

SZCZĘŚCIE I CIĘŻKA PRACA W OPRACOWYWANIU LEKÓW

LUCK AND HARD WORK IN DRUG DISCOVERY

Łukasz Koroniak

DSM Biomedical B.V., Koestraat 1, 6167 RA Geleen, Netherlands
**e-mail: Lukasz.Koroniak@DSM.com*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Abraxane

1.1. Paclitaxel (Taxol)

1.2. Problem z (pozornie) doskonałym lekiem

1.3. W końcu o szczęściu....

2. Enzalutamid (Xtandi®)

2.1. Rak Prostaty i rola Receptora Androgenowego (AR)

2.2. Antagonista Receptora Androgenowego (AR)

2.3. Opracowanie enzalutamidu (Xtandi®)

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

Łukasz Koroniak jest absolwentem Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu gdzie w roku 1999 otrzymał tytuł magistra. Łukasz studia chemiczne kontynuował na Uniwersytecie Florydzkim gdzie w roku 2004 otrzymał tytuł doktora. Po odbyciu trzyletniego studium podoktoranckiego na Uniwersytecie Kalifornijskim w Los Angeles w grupie Mike Junga, Łukasz rozpoczął karierę w przemyśle biotechnologicznym w Abraxis Bioscience. W roku 2010 Łukasz przeniósł się do DSM Biomedical, gdzie od początku zaangażowany jest w prace nad nowatorskimi rozwiązaniami do długotrwałego i miejscowego dostarczania leków. W 2015 roku Łukasz ukończył Executive Masters of Business and Administration na Uniwersytecie Aalto w Helsinkach. Obecnie Łukasz jest Business Development Manager w DSM Biomedical. Łukasz posiada bogate doświadczenie w chemii medycznej i zagadnieniach dostarczania leków w dziedzinach onkologii, chorób sercowo naczyniowych, chorób oczu i leczeniu bólu. W powyższych dziedzinach jest autorem prac naukowych i patentów.



<https://orcid.org/0000-0001-6122-3863>

ABSTRACT

Luck is one of the critical factors determining outcome of many activities we are involved in. In chemistry, and specifically in drug discovery a strike of luck can determine a successful study outcome leading to an approval of potentially blockbuster drug consequently offering a new treatment option for patients in need. On the other hand, lack of luck can often result in termination of activities, wasted resources and years of studies and often have negative impact on a fate of companies and its employees.

In a similar fashion, hard work is critical for one's success. It is not meant in a literal fashion, but rather from the perspective of "going the extra mile" in scientific research and development. It is meant as a proper approach to analysis of study outcome and understanding the reasons "why", rather than accepting simply yes/no outcomes.

Below article discusses two instances where certain level of luck and extra effort invested in understanding of widely available results led to development of two novel therapeutics in oncology field. Described stories deal with development of Abraxane, novel formulation of paclitaxel commercialized by Abraxis Bioscience as well as enzalutamid (Xtandi®) discovered at UCLA and developed and commercialized by Medivation and Astellas Pharma.

Keywords: chemotherapy, paclitaxel, enzalutamide, androgen receptor, prostate cancer, drug discovery

Słowa kluczowe: chemoterapia, paclitaxel, enzalutamide, receptor androgenowy, rak prostaty, opracowywanie leków

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

EPR	– Enhanced Permeability and Retention
AR	– Androgen Receptor
NPs	– Nanoparticles
SPARC	– Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine
SAR	– Structure Activity Relationship

