สารโปรดรักส์ที่ถูกกระตุ้นในสภาวะพร่องออกซิเจนกับการรักษามะเร็ง

Hypoxia-activated Prodrugs and Cancer Treatment

พิชิต สุดตา

หน่วยวิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี เมืองเพชรบุรี 76000

บทคัดย่อ

มะเร็งเป็นหนึ่งในสาเหตุการตายที่มากที่สุดที่เกิดขึ้นทั่วโลก วิธีการรักษามะเร็งในปัจจุบันมักใช้การให้ยาเพื่อยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งแต่ยาส่วนใหญ่มักมีความเป็นพิษสูงจึงเป็นข้อจำกัดของความจำเพาะในการรักษามะเร็งด้วยยา ก้อนมะเร็ง (solid tumour) ที่พบในบริเวณที่มีปริมาณของออกซิเจนต่ำ ซึ่งเรียกว่าตำแหน่งพร่องออกซิเจน (hypoxia regions) มักดื้อต่อการรักษาทั้งการฉายรังสีและการให้ยา ถึงอย่างไรก็ตามการมีสภาวะพร่องออกซิเจนในมะเร็งนับเป็นโอกาสที่ดีในการค้นพบวิธีรักษามะเร็งอย่างจำเพาะเจาะจง prodrugs ที่ถูกกระตุ้นในสภาวะพร่องออกซิเจนได้ถูกออกแบบขึ้นให้มีความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งถือว่าเป็นตำแหน่งที่มีปริมาณของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยารีดักชันจำนวนมาก ส่วนใหญ่สาร prodrugs เหล่านี้มักมีหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญได้แก่ nitroaromatic *N*-oxide และ metal complexes ซึ่งบางชนิดอยู่ในระหว่างการศึกษาในระดับคลินิก บทความนี้ได้มุ่งเน้นการกล่าวถึงสมบัติเคมีการแพทย์ของ prodrugs ที่ถูกกระตุ้นในสภาวะพร่องออกซิเจนบางชนิด ตลอดทั้งกลไกการกระตุ้นและการปลดปล่อยโมเลกุลของยาที่แสดงฤทธิ์

คำสำคัญ: มะเร็ง โปรดรักส์ มะเร็งพร่องออกซิเจน

Abstract

Cancer is one of the most leading causes of death worldwide. Conventional cancer therapies has traditionally involved maximum tolerated dose of combinations of highly toxic antiproliferative agents that show limited selectivity for tumours. Solid tumours contain regions at very low oxygen concentration (hypoxic regions). The cells in these hypoxic regions are resistant to both radiotherapy and chemotherapy. However, the existence of hypoxia provides an opportunity for tumour-selective therapy. The prodrugs activated by hypoxia have been designed to target hypoxic tumour tissues, which are known to overexpress several endogenous reductive enzymes. These prodrugs often contain functional groups such as nitroaromatic , *N*-oxide and metal complexes which are in various stages of clinical trial. This review mainly focuses on the medicinal chemistry aspects of some of hypoxia-activated anti-cancer prodrugs including the mechanism of activation and release of active drug molecules.

Keywords: cancer, prodrug, hypoxic tumour

บทนำ

ในปัจจุบันมะเร็งยังเป็นโรคร้ายแรงที่ยากต่อการรักษาให้หายขาด เนื่องมาจากเซลล์มะเร็งมีการกระจายตัวอย่างรวดเร็วและเกิดการคุกคามไปยังเซลล์ข้างเคียงอื่นๆ ส่งผลให้ผู้ป่วยส่วนมากกว่าจะรู้ตัวว่าป่วยเป็นมะเร็งก็อยู่ในระยะที่อันตรายแล้วและยากต่อการรักษาให้หายขาดมีเพียงแต่การหาแนวทางเพื่อยื้อชีวิตของผู้ป่วยให้อยู่อย่างยาวนานเท่าที่จะเป็นไปได้เท่านั้น เมื่อมีจำนวนของผู้ป่วยมะเร็งเพิ่มสูงขึ้นในแต่ละปีทำให้นักวิทยาศาสตร์การแพทย์มีความตื่นตัวมากขึ้นในการคิดค้นหาวิธีที่ดีที่สุดในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งได้ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น ปัจจุบันการรักษาผู้ป่วยมะเร็งทำได้โดยการผ่าตัด (surgery) การทำรังสีบำบัด (radiotherapy) หรือเคมีบำบัด (chemotherapy) หรือแม้แต่การรักษาโดยใช้หลายวิธีเหล่านี้ร่วมกัน (combination method) ขึ้นอยู่กับสภาพพยาธิของมะเร็งแต่ละชนิด และสภาพของผู้ป่วยมะเร็งเอง และเมื่อกล่าวถึงการใช้วิธีแบบร่วมรักษานิยมใช้วิธีเคมีบำบัดร่วมกับการทำรังสีบำบัด ซึ่งวิธีการดังกล่าวจะใช้แก้ปัญหาในกรณีที่มะเร็งบางชนิดไม่สามารถรักษาด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งได้ เนื่องมาจากการมีข้อจำกัดบางประการของแต่ละวิธี เช่น มะเร็งที่เป็นก้อน (solid tumour) จะมีข้อจำกัดในการรักษาด้วยการทำรังสีบำบัดเนื่องจากมะเร็งประเภทนี้มีสภาพพร่องออกซิเจน และเรียกมะเร็งที่มีสภาพดังกล่าวนี้ว่า hypoxic tumour หรือมะเร็งบางชนิดไม่สามารถใช้ยาต้านมะเร็งในการรักษาในปริมาณยาที่เพียงพอได้ เนื่องจากยามีการสลายตัวในระหว่างการลำเลียงสู่เซลล์เป้าหมาย หรือยาบางชนิดออกฤทธิ์อย่างไม่จำเพาะเจาะจงต่อเซลล์เป้าหมายแล้วก่อให้เกิดความเป็นพิษสูงหรือเกิดผลข้างเคียงที่รุนแรง นักวิทยาศาสตร์จึงได้คิดค้นเทคโนโลยีสมัยใหม่ในการพัฒนายาต้านมะเร็งที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์เป้าหมายขึ้นในรูปแบบที่เรียกกันว่า anti-cancer prodrugs ทั้งที่ใช้เป็นยาเดี่ยวและใช้ร่วมกับการทำรังสีบำบัด

prodrug คือ โมเลกุลของสารที่ไม่แสดงสมบัติทางยา (inactive form) เมื่ออยู่ภายนอกเซลล์ แต่จะแสดงสมบัติทางยา (active form) เมื่อโมเลกุลเกิดการเปลี่ยนแปลงด้วยกระบวนการเคมีภายในเซลล์ทั้งปฏิกิริยาที่อาศัยและไม่อาศัยเอนไซม์ (Figure 1) เทคโนโลยีการเตรียม prodrugs ได้ถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและแก้ปัญหาบางประการของสารบางชนิดซึ่งเดิมเคยเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงแต่ไม่สามารถนำไปพัฒนาต่อเป็นยารักษาโรคได้เนื่องมาจากคุณสมบัติทางจลนเภสัชวิทยา (pharmacokinetic) บางอย่างไม่เหมาะสม เช่น การละลายน้ำต่ำ สลายตัวได้ง่ายภายในระบบหมุนเวียนเลือด มีความเป็นพิษสูงเนื่องจากการออกฤทธิ์อย่างไม่จำเพาะ [1] เป็นต้น ในบางครั้งการให้ความหมายของ prodrug ก็แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับโมเลกุลยาเริ่มต้น และรูปแบบของการเชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลของยา เช่น สาร dual action prodrug หรือ co-drug หมายถึง โมเลกุลสารที่เกิดจากการนำเอาโมเลกุลของยาสองชนิดมาเชื่อมต่อกันโดยวิธีทางเคมีให้เป็นสารเพียงหนึ่งโมเลกุล และไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งเรียกแต่ละโมเลกุลว่า promoiety ในกรณีซึ่งสารบางชนิดมีลักษณะของการเป็น prodrug ที่ต่างจากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น นั่นคือเป็น prodrug ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารโดยการเชื่อมต่อกับ promoiety หรือ โมเลกุลที่เป็นตัวพา (carriers) แต่อย่างใดก็ตามเมื่อสารนี้ผ่านเข้าสู่เซลล์แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงด้วยปฏิกิริยาทางชีวเคมีหรือกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่างๆ จะเกิดเป็นโมเลกุลที่แสดงฤทธิ์เป็นยาขึ้นภายในเซลล์โดยเรียกโมเลกุลของสารนี้ว่า bioprecursor prodrugs [2] การค้นพบความรู้ใหม่เรื่องของการสังเคราะห์ prodrug นี้นับเป็นการค้นพบที่มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการนำมาประยุกต์ใช้ในการค้นหายาต้านมะเร็งโมเลกุลใหม่ๆ และมีกลไกการออกฤทธิ์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งมากยิ่งขึ้น ทำให้มีงานวิจัยทางเคมีจำนวนมากได้ให้ความสนใจในการเตรียม prodrug เพื่อพัฒนาโมเลกุลของยาต้านมะเร็งให้มีประสิทธิภาพในการรักษาสูงสุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์มะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจน หรือที่เรียกว่า hypoxic cells

