

Kanser Tedavisinde Yeni Bir Yaklaşım: Poli (ADP-Riboz) Polimeraz-1 İnhibitörleri

Fatih Tok, Bedia Koçyiğit-Kaymakçoğlu

Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul - Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Bedia Koçyiğit Kaymakçoğlu
Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Tıbbiye Cad. No: 49 Haydarpaşa, İstanbul - Türkiye
Elektronik posta adresi / E-mail address: bkaymakcioglu@marmara.edu.tr
Kabul tarihi / Date of acceptance: 15 Ekim 2014 / October 15, 2014

ÖZET

Kanser tedavisinde yeni bir yaklaşım: Poli (ADP-riboz) polimeraz-1 inhibitörleri

Genetik materyal olan DNA'da iç ve dış etkenler sonucu hasar oluşabilir. Normal bir hücrede bu hasarı onarabilecek çok sayıda tamir mekanizması vardır. Bunlardan biri de PARP-1 enzimidir. PARP-1, nikotinamid adenin dinükleotidden ADP-riboz yapılarını protein akseptörüne transfer eder. Böylece tek zincir DNA kırıkları onarılır. PARP-1'in inhibisyonu durumunda ise bu tek zincir DNA kırıkları onarılamaz ve çift zincir DNA kırıkları oluşur. Sonuçta hücre nekroze ya da apoptoze gider. Kanser tedavisinde tümörlü hücrelerin PARP-1 inhibisyonuyla öldürülmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla son on yıl içinde çok sayıda çalışma yapılmış olup, günümüzde faz aşamasında bulunan ve piyasaya sürülmeyi bekleyen PARP-1 inhibitörleri mevcuttur. Bu derlemede, DNA'da oluşan hasarın hangi mekanizmalarla onarıldığı, PARP enzim ailesinin genomik bütünlüğü nasıl koruduğu ve kanser tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş PARP-1 inhibitörü kimyasal bileşiklerin yapıları hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar sözcükler: Poli(ADP-riboz) polimeraz, moleküler modelleme, PARP-1 inhibitörleri, kanser tedavisi

ABSTRACT

A new approach in cancer treatment: poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibitors

Internal and external factors can damage DNA, the genetic material. Numerous repair mechanisms, which can repair those damages, exist in the normal cell. One of those is called PARP-1 enzyme. PARP-1 transfers ADP-ribose subunits from nicotinamide adenine nucleotide to protein acceptor. Thus, single strand DNA breaks can be repaired. If PARP-1 inhibition occurs, single strand DNA breaks cannot be repaired and double strand DNA breaks can be formed. Eventually, cells undergo necrosis or apoptosis. The aim of cancer treatment is to inhibit the PARP-1 enzyme. For this purpose, many studies have been published over the last decade and currently PARP-1 enzyme inhibitors which are in the phase studies and which are waiting to be marketed are available. In this review, information are given for the mechanisms by which DNA damage is repaired, the protection mechanism of the genomic integrity of PARP enzyme family and chemical structure of PARP-1 inhibitors which are improved to use in cancer treatment.

Key words: Poly(ADP-ribose) polymerase, molecular modelling, PARP-1 inhibitors, cancer treatment

GİRİŞ

DNA Hasarı Ve Onarımı

Normal hücre fonksiyon için genetik kodun korunmasını sağlayan çok sayıda tamir mekanizması vardır. DNA tamir yolları şunlardır (1,2):

- Baz eksizyon onarımı (BER)
- Nükleotid eksizyon onarımı (NER)
- Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon onarımı (MMR)
- Homolog rekombinasyon (HR)
- DNA çift zincir kırığı onarımı (DSBR)

DNA tamir mekanizmaları bütün hücrelerde genomun bütünlüğünü korumak için hayati öneme sahip yollarlardır. DNA tamiri kompleks bir olaydır, yaklaşık 150 gen bu süreç-

ten sorumludur (3). Beş tane majör mekanizma vardır. Bu yollarla meydana gelecek sporadik veya kalıtsal mutasyonlar kansere neden olur. Birçok antikanser ilaç DNA hasarını oluşturarak hücre ölümünü sağlar. Bu durumda DNA tamir yolları ise ilaca direnç oluşturur. Bu yüzden DNA'yı tamir eden enzimleri inhibe edebilmek kanser tedavisinin ana amaçlarından biridir (4).

Direkt onarım yolağında, MMR ve NER tamir mekanizmaları çevresel etkenlerle ya da hücre fonksiyon sırasında oluşan spesifik DNA lezyonlarını düzeltirler. Direkt onarımda metillenmiş baz kendisiyle değiştirilir. NER en az 11 proteinden oluşan ve transkripsiyonda görevli bir tamir mekanizmasıdır. Kseroderma pigmentosum gibi UV ışınları ve kalıtsal mutasyonların neden olduğu lezyonları önler. Ayrıca platin ajanlarının DNA'ya kovalent bağlanması sonu-

cu oluşan bozuklukları da önler. MMR ise yanlış eşleşmiş oligonükleotidleri tanır ve ortadan kaldırır. MMR, bazı kalıtsal ve sporadik kanserlerin önlenmesinde önemli rol oynar. DNA çift zincir kırıklarında özellikle homolog-olmayan uç birleştirme ve homolog rekombinasyon (HR) tamir mekanizmaları rol oynar.

Radyasyon DNA'da çok sayıda tek zincir ve çift zincir kırıklarına neden olur. Normal hücre, hasarı onarır. Ancak kanser hücresinde bu onarım mekanizmaları düzenli işlemez (5).

Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri nöronal hücrelerde nekroza ve DNA hasarına neden olabilir. DNA'da tek zincir kırığına neden olan dış faktörler UV ışığı, sitotoksik ilaçlar, radyasyondur (6,7).

DNA yanlış eşleşme (mismatch) tamiri, organizmalarda ki genetik sürüklenmeyi sınırlamak için gereklidir. İç ve dış kimyasal maddeler genomda değişikliğe neden olabilecek saldırılar yaparlar. Çok sayıda DNA onarım mekanizması genomik bütünlüğü korumak için çalışır. Bu tamir mekanizmaları yetersiz kaldığında hücre döngüsü kontrol noktaları, hücre döngüsünün durmasına ve apoptozise neden olur. Bu tamir yollarından biri de MMR'dir ve replikasyon sırasında DNA'daki hataları düzeltir. MMR mekanizmasının inhibe edilmesi ise sadece mutasyon riskini artırmaz; aynı zamanda apoptozis azalır, hücre yaşam süresi uzar. MMR genlerindeki mutasyon ise kalıtsal kolorektal kanserle ve sporadik birçok kanserle ilişkilidir (8).

Poli (Adp-Riboz) Polimerazlar (PARP'lar)

Bugüne kadar 18 tane PARP üyesi enzim tanımlanmıştır. Bunlardan en önemlisi PARP-1 izoformudur. Üç tane ana bölgeden oluşur (9,10).

