

# Najnovije spoznaje u istraživanju inhibitora aromataze

---

**Bojić, Mirza; Medić-Šarić, Marica**

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2009, 65, 557 - 565**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:316740>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



# Najnovije spoznaje u istraživanju inhibitora aromataze

MIRZA BOJIĆ, MARICA MEDIĆ-ŠARIĆ

Zavod za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta  
Sveučilišta u Zagrebu, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb

## UVOD

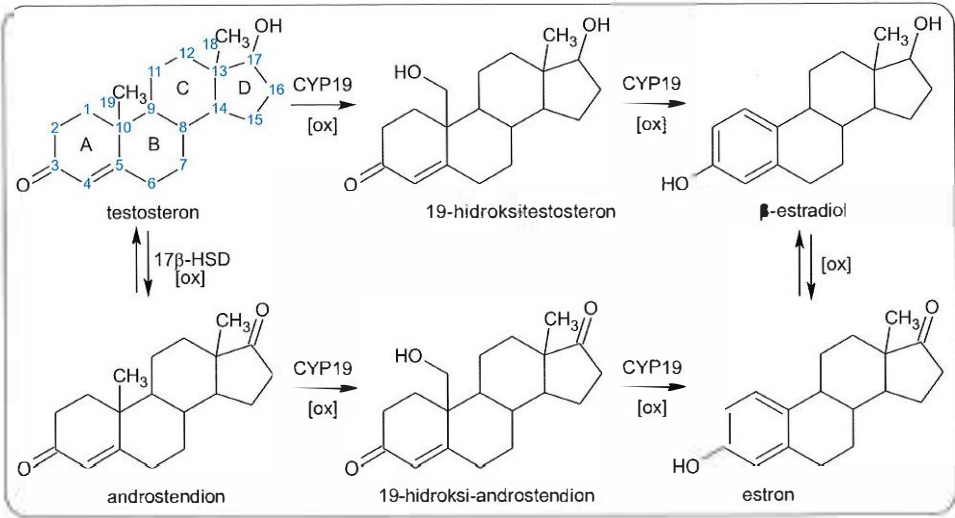
Davne 1929. godine Flemingovim otkrićem penicilina započela je era kemoterapije. S godinama je broj kemijskih agenasa koji se primjenjuju u eradikaciji patogena: bakterija, virusa, gljivica, protozoa, helminta i neoplazmi, eksponencijalno rastao. Usmjereno djelovanje zbog specifične građe prokariotske stanice (npr. stanična stjenka, ribosomi) posebice je bilo izraženo među antibioticima. Već s prelaskom na terapiju gljivicama (eukariotima) uzrokovanih infekcija, zbog nedostatne selektivnosti, broj nuspojava antifungalnih lijekova se povećavao. Prvi pristup u terapiji tumora obilježili su lijekovi s djelovanjem na stanice koje se brzo dijele. No, pogođene su bile i zdrave ljudske stanice s visokom frekvencijom diobe kao što su stanice epitela, kose i krvi. Otkrićem ciljanih makromolekulskih mjesta djelovanja kao što su receptori i enzimski sustavi omogućeno je specifično djelovanje lijekova, s minimalnim nuspojavama. Takvu uspješnicu predstavljaju aromataza i njezini inhibitori.

## Fiziologija: estrogeni i aromataza

Aromataza je enzim iz superporodice citokrom P450 enzima (CYP enzimi), jedini enzim koji katalizira aromatizaciju, pa odatle i nazivi CYP19 odnosno ARO. Aromataza sudjeluje u pretvorbi androgena u estrogene: androstendiona u estron, testosterona u 17- $\beta$ -estradiol, što je prikazano na slici 1. (1).

