

Sitotoksik kemoterapötiklerin yirminci yüzyıldaki gelişimi

The development of cytotoxic chemotherapeutics in the twentieth century

M. Kemal TEMEL

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı, İstanbul

Doğal droglarla binlerce yıldır ilaç üretilmekteyse de, doğadan izole etmek veya laboratuvarında sentezlemek yoluyla antikanser ajanlar elde etmeye yönelik sistematik ve kapsamlı çalışmalara yirminci yüzyılda girilmiştir. Aynı dönemde *in vitro* çalışmalara ek olarak, kimyasalların antikanser potansiyellerini test için *in vivo* prelinik deneylerin gerçekleştirilebileceği hayvan modelleri geliştirilmiştir. Modern kanser kemoterapisi çağı 1940'larda ilk klasik kemoterapötik ajanların elde edilmesiyle başlamıştır; 1940'ların başlarında ilk alkille-yici ajanlar, sonlarında ise ilk antimetabolitler üretilmiştir. 1950'lerde laboratuvarın dışına çıkılarak, antikanser droglar keşfetmek amacıyla doğa araştırmalarına başlanmıştır. Mikroorganizmalar, sabit konumlu bitkiler ve deniz omurgasızları, çok çeşitli kimyasal savunma mekanizmaları geliştirerek evrildiğinden, bunlar arasından kimi maddelerin antikanser etkinlik gösterebileceği düşünülmüştür. Başta ABD tarafından, bu canlılardan sağlanan on binlerce drog 1950'lerden itibaren antikanser etkinlik yönünden taranmıştır. 1960'larda vinka alkaloidleri, 1970'lerde antikanser antibiyotikler ve 1990'larda taksanlar, doğa araştırmalarının meyvelerindedir. Bugün bu terapötik ajanların kullanıldığı kanser kemoterapisi, hastalığın tedavisinde cerrahi ve radyoterapi gibi lokal müdahalelere ilaveten, sistemik bir modalite olarak tıbbın hizmetindedir.

Anahtar sözcükler: Kanser kemoterapisi; kemoterapi tarihi; sitotoksik kemoterapötikler.

Although medicines have been obtained from natural products for millennia, extensive systematic studies to obtain anticancer agents through isolation from natural sources or through synthesis in the laboratory were attempted in the twentieth century. The same period also saw the development of animal models through which *in vivo* preclinical research could be conducted to examine the anticancer potential of chemicals, in addition to *in vitro* research. In the 1940s the era of modern cancer chemotherapy started with the introduction of the first classical chemotherapeutics; the first alkylating agents were obtained in the early 1940s and the first antimetabolites toward the end of the decade. In the 1950s scientists ventured out of the laboratory to discover natural products with anticancer potential. Since microorganisms, sessile terrestrial plants and marine invertebrates have evolved a large number of chemical defense mechanisms, it has been argued that some substances out of these might show anticancer activity. Tens of thousands of natural products derived from these organisms have been screened for anticancer activity primarily by the US since the 1950s. Vinca alkaloids introduced in the 1960s, anticancer antibiotics in the 1970s and taxanes in the 1990s are examples of the encouraging outcomes. In addition to local interventions such as surgery and radiotherapy, cancer chemotherapy based upon these therapeutic agents is available in medicine today as a systemic modality in the treatment of the disease.

Key words: Cancer chemotherapy; history of chemotherapy; cytotoxic chemotherapeutics.

“Modern çağın vebası” kanser, yalnızca post-endüstriyel dönemde ve toplumlarda değil, her çağda mevcut ve neredeyse hayvanlar alemiyle

yaşıt görünmektedir. Arkeolojik ve paleopatolojik çalışmalar sırasında, hayvanlar alemi genelinde dinazor fosillerinde, insan türünde ise binlerce yıl-

lık mumyalarda rastlanan kanser bulguları, bilinen en eski kanser olgusu örneklerindedir. Ancak bu bulguların nadirliği, antikitede kanser insidansının görece düşük olduğunu düşündürmektedir; yüksek bir olasılıkla yaralanmalar ve enfeksiyonlar, bebek ölümleri ve diğer hastalıklar ortalama insan ömrünü kısalttığından, herhangi bir kanser gelişiminden önce ölüm gerçekleşmekteydi.^[1-4] Bununla birlikte, yumuşak vücut dokularının doğada yok olması ve mumyalama esnasında birçok organın çıkarılması (örneğin, kafa içi, göğüs ve karın boşluğunun boşaltılması) nedeniyle kemiklere ait olanlar dışındaki olguların günümüze ulaşmadığı da söylenebilir.

Kansere ve tedavisine ilişkin bilinen en eski belgelerden biri ise Mısır'da keşfedilen ve tahminen MÖ 1600 dolaylarında yazılmış olan Edwin Smith papirüsüdür. Hastalığın adı olarak Latince “kansere” sözcüğünün kullanımı yüzyıllar sonra başladıktan, papirüste bu sözcük kullanılmamaktadır. Ancak toraksta görülen –ve tanımları en azından birkaçının kanser olabileceğini düşündüren– tümör ya da ülserlere dair sekiz olgunun koterizasyon yöntemiyle tedavisinden bahsedilmektedir.^[5-7] Yine Mısır'da tahminen MÖ 1550 dolaylarında döneminin tıbbi metinlerinin bir derlemesi olarak yazılmış olan Ebers papirüsünde, benzer olguların tedavisine yer verilmiştir.^[8]

Kimi kez yanlış bilinenin aksine, hastalığı adlandırmak için “yengeç” anlamında bir sözcük (*kanser*) ilk kez Galen tarafından kullanılmamıştır. Galen'den (MS 129-216) çok daha önce, bu tür bir kullanım Hipokrat (MÖ 460-375) tarafından gerçekleştirilmiş görünmektedir. Örneğin, Hipokrat külliyyatı içinde sayılan Yunanca *ΠΡΟΡΡΗΤΙΚΟΝ ΒΙΒΑΙΟΝ ΤΟ ΑΕΥΤΕΡΟΝ* adlı eserde (İng. *Prorrhetics II*), hastalığın adı olarak Yunanca yengeç anlamındaki *ΚΑΡΚΙΝΟΣ/καρκίνοσ* sözcüğü üç kez geçmektedir^[9] (Yunan harflerine karşılık gelen Latin harfleriyle sözcüğün yazımı *karkinos* şeklindedir ki “yengeçleşme” anlamındaki “karsinoma” da buradan gelmektedir). İlerleyen yüzyıllarda Latince tıp eserlerinde bu Yunanca nomenklatür benimsenmiş ve Latince yengeç anlamındaki *cancer* sözcüğü kullanıma girmiştir.

