Review Article

# การออกแบบโพรดรักเพื่อนำส่งยาสู่เป้าหมาย

# Targeted Prodrugs

พัชรวีร์ นันท์ธนะวานิช*

สาขาวิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

* Corresponding author: patcharw@swu.ac.th

## บทคัดย่อ

การออกแบบโพรดรัก หรือ prodrug เดิมมีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสมของตัวยา เช่น การละลายน้ำ อัตราสารเข้าทางชีวภาพ ความคงตัว ความเป็นพิษ เป็นต้น ทั้งนี้ ตัวยายังสามารถกระจายไปออกฤทธิ์ได้ทั่วร่างกายโดยไม่เฉพาะเจาะจง ปัจจุบันมีการออกแบบให้สามารถนำส่งตัวยาไปยังบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์ เรียกว่า targeted prodrug ซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ตัวพา (carrier) เพื่อให้ prodrug เข้าไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายได้เอง (passive enrichment in the target tissue) การใช้ตัวพาที่เฉพาะเจาะจง (targeting specific transporter) การใช้ prodrug ที่มีความเฉพาะต่อแอนติเจนที่ผิวนอก (targeting surface antigen) การใช้เอนไซม์ในเนื้อเยื่อหรือเซลล์ที่มีความเฉพาะในการกระตุ้นให้เกิด bioreversibility ของ prodrug (tissue or cell-specific enzyme) นอกจากนี้ ยังมีการนำส่งเอนไซม์จากภายนอกไปยังบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์ที่เรียกว่า antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) และ gene-directed enzyme prodrug therapy (GDEPT)

**คำสำคัญ:** การนำยาสู่เป้าหมาย, targeted prodrug, ADEPT, GDEPT, VDEPT

***ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2553;5(3):270-278***[§]

## บทนำ

การพัฒนายามีจุดประสงค์ให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพและความปลอดภัยสูง มีความเฉพาะเจาะจงในการออกฤทธิ์และเมื่อถูกเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ในร่างกายต้องได้อนุพันธ์ที่ไม่เป็นพิษ แต่ในความเป็นจริงสารที่จะนำมาเป็นยาที่มีฤทธิ์ดี อาจมีคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสม เช่น มีความเป็นพิษสูง มีความไม่คงตัวทางเคมี มีการละลายในไขมันหรือในน้ำมากหรือน้อยเกินไป มีอัตราสารเข้าทางชีวภาพต่ำ (oral bioavailability) คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) และเภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamics) ไม่เหมาะสม ออกฤทธิ์ไม่เฉพาะเจาะจง หรือมี first-pass metabolism[1]

การทำให้ยาอยู่ในรูปโพรดรัก (prodrug) มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการนำส่งยาในร่างกายซึ่งตั้งอยู่บนสมมุติฐานว่า ถ้าปริมาณตัวยาในร่างกายสูงขึ้น บริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์จะมีความเข้มข้นของยาสูงและจะส่งผลให้ยามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาดีขึ้นและสามารถลดปริมาณยาที่ใช้ลง แต่การเพิ่มปริมาณตัวยาในร่างกายก็อาจทำให้ความเป็นพิษสูงขึ้นด้วย เนื่องจาก prodrug ไม่มีความเฉพาะเจาะจงต่อบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์ ทำให้ prodrug สามารถออกฤทธิ์ได้ทั่วร่างกาย การนำส่งยาไปยังบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์เพื่อให้มีความเฉพาะเจาะจงจึงเป็นแนวทางสำคัญในการออกแบบ prodrug ที่เรียกว่า targeted prodrug[2]

การนำส่งยาไปยังบริเวณที่ต้องการเพื่อให้ออกฤทธิ์อย่างเฉพาะเจาะจง ทำโดยการนำส่งยาไปยังตำแหน่งที่ต้องการโดยตรง (site-directed delivery) หรือการนำส่งไปยังบริเวณที่ต้องการแล้วมีการเปลี่ยนแปลงได้เป็นสารออกฤทธิ์ (site-specific bioactivation) โดยในการนำส่งยาแบบ site-directed delivery ตัวยาอาจอยู่ในรูปที่มีฤทธิ์และสามารถพบได้ทั่วไปในทุกส่วนของร่างกาย แต่เนื่องจาก prodrug มีคุณสมบัติที่เฉพาะเจาะจงต่อการนำส่งไปยังบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์ ส่วนการนำส่งยาแบบ site-specific bioactivation เป็น prodrug ที่อยู่ในรูปอนุพันธ์ที่ถูกเปลี่ยนกลับได้ (bioreversible derivatives) สามารถกระจายไปทั่วร่างกายแต่จะเกิด bioactivation ได้เป็นสารออกฤทธิ์เฉพาะบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์

ในการออกแบบ prodrug ต้องเปรียบเทียบความแตกต่างของสภาพแวดล้อมทั้งด้านปริมาณและคุณภาพของบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์และบริเวณที่ไม่ต้องการให้ออกฤทธิ์ เพื่อให้ prodrug ถูกกระตุ้นหรือเกิดการปลดปล่อยตัวยาสำคัญได้ถูกที่ เช่น การใช้ตัวพา (carrier) เพื่อนำส่ง prodrug ไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายได้เอง (passive enrichment in the target tissue) การใช้ตัวพาที่เฉพาะเจาะจง (targeting specific transporter) การใช้

§ 15th year of Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Science

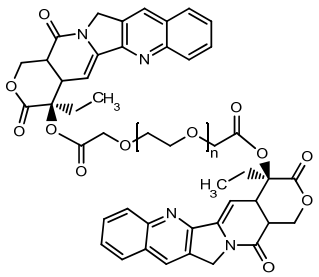
prodrug ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อแอนติเจนที่ผิวนอก (targeting surface antigen) การใช้ enzyme ในเนื้อเยื่อหรือในเซลล์ที่ความเฉพาะในการกระตุ้นให้เกิด bioreversion ของ prodrug (targeting tissue or cell-specific enzyme)[3]

