

INHIBITORY MIKROTUBULŮ

JÍŘÍ PATOČKA^a, ANNA STRUNECKÁ^b
a MARIE STIBOROVÁ^c

^aKatedra toxikologie, Vojenská lékařská akademie, Šimkova 878, 500 01 Hradec Králové, e-mail: patocka@pmfhk.cz,

^bKatedra fyziologie a vývojové biologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Viničná 7, 128 00 Praha 2, ^cKatedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 6, 128 43 Praha 2

Došlo dne 27.II.2001

Klíčová slova: cytoskelet, mikrotubuly, inhibitor, mitóza, přírodní látky, paclitaxel, kolchicin, protinádorová léčiva

Obsah

1. Úvod
2. Klasifikace mikrotubulárních inhibitorů
3. Látky blokuji polymeraci tubulinu
 - 3.1. Látky vážící se na vazebné místo pro GTP
 - 3.2. Látky vážící se na vazebné místo pro kolchicin
 - 3.3. Látky s dosud nejasným místem vazby
4. Látky stabilizující mikrotubuly
5. Látky dezorganizující mikrotubuly
6. Závěr

1. Úvod

Cytoskelet eukaryotických buněk je tvořen komplikovaným pletivem vláknitých proteinových struktur tří druhů: mikrofilamenty, intermediární filamenty a mikrotubuly. Mikrofilamenty tvoří dvojí šroubovicová vlákna o průměru 8 nm, tvořená F-aktinem (filamentous actin) složeným z monomerních jednotek G-aktinu (globular actin) o molekulové hmotnosti 42 kDa. Intermediární filamenty mohou být tvořeny více typy proteinových podjednotek, např. desminem, vimentinem, keratinem apod. Mají podobu vláken o průměru 10 nm. Nejsilnější vlákna tvoří mikrotubuly, složené ze dvou typů proteinových molekul, z α -tubulinu (53 kDa) a z β -tubulinu (55 kDa). Heterodimer α -tubulin/ β -tubulin polymerizuje tak, že vytváří šroubovicovou strukturu v podobě dutého válce o vnějším průměru 28 nm a vnitřním 14 nm (obr. 1).

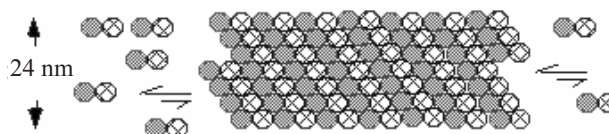
Cytoskelet buňky není rigidní kostrou, nýbrž neobyčejně dynamickým útvarem, který je zodpovědný za její mechanické vlastnosti a podílí se na všech fyziologických pochodech odehrávajících se v každé živé buňce¹. Odpovídá za všechny druhy buněčného i vnitrobuněčného pohybu, dělení buněk, přesun organel v buňce, pohyb bičíků a řasinek atd. Cytoskelet propojuje navzájem jednotlivé buněčné struktury a vytváří vysoce sofistikovaný prostor s velkým a neobyčejně diferencovaným povrchem, na němž dochází k interakci různých

proteinů a signálních molekul. Cytoskelet je zcela nezbytný pro regulaci buněčných pochodů a zachování integrity buňky, čímž zajišťuje její životaschopnost (viabilitu). Dynamika cytoskeletálních změn je podmíněna vratnou a rychlou polymerizací základních proteinových subjednotek do podoby vláken. To je spojeno s neustálým zkracováním a prodlužováním vláken cytoskeletu.

Mikrotubuly se podílejí na všech procesech spojených s dělením buňky². Polymerace a s ní spojené prodlužování mikrotubulů je podmíněno navázáním guanosin trifosfátu (GTP) na heterodimer tubulinu. Vazebné místo pro GTP se nachází na β -subjednotce tubulinu. Prodlužování mikrotubulu se děje postupným navazováním heterodimeru α -tubulin/ β -tubulin na tzv. plus konec vlákna, které se šroubovicově stáčí a vždy 13 dimerů vytvoří jeden úplný závit. Při hydrolyze GTP za vzniku guanosindifosfátu (GDP) dochází k zablokování dalšího růstu vlákna. Oddělováním dimeru z minus konce vlákna dochází k postupné depolymeraci a zkracování mikrotubulů³. Stabilita mikrotubulů ve zdravé buňce je regulována proteiny, nazývanými „microtubule-associated proteins“ (MAP), které kontrolují koncentraci Ca^{2+} v buňce⁴. Látky, které se váží na mikrotubuly a brání jim v polymeraci či depolymeraci, mají cytotoxický účinek a jsou označovány jako mitotické jedy, antitubulinové látky, nebo inhibitory mikrotubulů. Mnohé z těchto látek se nacházejí v různých přírodních zdrojích, mikroorganismech, rostlinách, mořských organismech apod. a jsou příčinou jejich vysoké toxicity. Jejich účinek na buňku je smrtící, ale cíleným zásahem mikrotubulárních inhibitorů do dělení nádorových buněk lze dosáhnout zastavení jejich dalšího růstu. Proto našly tyto látky praktické uplatnění v medicíně jako významná léčiva různých forem zhoubného bujení a zájem o ně se neustále zvyšuje. Lákají pozornost chemiků svou velmi často zajímavou chemickou strukturou, xenobiochemiky a molekulární biologie svým unikátním mechanismem účinku a onkologové svým praktickým využitím v boji s rakovinou. V poslední době jsou z různých přírodních zdrojů izolovány a chemicky identifikovány stále nové inhibitory mikrotubulů, které by mohly posunout možnosti terapie zhoubných nádorů a které se stávají vzorem pro syntézu ještě účinnějších derivátů a analogů. Systematickému přehledu těchto látek je věnován tento článek.