Tarihte Hipokrat'tan yirminci yüzyıla kadar, kanserin vücutta ortaya çıkış neden(ler)ini ve ge-

lişim mekanizmasını açıklamak için çeşitli teoriler öne sürülmüştür; dört humor/hılt (vücut sıvılarının dengesizliği sonucu oluşum) teorisi, lenf (dejenerasyonu sonucu oluşum) teorisi, blastema (hücrelerinden oluşum) teorisi, kronik radyasyon (maruziyeti sonucu oluşum) teorisi, travma (nedenli oluşum) teorisi, bulaşıcılık teorisi gibi.^[10-13] Benzer şekilde geçmişten bu yana, farmakoterapi, cerrahi, radyoterapi, immünoterapi, hormon terapisi gibi, kanser tedavisine yönelik yöntemler de çeşitlilik ve ilerleme göstermiştir. Bunlar arasından kimyasal maddelerin farmakoterapötik kullanımına dair sistemli çalışmaların başlangıcı ve “kemoterapi” sözcüğünün ortaya çıkışı yirminci yüzyıl başlarına rastlamaktadır.

Sitotoksik Kemoterapötiklerin Yirminci Yüzyıldaki Gelişimi

Antikanser ilaçların kategorizasyonu

Yirminci yüzyılın ilk yarısından bugüne dek kullanılan antikanser ilaçlar (antineoplastikler) için farklı kriterlere göre farklı kategorizasyonlar söz konusudur; örneğin, kimyasal yapılarına, elde edildikleri kaynaklara, etki mekanizmalarına, ya da dokusal tahribat potansiyellerine göre sınıflandırılabilirler. Antikanser ilaçlar içinden sitotoksik kemoterapötikler –hücre(sito-) zehirleyici(-toksik) kimyasal(kemo-) ilaçlar(-terapötikler)– hücre siklusunun belli ya da herhangi bir evresinde, birtakım hücresel fonksiyonların ve böylece hücre bölünmesinin inhibisyonu, ya da apoptotik ya da nekrotik hücre ölümü indüksiyonu gibi mekanizmalarla hücrelere zarar veren maddelerdir.^[14-16]

Bir kategorizasyonda aynı grupta yer alan kemoterapötik ajanlar, farklı kriterlere göre yapılabilecek bir diğer kategorizasyonda farklı gruplarda yer alabilirler. Örneğin, bu ajanlar için ekstrasvazasyon halinde doku tahribatı potansiyellerine göre “vezikanlar, iritanlar ve diğerleri” olmak üzere üç ana grup oluşturulabilir.^[17] Burada vezikanlar grubunda yer alan üç kemoterapötik ajan –örneğin, paklitaksel, vinblastin ve daktinomisin– etki mekanizmalarına dayalı bir kategorizasyonda farklı gruplara girecektir: Paklitaksel ve vinblastin antimikrotübüller, daktinomisin ise sitotoksik antibiyotikler grubunda yer alacaktır. Ya da kökensel bir katego-

rizasyon yapılacak olursa, bu kez paklitaksel bitki kökenli kemoterapötikler sınıfının taksanlar alt sınıfına, vinblastin bitki kökenli kemoterapötikler sınıfının vinka alkaloidleri alt sınıfına, daktinomisin ise mikroorganizma kökenli kemoterapötikler sınıfına dahil olacaktır.

Sitotoksik kemoterapötiklerin ortaya çıkışı ve gelişim süreçlerine dair bu çalışmada, başlıca gruplarıyla antikanser ilaçların klasik kategorizasyonu esas alınmıştır^[18-22] (Tablo 1).

Sitotoksik Ajanların Ortaya Çıkışı

Alkilleyici ajanlar

“Kemoterapi” sözcüğü 1900’lerde ünlü Alman doktor Paul Ehrlich (1854-1915) tarafından, kanser değil sifilis tedavisiyle ilgili olarak türetilmiştir. Sözcük Ehrlich tarafından yer yer genel ve yer yer spesifik anlamda kullanılmıştır. Genel anlamıyla, tıpta kullanılan her ilaç özünde bir kimyasal madde olduğundan, kemoterapi tıpla yaşittir. Ancak Ehrlich’in ünlü çalışmalarını tarif edecek esas anlamıyla ise –ki sözcüğü bu kez “spesifik” ya da “deneysel” gibi sıfatlarla birlikte kullanmıştır– kemoterapi “sentetik olanlar başta olmak üzere kimyasal maddeleri vücuttaki patojenik mikroorganizmaları imha etmek için kullanmaktır.” Bu amaçla hayvanlar üzerinde bir dizi bileşik denemiştir ve bunlardan “Bileşik 606” (arsfenamin, ticari adıyla Salvarsan), sifilis patojenine karşı etkili olarak hastalığın tedavisinde başarı sağlamıştır.^[23-26]

Ehrlich’in hayvanlar üzerindeki çalışmaları ve Salvarsan’ın başarısı, kimyasalların diğer hastalıkların tedavisinde kullanımı için de cesaretlendirici olmuştur. Ancak yirminci yüzyıl başlarında kanser kemoterapisinde kullanılacak kimyasalların temininin önünde, çok sayıdaki kimyasal arasından anlamlı antikanser etki potansiyeline sahip olanları tespit edebilmek ve bunlarla klinik deneyler gerçekleştirebilmek gibi, başlıca iki zorlu aşama bulunmaktaydı. İlaç olma adayı çok sayıdaki kimyasal kanser hastaları üzerinde denemek mümkün olmayacağından, bu maddelerin denenebileceği tümör modellerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Hayvan modelleri bu ihtiyaca cevap vermiştir ve bu modeller sayesinde, anlamlı antikanser etki sağlayan az sayıdaki ajan binlerce aday arasından