นอกจากนี้ การออกแบบยาต้านมะเร็งแนวใหม่ได้มีการนำเอนไซม์จากภายนอก (exogenous enzyme) มาใช้ในการเปลี่ยนแปลง prodrug ให้เป็นสารออกฤทธิ์ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เฉพาะในบริเวณที่ต้องการฆ่าเซลล์มะเร็ง เพื่อให้ทำลายเซลล์ปกตินอ้ยที่สุดและมีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สูง ซึ่งการนำส่งเอนไซม์ไปยังบริเวณเซลล์มะเร็งทำโดยอาศัย antibody เรียกว่า antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) หรือนำส่งยีน (gene) ที่ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์เพื่อไปแสดงออกในเซลล์มะเร็งโดยอาศัย vector ที่ไม่ใช่ไวรัส (non-viral vector) ในการนำส่งเรียกว่า gene-directed enzyme prodrug therapy (GDEPT) และถ้า vector ที่ใช้ในการนำส่งยีนเป็น virus (viral vector) จะเรียกว่า virus-directed enzyme prodrug therapy (VDEPT)[4]

**Prodrug ที่ไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายได้เอง (passive enrichment in the target tissue)**

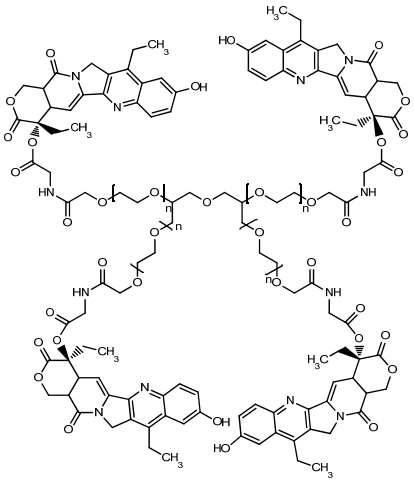
วิธีการในการนำส่งยาโดยให้ prodrug มีคุณสมบัติในการไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายเอง ซึ่งให้ผลดีในการนำส่งยาไปยังเซลล์มะเร็งโดยมีผลต่อเซลล์ปกตินอ้ย โดยใช้หลักการ enhanced permeability and retention (EPR) effect[5] ซึ่งมีพื้นฐานที่ว่า ในเซลล์มะเร็ง solid tumor หลายชนิดมีการสร้างหลอดเลือด (blood vessel) เพิ่มขึ้นอย่างผิดปกติทำให้มีเลือดมาเลี้ยงมากขึ้นและมีการผลิตตัวเหนี่ยวนำ (mediator) และเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น bradykinin, nitric oxide, peroxynitrite, prostaglandins, collagenase หรือ matrix metalloproteinases เป็นต้น ซึ่งทำให้สารต่าง ๆ สามารถผ่านเข้าออกหลอดเลือดเหล่านี้ได้ดีกว่าเซลล์ปกติ นอกจากนี้ในเซลล์มะเร็งมีการสร้างท่อน้ำเหลืองน้อยกว่าเซลล์ปกติทำให้สารที่อยู่ภายในเซลล์มะเร็งถูกขับออกช้าลงตาม EPR effect สารโมเลกุลใหญ่ที่น้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 40 kDa สามารถผ่านออกจากหลอดเลือดและเข้าไปสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของเซลล์มะเร็งได้ จึงมีการนำหลักการของ EPR effect นี้มาใช้ในการนำส่งยาเคมีบำบัดไปยังเซลล์มะเร็ง โดยสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ที่จับกับยาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์จะเป็นตัวพายาไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายที่เป็นมะเร็งได้เอง[6] สารโมเลกุลใหญ่ที่นิยมใช้ คือ polyethylene glycol (PEG)[7] ตัวอย่างยาต้านมะเร็งที่นำมา conjugate กับ PEG ซึ่งกำลังอยู่ระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิก ได้แก่ camptothecin (prothecan หรือ pegamotecan) และอนุพันธ์ เช่น irinotecan (NKTR-102), topotecan, exatecan, SN38 (EZN-2208) และ 9-amino-camptothecin

Prothecan เป็น prodrug ที่ได้จากการเชื่อมโมเลกุลของ camptothecin กับ PEG โดยเกิดพันธะ ester ระหว่าง hydroxyl group ที่ C-20 ของ camptothecin และ carboxylic group ของ PEG (รูปที่ 1) ทำให้ยามีครึ่งชีวิตในเลือดเพิ่มขึ้นและป้องกันการเกิด acylation ที่ทำให้ lactone ring ของ camptothecin แตกออก ซึ่งทำให้ยาหมดฤทธิ์[8]



**รูปที่ 1** Prothecan ซึ่งเกิดจาก camptothecin เชื่อมกับ PEG (40 kDa camptothecin)

สำหรับผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 2 ของ prothecan ในผู้ป่วย gastric หรือ gastroesophageal adenocarcinoma พบว่า ผู้ป่วยมีการตอบสนองต่อ prothecan ใกล้เคียงกับการรักษาด้วย irinotecan เดี่ยว ๆ แต่มีความเป็นพิษน้อยกว่า และมีผลการรักษาดีกว่า topetecan, exatecan และ 9-amino-camptothecin อย่างไรก็ตาม prothecan มีความเป็นพิษ (toxicological profile) ใกล้เคียงกับตัวยาที่ไม่ได้ conjugate คือ camptothecin ซึ่งคาดว่าเนื่องจากพันธะ ester ระหว่าง PEG กับ camptothecin เกิดการสลายตัวด้วยน้ำได้อย่างรวดเร็วเกิดเป็นตัวยาcamptothecin[9] การศึกษาวิจัยทางคลินิกของ prothecan จึงหยุดลงและหันมาศึกษาพัฒนา PEG conjugate กับ SN38 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ camptothecin โดยโครงสร้างของ EZN-2208 ประกอบด้วย SN-38 ต่อกับ PEG ที่ปลายทั้ง 4 ด้าน โดยมี glycine เป็นตัวเชื่อม[10] (รูปที่ 2) เมื่อ EZN-2208 เข้าสู่ร่างกายจะปลดปล่อยตัวยาออกมาและตัวยาจะยังคงอยู่ใน tumor mass โดย EPR effect ปัจจุบัน EZN-2208 อยู่ระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 1[11]