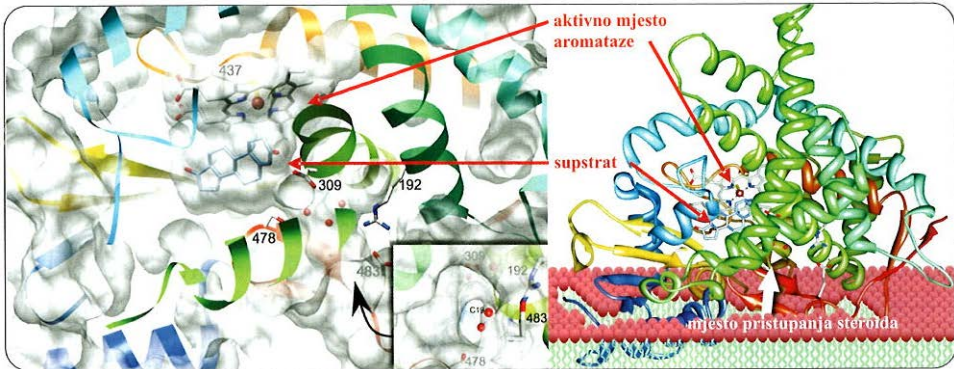
Za razliku od aromataze većina CYP enzima nije selektivna u odabiru supstrata. Specifičnosti pridonose građa i smještaj u endoplazmatskom retikulumu jer se veliki broj ksenobiotika, uključujući lijekove, metabolizira pomoću mikrosomalnih citokroma P450. Aromataza je polipeptid sačinjen od 503 aminokiseline (12 alfa heliksa i 10 beta ploča) na koji je vezana hemska skupina. Hidrofobne i polarne skupine peptidnog lanca komplementarno stupaju u interakcije sa strukturom androgena, vodikovim i van der Waalsovima vezama. Aktivno mjesto aromataze značajno je manje u odnosu na CPY3A4 i CYP2D6 (400 naspram 530 Å<sup>3</sup>) (2).

Specifičnost je posljedica smještaja, a smještaj je posljedica strukture. Ovaj enzim ima 7 cisteinskih ostataka podložnih oksidaciji, niz ostataka triptofana i arginina, koji zajedno



**Slika 1.** Aromataza katalizira hidroksilaciju metilne skupine na položaju C19, a potom aromatizaciju steroidnog prstena A (17β-HSD = 17β-hidroksisteroidna dehidrogenaza, ox = oksidacija).

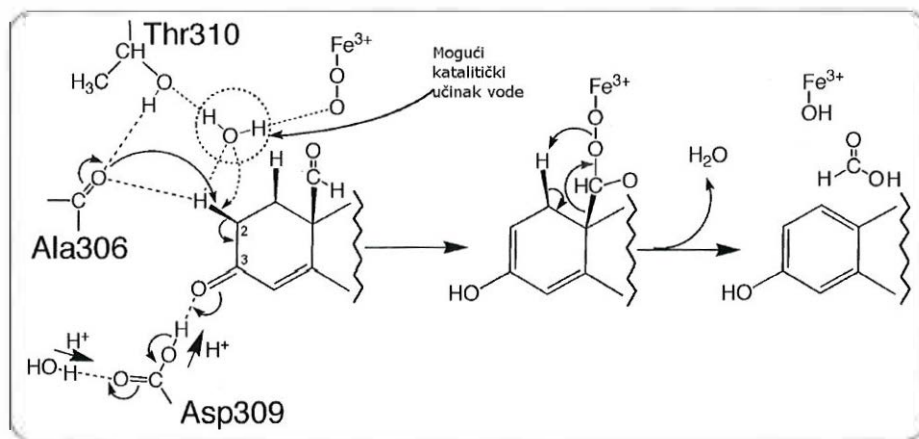
s hidrofobnim lancima najbolje odgovaraju membranski integriranom proteinu. Membrana endoplazmatskog retikuluma djeluje kao filtar: lipofilni steroidi prolaze kroz membranu i ulaze u specifični džep za steroide gdje se ispoljava katalitički učinak (slika 2.) (2).



**Slika 2.** Specifičnosti aromataze pridonose građa, smještaj i veličina mjesta vezanja supstrata. Preuzeto s dozvolom Macmillan Publishers Ltd: Nature (2), © 2009.

Aromatizacija ide u tri koraka. Prva dva koraka uključuju hidroksilaciju/oksidaciju na položaju C19 preko odgovarajućeg hidroksida pri čemu nastaje C19 aldehyd. Slijedi aromatizacija prema predloženom mehanizmu: nukleofilni napad preko Thr310 na vodik

(položaj C2) i elektrofilni napad Asp309 na keto skupinu na položaju C3. Thr310 djeluje dakle direktno kao nukleofil ili posredno preko Ala306. Nastaje 2,3-enol. Slijedi nukleofilni napad s Fe-peroksidom na C19 aldehid i izdvajanje mravlje kiseline čime je prsten A aromatiziran (slika 3.) (2).