Tablo 1

Antikanser ilaçların klasik kategorizasyonu

Sitotoksik kemoterapötikler

Alkilleyici ajanlar
Antimetabolitler
Topoizomeraz inhibitörleri
Sitotoksik antibiyotikler/antrasiklinler
Antimikrotübüller

Hormonal terapötikler

Steroidler
Antiöstrojenler
Antiandrojenler
Aromataz inhibitörleri

İmmunoterapötikler

İnterferon
İnterlökin II
Aşılar

seçilebilmiş ve böylece insanlar üzerindeki klinik deneylerden önce ilk elemeyi geçebilmiştir. Sarkoma 37 (S37), Sarkoma 180 (S180), Ehrlich Fare Karsinomu ve Ehrlich Assit Tümörü, yirminci yüzyıl başlarında geliştirilmiş nakledilebilir hayvan tümörü modellerine örnektir (Örneğin Sarkoma 180’de, farelere ait nakledilebilir bir doku tümörü türü olan sarkoma 180’den 2 mm çapından küçük kitleler farenin deri altına nakledilmekte ve tümör iki hafta içinde hayvanı öldürebilecek büyüklükte malign bir dokuya dönüşmekteydi).^[27-29] ABD Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından efektif kemoterapötik ajanlar tespit etmek amacıyla çok geniş kapsamlı tarama çalışmalarının başlatıldığı 1950’lerde, binlerce aday drog ile *in vivo* prelinik deneyler, L1210 ve P388 fare lösemileri gibi hayvan modelleri üzerinde gerçekleştirilmiştir.^[30] Ancak 1980’lerin sonlarından itibaren, prelinik tarama için daha pratik olan *in vitro* hücre hattı modelleri tercih edilmiş, *in vivo* hayvan modelleri daha ayrıntılı testler için ayrılmıştır.^[31] Bugün ABD Ulusal Kanser Enstitüsü, aday maddeler arasından klinik deney aşamasına devam ettirilecek kemoterapötik ajanları seçmek için bir sistem geliştirmiş bulunmaktadır. Öyle ki, doğal ya da sentetik aday maddelerin kan, cilt, akciğer, meme, beyin kanserleri gibi insan kanserlerine ait 60 tümör hücresi hattı üzerinde antikanser etkinlikleri yönünden *in*

vitro test edildiği bir prelinik tarama panelinden yararlanılmaktadır (NCI-60). Panel, 1985-1990 yılları arasında ve her yıl 3.000 bileşik taramak üzere geliştirilmiştir.^[32]

Yirminci yüzyılın ilk yarısında, tarihte kimyasal silahların kullanıldığı ilk savaş olan Birinci Dünya Savaşı gerçekleşmiş ve savaş boyunca bu maddelerin insan bedeni üzerindeki etkileri tecrübe edilmiştir. Aynı dönemde kimyasalların antikanser etki potansiyellerinin test edilebileceği, yukarıdaki gibi hayvan modelleri de geliştirilmiştir. Bu gelişmelerin üzerine gelen, İkinci Dünya Savaşı sırasındaki kimi tesadüfi gözlemlerin, modern kemoterapötikler çağının başlangıcını tetiklediği kabul edilebilir. İkinci Dünya Savaşı'nda bir bombardıman sırasında Bari'de (İtalya) kazara sülfür hardala (hardal gazı) maruz kalan denizcilerin kemik iliği ve lenf nodlarında atrofi gözlemlenmiştir. Bu ve savaş yıllarına ait diğer gözlemler sonucunda, hardal gazının bu dokularda hücre bölünmesini olumsuz etkilediği, o halde bu dokulara ait akut lösemi ve lenfoma gibi kanserlerin tedavisinde kullanılabileceği fikri gündeme gelmiştir. Yale Üniversitesi'nden iki tanınmış farmakolog, Louis Goodman ve Alfred Gilman, hardal bileşenleri başta olmak üzere çeşitli kimyasalların terapötik etkilerini araştırmaya başlamıştır. Lenf tümörü nakledilmiş fareler üzerinde hardal bileşenlerinden bir azotlu hardal (mekloretamin, diğer adıyla mustin) ile tedavi deneyleri gerçekleştirmiş ve tümörde önemli ölçüde regresyon gözlemlenmiştir. Bunun üzerine bu araştırmacılar, göğüs cerrahı Gustaf Lindskog'u non-hodgkin lenfomadan muzdarip bir hastaya mekloretamin uygulaması için ikna etmiş, uygulamalar sonucunda bu ve diğer lenfoma hastalarında belirgin –ancak geçici– bir regresyon kaydedilmiştir. Böylelikle mekloretamin, klinikte antikanser etki sağladığı görülen ilk sitotoksik ajan olmuştur.^[33-37] Savaş yıllarındaki gizlilik politikası nedeniyle bulgular ancak 1946'da yayımlanabilmiş ve literatüre geçmiştir.^[38,39] Umut verici bulgular, araştırmacıları klorambusil ve siklofosfamid gibi yapıca benzer alkilleyici ajanları sentezlemek ve test etmek için motive edici olmuştur.

Ardından 1953'te yaşanan devrim niteliğinde bir gelişme, moleküler biyolog Francis Crick

ve Watson'ın DNA'nın çift sarmallı yapısını açıkladığı,^[40] hücrenin ve hücredeki genetik materyalin gizemli yapısını aydınlatmıştır. Azotlu hardalların etki mekanizmalarını anlamak yönünde büyük bir adım atılmış ve DNA ile kimyasal reaksiyonlara girmek suretiyle hücreye zarar verdikleri görülmüştür. Bu gelişme ileriki yıllarda antikanser ilaç geliştirme stratejilerine yön vermiştir.^[41]

Alkilleyici ajanlar içerdikleri alkil grubuyla DNA ile kovalent bağ oluşturmak üzere reaksiyona giren ve böylece DNA'ya hasar vererek hücre ölümünü indükleyen kimyasallardır.^[42] 1940'larda kemoterapötik üretmek üzere azotlu bileşiklerle başlayan Ar-Ge süreci sonunda, alkilleyici ajanlar bugün geniş bir kategoridir ve kanser tedavisinde çok yaygın bir biçimde kullanılmaktadırlar.