2. Klasifikace mikrotubulárních inhibitorů

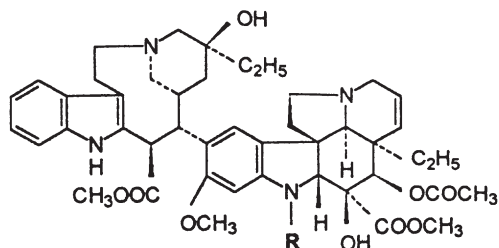
Po chemické stránce představují inhibitory mikrotubulů pestrou paletu látek; počet známých inhibitorů se každoročně



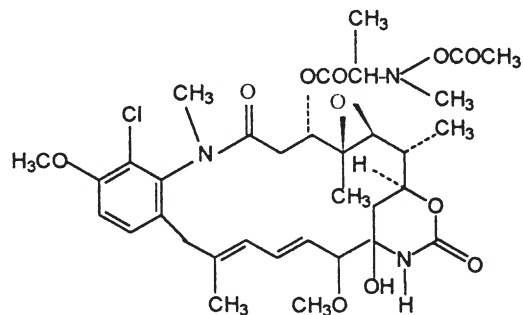
Obr. 1. Schéma tvorby mikrotubulů polymerací heterodimerních α -tubulin/ β -tubulin subjednotek

zvyšuje, ale vztahy mezi jejich chemickou strukturou a biologickým účinkem nejsou dosud dostatečně probádány. Využití chemické struktury pro jejich systematickou klasifikaci je

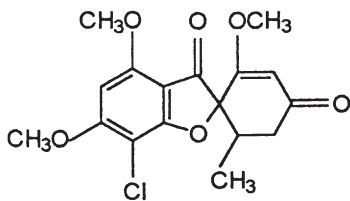
dosud problematické, proto se používá spíše nesystematické klasifikace podle místa a způsobu jejich vazby na mikrotubuly a podle mechanismu jejich účinku na mikrotubulární aparát



