

## ANTİVİRAL İLAÇLAR VE ETKİ MEKANİZMALARI

Şemsettin USTAÇELEBİ

Viruslara karşı emin ve etkin antiviral ilaçların geliştirilmesinde karşılaşılan en önemli problem viral ve hücreselel metabolizmaların birbirlerine benzer oluşu, birbirine benzer yolları ve enzimleri kullanmalarıdır. Bunun için, virus replikasyonunda gerekli ancak konak hücre fonksiyonlarında rol almayan veya gerekli olmayan fonksiyonların saptanması için yoğun bir şekilde araştırmalar yürütülmüştür. Bütün mevcut bu problemlere rağmen antiviral ilaçların geliştirilme çabaları yıllarca önceden başlatılmıştır. İlk defa 1950'li yılların başlarında "thiosemicarbazone" bileşiklerinin pox grubu viruslar üzerindeki etkinliği saptanmış ve o zaman önemli olan çiçek hastalığına karşı kullanılmıştır. İlk ilaç olan "methisazone", sentetik bir tiosemikarbazondur. Çiçek hastalığının gelişmesini ve canlı vaccinia virusu ile gelişen aşı komplikasyonlarını önlemede etkin olarak kullanılmıştır. Daha sonra diğer antiviral ilaçlar ile karşılaşılan en önemli problem seçici toksik etkinin sınırlı oluşudur (10). Buna bağlı ortaya çıkan toksik yan etkileri nedeniyle ilk antiviral ilaçların kullanımı sınırlı kalmıştır. Bir antiviral ilacın başarısının anahtarı özgüllüğü (specificity) olarak tanımlanmaktadır.

Bir antiviral ilacın özgüllüğü, normal hücre metabolik yollarını etkilemeksizin virus replikasyon kademelerinden birini inhibe etmesi anlamına gelmektedir. Yani antiviral bir ilaç virus için konak hücreden daha toksik etki (seçici toksik etki) göstermelidir. Bu özgüllük kemoterapötik indeks (KI) ile belirlenebilir (2).

$$KI = \frac{\text{Virus replikasyonunu inhibe eden ilaç dozu}}{\text{Konak için toksik ilaç dozu}}$$

En iyi ilaç kemoterapötik indeks değeri küçük olan antiviraldir. Pratiğe yansiyacak ve klinikte kullanılacak bir ilacın her iki toksisitesi arasındaki farkın çok iyi bilinmesi gerekmektedir. Antiviral ilaçların geliştirilebilmesi için viral replikasyon kademelerinin çok iyi tanımlanmış olması gerekir. Harp stratejisinde olduğu gibi "düşmana karşı savaşmadan önce düşmanın iyi tanınması" gerekmektedir.

Antiviral etkinin hedef olarak kullanılabilceği bazı virus replikasyon kademeleri mevcuttur. Ancak burada dikkat edilecek en önemli nokta önce virus replikasyonu için mutlak gerekli bir kademelerin hedef alınması ve ilacın virusa karşı aktif ancak konak için kabul edilebilir toksik sınırdadır.

Viral ilaçlar için en fazla hedef olarak kullanılan replikasyon kademeleri aşağıdaki şekilde sıralanabilir (2,10).

1. Virusun konak hücreye tutunması ve adsorbe olması,
2. Virusun hücre içerisine penetrasyonu ve viral kapsidin soyulması,
3. Viral polimerazlar yardımı ile yapılan sentezler,
4. Viral transkripsiyon ve translasyon,
5. Viral nükleik asit sentezi,
6. Diğer bazı viral enzimlerin transkripsiyon ve translasyon sonrası fonksiyonları,
7. Tüm virus partikülü oluşumu ve salınım.

Virusun hücre reseptörüne tutunması iki yolla inhibe edilebilir. Bunlardan birincisi virusun hücreye tutunduğu proteinleri taklit eden ve hücre reseptörleriyle birleşen (Virus-attachment protein=VAP) ajanların kullanılmasıdır. Diğeri ise virusların tutundukları hücre reseptörlerini taklit eden ve VAP ile birleşen proteinlerin kullanılmasıdır. Örneğin HIV için özgül olan CD<sub>4</sub> reseptörleri bu gayeye yönelik olarak üretilmiş ve kullanılmıştır. Sentetik peptidler bu amaçla üretilip kullanılması düşünülen bir araştırma konusudur. Çok çekici olmasına rağmen klinik olarak bu ajanların kullanılmasında bazı problemlerle karşılaşmaktadır. Sentetik peptidlerin üretimi çok pahalıya malolmakta ve çok zayıf farmakokinetik özellik göstermektedirler (2,6).