^[43,44] Bu kategori hardal gazıyla benzer yapıdaki azotlu hardallar grubunu (mekloretamin, siklofosfamid, ifosfamid, klorambusil, melfalan), ayrıca alkil sülfonatlar grubunu (busulfan), etilenimin ve metilmelamin türevlerini (tiotepa, tretamin; altretamin), nitrozürelere grubunu (karmustin, lomustin, semustin) ve diğerlerini, yani, triazen ve metilhidrazin türevleri (dakarbazin, temozolomid; prokarbazin) ile DNA üzerindeki benzer etkilerinden ötürü “alkilleyici-benzeri” olarak da anılan platin bazlı ajanları (sisplatin, karboplatin, oksaliplatin) içermektedir.^[45-48]

Antimetabolitler

1940'ların sonlarında, ABD'de bir diğer kemoterapötik ilaç grubu ortaya çıkmıştır. Vitaminlerle ilgili keşif ve çalışmalardan doğan antikanser antimetabolitler, birkaç yıl önce onkoloji kliniğine giren alkilleyici ajanlar ile birlikte, kanser kemoterapisinin temellerini 1940'larda oluşturmuştur.

Mount Sinai Hospital'dan (NY/ABD) bir cerrah, Richard Lewisohn, primer dalak tümörlerinin niçin nadir görüldüğünü anlamak amacıyla 1937'de bir deney dizisine başlamıştır. Transplante Sarkoma 180 tümörü taşıyan farelere, konsantre sıgır dalağı ekstresi enjekte etmiş ve hayvanların %60'ında tümörde tam regresyon gözlemlenmiştir. Ancak ekstre, spontan fare tümörlerine karşı etkisiz olmuştur. Lewisohn, bu kez iyileşmiş olan farelerden dalak ekstresi hazırlayarak bunu başka

farelere enjekte etmiş, ve ikincil ekstrenin spontan meme tümörlü farelerin %30'unda tam regresyon sağladığını görmüştür. Bundan hareketle tümörlerde regresyon sağlayabilecek başka ajanlar keşfetmek amacıyla kapsamlı taramalara girişmiş, o dönemde yeni keşfedilmiş olan B grubu vitaminleri denemek için, bu vitaminler açısından zengin bir kaynak olan bira mayası ve arpa ekstralarını kullanmıştır. 1941'de başlayarak sonraki birkaç yıl içinde, Sarkoma 180 tümörü nakledilmiş 12.000 ve ayrıca spontan tümörlü 6.000 fare üzerinde deneyler gerçekleştirmiştir. Transplante ve spontan tümörlerde farklı oranlarda regresyon kaydetmiştir. Bira mayası ve arpa ekstralarında etken maddenin, o dönemde (1941) ıspanaktan ilk kez izole edilen –ve yeşil yapraklarda bol bulunuşundan ötürü folik asit olarak adlandırılan (Lat. *folium*, Tr. yaprak)– madde olabileceğini düşünen Lewisohn, bir laboratuvardan temin ettiği folik asit ile fareler üzerinde deneyler gerçekleştirmiş ve tümörlerde önemli regresyonlar kaydetmiştir. Ancak daha sonra, Lewisohn'a folik asit olarak temin edilen madde (pteroiltriglutamik asit) ile karaciğerde bulunan folik asidin (pteroilglutamik asit) özdeş olmadığı fark edilmiştir. Karaciğerde bulunan folik (pteroilglutamik) asidin ise farelerdeki spontan meme tümörlerine karşı efektif olmadığı görülmüştür.^[49,50]

Aynı yıllarda folik asidin B12 vitamini tedavisine cevap vermeyen megaloblastik anemi hastalarında iyileşme sağladığı gözlemlenmiştir. Çocuklardaki akut lösemi, megaloblastik anemiye benzer bir klinik tablo sergilediğinden, kanserden (akut lösemiden) muzdarip hastalara folik asit tedavisi uygulama fikri gündeme gelmiştir. Pediatrik patoloji uzmanı Sidney Farber (1903-1973), ki bugün modern kemoterapinin kurucuları arasında anılmaktadır, Lewisohn'un çalışmaları sonucunda sentezlenen folik asit türevleri Dioplerin (pteroilglutamik asit) ve Teroplerin (pteroiltriglutamik asit) ile doksan hasta üzerinde faz I klinik deneyler gerçekleştirmiştir. Ancak beklenmedik bir biçimde, deneklerin kemik iliği biyopsileri bu tedavinin etkisiz olduğunu, hatta ölümcül gidişatı hızlandırdığını göstermiştir. Bu bulgu üzerine, bu kez gidişat üzerinde folik asidin aksi etki yapması beklenen folik asit antagonistleri geliştirilmiştir. Yürütülen deneyler sonucunda gerçekten de bazı

folik asit antagonistlerinin farelerde Sarkoma 180 tümörlerinin gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir. Geliştirilen antifolatlardan biri olan aminopterin, ilk kez Dr. Farber tarafından akut lösemiden muzdarip çocukların tedavisinde, Aralık 1947'de kullanılmıştır ve hastalıkta gerileme sağladığı görülmüştür. Aminopterin, 1950'lerde yerini daha güvenli bir terapötik indekse sahip bir başka antifolata –ametopterin (metotreksat)– bırakmıştır. Böylece, mekloreタミン alkilleyici ajanlar grubunun, aminopterin ise antimetabolitler grubunun prototipi olmuştur.^[51-55]

