

ФАРМАЦИЯ PHARMACIA

Том/Volume LV

2008

Книжка/Number 1-4

СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО ФАРМАЦИЯ

Главен редактор: Ст. Николов

Секретар: Ал. Златков

Редакционна колегия:

Зл. Димитрова, Св. Богданова, И. Иванов, Г. Китанов, И. Йонкова, Н. Данчев, Г. Петрова,
Д. Обрешкова, Ст. Титева, И. Костадинова, Ф. Клерфьой, Е. Х. Хансен,
М. Шефер, Р. Грьонинг, Л. Пистели, М. Унзета

JOURNAL OF THE BULGARIAN PHARMACEUTICAL SCIENTIFIC SOCIETY

Editor in Chief: St. Nikolov

Assistant Editor: Al. Zlatkov

Editorial Board:

Zl. Dimitrova, Sv. Bogdanova, I. Ivanov, G. Kitanov, I. Jonkova, N. Danchev, G. Petrova, D. Obreshkova,
St. Titeva, I. Kostadinova, F. Clerfeuille, E. H. Hansen, M. Schaefer,
R. Gröning, L. Pistelli, M. Unzeta

Адрес на редакцията

Фармацевтичен факултет
ул. "Дунав" 2, София 1000
Факс (02) 987 987 4

Гл. редактор: ☎ (02) 987 987 4
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

Address of Editorial Board

Faculty of Pharmacy
2, Dunav str., Sofia 1000
Fax (02) 987 987 4

Editor in Chief: ☎ (+359 2) 987 987 4
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

Оригинални статии

<i>Трайков, А. Бижев и Д. Янева.</i> Понататъшни изпитания на новосинтезирани противовъзпалителни пиролови производни: ROS образуване в липозомна моделна система <i>in vitro</i>	3
<i>Ив. Пенчева, Д. Обрешкова и Д. Цветкова.</i> Аналитично изследване на синтетичния пиретроид флуметрин – УВ спектрофотометрично и ВЕТХ определяне във ветеринарни лекарства.....	7
<i>В. Бърдаров, Т. Зиколова, Н. Радоевска и А. Сахтура.</i> Количествен анализ на Piracetam и Cinnarizine в комбинирана лекарствена форма.....	14
<i>И. Йонкова, И. Антонова и Г. Момаков.</i> Арилтетралинови лигнани от <i>in vitro</i> култури на <i>Linum elegans</i> и тяхната цитотоксична активност.....	18
<i>И. Йонкова, Ст. Нинов, И. Антонова, Д. Моянкова, Т. Георгиев и Д. Джелянов.</i> DPPH радикал-свързваща активност на <i>in vitro</i> регенерирани растения <i>Haberlea rhodopensis</i> friv. Plants.....	22
<i>К. Йончева и Х. М. Ираче.</i> Колориметрично определяне на муцинови дисперсии и приложение на метода за оценка на биоадхезивните свойства на пегилирани наночастици.....	26
<i>Е. Джамбазова, Х. Ночева и А. Бочева.</i> Аналгетични ефекти на някои новосинтезирани аналози на но-цицептин при плъхове.....	30
<i>М. Кондева-Бурдина, С. Денева и М. Мичева.</i> Промени в активността на някои лекарствометаболизиращи ензимни системи и количеството на цитохром P450 след многократно прилагане на Fluoxetine при плъхове.....	34

Обзори

<i>М. Караиванова, Г. Момаков и А. Костовски.</i> Ангиогенеза и насоки за създаване на антиангиогенни лекарства.....	38
<i>И. Динева и С. Константинов.</i> Новости в лекарственото лечение на карцином на млечната жлеза.....	45
<i>К. Тодорова, Зл. Димитрова, М. Стефанова и С. Захариева.</i> Фармакоикономически анализ на лечението на захарния диабет през бременността.....	56
<i>Д. Димитров, Е. Милев, М. Георгиева и Ст. Георгиев.</i> Българската народна медицина.....	61