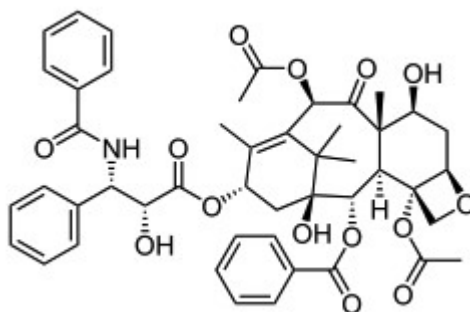
WPROWADZENIE

Jak to mówią... ”od genów nie uciekniesz”. Patrząc na mojego Tatę, któremu dedykowany jest ten artykuł z okazji 70-tych urodzin, mogę łatwo stwierdzić że dwie cechy które miały ogromny wpływ na to co robię to miłość do nauki (nie tylko chemii) i łatwość w nawiązywaniu kontaktów z naprawdę niesamowitymi ludźmi. W odróżnieniu od Jubilata, nigdy nie byłem materiałem na akademika głównie z powodu naturalnej niechęci do pisania (w związku z tym, mam nadzieję że ten artykuł nie będzie przez mojego szanownego Tatę określony jako ”wypociny”). Pomimo tego, praca w przemyśle pozwoliła mi na pracę naukową, dała szanse na prace z niesamowitymi ludźmi i pozwoliła doświadczyć opracowania dwóch leków które w ostatnich latach zaferowały nowe terapie i możliwości w onkologii.

1. ABRAXANE

1.1. PACLITAXEL (TAXOL®)

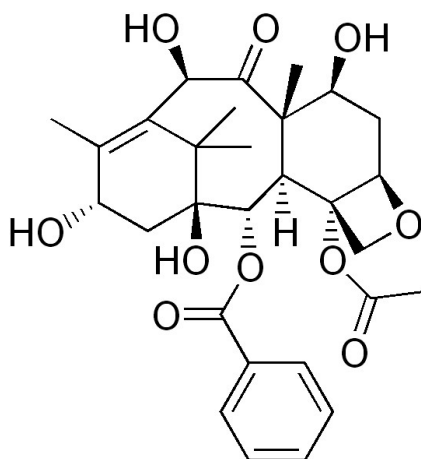
Od czasu izolacji z kory cisa krótkolistnego (*Taxus brevifolia*), odkrycia w 1971 roku [1-3] i późniejszego zatwierdzenia jako leku paclitaxel (Taxol®) (Rys. 1) bardzo szybko stał się jednym z ulubionych celów chemików syntetyków. Ich starania zaowocowały opracowaniem syntezy totalnej na początku lat 90-tych. Do dzisiaj dyskusje dotyczące kto był pierwszy wywołują wiele emocji wśród znawców tematu – czy uznawać pierwszą syntezę zaakceptowaną do publikacji (1994 - Holton [4-5]), czy też pierwszą opublikowaną syntezę (1994 – Nicolau [6]).



Rysunek 1. Struktura paclitaxelu
Figure 1. Paclitaxel structure

Pomimo szeroko zakrojonych prac nad syntezą totalną, oczywiste było iż żaden z opracowywanych procesów nie będzie nadawał się do produkcji przemysłowej. Skomplikowana, policykliczna struktura oraz obecność wielu centrów chiralnych to tylko niektóre powody wymagające wieloetapowej syntezy

totalnej o bardzo niskiej wydajności. Przez wiele lat, paclitaxel dla potrzeb przemysłu otrzymywany był przez ekstrakcje z kory drzewa z którego został pierwotnie wyizolowany. Był to proces żmudny i nieprzyjazny środowisku. Cis krótkolistny jest drzewem dosyć rzadkim i wolno rosnącym, co w połączeniu z niską wydajnością procesu ekstrakcji (dawka potrzebna do leczenia jednego pacjenta wymagała użycia kory z ok. 100 drzew) doprowadziło do prawie całkowitego wyginięcia tego gatunku [7]. Już w roku 1989 Holton opracował proces semi-syntezy paclitaxelu ze związku pochodzącego z igieł spokrewnionego z cisem krótkolistnym gatunku [8]. Wyekstrahowana z szeroko dostępnych igieł cisu pospolitego 10-deacylobakatyna III (Rys. 2) została przekształcona w paclitaxel z blisko 80% wydajnością. Dosyć szybko proces ten został nabyty w formie licencji przez Bristol-Myers Squibb i problem z dostępem do niezbędnych ilości tego leku został rozwiązany.