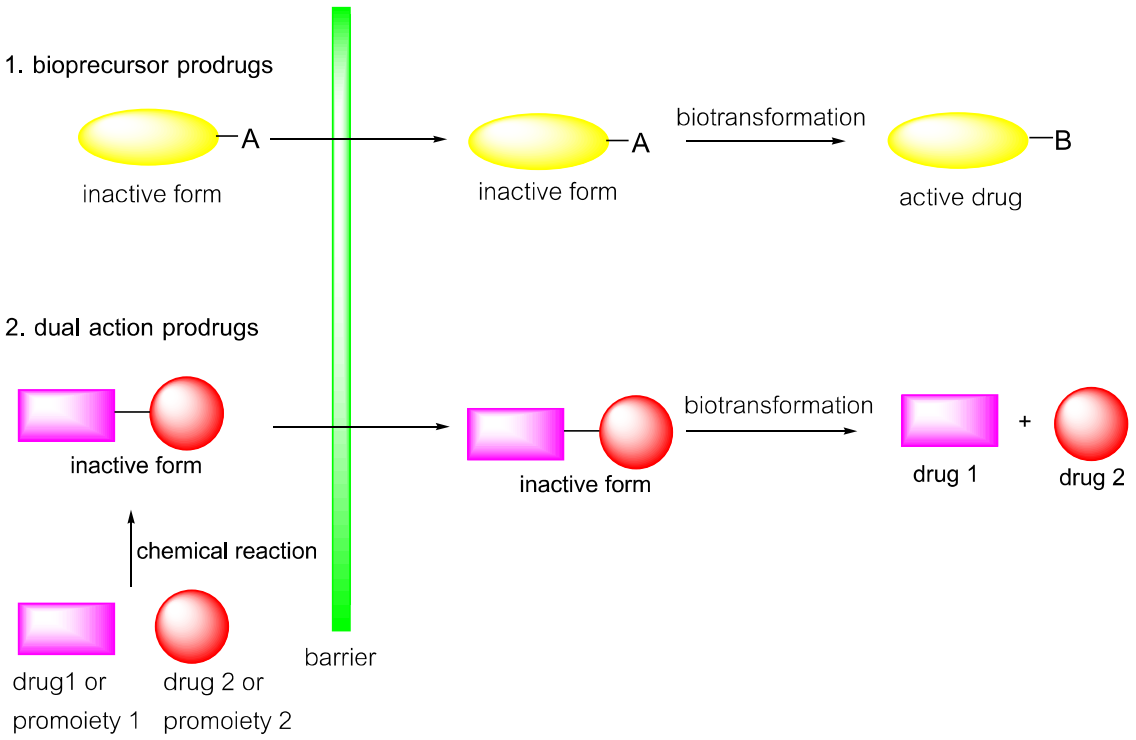


Figure 1. Prodrugs and the formation of active drugs inside the cells

เนื้อเยื่อหรือเซลล์ที่มีสภาวะพร่องออกซิเจน (tissue hypoxia หรือ cell hypoxia) เป็นผลมาจากการที่เนื้อเยื่อหรือเซลล์นั้นมีระดับของออกซิเจนต่ำกว่าปกติมาก ซึ่งสภาวะเช่นนี้มักเกิดกับเซลล์ที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วอย่างเช่นเซลล์มะเร็งและโดยมากจะพบในมะเร็งที่เป็นก้อน (solid tumours) การที่มะเร็งมีสภาวะพร่องออกซิเจนนี้ทำให้มะเร็งเกิดการดื้อหรือต้านต่อการรักษาทั้งการทำเคมีบำบัด และรังสีบำบัดเนื่องมาจากการมีลักษณะเฉพาะ และกิจกรรมของเซลล์บางอย่างที่แตกต่างจากเซลล์ปกติ ส่งผลให้การออกแบบโมเลกุลยา หรือการคิดค้นวิธีใหม่เพื่อใช้ในการรักษามะเร็งของนักวิทยาศาสตร์โดยอาศัยสมบัติบางประการที่โดดเด่นนี้ในเซลล์มะเร็งมาสร้างโมเลกุลยาหรือเทคนิคการรักษามะเร็งที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง [3] ในบทความนี้จึงได้กล่าวถึงความสำคัญของสภาวะพร่องออกซิเจนของมะเร็งกับปัญหาในการรักษามะเร็ง อันนำไปสู่การออกแบบการสังเคราะห์โมเลกุลของ prodrugs ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อ hyproxic tumour ทั้งที่เป็นโมเลกุลที่อยู่ในระหว่างการพัฒนา หรือมีการนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งแล้ว

สภาวะพร่องออกซิเจนในมะเร็ง

สภาวะพร่องออกซิเจนของเซลล์ เกิดจากการมีระดับของออกซิเจนภายในเซลล์ต่ำ ซึ่งอาจเกิดมาจากหลายปัจจัยเช่น การมีภาวะโลหิตจาง (anemia) ทำให้ประสิทธิภาพในการลำเลียงแก๊สออกซิเจนต่ำลง หรือความสามารถในการแพร่ผ่านของออกซิเจนจากเส้นเลือดสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ลดลงเนื่องจากมีระยะห่างมาก [4] และมักพบลักษณะเช่นนี้มากในเซลล์มะเร็งที่เป็นก้อน เมื่อมะเร็งมีการเจริญเติบโตโดยการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วจึงจำเป็นต้องมีการสร้างเส้นเลือดขึ้นมาใหม่เป็นจำนวนมากเพื่อให้มีการลำเลียงสารอาหารและแก๊สออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์อย่างเพียงพอ และจากการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์พบว่าภายในเซลล์มะเร็ง

บริเวณที่มีปริมาณของเส้นเลือดแดงต่ำจะเกิดภาวะพร่องออกซิเจนขึ้น เรียกว่า hypoxic region [5] จากการศึกษาถึงสภาพธรรมชาติของก้อนมะเร็งของนักวิทยาศาสตร์พบว่าบริเวณศูนย์กลางของกลุ่มเซลล์ของก้อนมะเร็งเป็นบริเวณที่เซลล์มักมีการตายแบบ necrosis (Figure 2) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการมีปริมาณของออกซิเจน และน้ำตาลกลูโคสต่ำ [6]

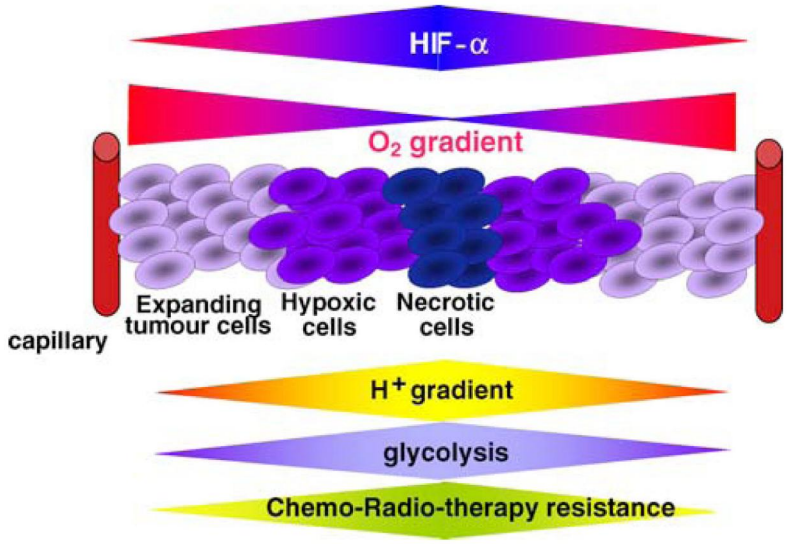


Figure 2. The characteristics of hypoxic tumours mass [6]

จาก Figure 2 แสดงให้เห็นว่า เส้นเลือดแดงทำหน้าที่ขนส่งแก๊สออกซิเจนให้กับเซลล์มะเร็งซึ่งมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงมาก (บริเวณ A) และมีเซลล์บางกลุ่มที่มีระยะห่างจากเส้นเลือดค่อนข้างมาก ทำให้ออกซิเจนแพร่มายังบริเวณนี้ในปริมาณน้อยทำให้เกิดสภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งเรียกเซลล์กลุ่มนี้ว่า hypoxic cells (บริเวณ B) ส่วนบริเวณศูนย์กลางของกลุ่มเซลล์มะเร็งซึ่งถูกล้อมรอบด้วย hypoxic cells และเป็นบริเวณที่มีปริมาณออกซิเจน และกลูโคสต่ำสุดจึงทำให้เซลล์ในบริเวณนี้เกิดการตายของเซลล์แบบ necrosis เรียกเซลล์บริเวณนี้ว่า necrotic cells และบริเวณนี้จะพบเอนไซม์ และตัวกระตุ้นการทำงานของเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น hypoxia-inducible factor (HIF-α) [7] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าที่สภาวะพร่องออกซิเจนของมะเร็งมีค่า pH ค่อนข้างเป็นกรด (pH 7.05) เมื่อเทียบกับค่า pH ของเซลล์ปกติ (pH 7.3) [8] โดยค่า pH ที่ลดลงนี้เนื่องมาจากการมีกระบวนการไกลโคลิซิส (glycolysis) ค่อนข้างสูงเกิดเป็นกรดแลกติก (lactic acid) [9] หรือแม้แต่การเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชัน (hydration) ของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นกรดคาร์บอนิก (carbonic acid) โดยเอนไซม์ carbonic anhydrases [10] การมีลักษณะบางประการที่แตกต่างจากเซลล์ปกติของ hypoxic tumours ดังได้กล่าวแล้วข้างต้นและสมบัติอื่นๆ ที่ไม่ได้กล่าวในที่นี้ทำให้มะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจนมีความสามารถในการต้านการรักษาทั้งการรักษาโดยเคมีบำบัด และการทำรังสีบำบัด