Virusların hücre içerisine penetre olmaları ve viral kapsidin soyulma mekanizmaları konusundaki bilgilerimizin yetersiz olmaları nedeniyle bu kademeyi hedef almak biraz zor olmaktadır. Özellikle viral kapsidin soyulması hücresel enzimler yardımıyla oluştuğu için hedef olarak alınması zordur, ancak penetrasyon olayında bir veya birkaç protein rol oynamaktadır. Örneğin, amantadin ve rimantadin influenza A virusu üzerinde aktif olarak inhibisyon yapan iki ilaçtır. Bu iki benzer ilaç hücresel membran iyon kanallarını bloke etmektedir. Virusta ise bu iki ilacın hedefi matriks proteini (M<sub>2</sub>)'dir. Ancak bu ilaçlara karşı direnç hemaglutinin (HA) geninde yer alır (1).

Birçok virus nükleik asit replikasyonları için kendilerinin kodladıkları enzimleri kullanırlar. Son zamanlarda kullanılan birçok antiviral ilaç viral polimerazları hedef almaktadır. Bu ilaçların çoğu polimeraz substrat analoglarıdır (nükleosid/nükleotid analogları). Bazılarının toksisitesi az veya tolere edilebilir olmasına karşın (örneğin; Asiklovir (ACV)) diğerleri oldukça toksiktirler (örneğin; AZT). Bu nükleosid analogları ile karşılaşılan en önemli problem farmakokinetikleridir, zira serum yarı ömürleri 1-4 saat arasındadır. Nükleosid analogları gerçekten bir öncül ilaç (pro-drug) rolü oynarlar ve etkin olabilmeleri için fosforile edilmeleri gerekir (11). Bu özellik ilaçların seçiciliklerinin anahtarıdır. Örneğin; asiklovir hücresel enzimlerle çok zayıf olarak fosforile edilirken HSV timidin kinazı tarafından 200 defa daha fazla fosforile edilir. Bu nedenle ACV viral timidin kinaz enzimi kodlayan herpes viruslar (HSV-1, HSV-2 ve suçiçeği-zona) üzerinde daha etkindir. Örneğin; gansiklovir CMV üzerinde asiklovirden 10-20 defa daha etkin bir ilaçtır. Ancak gansiklovirin farmakolojik olarak aktivite kazanabilmesi için CMV geni UL 97 tarafından kodlanan kinaz tarafından fosforile edilmelidir (8).

Herpes grubu virusları üzerinde etkin diğeri bir seri ilaç geliştirilmiştir. Örneğin valsiklovir ve famsiklovir oral biyoyararlanımı daha iyi olan ve serum yarı ömrü de iyi olan antiviral ilaçlardır. Bunun dışında non-nükleosid analogları da geliştirilmiştir. Örneğin foskarnet pirofosfat analogu olup nükleotid trifosfatların viral DNA polimerazlar vasıtası ile bağlanmasını önler. Brovavir suçiçeği-zona virusu üzerinde asiklovirden 10 defa daha aktif inhibisyon yapmasına karşın toksisite problemi nedeni ile kullanımı durdurulmuş bir ilaçtır (6).

Ribavirin çok geniş spektrumlu, özellikle negatif polariteli RNA virusları üzerinde aktivite gösteren enterasan bir antiviral ilaçtır. Etki mekanizması tam açık olmamakla beraber aşağıdaki şekilde izah edilmektedir (2).

1. Ribovirin 5' monofosfat, inosin monofosfat dehidrogenazı inhibe ederek, hücre içi guanosin trifosfat düzeyini azaltmaktadır.

2. Ribavirin 5' trifosfat, guanlyl transferazı ve m-RNA'ların 5' "capping" olayını inhibe etmektedir.

3. Ribavirin 5' trifosfat RNA polimerazlar tarafından sentezin başlatılması ve elongasyonunu inhibe etmektedir.

Ribavirin diğeri nükleosid analoglarına benzememekle beraber, gelecekte daha yaygın kullanımı olacak bir antiviral ilaçtır.

Bazı antiviral ilaçlar viral DNA içerisine birleşerek transkripsiyon ve translasyonu in-

terfere etmektedirler. Örneğin; Idoxuridine (5-iodo-2'-deoxyuridine) ve Trifluorothymidine bu yolla viral transkripsiyon ve translasyonu önlerler (2,10).