- DNA bağlama bölgesi
- Merkez bölge
- Katalitik bölgesi

İlk PARP enzimi, bağımsız araştırmacılar tarafından Franca ve Japonya'da 1960'lı yıllarda keşfedilmiştir. PARP

enzimleri içinden PARP-1 yaygın olarak bulunur ve çekirdekte lokalize olmuştur. PARP-1 üç majör bölgeden oluşur. DNA bağlama bölgesi çinko-parmak motifleri içerir ve DNA kırıklarını birleştirir. Merkez bölgesi ise 16 kDa ağırlığında olup modifikasyondan sorumludur. 55 kDa ağırlığındaki katalitik bölge ise karboksilik asit grubu taşır. Bu katalitik bölge birçok ilaç geliştirme programı için hedef bölgedir (5).

Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), ökaryot hücrelerde bol miktarda bulunan ve DNA hasarına cevap olarak aktifleşen çekirdeğe ait bir enzimdir. Aktifleşmiş PARP, ADP-riboz ünitelerini NAD⁺'dan histon, topoizomeraz, DNA polimeraz, DNA ligaz gibi çekirdeğe ait bir proteine ya da kendisine transfer eder. Aşırı aktivasyon NAD⁺ ve ATP tüketimine dolayısıyla hücre disfonksiyonuna veya nekroza neden olur. Ayrıca PARP, apoptozisi uyaran faktör aracılığıyla bir kaspazbağımsız apoptozis yolağıdır. PARP inhibitörleri; reperfüzyon yaralanması, inflamasyon, nörotoksite gibi doku hasarından hücreyi korur. Farmakolojik ajanlarla PARP inhibisyonunun inflamatuvar hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi pek çok hastalığın tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

PARP enzim ailesi PARP-1, PARP-2, PARP-3, tankiraz-I, tankiraz-II, TipARP, VPARP proteinlerinden oluşur. Memeli hücrelerindeki DNA hasarı onarımında poli(ADP-riboz) sentezinin tamamına yakınından PARP-1'in sorumlu olduğuna inanılmasına rağmen daha sonra PARP-2'nin de etkisi fark edilmiştir. PARP-2 büyük oranda PARP-1'e benzer. PARP-2, PARP-1'in bulunmadığı bölgelerde DNA tamirine yardım eder. Ancak PARP-2'deki DNA bağlama bölgesi, PARP-1'den farklıdır ve PARP-2'de merkez otomodifikasyon bölgesi yoktur (11).

Poli(ADP-riboz) polimeraz-1 DNA tamirinde, apoptozis, hücre regülasyonu, hücre bölünmesi, farklılaşma, transkripsiyonel regülasyon ve kromozom stabilizasyonunda önemli rol oynar (10,12). PARP-1, 113 kDa ağırlığında bir protein olup üç ana bölümden oluşur. DNA bağlayan bölge olan N-terminal uç, hasarlı DNA'yı onarmaktan sorumludur. Mer-

Tablo 1: İnsanda bulunan PARP'lar

PARP'lar	Molekül ağırlığı (kDa)	Yerleşimi	Fonksiyon
PARP-1	113	Çekirdek	DNA onarımı
PARP-2	62	Çekirdek	DNA onarımı
PARP-3	60	Bilinmiyor	DNA onarımı
VPARP	193	Çekirdek, mitotik iğ	İlaça karşı direnç
Tankiraz	142	Telomeraz, golgi	Telomer uzunluğu

Tablo 2: PARP aktivasyonunun ilişkili olduğu bazı olaylar

kez bölge modifikasyondan sorumludur. C-terminal katalitik bölge ise NAD⁺'dan ADP-riboz yapılarını protein akseptörüne transfer eder (10). Amaç hücre tahribatını önlemektir. DNA hasarının tamir edilmesinde bu ADP-riboz polimer yapısı çok önemlidir (13). PARP-1 inhibisyonunun kanser için oldukça etkili bir sentetik ölüm yolu olduğu gösterilmiştir. Olaparib, veliparib, rucaparib ve niraparib gibi klinik aşamada bulunan birçok molekül PARP inhibisyonuyla anti-kanser etki sağlar (35). İnsanda bulunan başlıca PARP'lar Tablo 1'de yer almaktadır (14).

PARP ailesi 18 üyeden oluşur. PARP-1 üzerinde en fazla çalışılmış enzimdir. NAD⁺'yı substrat olarak kullanarak ADP-riboz polimerlerini üretir. DNA hasarı olduğunda PARP-1, PARP-2 ve PARP-3 aktive olur. PARP-1 hem tek zincir hem de çift zincir kırıklarının tamirinde önemli rol oynar. BER, HR, NER gibi tamir mekanizmalarını etkiler. Daha az bilinen PARP-2 ve PARP-3 de DNA tamirinde görev alır. PARP-2 yetersizliğinde tek zincir kırıklarına neden olan alkilleyici ajanlara ve radyasyona duyarlılık artar (15). PARP aktivasyonunun ilişkili olduğu bazı olaylar Tablo 2'de sunulmuştur (16,17).

DNA hasarı yapan kimyasallar, radyasyon, peroksidasyon PARP-1'in uyarılmasına neden olur. PARP-1 inhibitörlerinin iskemik felç, travmatik beyin hasarı, Parkinson ve kanser gibi hastalıklarda etkili olabileceği hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (9).

PARP-1 tek zincir DNA kırıklarını, baz eksizyon tamir mekanizmasıyla onarır. PARP-1 inhibisyonu, radyasyonun ve kemoterapötik ajanların (metilleyici ajanlar, topoizomeraz I inhibitörleri) sitotoksik etkilerini artırır (4). PARP-1'in kontrol ettiği olaylar Şekil 1'de gösterilmiştir (18-20).

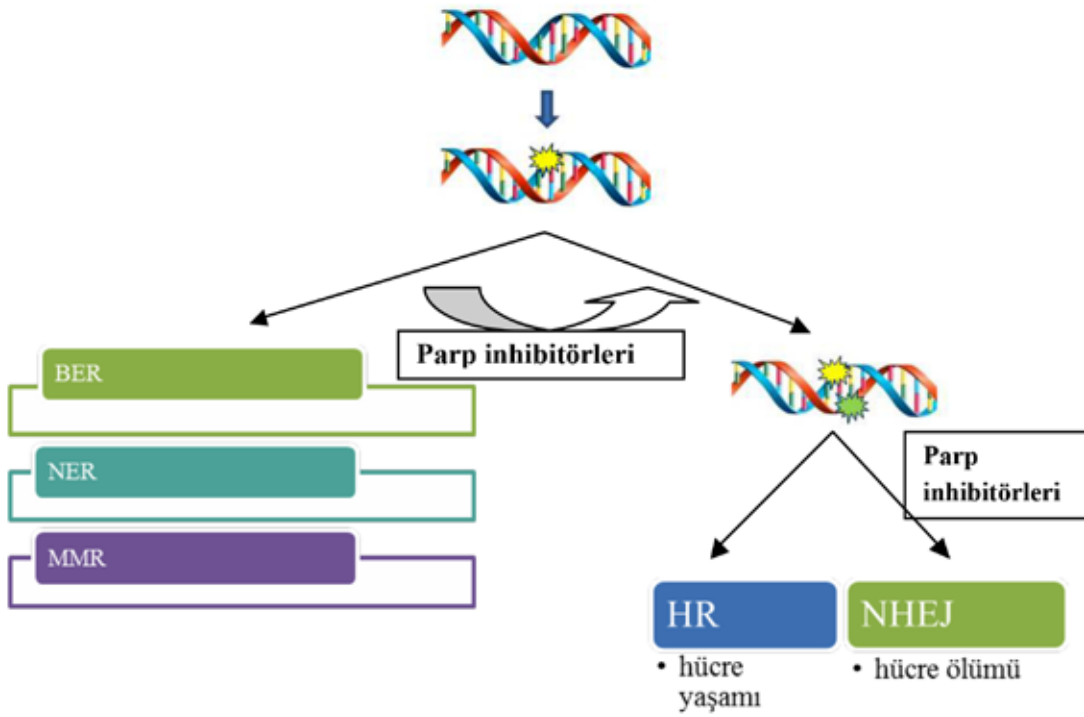
**Şekil 1:** PARP-1'in kontrol ettiği olaylar