Информационен отдел	67
----------------------------------	----

CONTENTS

Original articles

<i>L. Traikov, A. Bijev and D. Yaneva.</i> Further evaluation of newly synthesized anti-inflammatory pyrrole derivatives: ROS formation in liposome model system <i>in vitro</i>	3
<i>Iv. Pencheva, D. Obreshkova and D. Tsvetkova.</i> Analytical study of synthetic pyrethroid flumethrin – UV-spectrophotometric and HPLC determination in veterinary drugs.....	7
<i>V. Bardarov, T. Zikolova, N. Radoevska and A. Sahtura.</i> Quantitation of piracetam and cinnarizine in a combined medicinal product.....	14
<i>I. Ionkova, I. Antonova and G. Momekov.</i> Aryltetralin lignans from <i>in vitro</i> cultures of <i>Linum elegans</i> and their cytotoxic activity.....	18
<i>I. Ionkova, St. Ninov, I. Antonova, D. Moyankova, T. Georgieva and D. Djilianov.</i> DPPH radical scavenging activity of <i>in vitro</i> regenerated haberlea rhodopensis Friv. Plants.....	22
<i>K. Yoncheva and J. M. Irache.</i> Colorimetric determination of mucin dispersions and its application for bioadhesive evaluation of pegylated nanoparticles.....	26
<i>E. Dzhambazova, H. Nocheva and A. Bocheva.</i> Analgesic effects of some newly synthesized nociceptin analogues in rats.....	30
<i>M. Kondeva-Burdina, S. Deneva And M. Mitcheva.</i> Changes in the activity of some drug metabolizing enzyme systems and cytochrome P450 quantity after multiple Fluoxetine administration in rats.....	34

Reviews

<i>M. Karaivanova, G. Momekov and A. Kostovsky.</i> Angiogenesis and trends for discovery of antiangiogenic drugs.....	38
<i>I. Dineva and S. Konstantinov.</i> Advances in the drug therapy of breast cancer.....	45
<i>K. Todorova, Zl. Dimitrova, M. Stefanova and S. Zaharieva.</i> Pharmacoeconomical analysis of diabetes treatment during pregnancy.....	56
<i>D. Dimitrov, E. Milev, M. Georgieva and St. Georgiev.</i> Bulgarian traditional medicine.....	61

Informasion section	70
----------------------------------	----

ФАРМАЦИЯ 1-4/2008

ISSN 0428-0296

УДК 615

Организационен секретар и стилев редактор *Св. Цветанова*
Корекция *Св. Цветанова*
Терминологичен и семантичен контрол *д-р Б. Станчева*
Форматиране *О. Маркова*

Подписана за печат на 25.03.2009 г.
Печатни коли 9, формат 60 x 90/8

Централна медицинска библиотека
1431 София, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, тел. 952-16-45, Fax: 851 82 65
e-mail: svetlamu@mail.bg

АНГИОГЕНЕЗА И НАСОКИ ЗА СЪЗДАВАНЕ НА АНТИАНГИОГЕННИ ЛЕКАРСТВА

М. Караиванова, Г. Момеков и А. Костовски

Катедра по фармакология и токсикология, Фармацевтичен факултет,
Медицински университет – София

Резюме. Разкритието, че туморният растеж и прогресия са зависими от ангиогенезата, създаде основата за провеждане на активни молекулярно-биологични проучвания върху неоваскуларизацията и насоките за инхибиране на този процес. В обзора са описани ангиогенните фактори като съдовоендотелния фактор, цитокини и други протеинови молекули, които могат да бъдат мишена за въздействие. Проследени са стратегиите за създаване на антиангиогенни лекарства. Разгледани са клинично прилаганите или изучаваните лекарства с антиангиогенен ефект. Описани са технологичните подходи за приложение на тези лекарства. Обзорът се фокусира върху тумор-индуцираната ангиогенеза и очертава насоките за политаргетната стратегия при лечението на солидните тумори чрез съчетаването на цитостатици с антиангиогенни лекарства.

Ключови думи: ангиогенеза, рак, антиангиогенни лекарства

ANGIOGENESIS AND TRENDS FOR DISCOVERY OF ANTIANGIOGENIC DRUGS

M. Karaivanova, G. Momekov and A. Kostovsky

Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Sofia

Summary. The discovery that both tumor growth and metastatic spread rely on the angiogenesis created a basis for the understanding of the biology of neovascularization and urged the evaluation of possible approaches for inhibition of this process. In this review, the pro-angiogenic factors e.g. vascular endothelial growth factor, some cytokines and other expressed protein molecules, are described as targets for drug inhibition. The strategies for discovery of antiangiogenic drugs are presented in detail, as well. A brief overview provides information regarding the most important clinically evaluated drugs and the corresponding delivery systems as an important consideration describing the present experience from experimental studies and current clinical trials. This review is focused upon angiogenesis in solid tumors and trends for polytargeted strategy utilizing combinations of cytostatics and antiangiogenic drugs.

Key words: angiogenesis, cancer, antiangiogenic drugs

Направлението за създаване на антиангиогенни лекарства придоби особена актуалност през последните години във връзка с първите терапевтични успехи при лечението на напреднали карциноми с Avastin и с аналози на Thalidomide като инхибитори на ангиогенезата. Тези лекарства днес се възприемат като важен компонент на комбинираната химиотерапия при някои солидни тумори и могат да реализират профилактика и лечение на туморните метастази. Такъв подход се прилага още в офталмологията при процеси, протичащи с неоваскуларизация на очните тъкани – възрастова макулна дегенерация (ARMD) и диабетна ретинопатия, както и при лечението на детски хемангиоми с IFN- α .

