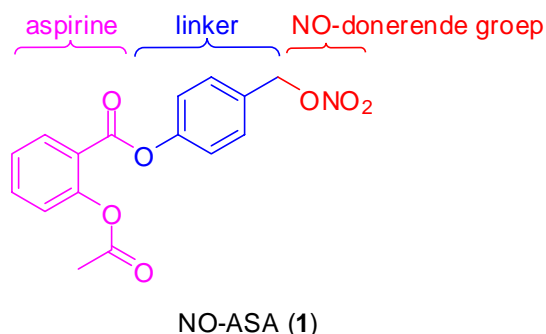


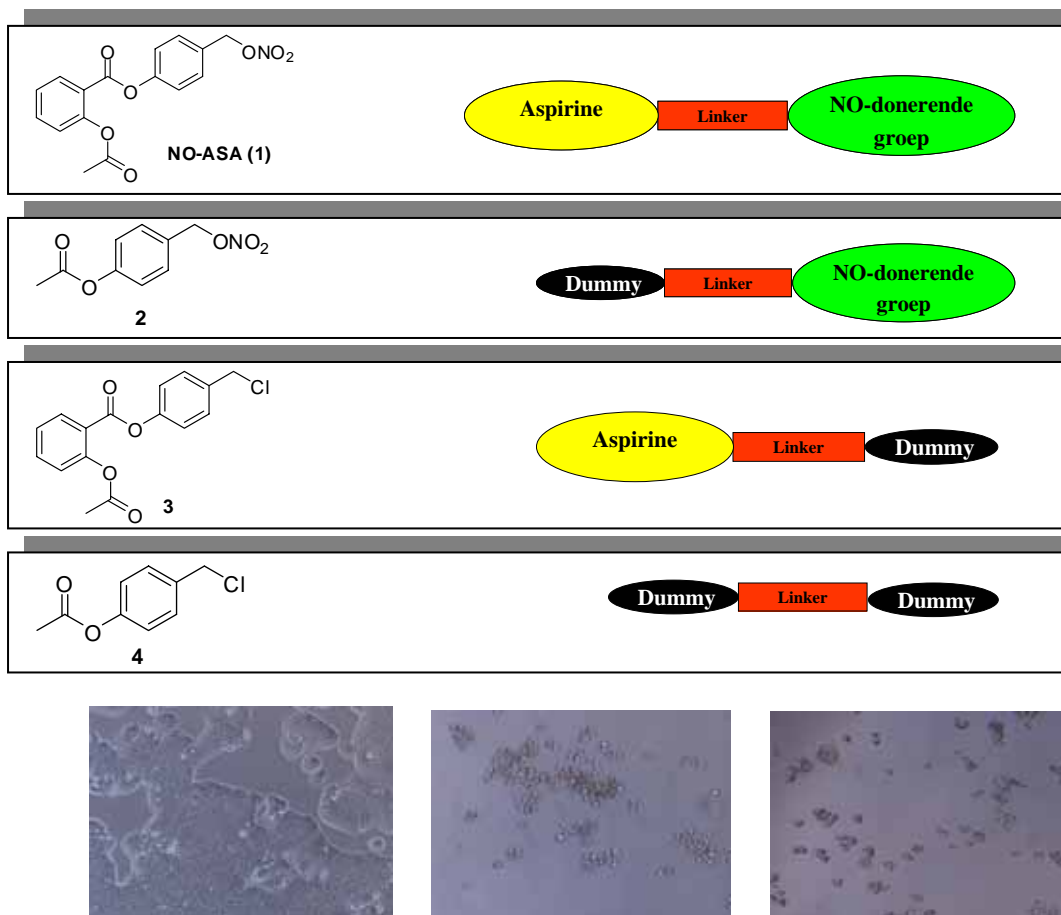
Hybride medicijnen, oftewel dubbelmedicijnen, staan momenteel volop in de belangstelling. In hybride medicijnen worden twee reeds bekende medicijnen A en B in één molecuul aan elkaar gehaakt, waardoor ze na toediening aan de patiënt grotendeels gelijktijdig en/of op dezelfde locaties actief worden. Dit kan grote therapeutische voordelen opleveren. Een van de meest besproken en bestudeerde voorbeelden van een hybride medicijn is *stikstofmonoxide-donerende aspirine* (NO-ASA (**1**), Fig. 1). Zoals de naam doet vermoeden, bestaat NO-ASA uit aspirine en een stikstof monoxide (NO)-donerende groep die verbonden zijn door een passief geachte linker. Aspirine is al lang bekend voor verscheidene medicinale toepassingen, maar veelvuldig gebruik ervan wordt geplaagd door ernstige (en soms fatale) bijwerkingen in de maag als gevolg van remming van prostaglandine synthese. Het idee achter NO-ASA was dan ook dat het in de maag gevormde NO deze bijwerkingen tegen gaat door de beschermende rol van prostaglandines over te nemen. Op zo'n manier kan NO-ASA worden ingezet met veel minder bijwerkingen en bij doses die normaliter onverantwoord zouden zijn voor aspirine alleen.



*Figuur 1. De opbouw van stikstofmonoxide-donerende aspirine.*

Een van de destijds reeds bekende eigenschappen van aspirine was een zwakke remming van dikke darmkanker. Met NO-ASA in handen werd uiteraard snel gekeken of dit stofje ook een anti-tumor werking had. Dit bleek het geval te zijn, maar eigenlijk was de werking wel veel sterker dan verwacht. De reden hiervoor werd nooit onomstotelijk bewezen, zelfs niet toen het stofje vlotjes richting (pre)klinische ontwikkeling opschoof. Niels Hulsman, een student geneeskunde aan de UvA en tevens student farmacochemie aan de VU, kwam dan ook bij Maikel Wijtmans (VU) met de opdracht om tijdens zijn oncologie stage NO-ASA eens nader te bekijken. Hulsman zou aan de VU de moederverbinding NO-ASA maken en vervolgens deze op het AMC uitgebreid testen op kankercellen.