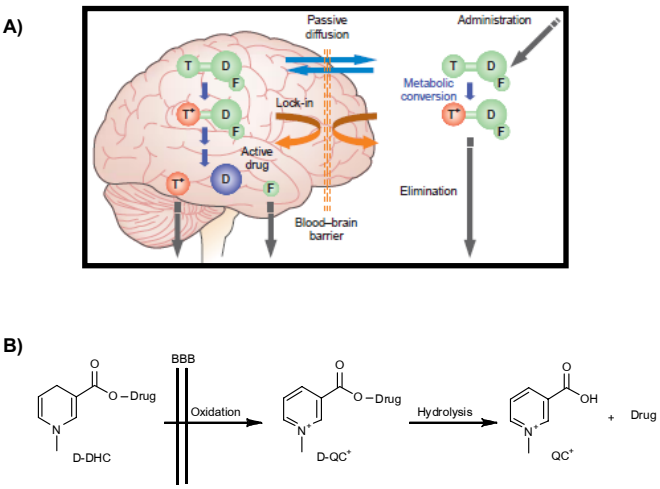


**รูปที่ 2** EZN-2208; $^{40K}$4arm-PEG-(SN38)[4]

Bodor และคณะได้พัฒนาระบบการนำยาเข้าสู่สมองโดยใช้หลักการของ site -specific chemical delivery system (CDS)[12] ซึ่งเป็นวิธีการนำส่งยาในรูปไม่มีฤทธิ์ไปยังบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์อย่างเฉพาะเจาะจงและเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือโดยอาศัยเอนไซม์หลายขั้นตอนได้เป็นสารออกฤทธิ์ CDS ประกอบด้วยตัวยา (D) ที่ถูกปรับปรุงโครงสร้างทางเคมีโดยเชื่อมต่อกับสารโมเลกุลเดี่ยวที่มีขนาดใกล้เคียงกับตัวยา ซึ่งเรียกว่า targetor (T) ทำหน้าที่เป็นตัวนำส่งยาไปยังบริเวณที่ต้องการและทำให้ตัวยาอยู่ในบริเวณนั้นได้นาน และมีส่วนที่เรียกว่า modifier function ($F_1$.....$F_n$) ทำหน้าที่ปรับปรุงคุณสมบัติด้านการละลาย และป้องกันหรือปรับปรุงโครงสร้างของโมเลกุลไม่ให้ถูกทำลายจากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่ไม่ต้องการ

การนำ CDS ไปใช้ในการนำยาเข้าสู่สมองโดยอาศัยหลักการว่า เมื่อ lipophilic prodrug ($T\text{-}D_F$) เข้าสู่สมอง จะถูกเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่มี hydrophilicity สูงขึ้น ($T^+\text{-}D_F$) และไม่สามารถผ่าน blood brain barrier (BBB) ออกมาได้ เรียกว่า locked-in mechanism ทำให้ตัวยาออกฤทธิ์ได้นานขึ้น ดังรูปที่ 3A targetor ที่มีการศึกษาเพื่อนำส่งยาสู่สมอง ได้แก่ 1,4-dihydro-trigonelline-trigonelline targetor system เป็นการนำตัวยาที่ต้องการนำส่งมาต่อกับ quaternary carrier คือ *N*-methylnicotinic acid ($QC^+$) ได้เป็น D-$QC^+$ แล้วนำไป reduce ให้อยู่ในรูปที่เป็นกลาง หรือ dihydro form (dihydrotrigonelline, D-DHC) เมื่อ D-DHC เข้าสู่ร่างกายจะมีการกระจายของ D-DHC ไปทั่วรวมทั้งที่สมอง D-DHC จะถูก oxidized โดยเอนไซม์ oxidoreductase ได้เป็น quaternary ammonium metabolite (D-$QC^+$) ทั้งบริเวณสมองและเนื้อเยื่อรอบนอก ยาในรูปที่มีประจุและมี hydrophicility สูงจะไม่สามารถผ่าน BBB ออกมาได้ และจะถูก hydrolysis โดยเอนไซม์ในสมองได้เป็นตัวยาที่ต้องการ ส่วน quaternary pyridinium ion ที่ได้จากการ hydrolysis จะถูกกำจัดออกจากสมอง[13] ดังแสดงในรูปที่ 3B ระบบ CDS ได้มีการนำไปใช้กับยาจำนวนมาก ได้แก่ zidovudine, ganciclovir, lomustine, benzylpenicillin, dexamethasone, encephalin, thyrotropin releasing hormone (TRH), kyotorphin และ estradiol เป็นต้น

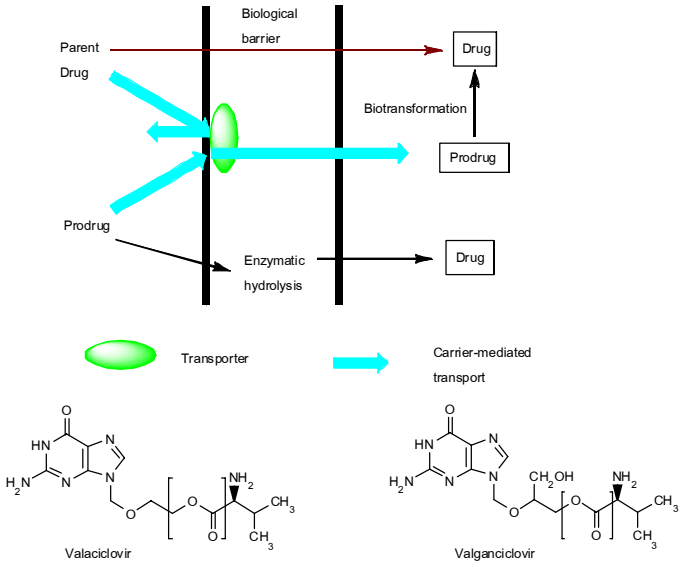
จากการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 2 ของ estradiol CDS ($E_2$-CDS) ในรูปแบบยาอมใต้ลิ้น (buccal formulation) และยาฉีดเข้าหลอดเลือด พบว่า $E_2$-CDS สามารถนำส่งยาไปสู่สมองได้ดี มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ estradiol ที่ให้โดยการรับประทาน โดยตรวจพบ estradiol ในกระแสโลหิตในระดับต่ำและมีระยะเวลาการออกฤทธิ์นาน[14]