Son yıllarda HIV tedavisinde kullanılmak üzere birçok ilaç lisans almış ve pratikte uygulanmıştır. HIV enfeksiyonunda ilk kullanılan ilaçlar revers transkriptaz inhibitörleridir. HIV tedavisinde ilk kullanılan antiviral ilaçlar dideoksi nükleozid analogları veya nükleozid revers transkriptaz inhibitörleridir (NRTİ). Zidovudin (retrovir), azidotimidin (AZT) yapısı içeren ve HIV enfeksiyonu tedavisinde kullanılan ilk NRTİ'dür. ACV'den farklı olarak AZT hücrel kinaz enzimleri ile aktif trifosfat formuna fosforile edilir. HIV revers transkriptaz enzimi daha az seçicidir ve AZT trifosfatı DNA içerisine birleştirir (4). AZT'de deoksiriboz şeker halkasında hidroksil grubu yerine azido (N<sub>3</sub>) grubu vardır. Bu nedenle DNA zincirine bazların ilavesi bloke edilerek DNA zincir elongasyonu inhibe olur. AZT'nin seçiciliği asiklovir kadar yüksek değildir ve bazı hücrel enzimler AZT trifosfatı DNA içerisine birleştirirler. Bunun sonucunda klinikte problem olan AZT toksisitesi ortaya çıkmaktadır. Ancak diğer problem ise AZT'nin yaygın kullanımına bağlı gelişen dirençtir. Diğer NRTİ'leri AZT gibi kompetitif inhibisyon yapan didanosin (ddl, Videx), Zalcitabin (ddC,Hivid), Stavudin (d4T, Zerit) ve Lamivudin (4TC, epivir)dir (4).

Non-nükleozid revers transkriptaz inhibitörleri (NNRTİ) olarak adlandırılan diğer bir grup ilaç ise HIV-1 revers transkriptazı ile ilişkisi sonucunda bir konformasyon değişikliğine neden olarak revers transkriptazın işlevini inhibe ederler. Ancak NNRTİ'leri HIV-2 üzerinde etki göstermezler. Nevirapin (viramune) ve Delavirdin (rescriptaz) halen pratikte kullanılan NNRTİ'dirler (3,7).

HIV-1 virusunun proteaz enzimi 1988 yılında ilk defa kristalize edildi ve üç bulutlu yapısı saptandı. Bu bulgulardan sonra hızla proteaz inhibitörlerinin geliştirilmesi çalışmaları başladı (7).

HIV proteaz enzimi gag (p55) ve gag-pol (p160) poliprotein ürünlerini parçalayarak fonksiyonel özyapı proteinleri ve viral enzimler haline çevirir (4,7). Virusun hücreden tomurcuklanmasında ve hemen sonrasında viral poliprotein proteaz tarafından 9 ayrı parçalanma bölgesinden kesilerek p17, p24, p7 ve p6 proteinlerinin yanı sıra revers transkriptaz, integras ve proteaz enzimleri oluşur (9). Proteaz inhibitörleri, enzimin parçalanma bölgelerinde değişikliklere (transition) neden olarak enfeksiyöz olmayan, yapısı tamamlanmamış partiküllerin oluşumuna yol açar. Saquinavir (invirase), Ritonavir (norvir), Indinavir (Crixivan), Nelfinavir (Viracept) pratik klinikte kullanıma yansımış proteaz inhibitörleridir (3).

İnterferon ilk 1957 yılında keşfedildikten sonraki dönemlerde oldukça ümit bağlanmış, ancak yıllar sonra kısıtlı enfeksiyonlarda pratiğe yansımış antiviral proteindir. Bugün hücre çıkışlarına, üretim ve fizikokimyasal özelliklerine göre alfa, beta ve gamma olarak adlandırılan üç tür interferon mevcuttur. İnterferonlar in-vitro ve in-vivo üretilebildikleri gibi bugün rekombinant RNA teknolojisi ile ticari interferonlar yapılmaktadır (2,10).

İnterferon alfa: Birbirine benzer en az 15 interferon alfa türü mevcuttur. Bazı türler arasında sadece bir aminoasit farklılığı mevcuttur. Lökositler tarafından sentezlenirler ve olgun interferon alfa proteini 143 amino asit içerir. Diğer interferon tipleri ile arasında % 77 homoloji mevcuttur. İnterferon alfa sentez eden bütün genler insan 9 no'lu kromozomunda yer alır.