PARP Enzim İnhibisyonu

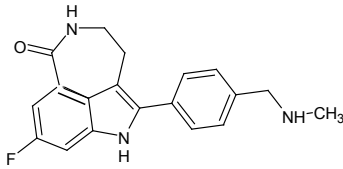
PARP inhibisyonu tek zincir DNA kırıklarının birikmesine ve bunların çift zincir DNA kırıklarına dönüşmesine neden olur (Şekil 2). Normalde bu kırıklar homolog rekombinasyon DNA tamir mekanizmalarıyla düzeltilir (3,21).

PARP inhibitörlerinin antikanser etkisi için iki görüş vardır. Bunlardan ilki DNA'da zincir kırıkları nedeniyle tümör hücrelerinde homolog rekombinasyon yetersiz kalır ve hücre ölür. İkinci ortak görüş ise tümör hücrelerini DNA hasarına duyarlı hale getirir. Kombine tedaviyle maksimum etki, minimum toksisite ve ikincil malignansi riskini azaltacak moleküller seçilir (23).

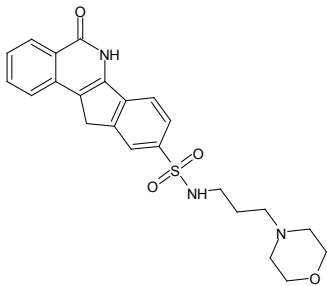
İlk PARP inhibitörü çalışmaları 2003'de başlamıştır. Sekiz tane PARP inhibitörünün şu an klinik çalışmaları devam etmektedir. PARP inhibitörleri ilk önce kanserli hastalarda alkilleyici ajanların etkinliğini artırmak için kombine tedavide düşünülmüştür. Trisiklik indol PARP inhibitörü olan AG014699 ilk önce temozolamidle kombine verilmiştir. Hedef enzimin inhibisyonu periferik kan hücrelerinde, tümör biyopsisinde, metastatik melanomada gösterilmiştir. İkinci kombinasyon çalışması için ise INO-1001 molekülü seçilmiştir (4,24).



Şekil 2: PARP inhibitörlerinin DNA tamir yollarıyla ilişkisi (22).



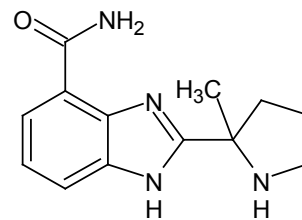
AG014699



INO-1001

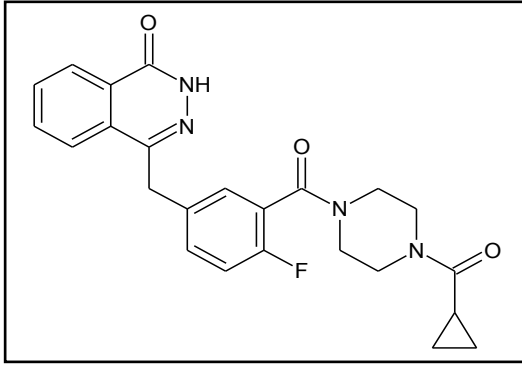
İlk çalışmalarda nikotinamid ve 3-aminobenzamid yapısının PARP-1 enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak bu bileşikler düşük etkinlik ve seçicilik göstermişlerdir. Bu yüzden daha etkili ve seçici moleküller bulunmuştur. PARP inhibitörü moleküllerin çoğunda farmakofor grup olarak benzamid yapısı görülür. Çeşitli PARP-1 inhibitörleri ortaya çık-

masına rağmen söz konusu bileşiklerde toksisite, düşük çözünürlük ve düşük farmakokinetik profil gibi bazı problemler ortaya çıkmıştır. PARP-1'e karşı etkili ve seçici bir molekül arama çalışmaları hala devam etmektedir. Son çalışmalarda benzimidazolkarboksamid yapısı taşıyan bileşikler oldukça etkili bulunmuştur. Örneğin; 2-[(R)-2-metilprolidin-2-il]-1H-benzimidazol-4-karboksamid (ABT-888, veliparib) keşfedilmiştir. Başka bir çalışmada benzimidazol yapısındaki benzen yerine piridin halkası getirilmiş, 2-amino türevlerinin güçlü etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Özetle imidazo[4,5-c]piridinkarboksamid türevlerinin güçlü PARP-1 inhibitörleri olduğu gösterilmiştir. Bu molekülün farelerde sisplatin kombinasyonunun oral yoldan uygulanmasıyla güçlü etkinlik ve düşük yan etki gösterdiği tespit edilmiştir (9).

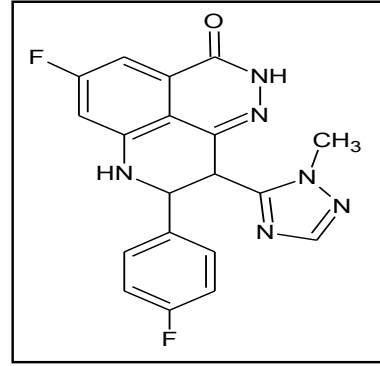


ABT-888

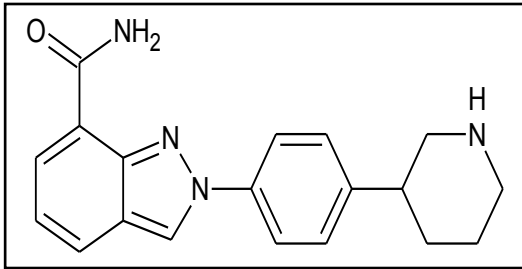
Klinik deneme aşamasındaki PARP inhibitörleri (3):



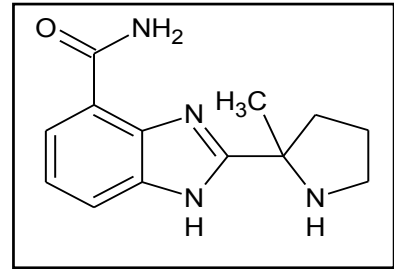
Olaparib



BMN-673



MK-4827



Veliparib

Tablo 3: Klinik çalışmaları devam eden PARP inhibitörleri

Molekül	Klinik çalışmaların tarihi	Uygulama yolu	Hastalık	Tek ajan/kombinasyon	Klinik durum
Rucaparib	2003	iv ve oral	Melanoma Over kanserleri BRCA ilişkili kanser	Tek ajan ve kombinasyon	Faz II
Olaparib	2005	Oral	BRCA ilişkili kanser	Tek ajan ve kombinasyon	Faz II
Veliparib	2006	Oral	Solid hematolojik kanser	Tek ajan ve kombinasyon	Faz II
İniparib	2006	iv	Üçlü negatif göğüs kanseri(BRCA)	Gemcitabin- Karboplatin/ Temozolamid kombinasyonu	Faz III tamamlandı
INO-1001	2003	iv	Melanoma Glioblastoma	Temozolamid kombinasyonu	Faz II
Niraparib	2008	Oral	BRCA Over kanserleri	Tek ajan	Faz I tamamlandı
CEP-9722	2009	Oral	Solid tümörler	Temozolamid kombinasyonu ve tek ajan	Faz I tamamlandı
GPI 21016	2010	Oral	Solid tümörler	Temozolamid kombinasyonu ve tek ajan	Faz I
BMN673	2011	Oral	Solid tümörler ve hematolojik malignansiler	Tek ajan	Faz III