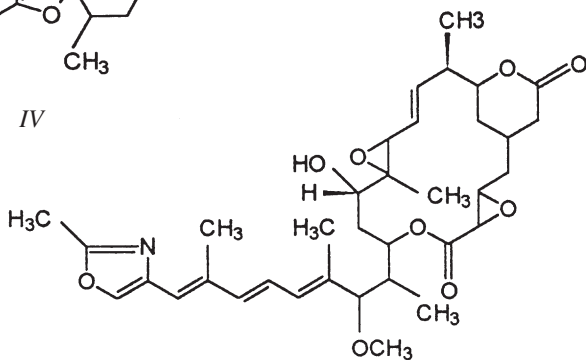
I R = CH₃
II R = CHO



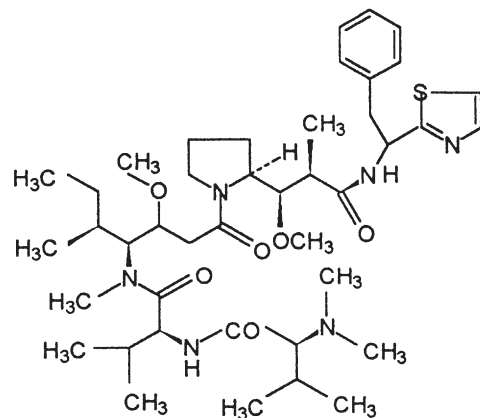
III



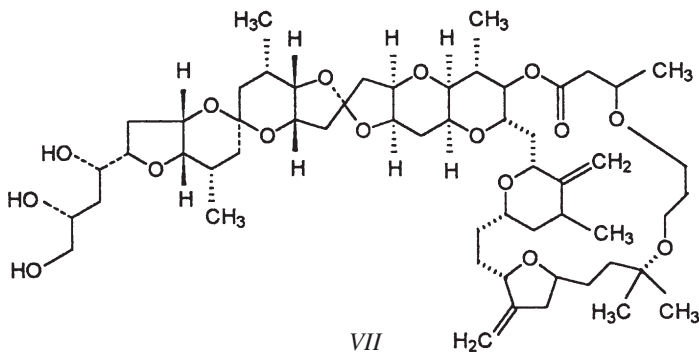
IV



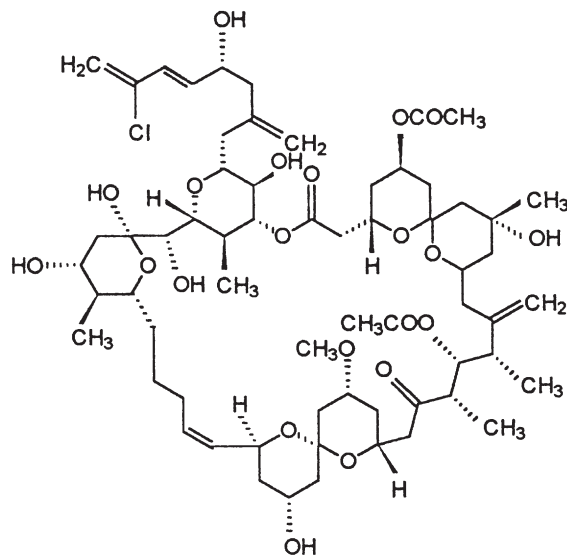
V



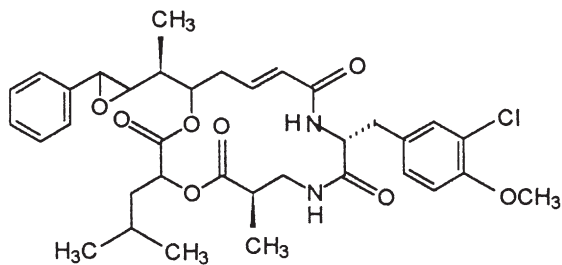
VI



VII



VIII



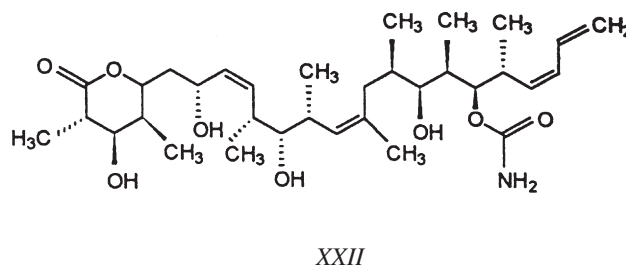
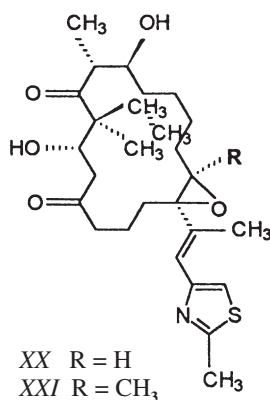
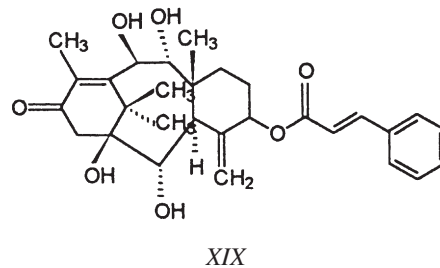
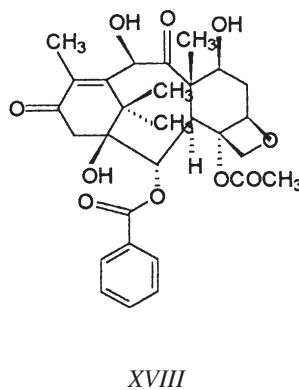
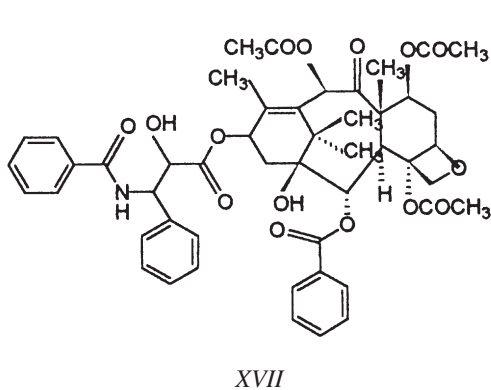
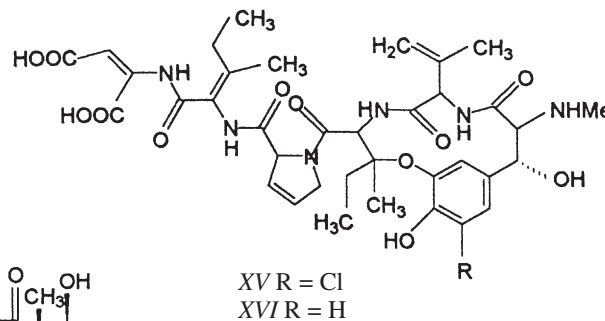
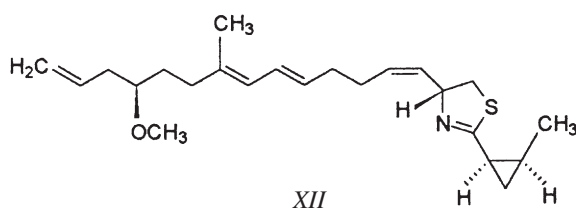
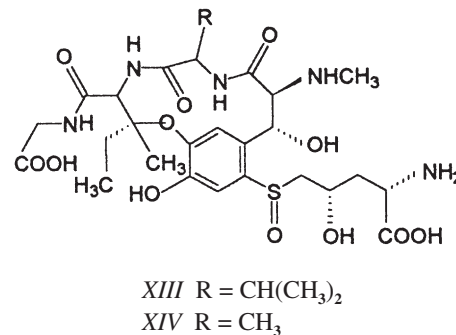
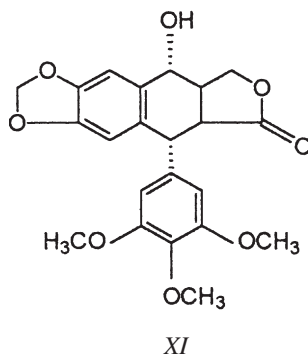
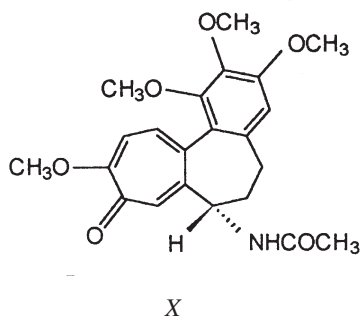
IX

buňky⁵. Podle této metody třídění můžeme rozdělit inhibitory mikrotubulů do tří skupin: 1. látky blokující polymeraci tubulinu tím, že se váží na heterodimer α -tubulin/ β -tubulin, který nemůže vytvářet mikrotubuly; 2. látky, které svou vazbou na mikrotubuly znemožní jejich depolymeraci a svým stabilizačním účinkem z nich vytváří rigidní a nefunkční struktury; 3. látky, které tím, že inhibují aktivitu buněčných enzymů, zejména proteinkinasy a fosfatasy, způsobí fatální dezorganizaci

mikrotubulárního systému (místem jejich účinku by mohly být např. MAP-kinasy⁶).

3. Látky blokující polymeraci tubulinu

Polymeraci heterodimeru α -tubulin/ β -tubulin blokují jednak látky, které se váží na vazebné místo pro GTP, jednak látky



obsazující vazebné místo pro kolchicin. Nelze vyloučit, že existují i některá další vazebná místa, jejichž obsazení ligandy zabrání procesu polymerace.

3.1. Látky vážící se na vazebné místo pro GTP

Nejdéle známými reprezentanty této skupiny jsou tzv. vinca-alkaloidy, látky nalezené v tropické rostlině *Catharanthus roseus*. Nejdůležitějšími vinca-alkaloidy jsou vinblastin (I) a vincristin (II), látky složené z tetracyklické struktury catharantinu a pentacyklické struktury vindolinu⁷. Vinblastin má široké použití při léčbě lymfomů, Hodgkinovy choroby, Kaposiho sarkomu a nádorů plic a varlat. Vincristin je účinný u akutní leukemie, neuroblastomu a rhabdomyosarkomu, ale také u Hodgkinovy choroby. Nežádoucí účinky vinblastinu jsou poměrně nízké. Zřídka se projevuje leukopenie, někdy je při jeho aplikaci pozorována trombocytóza. Při vysokých dávkách se však projevuje jeho neurotoxicita. Naproti tomu vedlejší toxické účinky vincristinu jsou závažnější. Látka je neurotoxická, vyvolává parestézie, poruchy nervového přenosu se svalovou adynamií a paralýzu hladkého svalstva vedoucí k poruše střevní pasáže nebo močového měchýře⁸. Semisynтетické deriváty vinca-alkaloidů s nižší toxicitou, jako je např. vindesin či vinorelbin, jsou účinné u různých plicních tumorů, maligních lymfomů a karcinomu prsu. Dalším reprezentantem této skupiny je makrolidový alkaloid maytansin (III) z tropické rostliny *Maytenus serrata*, populární drogy známé v západní Amazonii jako chuchuhuasi, a z některých dalších rostlin čeledi jasencovitých (*Celastraceae*)⁹. Nejeфекtivněji se maytansin projevuje u maligních lymfomů, karcinomu prsu a karcinomu vaječnicků. Nežádoucí účinky se projevují toxicitou hepatální, gastrointestinální a neurotoxicitou. Do této skupiny látek patří také antibiotikum griseofulvin (IV), produkované plísní *Penicillium griseofulvum*. Produktem plísně (*Rhizopus chinensis*) je i rhizoxin (V), makrolidový polyenový derivát oxazolinu s významným účinkem na některé tumory a karcinomu prsu¹⁰. Z jeho vedlejších účinků jsou nejzávažnějšími komplikacemi leukopenie, mukozitida a průjemy. Zajímavou látkou této skupiny je dolastin (VI), který má ve své molekule zabudován pyrrolidin a thiazolin. Dolastin byl izolován z mořské plže zvané zej obrovský (*Aplysia depilans* = *Dolabella auriculari*), nebo také „mořský zajíc“. Tento plž žijící ve Středozemním moři byl považován za velice jedovatého tvora již Římany. Jinou látkou této skupiny je složitý makrolidový polyether Halichondrin B (VII), nalezený v mořských houbách rodu *Halichondra*, *Axinella*, *Phakellia* a *Lissodendoryx*^{11,12}, s protinádorovým účinkem podobným vinblastinu¹³. Další látkou nalezenou v mořských houbách je i makrocyclický polyether spongistatin (VIII)¹⁴ a také cryptophycin A (IX)¹⁵.