Ангиогенеза и ангиогенни фактори

Ангиогенезата е образуване на нови кръвоносни съдове от съществуващи чрез пролиферация и миграция на съдовоендотелните клетки (EC). Тази сложна морфогенеза протича при условията на координирана миграция на ендотелните клетки, перицитите и стромалните фибробласти. Регулира се прецизно от взаимодействието между клетките, извънклетъчните матрикс-компоненти и при участието на ангиогенни и антиангиогенни фактори и техните специфични рецептори. Нарушената съдова пролиферация се проявява като хиперпролиферация на кръвоносните съдове при т.нар. ангиогенни болести

(хемангиоми, туморна ангиогенеза, диабетна ретинопатия, артрити, псориазис, атеросклероза и др.) или като липса на способност за ангиогенен отговор (напр. при лошо заздравяване на хроничните стомашни язви). Ангиогенезата възниква поради активиране на протеини със стимулиращо влияние върху рецепторите за съдово-ендотелните растежни фактори (VEGF) [6]. Установено е, че протеин киназата Akt и азотният оксид (NO) имат ключово значение за ремоделирането на кръвоносните съдове и за образуването на нови микросъдове и артерии в условията на стрес. При хипоксия компенсаторният механизъм за отстраняване на тъканната исхемия е неоангиогенезата. В редица изследвания е показано, че NO стимулира VEGF с последващ ангиогенен ефект [9]. Механизмите не са напълно изяснени, но е показано, че NO стимулира пролиферацията и миграцията на ендотелните клетки и е необходим компонент за активиране на VEGF сигналните пътища. Оттук произтича стратегията за терапевтична ангиогенеза при сърдечно-съдовите болести, протичащи с хипоксия и исхемично увреждане на клетките [14].

През последните години са открити редица биомолекули с ангиогенна активност (табл. 1). Това са растежни фактори, цитокини, тимозини, протеинови фрагменти от извънклетъчния матрикс и други. Приема се, че VEGF е основният ангиогенен фактор. VEGF регулира пролиферацията и диференциацията на ЕС, продукцията на вазоактивни молекули, пермеабилитета и съдовия тонус. Неговото стимулиращо влияние върху VEGF рецепторите е последвано от активиране на MAPK каскадата, генната експресия, клетъчната пролиферация и ангиогенезата. Експресията на VEGF корелира с туморната прогресия. Други важни митогени и химиоатрактанти са тромбоцитотделяните растежни фактори (PDGFs), фибробластните растежни фактори (FGFs), епидермалният растежен фактор (EGF) и други, които участват при васкуларизацията на тъканите. Редица цитокини също така способстват за ангиогенезата. Интегрините пък медиират клетъчната адхезия и обратното – те са отговорни за миграцията, виталността и пролиферативната активност на метастатичните клетки.

На базата на тези фундаментални разкрития са изградени стратегиите за създаване на антиангиогенни лекарства (табл. 2), а именно чрез инхибирането на ендотелната пролиферация, на про-

дуцирането на ангиогенни фактори и ко-фактори, чрез блокирането на рецепторите и сигналните пътища или елиминирането на ЕС чрез апоптоза или некроза.

Таблица 1. Ангиогенни фактори

Вид	Ендогенни стимулатори/модулатори
Растежни фактори	VEGF EGF, FGF, PDGF-BB, G-CSF Hepatocyte Growth Factor Angiogenin, Angiotropin
Протеазни ензими	Cathepsin Gelatinase A, B; Stromelysin Urokinase-type Plasminogen Activator (uPA)
Микроелементи	Cu
Онкогени	c-myc, ras, c-src, v-raf, c-jun
Ензими на вътреклетъчните сигнални трансдукционни пътища	Thymidine phosphorylase Farnesyl transferase Geranylgeranyl transferase
Цитокини	IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α
Ендогенни модулатори – не са директни ендотелни митогени, но способстват опосредствано за васкуларизацията	Alpha-v-Beta3 Integrin, Angiopoietin-1 Angiostatin (AT1 receptor) Endothelin (ETB receptor) Erythropoietin, Thrombopoietin Nitric oxide synthase (eNOS) Platelet-activating Factor (PAF)

Днес все още няма единен методичен подход за оценка на функцията на ангиогенните растежни регулатори и респективно за сравнителна оценка на ефекта на ангиогенните инхибитори. Все още остава неуспешен опитът за създаване на дълготрайни култури на съдовоендотелните клетки. Прилагат се различни методи, с които може да се оцени влиянието на ангиогенните инхибитори върху различните стадии на ангиогенезата. Използват се *in vivo* модели на очна неоваскуларизация, морфологични методи за оценка на плътността на микросъдовете (MVD) в тумора, подкожна Matrigel оценка и напоследък *in vitro* култивирани ембрионални клетки от умбиликална вена (HUVEC) и други клетъчни култури [16, 17]. Развитието на тези и други методи за оценка на антиангиогенния ефект ще позволи разкриването на нови стимулатори и инхибитори на ангиогенезата, както и изграждането на моделна оценъчна система за сравняване на ефектите на структурно и видово различните антиангиогенни средства.