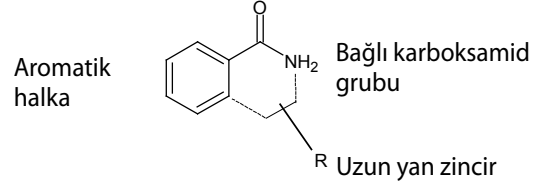
Alkilyeyici ajanlar, kamptotesin gibi kemoterapötikler DNA zincirinde kırıklar oluşturur. PARP inhibitörleri de ilk önce kemokuvvetlendirici ajan olarak geliştirilmiştir. Yapılan in vitro ve in vivo prelinik çalışmalarda DNA metilleyici ajanlar, topoizomeraz I inhibitörleri ve radyasyona maruz kalanlarda, PARP inhibitörlerin hücre ölümlerini artırdığı görülmüştür. İlk PARP inhibitörü 2003 yılında metilleyici bir ajan olan temozolomid kombinasyonu ile klinik çalışmalara girmiştir. Temozolomid ile birlikte PARP inhibitörleri verildiğinde sitotoksik potansiyeli artırdığı tespit edilmiştir. İnsan glioblastoma hücrelerinde ve farelerde beyin tümörlerinde etkisi gösterilmiştir. Özellikle BRCA gen mutasyonu bulunan hastalarda yapılan kombinasyon tedavisine örnek olarak 9 adet molekül Tablo 3'de verilmiştir (5,25,26).

PARP İnhibitörü Moleküller Üzerinde Araştırmalar

PARP inhibitörleri araştırılırken PARP-1'in katalitik bölgesine bağlanan NAD⁺ ile yarışmalı moleküller aranır. PARP inhibitörlerinin tedavideki en önemli kullanım alanları meme ve over kaynaklı kanserlerdir.

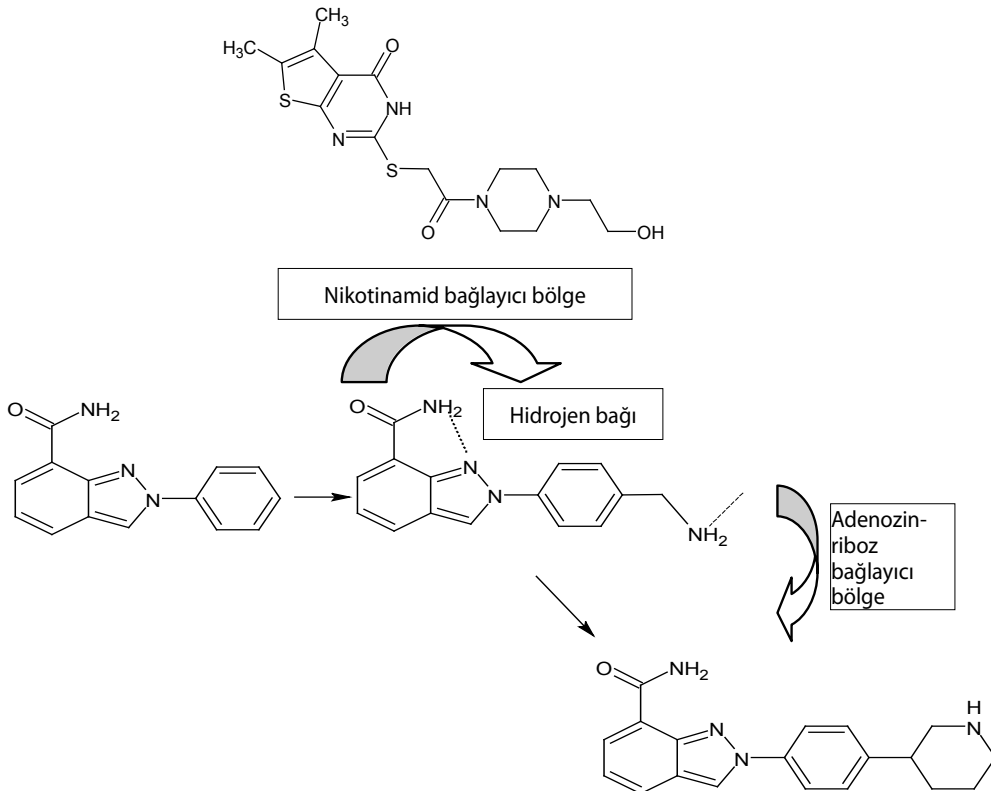
Yapılan bir çalışmada etkili bileşik sentezleyebilmek için bileşiklerin üç temel yapısal özellik taşıması gerektiği bulun-

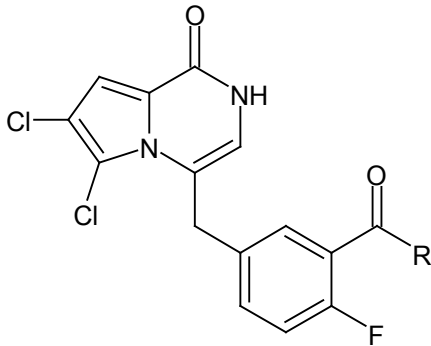
muştur: (i) Aromatik halka; (ii) İstenen antikonformasyona bağlı en az bir tane NH grubu ile birlikte karboksamid yapısı; (iii) PARP-1'in otomodifikasyon bölgesinde bulunan derin cebin içine doğru uzanan bir yan zincir bulunmalıdır (27).



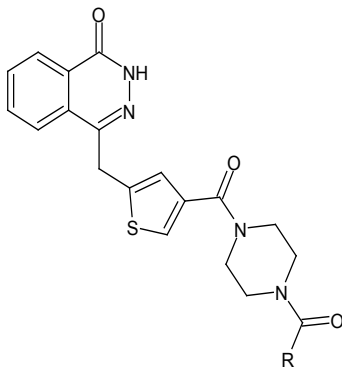
Laboratuvar çalışmalarıyla PARP-1 inhibitörlerinin aktiviteleri için spesifik özellikler belirlenmiştir: (i) Karboksamid grubu halka sisteminin serbest bir şekilde dönmesinden ya da kısıtlanmasından sorumludur; (ii) Elektron eksikliği bulunan aromatik halka karboksamid grubuna atak yapar. Yüksek derecede aktivite gösteren PARP-1 inhibitörleri bu özelliklerin yanısıra glisin ve serin aminoasitleriyle hidrojen bağı yapar. Ayrıca PARP-1'in aktif bölgesi olan adozin yapısına ulaşabilmek için uzun sübstituentler kullanılır. Bu özellikler önder bileşiklerin tanımlanması açısından önemlidir.