Rysunek 2. Struktura 10-deacylobakatyny III
Figure 2. Structure of 10-deacylbaccatin III

Z punktu widzenia farmaceutycznego paclitaxel ma działanie anty-mitotyczne polegające na stabilizacji mikrotubul, nie pozwalając na ich depolimeryzację [9-13]. Uniemożliwia to niezbędne w procesie podziału komórek (mitozy) rozdzielenie chromatyd siostrzanych i wędrówkę chromosomów. W konsekwencji powodowanych zaburzeń mitozy komórka umiera. Jako iż działanie to jest wyolbrzymione w przypadku komórek ulegających szybkiemu podziałowi, paclitaxel bardzo szybko znalazł zastosowanie w onkologii i przez lata stał się jednym z podstawowych leków używanych w chemoterapii. Dotychczas paclitaxel znalazł zastosowanie w leczeniu różnych rodzajów nowotworów i potwierdził swoją przydatność jako lek bezpieczny i bardzo efektywny. W związku z tym

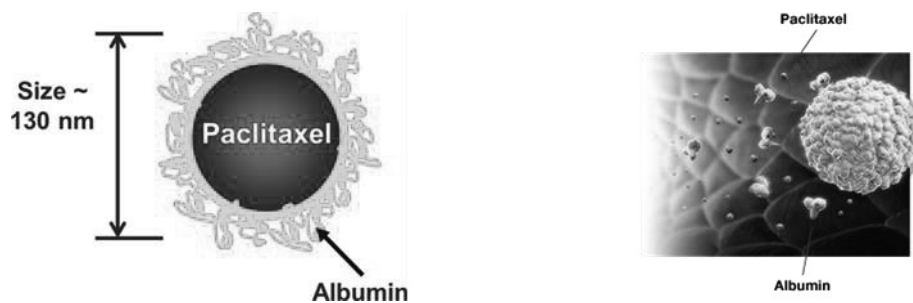
paclitaxel jest uwzględniony na Liście Leków Podstawowych Światowej Organizacji Zdrowia.

1.2. PROBLEM Z (POZORNIE) DOSKONAŁYM LEKIEM

Jednym z głównych wyzwań stojących przed firmami farmaceutycznymi jest transfer obiecujących związków chemicznych "Bench to Market", polegający na przekształceniu nowego (lub obecnego) związku aktywnego w lek. Główne problemy pojawiające się na tym etapie często dotyczą rozpuszczalności, absorpcji lub metabolizmu w organizmie pacjenta (właściwości farmakokinetycznych). W wielu przypadkach związki wykazujące bardzo obiecującą aktywność w warunkach laboratoryjnych stają się przedmiotem szeroko zakrojonych działań nad rozwojem formułacji niezbędnych do komercjalizacji ostatecznego leku.

Pomimo iż paclitaxel przez lata potwierdził swoją mocną pozycję w onkologii, było oczywiste iż związek ten posiada kilka zasadniczych wad. Jedną z głównych jest bardzo niska rozpuszczalność paclitaxelu w roztworach wodnych, których przygotowanie jest niezbędne przy sporządzaniu tzw. wlewek dożylnych używanych w onkologii. W procesie rozpuszczania paclitaxelu i przygotowywania niezbędnych wlewek szeroko używany był i jest etanol i Cremophor EL® (polietoksylogowany olej rycynowy). Pomimo użycia tych związków rozpuszczalność paclitaxelu wciąż była niska, co wymagało wielogodzinnych wlewek w celu zapewnienia wymaganej dawki. Dodatkowo, polietoksylogowany olej rycynowy odpowiedzialny był za większość zaobserwowanych w warunkach klinicznych efektów toksycznych podczas terapii paclitaxelem [14]. W kontekście zapewnienia jak najbardziej przyjaznej pacjentowi terapii onkologicznej, kombinacja chemofarmaceutyka z powyższymi, toksycznymi związkami jest sytuacją bardzo daleką od idealnej.

