

KARDIOGLYKOSIDY: TERAPEUTICKÝ POTENCIÁL PRO LÉČBU NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

JIŘÍ BEJČEK^a, VOJTĚCH SPIWOK^a,
EVA KMONÍČKOVÁ^b, TOMÁŠ RUML^a a SILVIE
RIMPELOVÁ^a

^a Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6,

^b Ústav farmakologie a toxikologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, alej Svobody 1655/76, 323 00 Plzeň

silvie.rimpelova@vscht.cz

Došlo 27.2.20, přepracováno 4.8.20, přijato 6.8.20.

Klíčová slova: digoxin, digitoxin, kardioglykosidy (srdeční glykosidy), ouabain, protinádorová aktivita, přírodní látky, sodno-draselná pumpa (Na⁺/K⁺-ATPasa)

Obsah

1. Úvod
2. Výskyt kardioglykosidů
3. Chemická struktura kardioglykosidů
4. Biosyntéza kardioglykosidů
5. Biologická aktivita kardioglykosidů
6. Antineoplastický potenciál kardioglykosidů
7. Závěr

1. Úvod

Rozličné mechanismy umožnily evoluci stále složitějších a různorodějších systémů. Ty postupem času získaly schopnost produkovat látky, které jim umožnily získat nad okolím jisté výhody a zvýšit tak šanci na přežití. Rostliny v tomto ohledu získaly převahu nad živočichy. Tím, že se nemohou v případě nebezpečí fyzicky bránit nebo utéct, si vyvinuly alternativní způsob obrany. Staly se tak důležitým zdrojem tzv. sekundárních metabolitů – látek s rozmanitou chemickou strukturou a zajímavými biologickými účinky.

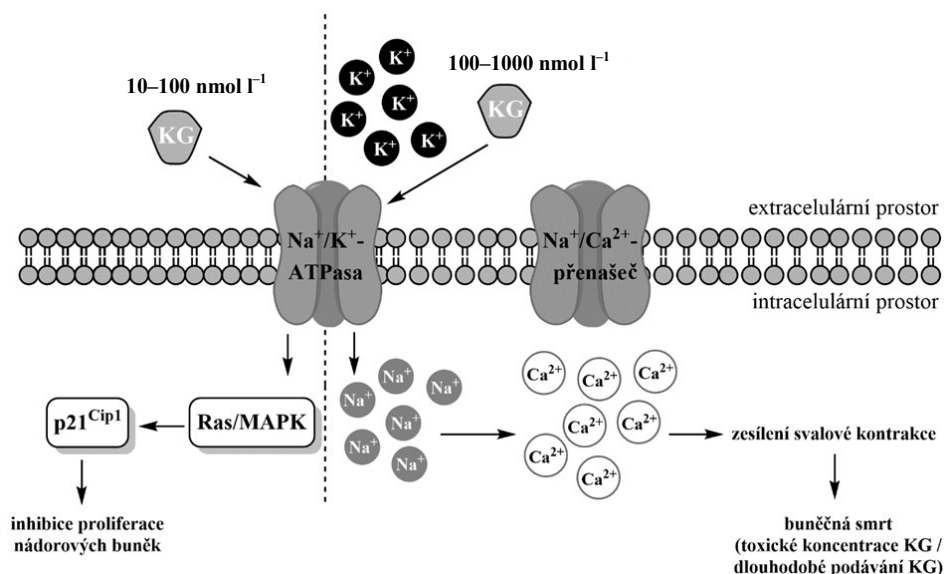
V dobách, kdy neexistovala organická syntéza, byly rostliny jedním z nejvýznamnějších zdrojů léčivých látek, které byly předchůdci dnešních moderních léčiv. A právě struktury těchto látek inspirovaly spoustu medicínálních chemiků a farmaceutických firem k vývoji léčiv, se kterými se dnes běžně setkáváme. Kyselina acetylsalicylová, užívaná k léčbě bolesti, má původ v salicinu, který je obsažen ve vrbové kůře (*Salix alba*)¹. Přírodní opioidy obsažené v máku setém (*Papaver somniferum*) jsou samy

o sobě silná analgetika, ale znalost jejich struktury umožnila vznik ještě silnějších syntetických analgetik². Taxany, sloužící jako chemoterapeutika, se nacházejí v kůře tisů západoamerického (*Taxus brevifolia*) a v jehlicích tisů červeného (*Taxus Baccata*)³. Dobře známý je taktéž chinin izolovaný z chinovníku červeného (*Cinchona succirubra*) užívaný k léčbě malárie⁴. V neposlední řadě existují látky, které jsou již dlouho zavedené jako léčiva v terapii srdečního selhání a srdečních arytmií. Jedná se o látky ze skupiny kardioglykosidů (KG), jejichž hlavním zdrojem jsou rostliny rodu náprstníků (*Digitalis*).

První zmínky o používání KG k léčebným účelům sahají až do starověkého Egypta a jsou zaznamenány na tzv. Ebersově papýru, který se datuje přibližně do roku 1555 př. n. l. V té době byly využívány jako složka antidot proti některým jedům. Ačkoli se někteří badatelé zabývali KG již dříve, do širšího povědomí se dostaly až díky Wiliamu Witheringovi, který ve své práci v r. 1785 publikoval zkušenosti nabyté při užívání KG k léčbě pacientů⁵. Na práci W. Witheringa navázali další autoři s různou mírou úspěchu. Skutečný rozmach v užívání KG nastal až ve 20. století a dnes se řadí mezi 200 nejužívanějších léků v USA (cit.⁶). Do České republiky bylo v roce 2019 dodáno zhruba 400 000 balení léčivých přípravků obsahujících KG, což je řadí v žebříčku na 80. místo z celkových téměř 10 000 dodávaných léčiv⁷. Nejznámějším a také nejlépe prozkoumaným mechanismem jejich bioaktivního působení je inhibice sodno-draselné pumpy (NKA; z angl. Na⁺/K⁺-ATPase; obr. 1), která je spojena právě s již zmíněným využitím KG jako léčiv srdečních arytmií a srdečního selhání. Mimo jiné se v dnešní době dostávají KG do popředí zájmu jako potenciální léčiva nádorových onemocnění. V následujících kapitolách jsou shrnuty chemické struktury, biosyntéza, biologická aktivita a antineoplastický potenciál KG včetně nejvýznamnějších klinických studií.

