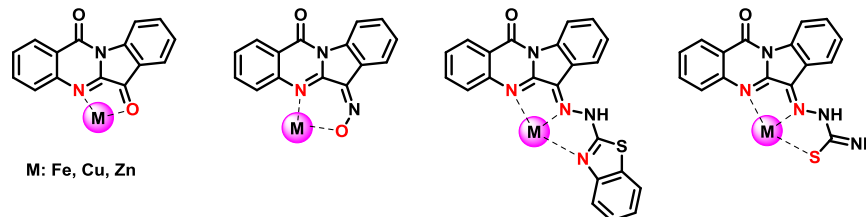
Připojení jednotky kovové vazby



➤ Oximy, hydrazony a (thio)semikarbazony

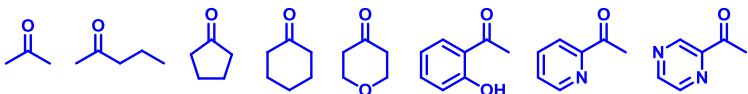
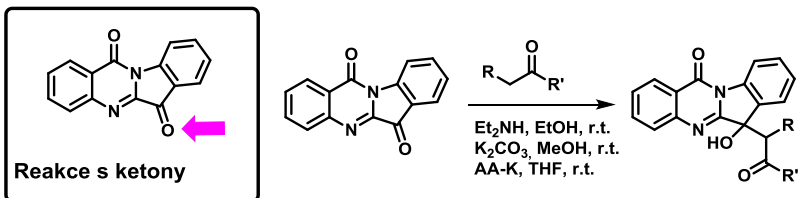


➤ Metalokomplexy Try a jejich deriváty

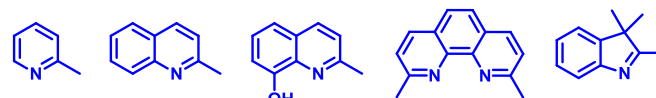
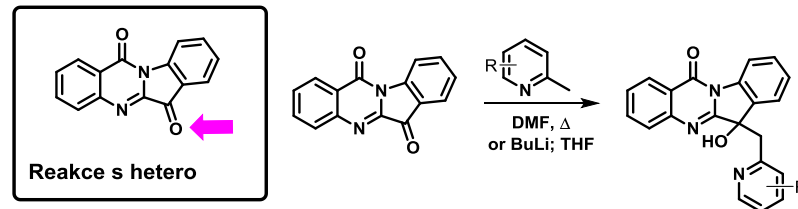


Chemie: syntéza derivátů tryptantrinu

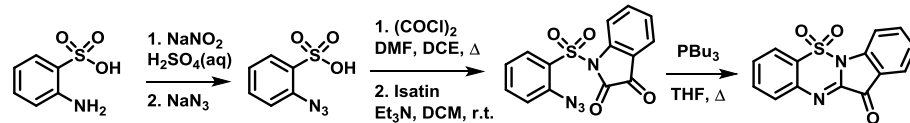
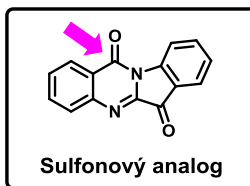
➤ Konjugáty s ketony



➤ Heterocyklické konjugáty

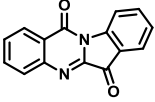
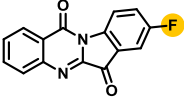
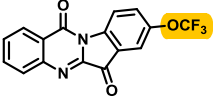
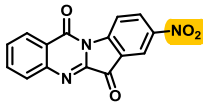
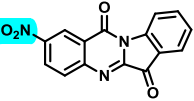
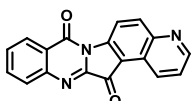


➤ Sulfonový analog Try



Studium cytotoxicity

➤ 8 rakovinných/leukemických buněčných linií + 2 zdravé buněčné linie

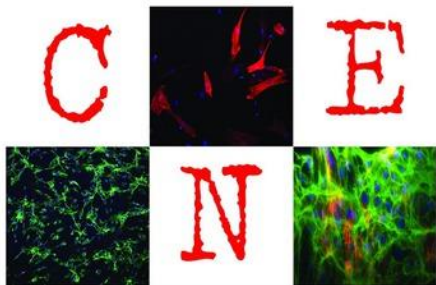
	IC ₅₀ [μM]										Selektivní index		
	CCRF-CEM	CEM-DNR	K562	K562-TAX	HCT116	HCT116 p53-/-	A549	U2OS	BJ	MRC-5	SI Overall	SI CCRF-CEM	SI CEM-DNR
	7,11	8,12	> 50	7,74	> 50	21,50	4,76	9,66	> 50	22,51	1,8	5,1	4,5
	2,62	1,84	10,13	4,02	4,39	5,04	1,72	4,09	> 50	> 50	11,8	19,1	27,2
	0,65	1,42	2,12	1,64	> 50	4,61	> 50	2,32	> 50	> 50	3,5	76,9	35,2
	0,23	0,36	0,46	0,36	0,52	0,53	0,48	0,48	2,80	1,15	4,6	8,6	5,5
	20,96	31,67	> 50	23,57	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	1,2	2,4	1,6
	0,75	0,42	25,27	0,37	1,09	1,39	1,19	1,83	> 50	> 50	12,4	66,7	119,0

- CEM a K562 – leukemické linie
- Zasahují i rezistentní formy: CEM-DNR – daunorubicin rezistentní, K562-TAX – taxol rezistentní
- Substituce v poloze 2 (T2NO₂) způsobuje snížení aktivity

DĚKUJI ZA POZORNOST

Projekt „Centrum ekologie nádorů – výzkum nádorového mikroprostředí podporující růst a šíření rakoviny“ (reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000785) je podpořen z Operačního programu Výzkum, vývoj a vzdělávání.

Výzkum je rovněž financován z prostředků Ministerstva zdravotnictví ČR, grant č. NU21-08-00407



Projekt:
**CENTRUM NÁDOROVÉ EKOLOGIE - VÝZKUM
NÁDOROVÉHO MIKROPROSTŘEDÍ V ORGANIZMU
PODPORUJÍCÍHO RŮST A ŠÍŘENÍ NÁDORU**

Je spolufinancován Evropskou unií.

Projekt řeší výzkum mezibuněčných interakcí v nádorovém ekosystému jako důležitého parametru šíření nádoru organismem. Cílem je pochopení interakcí, zpřesnění diagnostiky a příprava nových molekulárních inhibitorů, které s terapeutickými cíli zasahují do mezibuněčné výměny informací.



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
OP Výzkum, vývoj a vzdělávání



<https://cne.cuni.cz/>

<https://biocev.eu/>

milan.jakubek@lf1.cuni.cz

+420606783234