**รูปที่ 3** A) Brain-targeting chemical delivery systems (CDSs)[12]
B) 1,4-dihydro-trigonelline-trigonelline targetor system

## Prodrug ที่ไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายโดยอาศัยตัวพาที่เฉพาะเจาะจง (targeting specific transporter)

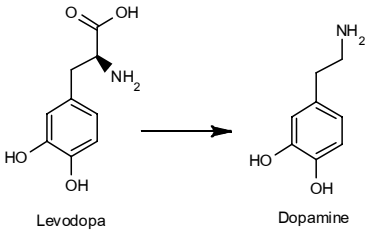
สารอาหารบางชนิด เช่น วิตามิน โปรตีน กรดอะมิโน เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมเข้าสู่ผนังลำไส้เล็กได้โดยอาศัยตัวพา (transporter) ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อสารชนิดนั้น โดยทั่วไปการออกแบบ prodrug ที่มีความเฉพาะต่อตัวพามักมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ตัวพาช่วยนำยาผ่าน membrane ของ epithelium cell ทำให้ยาถูกดูดซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีขึ้นและมีอัตราสารเข้าทางชีวภาพเพิ่มขึ้น (oral bioavailability) ดังในรูปที่ 4 เอนไซม์ในกระแสโลหิตหรือในเนื้อเยื่อเป้าหมายจะตัด promoiety ออกจาก prodrug ได้เป็นตัวยาที่ออกฤทธิ์ภายในเซลล์หรือในกระแสโลหิต ตัวอย่างเช่น acyclovir และ ganciclovir ซึ่งเป็นยาต้านไวรัสที่มี oral bioavailability ต่ำและแตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละรายเนื่องจาก




**รูปที่ 4** แบบจำลองอธิบายการดูดซึมของ prodrug โดยอาศัยตัวพา[15]

โครงสร้างของยาทั้งสองมีขั้วสูง เมื่อนำมาทำเป็น prodrug ได้แก่ valaciclovir และ valganciclovir ตามลำดับ โดยใช้ promoiety เป็นกรดอะมิโน valine ทำให้ prodrug ดังกล่าวสามารถผ่านผนังลำไส้ได้ดีกว่ายาเดิมถึง 3 - 10 เท่า เนื่องจากการดูดซึมจะอาศัยตัวพาสำหรับโปรตีนชนิด dipeptide และ tripeptide transporter (hPEPT 1) ตามลำดับ

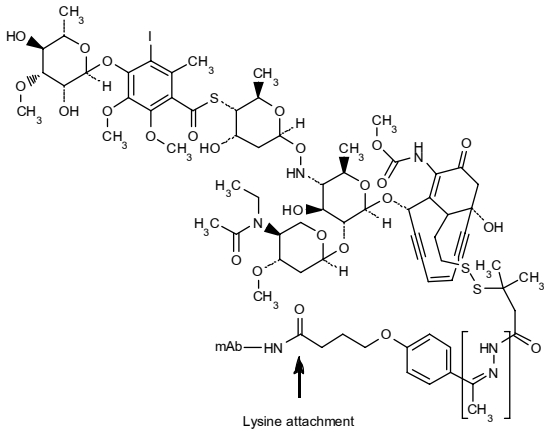
Prodrug ซึ่งมีการนำส่งยาไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายโดยอาศัยตัวพายังมีน้อย ตัวอย่างได้แก่ levodopa ซึ่งเป็น prodrug ของ dopamine จะถูกตัวพาของกรดอะมิโน (neutral amino acid transporter, LAT1) บริเวณ blood-brain barrier (BBB) นำ levodopa เข้าสู่สมอง และถูกตัด $CO_2$ ออก ได้เป็น dopamine ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ ดังรูปที่ 5[16]




**รูปที่ 5** Levodopa ถูกนำส่งไปยังสมองโดยอาศัย amino acid transporter

## Prodrug ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อแอนติเจนที่ผิวนอก (targeting surface antigen)

เป็นแนวทางในการออกแบบ prodrug ที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง ตัวอย่างได้แก่ CMA-676 (gemtuzumab ozogamicin, mylotarg) ซึ่ง FDA ได้รับรองให้ใช้ในการรักษา acute myelotic leukemia (AML) เมื่อปี ค.ศ. 2000 CMA-676 (รูปที่ 6) เป็นเคมีบำบัดที่มีการนำส่งยาไปยัง antigen บนผิวของเซลล์มะเร็ง (antibody-targeted chemotherapy agent) CMA-676 ประกอบด้วย recombinant humanized anti-CD33 antibody เชื่อมต่อกับ cytotoxic drug โดยหมู่ hydrazone ของ *N*-acetyl-γ-calichamicin เชื่อมต่อกับ antibody ที่ตำแหน่ง N-atom ของ lysine เมื่อ prodrug เข้าสู่ร่างกาย antibody จะจดจำ AML blast cell และนำยาไปออกฤทธิ์ที่ leukemia cell เท่านั้น โดยไม่มีผลต่อ hematopoietic stem cell และ prodrug จะถูกเปลี่ยนเป็น cytotoxic drug โดยอาศัยกระบวนการ hydrolysis บริเวณหมู่ hydrazone[17,18]

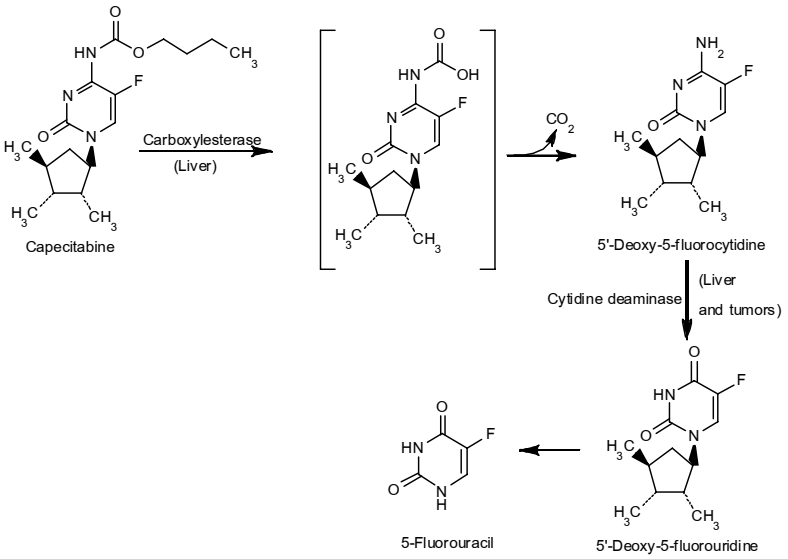



**รูปที่ 6** CMA-676 (*N*-acetyl-γ-calichamicin เชื่อมต่อกับ lysine ของ recombinant humanized anti-CD33 antibody ที่ N-atom)