2. Výskyt kardioglykosidů

KG jako sekundární metabolity rostlin se v různé míře nacházejí téměř ve všech jejich částech (shrnuto v cit.⁸). Hlavní úlohou KG v rostlinách je ochrana proti škůdcům⁹, ačkoli někteří z nich si proti KG vytvořili účinnou obranu¹⁰. Na obr. 2 jsou uvedeny strukturální vzorce vybraných KG. Mezi nejvýznamnější zástupce patří látky digitoxin (Dgt) a digoxin (Dg), které se vyskytují v rostlinách z rodu náprstníku z čeledi jitrocelovitě, především pak v náprstníku červeném (*Digitalis purpurea*) a náprstníku vlnatém (*Digitalis lanata*)^{11,12}. Dále ouabain nacházející se v krutikvětě cenném (*Strophanthus gratus*)¹³ a oleandrin vyskytující se v oleandru obecném (*Nerium oleander L.*)^{14,15}. Hyrkanosid byl izolován ze semen čičo-



Obr. 1. Ilustrativní schéma dvou nejvýznamnějších mechanismů účinku kardioglykosidů (KG) při nízkých (10–100 nmol l⁻¹; vlevo) a vysokých (100–1000 nmol l⁻¹; vpravo) koncentracích. Ras/MAPK – mitogenem aktivovaná proteinkinasa; p21^{Cip1} – inhibitor 1 cyklin-dependentní kinasy

rečky pestré (*Coronilla varia*)¹⁶. Výskyt dalších zástupců KG je shrnut v literatuře¹⁷.

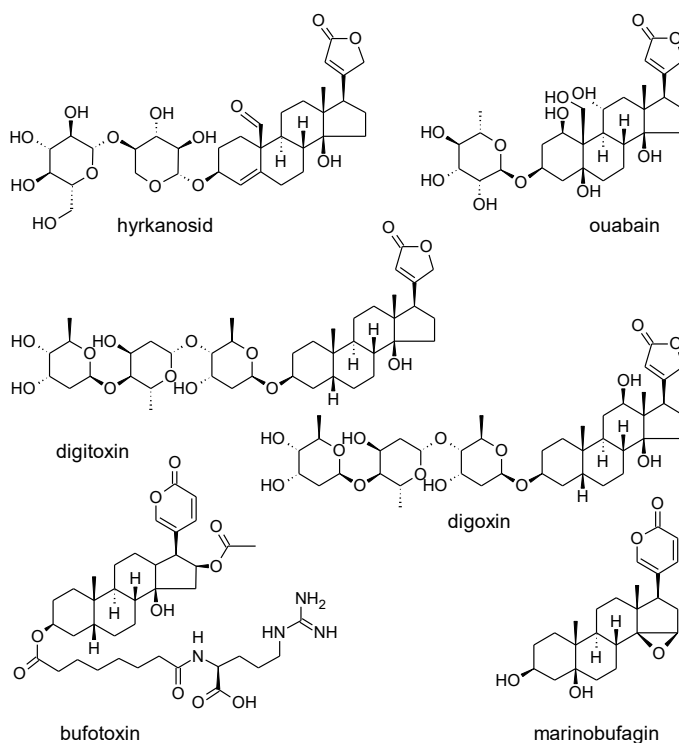
KG jsou sice známé především jako rostlinné metabolity, nicméně se vyskytují i v říši živočišné. Příkladem takových látek jsou bufogenin a bufotoxin, které jsou izolovány z ropušního jedu¹⁸ a marinobufagin detegovaný v lidské plasmě¹⁹.

Je pozoruhodné, že některé KG mají své ekvivalenty jak v rostlinné, tak v živočišné říši. Tyto látky se souhrnně označují jako látky podobné látkám z náprstníku (z angl. digitalis-like factors). V této souvislosti byla v lidské plasmě objevena existence „endogenního ouabainu“ (někdy také překládáno jako ouabainu podobná látka; z angl. ouabain-like factor), který je strukturně totožný se svým rostlinným analogem²⁰. Do plasmy je endogenní ouabain sekretovaný pravděpodobně kůrou nadledvin, neboť byla pozorována jeho produkce buňkami odvozenými z této tkáně²¹. V lidské plasmě byla rovněž objevena existence Dg podobných látek (z angl. digoxin-like factors), které svými biologickými vlastnostmi připomínají rostlinný Dg. Dg podobné látky jsou vylučovány močí pacienti trpícími renální dysfunkcí²² a zvýšeným krevním tlakem²³. Někdy se také označují jako Dg podobné imunoaktivní faktory (z angl. digoxin-like immunoreactive factors), neboť interagují s protilátkami původně určenými proti Dg, a proto také interferují při klinickém stanovení Dg v plasmě²⁴.

3. Chemická struktura kardioglykosidů

Z chemického hlediska se KG řadí mezi steroidní látky. Jejich molekula se tedy skládá ze steroidního skeletu, který je substituován methylovými skupinami v polohách C-10β, C-13β, hydroxylovou skupinou v poloze C-14β a nenasyceným laktonem v poloze C-17β. Podle typu laktonu dělíme KG na kardenolidy a bufadienolidy. V kardenolidech se nachází pětiuhlíkatý furanový cyklus a v bufadienolidech šestiuhlíkatý pyranový cyklus. V poloze C-3 je dále obvykle přítomen sacharid (nejčastěji D-glukosa, D-digitoxosa nebo L-rhamnosa). Stejně jako u ostatních glykosidů se steroidní skelet KG bez navázaného sacharidu nazývá aglykon (genin).