Problem ten i związana z nim szansa została zauważona w drugiej połowie lat 90-tych przez grupę z małego start-up VivoRx, później przekształconego w Abraxis BioScience. Pomysł na rozwiązanie tego problemu był bardzo prosty - Abraxis postanowił użyć do tego celu szeroko dostępnego i bardzo łatwo rozpuszczalnego w roztworach wodnych białka – albuminy osocza. W opracowanym przez Abraxis procesie paclitaxel i albumina zostały przekształcone w nanocząstki (NPs), które charakteryzowały się doskonałą rozpuszczalnością w roztworach wodnych (Rys. 3). W konsekwencji pojawiła się możliwość zastąpienia wielogodzinnych wlewek przez jeden zastrzyk.



Rysunek 3. Abraxane
Figure 3. Abraxane

Dodatkowym czynnikiem przemawiającym za podejściem Abraxis Bioscience była szeroko obecna na przełomie lat dziewięćdziesiątych i dwutysięcznych koncepcja Enhanced Permeability and Retention (EPR) [15-16]. Według tej teorii, NPs obecne w krwiobiegu powinny akumulować się w okolicach nowotworów, co spowoduje iż chemoterapeutyk znajdujący się w NPs zostanie selektywnie dostarczony do nowotworu.

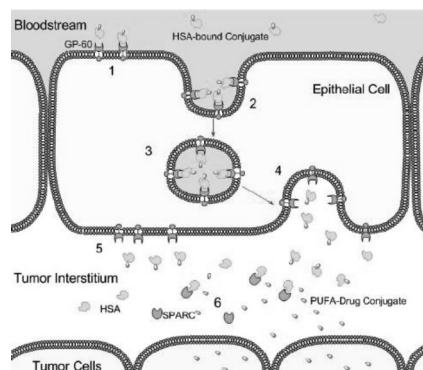
1.3. W KOŃCU O SZCZĘŚCIU....

Od czasu pojawienia się teorii EPR wiele firm i ośrodków akademickich próbowało wykorzystać NPs do selektywnego dostarczania substancji aktywnych do nowotworów. Większość, nawet prawie wszystkie z tych prób, skończyły się niepowodzeniem, a wykorzystanie EPR okazało się niewystarczające do osiągnięcia wymaganego efektu terapeutycznego.

Jednym z nielicznych sukcesów w dziedzinie NPs selektywnie dostarczających substancje aktywne w okolice nowotworu okazał się Abraxane – efekt pomysłu Abraxis Bioscience. Abraxane został po raz pierwszy zatwierdzony jako lek w 2005 roku i od tego czasu stał się jednym z najbardziej efektywnych i najlepiej sprzedających się leków onkologicznych w historii.

Dlaczego więc, przy ogólnym niepowodzeniu produktów opartych o EPR Abraxane okazał się tak dobrym lekiem? Związane jest to trochę ze szczęściem wyboru odpowiedniej proteiny użytej do poprawienia rozpuszczalności paclitaxelu. Albumina osocza jest najbardziej rozpowszechnionym białkiem osocza i występuje często w formie połączonej z innymi związkami odpowiadając za ich transport we krwi. Jednym z typów związków, za których transport odpowiada albumina osocza są różne związki odżywcze. To właśnie mechanizm odpowiedzialny za "wyłapywanie" i transport albuminy osocza z przyłączonymi związkami odżywczymi przez śródbłonek do komórek jest odpowiedzialny za efekt terapeutyczny wywołany przez Abraxane.

Na powierzchni śródbłonna obecne są receptory GP60. Po rozpoznaniu albumina osocza łączy się z GP60, co powoduje jej transport z przyłączonymi związkami do obszaru pomiędzy naczyniem krwionośnym a komórkami [17] (Rys. 4).