Bu kapsamda indazol-2-karboksamid ve kinazolinon yapıları sentezlenmiş ve oldukça etkili olan aşağıdaki bileşik tanımlanmıştır (28).



Tablo 4: Pirolopirazin yapısındaki PARP inhibitörleri

Bileşik	R	IC ₅₀
1		2.6
2		2.3
3		41

Tablo 5: İzoknazolinon yapısındaki PARP inhibitörleri

Bileşik	R	IC ₅₀
AZD-2281	-	84.96
1		104.96
2	CH ₃	123.60
3	CH ₂ CH ₃	78.62

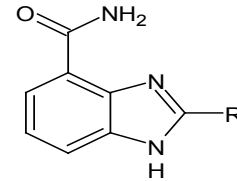
Yukarıda verilen şekilde sentezlenen 2-fenil-2H-indazol-7-karboksamid türevlerinin oldukça etkili bileşikler olduğu ve önder bileşik olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (29).

Başka bir çalışmada sentezlenen pirolo[1,2-a]pirazin-1(2H)-on yapısındaki PARP inhibitörleri Tablo 4'de gösterilmiştir. Bu moleküllerin BRCA gen mutasyonu bulunan hücrelerin çoğalmasını durdurabileceği bildirilmiştir (30).

Aşağıda formülü gözlenen bileşiğin, R gruplarına bağlı olarak aktiviteleri için bulunan IC₅₀ değerleri Tablo 5'de verilmiştir (31).

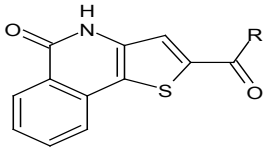
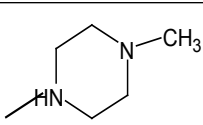
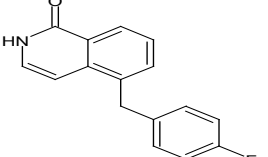
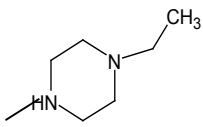
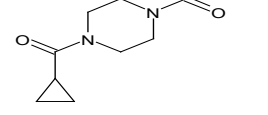
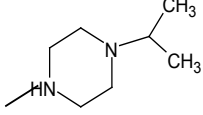
AZD-2281 (Olaparib): 1-siklopropilkarbonil-4-[5-(3,4-dihidro-4-okso-1-ftalazinil)metil-2-florobenzoil]piperazin

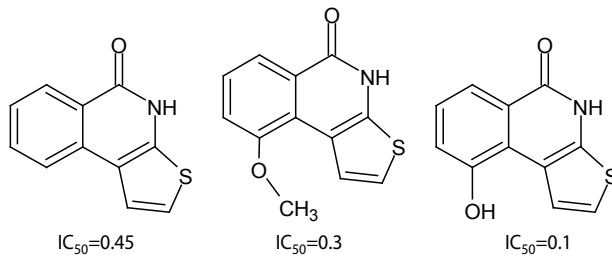
Siklikamin grubu içeren benzimidazolkarboksamid yapıları incelenmiş ve aşağıda yapıları verilen bileşikler arasında, özellikle 6 numaralı bileşiğin PARP-1 inhibisyonu özelliğinin yanında, suda çözünürlüğünün yüksek olduğu ve oral yoldan alıma uygun olduğu belirlenmiştir (32).

Tablo 6: Benzimidazol yapısındaki PARP inhibitörleri

Bileşik	R	IC ₅₀
1	-H	0.24
2	-C ₆ H ₅	0.017
3		0.007
4		0.008
5		0.007
6		0.008

Tablo 7: Izokinolinon yapısındaki PARP inhibitörleri

	R	IC ₅₀ (μ M)
		0.231
		0.079
		0.086



Yeni PARP inhibitörü geliştirmek üzere, izokinolinon yapısı taşıyan üç halkalı bileşikler üzerinde çalışılmıştır. Beş üyeli heterosiklik halka olarak pirov ve tiyofen kullanılmıştır. PARP inhibitörü olarak bilinen AZD2281 molekülü ile IC₅₀ değerleri Tablo 7'de karşılaştırılmıştır (33).

PARP-1 aktivasyonunun nöronal kayba neden olabileceği düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda PARP-1 inhibisyonu sonucu iskemi nedenli hücre ölümü durdurulmuş ve glutamat reseptörleri aracılığıyla gerçekleşen eksitotoksikite önlenmiştir. Bu sayede PARP enziminin iskemik durumlarda inhibe edilmesiyle anti-eksitotoksik moleküller keşfedilmiştir. Pellicciari ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, güçlü nöroprotektif etkiye sahip model bileşikler ortaya konmuştur (34).

Kinazolinon ve kinazolidinon bileşiklerinin serebral iskemi ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda PARP-1 inhibisyonu yapması nedeniyle kullanılabilirliği bildirilmiştir. Bu çalışmada PARP-1 ve PARP-2 enzimlerini inhibe edecek selektif moleküller keşfedilmiştir. Kinazolinon türevlerinin PARP-1, kinoksalin türevlerinin PARP-2 selektif olduğu gösterilmiştir. Özellikle aşağıda yapısı verilen 4 no'lu bileşiğin beyin penetrasyonu ile birlikte iyi farmakokinetik profile sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sayede nörodejeneratif hastalıklar olan Parkinson ve serebral iskemi tedavisinde yeni moleküller literatüre kazandırılmıştır. Kinazolinon analoglarının PARP-1/2 aktivite bulguları Tablo 8'de sunulmuştur (11).

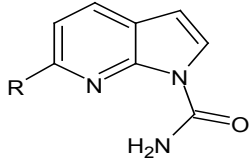
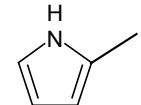
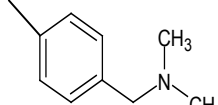
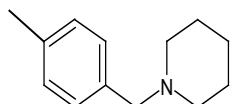
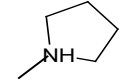
Ailesel meme kanseri saptanan olguların %50'sinde hastalık BRCA gen mutasyonlarından kaynaklanır. BRCA2 mutasyonlarında BRCA1 mutasyonları ile benzer olarak artmış meme kanseri riski gözlenir ve bu risk over kanseri için %27'dir (35).

Over kanserlerinde PARP inhibitörlerinin faydalı olabileceğinin anlaşılması olaparib, veliparib, niraparib, rucaparib üzerindeki çalışmaları artırmıştır (35).

Tablo 8: Kinazolinon analoglarının PARP-1/2 aktivite bulguları

Bileşik	R ₁	R ₂	R ₃	PARP-1 IC ₅₀	PARP-2 IC ₅₀	Seçicilik PARP-2/1
1	H	H	H	21±1.9	608±12.9	29
2	H	Cl	H	23±1.8	610±18.1	27
3	H	Cl	CN	3.0±0.6	87±3.6	29
4	H	Cl	F	13±1.3	500±15.2	39
5	H	CH ₃	F	16±1.1	167±25.7	10

Tablo 9: Pirolopiridin yapısındaki PARP inhibitörleri

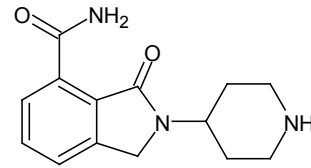
			
Sentezlenen Moleküller (R=)	IC ₅₀	Sentezlenen Moleküller (R=)	IC ₅₀
	0.93		0.22
	0.07		0.77

Başka bir çalışmada sentezlenen moleküllerin insan rekombinant PARP-1 enzimine karşı aktiviteleri ölçülmüştür. Olaparibin ve ABT-888 ile sentezlenen moleküllerin IC₅₀ değerleri karşılaştırılmış ve elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur (36).