3.2. Látky vážící se na vazebné místo pro kolchicin

Kolchicin (X) je alkaloid nalezený v *Colchicum autumnale* (ocún podzimní). Je to tricyklický tropolonový derivát, vážící se na specifické, ale zatím ne dosti dobře definované místo tubulinu¹⁶. Reakce tubulinu s kolchicinem je velmi pomalá, teplotně závislá a prakticky ireverzibilní. Kolchicin je účinný v léčbě chronické myeloidní leukémie, funguje též jako anti-uretikum. Dalším inhibitorem se stejným místem vazby jako

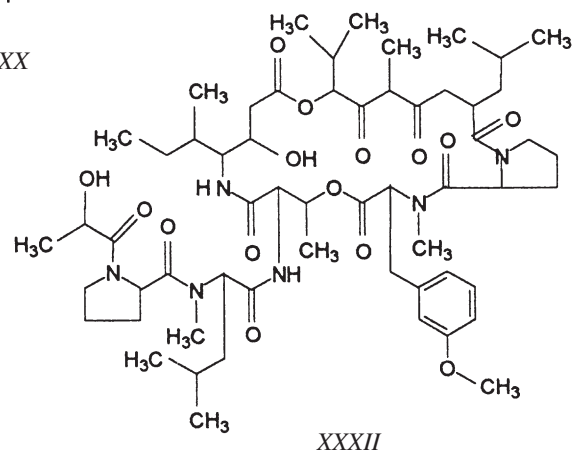
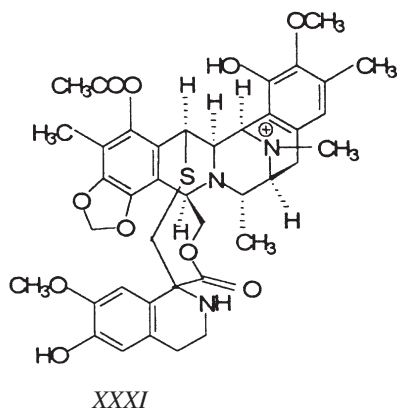
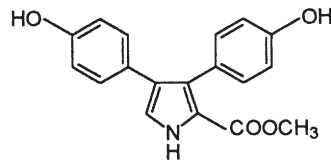
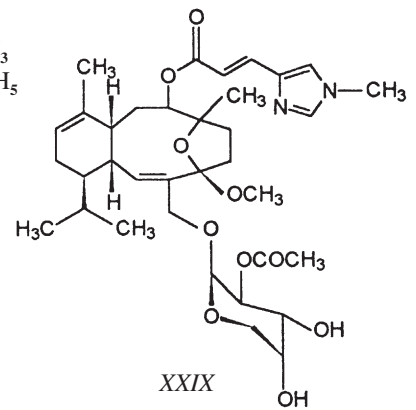
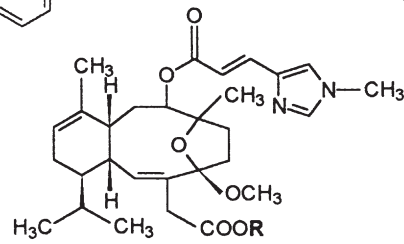
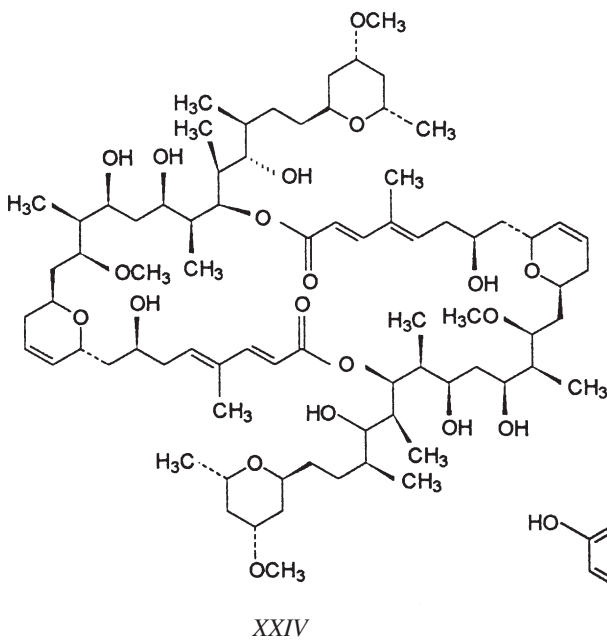
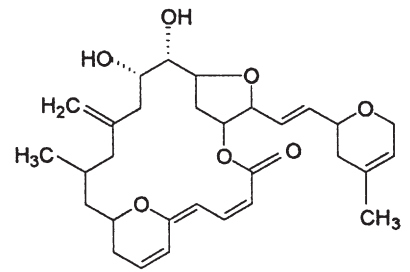
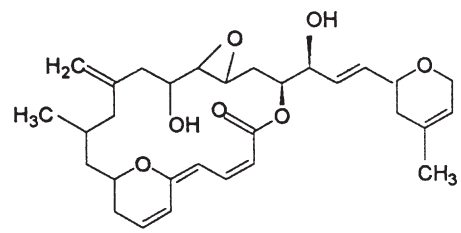
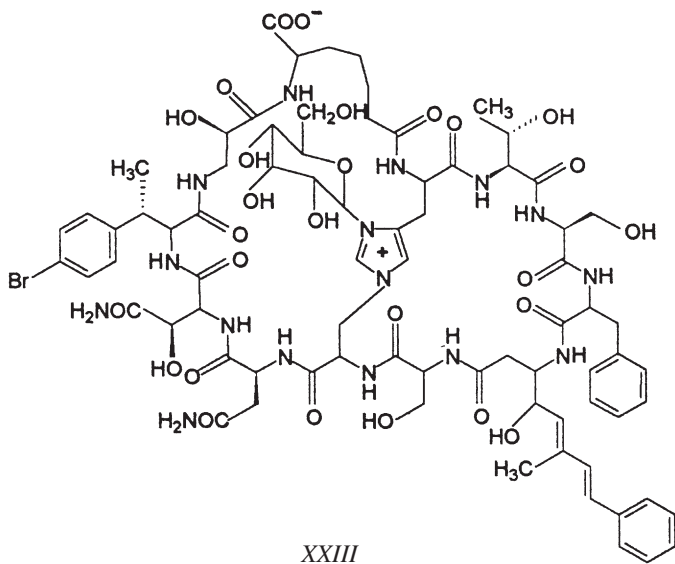
kolchicin je podophyllotoxin (XI), alkaloid z *Podophyllum peltatum* a *P. emodi*¹⁷. Je možno jej použít k léčbě některých benigních kožních nádorů, ale některé jeho syntetické deriváty, např. etoposid (VP-16) nebo teniposid, jsou účinnější než přirozený alkaloid¹⁸. Jsou významnými inhibitory topoizomerasy II. Jsou účinné zejména při léčbě leukemie a některých solidních tumorů. Teniposid je účinný vůči nádorům mozku, neuroblastomu a maligním lymfomům. Silný efekt vyvolává i proti Kaposiho sarkomu, bronchogennímu karcinomu a karcinomu močového měchýře. Etoposid se užívá i k léčbě bronchogenních karcinomů, choriokarcinomu, karcinomu štítné žlázy, ovaria a sarkomů měkkých tkání. Nežádoucími vedlejšími účinky teniposidu a etoposidu jsou především útlum krvetvorby a hematologická toxicita, jako je např. granulocytopenie. Etoposid může indukovat i chromosomální změny, které jsou rizikovým faktorem pro vznik akutní leukémie. Na stejné místo jako kolchicin se váže také polyenový derivát thiazolinu curacin A (XII), nalezený v mořské cyanobakterii *Lyngbya majuscula*¹⁹. Přestože kompetuje o stejné vazebné místo jako kolchicin či podophyllotoxiny, je jeho vazba na tubulinu poněkud odlišná²⁰. Slabší vazbu na kolchicinové místo tubulinu vykazují také benzofenantridinové alkaloidy chelidinin, chelerythrin a sanguinarin²¹.