Rysunek 3. Mechanizm Receptora GP60
Figure 3. GP60 Receptor Mechanism

W przypadku Abraxane albumina osocza związana jest z paclitaxelem i w efekcie kompleks ten jest przetransportowany z krwi i wydzielony przy komórkach rakowych. W następnym kroku SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine) – proteina często wydzielana przez różne typy komórek rakowych, stymuluje uwolnienie paclitaxelu z kompleksu z albuminą osocza i umożliwia dyfuzję paclitaxelu do komórek rakowych [18].

Ten prosty mechanizm zadecydował o sukcesie terapeutycznym Abraxane, leku który od momentu zatwierdzenia 15 lat temu stał się jednym z bardziej udanych leków używanych w chemoterapii.

2. ENZALUTAMID (Xtandi®)

2.1. RAK PROSTATY I ROLA RECEPTORA ANDROGENOWEGO (AR)

Rak gruczołu krokowego, lub rak prostaty jest jednym z najczęściej występujących nowotworów u mężczyzn. Rak prostaty jest typem nowotworu zależnego od hormonów, w szczególności of androgenów. Obecny na powierzchni nowotworu AR, gdy aktywowany przez androgen (np. testosteron), powoduje szybki wzrost i podział komórek rakowych [19]. W początkowym stadium raka prostaty – tzw. stadium zależnym od hormonów, przy niewielkich ilościach obecnego AR efekt ten jest łatwo eliminowany. Standardowo stosowane są terapie mające na celu obniżenie poziomu androgenów poprzez farmaceutyczną lub

operacyjną kastrację. W efekcie obniżane są stężenia androgenów potrzebnych do aktywacji AR, co prowadzi do zaprzestania wzrostu nowotworu.

Po pewnym czasie nowotwór niestety powraca i zaczyna ponownie wzrastać. Jest to spowodowane ekspresją zwiększonej (3-5-krotnie) ilości AR na powierzchni komórek rakowych [20]. W konsekwencji stężenie androgenów niezbędne do aktywowania sygnałów związanych ze wzrostem nowotworu jest o wiele mniejsze. W tym tzw. stadium niezależnym od hormonów większość chemoterapeutyków jest nieefektywnych, nowotwór charakteryzuje się bardzo szybkim wzrostem i przerzutami.

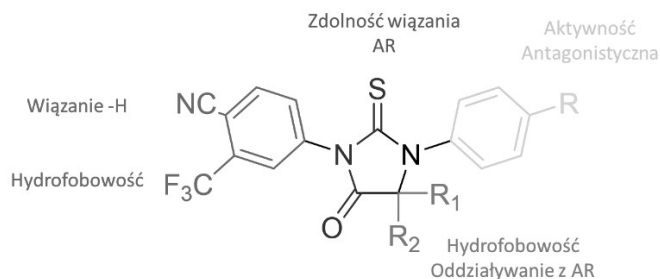
2.2. ANTAGONISTA RECEPTORA ANDROGENOWEGO (AR)

Pomysł na opracowanie selektywnych antyandrogenów obecny był w środowisku badawczym już od dawna. Głównym problemem, który się pojawiał była wysoka aktywność agonistyczna związków, które charakteryzowały się wysoką zdolnością do wiązania AR. W związku z tym odkryte związki chemiczne wiązały się dobrze z AR, blokując go, ale powodowały też przesłanie sygnału powodującego wzrost komórek rakowych [21].

Na początku lat 2000 problemem tym zajęli się Profesor Charles Sawyers, lekarz z Uniwersytetu Kalifornijskiego w Los Angeles i Profesor Michael Jung, chemik organik z tej samej uczelni. Temat ich współpracy był bardzo prosty – opracowanie antagonisty AR – związku chemicznego, który poza wysoką zdolnością wiązania AR będzie posiadał także właściwości antagonistyczne, blokując sygnał potrzebny do wzrostu komórek rakowych.