**Slika 3.** Predloženi mehanizam djelovanja aromataze. Preuzeto s dozvolom Macmillan Publishers Ltd: Nature (2), © 2009.

### Patofiziologija: rak dojke

Estrogeni pridonose inicijaciji i propagaciji tumora dojke dvojako: karcinogeni učinak ispoljavaju hidroksilirani metaboliti estrogena, a vezanjem na receptore estrogena potiču se signalni putovi u stanicama uključujući i one koje aktivira epidermalni faktor rasta, prvenstveno mitogenu aktivnost fosfoinozimid-3-kinaze (3).

Dvije trećine tumora su pozitivni na hormonske receptore što znači da je kod njih ekspresija receptora estrogena i progesterona veća od statistički utvrđenih granica. Upravo na te tumore ima smisla djelovati selektivnim modulatorima receptora estrogena i inhibitorima aromataze.

Aromataza je primarno aktivna u jajnicima, ali je prisutna i u drugim tkivima (mišići, masno tkivo, jetra, dojke). S godinama produkcija u jajnicima opada, a periferna produkcija se povećava pri čemu se androgeni nadbubrežne žlijezde prevode u estrogene. Za perifernu produkciju je odgovorno kako zdravo, tako i tumorsko tkivo, pa su ciljana mjesta djelovanja intra-tumoralne i periferne aromataze.

Sve navedeno vodi do zaključka da je glavna indikacija inhibitora aromataze rak dojke žena u postmenopauzi pozitivan na receptore estrogena.

### Farmakoterapija: inhibitori aromataze i selektivni modulatori receptora estrogena

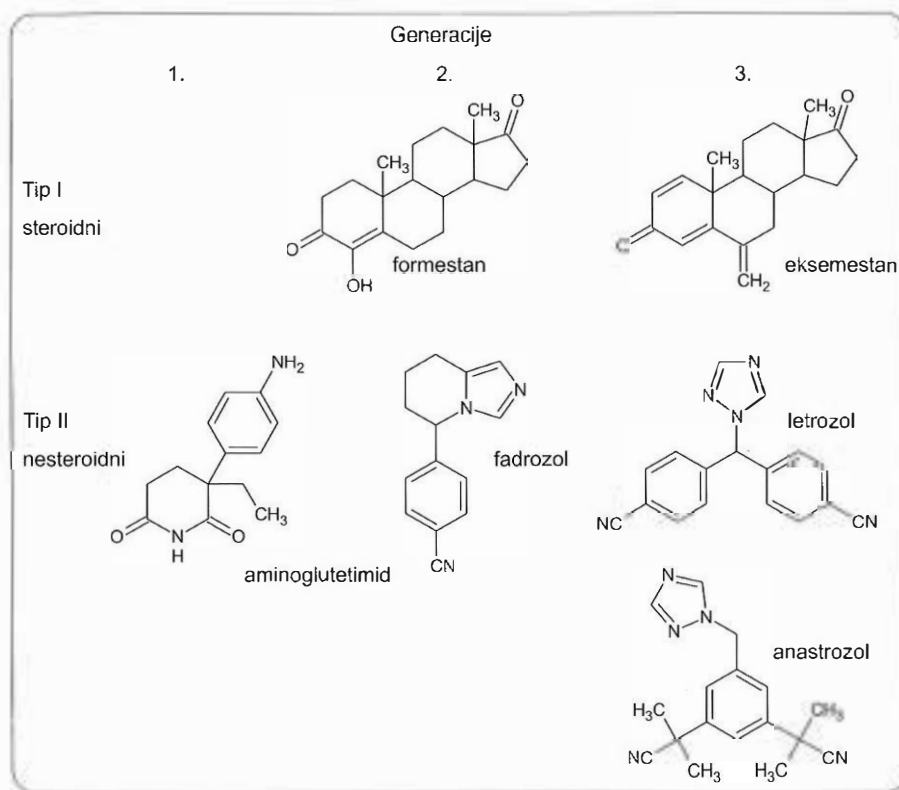
U terapiji raka dojke godinama se koristi tamoksifen (antagonist receptora estrogena) kao standard. S obzirom da učinak tamoksifena na pojedina tkiva nije uvijek antagonistički,

već i agonistički iz čega proizlaze i nuspojave, ova skupina lijekova naziva se selektivnim modulatorima receptora estrogena (SERM, prema engl. *selective estrogen receptor modulator*).