Antimetabolitler DNA sentezinde rol oynayan enzimleri inhibe ederek ya da DNA ve RNA ile birleşerek hücre proliferasyonuna zarar vermektedirler. Folik asit, aminoasitler ile DNA/RNA yapısında yer alan pürin ve pirimidinlerin sentezinde kofaktör rolünde olduğundan, folik asit antagonistleri ile kanserli hücrelerde DNA/RNA ve protein sentezini inhibe etmek ve bu sitotoksik etkiyle hücreyi öldürmek hedeflenmektedir. Kanser kemoterapisinin tarihi gelişiminde, antimetabolitler grubunda antifolatları benzer etki prensibine sahip antipürinler ve antiprimidinler izlemiştir. Yirminci yüzyılda çoğu kemoterapötik ajan tesadüfi gözlemler ya da kapsamlı taramalar sonucunda elde edilmişse de, antipürinler ve antiprimidinler rasyonel argümantasyonla geliştirilen istisnai kemoterapötiklerden olmuştur. Hücrede DNA ve RNA'daki nükleotitlerin bileşenlerinden olan pürin ve pirimidin nükleobazlarının, proliferasyon için diğer hücreler gibi kanser hücreleri tarafından da sentezlenmeleri zorunlu olduğundan, kanser tedavisinde pürin ve pirimidin antagonistlerinden yararlanmak fikri mantıklı görünmüştür.^[56,57] Bu doğrultuda “rasyonel dizayn” ile geliştirilen ilk kemoterapötiklerden, ilk antipürin olan merkaptopurin Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 1953'te, ilk antiprimidin olan fluorourasil ise 1962'de onaylanmıştır. Bu ilaçlar, 1950'lerde hücre biyokimyasına dair sınırlı bilgi birikimi göz önünde bulundurulduğunda büyük birer adımdır; bugün hala çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadırlar. Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan antimetabolitler, alkilleyici ajanlar gibi geniş bir kategoridir ve bu alt sınıflarda birçok ilaç içermektedir: antifolatlar (metotreksat, pemetrekset,

raltitrekset), antipürinler (merkaptopurin, tioguanin), antiprimidinler (fluorourasil, sitarabin).^[58-60]

Doğa Araştırmaları Dönemi ve Sonuçları

Antimikrotübüller, sitotoksik antibiyotikler, topoizomeraz inhibitörleri

Bitki ya da mikroorganizma kökenli kimyasal droglar yüzyıllardır hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır; bugün bu drogların en bilindik örneklerinden biri *Penicillium* cinsi funguslardan izole edilen penisilinlerdir.^[61] Piyasadaki ilaçların 2009 itibarıyla yarısından fazlasını doğal kaynaklardan elde edilen ilaçlar oluşturmuştur. Bitki ya da mikroorganizma gibi doğal kaynaklardan izole edilen ya da izolasyonun ardından semisentez yoluyla geliştirilen kimyasallar, aynı şekilde kanser tedavisindeki sitotoksik ajanların önemli bir yüzdesini teşkil etmektedir.^[62] 1940'lardan 2000'lere kadar, dünyada onaylanan ve kullanılan 155 antikanser ajanın %47'sini doğadan elde edilen droglar ve bunların semisentetik türevleri oluşturmuştur.^[63,64]

Amerika Birleşik Devletleri'nde kanser araştırmaları gerçekleştirmek ve bu araştırmaları desteklemek amacıyla, 1937'de ABD Ulusal Kanser Enstitüsü (*The US National Cancer Institute*) kurulmuştur. Bu öncü kurum, 1940'larda hardal bileşikleriyle elde edilen başarıların ardından, doğal kimyasal drogların ya da bunlardan geliştirilecek semisentetik türevlerin antikanser ajanlar olarak kullanılabilirliği fikriyle, doğal droglar toplamak ve bunları antikanser etkinlik yönünden taramak üzere 1950'lerde harekete geçmiştir. Enstitü, 1955 yılında Kanser Kemoterapisi Ulusal Hizmet Merkezi'ni kurarak, doğal droglar temin etmek ve bunlarla (pre)linik çalışmalar yürütmek amacıyla bir ulusal kemoterapi programı koordine etmiştir. Kanser tedavisinde doğal droglardan yararlanma fikrinin bir dayanağı da, belirtildiği üzere, hastalıkların tedavisinde tarih boyunca bu droglara başvurulmuş ve bu yolla birçok kez şifa sağlanmış oluşudur. Toplanacak ve taranacak materyal olarak bitkilerden, deniz omurgasızlarından, ya da mikroorganizmalardan elde edilecek droglar seçilmiştir. Zira, hayvanların aksine sabit konumlu olan bitkiler ve deniz omurgasızları, kaçamayacakları düşmanlarına karşı çok çeşitli kimyasal savunma mekanizmaları (ör. zehir-

ler) geliştirerek evrilmiştir; mikroorganizmalar ise birbirlerine karşı yine çok çeşitli defansif kimyasallar sentezleyebilmektedir. Bu zengin kimyasal çeşitlilik içinden kimi maddelerin antikanser etkinlik gösterebileceği ve kanser tedavisinde kullanılabilirliği düşüncesiyle, doğal drog kaynağı olarak bu canlılara başvurulmuştur.^[65-67]

Böylece 1950'lerden bugüne Ulusal Kanser Enstitüsü (UKE), anlaşmalı organizasyonlar, kimya ya da ilaç firmaları, dünya genelindeki bilim insanları ve kamusal ya da özel kurumlar tarafından teslim edilen drogların prelinik değerlendirmelerinin gerçekleştirildiği bir merkez olarak hizmet vermiştir. 1960-1982 yılları arasında yaklaşık 180.000 mikroorganizma kökenli, 16.000 deniz organizması kökenli ve 114.000 bitki kökenli drog, antikanser etkinlik yönünden taranmıştır. Bu taramalar sonucunda klinik açıdan efektif bir dizi kemoterapötik ajan geliştirilebilmiştir ki bunlara şu örnekler verilebilir: antrasiklinler, kamptotesinler, bleomisin, aktinomisin, mitomisin ve ünlü paklitaksel.^[68] Kanser Kemoterapisi Ulusal Hizmet Merkezi'nin bu hizmetleri günümüzde (Ulusal Kanser Enstitüsü bünyesindeki Kanser Tanı ve Tedavi Dairesi'nin) Terapötik Geliştirme Programı tarafından sürdürülmektedir. Bu program sayesinde geliştirilmiş ve onaylanmış olan kemoterapötik ajanların bir listesi için bkz. Tablo 2.^[69,70]

1955'ten beri yeni antikanser droglar bulmak amacıyla doğayı incelemekte olan ABD Ulusal Kanser Enstitüsü, bu amaçla diğer ülkelerle de işbirliği yapmıştır. Deniz organizmalarının ve kara bitkilerinin toplanışına dair ilk anlaşmalar 1980'lerde yapılmıştır. Antikanser özelliklere sahip olabilecek deniz organizmalarını bulmak amaçlı araştırmalar başlangıçta Karayipler ve Avustralya etrafındaki sulara odaklanmış, günümüzde ise Pasifik Okyanusu'nun güneyini ve Hint Okyanusu'nu kapsayacak şekilde genişletilmiştir. Kaynak ülkelerle işbirliği yapılarak, tropikal ve subtropikal kuşakta yirmi beşi aşkın ülkeden bitki-ler toplanmıştır. Klinik kullanımdaki bitki kökenli antikanser droglara örnek olarak vinka alkaloidleri sınıfından vinblastin ve vinkristin verilebilir (Sı-rasıyla 1961 ve 1963 yıllarında onaylanmışlardır, bkz. Tablo 2). Vinblastin ve vinkristin, Filipinler ve