3.3. Látky s dosud nejasným místem vazby

U některých látek je obtížné jednoznačně rozhodnout, zda se váží na GTP-místo či na kolchicinové místo tubulinu. I když často kompetují o obě místa, je pravděpodobné, že se neváží ani na jedno z nich, a jejich mechanismus vazby na tubulin je proto odlišný jak od GTP, tak od kolchicinu. Řadíme sem některé malé cyklické látky, jako jsou např. ustiloxiny A (XIII) a B (XIV) či phomopsiny A (XV) a B (XVI), nalezené v některých mořských houbách.

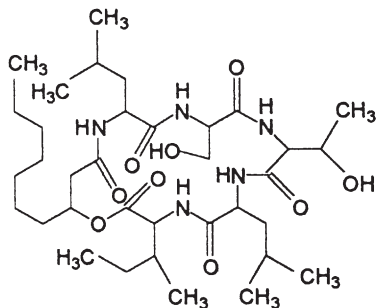
4. Látky stabilizující mikrotubuly

Nejnámějším reprezentantem této skupiny je paclitaxel (XVII), tetracyklická sloučenina získaná z pacifického tisu *Taxus brevifolia*. Oxetanový kruh v jeho molekule je nezbytný pro jeho biologický účinek, spočívající ve stabilizaci mikrotubulů, které pak nejsou schopny depolymerace a nemohou tak plnit svou fyziologickou úlohu²². Pod vlivem paclitaxelu se zastaví buněčný cyklus v G₂/M fázi. Paclitaxel interaguje s heterodimerem tubulinu tak, že se váže na několika místech na β-tubulin, ale vazba na α-tubulin byla také prokázána²³. Dalším pravděpodobným mechanismem účinku taxanů je indukce programované smrti buňky – apoptózy. Tlumí totiž expresi onkogenu bcl-2, kódujícího protein vnitřní membrány mitochondrií, který apoptózu inhibuje. Přesný mechanismus indukce apoptózy však doposud není znám^{24–26}. V klinické praxi se paclitaxel osvědčil u rakoviny prsu a vaječnicků, ale úspěšný byl rovněž u karcinomu plic, krku, hlavy a u melanomu. To vzbudilo enormní zájem onkologů o toto nové léčivo. I když se i u této látky projevují určité nežádoucí účinky, její vysoká protinádorová aktivita nad těmito vlivy převažuje. Limitujícím faktorem léčby paclitaxelem je myelosuprese, především granulocytopenie. Z dalších vedlejších účinků lze zmínit kardiotoxicitu a neurotoxicitu. Dostupnost paclitaxelu

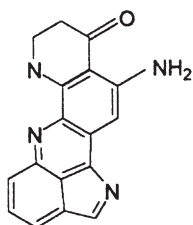


byla zprvu velmi malá, protože tis, ze kterého byl paclitaxel izolován, roste jen na omezeném území USA a Kanady a vý-
těžnost látky je nepatrná. Z 1 kg kůry je možno izolovat 0,1 až
0,2 g paclitaxelu, takže k léčení 1 pacienta je nutno izolovat
paclitaxel ze 2 až 3 tisů. Omezené rozšíření pacifického tisu
a jeho velmi pomalý růst jej diskvalifikují jako vhodný zdroj
paclitaxelu pro širší klinické využití. Byly a jsou proto hledány
možnosti, jak tuto látku získat synteticky v dostatečném vý-