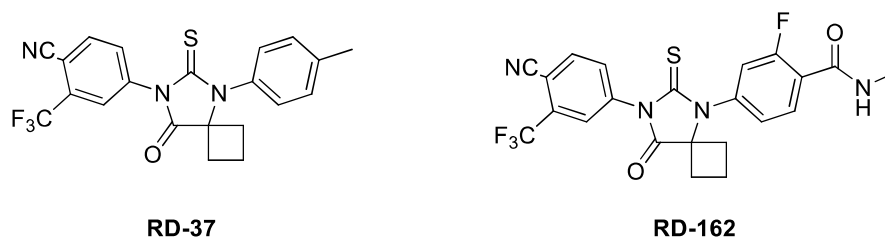
2.3. OPRACOWANIE ENZALUTAMIDU (Xtandi®)

Jako punkt startowy Jung obrał badania przeprowadzone i opublikowane przez firmę Roussel UCLAF, jednego z prekursorów firmy Sanofi [21]. Jeden z zsyntezowanych i przebadanych związków – RU59063 charakteryzował się kilkakrotnie większą od testosteronu zdolnością wiązania AR, jednak także wykazywał niepożądany efekt agonistyczny. Z nie do końca wiadomych powodów związek ten nie został poddany żadnej dalszej analizie mającej na celu znalezienia zależności między elementami strukturalnymi a aktywnością agonistyczną. Fakt ten nie umknął uwagi Junga i jego grupy. Dokładnie przeprowadzona analiza zależności aktywności agonistycznej i antagonistycznej od struktury RU59063, a także opracowanych i zsyntezowanych analogów, dostarczyła informacji niezbędnych do opracowania kolejnych kandydatów (Rys. 5).



Rysunek 5. Zależność struktury i aktywności (SAR) opracowanych analogów
 Figure 5. Structure Activity Relationship of prepared analogs

Dzięki poprawnie przeprowadzonej analizie wyników SAR racjonalne podejście do opracowania nowych kandydatów w miarę szybko przyniosło efekty w postaci związku RD-37, aktywnego agonisty AR. Pomimo doskonałych właściwości wiążących AR i efektu agonistycznego RD-37 nie został wybrany do dalszych badań. Powodem był fakt iż RD-37 jest związkiem wysoce niepolarnym i hydrofobowym, co powoduje niewystarczający profil farmakokinetyczny w badaniach *in vivo*. Dalsze badania, które przeprowadzono w kierunku optymalizacji profilu farmakokinetycznego doprowadziły do opracowania RD-162 [22] (Rys. 6).



Rysunek 6. Struktura RD-37 i RD-162
 Figure 6. Structure of RD-37 and RD-162

Zwieńczeniem prac Junga nad opracowaniem nowego antagonisty AR była umowa podpisana w 2008 roku przez Uniwersytet Kalifornijski, dająca prawa do dalszych badań klinicznych i możliwość komercjalizacji firmom Medivation i Astellas Pharma. RD-162, znany w studiach klinicznych jako MDV3100 został zatwierdzony jako oficjalny lek w 2012 pod nazwą enzalutamid (Xtandi®). Xtandi® bardzo szybko potwierdził swoją przydatność w leczeniu raka prostaty w stadium niezależnym od hormonów, stając się jednym z najlepiej sprzedających się leków.