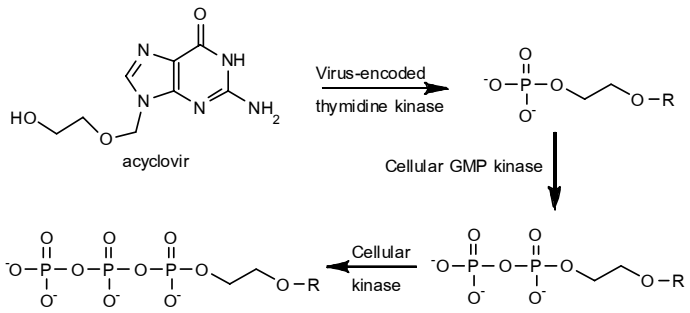
**Prodrug ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเอนไซม์ในเนื้อเยื่อหรือเซลล์ (targeting tissue or cell-specific enzyme)**

Prodrug ชนิดนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นตัวยาที่ออกฤทธิ์โดยเอนไซม์ที่มีมากหรือมีเฉพาะบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์ เช่น cytotoxic drug ที่ใช้ในการรักษา tumor cell โดยไม่ทำให้ cell ปกติเป็นอันตราย ได้แก่ capecitabine เป็น prodrug ของ 5-fluorouracil (5-FU) ซึ่ง capecitabine ต้องผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอนโดยเอนไซม์ที่มีเฉพาะใน tumor cell จึงจะได้สารออกฤทธิ์ โดย capecitabine ถูกดูดซึมได้ดีเมื่อให้โดยการรับประทานและจะถูกกระตุ้นให้เป็น active drug โดยผ่าน 3 ขั้นตอน คือ การ hydrolysis โดยเอนไซม์ carboxylesterase ในตับได้เป็น carboxylic acid metabolite แล้วเกิดการสูญเสีย carbon dioxide ได้เป็น 5'-deoxy-5-fluorocytidine จากนั้นเอนไซม์ cytidine deaminase ซึ่งมีมากในตับและ tumor cell จะเปลี่ยน 5'-deoxy-5-fluorocytidine ไปเป็น 5'-deoxy-5-fluoro-uridine จากนั้น 5'-deoxy-5-fluorouridine จะถูกเปลี่ยนไปเป็น 5-FU โดยเอนไซม์ thymidine phosphorylase ที่มีเฉพาะใน tumor cell[19,20] ดังแสดงในรูปที่ 7

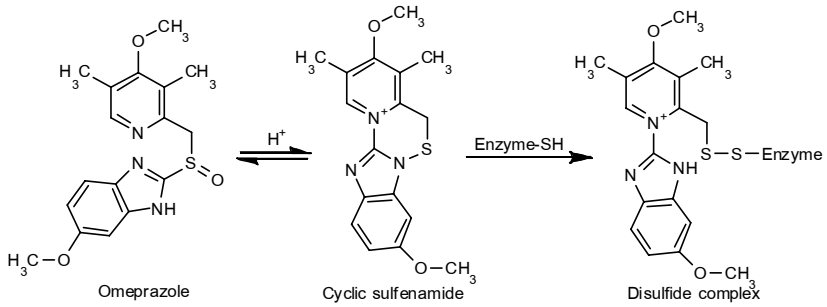
การนำส่งยาเพื่อให้เฉพาะเจาะจงต่อเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส (virus-infected cell) มีตัวอย่างคือ prodrug ของ acyclovir และยาในกลุ่ม antimetabolite อื่น ๆ ซึ่งยาจะถูกเติม phosphate group (phosphorylated) โดยเอนไซม์ pyrimidine deoxythymidine kinase ของ herpes virus เท่านั้น ในขณะที่ยาต้านไวรัสที่ไม่มีความเฉพาะเจาะจงจะถูก phosphorylate โดยเอนไซม์ของทั้งเซลล์ปกติและเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส เมื่อ acyclovir prodrug เปลี่ยนเป็น phosphate monoester แล้วจะถูกเอนไซม์ในเซลล์เปลี่ยนเป็น di- และ tri- phosphate acyclovir ตามลำดับ (รูปที่ 8) triphosphate ester จะเป็นสารออกฤทธิ์ซึ่งจะมีความเข้มข้นในเซลล์ที่ติดเชื้อมากกว่าเซลล์ที่ไม่ติดเชื้อไวรัส 3,000 เท่า ทำให้ acyclovir มีฤทธิ์ต่อเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเท่านั้น[1]