6-Süstitüepirol[2,3-b]piridin-1-karboksamid bileşiğindeki piridin azotu ile karboksamid arasında oluşan intramoleküler hidrojen bağı yalancı bir halka oluşturur. Bu etkileşim sayesinde PARP inhibisyonu gerçekleşir. (Olaparib için IC₅₀=0.0045 ve ABT-888 için IC₅₀=0.0052 bulunmuştur) (36).

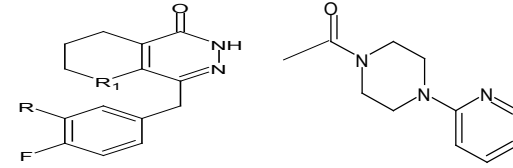
Tetrahidropiridopiridazinon yapısına 4. konumdan 4-florobenzil süstitüenti bağlı olduğunda oluşan bileşiğin farmakofor özelliğe sahip olduğu ve benzil halkasının 3. konumundaki bir laktam yapısı bağlandığında daha etkili bileşiklerin olduğu, bu konuma getirilecek imid yapılarının ise laktam halkalarından çok daha etkili olduğu saptanmıştır. İmidazolidin-2,4-dion yapılarının bu süstitüe yapılar içinde en az aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (3).

3-oksoizindol-4-karboksamid yapısı taşıyan bileşiklerin, PARP-1'e karşı iyi aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda yapıya gelecek amin türevlerinin varlığı ve konumu hem enzimatik hem de hücrel aktiviteyi etkiler. Örneğin; aşağıdaki molekülde karboksamid grubu PARP molekülüyle hidrojen bağı yapar, ayrıca karbonil grubuyla intramoleküler hidrojen bağı yaparak amid yapısını korur ve optimal düzlemsel konformasyon sağlar (13).



Tetrahidropiridazinon bileşiklerinin PARP inhibitörü olduğu ve özellikle aşağıda yapıları gözlenen moleküllerin temozolamidin etkisini potansiyelize ettiği belirlenmiştir (3).

Tablo 10: Tetrahidropiridazinon yapısındaki PARP inhibitörleri

		
Bileşik	R ₁	PARP-1 (K _i , nM)
1	-CH ₂	0.9
2	-NH	0.4

PARP-1 İnhibisyonunun Kansere Tedavisindeki Rolü

Dünya sağlık örgütüne göre dünya çapında her yıl 1 milyon civarında kadın göğüs kanserine yakalanıyor. Tüm kanser olgularının %23'ünü oluşturan göğüs kanseri teşhisi almış kadınların %14'ü hastalıktan dolayı ölmektedir (37).

Temozolamid, platin türevleri, topoizomeraz inhibitörleri ve radyoterapi gibi antikanser tedavide DNA hasarı meydana gelir. Tedaviye DNA tamirinde görevli PARP aracılığıyla direnç gelişir. Bu yüzden PARP enziminin inhibe edilmesi ihtiyacı doğmuş ve PARP enzimi inhibe edilerek tedavinin etkinliği artırılmıştır. BRCA1 ve BRCA2 mutant genleri gibi tümör supresör genler PARP-1 inhibisyonuna oldukça duyarlıdır ve bunun sonucunda hücre siklusu durur ve apoptozis gerçekleşir (27).

Batı dünyasında over kaynaklı kanserler, jinekolojik kanserler içinde önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. 2009 yılında Kuzey Amerika'da 24150 kadın over kanseri teşhisi almış ve 17220'si bu hastalıktan ölmüştür. Epitelyal over kanserli birçok hasta tedaviye olumlu cevapla başlamasına rağmen bu hastaların büyük bir kısmı iyileştirilemez. Hastaların %70'i nüks olasılığıyla yaşamaktadır. Kemoterapötiklere hızlı direnç geliştiğinden, nüksleri tamamen önlemenin bir yolu yoktur. Bu hastaları kurtaracak yeni tedavi modellerine ihtiyaç duyulmaktadır.

PARP-1 hücre ölümünün düzenlenmesinde apoptozis ile nekrozis arasında anahtar bir rol oynar. PARP-1'in aşırı çalışması apoptotik süreç için gerekli olan NAD₊ ve ATP stoklarını azaltır. PARP-1'in inhibisyonu apoptozis aracılığıyla hücre ölümüne neden olur (38).

Her yıl dünya çapında yaklaşık 220.000 over kaynaklı kanser tespit edilmekte ve 140.000 kadın bu hastalıktan dolayı hayatını kaybetmektedir. Hastalığın ilerlediği %75'lik kısım ise cerrahi müdahale ihtiyacı duymaktadır. Platin ajanlarıyla yapılan standart tedaviye cevap oranı %40-60 arasındadır, fakat hastaların %90'ı 18. aydan sonra nüks yaşamaktadır ve ilaca karşı direnç görülmektedir.

Over kanserli hastalarda PARP inhibitörleriyle yapılan en kapsamlı çalışma olaparib ile BRCA1/2 gen mutasyonu olan ve olmayan hastalarda uygulanan tedavi yöntemidir. Hastalığın ilerlemesinin olaparib ile 8 ay geciktirilebileceği görülmüştür (39).

PARP inhibitörleri, DNA topoizomeraz I inhibitörlerinin (kamptotesin ve türevleri), alkilleyici ajanların ve radyoterapinin de etkisini artırır. Platin ajanlarına duyarlılığı artırıcı etkisi ise tam değildir. Ancak over ve servikal kanserli hücrelerde sisplatinin toksisitesini artırdığı düşünülmektedir (25).

Tirozil-DNA fosfodiesteraz 1 (TDP1) enzimi DNA tamirinden sorumludur. Topoizomeraz I inhibitörleri olan topotekan, irinotekan DNA'da ölümcül çift zincir kırıklarına neden olur. PARP-1, TDP1 enziminin stabilitesinin korunmasında

önemli bir role sahiptir. PARP enzimini inhibe eden moleküller dolaylı yoldan TDP1 inhibisyonuna ve DNA lezyonlarına neden olur. Bu moleküller nikotinamid artığına benzer yapıdadırlar ve veliparib gibi PARP inhibisyonu yaparlar (40).

Primer bir beyin tümörü olan glioblastoma multiforme tedavisinde PARP inhibisyonundan yararlanılabilir; çünkü güncel tedavi yöntemi yeterli değildir. PARP inhibitörleri temozolomidin etkisini in vitro ve in vivo ortamda artırır; hızla bölünen tümör hücreleri bölünme özelliği olmayan parenkimal hücrelerle sarılıdır (6).