Tablo 2

Yirminci yüzyılda UAE (ABD) destekli bazı kemoterapötikler ve onay yılları

Onay yılı	Etken madde
1957	Klorambusil
1959	Siklofosamid, tiotepa
1961	Vinblastin
1962	Fluorourasil
1963	Vinkristin
1964	Melfalan, daktinomisin
1966	Tioguanin
1969	Sitarabin, prokarbazin
1970	Floksuridin, mitramisin, mitotan
1973	Bleomisin
1974	Doksorubisin, mitomisin C
1975	Dakarbazin
1976	Lomustin
1977	Karmustin
1978	Sisplatin
1979	Daunorubisin
1982	Streptozotosin
1983	Etoposid
1987	Mitoksantron
1988	İfosamid
1989	Karboplatin
1990	Altretamin
1991	Fludarabin, pentostatin
1992	Kladribin, paklitaksel, teniposid
1996	Topotekan

Jamaika'dan toplanan ve aslen Madagaskar'a endemik olan *Catharanthus roseus* bitkisinden izole edilmiş ve zaman içinde kan, akciğer ve meme kanserlerinin tedavisinde kullanılmıştır.^[71,72]

Botanist George Don (1798-1856) tarafından *Catharanthus roseus* adıyla anılan bu bitki, binominal nomenklatürde daha önce botanist Carl Lin-

naeus (1707-1778) tarafından *Vinca rosea* olarak adlandırılmıştır.^[73] (Botanist Heinrich Reichenbach (1823-1889) ise aynı bitki için *Lochnera rosea* adını kullanmıştır).^[74] Görüldüğü üzere, *Vinca rosea* binominal adındaki *Vinca* sözcüğü taksonomide bitkinin dahil olduğu cinsi belirtmekte olup, ayrıca "vinka alkaloidleri" şeklinde bu bitkiden geliştirilmiş olan kemoterapötik ilaç sınıfına adını vermiştir. Bitki kökenli antikanser drogların kategorizasyonunda, vinka alkaloidleri ile birlikte epipodofilotoksinler, taksanlar ve kamptotesinler olmak üzere, dört ana sınıf mevcuttur. Vinka alkaloidleri gibi diğer ilaç sınıfları da adını kaynak bitkilerin taksonomide ait olduğu cinsin adından almıştır (bkz. Tablo 3).^[75,76]

Taxus brevifolia bitkisinden izole edilen ve ABD Ulusal Kanser Enstitüsü'nün drog araştırma programları kapsamında incelenen paklitaksel, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından 1992'de yumurtalık kanseri, 1994'te ise meme kanseri kemoterapisinde kullanılmak üzere onaylanmıştır. Piyasaya sürülen paklitaksel etken maddeli ilk ilaç, antineoplastikler arasında en çok satan ilaç olmuştur ve 1993-2002 dönemindeki satışlarından dokuz milyar dolar civarında kümülatif gelir elde edilmiştir.^[77,78]

Bu tarama programları kapsamında bitkilerin yanı sıra mikroorganizmalar da potansiyel bir drog kaynağı olarak ele alınmıştır. Mikroorganizma kökenli kemoterapötik ajanların gelişiminin tarihçesi 1940'larla başlatılabilir. Yirminci yüzyılın ilk yarısında bu türden daha önceki drogların (penisilin vd.) başarısı, bu canlıları incelemek için teşvik edici olmuştur. İkinci Dünya Savaşı yıllarında mikroorganizmalardan yeni antibiyotikler

Tablo 3

Başlıca bitkisel kemoterapötik ilaç sınıfları ve kaynak bitkiler

İlaç sınıfı	Bu sınıftan ilaçlar	Kaynak bitki
Vinka alkaloidleri	Vinblastin, vinkristin (ve semisentetik türevleri vindesin, vinorelbin)	<i>Vinca rosea</i> (<i>Catharanthus roseus</i>)
Taksanlar	Paklitaksel (ve semisentetik türevi dosetaksel)	<i>Taxus brevifolia</i>
Kamptotesinler	Semisentetik kamptotesin türevleri topotekan, irinotekan	<i>Camptotheca acuminata</i>
Epipodofilotoksinler	Semisentetik podofilotoksin türevleri etoposid ve teniposid	<i>Podophyllum peltatum</i>

Tablo 4

Başlıca mikroorganizma kökenli kemoterapötik ajanlar ve kaynak organizmalar

İlaç sınıfı	Bu sınıftan ilaçlar	Kaynak mikroorganizma
Antrasiklin antibiyotikler	Daunorubisin, doksorubisin (ve semisentetik türevleri epirubisin, idarubisin)	<i>Streptomyces peucetius</i>
Glikopeptit antibiyotikler	Bleomisin A2 ve B2	<i>Streptomyces verticillus</i>
Polipeptit antibiyotikler	Daktinomisin	<i>Streptomyces parvulus</i>
Mitosanlar	Mitomisin	<i>Streptomyces caespitosus</i>

üretmek için geniş çaplı araştırmalara girişilmiştir. Bazı antibiyotik maddelerin aynı zamanda anti-kanser etkinlikleri de test edilmiştir. Mikrobiyolog Selman A. Waksman ve ekibi, 1940'ta topraktan izole ettikleri bir aktinomiset türüne *Actinomyces antibioticus* adını vermiş, bu mikroorganizmadan elde ettikleri antibiyotik maddeyi de aktinomisin olarak adlandırmıştır. (Daha sonra, inceledikleri aktinomisetlerin *Streptomyces* cinsinden bakteriler olduğu anlaşılınca, söz konusu türün adı *Actinomyces antibioticus* yerine *Streptomyces antibioticus* olarak değiştirilmiştir).^[79-81] 1940'ta izole edilen aktinomisin (aktinomisin A), aktinomisetlerden elde edilen ilk antibiyotik olurken, zaman içinde çeşitli *Streptomyces* türlerinden benzer fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip yeni antibiyotikler izole edilmiş ve aktinomisinler ailesi genişlemiştir. Bunlar içinden 1953'te *Streptomyces parvulus* türünden izole edilen Aktinomisin D (Daktinomisin), antikanser etkinlik sergilediği gözlemlenerek kanser tedavisinde kullanılan mikroorganizma kökenli ilk sitotoksik antibiyotik olmuştur.^[82-84] İlk yıllarında çocuklarda görülen Wilms tümörlerinin tedavisinde kullanılmıştır. Keşfettiği antibiyotikler ve mikrobiyoloji alanındaki çalışmaları nedeniyle, Dr. Waksman 1952'de Nobel Ödülü ile taltif edilmiştir.