**รูปที่ 7** การเปลี่ยนแปลงของ capecitabine เป็น 5-fluorouracil (5-FU)




**รูปที่ 8** การเปลี่ยนแปลง acyclovir ให้อยู่ในรูป triphosphate ester




**รูปที่ 9** แสดงกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้ง $H^+/K^+$-ATPase ของ omeprazole

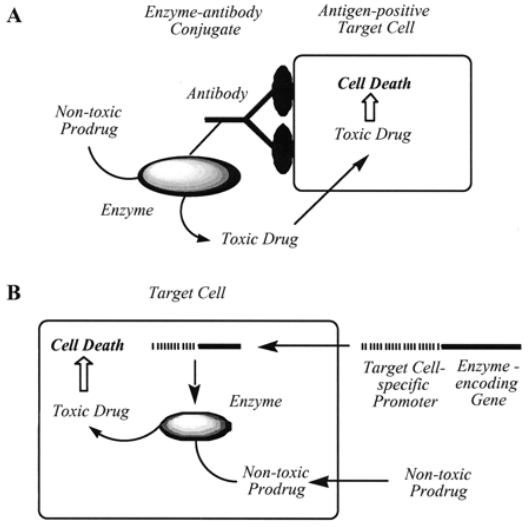
ตัวอย่างของการใช้ความแตกต่างของ pH เพื่อทำให้เกิด bioactivation คือ omeprazole ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม proton pump inhibitors มีกลไกการออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งเอนไซม์ $H^+/K^+$-ATPase ซึ่งทำหน้าที่ผลิต gastric acid ใน secretory membrane ของ parietal cell โดย omeprazole เป็น prodrug ที่ไม่มีฤทธิ์ ในสภาวะที่เป็นกรดของ parietal cell ตัวยา omeprazole จะถูกเปลี่ยนเป็น cyclic sulfenamide ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ thiol group ในเอนไซม์ $H^+/K^+$-ATPase เกิดเป็น disulfide complex ทำให้เอนไซม์หมดฤทธิ์[21] ดังแสดงในรูป 9

## การพัฒนา prodrug แนวใหม่เพื่อใช้เป็นยาต้านมะเร็ง

จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยน prodrug ที่กล่าวมาข้างต้นให้เป็นสารออกฤทธิ์จะใช้เอนไซม์ที่มีในร่างกาย (endogenous enzyme) ส่วนการออกแบบยาต้านมะเร็งแนวใหม่จะมีการนำเอนไซม์จากภายนอก (exogenous enzyme) มาใช้ในการเปลี่ยนแปลง prodrug ให้เป็นสารออกฤทธิ์ที่มีความเป็นพิษเฉพาะต่อเซลล์มะเร็ง เพื่อให้เกิดการทำลายเซลล์ปกติน้อยที่สุดและมีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สูง ซึ่งการนำส่งเอนไซม์ไปยังบริเวณเซลล์มะเร็งทำโดยอาศัย antibody เรียกว่า antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) หรือนำส่งยีนที่ทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์ไปยังเซลล์มะเร็ง เรียกว่า gene-directed enzyme prodrug therapy (GDEPT) หรือ virus-directed enzyme prodrug therapy (VDEPT)[22] (รูปที่ 10)

### Antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT)

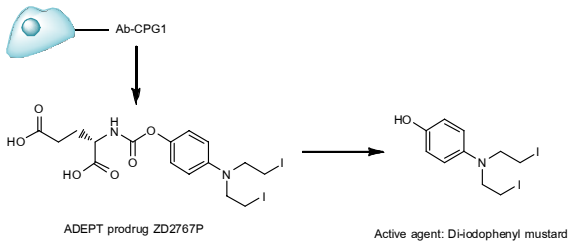
ADEPT เป็นการนำส่งเอนไซม์ไปยังบริเวณเซลล์มะเร็งโดยอาศัย monoclonal antibody (mAb) เมื่อเข้าสู่ร่างกาย enzyme-mAb conjugate จะไปจับกับ antigen บริเวณเซลล์มะเร็ง และเมื่อให้ prodrug เข้าร่างกาย เอนไซม์จะเปลี่ยน prodrug เป็น cytotoxic agent ที่มีฤทธิ์ในการรักษา ตัวอย่างเอนไซม์ที่ใช้ ได้แก่ carboxypeptidase G2 (CPG2), alkaline phosphatase, β-glucuronidase, β-lactamase, penicillin V/G amidase และ nitroreductase[24] ตัวอย่างของ ADEPT คือ A5CP/ZD2767P ซึ่งประกอบด้วย antibody-enzyme targeting agent คือ monoclonal antibody ต่อ carcinoembryonic antigen (CEA A5B7) จากหนูเชื่อมต่อกับเอนไซม์ CPG2 ของแบคทีเรีย และส่วน prodrug คือ ZD2767P ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็น active cytotoxic agent di-iodophenyl mustard โดยเอนไซม์ที่นำส่งเข้าไปจับบนผิว tumor cell[25] ดังแสดงในรูปที่ 11 จากผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 1 ของ A5CP/ZD2767P ในผู้ป่วย cororectal carcinoma หรือ CEA producing tumour ชนิดอื่น ๆ พบว่า เมื่อให้ A5CP ไปแล้วควรมีระบบการกำจัด A5CP antibody-enzyme conjugate ให้หมดจาก




**รูปที่ 10** แสดงการนำส่งยาต้านมะเร็ง **(A)** โดย antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) **B)** โดย gene-directed enzyme prodrug therapy (GDEPT) หรือ virus-directed enzyme prodrug therapy (VDEPT)[23]

กระแสโลหิตเพื่อไม่ให้มีเอนไซม์หลงเหลืออยู่ในกระแสโลหิตก่อนการให้ ZD2767P ทำให้ ZD2767P มีประสิทธิภาพดีและมีค่าครึ่งชีวิตสั้น ถูกกำจัดออกจากโลหิตได้อย่างรวดเร็ว ZD2767P จึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็น prodrug ในการรักษามะเร็งด้วยวิธี ADEPT ต่อไป[26]

ADEPT อีกแบบหนึ่งที่อยู่ระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 1 คือ MFECP1/ZD2767P ซึ่งมี antibody-enzyme conjugate เป็น anti-CEA sFv เชื่อมต่อกับ CPG2 ใช้ร่วมกับ ZD2767P[27] จนถึงปัจจุบันการศึกษา ADEPT ในทางคลินิกยังมีน้อยและยังคงอยู่ระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 1




**รูปที่ 11** Prodrug ZD2767P ถูกเปลี่ยนเป็น active drug โดยเอนไซม์ carboxypeptidase ที่นำส่งไปยังบริเวณเซลล์มะเร็งโดยวิธี antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 26)