Jinekolojik kanserler kadın sağlığını ciddi bir şekilde tehdit eden tedavisi zor hastalıklardır. İlerlemiş aşamada fark edildiğinde tedavi başarısı azalmaktadır. Bu yüzden PARP inhibitörleri gibi yeni geliştirilmiş moleküllere ihtiyaç duyulmaktadır. Üstelik BRCA ilişkili kanserlerin tedavisinde umut ışığı olan PARP inhibitörleri ile over, endometriyum ve serviks kanserlerinde önemli gelişmeler sağlanmıştır (41).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda BRCA1 ve BRCA2 fonksiyonunda kayıp olan kanserlerde, PARP inhibitörlerine karşı mükemmel duyarlılık tespit edilmiştir. PARP inhibisyonu hücrelerde apoptozis ya da yaşlanmaya neden olur (42). Olaparib ile yapılan çalışmalarda over ve endometriyum kanserlerinde önemli yarar sağlanmıştır (43).

Sağlık bakım giderlerinden kanserle ilgili harcamalar katlanarak devam etmektedir. Örneğin 2006 yılında Amerika'da 104 milyar dolar olan kanser tedavisi harcamaları 2020 yılında 173 milyar dolar olacaktır. Bu yüzden her yeni geliştirilen kanser tedavisi yöntemi dikkate alınmaktadır (39).

PARP İnhibitörlerinin Klinikte Kullanım Alanları

PARP inhibitörleri, vasküler endotelial büyüme faktörünü (VEGF)'nü inhibe ettiğinden antianjiyogenik ajan olarak da bilinir. VEGF proliferasyon ve migrasyondan sorumludur.

PARP inhibisyonu akut gelişen ve yaşamı tehdit eden reperfüzyon bozukluğu, septik ve hemorajik şok, inme ve ayrıca artrit, alerjik ensefalomiyelit ve astım gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda tedavi seçeneği olabilir (44).

PARP inhibitörlerinin antikanser aktivitelerinin yanı sıra inme, nörot travma, miyokard infarktüsü, sistemik inflamatuvar hastalıklar, kronik kalp yetmezliği, nörodejeneratif hastalıklar, lokal inflamatuvar hastalıklar, vasküler rahatsızlıklar, organ transplantasyonu, diabetes mellitus, yaşlanma ve pulmoner rahatsızlıklar gibi durumlarda da kullanılabilenliği düşünülmektedir (45,24).

SONUÇ

PARP-1'in genomik bütünlüğün korunmasında hayati öneme sahip olduğu belirlenmiştir. Tek zincir kırıklarını onaran PARP-1 enziminin inhibisyonu durumunda ise hücre siklusunun durdurulduğu ve programlı hücre ölümünün gerçekleştiği bilinmektedir. Bu bilgi ışığında PARP-1 enzimini inhibe edecek moleküllerin kanser tedavisi için faydalı olabileceği düşünülmektedir. Benzamid molekülüyle başlayan çalışmalar moleküler modelleme çalışmalarıyla devam etmektedir. Çok sayıda PARP-1 inhibitörünün klinik faz çalışmaları devam etmektedir. Faz çalışmalarının ardından bu moleküller sayesinde özellikle over ve göğüs kanseri gibi ölüm oranı yüksek ve tedavi maliyeti çok fazla olan kanserlerin tedavisinde yeni bir çığır açılmış olacaktır.

KAYNAKLAR

- Vos MD, Schreiber V, Dantzer F: The diverse roles and clinical relevance of PARPs in DNA damage repair: Current state of the art. *Biochem Pharmacol.* 2012; 84: 137-146.
- Emami S: Interplay between p-53 family, their regulators, and PARPs in DNA repair. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2011; 35: 98-104.
- Zhu G, Gong J, Gandhi VB, Liu X, Shi Y, Johnson EF, Donawho CK, Ellis PA, Bouska JJ, Osterling DJ, Olson AM, Park C, Luo Y, Shoemaker A, Giranda VL, Penning TD: Discovery and SAR of orally efficacious tetrahydropyridopyridazinone PARP inhibitors for the treatment of cancer. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012; 20: 4635-4645.
- Drew Y, Plummer R: PARP inhibitors in cancer therapy: Two modes of attack on the cancer cell widening the clinical applications. *Drug Resist Update.* 2009; 12: 153-156.
- Plummer R: Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors: From Bench to Bedside. *Clin Oncol.* 2014; 26: 250-256.
- Powell C, Mikropoulos C, Kaye SB, Nutting CM, Bhide SA, Newbold K, Harrington KJ: Pre-clinical and clinical evaluation of PARP inhibitors as tumor-specific radiosensitisers. *Cancer Treat Rev.* 2010; 36: 566-575.
- Giansanti V, Dona F, Tillhon M, Scovassi AI: PARP inhibitors: New tools to protect from inflammation. *Biochem Pharmacol.* 2010; 80: 1869-1877.
- Erie DA, Weninger KR: Single molecule studies of DNA mismatch repair. *DNA Repair.* 2014; 20: 71-81.
- Zhu Q, Wang X, Chu Z, He G, Dong G, Xu Y: Design, synthesis and biological evaluation of novel imidazo[4,5-c]pyridinecarboxamide derivatives as PARP-1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2013; 23: 1993-1996.
- Zhou D, Chu W, Xu J, Jones LA, Peng X, Li S, Chen DL, Mach RH: Synthesis, [18F] radiolabeling, and evaluation of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors for in vivo imaging of PARP-1 using positron emission tomography. *Bioorg Med Chem Lett.* 2014; 22: 1700-1707.
- Ishida J, Yamamoto H, Kido Y, Kamijo K, Murano K, Miyake H, Ohkubo M, Kinoshita T, Warizaya M, Iwashita A, Mihara K, Matsuoka N, Hattori K: Discovery of potent selective PARP-1 and PARP-2 inhibitors: SBDD analysis via a combination of X-ray structural study and homology modeling. *Bioorg Med Chem Lett.* 2006; 14: 1378-1390.
- Luo X, Kraus WL: A one and a two expanding roles for poly(ADP-ribose) polymerases in metabolism. *Cell Metab.* 2011: 353-355.
- Gandhi VB, Luo Y, Liu X, Shi Y, Klinghofer V, Johnson EF, Park C, Giranda VL, Penning TD, Zhu G: Discovery and SAR of substituted 3-oxoisindoline-4-carboxamides as potent inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) for the treatment of cancer. *Bioorg Med Chem Lett.* 2010; 20: 1023-1026.
- Meli E, Pangallo M, Baronti R, Chiarigu A, Cozzi A, Giampietro DEP, Moroni F: Poly (ADP-ribose) polymerase as a key player in excitotoxicity and post-ischemic brain damage. *Toxicol Lett.* 2003; 139: 153-162.
- Langelier MF, Riccio AA, Pascal JM: PARP-2 and PARP-3 are selectively activated by 5' phosphorylated DNA breaks through and allosteric regulatory mechanism shared with PARP-1. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42: 7762-7775.
- Ji Y, Tulin AV: The roles of PARP-1 in gene control and cell differentiation. *Curr Opin Genet Dev.* 2010; 20: 512-518.
- Burkle A, Virag L: Poly(ADP-ribose): PARadigms and PARadoxes. *Mol Aspects Med.* 2013; 34: 1046-1065.
- Weaver AN, Yang ES: Beyond DNA repair: additional functions of PARP-1 in cancer. *Front Oncol.* 2013;3 :290.
- Swindall AF, Stanley JA, Yang ES: PARP-1: Friend or foe of DNA damage and repair in tumorigenesis? *Cancers.* 2013; 5: 943-958.
- Kraus WL, Hottiger MO: PARP-1 and gene regulation: Progress and puzzles. *Mol Aspects Med.* 2013; 34: 1109-1123.
- Furgason JM, Bahassi EM: Targetting DNA repair mechanisms in cancer. *Pharmacol Therapeut.* 2013; 137: 298-308.
- Toss A, Cortesi L: Molecular mechanisms of PARP inhibitors in BRCA-related ovarian cancer. *Cancer Sci Ther.* 2013; 5: 409-416.
- Glendenning J, Tutt A: PARP inhibitors-current status and the walk towards early breast cancer. *The Breast.* 2011; 20: S12-S19.
- Curtin NJ, Szabo C: Therapeutic applications of PARP inhibitors: Anticancer therapy and beyond. *Mol Aspects Med.* 2013; 34: 1217-1256.
- Curtin NY: Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) and PARP inhibitors. *Drug Discov Today: Disease Models.* 2012; 9: e51-e58.