Инхибитори на тумор-индуцираната ангиогенеза

За първи път J. Folkman още през 1971 г. изказва хипотезата, че растежът на туморите зависи от ангиогенезата [5]. Вече е изяснено, че повечето солидни тумори експресират биомаркери на съдовоендотелните клетки, които причиняват васкуларизация на тумора [6]. В други проучвания е доказана експресията на ангиогенни фактори при левкемичните клетки, което предполага тезата, че тези клетки възникват в условията на неоангиогенеза, преди да постъпят в периферната кръв. Предполага се, че неоваскуларизираните тумори имат поведението на “тихи” туморни възли *in situ*, чиито обем се поддържа постоянен поради баланса между пролиферация и апоптоза. Установено е, че в процеса на туморно развитие се формира субпопулация от клетки, които придобиват ангиогенен фенотип. Капилярните ендотелни клетки започват да пролиферират бързо, аналогично на костномозъчните клетки. Така се инициира неоваскуларизация, осигуряваща по-нататъшния растеж на туморите до клинично определима туморна маса [7].

Посочените разкрития изграждат нов подход за терапевтично инхибиране на ангиогенезата с помощта на таргет-ориентирани лекарства (табл. 2 и 3). Описани са различни видове инхибитори на ангиогенезата: 1) синтетични инхибитори – пептиди или антитела, които могат да интерферират с различните етапи на ангиогенния процес [20]; инхибитори на металопроотеинази или инхибитори на VEGF и други ангиогенни промотори; 2) нискомолекулни съединения – талидомид, ангиостатични стероиди, ендогенни (натурални) протеини (цитокени, тромбоцитен фактор-4, тромбоспондин-1, ангиостатин и ендостатин и др.), които предотвратяват ангиогенния отговор на ЕС [23].

Клинично прилагани лекарства с антиангиогенен ефект

Молекулярнобиологичните проучвания при туморни клетки са доказали соматични мутации и геномна нестабилност и нарушаване на вътреклетъчната сигнална трансдукция. Фенотипната последователност на тези промени включва свръхекспресия на рецепторите за растежни фактори (GFR), активиране на сигналните пътища (напр. на киназните ензими) и активиране на

самите растежни фактори (VEGF и др.). Тези фундаментални открития поставиха началото на дизайн на таргет-ориентирани лекарства, които повлияват специфично експресирани биомолекули. С това се промени класическата монотаргетна стратегия за лечение на туморите само с цитостатици, увреждащи ДНК. Политаргетната стратегия предполага съчетаване на цитостатиците с лекарства модулатори, коригиращи специфично дефектната функция на протеините [7]. В това направление са постигнати първите терапевтични успехи с антагонисти на рецепторите за инсулин-растежните фактори (IGF-1R). Анти-HER2 антитялото **Herceptin** (Trastuzumab) успешно се използва за лечение на метастазирани карциноми на млечната жлеза [3]. **Avastin** е първото анти-VEGF антитяло, което инактивира VEGF и по този механизъм пречи на растежните фактори да стимулират рецепторите VEGFR1 и VEGFR2 [10]. Постига се инхибиране на ангиогенезата и на растежа на тумора. Клинично е преценена висока ефективност при туморите на белия дроб, млечната жлеза, простатата, дебелото черво и бъбреците.

Определен интерес представляват **киназните инхибитори на EGFR**, които се свързват с киназния домен и модулират функцията на тези рецептори [11]. Изучени са 4-фениламинохиназолинови деривати като компетитивни инхибитори на EGFR, някои от които са в стадий на клинично изпитване. Първият утвърден лекарствен продукт от тази група е **Gefitinib** (Iressa/ZD1839). Установен е синергизъм с цитостатиците Doxorubicine, Etoposide и Cisplatin и се прилага за лечение на недребноклетъчни белодробни карциноми в комбинация с Carboplatin/Docetaxel или Cisplatin/Gemcitabine. Друг пример за орално активен инхибитор на EGFR е **Erlotinib** (TarcevaTM), който инхибира PK/Akt сигналния път и се прилага за лечение на солидни тумори в комбинация с Cisplatin.