### Gene-directed enzyme prodrug therapy (GDEPT)

GDEPT มีลักษณะคล้าย ADEPT แต่เป็นการนำส่งยีนที่ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ (gene encoding enzyme) ซึ่งร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ไปยังเซลล์มะเร็ง โดยอาศัย vector ที่ไม่ใช่ไวรัส เช่น liposome, cationic lipid หรือ viral vector เช่น retrovirus และ adenovirus เป็นต้น จึงอาจเรียก GDEPT อีกชื่อหนึ่งว่า virus-directed enzyme prodrug therapy (VDEPT) เมื่อยีนที่นำส่งเข้าไปเชื่อมต่อกับ transcription unit ของเซลล์มะเร็ง ทำให้เซลล์มะเร็งที่เป็นเป้าหมายผลิตเอนไซม์ออกมาเปลี่ยน prodrug ให้เป็นตัวยาที่มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์มะเร็ง[29] ตัวอย่างของ activating enzyme และ prodrug ใน GDEPT ที่มีการศึกษาวิจัยทางคลินิก ได้แก่ herpes simplex type-1 thymidine kinase enzyme (HSV-TK) กับ ganciclovir (GCV), cytosine deaminase (CD) จากแบคทีเรียหรือยีสต์ กับ 5-fluorocytosine (5-FC) และ bacterial nitroreductase (NfsB) กับ 5-(azaridine-1-yl)-2,4-dinitrobenzen-amide (CB1954) และอนุพันธ์

ปัจจุบัน HSV-TK/GCV เป็น GDEPT เพียงชนิดเดียวที่เข้าสู่การศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 3 ในผู้ป่วย glioblastoma multiform พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย HSV-TK/GCV มีอัตราการรอดชีวิตน้อยกว่าผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยวิธีมาตรฐานโดยการผ่าตัดร่วมกับฉายรังสี แต่จากผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 2 ในผู้ป่วย glioma พบว่า HSV-TK/GCV สามารถเพิ่มระยะเวลาในการมีชีวิตของผู้ป่วยได้มากกว่าการรักษาด้วยวิธีมาตรฐาน 38 - 62 สัปดาห์ นอกจากนี้การศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 1 ของ HSV-TK/GCV ในผู้ป่วย prostate cancer พบว่า การรักษาด้วย HSV-TK/GCV สามารถลด prostate-specific antigen (PSA) ซึ่งเป็นสารบ่งชี้ของโรคได้อย่างมีนัยสำคัญ และการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 1/2 พบว่า HSV-TK/GCV ช่วยเพิ่ม local และ systemic immune response เช่นเดียวกับเพิ่มการเกิดกระบวนการ apoptosis และลดความหนาแน่นของ microvessel[30-32]

มีการศึกษาความปลอดภัยในการใช้ CD/5FC ในการวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 1 หลายการทดลอง ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม หรือผู้ป่วย metastatic liver disease associated with colorectal cancer และจากการศึกษา pilot trial ในผู้ป่วย refractory cancer พบว่าสามารถนำส่งยีนซึ่งทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ CD โดยอาศัย salmonella bacteria ไปยังเซลล์มะเร็งได้ดี[33-35]

จากการศึกษาวิจัยทางคลินิกขั้นที่ 1 ของ NfsB/CB1954 ในผู้ป่วย gastrointestinal malignant พบว่า ระดับยาที่สามารถให้โดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำและไม่เกิดความเป็นพิษเท่ากับ 24 mg/m$^2$ และมีค่า area under the curve เป็น 5.8 $\pm$ 3.6 $\mu$M/h และจากการทดลองในผู้ป่วย hip prosthesis loosing พบอาการข้างเคียงของ NfsB/CB1954 ต่อระบบทางเดินอาหาร คือ คลื่นไส้อาเจียน และท้องเสีย และทำให้ระดับเอนไซม์ aspartate aminotransferase และ alanine aminotransferase เพิ่มขึ้น[36-38]

## สรุป

Prodrug เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสมของสารที่จะนำมาเป็นยา เช่น คุณสมบัติด้านเคมีฟิสิกส์ เภสัชการ เภสัชจลนศาสตร์ เภสัชพลศาสตร์ แต่อาจไม่มีความเฉพาะเจาะจงในการออกฤทธิ์ ในการออกแบบ prodrug เพื่อให้สามารถนำส่งยาไปยังบริเวณที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์อย่างเฉพาะเจาะจงจำเป็นต้องมีการศึกษาชีววิทยาในระดับโมเลกุล เช่น พยาธิสภาพของโรค โครงสร้างและหน้าที่ของเอนไซม์ ตัวพาในร่างกายที่จะช่วยนำส่งหรือกระตุ้นให้ตัวยาออกฤทธิ์ยังบริเวณที่ต้องการ เป็นต้น และนำมาซึ่ง prodrug ที่มีประสิทธิภาพดี มีความปลอดภัยและมีความเฉพาะเจาะจงต่อเป้าหมายได้หลากหลายรูปแบบมากขึ้น และยังมีการนำส่งยาโดยอาศัย antibody หรือยีนที่ทำหน้าที่ผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยน prodrug ไปเป็นยาที่มีฤทธิ์ และการใช้ carrier protein เป็นแนวทางใหม่ในการนำส่งตัวยาสำคัญไปสู่เนื้อเยื่อเป้าหมาย ทั้งนี้เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาให้ดียิ่งขึ้น