การต้านการทำรังสีบำบัดของ hypoxic tumour cells

ในช่วงปี ค.ศ. 1970 นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามหาเทคนิคใหม่ๆในการฉายรังสีให้กับ hypoxic tumours จนกระทั่งได้มีการค้นพบสารเคมีโมเลกุลขนาดเล็ก นั่นคือสาร nitroimidazoles และสารนี้ถูก

ใช้เป็นสาร photo sensitizer แทนออกซิเจนในการฉายรังสี ผลการทดลองจากการใช้สารในกลุ่ม nitroimidazoles เช่น metronidazole misonidazole และ etanidazole ร่วมกับการฉายรังสีพบว่าให้ผลที่ไม่แตกต่างกันกับการไม่ใช้ photo sensitizers ซึ่งอาจเนื่องมาจากสารเหล่านี้มีความเป็นพิษสูงจึงไม่สามารถให้กับผู้ป่วยในปริมาณที่สูงได้ [11] เมื่อการใช้สาร photo sensitizers ร่วมกับการทำรังสีบำบัดในการรักษามะเร็งไม่ได้ผลตามที่คาดหวังทำให้นักวิจัยพยายามตั้งคำถามนานาประการเพื่อนำไปสู่การหาคำตอบในการแก้ปัญหาการรักษา solid cancer ด้วยการทำรังสีบำบัด เมื่อวิวัฒนาการด้านการแพทย์มีความทันสมัยขึ้น เมื่อปี ค.ศ. 1990 ได้มีการนำเอาอิเล็กโทรดที่เรียกว่า “Eppendorf electrode” มาใช้ในการวัดระดับของแก๊สออกซิเจนที่ถูกต้องในเซลล์มะเร็งของมนุษย์ ปกติระดับของออกซิเจนที่บริเวณเซลล์มะเร็งจะต่ำมาก คือประมาณ 5 มิลลิเมตรของปรอท (5 mmHg) หรือประมาณ 0.7% ของแก๊สทั้งหมดในเซลล์ และจัดว่าอยู่ในระดับต่ำเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ ดังแสดงใน Table 1 ทำให้สรุปได้ว่ายิ่งมีสภาวะพร่องออกซิเจนในเซลล์เพิ่มมากขึ้นทำให้การทำรังสีบำบัดมีแนวโน้มประสบกับความล้มเหลวเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน

Table 1 The comparison of oxygen partial pressures of cancer with normal cells [11]

ประภทเซลล์มะเร็ง	ค่าเฉลี่ยปริมาณออกซิเจนของมะเร็ง*	ค่าเฉลี่ยปริมาณออกซิเจนของเซลล์ปกติ*
มะเร็งสมอง (glioblastoma)	5.6	-
มะเร็งปอด (lung cancer)	7.5	38.5
มะเร็งเต้านม (breast cancer)	10.0	-
มะเร็งตับอ่อน (pancreatic cancer)	2.7	51.6
มะเร็งปากมดลูก (cervical cancer)	5.0	51.0
มะเร็งต่อมลูกหมาก (prostate cancer)	2.4	30.0

* The oxygen partial pressures were measured by Eppendorf electrode and recorded as mean values in mmHg (millimeters of mercury)

กลไกการต้านการถูกทำลายด้วยการฉายรังสีของมะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจน (hypoxic condition) เทียบกับสภาวะที่มีออกซิเจน (aerobic condition) มีดังนี้ เมื่อเซลล์มะเร็งได้รับการฉายรังสีจะทำให้ดีเอ็นเอ (DNA) ของมะเร็งเปลี่ยนเป็น DNA free radical ($DNA^{\bullet}$) ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาแบบมีการแข่งขันระหว่างสภาวะที่มีออกซิเจน และ ในสภาวะพร่องออกซิเจน ในสภาวะพร่องออกซิเจน DNA free radical ($DNA^{\bullet}$) ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยารีดักชัน (reduction reaction) กับสารประกอบไธออล (R-SH) ที่อยู่ภายในเซลล์ทำให้ DNA free radical ($DNA^{\bullet}$) ของมะเร็งเปลี่ยนกลับไปเป็นดีเอ็นเอที่มีสภาพปกติ ดังนั้นในสภาวะพร่องออกซิเจนจึงไม่สามารถทำให้เซลล์มะเร็งถูกทำลายได้ ในกรณีของสภาวะที่มีออกซิเจน DNA free radical ($DNA^{\bullet}$) ที่เกิดจากการฉายรังสีจะถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนเป็น DNA peroxy free radicals ($DNA\text{-}OO^{\bullet}$) ซึ่งทำให้สายดีเอ็นเอเกิดความเสียหาย (DNA damage) และนำไปสู่การตายของเซลล์มะเร็งในที่สุด (Figure 3) ดังนั้นการทำรังสีบำบัดผู้ป่วยมะเร็งด้วยการทำ ionizing radiation จะได้ผลดีก็ต่อเมื่อเซลล์ไม่มีสภาวะพร่องออกซิเจน

ถึงอย่างไรก็ตามนอกจากมะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจนจะต้านการรักษาด้วยการทำรังสีบำบัดแล้ว ยังต้านการรักษาด้วยยาเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากเซลล์มะเร็งมีแนวโน้มที่จะเกิดการกลายพันธุ์ มีการสร้างยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ และสร้างยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งที่ยากต่อการทำลาย [12] จึงทำให้มะเร็งเหล่านี้ลงท้ายต้องรักษาด้วยการผ่าตัดซึ่งเป็นวิธีที่เป็นอันตรายมากต่อผู้ป่วย ดังนั้นจึงทำให้การมีสภาวะพร่องออกซิเจนของเซลล์มะเร็งได้กลายเป็นกุญแจสำคัญที่จะนำไปสู่การออกแบบสังเคราะห์ยาที่มีฤทธิ์รักษาอย่างมีความจำเพาะ

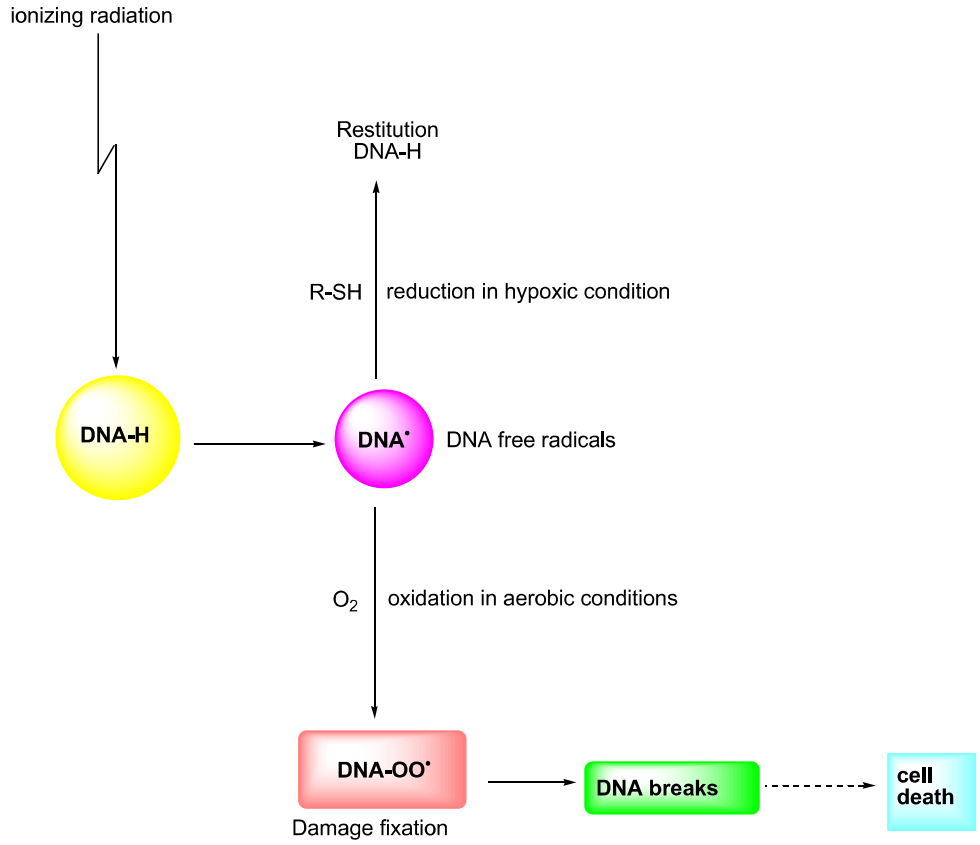


Figure 3. The ionizing radiation of cancer cells in normal and hypoxic condition [12]