1960'larda ise, *Streptomyces peucetius* türü bakterilerden elde edilen antibiyotikler "antrasiklinler" olarak adlandırılmış ve tümörler üzerindeki antiproliferatif etkileriyle dikkat çekmiştir. 1963 yılında daunorubisin, İtalyan ve Fransız araştırmacılar tarafından neredeyse eş zamanlı olarak bu bakteriden izole edilmiştir. İzole edildiği *Streptomyces peucetius* güneydoğu İtalya'da Adriyatik Denizi yakınından alınan bir toprak örneğinde

bulduğundan, madde İtalyanlar tarafından bu bölgede yaşamış antik bir kabilenin adına (*Dauni*) atfen *daunomicina* olarak adlandırılmıştır. Fransızlar tarafından ise maddeye kırmızı renginden ötürü *rubidomycine* adı verilmiştir (Fr. *rubis*, Tr. yakut). "Daunorubisin" adı böylece, İtalyanca ve Fransızca bu adların bir kombinasyonu olarak ortaya çıkmıştır. Daunorubisin 1964'te lösemi tedavisinde kullanılmak üzere kliniğe girmiştir. 1969 yılında ise orijinal *Streptomyces peucetius* türünden elde edilen mutant bir suştan (*Streptomyces peucetius* var. *caesius*) doksorubisin izole edilmiştir ve solid tümörlere karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir (Benzer biçimde doksorubisin de ilkin Adriyatik Denizi'ne atfen "adriamisin" olarak adlandırılmıştır ve literatürde bu adla da anılmaktadır).^[85,86] İlerleyen yıllarda yeni antrasiklinler üretilmiştir; doksorubisinin türevleri olan idarubisin ve epirubisin sırasıyla 1979'da ve 1980'de elde edilmiştir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından 1999'da onaylanan epirubisin daha az yan etkiye yol açtığından bazı kemoterapi kürlerinde doksorubisinin yerini almıştır.^[87,88]

Daunorubisin, doksorubisin ve bunların semisentetik türevlerinden oluşan antrasiklinler, çeşitli bakteri türlerinden^[89-92] izole edilen diğer antibiyotikler ile birlikte, mikroorganizma kökenli kemoterapötik ajanlar olarak antikanser ilaçların kategorizasyonunda "sitotoksik antibiyotikler/antrasiklinler" kategorisini oluşturmuşlardır (Tablo 4). Bugün en efektif antikanser ilaçlar arasında olup çok sayıda kanser türünün tedavisinde kullanılmaktadırlar.

Belirtildiği üzere, doğal kaynaklardan elde edilen kemoterapötikler, bitkilerden, mikroorga-

nizmalardan ve deniz omurgasızlarından elde edilenler üzere üç ana grupta toplanabilir. Okyanuslar çok çeşitli yaşam formları ve dolayısıyla organik bileşikler barındırmakta, öyle ki biyosferin %90 gibi büyük bir bölümünü deniz ekosistemi oluşturmaktadır. Bu nedenle denizler 1960'ların başlarından itibaren terapötik potansiyele sahip yeni droglar keşfetmek amacıyla araştırılmış, deniz canlıları antikanser, antibakteriyel, antiviral etkinlikleri yönünden taranmıştır.^[93,94] Birçok deniz omurgasız savunma amacıyla toksik kimyasallar üretmektedir ve bu maddelerin bir kısmı enzim ve reseptörlerle etkileşime girebildiğinden, potansiyel farmakolojik kullanımları değerlendirilmiştir. Bununla birlikte deniz kaynaklarını taramaya ve araştırmaya yönelik çalışmalar, teknik zorluklarından ve bugüne dek daha çok karasal kaynaklara yönelik araştırmalara yoğunlaşıldığından ötürü, henüz emekleme aşamasındadır.^[95,96] 2000 yılı itibariyle, taranan deniz omurgasızlarından geliştirilen başlıca kemoterapötikler, bir deniz süngerinden (*Cryptotheca crypta*) izole edilen droglardan sentezlenen sitarabin ve sonrasında onun bir türevi olan gemsitabin olmuştur (Etki mekanizmalarına göre ise antimetabolitler > antipürinler grubundadırlar). Sitarabin lösemi ve lenfomaların tedavisinde kullanılırken, gemsitabin pankreas, meme, mesane ve akciğer kanserlerine ait solid tümörlere karşı anlamlı antikanser etki göstermiştir. Bugün deniz canlılarından izole edilen droglarla yeni antikanser ajanlar geliştirmek amaçlı klinik araştırmalar, farklı aşamalarda (faz I–III) sürmektedir.^[97,98]

Yukarıda kökenlerine ve ortaya çıkış süreçlerine göre tartışılan doğal ilaçlar ve sınıfları, hüresel etki mekanizmaları temelinde ele alındıklarında, antikanser ilaçların bu çalışmada da benimsenen klasik kategorizasyonunda sitotoksik kemoterapötikler kategorisinin alt gruplarını oluşturacaklardır. Buna göre,

- Bitki kökenli kamptotesinler ve epipodofilotoksinler, DNA'nın ayrılışında ve yeniden ligasyonunda rol oynayan topoizomeraz enzimlerini inhibe ettiklerinden,^[99] *topoizomeraz inhibitörleri* grubuna,
- Bitki kökenli vinka alkaloidleri ve taksanlar, mikrotübüllere bağlanarak mitoz bölünmeyi

inhibe ettiklerinden,^[100,101] *antimikrotübüller* (diğer adıyla *antimitotikler*) grubuna,

- DNA enterkalasyonu, serbest radikaller açığa çıkarmak, ya da topoizomeraz inhibisyonu yoluyla hücre ölümünü indükleyen^[102] mikroorganizma kökenli örnekler ise *sitotoksik antibiyotikler/antrasiklinler* grubuna aittir.