Biologická aktivita KG vychází stejně jako u jiných látek z jejich chemické struktury, která ovlivňuje sílu vazby s jejich nejvýznamnějším molekulárním cílem – NKA. Základní strukturou KG, která je nezbytná pro jejich biologický účinek, je 3β,5β,14β-androstan-3,14-diol. Modifikace této základní struktury, především přítomnost laktonu v poloze C-17β a sacharidů v poloze C-3, má významný vliv na biologickou aktivitu výsledného KG stejně jako na jeho farmakokinetické parametry, jako je např. rozpustnost ve vodě, biologický poločas a způsob vylučování²⁵. Nasycení a stejně tak otevření laktonového cyklu kardenolidů má za následek snížení biologické aktivity KG (cit.^{26,27}). Rovněž počet a typ sacharidových jednotek v pozici C-3 má vliv na biologickou aktivitu výsledného KG. Aglykon příslušného KG má obvykle nižší biologickou aktivitu než jeho glykosylované formy. S rostoucím stupněm glykosy-



Obr. 2. Strukturální vzorce vybraných kardioglykosidů

lace biologická aktivita KG rovněž klesá a nejvyšší je tudíž u monoglykosylovaných KG (cit.^{28,29}).

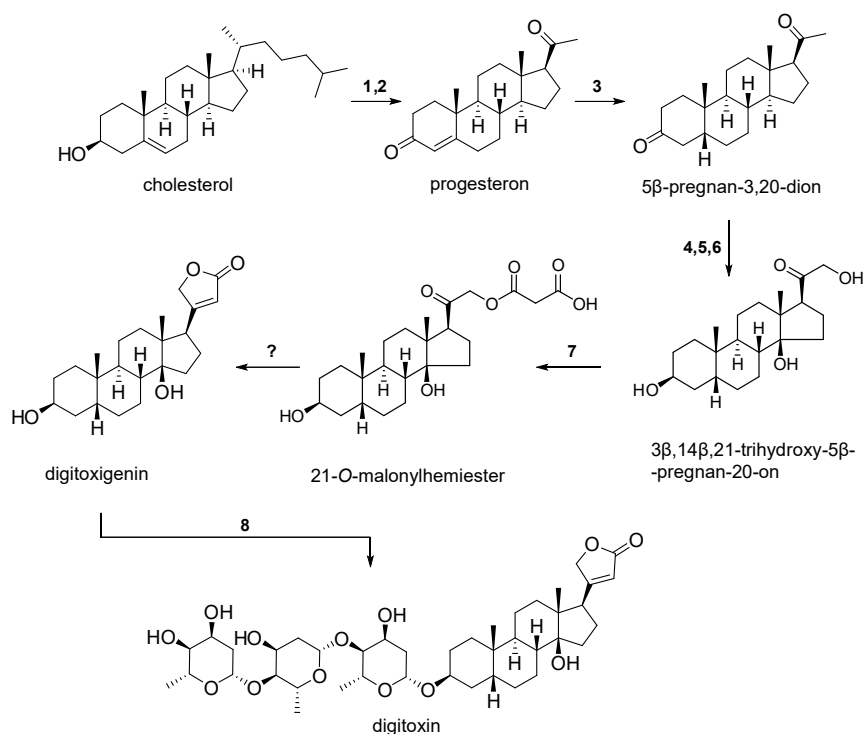
Vazebná kapsa NKA se skládá z polárního a nepolárního povrchu, z čehož vyplývá, že vhodné rozložení substituentů na steranovém skeletu KG má za následek nárůst afinity příslušného KG k NKA. Pro názornou ukázkou lze využít molekulu ouabainu (obr. 2). Ta obsahuje hydroxylové skupiny v pozicích C-1 β , C-11 α a C-19, které interagují s polárními aminokyselinami Gln₁₁₁ a Thr₇₉₇ NKA. Magpusao a spol. prokázali²⁷, že při blokování hydroxylových skupin na uhlících C-1 a C-19 dojde k podstatnému nárůstu aktivity výsledného derivátu, a to přibližně 120krát.

4. Biosyntéza kardioglykosidů

Vzhledem k značnému terapeutickému potenciálu kardenolidů a také s ohledem na velké množství dostupné literatury bude pro účely tohoto přehledového článku diskutována pouze biosyntéza kardenolidů v rostlinách rodu *Digitalis*. Z hlediska reakčních prekurzorů je možné ji rozdělit do několika dílčích kroků (obr. 3). Prvním významným prekurzorem kardenolidů je cholesterol, který je konvertován na progesteron pomocí cholesterolmonooxygenasy (EC 1.14.15.6) a 3 β -hydroxysteroiddehydrogenasy (EC 1.1.1.145)³⁰. Progesteron je následně redukován pomocí progesteron-5 β -reduktasy (EC 1.3.1.3) na 5 β -

-pregnan-3,20-dion³¹. Konverze 5 β -pregnan-3,20-dionu na 3 β ,14 β ,21-trihydroxy-5 β -pregnan-20-on se účastní 3 β -hydroxysteroiddehydrogenasa (EC 1.1.1.145) a dva další hypotetické enzymy (pregnan-14 β -hydroxylasa a 14 β -hydroxypregnan-21 β -hydroxylasa), jejichž existence dosud nebyla plně prokázána. Poslední část syntézy aglykonu zahrnuje reakci 3 β ,14 β ,21-trihydroxy-5 β -pregnan-20-onu s malonyl-CoA za vzniku hemiesteru katalyzovanou malonyl-koenzym A:21-hydroxypregnan-21-O-malonyltransferasou (*Dp21MaT*; EC 2.3.1.-)³² následovanou kondenzační reakcí za vzniku laktonového cyklu pomocí zatím neznámého enzymu³³. Aglykon je poté glykosylován pomocí glukosyltransferas (EC 2.4.1.-) na příslušný kardioglykosid^{34,35}.

I když se objevily snahy o izolaci KG z endofytické houby *Epicoccum nigrum* pro dosažení vyšších výtěžků³⁶, zůstávají nejvýznamnějším zdrojem KG stále rostliny – zejména z rodu *Digitalis*¹⁰. Množství produkovaných KG je ovlivněno několika faktory, jako je vlnová délka světla³⁷, přítomnost biotických i abiotických elicitorů³⁸ a nedostatek Ca²⁺. Snížená koncentrace Ca²⁺ způsobuje zvýšenou produkci peroxidu vodíku (elicitor), který působí jako stresový faktor, čímž dochází k vyšší produkci sekundárních metabolitů rostlin, a tedy i KG (cit.³⁹).