ขั้นการทดลองในมนุษย์ของ prodrugs ที่ถูกกระตุ้นในสภาวะพร่องออกซิเจน

โมเลกุล prodrug ของยาต้านมะเร็งซึ่งไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพถูกออกแบบและสังเคราะห์ขึ้นให้สามารถเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่มีฤทธิ์ทางยาโดยอาศัยสมบัติการมีออกซิเจนต่ำในเซลล์มะเร็งซึ่งมีกลไกที่คาดว่าจะเกิดขึ้นดังแสดงใน Figure 4 และพบว่าในสภาวะพร่องออกซิเจน โมเลกุลของ prodrug ต้องใช้อิเล็กตรอน 1 อิเล็กตรอนจากเอนไซม์ one-electron reductase เช่น cytochrome P450 reductase ในการรีดิวซ์ให้กลายเป็น prodrug radical ($prodrug^{-\bullet}$) แล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในโมเลกุลเพื่อปลดปล่อยยาที่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็ง ในขณะที่สภาวะที่มีออกซิเจน prodrug radical ($prodrug^{-\bullet}$) ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจนเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับให้โมเลกุลของ prodrug ที่ไม่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ

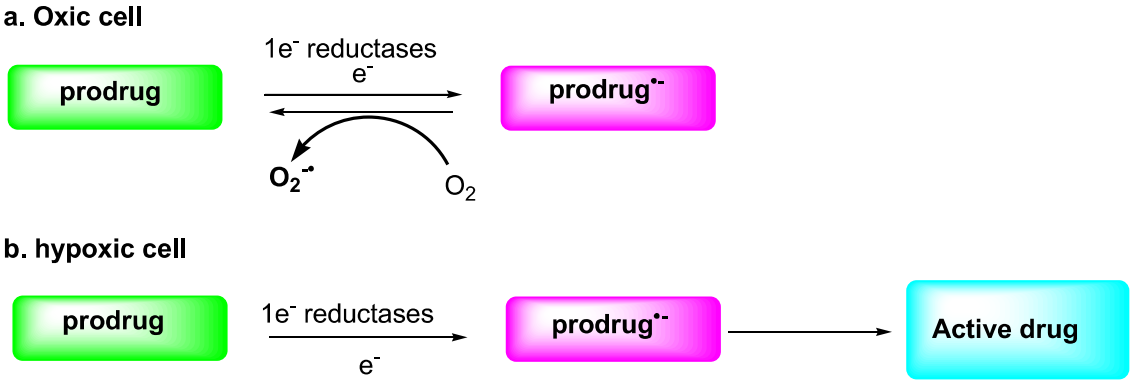


Figure 4. Reduction of prodrugs inside the cells (a) oxic cells (b) hypoxic cells

ในปัจจุบันมีการนำเอา prodrugs ที่ถูกกระตุ้นในสภาวะพร่องออกซิเจนบางชนิดมาทำการศึกษาสมบัติในขั้นก่อนการทดลองในมนุษย์ (preclinical trials) เพื่อพัฒนาต่อในการเป็นยารักษามะเร็ง เช่น

- **Tirapazamine (TPZ, 1)**

tirapazamine (TPZ,**1**) เป็น prodrug ที่มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งที่มีความจำเพาะในสภาวะพร่องออกซิเจน โดยกลไกการออกฤทธิ์มาจากการเกิดเป็น tirapazamine free radical (TPZ$^{\bullet}$) เมื่อโมเลกุลของ tirapazamine ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ 1e^{-} reductases ในสภาวะพร่องออกซิเจน และสารไม่เสถียรนี้จะเกิดปฏิกิริยาต่อภายในเซลล์ให้ hydroxyl radical [OH$^{\bullet}$] [13] หรืออาจมีการสูญเสียโมเลกุลของน้ำแล้วได้ benzothiazinyl radical (BTZ$^{\bullet}$) ดัง Figure 5 อนุมูลอิสระทั้ง 2 ชนิดนี้จะเข้ายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ topoisomerase II ทำให้มะเร็งไม่สามารถจำลองสายดีเอ็นเอได้เป็นผลให้มะเร็งเกิดการตายในที่สุด การนำเอาสาร tirapazamine มาใช้เป็น prodrug ในการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งมีทั้งการใช้เป็นยาเดี่ยว และใช้ร่วมกับยาต้านมะเร็งชนิดอื่นๆ เช่น ใช้ร่วมกับยา cis-platin ในการยับยั้งมะเร็งปอดประเภท non small-cell lung พบว่าผลการยับยั้งของ cisplatin มีประสิทธิภาพสูงขึ้น [14] แต่อย่างไรก็ตามการใช้ tirapazamine ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกการออกฤทธิ์ในสภาวะพร่องออกซิเจนเนื่องจากการให้ยาในปริมาณสูงทำให้เกิดผลข้างเคียง เช่น การมีภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ (neu-tropaenia) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารที่เป็นอนุพันธ์ของ tirapazamine อีกหลายชนิดที่อยู่ในระหว่างการ

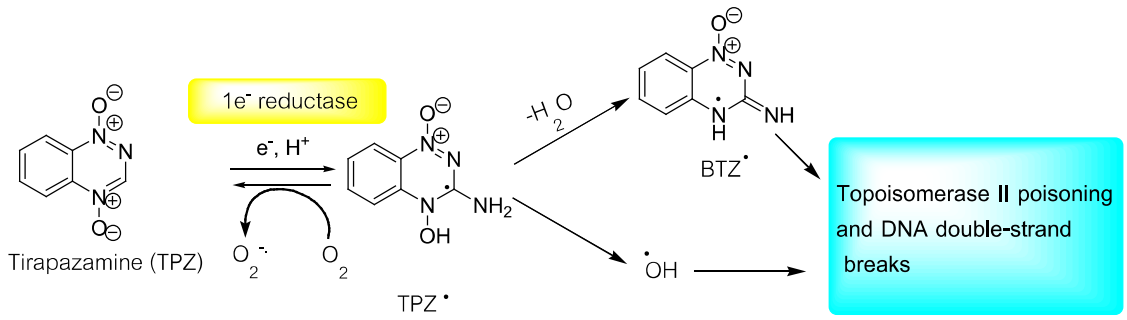


Figure 5. The formation of active molecules from the transformation of tirapazamine (TPZ, **1**) in hypoxic regions [11]

ทดสอบการเป็น prodrug ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งในสภาวะพร่องออกซิเจน เช่น benzo-1,2,4-triazine 1,4-dioxide (**2**) quinoxaline 1,4-dioxide (**3**) และ phenazine 5,10-dioxides (**4**) (Figure 6) [15]

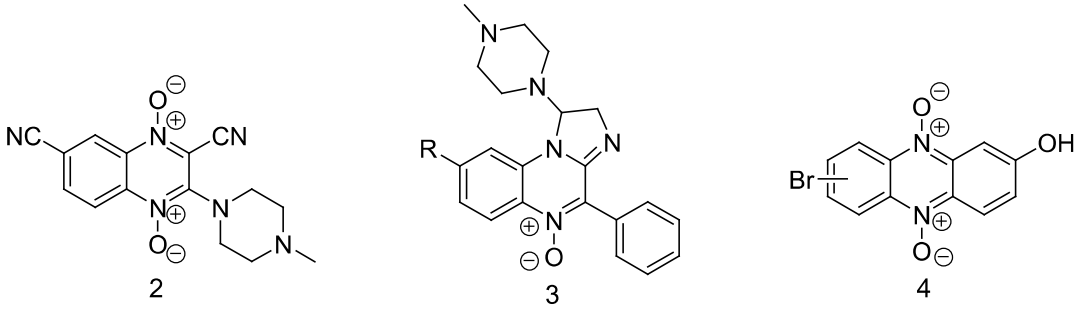


Figure 6. Structures of tirapazamine prodrug derivatives **2**-**4**

- **AQ4N (5)**

AQ4N (**5**) เป็น prodrug ที่ถูกออกแบบมาให้มีความจำเพาะเจาะจงต่อการทำลายเซลล์มะเร็งในสภาวะพร่องออกซิเจน และเป็นโมเลกุลที่อยู่ในระหว่างการทดลองทางคลินิก สาร **5** มีโครงสร้างหลักเป็นสารในกลุ่มแอนทราควิโนน (antraquinone) และมีโซ่กิ่งเป็นหมู่ alkyl tertiary amine *N-oxides* (Figure 7) ซึ่งเป็นส่วนที่สารนี้มีความคล้ายคลึงกับ tirapazamine (**1**) แต่กลไกการออกฤทธิ์ของ AQ4N (**5**) ค่อนข้างมีความชัดเจนและแตกต่างจากของสาร 1 โดยมีเอนไซม์ในกลุ่ม cytochrome C P450 reductase ทำหน้าที่ที่สำคัญในการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ prodrug **5** ในสภาวะพร่องออกซิเจน สารนี้จะเกิดการสอดแทรก (intercalation) ในเกลียวคู่ของดีเอ็นเอ โดยหมู่ tertiary amine *N-oxide* ของสาร **5** จะถูกออกซิไดซ์ด้วยเอนไซม์ cytochrome C P450 reductase ให้เป็นหมู่ tertiary amine (AQ4) ในสภาวะพร่องออกซิเจนแล้วเกิดอันตรกิริยากับสายดีเอ็นเอแบบ electrostatic binding ทำให้การแบ่งเซลล์และการเพิ่มจำนวนเซลล์ของมะเร็งหยุดชะงักลง นักวิจัยพบว่าการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของ prodrug **5** นี้มีความเฉพาะเจาะจงกับเซลล์มะเร็งประเภท hypoxic cells สูงมากและกระบวนการเปลี่ยนแปลงเพื่อให้ได้โมเลกุลที่แสดงฤทธิ์นี้จะชงักลงเมื่อมีออกซิเจนเข้าร่วมในการเกิดปฏิกิริยา [16] และที่สำคัญ prodrug AQ4N (**5**) ได้ผ่านการทดสอบสมบัติการเป็นสารยับยั้งมะเร็งในทางคลินิกเฟส 1 แล้ว [17]