Na het voorspoedig synthetiseren en testen van NO-ASA besloten Hulsman & Wijtmans om de hybride theorie stevig aan de tand te voelen. Daartoe maakten zij een serie model verbindingen, waarbij stapsgewijs aspirine en/of de NO-donerende groep werd(en) vervangen door 'dummy' groepen (Fig. 2). Dit leidde tot de verbindingen **2-4**, waarbij een -Cl groep en een acetyl groep als dummy fungeerden voor respectievelijk de NO-donerende groep en aspirine. Al bij de eerste anti-kanker testen op stof **2** werd direct duidelijk dat aspirine niet nodig was. Niet veel later bleken **3** en **4** ook een hoge anti-kanker werking te hebben. Stof **4** (zonder aspirine en NO) was zelfs tien keer beter dan NO-ASA zelf (Fig. 2)!

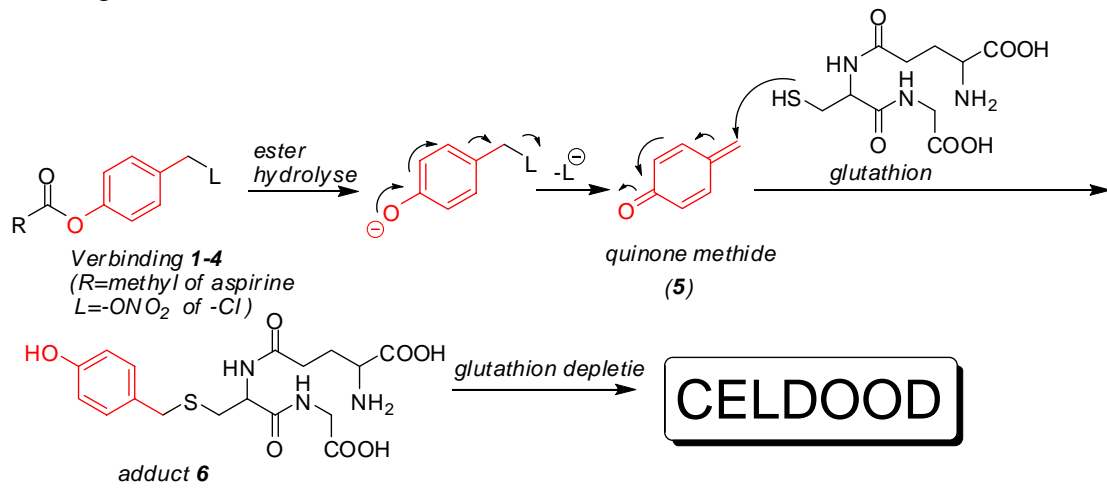


Figuur 2. BOVEN: De structuren en cartoons van model verbindingen die dummy-groepen bevatten. ONDER: microscopische foto's van cellen die behandeld zijn met vlnr: geen stof; 100  $\mu\text{M}$  NO-ASA; 10  $\mu\text{M}$  verbinding 4.

Nieuwsgierig naar de onderliggende verklaring voor dit curieuze fenomeen besloten Hulsman & Wijtmans het hele plaatje rond te krijgen. Een nauwkeurige inspectie van alle organisch-chemische eigenschappen van **1 - 4** suggereerde dat na ester hydrolyse zogenaamde *quinone methides* (QMs) worden gevormd. Toxicologen weten al lang dat quinone methides in het algemeen een nucleofiel-electrofiel reactie ondergaan met cellulair glutathion onder vorming van covalente adducten. Aangezien glutathion als geen andere lichaamsstof de cel beschermt tegen externe biochemische aanvallen zoals die door vrije radicalen, leidt een glutathion depletie tot extreme kwetsbaarheid van de cel. Geprogrammeerde celdood (apoptose) is in veel gevallen het onvermijdelijke gevolg. Dit zou dus direct de anti-kanker werking verklaren: de poortwachters van de kankercellen worden uit de weg geruimd door **1 - 4** waarna de cellen geen andere uitweg rest dan apoptose !

Hulsman & Wijtmans volgden zowel een chemische als een biochemisch aanpak om deze hypothese te bewijzen. Op het organisch-chemische vlak werd via berekeningen en experimenten aangetoond dat verbindingen **1-4** inderdaad QM **5** vormen na ester hydrolyse. Hierbij treden de  $-\text{Cl}$  of  $-\text{ONO}_2$  groep als 'leaving group' op (Fig. 3). Verder werd gevonden dat dit QM zeer selectief een reactie met het glutathion aangaat, zelfs in een waterig milieu. Op het biochemische front werd gekeken naar het anti-kanker mechanisme van **1-4** en hun invloed op de cellulaire

glutathion spiegel, op DNA beschadiging, op de hoeveelheid *in vitro* gevormd **6** en op typische apoptotische kenmerken zoals caspase-3 activatie. Alle resultaten bewezen de hypothese: het is de linker die de noeste anti-tumor arbeid verricht, niet aspirine of NO (Fig. 3).



*Figuur 3: Mechanisme voor de inductie van celdood van verbindingen 1-4. Het linker gedeelte is in rood aangegeven.*