Obr. 3. Schéma biosyntézy digitoxinu z cholesterolu. Enzymy: 1 – cholesterolmonooxygenasa (EC 1.14.15.6), 2 – 3 β -hydroxysteroiddehydrogenasa (EC 1.1.1.145), 3 – progesteron-5 β -reduktasa (EC 1.3.1.3), 4 – 3 β -hydroxysteroiddehydrogenasa (EC 1.1.1.145), 5 – pregnan-14 β -hydroxylasa (hypotetický), 6 – 14 β -hydroxypregnan-21 β -hydroxylasa (hypotetický), 7 – malonyl-koenzym A:21-hydroxypregnan-21-O-malonyltransferasa (EC 2.3.1.-), 8 – glukosyltransferasy (EC 2.4.1.-)

5. Biologická aktivita kardioglykosidů

Biologická aktivita KG zahrnuje vazbu na různé buněčné proteiny. Nejznámější a nejvíce prozkoumaná je jejich schopnost inhibice NKA, která je podstatou využití KG jako léčiv srdečního selhání a srdečních arytmií. NKA se podílí na udržování fyziologické koncentrace Na⁺ a K⁺ iontů a při její inhibici tudíž dochází k narušení iontové rovnováhy a tím souvisejícímu nárůstu intracelulární koncentrace Na⁺. Na tento stav následně reaguje Na⁺/Ca²⁺ přenašeč změnou směru transportu, což způsobí nárůst intracelulární koncentrace Ca²⁺ s následným stahem srdeční tkáně. Tento jev se označuje jako tzv. pozitivně ionotropní účinek⁴⁰. Nevýhodou KG jako léčiv je jejich úzké terapeutické okno a jedním ze znaků předávkování jsou v případě srdečního svalu jevy tzv. brzké a pozdní následné depolarizace (z angl. early and delayed after depolarization), ke kterým dochází následkem narušení homeostázy koncentrace Na⁺ a Ca²⁺, což způsobuje opět srdeční arytmiie⁴¹. V současnosti se v klinické praxi používá výhradně digoxin. Další dva nejznámější KG, digitoxin a ouabain, mají méně výhodné farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti. Jsou ale využívány v experimentální farmakologii pro porovnání účinků strukturně podobných látek.

Kromě indukce pozitivního ionotropního efektu má zvýšená koncentrace Ca²⁺ vliv na další buněčné pochody, při kterých dochází ke zvýšenému transportu Ca²⁺ do mitochondrií. Při dlouhodobém působení KG je přesažena pufrovací kapacita mitochondrií, narušen elektrochemický potenciál a spuštěna apoptotická dráha⁴².

Kromě transportu Na⁺ a K⁺ iontů přes cytoplasmatickou membránu plní NKA také funkci receptoru – podílí se na regulaci proliferace buněk. V takovém případě se NKA vyskytuje v komplexu s proteinkinásou Src, která není aktivní. Po navázání KG se Src kinasa aktivuje a spouští tak signální dráhu mitogenem aktivované proteinkinasy (Ras/MAPK; z angl. Rat sarcoma protein/mitogen-activated protein kinase) s následnou aktivací řady transkripčních faktorů⁴³ (podrobně v literatuře). Děje se tak v případě, kdy je koncentrace KG dostatečně nízká a dochází tak pouze k částečné inhibici NKA. Aktivace této signální dráhy má za následek inhibici proliferace buněk, která je zprostředkována zvýšením produkce inhibitoru buněčného cyklu p21^{Cip1} (z angl. cyclin-dependent kinase inhibitor 1) (cit.⁴⁴; obr. 1). Nicméně aktivací Src kinasy může dojít naopak také ke stimulaci buněčné proliferace transaktivací receptoru pro epidermální růstový faktor. Neaktivní Src kinasa v komplexu s NKA je také důvodem, proč u nádorových buněk s nízkou produkcí NKA dochází

k jejich zvýšené proliferaci⁴⁶. Inhibice proliferace je také možné docílit stimulací buněk syntetickým peptidem, který je odvozen od struktury NKA a interaguje tak se Src kinasou⁴⁷.

Při vazbě KG na NKA dochází, kromě výše zmíněných efektů, také k okyselení intracelulárního prostředí. Tento jev je zprostředkován účinkem Na^+/H^+ přenašeče, který za fyziologických podmínek přenáší H^+ ven z buňky a Na^+ dovnitř do buňky. V případě nárůstu intracelulární koncentrace Na^+ dojde k obrácení směru transportu, což má za následek snížení pH a případně až apoptózu buňky^{48–50}.

Biologická aktivita KG není vždy spojena jen s vazbou na NKA. Bylo zjištěno, že kromě NKA mají KG vliv také na signální dráhu faktoru nádorové nekrózy / nukleárního faktoru kappa B (TNF- α /NF- κ B; z angl. tumor necrosis factor alpha/nuclear factor kappa B), která reguluje imunitní odpověď organismu na patologický podnět a v případě jejího zablokování dojde ke snížení zánětlivé reakce⁵¹. KG dále působí cytotoxicky inhibicí aktivity topoisomerasy I a II (cit.⁵²), které při replikaci a transkripci za normálních okolností snižují napětí v rozvolňujícím se vlákně DNA. Kromě toho byla rovněž prokázána schopnost KG inhibovat produkci hypoxií indukovaného faktoru 1 α (HIF-1 α ; z angl. hypoxia-inducible factor 1 α). Produkce HIF-1 α pomáhá buňkám vyrovnat se s nedostatečným zásobením kyslíkem, které je typické pro vysoce metabolicky aktivní nádorovou tkáň. Inhibice produkce HIF-1 α tedy napomáhá destrukci nádoru⁵³. Antiproliferačních účinků je také možné docílit aktivací objemem regulovaných aniontových kanálů (VRAC; z angl. volume-regulated anion channels). VRAC transportují anionty přes cytoplasmatickou membránu ven z buňky v případě zvýšeného transportu vody do cytoplasmy, nachází-li se buňka v hypotonickém prostředí. Tím pomáhají vyrovnat koncentrační rozdíl a následně snížit buněčný objem. V membránových mikrodoménech jsou VRAC asociovány s NKA, která postrádá transportní funkci; místo toho po stimulaci KG přenáší signál na VRAC, které jsou otevřeny a dochází k redukci buněčného objemu a omezení růstu nádoru⁵⁴.