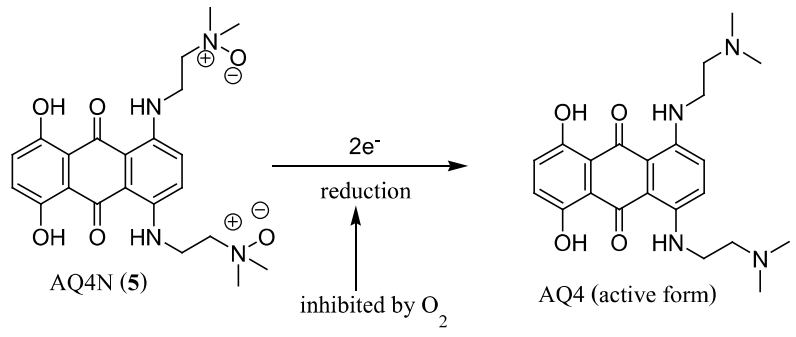


Figure 7. Enzymatic reduction of AQ4N (**5**) into active AQ4 in hypoxic condition

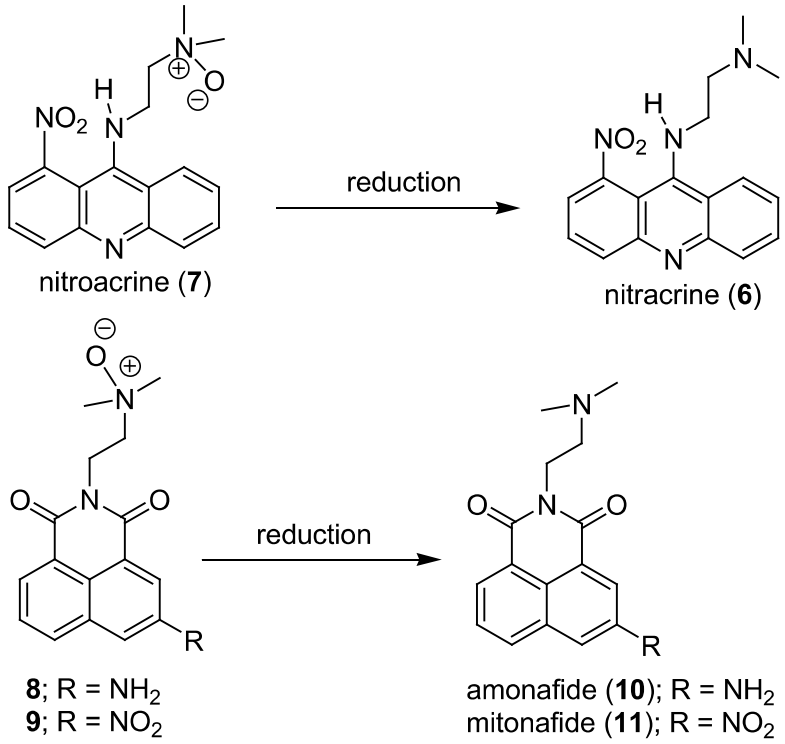


Figure 8. Structures of nitracrine (**6**), nitroacrine (**7**), amonade (**10**) and mitonade (**11**)

- **Nitracrine (6)**

nitracrine (**6**) หรือ 1-nitroacridine เป็นสารในกลุ่ม acridine (Figure 8) ที่แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งในหลอดทดลอง *(in vitro)* โดยมีกลไกการออกฤทธิ์แบบเกิดการแทรกสอด (intercalation) ในสายดีเอ็นเอเช่นเดียวกับสาร **5** จากผลการวิจัยเพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งในสิ่งมีชีวิต *(in vivo)* ของสาร **6** พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งที่ต่ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไม่มีความจำเพาะในสภาวะพร่องออกซิเจน [18]

- **Nitroacrine (7)**

โมเลกุลของ nitroacrine (**7**) ถูกดัดแปลงมาจากสาร **6** โดยเตรียมให้มีโครงสร้างหลักเป็น acridine และมีโซ่กิ่งเป็น tertiary amine *N*-oxide (Figure 8) สารนี้มีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนกับ AQ4N (**5**) นักวิจัยพบว่าสารนี้มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งอย่างมีความจำเพาะในสภาวะพร่องออกซิเจนที่สูงกว่า AQ4N (**5**) ถึง 1,000 เท่า แต่สารนี้มีข้อเสียบางประการที่ทำให้ต้องมีการพัฒนาต่อเพื่อให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นเนื่องจากสารนี้สลายตัวได้ง่ายมากและมีอัตราการแพร่ถึงเซลล์เป้าหมายที่ต่ำทำให้ประสิทธิภาพในการแสดงฤทธิ์ลดลง [18]

นอกจากนี้แล้วยังมีงานวิจัยหลายงานวิจัยที่ได้พยายามออกแบบโมเลกุลของ prodrugs ใหม่ๆ โดยยังอาศัยข้อดีของการมีหมู่ alkyl tertiary amine *N*-oxides ในโมเลกุลเพื่อเพิ่มความจำเพาะในการออกฤทธิ์และเพื่อลดการมีอาการข้างเคียงต่างๆ เช่น ความเป็นพิษต่อระบบประสาท ความสามารถในการผลิตเม็ดเลือด

ลดลง (myelosuppression) อาการอาเจียน และการมีผื่นแดง (erytherma) เป็นต้น จึงได้สังเคราะห์สารใหม่ที่มีโครงสร้างหลักเป็น naphthalimide เช่น prodrug **8** และ prodrug **9** (Figure 8) ขึ้นเพื่อศึกษาฤทธิ์ในการเป็นสารต้านมะเร็ง จากรายงานการวิจัยพบว่าสารเหล่านี้ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase I และยับยั้งการสร้างดีเอ็นเอของมะเร็ง โดยผ่านปฏิกิริยารีดักชันที่อาศัยเอนไซม์ให้โมเลกุลที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งนั่นคือสาร amonade (**10**) และ mitonade (**11**) ตามลำดับ แต่ prodrugs ทั้งสองชนิดมีความจำเพาะต่อมะเร็งประเภท hypoxic cell ค่อนข้างต่ำมากจึงอยู่ในระหว่างการพัฒนาต่อ [19]

Hypoxia prodrugs ซึ่งอยู่ในช่วงการศึกษาในระดับก่อนการทดลองในมนุษย์

ตามที่ได้กล่าวไปแล้วถึงความสนใจของนักวิทยาศาสตร์เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพของการทำรังสีบำบัดกับมะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจน ซึ่งนำไปสู่การสังเคราะห์และนำเอา prodrugs เข้ามามีบทบาทมากขึ้น และพบว่า prodrug บางชนิดให้ผลการรักษาที่ดีแต่ยังมีข้อเสียหลายประการที่ทำให้กลุ่มนักเภสัชวิทยาทั้งในภาครัฐและเอกชน หรือบุคคลที่เกี่ยวข้องกับหน่วยงานทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพพยายามคิดค้นและพัฒนาสารที่เป็น prodrugs ชนิดใหม่ขึ้นเพื่อหาสารที่มีคุณสมบัติที่มีประสิทธิภาพสูงในการใช้เป็นยารักษามะเร็งโดยที่การออกแบบโมเลกุลของ prodrugs ชนิดใหม่ได้ยึดกลไกการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้ของโมเลกุลที่สังเคราะห์ขึ้นเป็นสำคัญ เช่น

1. prodrugs ที่มีเป้าหมายของการออกฤทธิ์ที่ดีเอ็นเอ (DNA targeting)

1.1 อนุพันธ์ nitroimidazole

การเข้ายับยั้งการจำลองสายดีเอ็นเอของมะเร็งเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการออกแบบโมเลกุลของสารต้านมะเร็งในปัจจุบัน โดยนักวิทยาศาสตร์คาดว่าสารเหล่านี้อาจเข้ายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างดีเอ็นเอ การสร้างโปรตีนหรือแม้แต่การแบ่งเซลล์ของเซลล์มะเร็ง หรือโมเลกุลของยาอาจเกิดการสอดแทรก (intercalation) ในเกลียวคู่ของสายดีเอ็นเอ ทำให้การจำลองดีเอ็นเอมีความผิดเพี้ยนไปส่งผลให้มะเร็งเกิดการตายในที่สุด และที่สำคัญการสร้างโมเลกุลของ prodrugs ส่วนใหญ่จะถูกออกแบบให้มีความจำเพาะกับมะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งส่วนมากจะดื้อต่อการรักษา ตัวอย่างโมเลกุลที่มีกลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าวได้แก่ สาร NLCQ-1 (**12**) (Figure 9) สาร **12** เป็นสารในกลุ่ม chloroquinoline ที่ถูกออกแบบขึ้นให้มีความจำเพาะต่อมะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจน และจากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการใช้สารนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งในหลอดทดลองให้ผลการยับยั้งที่ดี โดยกลไกการเกิด biotransformation ของสาร **12** แสดงใน Figure 9 แต่การทดลองในสิ่งมีชีวิตพบว่าให้ผลการทดลองที่ไม่สอดคล้องกัน นักวิจัยได้อธิบายว่าการที่มีหมู่ 2-nitroimidazole จะทำให้ประสิทธิภาพในการผ่านเข้าสู่เซลล์มะเร็งลดลงอันส่งผลให้การเกิดอันตรกิริยากับสายดีเอ็นเอของเซลล์มะเร็งลดต่ำลงด้วย [20] ดังนั้นการนำโมเลกุลของสาร NLCQ-1 (**12**) ไปใช้ประโยชน์ในเชิงการแพทย์จึงยังต้องได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง

1.2 อนุพันธ์ nitrobenzene

หมู่ไนโตร (nitro groups) เป็นหมู่ฟังชันก์ที่สำคัญในการทำให้โมเลกุลของ prodrugs มีความว่องไวมากยิ่งขึ้น โดยที่หมู่ไนโตรเป็นหมู่ที่ดึงอิเล็กตรอน (electron-withdrawing group) และสามารถเปลี่ยนเป็นหมู่ hydroxylamino ด้วยปฏิกิริยาที่อาศัยเอนไซม์ ตัวอย่างของ prodrugs ในกลุ่มนี้ได้แก่ 5-aziridinyl-2,4-dinitrobenzamide (CB1954, **13**) SN23862 (**14**) และ PR-104 (**15**) เคยถูกนำมาศึกษาการเกิดรีดักชันด้วยเอนไซม์ nitroreductase ในสภาวะพร่องออกซิเจน พบว่าสารนี้แสดงฤทธิ์ในการต้านมะเร็งในหนูทดลองชนิด Walker rat ได้ดีโดยมีกลไกการออกฤทธิ์เนื่องมาจากหมู่ไนโตรบนโครงสร้างหลักถูกเปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโนโดยเอนไซม์ DT-diaphorase แต่เอนไซม์นี้พบในคนในปริมาณที่ต่ำกว่าในหนูทดลอง และเคยมีรายงานว่า CB1954 (**13**) เป็นสารตั้งต้นที่ดีมากในการเกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ *E. coli* nitroreductase ให้สารออกฤทธิ์ 2 ชนิดได้แก่สารอนุพันธ์ 2- และ 4-hydroxylamine (Figure10) ในการเกิดปฏิรีดักชันจะให้ สารอนุพันธ์ 4-hydroxylamine ในปริมาณมากกว่าและนับว่าโชคดีมากเนื่องจากสารนี้

แสดงฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งได้ดีกว่า 2-hydroxylamine [21] โดยที่สารทั้งสองชนิดจะเข้าทำลายเซลล์มะเร็งโดยเกิด DNA-crosslink

สาร SN 23862 (**14**, Figure 11) เป็น prodrug ที่ต้องอาศัยเอนไซม์ใน hypoxic cells ในการกระ

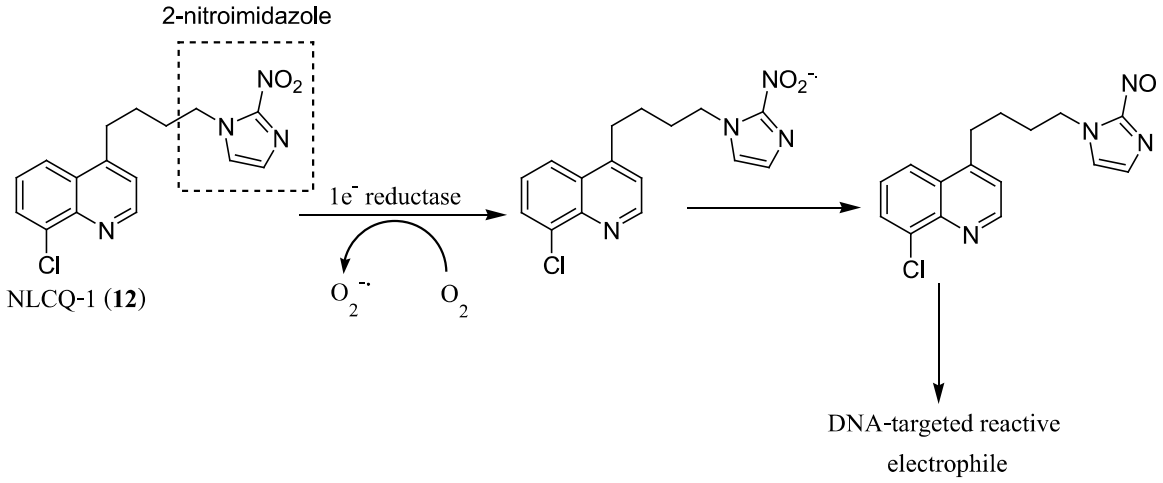


Figure 9. The biotransformation of prodrug NLCQ-1 (**12**) in hypoxic cells into DNA-targeted reactive molecule

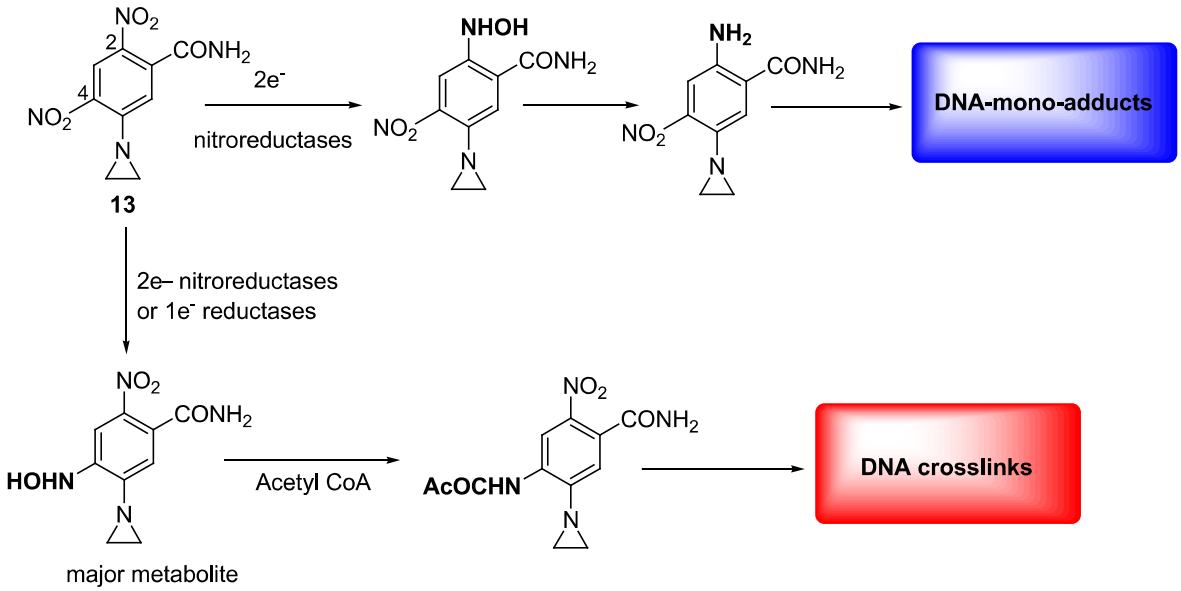


Figure 10. The formations of active molecules from biotransformation of prodrug CB1954 (**13**) in hypoxic cells [21]

ตุ้นให้เป็นสารออกฤทธิ์ และจัดเป็นสารในกลุ่มอนุพันธ์ nitrogen mustard บนโครงสร้างหลักของ SN 23862 (**14**) จะมีหมู่ไนโตรซึ่งทำหน้าที่ทำให้เกิดการกระจายความหนาแน่นของอิเล็กตรอนในวงแอโรมาติก โดยที่หมู่ไนโตรจะถูกรีดิวซ์เป็นหมู่อะมิโนในสภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งเป็นการทำให้ได้โมเลกุลที่แสดงฤทธิ์ในการเข้ายับยั้งการจำลองดีเอ็นเอของมะเร็งโดยทำหน้าที่เป็น alkylating agent จากรายงานการวิจัยพบว่าสารเมแทบอไลต์ที่ได้จากปฏิกิริยารีดักชันของ SN23862 (**14**) จะเป็นอนุพันธ์ 2-amino เพียงชนิดเดียวเท่านั้นและพบว่าความสามารถในการเป็น alkylating agent ของดีเอ็นเอจะมากกว่ายาตั้งต้นถึง 2,000 เท่าทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งมะเร็งที่สภาวะพร่องออกซิเจนสูงขึ้น [22] สิ่งที่สำคัญคือ การกระตุ้นโมเลกุลของ prodrug SN23862 ด้วยเอนไซม์ one-electron reductases จะถูกยับยั้งเมื่ออยู่ในสภาวะออกซิเจนต่ำมากๆ จึงมีงานวิจัยอีกหลายงานที่พยายามปรับปรุงโครงสร้างของสาร SN23862 ให้มีความเสถียรและมีความจำเพาะในสภาวะพร่องออกซิเจนมากยิ่งขึ้นจึงนำไปสู่การสังเคราะห์ prodrug PR-104 (**15**)

PR-104 (**15**, Figure 12) เป็น prodrug ประเภท phosphate ester ซึ่งจะปลดปล่อยโมเลกุลของสารที่ออกฤทธิ์ในสภาวะที่มีเอนไซม์ phosphatases เป็นตัวเร่งแล้วเกิดเป็นสารเมแทบอไลต์ 5-hydroxylamino และ 5-amino ซึ่งเป็นหมู่ที่ช่วยทำให้หมู่ mustard มีความว่องไวมากยิ่งขึ้น [23] โดยมีเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้อง เช่น DT-diaphorase NADPH: cytochorm P450 oxidoreductase หรือ avoprotiens เป็นต้น [24]