Klinička ispitivanja pokazuju da su inhibitori aromataze učinkovitiji od tamoksifena posebice u posljednjem stadiju bolesti (3).

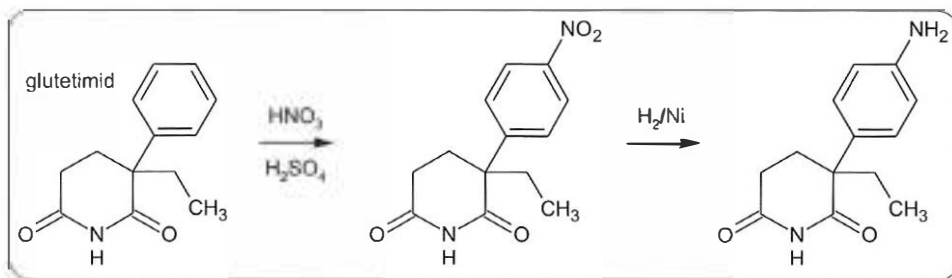
### Inhibitori aromataze (IA)

Inhibitore aromataze po kemijskoj strukturi dijelimo u dva tipa (tip I i tip II), a po pojavi na tržištu u tri generacije (1., 2. i 3. generacija). Tip I su steroidni analozi androstendiona: formestan i eksemestan, a tip II su svi ostali nesteroidni inhibitori aromataze, (slika 4.).



Slika 4. Generacijska i strukturalna podjela inhibitora aromataze.

Prvi predstavnik nesteroidnih inhibitora aromataze bio je aminoglutetimid, a pojavio se u istraživanju novih antikonvulziva. Sintetiziran je iz hipnotika glutetimida nitriranjem i redukcijom (slika 5.) te pripada prvoj generaciji inhibitora aromataze (4).



**Slika 5.** Sinteza aminoglutetimida.

Prva generacija inhibitora aromataze nema izraženu selektivnost, pa tako aminoglutetimid inhibira biosintezu kortizola, aldosterona i tiroidnih hormona, ali i inducira jetrene enzime.

Od niza sintetiziranih steroidnih inhibitora aromataze druge generacije zadržao se samo formestan. Drugu generaciju karakterizira visoka selektivnost no niska bioraspoloživost, a nuspojave su primarno vezane uz dozu. Klinički pokusi nisu pokazali bolje rezultate druge generacije od tamoksifena (5).

Slijedila je treća generacija najnovijih inhibitora aromataze derivata benzilazola od kojih su se anastrozol i letrozol pokazali kao najpotentniji i najspektivniji. O visokoj selektivnosti, bioraspoloživosti nakon oralne primjene i visokoj potentnosti treće generacije svjedoči i doziranje od jedanput dnevno u izrazito niskim miligramskim količinama.

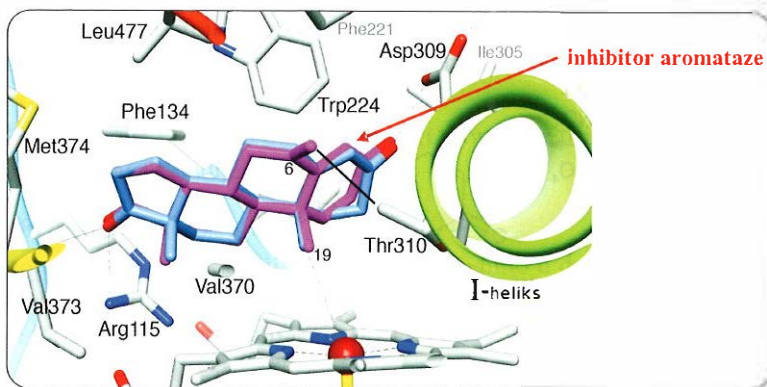
Inhibitori aromataze dostupni na hrvatskom tržištu su aminoglutetimid (Mamomit<sup>®</sup>, Pliva), letrozol (Femara<sup>®</sup>, Novartis), anastrozol (Arimidex<sup>®</sup>, AstraZeneca) i eksemestan (Aromasin<sup>®</sup>, Pfizer). S kliničkog aspekta anastrozol i letrozol nisu pokazali statistički značajnu razliku u učinkovitosti što sugerira postojanje maksimalne supresije aromataze (7–8).