Kromě výše popsané antiproliferační aktivity KG, mohou tyto látky také inhibovat expresi genu viru HIV. Tento jev pravděpodobně souvisí s rolí NKA jako receptoru, neboť pro několik KG byla pozorována inhibice produkce virových proteinů již při nanomolárních koncentracích⁵⁵. Antivirová aktivita KG byla popsána také pro lidský cytomegalovirus, a to pravděpodobně díky snížení exprese genu pro draselný kanál (*hERG*; z angl. human ether-à-go-go related gene)⁵⁶.

6. Antineoplastický potenciál kardioglykosidů

První zmínky o tom, že KG mají, kromě pozitivně inotropního účinku na srdeční sval, také protirakovinné účinky, se poprvé začaly objevovat v 60. letech minulého století. Od té doby znalost této problematiky značně pokročila. V současné době jsou popsány protinádorové

účinky KG (především pro Dgt a Dg) na širokém spektru nádorových buněk odvozených z nemalobuněčného karcinomu plic^{29,30,57,58}, karcinomu prostaty^{29,30}, prsu^{29,30}, kůže^{29,30}, tlustého střeva^{29,30}, vaječníků^{29,30,59}, ledvin^{29,30}, kostní dřevě^{29,30,59} a pankreatu⁶⁰. Někteří autoři sice uvádějí, že užívání KG je spojeno s vyšším rizikem vzniku rakoviny⁶¹, nicméně jednoznačná průkaznost je v tomto případě obtížná. Jiní autoři naopak toto riziko vyvracejí, a to především proto, že sledovaní pacienti jsou většinou již ve vyšším věku a riziko vzniku rakoviny je v pokročilé fázi života obecně vyšší^{62,63}. V případě rakoviny prostaty bylo dokonce pozorováno nižší riziko jejího vzniku při užívání KG (cit.⁶⁴). López-Lázaro a spol.⁶⁵ ukázali, že Dgt je schopen inhibovat růst buněk odvozených z nádoru ledvin, prsu a kůže při 3–33 nmol l⁻¹ koncentracích, což jsou koncentrace shodné nebo nižší než koncentrace (20–33 nmol l⁻¹) běžně užívané při léčbě srdečních chorob.

Dvěma nejvýznamnějšími mechanismy účinku KG jsou inhibice NKA a aktivace Src kinasy, jak již bylo popsáno v kap. 5. Kromě toho také Dgt inhibuje aktivaci fokální adhezivní kinasy (FAK), která podporuje angiogenezi a buněčnou migraci⁶⁶, a je schopen vyvolat apoptózu potlačením exprese proto-onkogenu *c-MYC* (cit.⁶⁷). Kromě toho jsou KG také schopné vyvolat imunogenní buněčnou smrt charakterizovanou sekrecí ATP, které slouží jako atraktant dendritických buněk⁶⁸, a sekrecí proteinu kódovaného genem *HMGB1* (HMGB1; z angl.: high-mobility group box 1), který slouží jako aktivátor dendritických buněk. Dále je pro imunogenní buněčnou smrt charakteristická translokace kalretikulínu z endoplazmatického retikula na buněčný povrch⁶⁹. Kalretikulín slouží jako „eat me“ signál a takto „označené“ buňky jsou pak dendritickými buňkami fagocytovány⁷⁰. Dendritické buňky také aktivují T-lymfocyty schopné zničit další nádorové buňky⁷¹. Z tohoto důvodu byl Dg v současné době zařazen do klinické studie v kombinované léčbě s cisplatinou, která je používána pro léčbu řady nádorových onemocnění, ale která imunogenní buněčnou smrt neindukuje⁷². Kromě toho probíhají i další klinické studie na podobné indikace za použití samotného Dg anebo v kombinaci s dalšími léčivými, viz shrnutí v tab. I. Samostatně je Dg studován jako blokátor HIF-1. Nověji je zkoumán vliv Dg na rozpouštění cirkulujících nádorových klastrů a léčbu klasického nebo endemického Kaposiho osteosarkomu. V kombinované terapii je Dg, kromě již zmíněné cisplatinu, studován především z hlediska lékových interakcí u pacientů trpících některým typem nádorového onemocnění (akutní myeloidní leukemie, rakovina slinivky břišní).

Zajímavé je, že Dg vykazuje protinádorovou aktivitu na leukemických buňkách v synergii s inhibitorem odpovědi na nesbalené proteiny (UPR; z angl. unfolded protein response) GSK2606414 prostřednictvím indukce apoptózy a zastavení buněčného cyklu v G2/M fázi a inhibice onkogenní signalizace prostřednictvím proteinkinasy B/savčího cíle rapamycinu (Akt/mTOR; z angl. proteinkinase B/mammalian target of rapamycin)⁷³. Protinádorovou aktivitu Dg je také možné ovlivnit zvýšením intracelulární koncentrace Na^+ a Ca^{2+} iontů přidáním NaCl do média.

Tabulka I

Klinické zkoušky kardioglykosidů pro léčbu nádorových onemocnění (cit. ⁷²)