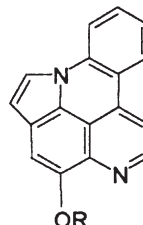
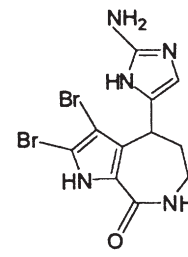
těžku. Totální syntéza paclitaxelu byla popsána Nicolauem
a jeho spolupracovníky²⁷ v roce 1994. Semi-syntetické meto-
dy přípravy dalšího zástupce taxanů, docetaxelu, využívají
jako suroviny 10-deacetyl-baccatin III (XVIII), resp. taxicin
(XIX), které se dají připravit z jehličí tisu červeného (*Taxus
baccata*), rostoucího hojně v celém středním pásmu. Klinické
využití paclitaxelu je komplikováno jeho malou rozpustností
ve vodě. Byly proto syntetizovány ve vodě více rozpustné



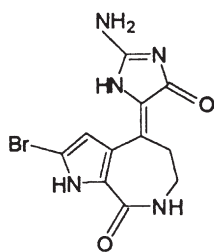
XXXIII



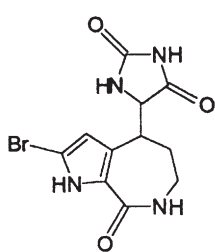
XXXIV

XXXV R = H
XXXVI R = CH₃

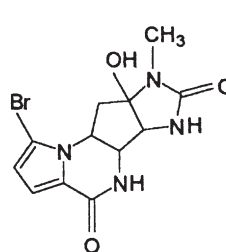
XXXVII



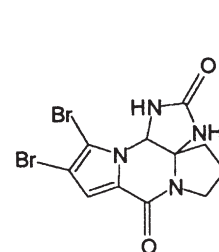
XXXVIII



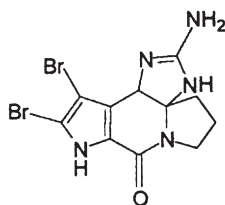
XXXIX



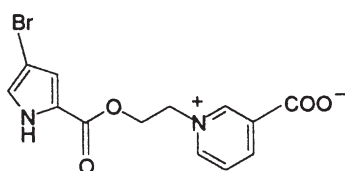
XL



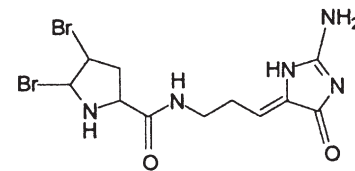
XLI



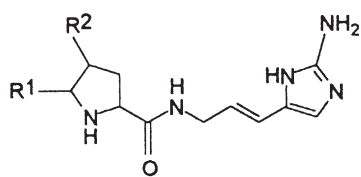
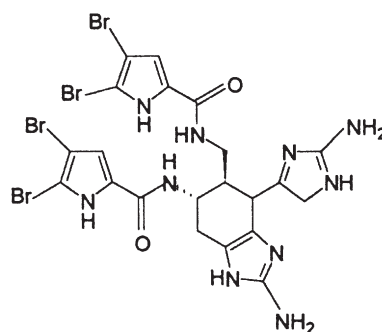
XLII



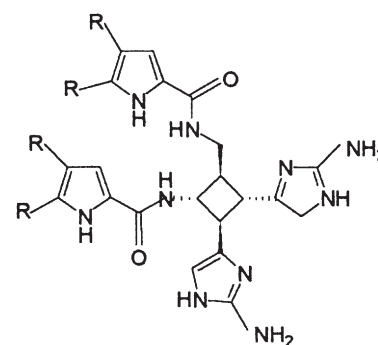
XLIII



XLIV

XLV R¹ = R² = HXLVI R¹ = H, R² = BrXLVII R¹ = R² = Br

XLVIII



XLIX R = H nebo Br

deriváty jako je docetaxel, vindesin a vinorelbin. Docetaxel působí v jiné fázi buněčného cyklu, nejvíce je aktivní v S fázi. Je účinnějším inhibitorem depolymerizace mikrotubulů než paclitaxel^{28,29}. Docetaxel má totiž větší afinitu k mikrotubulům než první ze zástupců taxanů, paclitaxel²⁶. Účinný je především proti karcinomu prsu a nemalobuněčného karcinomu plic, dále pak vůči karcinomu vaječníků, pankreatu a žaludku. Vedlejším nežádoucím účinkem je granulocytopenie, která limituje použití vyšších dávek.

V roce 1996 byla v bakterii *Sorangium cellulosum* nalezena nová skupina makrolidových látek stabilizujících mikrotubuly; tyto látky byly nazvány epothilony, protože v jejich molekule se nachází epoxid, thiazol a keton³⁰. Bylo zjištěno, že epothilony vytváří dvě strukturální varianty, epothilon A (XX) a epothilon B (XXI) a že jejich makrolidový kruh je šestnáctičlenný a v přírodě ojedinělý³¹. Již o rok později byl epothilon A připraven synteticky³² a bylo zjištěno, že je účinný i tam, kde selhal paclitaxel³³. Hlavním metabolitem bakterie *Sorangium cellulosum* je epothilon A, epothilon B se objevuje v množství 20 až 30 %. Oba epothilony jsou velmi účinnými stabilizátory mikrotubulů a zastavují buněčné dělení v G₂/M fázi podobně jako paclitaxel, epothilon B je však desetkrát účinnější než epothilon A (cit.³⁴). Dalšími látkami s podobným stabilizujícím účinkem na mikrotubuly jsou discodermolid (XXII), izolovaný z hlubokomořské houby *Discodermia dissoluta*³⁵, theopalauamid (XXIII) a swinholid A (XXIV) z mořské houby *Theonella swinhoei*³⁶. Dalšími, nedávno objevenými látkami, jsou polycyklické ethery laulimalid (XXV) a isolaulimalid (XXVI)³⁷ či diterpenoidní esterifikované alkoholy sarcodictyin A (XXVII), sarcodictyin B (XXVIII) a eleuthero-bin (XXIX), izolované ze středomořského korálu *Sarcodictyon roseum*^{38,39}.