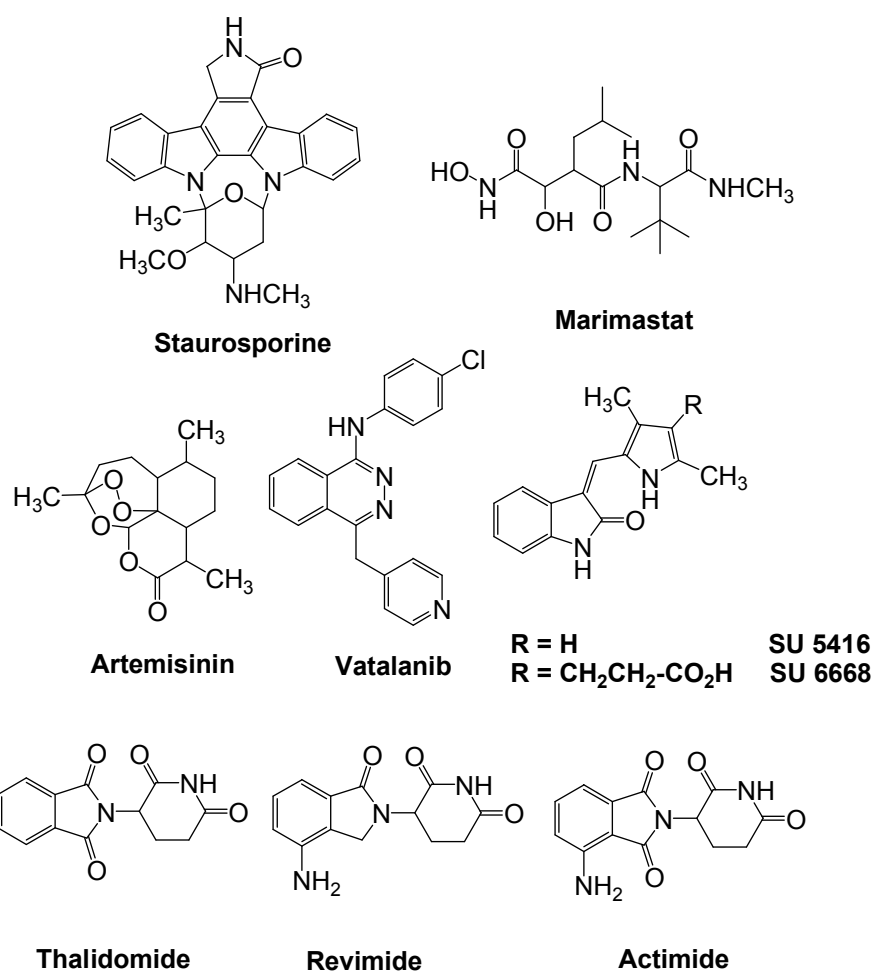
Киназни инхибитори на VEGFR се разработват от фармацевтичната компания SUGEN (SU-5416/Semaxanib, SU-6668/SUGEN и SU-11248) и са във II фаза на клинично изпитване. Vatalanib/Novartis е първият пример на инхибитор от групата на фталазините, който инхибира VEGFR-1 и VEGFR-2 и се проучва във фаза II/III самостоятелно и в комбинация с цитостатици (фиг. 1).

Таблица 2. Стратегии за антиангиогенна терапия

Терапевтичен подход	Примери на лекарства/ендогенни инхибитори
Инхибиране на пролиферацията на ендотелните клетки (EC) – антипролиферативен ефект върху ангиогенните ендотелни клетки; респ. инхибиране на ендотелната миграция	TGFβ, IFN, Suramin; Paclitaxel; AGM1470; Hyaluronic acid; Angiostatin и Endostatin (фрагменти съотв. на плазминоген и колаген тип XVIII) Herbimycin A (бензохиноиден анзамицин)
Инхибиране на отделянето на ангиогенни фактори от EC (1); на ангиогенните цитокини (2) и на ко-факторите на ангиогенезата (3)	(1) Heparin и малки фрагменти; Protamine (аргинин-съдържащ катионен протеин) Suramin, Platelet factor-4; (2) Cyclosporin; Cortison + Heparin; (3) D-penicillamine, златни соли
Блокиране на взаимодействието между ангиогенните фактори и техните рецептори (антагонисти)	Антитела на VEGF и др. ангиогенни фактори; VEGF-R-химерни протеини
Инхибиране на вътреклетъчните сигнални трансдукционни пътища	Протеинкиназни инхибитори: Eronemycin, Staurosporine, Erbstatin
Инхибиране на клетъчната адхезия и капилярната морфогенеза	Антитела срещу интегрини, E-селектин, витронектин- и фибронектин-рецепторите; Thrombospondin (TSP-1 като ендегенен модулатор на адхезията и инхибитор на пролиферацията и миграцията на EC)
Индуциране на апоптоза на EC	Антитела срещу αvβ интегрин; Ретиноиди и аналози на вит. D3 (индуцират клет. диференциация)
Директно елиминиране на пролифериращите EC	Имунотоксини; CM101; bFGF-toxin conjugate
Взаимодействие с компоненти на матрикса	Minocycline; инхибитори на металопротеази и на плазминоген активатор; ангиостатични стероиди