### SAR inhibitora aromataze

Iako većina istraživanja pokazuje da se IA tipa I snažno vežu za enzim jer se njegovim katalitičkim djelovanjem prevode u reaktivne intermedijere koji se kovalentno vežu na enzim, posljednje istraživanje strukture aromataze sugerira da bi inhibicija mogla biti i drugog uzroka. Budući da je vezanje za enzim ireverzibilno može se govoriti o steroidnim inaktivatorima aromataze.

Tako je npr. dokazano da metilenska skupina na položaju C6 eksemestana stupa u hidrofobne interakcije s postraničnim lancima aminokiselina, uključujući i Thr310 koji je direktno ili indirektno odgovoran za katalitički učinak aromataze. Kako je smještaj u džepu time i energetski povoljan, ne dolazi ni do hidroksilacije, a time niti do aromatizacije eksemestana (slika 6.) (2).

Mehanizam djelovanja nesteroidnih inhibitora aromataze zasniva se na interakcijama željeza CYP-a s dušikom odnosno triazolnim prstenom u strukturi treće generacije inhibitora aromataze (slika 4.) (3).



**Slika 6.** Mehanizam djelovanja steroidnih inhibitora aromataze.  
Preuzeto s dozvolom Macmillan Publishers Ltd: Nature (2), © 2009.

### Indikacije i nuspojave

U nekim slučajevima inhibitori aromataze predstavljaju prvu liniju terapije uznapre dovalog ili lokalno uznapre dovalog raka dojke, a mogu se primjenjivati i kao druga linija nakon tamoksisfena, a i treća nakon tamoksifena i megestrol acetata. Terapija tamoksifenom usporava rast metastaza te produljuje preživljenje bolesnica. Djelotvoran je u preme nopauzalnih, perimenopauzalnih i postmenopauzalnih bolesnica, dok su inhibitori aromataze anastrozol, letrozol i eksemestan učinkoviti samo u postmenopauzalnih bolesnica.

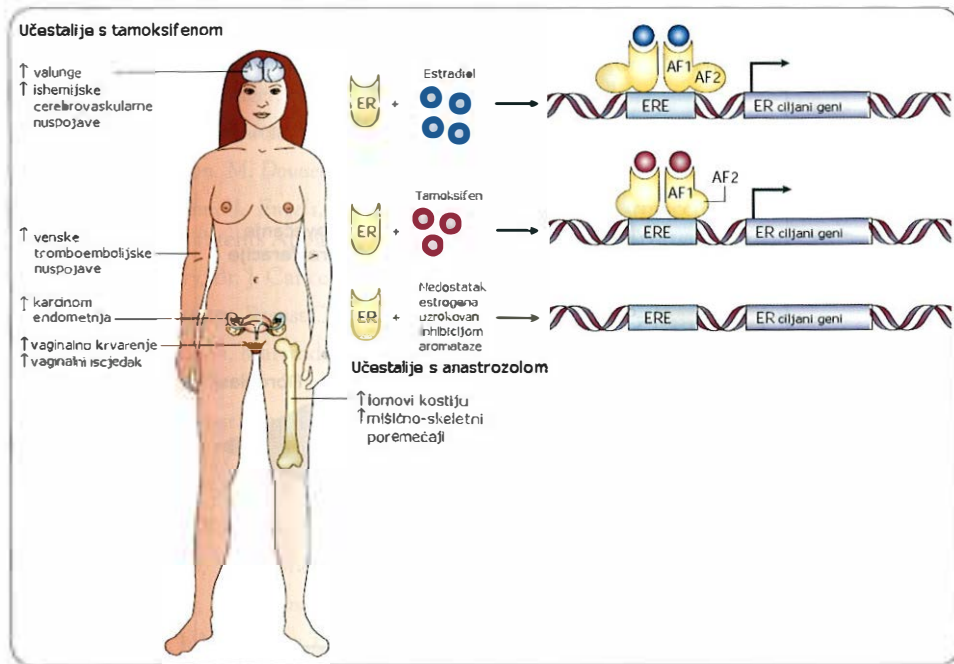
Moguća je i neoadjuvantna primjena (prije operacije) kod raka dojke pozitivnog na receptore estrogena. Letrozol se također primjenjuje u ranoj fazi raka dojke pozitivnog na receptore estrogena u trajanju od 5 godina, iako optimalno trajanje terapije nije poznato (7-8).