UWAGI KOŃCOWE

Mój Tata zawsze mówił: "Jakbym mógł wybrać albo mieć szczęście, albo być mądrym, wybrałbym mieć szczęście...". Jak widać w przedstawionych przykładach, posiadanie szczęścia jest tylko jednym z czynników potrzebnych do osiągnięcia sukcesu, nawet w takiej dziedzinie jak chemia.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] G.M. Cragg, *Med. Res. Rev.*, 1998, **18**, 315.
- [2] M. Suffness, *In Vivo*, 1994, **8**, 867.
- [3] V. Walsh, J. Goodman, *Med. Anthropol.*, 2002, **21**, 307.
- [4] R.A. Holton, C. Somoza, H.B. Kim, F. Liang, R.J. Biediger, P.D. Boatman, M. Shindo, C.C. Smith, S. Kim, H. Nadizadeh, Y. Suzuki, C. Tao, P. Vu, S. Tang, P. Zhang, K.K. Murthi, L.N. Gentile, J.H. Liu, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116(4)**, 1597.
- [5] R.A. Holton, H.B. Kim, C. Somoza, F. Liang, R.J. Biediger, P.D. Boatman, M. Shindo, C.C. Smith, S. Kim, H. Nadizadeh, Y. Suzuki, C. Tao, P. Vu, S. Tang, P. Zhang, K.K. Murthi, L.N. Gentile, J.H. Liu, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116(4)**, 1599.
- [6] K.C. Nicolaou, Z. Yang, J.J. Liu, H. Ueno, P.G. Nantermet, R.K. Guy, C.F. Claiborne, J. Renaud, *Nature*, 1994, **367(6464)**, 630.
- [7] H. Gersmann, J. Aldred, *The Guardian*. 16 February 2017.
- [8] R.A. Holton. *Eur. Pat. Appl. EP 400,971*, 1990, *Chem. Abstr.*, 1990, 114.
- [9] R. Bharadwaj, H. Yu, *Oncogene*, 2004, **23(11)**, 2016.
- [10] D.A. Brito, Z. Yang, C.L. Rieder, *J. Cell Biol.*, 2008, **182(4)**, 623.
- [11] M.A. Jordan, L. Wilson, *Nat. Rev. Cancer*, 2004, **4(4)**, 253.
- [12] A. Ganguly, H. Yang, F. Cabral, *Mol. Cancer Ther.*, 2010, **9(11)**, 2914.
- [13] J. Lowe, H. Li, K.H. Downing, E. Nogales, *J. Mol. Biol.*, 2001, **313(5)**, 1045.
- [14] H. Gelderblom, *Eur. J. Cancer*, 2001, **37(13)**, 1590.
- [15] J.W. Nichols, Y.H. Bae, *J. Control. Release*, 2014, **190**, 451.
- [16] F. Danhier, *J. Control. Release*, 2016, **244(Pt A)**, 108.
- [17] R.D. Minshall, Ch. Tirupathi, S.M. Vogel, W.D. Niles, A. Gilchrist, H.E. Hamm, A.B. Malika, *J. Cell Biol.*, 2000, **150(5)**, 1057.
- [18] D.A. Yardley, *J. Control. Release*, 2013, **170(3)**, 365.
- [19] K. Fujita, N. Nonomura, *World J. Mens Health*, 2019, **37(3)**, 288.
- [20] A. Urbanucci, B. Sahu, J. Seppälä, A. Larjo, L.M. Latonen, K.K. Waltering, T.L. Tammela, R.L. Vessella, H. Lähdesmäki, O.A. Jänne, T. Visakorpi, *Oncogene*, 2012, **31(17)**, 2153.
- [21] G. Teutsch, F. Goubet, T. Battmann, A. Bonfils, F. Bouchoux, E. Cerede, D. Gofflo, M. Gaillard-Kelly, D. Philibert, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1994, **48(1)**, 111.
- [22] C. Tran, S. Ouk, N.J. Clegg, Y. Chen, P.A. Watson, V. Arora, J. Wongvipat, P.M. Smith-Jones, D. Yoo, A. Kwon, T. Wasielewska, D. Welsbie, C.D. Chen, C.S. Higano, T.M. Beer, D.T. Hung, H.I. Scher, M.E. Jung, C.L. Sawyers, *Science*, 2009, **324(5928)**, 787.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 lutego 2020 r.