Pořadí	Název studie	Typ rakoviny	Datum vypsání	Stav studie	Fáze	Použité léčivo
1.	Zhodnocení vlivu enzalutamidu na farmakokinetiku digoxinu jako substrátu Pgp a rosuvastatinu jako	rakovina prostaty	19. 09. 2019	nábor zatím neotevřen	I.	enzalutamid, digoxin , rosuvastatin
2.	Farmakodynamické hodnocení digoxinu jako blokátoru HIF-1 u nově diagnostikované, operovatelné rakoviny prsu	rakovina prsu	09. 01. 2013	aktivní, nábor uzavřen	II.	digoxin
3.	Fáze IB pro metformin, digoxin a simvastatin v pevných nádorech	pevné nádory, rakovina slinivky břišní	26. 03. 2019	nábor otevřen	I.	metformin, simvastatin, digoxin
4.	Digoxinem indukované rozpuštění klastrů cirkulujících nádorových buněk	rakovina prsu, cirkulující nádorové buňky	26. 04. 2019	nábor zatím neotevřen	I.	digoxin
5.	Folfirinox s digitoxinem u pacientů s odstranitelnou rakovinou slinivky břišní	rakovina slinivky břišní	28. 10. 2019	nábor zatím neotevřen	II.	digoxin , 5-fluoruracil, calcium leucovorin, irinotecan, oxaliplatin
6.	Farmakokinetika lékových interakcí s rucaparibem	Neoplazma	15. 04. 2016	aktivní, nábor uzavřen	I.	kofein, warfarin, omeprazol, midazolam, digoxin , vitamin K,
7.	Fáze II multicentrické studie digoxinu u klasického nebo endemického Kaposiho osteosarkomu	Kaposiho osteosarkom	08. 08. 2014	nábor otevřen	II.	digoxin
8.	Studie lékových interakcí enasidenibu u pacientů s akutní myeloidní leukémií	akutní myeloidní leukemie	25. 10. 2018	nábor zatím neotevřen	I.	kofein, dexyromethorfan, flurbiprofen, midazolam, omeprazol, digoxin , rosuvastatin, pioglitazon

V takovém případě dojde ke zvýšení klidového membránového potenciálu, uvolnění cytochromu c z mitochondrií a spuštění apoptotické dráhy. Kromě toho mají takto ošetřené buňky vyšší citlivost k Dg vzhledem k vyšší produkci NKA, rovněž způsobené zvýšenou intracelulární koncentrací Na⁺ (cit. ⁷⁴). Kromě toho bylo také popsáno, že Dg snižuje rezistenci buněk adenokarcinomu pankreatu na gemcitabin inhibicí jaderného faktoru 2 příbuzného erythroidu 2 (Nrf2; z angl. nuclear factor erythroid 2-related factor 2)⁷⁵. Běžně využívaná cytostatika, jakými jsou např. oxaliplatin, cisplatin a 5-fluorouracil, působí v kombinaci s Dg synergicky nebo aditivně na buňky z adenokarcinomu tlustého střeva a stejně tak s druhým z nejznámějších KG, Dgt (cit. ⁷⁶). Bylo také popsáno, že Dgt vykazuje synergický antiproliferační účinek s thapsigarginem (inhibitor sarko-/endoplazmatické retikulární vápenaté ATPasy, shrnuto v cit. ⁷⁷) a simvastatinem na modelu karcinomu prsu s deficiencí estrogenního receptoru⁷⁸. Kromě toho je Dgt a jeho syntetický monosachari-

dový derivát (MonoD) schopen zesílit antiproliferační účinek hydroxymočoviny a paklitaxelu při klinicky relevantních koncentracích na modelu buněk odvozených z karcinomu plic (kultivace s deplecí séra)⁵⁸. V novější studii byl prokázán antiproliferační účinek Dgt v kombinaci s inhibitory proteinkinasy sorafenibem také na buňkách hepatokarcinomu⁷⁹.

7. Závěr

Výzkum rakoviny dosáhl v posledních letech obrovského pokroku, což pomohlo nejen lépe porozumět příčinám jednotlivých typů nádorových onemocnění, ale i systematickému návrhu nových protinádorových léčiv, která by mohla mít vyšší účinnost i selektivitu než ta v současné době používaná. V řadě studií bylo v posledních letech publikováno, že některé z přírodních látek ze skupiny KG, inhibitory NKA, by bylo možné vyu-

žit pro léčbu rakoviny. Nejen, že vykazují antiproliferační účinky při nízkých nanomolárních koncentracích, ale do určité míry vykazují také selektivitu pro nádorové buňky, a to díky vazbě na α podjednotku NKA. Kromě toho indukují imunogenní buněčnou smrt a aktivují imunitní systém nemocného. Některé z KG (Dg, Dgt) jsou v klinické praxi používány již po dlouhou dobu, ale pro léčbu jiných indikací (srdeční onemocnění). Vzhledem k tomu, že koncentrace KG nutné pro léčbu nádorových onemocnění jsou mnohem nižší než koncentrace používané pro jiné indikace, mohl by být schvalovací proces značně jednodušší (použití již zavedeného léčiva pro jinou indikaci, tzv. „drug repositioning“), než je tomu v případě nové látky. Nabízí se také nový terapeutický protokol, ve kterém by mohly být KG kombinovány s již používanými protinádorovými léčivy anebo imunoterapeutiky, což by mohlo významně zvýšit dobu přežití pacientů s nádorovými onemocněními. Studium KG jako potenciálních léčiv má ze všech těchto důvodů stále větší význam.

Publikace byla připravená díky podpoře grantů OPPC CZ.2.16/3.1.00/24503, NPU I LO1601.

Seznam zkratk

Akt	proteinkinasa B
BCRP	protein rezistence rakoviny prsu
Dg	digoxin
Dgt	digitoxin
Dp21MaT	malonyl-koenzym A:21-hydroxypregnan-21- -O-malonyltransferasa
FAK	fokální adhezivní kinasa
hERG	draselný kanál
HIF-1 α	hypoxii indukovaný faktor 1 α
HMGB1	protein kódovaný genem <i>HMGB1</i>
KG	kardioglykosidy
MAPK	mitogenem aktivované proteinkinasy
mTOR	savčí cíl rapamycinu
Nf κ B	jaderný faktor 2 příbuzný erythroidu 2
NKA	nukleární faktor kappa B
NKA	Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa
Pgp	P-glykoprotein
TNF- α	faktor nádorové nekrózy α
UPR	odpověď na nesbalené proteiny
VRAC	objemem regulované aniontové kanály