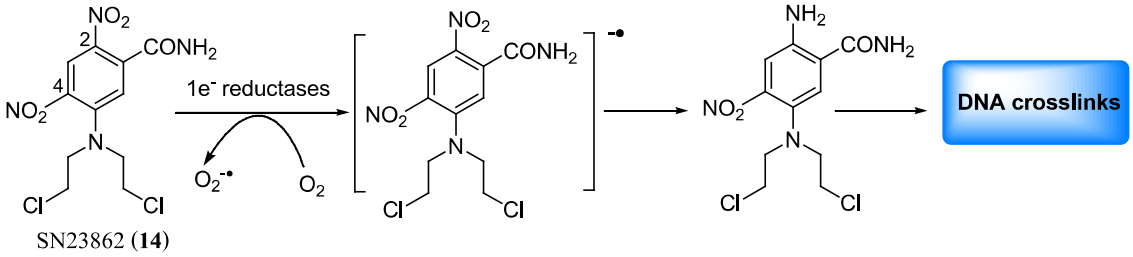


Figure 11. The formation of active nitrogen mustard from enzymatic reduction of SN23862 (**14**) in the hypoxic cells

สาร nitrogen mustard อีกกลุ่มที่สำคัญ คือ nitrogen mustard quaternary ammonium salts ซึ่งถูกออกแบบให้มีความจำเพาะต่อ hypoxic tumour cells โดยที่โมเลกุลจะมีประจุบวกเพื่อเพิ่มการละลายน้ำ เช่น prodrugs **16** **17** และ **18** (Figure 13a) จากการทดลองในหลอดทดลองพบว่าสารเหล่านี้ออกฤทธิ์โดยมีกลไกการปลดปล่อยโมเลกุลที่ว่องไวที่คล้ายกันคือ เริ่มต้นจากโมเลกุลของ prodrug เข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในสภาวะพร่องออกซิเจนแล้วเกิดการแตกออกของโมเลกุลให้สารที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งประเภท nitrogen mustard mechlorethamine และ aromatic radical (Figure 13b) แต่จากการทดลองในระดับเซลล์พบว่า prodrugs เหล่านี้มีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร **17** และ **18** จึงต้องมีการพัฒนาคุณสมบัติหลายประการต่อไปอีก [25]

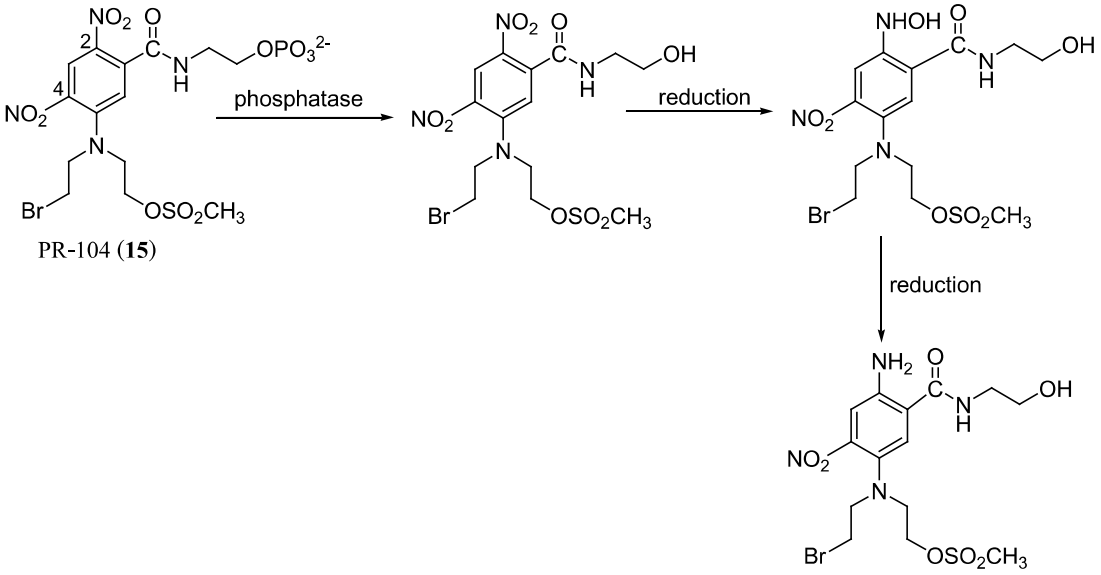
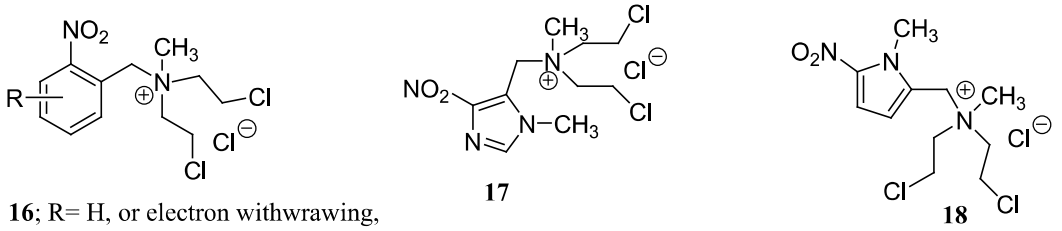


Figure 12. The hydrolytic and reduction of prodrug PR-104 (**15**) in hypoxic conditions

a)



b)

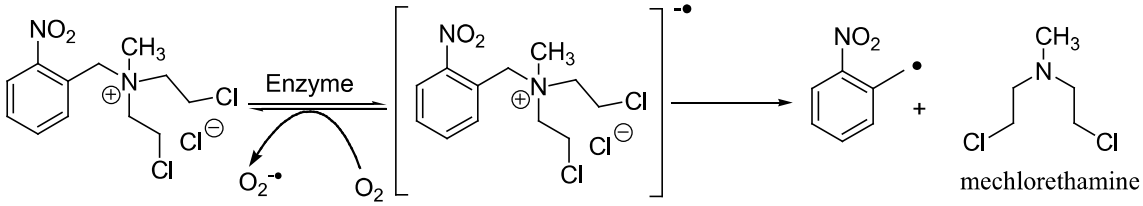


Figure 13. (a) Structures of nitrogen mustard prodrugs **16-18** (b) The enzymatic reduction of nitrogen mustard prodrug to release the active mechlorethamine molecule

2. สาร prodrugs ที่ถูกกระตุ้นด้วยการฉายรังสี

การใช้ prodrugs ในการเป็นสารยับยั้งมะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจนยังมีข้อจำกัดหลายประการที่ทำให้ไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากมะเร็งประเภทนี้มีลักษณะเฉพาะที่ไม่สามารถทำให้ prodrugs เกิดกระบวนเมแทบอลิซึม (metabolism) ให้ยาที่ออกฤทธิ์ได้ เนื่องจากเซลล์พร่องออกซิเจนมีเอนไซม์หรือโคเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในปริมาณที่ต่ำมาก ดังนั้นการกระตุ้นให้ prodrugs ปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ด้วยวิธีการฉายรังสีจึงเป็นแนวคิดใหม่ที่นักวิจัยพยายามศึกษาค้นคว้าเพื่อแก้ปัญหาของ prodrugs ที่อาศัยเอนไซม์เป็นตัวเร่ง ปกติแล้วในเซลล์ทุกเซลล์จะมีน้ำเป็นองค์ประกอบและนักวิจัยพบว่าการเกิด radiolysis ของน้ำหรือการสลายตัวของน้ำด้วยรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าจะเกิดอิเล็กตรอนอิสระขึ้นเรียกว่า aquated electron (e_{aq}^-) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการเกิดรีดักชันที่สูงกว่าการทำงานของเอนไซม์และว่องไวในการถูกยับยั้งด้วยออกซิเจนใน oxic cells ดังนั้นจึงเป็นข้อดีของการใช้ prodrugs บางชนิดร่วมกับการฉายรังสีในการบำบัดมะเร็งที่มีสภาวะพร่องออกซิเจน นักวิจัยพบว่า prodrugs ที่อยู่ในระหว่างการศึกษามี 3 กลุ่ม ได้แก่ nitrobenzyl quaternary ammonium salts (Figure 13b) cobalt (III) complexes **19**-**21** Fe (III) complex **22** Cu(II) complex **23** และ oxypropyl-substituted-5-uorouracil [15] (Figure 14) เป็นต้น แต่ยังไม่สามารถสรุปฤทธิ์ทางชีวภาพของ prodrugs เหล่านี้ได้อย่างแน่นอนและอยู่ระหว่างการวิจัยเพิ่มเติม