5. Látky dezorganizující mikrotubuly

Látky tohoto typu byly nalezeny zejména v četných mořských organismech. Jejich zdrojem jsou především živočišné kmene žahavců (*Cnidaria*) všech tříd – polypovci (*Hydrozoa*), medúzovci (*Scyphozoa*) i korálnatci (*Anthozoa*). Nalezeny byly u drobných jednobuněčných živočichů kmene bičkovců (*Flagellata*) a u kmene měkkýšů (*Mollusca*), zejména ve třídě plžů (*Gastropoda*). Jejich bohatým zdrojem jsou i četné druhy cyanobakterií a mořských hub. Mechanismus jejich účinku, tj. způsob, jakým vyvolávají naprostou dezorganizaci mikrotubulární konstrukce buňky, není však dosud dostatečně probádán. Vzhledem k tomu, že jsou ve většině případů i silnými inhibitory cyklin-dependentních kinas či fosfatas, lze předpokládat, že zasahují do komplikovaných regulačních mechanismů buňky⁴⁰. Ovlivňují zřejmě procesy, kterými mikrotubuly spolupracují s proteiny, regulujícími buněčný cyklus. Pravděpodobný je jejich inhibiční účinek na MAP-kinasy, které udržují stabilitu tubulární sítě³.

Po chemické stránce se jedná o nehomogenní skupinu struktur, od relativně jednoduchých lamellarinů, viz např. lamellarin Q (XXX)⁴¹, až po různé složité heteropolyaromatické systémy jako je např. ecteinascidin 741 (XXXI), nalezený v sasance *Ecteinascidia turbinata*⁴². Velmi rozšířeny jsou různé cyklické sloučeniny, jako např. didemniny z plžů⁴³, viz např. didemnin B (XXXII), kailuin A (XXXIII) a zejména četné polycyklické heteroaromatické dusíkaté látky, nalézané v moř-

ských houbách (zejména rody *Axinellidae*, *Agelasidae* a *Halichondriidae*), jako např. plakinidin D (XXXIV), arnoamin A (XXXV) a B (XXXVI), v jejichž molekule se velmi často vyskytuje také halogen, nejčastěji brom. Jsou to např. stevensin (odilin) (XXXVII) (cit.⁴⁴), hymenialdisin (XXXVIII) (cit.⁴⁵), axinohydantoin (XXXIX) (cit.⁴⁶), agelastatin A (XL) (cit.⁴⁷), dibromophakellstatin (XLI) (cit.⁴⁸), dibromocantharellin (XLII), agelongin (XLIII) (cit.⁴⁹) či dispecamid A (XLIV) (cit.⁵⁰). Z uvedených struktur je zřejmé, že velmi často se v jejich molekule objevuje struktura guanidinu. Z dalších látek tohoto typu jsou to např. clathrocin (XLV), hymenidin (XLVI) a oroidin (XLVII) (cit.⁵¹), dibromoageliferin (XLVIII) a sceptriny (XLIX) (cit.⁵²). Žádná z těchto látek dosud nepřekročila stadium preklinického zkoušení, ale již dnes je zřejmé, že i v této skupině mikrotubulárních inhibitorů budou nalezena účinná protinádorová léčiva, která významným způsobem rozšíří spektrum současných látek používaných v chemoterapii zhoubných nádorů.

6. Závěr

Objevení, izolace, strukturální identifikace a příprava nových inhibitorů mikrotubulů se slibnou protinádorovou účinností otevírá nové možnosti jejich použití v humánní protirakovinné chemoterapii. Z uvedeného přehledu je patrná extrémní variabilita struktury sloučenin, které však vykazují podobnou biologickou aktivitu jako inhibitory mitózy. Lze se jen těšit, že se tato skutečnost stane výzvou nejen pro pracoviště studující detailní mechanismus poškození mikrotubulárního systému buněk, ale především pro chemická pracoviště vyvíjející nové typy protinádorových léčiv na bázi přírodních sloučenin. Přispěje to nejen k významnému rozvoji protirakovinné terapie a využití chemoterapeutik v klinické praxi, ale také k teoretickému poznání, které biochemické pochody v lidském organismu jsou pro vývoj nádorových onemocnění letální.

LITERATURA

1. Dráberová E.: Vesmír 79, 438 (2000).
2. Dustin P.: *Microtubules*, 2. vyd. Springer-Verlag, Berlin 1984.
3. Avila J.: FASEB J. 4, 3284 (1990).
4. Gelford V. J., Bershadski A. D.: Annu. Rev. Cell. Biol. 7, 93 (1991).
5. Patočka J., Strunecká A.: Acta Medica (Hradec Králové) 42, 3 (1999).
6. Gomezcambronero J., Colasanto J. M., Huang C. K., Shaafi R. I.: Biochem. J. 291, 211 (1993).
7. Saxton J. E. (ed.): *Monoterpene Indole Alkaloids*, Suppl. 4., str. 578. Wiley, Chichester 1994.
8. Budman D. R.: Semin. Oncol. 19, 639 (1992).
9. Patočka J., Jahodář L.: Chem. Listy 93, 690 (1999).
10. Tolcher A. W., Aylesworth C., Rizzo J., Izbicke E., Campbell E., Kuhn J., Weiss G., Von Hoff D. D., Rowinsky E. K.: Ann. Oncol. 11, 333 (2000).
11. Pettit G. R., Herald C. L., Boyd M. R., Leet J. E., Dufresne C., Doubek D. L., Schmidt J. M., Cerny R. L., Hooper J. N. A., Rutzler K. C.: J. Med. Chem. 34, 3339 (1991).
12. Bai R. L., Paull K. D., Herald C. L., Malspeis L., Pettit G. R., Hamel E.: J. Biol. Chem. 266, 15882 (1991).