LITERATURA

- Mahdi J. G.: *Biotechnol. Rep. (Amst.)* 4, 73 (2014).
- Sharma A. K., Nareda M., Aziz S., Sharma D., Garg S. K.: *J. Dev. Drugs* 5, 3 (2016).
- Fauzee N. J.: *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 12, 837 (2011).
- Achan J., Talisuna A. O., Erhart A., Yeka A., Tibenderana J. K., Baliraine F. N., Rosenthal P. J., D'Alessandro U.: *Malar. J.* 10, 144 (2011).
- Withering W.: *An Account of the Foxglove, and some of its Medical Uses: With Practical Remarks on Dropsy, and Other Diseases.* Birmingham: Printed by M. Swinney, London 1785.
- Fuentes A. V., Pineda M. D., Venkata K. C. N.: *Pharmacy (Basel)* 6, 43 (2018).
- <https://opendata.sukl.cz/?q=katalog/dodavky-lecivych-pripravku>, staženo 4. 4. 2020.
- Verma S. K., Das A. K., Cingoz G. S., Gurel E.: *Ind. Crops Prod.* 94, 20 (2016).
- Zalucki M. P., Brower L. P., Alonso-Meíia A.: *Ecol. Entomol.* 26, 212 (2001).
- Dobler S., Petschenka G., Wagschal V., Flacht L.: *Entomol. Exp. Appl.* 157, 30 (2015).
- Pérez-Alonso N., Wilken D., Gerth A., Jahn A., Nitzsche H. M., Kerns G., Capote-Perez A., Jiménez E.: *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 99, 151 (2009).
- Moore W. N., Taylor L. T.: *Phytochem. Anal.* 8, 238 (1998).
- Hammerstein F., Kaiser F.: *Planta Med.* 21, 5 (1972).
- Chiarlo B., Cajelli E., Gastaldo P., Profumo P.: *Chromatographia* 11, 229 (1978).
- Tor E. R., Holstege D. M., Galey F. D.: *J. Agric. Food Chem.* 44, 2716 (1996).
- Hembree J. A., Chang C. J., McLaughlin J. L., Peck G., Cassady J. M.: *J. Nat. Prod.* 42, 293 (1979).
- Steyn P. S., van Heerden F. R.: *Nat. Prod. Rep.* 15, 397 (1998).
- Qiong M., Lee-Fong Y., Jing-Guang L., Zhen-Zhen W., Bao-Xian Z., Jing-Rong W., Zhi-Hong J.: *J. Ethnopharmacol.* 187, 74 (2016).
- Keppel M. H. a 16 spoluautorů: *PLoS One* 14, e0212973 (2019).
- Hamlyn J. M., Blaustein M. P., Bova S., DuCharme D. W., Harris D. W., Mandel F., Mathews W. R., Ludens J. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 6259 (1991).
- el-Masri M. A., Clark B. J., Qazzaz H. M., Valdes R.: *Clin. Chem.* 48, 1720 (2002).
- Li J. H., Pan H., Wu Z. P., Chen Y. L., Chu X. M., Lin S. S.: *Zhongguo Yaoli Xuebao* 16, 47 (1995).
- Gusdon J. P., Buckalew V. M., Hennessy J. F.: *Am. J. Obstet. Gynecol.* 150, 83 (1984).
- Dasgupta A., Trejo O.: *Am. J. Clin. Pathol.* 111, 406 (1999).
- Kelman A. W., Sumner D. J., Lonsdale M., Lawrence J. R., Whiting B.: *Br. J. Clin. Pharmacol.* 10, 135 (1980).
- Manunta P., Hamilton B. P., Hamlyn J. M.: *Hypertension* 37, 472 (2001).
- Magpusao A. N., Omolloh G., Johnson J., Gascón J., Peczuh M. W., Fenteany G.: *ACS Chem. Biol.* 10, 561 (2015).
- Iyer A. K., Zhou M., Azad N., Elbaz H., Wang L., Rogalsky D. K., Rojanasakul Y., O'Doherty G. A., Langenhan J. M.: *ACS Med. Chem. Lett.* 1, 326 (2010).
- Wang H. Y. L., Xin W., Zhou M., Stueckle T. A., Rojanasakul Y., O'Doherty G. A.: *ACS Med. Chem. Lett.* 2, 73 (2011).
- Lindemann P., Luckner M.: *Phytochemistry* 46, 507 (1997).