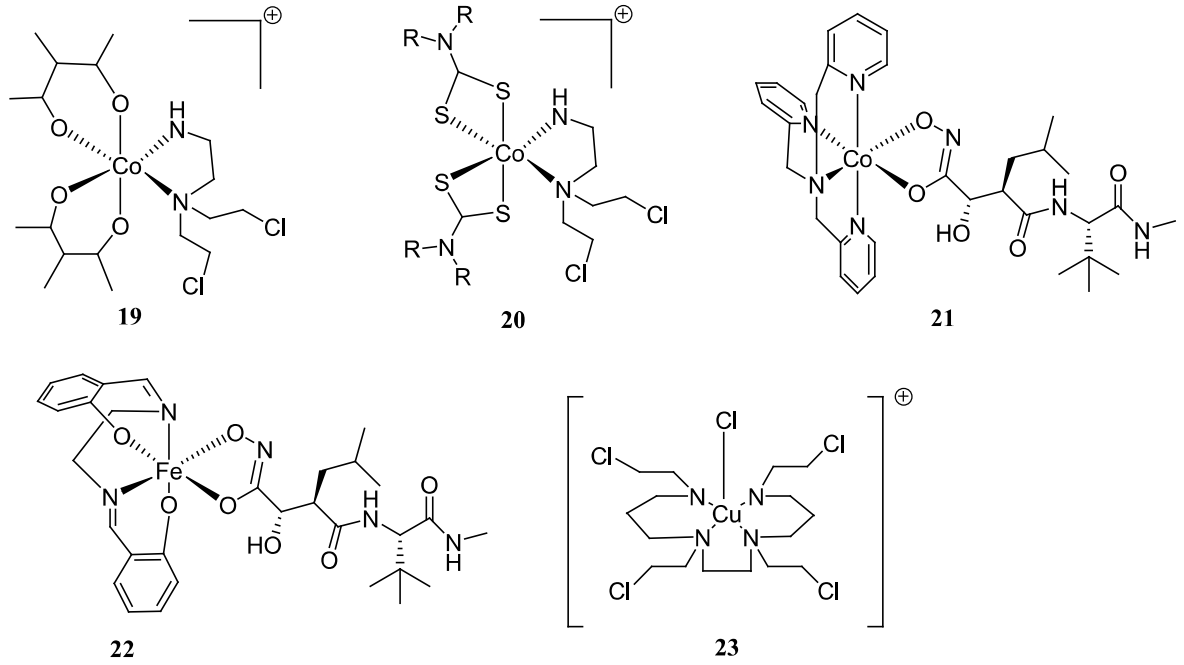


Figure 14. Structures of metal complex prodrugs **19**-**23**

สรุป

การทราบถึงลักษณะเฉพาะ และเอนไซม์ที่มีมากของมะเร็งประเภท solid tumours ที่มีสภาวะพร่องออกซิเจนประกอบกับความรู้และเทคนิคที่ทันสมัยในการออกแบบโมเลกุลของยาให้มีความเฉพาะเจาะจงต่อมะเร็งมากยิ่งขึ้นทำให้ในปัจจุบันมีการสังเคราะห์สารที่เรียกว่า prodrugs ขึ้นเพื่อให้ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อมะเร็งแต่ละประเภท การสังเคราะห์ prodrugs อาจเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งมะเร็ง หรือเพื่อลดอาการข้างเคียงต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาต้นแบบ ดังนั้น prodrugs ที่ถูกเตรียมขึ้นอาจมีเป้าหมายหรือกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันออกไปแต่มีจุดมุ่งหมายหลักที่ใกล้เคียงกันคือ ทำอย่างไรให้โมเลกุลของยาออกฤทธิ์ที่เซลล์เป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด ตามที่ได้กล่าวไปแล้วถึงประเภทของ prodrugs ต่างๆ ที่ออกแบบขึ้นโดยเน้นการออกฤทธิ์ที่เซลล์มะเร็งพร่องออกซิเจนจะเห็นได้ว่า prodrugs แต่ละประเภทให้ผลการทดลองที่ดีและคาดว่าน่าจะนำไปสู่การพัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งที่มีประสิทธิภาพสูงทั้งการรักษาและการยื้อการมีชีวิตอยู่รอดของผู้ป่วยมะเร็ง แต่ prodrugs บางประเภทที่นักวิจัยให้ความสนใจเพื่อสร้างเป็นโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้นและมีกลไกในการออกฤทธิ์แบบใหม่ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อมะเร็งที่ดีกว่ายังต้องอาศัยการศึกษาสมบัติในทางคลินิกอีกหลายขั้นตอน ถึงอย่างไรก็ตามการพัฒนาโมเลกุลของยาให้อยู่ในรูปของ prodrugs ที่มีความจำเพาะต่อ hypoxic cells อาจนำไปสู่ความสำเร็จในการรักษาโรคร้ายอย่างโรคมะเร็งด้วยยาได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงอย่างแน่นอนในอนาคตอันใกล้นี้

เอกสารอ้างอิง

1. Venkatesh, S., Lipper, R.A. 2000. Role of the development scientist in compound lead selection and optimization. *J. Pharm. Sci.* 89: 145-154.
2. Kiptoo, P. K., Hamad, M. O., Crooks, P. A., Stinchcomb, A. L. 2006. Enhacement of transdermal derivery of 6-β-naltrexol via a codrug linked to hydroxybupropion. *J. Control. Release.* 113: 137-145.
3. Brown, J. M., Wilson, W. R. 2004. Exploting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev.* 4: 437-447.
4. Folkman, J., Hahnfeldt, P., Hlatky, L. 2000. Cancer: looking outside the genome. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 1: 76-79.
5. Kim, J. W., Gao, P., Dang, C. V. 2007. Effects of hypoxia on tymour metabolism. *Cancer Metastasis Rev.* 26: 291-298.
6. Brahimi-Horn, M. C., Chiche, J., Pouyssegur, J. 2007. Hypoxia and cancer. *J Mol Med.* 85: 1301-1307.
7. Harris, A.L. 2002. Hypoxia-a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer.* 2: 38-47.
8. Helmlinger, G., Yuan, F., Dellian, M., Jain, R. K. 1997. Interstitutial pH and pO2 gradients in solid tumours in vivo high-resolution measurements reveal a lack of correlation. [Abstract]. *Nature.* 3: 177-182.
9. Sly, W. S., Hu, P. Y. 1995. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deciencies. [Abstract]. *Annu Rev Biochem.* 64: 375-783.
10. Wykoff, C. C., Beasley, N. J. P., Watson, P. H. 2000. Hypoxia-inducible expression of associated-associated carbonic anhydrase IX, in invasive breast carcinoma. *Cancer Res.* 60: 7075-7083.
11. Brow, J. M. 1984. Clinical trials of radiosensitizers: what should we expect?. *J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 10: 425-429.
12. Comeford , K. M., 2002. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the mutidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res.* 62: 3387-3394.

13. Zeman, E. M., Brown, J. M., Lemmon, M. J., Hirst, V. K., Lee, W. W. 1986. SR-4233: A new bioreductive agent with high selective toxicity for hypoxic mammalian cells. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12: 1239-1242.
14. Dorie, M. J., Brown, J. M. 2002. Tumour-specic, schedule-dependent interaction between tirapazanamine (SR4233) and cisplatin. *Cancer Res.* 53: 4633-4636.
15. Yu, Chen., Hu, Longqin. 2009. Design of anticancer prodrugs for reductive activation. *Med Res Rev.* 29(1): 29-64.
16. Denny, W. A., Wilson, W. R., Hay, M. P., 1996. Recent developments in the design of bioreductive drugs. [Abstract]. *Br. J. Cancer Suppl.* 27: 32-38.
17. Patterson, L. H., 1993. Rationale for the use of aliphatic N-oxides of cytotoxic anthaquinones as prodrug DNA binding agents: a new class of bioreductive agent. *Cancer Metastasis Rev.* 12: 119-134.
18. Wilson, W. R., Denny, W. A., Pullen, S. M., Thompson, K. M., Li, A. E., Patterson, L. H Patterson., Lee, H. H. 1996. Tertiary amine *N*-oxides as bioreductive drugs: DACA *N*-oxide, nitracrine-oxide and AQ4N. *BJC.* 74: 43-47.
19. Saez, R., Craig, J. B., Kuhn, J. G., Weiss, G, R. Koeller, J., Phillips, J., Havlin, K., Harman, G., Hardy, J., Melink, T. J. 1989. Phase I clinical investigation of amonade. [Abstract]. *JCO* . 7(9): 1351-1358.
20. Hay, M. P. 2004. DNA-targeted 1,2,4-benzothiazine 1,4-dioxides as hypoxia-selective analogues of tirapazamine. *J. Med. Chem.* 65: 1807-1815.
21. Stratford, I. J., Williamson, C., Hoe, S., Adam, G. E. 1981. Radiosensitizing and cytotoxicity studies with CB 1984 (2,4-dinitro-5-aziridinylbenzamide). Radiat. Res. 88: 502-509.
22. Gabi, U. D., Michelle, A.. H., Sophie, S., Dean, C. S., Adam, V. P. 2009. Bystander or no bystander for gene directed enzyme prodrug therapy. *Molecules.* 14: 4517-4545.
23. Adam, V. P., Dianne, M. Ferry., Shelley, J. E. 2007. Mechanismof action and preclinical antitumor activity of the novel hypoxia-activated DNA cross-linking agent PR-104. *Clin Cancer Res.* 13: 3922-3932.
24. Helsby, N. A ., Ferry, D. M., Patterson, A. V., Pullen, S.M., Wilson, W. R. 2004. 2-Amino metabolites are key mediators of CB 1954 and SN23862 bystander effects in nitroreductase GDEPT. *BJC.* 90: 1084-1092.
25. Moana, T., William, R. W., William, A. D. 1993. Nitrobenzyl mustard quaternary salts: a new class of hypoxia-selective cytotoxins showing very high in vitro selectivity. *J. Med. Chem.* 36(17): 2578-2579.