13. Fodstat O., Bristol K., Pettit G. R., Shoemaker R. H., Boyd M. R.: *J. Exp. Ther. Oncol.* 1, 119 (1996).
14. Bai R. L., Cichacz Z. A., Herald C. L., Pettit G. R., Hamel E.: *Mol. Pharmacol.* 44, 757 (1993).
15. Smith C. D., Zhang X., Mooberry S., Patterson G. M. L., Moore R. E.: *Cancer Res.* 54, 3779 (1994).
16. Hastie S.: *Pharmacol. Ther.* 51, 377 (1991).
17. Damayanthi Y., Lown J. W.: *Curr. Med. Chem.* 5, 205 (1998).
18. Imbert T. F.: *Biochimie* 80, 207 (1998).
19. Blokhin A. V., Yoo H. D., Gerald R. S., Nagle D. G., Gerwick W. H., Hamel E.: *Mol. Pharmacol.* 48, 523 (1995).
20. Luduena R. F., Prasad V., Roach M. C., Banerjee M., Yoo H. D., Gerwick W. H.: *Drug Dev. Res.* 40, 223 (1997).
21. Wolff J., Knipling L.: *Biochemistry* 32, 13334 (1993).
22. Hamel E.: *Med. Res. Rev.* 16, 207 (1990).
23. Loeb C., Combeau C., Ehret-Sabatier L., Breton-Gilet A., Faucher D., Rousseau B., Commercon A., Goeldner M.: *Biochemistry* 36, 3820 (1997).
24. Klener P.: *Remedia* 5, 154 (1995).
25. Monsarrat B., Royer I., Wright M., Cresteil T.: *Bull. Cancer* 84, 125 (1997).
26. Bořek-Dohalská L., Stiborová M.: *Chem. Listy* 94, 226 (2000).
27. Nicolaou K. C., Yang Z., Liu J. J., Ueno H., Nantermet P. G., Guy R. K., Claiborne C. F., Renaud J., Couladouros E. A., Paulvannan K., Sorensen E. J.: *Nature* 367, 630 (1994).
28. Verweij J.: *Anti-Cancer Drugs* 6, 19 (1995).
29. Bissery M. C., Nohynek G., Sanderink G., Lavelle F.: *Anti-Cancer Drugs* 6, 339 (1996).
30. Schinzer D.: *Eur. Chem. Chronicle* 1, 7 (1996).
31. Höfle G., Bedorf N., Steinmetz H.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 35, 1567 (1996).
32. Schinzer D., Limberg A., Bauer A.: *Angew. Chem.* 109, 543 (1997).
33. Kowalski R. J., Giannakakou P., Hamel E.: *J. Biol. Chem.* 272, 2534 (1997).
34. Gerth K., Bedorf N., Höfle G., Irschik H., Reichenbach H.: *J. Antibiot.* 49, 560 (1996).
35. Longley R. E., Caddigan D., Harmody D., Gunasekera M., Gunasekera S. P.: *Transplantation* 52, 650 (1991).
36. Bewley C. A., Holland N. A., Faulkner D. J.: *Experientia* 52, 716 (1996).
37. Mooberry S. L., Tien G., Hernandez A. H., Plubrukarn A., Davidson B. S.: *Cancer Res.* 59, 653 (1999).
38. D'Ambrosio M., Guerriero A., Pietra F.: *Helv. Chim. Acta* 70, 2019 (1987).
39. Hamel E., Sackett D. L., Vourloumis D., Nicolaou K. C.: *Biochemistry* 38, 5490 (1999).
40. Meijer L., Thunnissen A.-M. W. H., White A. W., Garnier M., Nikolic M., Tsai L.-H., Walter J., Cleverley K. E., Salinas P. C., Wu Y.-Z., Biernat J., Mandelkow E.-M., Kim S.-H., Pettit G. R.: *Chem. Biol.* 7, 51 (2000).
41. Quesada A. R., Garcia-Gravalo M. D., Fernandez-Puentes J. L.: *Br. J. Cancer.* 74, 677 (1996).
42. Izbicka E., Lawrence R., Raymond E., Eckhardt G., Faircloth G., Jimeno J., Clark G., Von Hoff D. D.: *Ann. Oncol.* 9, 981 (1998).
43. Mayer S. C., Carroll P. J., Joulie M. M.: *Acta Crystallogr., Sect. C* 15, 1609 (1995).
44. Albizati K. F., Faulkner D. J.: *J. Org. Chem.* 50, 4163 (1985).
45. Williams D. H., Faulkner J.: *Nat. Prod. Lett.* 9, 57 (1996).
46. Pettit G. R., Herald C. L., Leet J. E., Gupta R., Schaufelberger D. E., Bates R. B., Clewlow P. J., Doubek D. L., Manfredi K. P., Rutzler K., Schmidt J. M., Tackett L. P., Ward F. B., Bruck M., Camou F.: *Can. J. Chem.* 68, 1621 (1990).
47. D'Ambrosio M., Guerriero A., Debitus C., Ribes O., Pusset J., Leroy S., Pietra F.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1993, 1305.
48. Pettit G. R., McNulty J., Herald D. L., Doubek D. L., Chapuis J. C., Schmidt J. M., Tackett L. P., Boyd M. R.: *J. Nat. Prod.* 60, 180 (1997).
49. Cafieri F., Fattorusso E., Mangoni A., Tagliatela-Scafati O.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 5, 799 (1995).
50. Cafieri F., Fattorusso E., Mangoni A., Tagliatela-Scafati O.: *Tetrahedron Lett.* 37, 3587 (1996).
51. Garcia E. E., Benjamin L. E., Fryer R. I.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1973, 78.
52. Walker R. P., Faulkner D. J., Van Engen D., Clardy J.: *J. Am. Chem. Soc.* 103, 6772 (1981).

J. Patočka^a, A. Strunecká^b, and M. Stiborová^c (^a*Department of Toxicology, Military Medical Academy, Hradec Králové*, ^b*Department of Physiology nad Developmental Biology, Faculty of Science, Charles University, Prague*, ^c*Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Microtubule Inhibitors**

The review deals with current knowledge of microtubule inhibitors from different natural sources, which are a very variegated group of compounds with a strong effect on cytoskeletal functions. Their use is one of the most frequent therapeutic strategies in carcinoma treatment. Drugs like taxol or vinblastine are widely used, although they have some drawbacks. The discovery of new compounds, such as epothilones, halichondrins, lamellarins, didemmins, could overcome some of the problems occurring in application of the earlier drugs. In addition, these natural compounds are used as an outstanding scientific tool in physiological and biochemical experiments, serving as model structures for synthesis of new compounds with expected effects and better pharmacological properties, such as synthetic taxanes docetaxel, vindesin or vinorelbine.