26. Sandhu SK, Yap TA, Bono JS. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors in cancer treatment: A clinical perspective. *Eur J Cancer*. 2010; 46: 9-20.
27. Giannini G, Battistuzzi G, Vesci L, Milazzo FM, Paolis FD, Barbarino M, Guglielmi MB, Carollo V, Gallo G, Artali R, Dallavalle S: Novel PARP-1 inhibitors based on a 2-propanoyl-3H-quinazolin-4-one scaffold. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014; 24: 462-466.
28. Hannigan K, Kulkarni SS, Bdzholia VG, Golub AG, Yarmoluk SM, Talele TT: Identification of novel PARP-1 inhibitors by structure-based virtual screening. *Bioorg Med Chem Lett*. 2013; 23: 5790-5794.
29. Scarpelli R, Boueres JK, Cerretani M, Ferrigno F, Ontoria JM, Rowley M, Fademrecht CS, Toniatti C, Jones P: Synthesis and biological evaluation of substituted 2-phenyl-2H-indazole-7-carboxamides as potent poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2010; 20: 488-492.
30. Pescatore G, Branca D, Fiore F, Kinzel O, Bufi LL, Muraglia E, Orvieto F, Rowley M, Toniatti C, Torrisi C, Jones P: Identification and SAR of novel pyrrolo[1,2-a]pyrazin-1(2H)-one derivatives as inhibitors potent poly(ADP-ribose) polymerase 1(PARP-1). *Bioorg Med Chem Lett*. 2010; 20: 1094-1099.
31. Wang L, Zhou X, Xiao M, Jiang N, Liu F, Zhou W, Wang X, Zheng Z, Li S: Synthesis and biological evaluation of substituted 4-(tiophen-2-ylmethyl)-2H-phythalazin-1-ones as potent PARP-1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. (2014).
32. Penning TD, Zhu G, Gandhi VB, Gong J, Thomas S, Lubisch W, Grandel R, Wernet W, Park CH, Fry EH, Liu X, Shi Y, Klinghofer V, Johnson EF, Donawho CK, Frost DJ, Diaz VB, Bouska JJ, Olson AM, Marsh KC, Luo Y, Rosenberg SH, Giranda VL: Discovery and SAR of 2-(1-propylpiperidin-4-yl)-1H-imidazole-4-carboxamide: A potent inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) for the treatment of cancer. *Bioorg Med Chem*. 2008; 16: 6965-6975.
33. Chen J, Peng H, He J, Huan X, Miao Z, Yang C: Synthesis of isoquinolinone-based tricycles as novel poly(ADP-ribose) polymerase (PARP-1) inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014; 24: 2669-2673.
34. Pellicciari R, Camaioni E, Costantino G, Marinozzi M, Macchiarulo A, Moroni F, Natalini Benedetto: Towards new neuroprotective agents: design and synthesis of 4H-thieno[2,3-c] isoquinolin-5-one derivatives as potent PARP-1 inhibitors. *Il Farmaco*. 2003; 58: 851-858.
35. Liu JF, Konstantinopoulos PA, Matulonis UA: PARP inhibitors in ovarian cancer: Current status and future promise. *Gynecol Oncol*. 2014; 133: 362-369.
36. Cincinelli R, Musso L, Merlini L, Giannini G, Vesci L, Milazzo FM, Carenini N, Perego P, Penco S, Artali R, Zunino F, Pisano C, Dallavalle S: 7-Azaindole-1-carboxamides as a new class of PARP-1 inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2014; 22: 1089-1103.
37. Godoy JMP, Godoy MFG: Evaluation of new approach to the treatment of lymphedema resulting from breast cancer therapy. *Eur J Intern Med*. 2013; 24: 59-62.
38. Beauchamp MC, Knafo A, Yasmeen A, Carboni JM, Gottardis MM, Pollak MN, Gotlieb WH: BMS-536924 sensitizes human epithelial ovarian cancer cells to the PARP inhibitor, 3-aminobenzamide. *Gynecol Oncol*. 2009; 115: 193-198.
39. Schmid BC, Oehler MK: New perspectives in ovarian cancer treatment. *Maturitas*. 2014; 77: 128-136.
40. Murai J, Marchand C, Shahane SA, Sun H, Huang R, Zhang Y, Chergui A, Ji J, Doroshov JH, Jadhav A, Takeda S, Xia M, Pommier Y: Identification of novel PARP inhibitors using a cell-based TDP1 inhibitory assay in a quantitative high-throughput screening platform. *DNA Repair*. (2014). <http://dx.doi.org/10.1016/j.dnarep.2014.03.006>.
41. Reinbolt RE, Hays JL: The role of PARP inhibitors in the treatment of gynecologic malignancies. *Front Oncol*. 2013; 3: 1-12.
42. Koppensteiner R, Samartzis EP, Noske A, Teichman AV, Dedes I, Gwerder M, Imesch P, Ikenberg K, Moch H, Fink D, Stucki M, Dedes KJ: Effect of MRE11 loss on PARP inhibitor sensitivity in endometrial cancer in vitro. *Plos One*. 2014; 9: e100041.
43. Miyasaka A, Oda K, Ikeda Y, Hiraike O, Kashiya T, Enomoto A, Hosoya N, Koso T, Fukuda T, Inaba K, Sone K, Uehara Y, Kurikava R, Nagasaka K, Matsumoto Y, Arimoto T, Nakagawa S, Kuramoto H, Miyagawa K, Yano T, Kawana K, Osuga Y, Fujii T: Anti-tumor activity of olaparib, a poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor, in cultured endometrial carcinoma cells. *BMC Cancer*. 2014; 14: 179.
44. Leal AP, Vargas JMR, Quesada RA, Rodriguez MI, Linares JL, Almodovar MR, Oliver FJ: PARP inhibitors: New partners in the therapy of cancer and inflammatory diseases. *Free Radical Bio Med*. 2009; 47: 13-26.
45. Sodhi RK, Singh N, Jaggi AS: Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) and its therapeutic implications. *Vasc Pharmacol*. 2010; 53: 77-87.