Sve usporedbe u kliničkim ispitivanjima provedene su s postojećim standardom – tamoksifenom. Ono što je od posebnog značaja jest povećan rizik od tromboembolije i raka endometrija u slučaju primjene tamoksifena. Navedene nuspojave manje su učestale kod anastrozola iako i njegova primjena dovodi do nuspojava kao što su valovi vrućine, vaginalno krvarenje, povraćanje i koštane frakture. Kod primjene IA desetina pacijentica se žalila na bol u zglobovima, a povećan je i rizik nastanka osteoporoze (9).

Razlog značajnih nuspojava tamoksifena u odnosu na inhibitore aromataze leži u činjenici da inhibitori aromataze vrše totalnu supresiju produkcije estrogena. Tamoksifen se veže na receptor estrogena onemogućujući aktivaciju transkripcije estrogen ovisnih gena na razini aktivacijskog faktora 2, no ukoliko je aktivacijski faktor 1 prisutan u stanici doći će do prijepisa, a time i do ispoljavanja agonističkog učinka preparata (slika 7.) (3).

### Perspektive inhibitora aromataze

Aminoglutetimid je neselektivni inhibitor aromataze koji također inhibira produkciju kortikosteroida u nadbubrežnoj žlijezdi, pa ukoliko se želi postići totalna blokada biosinteze



**Slika 7.** Najčešće nuspojave tamoksifena i anastrozola. Prilagođeno s dozvolom Macmillan Publishers Ltd: Nat Rev Cancer (3), © 2003.

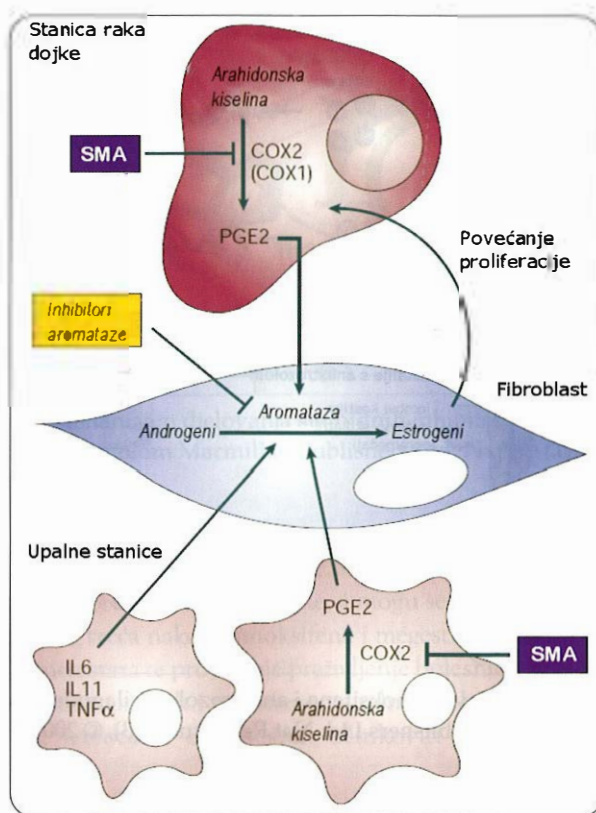
steroida primjenjuje se kod metastaskog raka dojke, palijativne skrbi muškaraca s rakom prostate i Cushingovog sindroma (doze 1–2 g dnevno) (7).