Таблица 3. Инхибитори на ангиогенезата в стадий на клинично изпитване

Лекарство	Основен механизъм	Заболяване
Batimastat	Инхибира металопротеази	Напреднали карциноми с асцит
Marimastat	Инхибира металопротеази	Напреднали солидни тумори
IL-12 IFNα	Активира антиангиогенния протеин IP-10 Инхибира продукцията на bFGF, VEGF	Бъбречен карцином Фаза II/III
Suramin	Свързва се с различни растежни фактори, мембранни протеини и вътреклетъчни ензими	Карцином на простатата глиобластом фаза II
Platelet factor-4	Инхибира пролиферацията на EC, инхибира активността на VEGF	Сарком на Капоши, карциноми на бъбрека и дебелото черво, меланом
Thalidomide и аналози (Revimid и Actimid)	Блокират активността на ангиогенни растежни фактори – bFGF, VEGF, TNFα	Сарком на Капоши, карциноми на белия дроб, млечната жлеза, простатата, глиобластом
SU5416 SU6668	Блокират сигналните пътища на рецепторите на VEGF и/или bFGF, PDGF	Сарком на Капоши, напреднали солидни тумори
Penicillamine	Инхибира урокиназата; блокира пролиферацията и миграцията на EC	Глиобластом
Bevacizumab (Avastin)	Anti-VEGF антитяло – блокира взаимодействието на растежните фактори с рецепторите VEGFR1 и VEGFR2	Метастатичен карцином на дебелото черво (+ FU), бъбречен карцином и недребноклетъчен карцином на белия дроб (+ цитостатици)
Vitaxin	Инхибира Alpha-v-beta3 integrin на EC, инхибира металопротеази	Фаза II при лейомиосарком



Фиг. 1. Химична структура на антиангиогенни лекарства

Киназните инхибитори на c-kit протеините Imatinib (прилаган успешно за лечение на CML) и Midostaurin са показани за лечение на гастроинтестинални тумори, които експресират c-kit [2, 13].

Независимо от трагичната история с **Thalidomide** във връзка с неговия тератогенен ефект, днес той се утвърждава като лидерна структура за създаване на антиангиогенни лекарства (фиг. 1) [1, 8].

Получени са важни данни за механизма на действие на Thalidomide. Той инхибира цитокините TNF- α , IL-6 и ядрения фактор NF- κ B; има модулиращо влияние върху клетъчноадхезионните молекули; инхибира VEGF. Чрез тези механизми постига противотуморен, антиангиогенен и противометастатичен ефект. Аналози на талидомида се прилагат успешно за лечение на сарком на Капоши, глиобластом, напреднали карциноми на простатата, белия дроб и млечната жлеза. Постигнати са добри терапевтични резултати при авансирал недребноклетъчен карцином на белия дроб и при напреднал колоректален карцином в комбинация с 5-FU. Thalidomide е преми-

нал III клинична фаза при мултиплен миелом и андроген-независимите простатни карциноми.

В литературата са описани данни за антиангиогенен ефект на някои цитостатици. От тях таксаните Paclitaxel и Docetaxel (митотични инхибитори), както и Bleomycin, имат ангиогенен ефект в ниски концентрации, при които не се отчита антипролиферативен ефект [18]. Има данни, сочещи за наличие на антиангиогенни свойства на Captopril във връзка с координирането на Cu йони, инхибиране на металопротеази, в допълнение към неговите инхибиращи ефекти върху ACE. Има данни за антиангиогенен ефект на Cimetidine и Roxatidine [22]. Описани са данни за антиангиогенен и антипролиферативен ефект на антималярийното лекарство Artemisinin (фиг. 1) и негови деривати, доказани върху HUVEC клетки [4].

Особено перспективни се очертават изследванията върху аномалните Notch протеини, разкрити като биомаркер при някои левкемии (T-ALL) и при повече от 60% от солидните тумори (млечна жлеза, простата, мозъчни тумори). До-

казано е, че тези протеини регулират клетъчната диференциация, пролиферация и апоптоза и са дефектни при туморите. Установено е, че активирването на Notch-1 сигналните пътища води до неопластичен фенотип при човешките Ras-трансформирани клетки [24]. Днес **секретазните инхибитори** се утвърждават като перспективни антиангиогенни лекарства за терапия на мозъчни и други солидни тумори [19].