## เอกสารอ้างอิง


1. Larsen CS, Østergaard J. Design and application of prodrugs. In: Krogsgaard-Larsen P, Liljefors T, Madsen U (eds.). Textbook of drug design and discovery. London. Taylor & Francis, 2002: pp. 410–458.
2. Kearney AS. Prodrugs and targeted drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1996;19:225-239.
3. Ettmayer P, Amidon GL, Clement B, Tesla B. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. *J Med Chem* 2004;47: 2393-2404.
4. Han H-K, Amidon GL. Targeted prodrug design to optimize drug delivery. *AAPS PharmSci* 2000;2(article 6). (Available on line at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2751001).
5. Torchilin V. Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect. *Adv Drug Deliv Rev* 2010. (Available online 18 March 2010).
6. Fang J, Nakamura H, Maeda H. The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Adv Drug Deliv Rev* 2010. (Available online 2 May 2010).
7. Pasut G, Veronese FM. PEG conjugates in clinical development or use as anticancer agents: An overview. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61:1177-1188.
8. Zhao H, Lee C, Sai P, et al. 20-O-acylcamptothecin derivatives: evidence for lactone stabilization. *J Org Chem* 2000;65:4601-4606.
9. Scott LC, Yao JC, Benson AV, et al. A phase II study of pegylated camptothecin (pegamotecan) in the treatment of locally advanced and metastatic gastric and gastro-oesophageal junction adenocarcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009;63(2):363-370.
10. Zhao H, Rubio B, Sapra P, et al. Novel prodrugs of SN38 using multiarm poly(ethylene glycol) linkers. *Bioconjug Chem* 2008;19: 849–859.
11. Guo Z, Wheler JJ, Naing A, et al. Clinical pharmacokinetics (PK) of EZN-2208, a novel anticancer agent, in patients (pts) with advanced malignancies: a phase I, first-in-human, dose-escalation study. *J Clin Oncol* 2008;26(suppl):abstr 2556.
12. Bodor N, Buchwald P. Barriers to remember: brain-targeting chemical delivery systems and Alzheimer's disease. *Drug Discovery Today* 2002;7:766-744.
13. Buchwald P, Bodor N. Recent advances in the brain targeting of neuropharmaceuticals by chemical delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev* 1999;36:229-254.
14. Buchwald P, Bodor N. Brain targeted delivery of estradiol. *Am J Drug Deliv* 2006;4(3):161-175.
15. Majumdar S, Duvvuri S, Mitra AK. Membrane transporter/receptor-targeted prodrug design: Strategies for human and veterinary drug development. *Adv Drug Deliv Rev* 2004;56:1437-1452.
16. Bradley DA. Prodrugs for improved CNS delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1996;17:171-202.
17. Giles F, Estey E, O'Brien S. Gemtuzumab ozogamicin in the treatment of acute myeloid leukemia. *Cancer* 2003;98:2095-2104.
18. Hamann PR, Hinman LM, Hollander I, et al. Gemtuzumab ozogamicin: a potent and selective anti-CD33 antibody-calicheamicin conjugate for treatment of acute myeloid leukemia. *Bioconjugate Chem* 2002;13:47-58.
19. Walko CM, Lindley C. Capecitabine: a review. *Clin Ther* 2005;27: 23-44.
20. Venturini M. Rational development of capecitabine. *Eur J Cancer* 2002;38:S3-S9.
21. Lindberg P, Nordberg P, Alminger T, Braendstroem A, Wallmark B. The mechanism of action of the antisecretory agent omeprazole. *J Med Chem* 1986;29:1327-1329.
22. Hida K, Hanes J, Ostermeier M. Direct evolution for drug and nucleic acid delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2007;59:1562-1578.
23. Rooseboom M, Commandeur Jan NM, Vermeulen Nico PE. Enzyme-catayzed activation of anticancer prodrugs. *Pharmocol Rev* 2004;56:53-102.
24. Burke PJ. Alkylating agent prodrugs for ADEPT. *Adv Drug Deliv Rev* 1996;22:331-340
25. Springer CJ, Antoniw P, Bagshawe KD, Serle F, Bisset GMF, Jarman M. Novel prodrugs which are activated to cytotoxic alkylating agents by carboxypeptidase G2. *J Med Chem* 1990;33: 677-772.
26. Francis RJ, Sharma SK, Springer C, et al. A phase I trial of antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) in patients with advanced colorectal carcinoma or other CEA producing tumours. *Br J Cancer* 2002;87:600-607.
27. Chester K. Engineering antibodies for clinical application in cancer. *Tumour Biol* 2004;25:91-98.
28. Thurston DE, Neidle S. Chemical approaches to the discovery and development of cancer therapy. *Nature Rev* 2005;5:285-296.
29. Springer CJ, Duvaz IN. Gene-directed enzyme prodrug therapy (GDEPT): choice of prodrugs. *Adv Drug Deliv Rev* 1996;22:351-364.
30. Rainov NG. A phase III clinical evaluation of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase and ganciclovir gene therapy as an adjuvant to surgical resection and radiation in adults with previously untreated glioblastoma multiforme. *Hum Gene Ther* 2000;11:2389–2401.
31. Immonen A, Vapalahti M, Tyynela K, Hurskainen H, Sandmair A, Vanninen R, et al. AdvHSV-tk gene therapy with intravenous ganciclovir improves survival in human malignant glioma: A randomised, controlled study. *Mol Ther* 2004;10:967–972.
32. Nasu Y, Saika T, Ebara S, Kusaka N, Kaku H, Abarzua F, et al. Suicide gene therapy with adenoviral delivery of HSV-tK gene for patients with local recurrence of prostate cancer after hormonal therapy. *Mol Ther* 2007;15:834–840.

33. Pandha HS, Martin LA, Rigg A, et al. Genetic prodrug activation therapy for breast cancer: A phase I clinical trial of erbB-2-directed suicide gene expression. *J Clin Oncol* 1999;17:2180–2189.
34. Crystal RG, Hirschowitz E, Lieberman M, et al. Phase I study of direct administration of a replication deficient adenovirus vector containing the E. coli cytosine deaminase gene to metastatic colon carcinoma of the liver in association with the oral administration of the pro-drug 5-fluorocytosine. *Hum Gene Ther* 1997;8:985-1001.
35. Nemunaitis J, Cunningham C, Senzer N, et al. Pilot trial of genetically modified, attenuated Salmonella expressing the E. coli cytosine deaminase gene in refractory cancer patients. *Cancer Gene Ther* 2003;10:737–744.
36. Chung-Faye G, Palmer D, Anderson D, et al. Virus-directed, enzyme prodrug therapy with nitroimidazole reductase: A phase I and pharmacokinetic study of its prodrug, CB1954. *Clin Cancer Res* 2001;7:2662-2668.
37. Palmer DH, Mautner V, Mirza D, et al. Virus-directed enzyme prodrug therapy: Intratumoral administration of a replication-deficient adenovirus encoding nitroreductase to patients with resectable liver cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:1546–1552.
38. de Poorter J, Hoeben R, Obermann W, Huizinga T, Nelissen R. Gene therapy for the treatment of hip prosthesis loosening: Adverse events in a phase 1 clinical study. *Hum Gene Ther* 2008; 19:1029-1038.