Kako estrogeni imaju važnu ulogu u sazrijevanju i longitudinalnom rastu kostiju, inhibitori aromataze mogli bi se primjenjivati i kod poremećaja njihova rasta, poremećaja metabolizma lipida i inzulinske osjetljivosti. Takva ispitivanja napravljena su na letrozolu s ciljem povćanja visine dječaka koji konstitucijski imaju odgođen pubertet (10).

Za razumijevanje djelovanja inhibitora aromataze potrebno je imati na umu činjenicu da se aromataza nalazi i u tumorskom tkivu koje za svoje potrebe sintetizira estrogene pospješujući tako vlastiti rast. Ne samo da je aktivnost aromataze pojačana nego se ona dodatno eksprimira. Ekspresija se nalazi pod utjecajem tumorskih faktora kao što su IL6, IL 11, TNF $\alpha$ , prostaglandin E2. To opravdava potencijalnu kliničku primjenu selektivnih modulatora aromataze (npr. inhibitori ciklooksigenaze) u kombinaciji s inhibitorima aromataze (slika 8.) (6, 11–12).

S obzirom na relativno sigurnu primjenu inhibitora aromataze, moguće je da će se proširiti broj novih indikacija za ove lijekove (npr. muška neplodnost, smetnje u rastu). Tome pridonosi i činjenica da na inhibitore aromataze tumorske stanice nemaju razvijene mehanizme rezistencije (npr. ABC transporteri), a njihova učinkovitost je i dalje visoka (97–99%) (13–14).





**Slika 8.** Utjecaj selektivnih modulatora aromataze (SMA) na ekspresiju aromataze. Prilagođeno s dozvolom Macmillan Publishers Ltd: Nat Rev Cancer (3), © 2003.

## Newest achievements in research of aromatase inhibitors

by M. Bojić, M. Medić-Šarić

### A b s t r a c t

Most of the therapeutics used in chemotherapy are non selective drugs that act non specifically, effecting healthy tissue and causing serious side effects (depression of bone marrow, nausea, hair loss etc.). Every day new macromolecular targets are discovered. One of very important targets in therapy of breast cancer is aromatase – CYP enzyme unique for its function of converting male into female hormones. This paper is focused to the enzyme and its mechanism of action, as this was explained very recently. Physiology and patophysiology of aromatase is explained, as the basis for understanding action of aromatase inhibitors. Special attention is devoted to expression of aromatase and potential use of selective modulators of aromatase, as well as new indications of aromatase inhibitors.

## Literatura – References

1. P. R. Ortiz de Montellano, *Cytochrome P-450. Structure, Mechanism, and Biochemistry*, Springer, Berlin 2005, 217.
2. D. Ghosh, J. Griswold, M. Erman, W. Pangborn, *Nature*. **457** (2009) 159.
3. S. R. Johnston, M. Dowsett, *Nat. Rev. Cancer*. **3** (2003) 821.
4. A. Kleemann, J. Engels, B. Kutscher, D. Reichert, *Pharmaceutical Substances: Syntheses, Patents Applications*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2001.
5. R. Sainsbury, *Br. J. Cancer*. **90** (2004) 1733.
6. A. S. Bhatnagar, *Breast Cancer Res. Treat.* **105** (2007) S1 - 7.
7. S. C. Sweetman, *Martindale: The Complete Drug Reference*, Pharmaceutical Press, London 2007.
8. B. Vrhovac i sur., *Farmakoterapijski priručnik*, Zagreb 2007, 437.
9. L. Folkestad, N. H. Bjarnason, J. K. Bjerregaard, K. Brixen, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **104** (2009) 3.
10. M. Hero, S. Wickman, L. Dunkel, *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. **64** (2006) 510.
11. R. Carpenter, W. R. Miller, *Br. J. Cancer*. **93** (2005) S-1.
12. C. Falandry, P. A. Canney, G. Freyer, L. Y. Dirix, *Ann. Oncol.* **20** (2009) 615.
13. M. Dean, *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia*. **14** (2009) 3.
14. J. D. Raman, P. N. Schlegel, *J. Urol.* **167** (2002) 624.

Primljeno 17. srpnja 2009.