Лекарствени системи

Антиангиогенните лекарства са предназначени за приложение с класически и най-често неконвенционални методи (табл. 4).

Неизяснени обаче остават редица въпроси, свързани с намирането на ендотел-специфични и органоспецифични маркери и стратегии за лекарствено освобождаване, с които може да се постигне по-голяма селективност и ефикасност. Има технически трудности при култивирането и трансфекцията на първичните ЕС. Създаването на нови натурални и рекомбинантни полипептиди и други лекарства-конюгати очертава важно място на фармацевтичната технология за приложение на антиангиогенните лекарства.

Перспективи

Анализът на литературните данни показва, че инхибиращо влияние върху ангиогенезата имат съединения с различна химична структура. Те се

различават по механизъм на действие, ориентирани са към различни биомолекули-мишени и ангиогенни фактори [15, 20, 21]. С това се обяснява многообразието на структури, повлияващи различни експресирани молекули и фактори на неоваскуларизацията, пролиферацията и миграцията на ендотелни клетки.

Отправна теза за лекарствена терапия днес е мисленето, че туморите се състоят от два клетъчни компартиментата – туморноклетъчен и ендотелноклетъчен [7, 12]. Мутациите и поликлоналната пролиферация на клетките променя техния фенотип и чувствителност към цитостатиците, докато ендотелните клетки остават с нормална пролиферация и без мутации. Това прави възможно продължителното използване на антиангиогенни лекарства в съчетание с различни цитостатици. Ангиогенните инхибитори, разкрити за целите на тумор-индуцираната ангиогенеза, се изследват за възможно приложение при очни болести, артрити и други ангиогенни заболявания. Все още обаче съществуват редица методични и диагностични трудности при разкриване на експресираните ангиогенни фактори или биомолекули. Проучванията върху ангиогенезата са нови и с изясняване на редица фундаментални и практически въпроси може да се постигне съществен прогрес при лечението на солидните тумори чрез прилагането на по-ефикасната политаргетна стратегия.

Таблица 4. Лекарствени системи на антиангиогенните средства (по данни на Н. Т. Zhang и съавт., 2001 [57])

Лекарства или конюгати на терапевтични средства	Начин на въвеждане/Начин на получаване. Ефект
Suramin; AGM1470 Anti-VEGF антитяло Anti-VEGF-R2 антитяло Integrin- $\alpha\beta$ антагонисти	Директно приложение (без специфичен вехикулум или таргетна молекула). Инхибират ангиогенезата и респ. потискат туморния растеж и/или туморната инвазия и метастази
Генно-получени фрагменти на антитела	Fab/scFv, конюгирани с имунотоксини, радиоизотопи или ензими
Химерни протеини	Фрагменти на ангиогенен фактор или рецептор, конюгирани с токсини или др. Напр. aFGF-PE = aFGF + мутантна форма на Pseudomonas exotoxin; VEGF-R + IgG. Инхибират ангиогенезата in vitro и in vivo
Таргетинг-пептиди	Конюгати с пептиди, които реализират освобождаване в мишената. Свързват се с ЕС по органоспецифичен начин
Генен трансфер	Използват се ендотел-специфични таргетинг-промотори
Клетъчен трансфер = трансдукция в ЕС с освобождаване на антиангиогенно лекарство	Напр. лимфокин-активирани килърни клетки (LAK) имат антиангиогенен ефект спрямо туморната васкулатура; или тумор-инфилтриращи лимфоцити (TILs)
Комбинация от тези методи + лекарство	Антитяло-ензимен конюгат + предлекарство