31. Thorn A., Egerer-Sieber C., Jäger C. M., Herl V., Müller-Uri F., Kreis W., Muller Y. A.: *J. Biol. Chem.* 283, 17260 (2008).
32. Kuate S. P., Pádua R. M., Eisenbeiss W. F., Kreis W.: *Phytochemistry* 69, 619 (2008).
33. Pádua R. M., Meitinger N., Hennemann M., Schebitz P., Waibel R., Löber S., Gmeiner P., Clark T., Kreis W.: *Tetrahedron* 72, 4556 (2016).
34. Diettrich B., Aster U., Greidziak N., Roos W., Luckner M.: *Biochem. Physiol. Pflanz.* 182, 245 (1987).
35. Theurer C., Treumann H. J., Faust T., May U., Kreis W.: *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 38, 327 (1994).
36. El-Sayed E. R., Ahmed A. S., Abdelhakim H. K.: *J. Appl. Microbiol.* 128, 747 (2020).
37. Verma S. K., Gantait S., Jeong B. R., Hwang S. J.: *Sci. Rep.* 8, 18009 (2018).
38. Pérez-Alonso N., Capote A., Gerth A., Jiménez E.: *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 110, 153 (2012).
39. Paranhos A., Fernández-Tárrago J., Corchete P.: *New Phytol.* 141, 51 (1999).
40. Reuter H., Henderson S. A., Han T., Ross R. S., Goldhaber J. I., Philipson K. D.: *Circ. Res.* 90, 305 (2002).
41. Liu T., Brown D. A., O'Rourke B.: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 49, 728 (2010).
42. Pan L., Zhang Y., Zhao W., Zhou X., Wang C., Deng F.: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 80, 91 (2017).
43. Haas M., Wang H., Tian J., Xie Z.: *J. Biol. Chem.* 277, 18694 (2002).
45. Kometiani P., Liu L., Askari A.: *Mol. Pharmacol.* 67, 929 (2005).
46. Zhang D., Zhang P., Yang P., He Y., Wang X., Yang Y., Zhu H., Xu N., Liang S.: *Clin. Proteomics* 14, 15 (2017).
47. Li Z., Zhang Z., Xie J. X., Li X., Tian J., Cai T., Cui H., Ding H., Shapiro J. I., Xie Z.: *J. Biol. Chem.* 286, 32394 (2011).
48. Furlong I. J., Ascaso R., Lopez Rivas A., Collins M. K.: *J. Cell Sci.* 110, 653 (1997).
49. Rich I. N., Worthington-White D., Garden O. A., Musk P.: *Blood* 95, 1427 (2000).
50. Sergeeva T. F., Shirmanova M. V., Zlobovskaya O. A., Gavrina A. I., Dudenkova V. V., Lukina M. M., Lukyanov K. A., Zagaynova E. V.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.* 1864, 604 (2017).
51. Yang Q. a 11 spoluautorů: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 9631 (2005).
52. Bielawski K., Winnicka K., Bielawska A.: *Biol. Pharm. Bull.* 29, 1493 (2006).
53. Zhang H. a 12 spoluautorů: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 19579 (2008).
54. Fujii T., Shimizu T., Yamamoto S., Funayama K., Fujita K., Tabuchi Y., Ikari A., Takeshima H., Sakai H.: *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Basis Dis.* 1864, 3792 (2018).
55. Wong R. W., Lingwood C. A., Ostrowski M. A., Cabral T., Cochrane A.: *Sci. Rep.* 16, 850 (2018).
56. Kapoor A., Cai H., Forman M., He R., Shamay M., Arav-Boger R.: *Antimicrob. Agents Chemother.* 56, 4891 (2012).
57. Kaushik V., Yakisich J. S., Azad N., Kulkarni Y., Venkatadri R., Wright C., Rojanasakul Y., Iyer A. K. V.: *J. Cell Physiol.* 232, 2497 (2017).
58. Yakisich J. S., Azad N., Venkatadri R., Kulkarni Y., Wright C., Kaushik V., O'Doherty G. A., Iyer A. K. V.: *Oncol. Rep.* 35, 878 (2016).
59. Feng Q., Leong W. S., Liu L., Chan W. I.: *Molecules* 21, 534 (2016).
60. Wang T., Zhuang Z., Zhang P., Wang Y., Mu L., Jin H., Zhou L., Ma X., Liang R., Yuan Y.: *Oncol. Lett.* 14, 4971 (2017).
61. Ahern T. P., Tamimi R. M., Rosner B. A., Hankinson S. E.: *Breast Cancer Res. Treat.* 144, 427 (2014).
62. Karasneh R. A., Murray L. J., Mc Menamin Ú. C., Hughes C. M., Cardwell C. R.: *Breast Cancer Res. Treat.* 151, 661 (2015).
63. Karasneh R. A., Murray L. J., Hughes C. M., Cardwell C. R.: *Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev.* 24, 1804 (2015).
64. Wright J. L., Hansten P. D., Stanford J. L.: *Prostate* 74, 97 (2014).
65. López-Lázaro M., Pastor N., Azrak S. S., Ayuso M. J., Austin C. A., Cortés F.: *J. Nat. Prod.* 68, 1642 (2005).
66. Trenti A., Zulato E., Pasqualini L., Indraccolo S., Bolego C., Trevisi L.: *Br. J. Pharmacol.* 174, 3094 (2017).
67. Yang Q. F., Dalgard C. L., Eidelman O., Jozwik C., Pollard B. S., Srivastava M., Pollard H. B.: *J. Carcinog.* 20, 8 (2013).
68. Sáez P. J., Vargas P., Shoji K. F., Harcha P. A., Lennon-Duménil A. M., Sáez J. C.: *Sci. Signaling* 10, eaah7107 (2017).
69. Menger L. a 20 spoluautorů: *Sci. Transl. Med.* 4, 143ra99 (2012).
70. Obeid M., Panaretakis T., Tesniere A., Joza N., Tufi R., Apetoh L., Ghiringhelli F., Zitvogel L., Kroemer G.: *Cancer Res.* 67, 7941 (2007).
71. Fu C., Jiang A.: *Front. Immunol.* 9, 3059 (2018).
72. <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=cancer&term=digoxin&cntry=&state=&city=&dist=>, staženo 11. 1. 2019.
73. Zhang X. H., Wang X. Y., Zhou Z. W., Bai H., Shi L., Yang Y. X., Zhou S. F., Zhang X. C.: *Biofactors* 43, 812 (2017).
74. Deng K. a 12 spoluautorů: *Cancer Biol. Ther.* 20, 52 (2019).
75. Zhou Y., Zhou Y., Yang M., Wang K., Liu Y., Zhang M., Yang Y., Jin C., Wang R., Hu R.: *Redox. Biol.* 22, 101131 (2019).
76. Felth J., Rickardson L., Rosén J., Wickström M., Fryknäs M., Lindskog M., Bohlin L., Gullbo J.: *J. Nat. Prod.* 72, 1969 (2009).
77. Peterková L., Rimpelová S., Kmoníčková E., Ruml T.: *Chem. Listy* 113, 149 (2019).

78. Einbond L. S., Wu H. A., Sandu C., Ford M., Mighty J., Antonetti V., Redenti S., Ma H.: *Fitoterapia* 109, 146 (2016).
79. Xiao Y. a 10 spoluautorů: *Mol. Med. Rep.* 15, 941 (2017).

J. Bejček^a, V. Spiwok^a, E. Kmoníčková^b, T. Ruml^a, and S. Rimpelová^a (^a *Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague,* ^b *Institute of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen*): **Cardiac Glycosides: On their Therapeutic Potential for Cancer Treatment**

Cardiac glycosides are bioactive natural compounds well-known mainly for their potency to induce a cardio-tonic effect by sodium-potassium ATPase inhibition. For many years, cardiac glycosides have been utilized to treat

heart failure and arrhythmias; however, according to novel research studies, these compounds have an enormous potential also as medicinally promising compounds for cancer treatment. The goal of this review is to provide a brief insight into the research topic of cardiac glycosides by describing their chemical structure, biosynthesis, the mechanism of action, anticancer potential alongside with the most significant clinical trials, as well as their other biological activities, such as the modulation of the immune system.

Keywords: digoxin, digitoxin, cardiac glycosides, ouabain, anticancer activity, natural compounds, sodium-potassium pump (Na⁺/K⁺-ATPase)

Acknowledgements

The authors are to grateful to financial support by the following grants: OPPC CZ.2.16/3.1.00/24503, NPU I LO1601.