İnterferon beta: İnterferon beta için insan 9 no'lu kromozomunda tek bir gen mevcuttur. Olgun interferon beta proteini 145 amino asitten oluşur ve interferon alfadan farklı olarak glikozillenmiş olarak bulunur. Öncelikle fibroblast hücreleri tarafından sentezlenir.

İnterferon gamma: İnsan 12 no'lu kromozomunda tek bir gen olarak mevcuttur. Olgun interferon gamma proteini glikozillenmiş olup 146 amino asit içerir. Lenfositler tarafından sentez edilirler.

İnterferonların sentezlerini birçok ajan stimüle edebilir. Özellikler RNA virusları, çift iplikle RNA içeren replikatif araçlar, sentetik ribonükleotidler (poly 1:C), metabolik inhi-

bitörler v.s. interferon indüksiyonuna neden olurlar.

İnterferonlar 2', 5'-oligo A sentetaz kodlayan hücrel genin transkripsiyonunu indüklerler. Farklı interferon türleri ile indüklenen 4 ayrı moleküler türde 2', 5'-oligo A mevcuttur. Bunlar RNA'yı parçalayan RNase L enzimini aktive ederek bununla viral genomik RNA ve viral m-RNA'ları parçalarlar. Bunun sonucunda da viral protein sentezi inhibe edilir (2).

Diğer bir yol PKR (RNA-aktif protein kinaz) adı verilen 68 kDa proteinin aktivasyonudur. PKR hücrel bir faktör olan EIF2 $\alpha$ 'yı fosforile eder ki, bu translasyonun başlaması için ribozomların gereksinim duydukları bir faktördür. Buna bağlı olarak da protein sentezi inhibe edilir (5).

Üçüncü bir yol ise yalnız interferon alfa ve beta tarafından transkripsiyonu indüklenen insan kromozomu 21'de lokalize olan M $\alpha$  genidir. Bu gen ürünü ise sadece influenza virüsünün primer transkripsiyonunu inhibe eder, ancak bunun inhibisyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir (2).

Bugün için interferon alfa en sık tedavide kullanılan interferon türüdür. Son zamanlarda gamma interferon da kullanıma girmiştir. Kronik aktif hepatit (HBV, HCV), condyloma acuminata (genital wart), saçlı hücre lösemisi, kaposi sarkoma (AIDS hastalarında) ve kronik granülomatöz hastalıklarda interferonlar kullanılmaktadır.

Bazı antiviral ilaçların beraberce kullanımında sinerjistik etki, bazılarının beraberliğinde aditiv etki, bazen de antagonistik etki alınmaktadır. Bu nedenle özellikle HIV tedavisi için kullanılmakta olan ilaçlar için bu özellik göz önünde tutulmalıdır.

#### KAYNAKLAR

- 1- Calfee DP, Hayden FG: New approaches to influenza chemotherapy. Neuraminidase inhibitors, *Drugs* 56: 537 (1998).
- 2- Cann AJ: *Principles of Molecular Virology*, 2<sup>nd</sup> ed, p. 192, Academic Press, London (1997).
- 3- Çetinkaya Y, Ünal S: HIV enfeksiyonunda antiretroviral tedavi, "S Ünal (ed); *Güncel Bilgiler Işığında HIV/AIDS*", Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (1998).
- 4- De Clerq E: HIV inhibitors targeted at the reverse transcriptase, *AIDS Res Hum Retroviruses* 8: 119 (1998).
- 5- Gale M, Katze M: Molecular mechanisms of interferon resistance mediated by viral-directed inhibition of PKR, the interferon-induced protein kinase, *Pharmacol Ther* 78: 29 (1998).
- 6- Harper RD: *Molecular Virology*, p. 93, Bios Sci Pub, Oxford (1994).
- 7- Havlir DV, Lange J: New antiretrovirals and new combinations, *AIDS* 12 (Suppl A): 165 (1998).
- 8- Noble S, Faulds D: Ganciclovir. An update of its use in the prevention of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients, *Drugs* 56: 115 (1998).
- 9- Pettit SCS, Micheal SF, Swanstrom R: The specificity of the HIV protease, *Perspect Drug Discov Des* 1: 69 (1998).
- 10- Ustaçelebi Ş: Virus hastalıklarından korunma ve tedavi, *Genel Viroloji* kitabında s. 121, Hacettepe-Taş Kitapçılık, Ankara (1992).
- 11- Wutzler P: Antiviral therapy of herpes simplex and varicella-zoster virus infections, *Intervirology* 40: 343 (1997).