Библиография

1. Bartlett, J. et al. The evolution of thalidomide et its ImiD derivatives as anticancer agents. – *Nat. Rev. Cancer*, **4**, 2004, 314-322.
2. Buchdunger, E. et al. Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet derived growth factor receptors. – *J. Pharmacol. Exp. Therapy*, **295**, 2000, 139-145.
3. Burtrum, D. et al. A fully human monoclonal antibody to the insulin-like growth factor I receptor blocks ligand-dependent signalling and inhibits human tumor growth in vitro. – *Cancer Res.*, **63**, 2003, 8912-8921.
4. Chen, H. H., H. J. Zhou et X. Fang. Inhibition of human cancer cell line growth and human umbilical vein endothelial cell angiogenesis by artemisinin derivatives in vitro. – *Pharmacol. Res.*, **48**, 2003, 231-236.
5. Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. – *N. Engl. J. Med.*, **285**, 1971, 1182-1186.
6. Folkman, J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. – *Nat. Med.*, **1**, 1995, 27-31.
7. Folkman, J. Clinical application of research on angiogenesis. – In: *Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston* (Eds. J. S. Flier et L. H. Underhill), **333**, 2004, № 26, 1737-1765.
8. Franks, M. E., G. R. Macpherson et W. D. Figg. Thalidomide. – *Lancet*, **363**, 2004, № 9423, 1802-1811.
9. Fukumura, D. et al. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. – *Proc. Nat. Acad. Sci USA*, **98**, 2001, 2604-2609.
10. Hurwitz, H. Integrating the anti-VEGF-A humanized monoclonal antibody Bevacizumab with chemotherapy in advanced colorectal cancer. – *Clin. Colorectal Cancer*, **4**, Suppl. 2, 2004, 62-68.
11. Garcia-Echeverria, C. et D. Fabbro. Therapeutically targeted anticancer agents: inhibitors of receptor tyrosine kinases. – *Mini-Rev. Med. Chemistry*, **4**, 2004, 273-283.
12. Gasparini, G., R. Longo, M. Toi et N. Ferrara. Angiogenic inhibitors: a new therapeutic strategy in oncology. – *Nature*, **2**, 2005, № 11, 562-577.
13. Goldman, J. M. et B. J. Druker. Chronic myeloid leukemia: current treatment options. – *Blood*, **98**, 2001, 2039-2042.
14. Katusic, Z. S. Therapeutic angiogenesis. New indication for endothelial NO synthase gene transfer. – *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biology*, **22**, 2002, 1254-1255.
15. Kerbel, R. Antiangiogenic drugs and current strategies for the treatment of lung cancer. – *Semin. Oncol.*, **31**, 2004, № 1, Suppl. 1, 54-60.
16. Lee, O. et al. Sphingosine1-phosphate induces angiogenesis: its angiogenic action and signaling mechanism in human umbilical vein endothelial cells. – *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **264**, 1999, 743-750.
17. Mastuygin, V. et al. A quantitative high-throughput endothelial cell migration assay (review). – *J. Biomol. Screening*, **9**, 2004, № 8, 712-718.
18. Ng, S. S., W. D. Figg et A. Sparreboom. Taxane-mediated antiangiogenesis in vitro: influence of formulation vehicles and binding proteins. – *Cancer Res.*, **64**, 2004, № 3, 821-824.
19. Paris, D. et al. Inhibition of angiogenesis and tumor growth by β and α -secretase inhibitors. – *Eur. J. Pharmacol.*, **514**, 2005, 1-15.
20. Schreiber, S. L. Target-oriented and diversity-oriented organic synthesis in drug discovery. – *Science*, **287**, 2000, 1964-1969.
21. Thomas, A. et al. A phase B, open-label dose-escalating study of the oral angiogenesis inhibitor PTK787/ZK 222584 (PTK/ZK), in combination with FOLFOX4 chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. – *Ann. Oncology*, **18**, 2007, № 4, 782-788.
22. Tomita, K., K. Izumi et S. Okabe. Roxatidine- and Cimetidine-induced angiogenesis inhibition suppresses growth of colon cancer implants in syngeneic mice. – *J. Pharmacol. Sci.*, **93**, 2003, 321-330.
23. Underiner, T. L., B. Ruggeri et D.E. Gingrich. Development of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) kinase inhibitors as anti-angiogenic agents in cancer therapy. – *Curr. Med. Chemistry*, **11**, 2004, 731-745.
24. Weijzen, S. et al. Activation of Notch-1 signaling maintains the neoplastic phenotype in human ras-transformed cells. – *Nature Med.*, **8**, 2002, 9, 979-986.
25. Zhang, H. T. et R. Bicknell. Therapeutic inhibition of angiogenesis. In: *Angiogenesis protocols. From: Methods in Molecular Medicine*, Murray, J. C. (ed), Humana Press Inc., Totowa, N. J., **46**, 2001, 3-25.

Постъпила – 17.12.2008 г.

✉ Адрес за кореспонденция:

Проф. Маргарита Караиванова, дмн
Катедра по фармакология и токсикология
Фармацевтичен факултет
Медицински университет – София
ул. „Дунав“ № 2
1000 София, България

☎ +3592 9236 512

☎ +3592 9879 874

e-mail: m karaivanova2001@yahoo.com

✉ Address for correspondence:

Prof. Margarita Karaivanova, DSci
Department of Pharmacology and Toxicology
Faculty of Pharmacy
Medical University – Sofia
2 Dunav Str.
1000 Sofia, Bulgaria

☎ +3592 9236 512

☎ +3592 9879 874

e-mail: m karaivanova2001@yahoo.com