Sonuç

Doğadan sağlanan kimyasal droglarla binlerce yıldır ilaç üretilmekteyse de, doğadan izole etmek ve(ya) laboratuvarında sentezlemek yoluyla antikanser ilaçlar elde etmeye yönelik sistematik ve geniş kapsamlı çalışmalara yirminci yüzyılda girişilmiştir. Yirminci yüzyılın ilk yarısında Ehrlich'in (arsfenamin) ve Fleming'in (penisilin) ufuk açıcı keşifleri, Birinci ve İkinci Dünya Savaşı sırasındaki gözlemler ve bu gözlemlere dayalı argümantasyon ve hipotezler, bu girişimler için motive edici ve yol gösterici olmuştur. Aynı dönemde *in vitro* çalışmalara ek olarak, kimyasalların terapötik –antikanser– potansiyellerini test etmeye yönelik *in vivo* prelinik deneylerin gerçekleştirilebileceği hayvan modellerinin geliştirilişi, çok sayıdaki ilaç adayı kimyasal arasından anlamlı antikanser etki potansiyeline sahip ajanların belirlenebilmesini sağlamıştır.

Bu hazırlayıcı gelişmelerin ardından, modern kanser kemoterapisi çağı 1940'larda ilk klasik kemoterapötik ajanların elde edilmesiyle başlamıştır; 1940'ların başlarında ilk alkilleyici ajanlar ve sonlarında ise ilk antimetabolitler üretilmiştir. 1950'lerde ise, mikroorganizmalar, bitkiler ve deniz omurgasızları tarafından üretilen çok çeşitli kimyasal maddeler arasından kimi drogların antikanser potansiyele sahip olabileceği düşüncesiyle, laboratuvarın dışına çıkılarak bu tür ajanlar keşfetmek amacıyla doğa araştırmalarına başlanmıştır. Sonuç olarak doğa, sitotoksik ajanların temininde önemli bir kaynak olmuş, yirminci yüzyılın ikinci yarısında birçok antikanser drog gerek bitkilerden gerekse mikroorganizmalardan izole edilmiş, semisentezle bu drogların türevleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerle elde edilen antikanser ilaçlar, bugün kanser farmakoterapisinde sitotoksik ajanların alt kategorilerini teşkil etmektedir. Topoizomeraz

inhibitörleri (kamptotesinler ve epipodofilotoksinler), antimikrotübüller (1960'larda onaylanan vinka alkaloidleri ve 1990'larda taksanlar) ile sitotoksik antibiyotikler/antrasiklinler (1960'lar ve 1970'ler) buna örnek verilebilir. Yirminci yüzyılda geliştirilen bu ilaçlar sayesinde, kanser tedavisinde cerrahi ve radyoterapi gibi lokal müdahalelerin yanı sıra kemoterapi gibi sistemik bir müdahale olanağı/seçeneği doğmuştur.

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kanser Enstitüsü, antikanser ilaç geliştirme sürecinde öncü bir kurum olmuştur. Bu kurum tarafından 1955'te başlatılan araştırma programları kapsamında, yüz binlerce kara ve deniz canlısı antikanser droglar keşfetmek amacıyla taranmıştır. Bugün birçok kemoterapötik, bu kurumun çalışmaları sayesinde ya da işbirliğiyle geliştirilebilmiştir.

Yirminci yüzyıl sonu itibariyle sitotoksik kemoterapötikler, kanser tedavilerinde sağkalım şansını, oranını ve süresini oldukça artırabilmelelerine karşın, birçok kanser türünde tam anlamıyla şifa sağlayamamışlardır. Ancak nihai hedefe varılamamışsa da, alınan mesafe devam etmek için yüreklendirici olmuştur. Neredeyse bir yüzyıldır bu terapötik ajanları temin (keşif/sentez), test ve uygulama süreçlerinde elde edilen bulgular, yeni nesil antikanser ilaç geliştirme stratejileri için belirleyici bir rol oynamıştır ve oynamaktadır.

Kaynaklar

1. Sandison AT, Tapp E. Disease in ancient Egypt. In: Cockburn A, Cockburn E, Reyman TA, editors. *Mummies, Disease & Ancient Cultures*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1998.
2. Aufderheide AC. Soft tissue paleopathology: diseases of the viscera. In: *The Scientific Study of Mummies*. Cambridge: Cambridge University Press; 2003.
3. Richards V. The history of cancer. In: *Cancer the Wayward Cell: Its Origins, Nature, and Treatment*. 2nd ed. Berkeley (CA/ABD): University of California Press; 1978.
4. Prates C, Sousa S, Oliveira C, Ikram S. Prostate metastatic bone cancer in an Egyptian Ptolemaic mummy, a proposed radiological diagnosis. *Int J Paleopathol* 2011; 1: 98–103.
5. The US National Library of Medicine Turning the Pages online. The Edwin Smith Papyrus. <http://archive.nlm.nih.gov/proj/ttp/> Erişim tarihi: 10.02.2014.
6. Papavramidou N, Papavramidis T, Demetriou T. Ancient Greek and Greco-Roman methods in modern surgical treatment of cancer. *Ann Surg Oncol* 2010;17(3):665-7.
7. Rice S, Whitehead SA. Phytoestrogens and breast cancer-promoters or protectors? *Endocr Relat Cancer* 2006;13(4):995-1015.
8. The Papyrus Ebers, çev. Cyril P. Bryan. http://oilib.uchicago.edu/books/bryan_the_papyrus_ebers_1930.pdf. Erişim tarihi: 25.08.2015.
9. Söz konusu eserin Yunanca metnine ve metnin Fransızca bir tercümesine buradan ulaşılabilir. <http://remacle.org/bloodwolf/erudits/Hippocrate/pro2.htm>. Erişim tarihi: 16.12.2013.
10. Hajdu SI. Greco-Roman thought about cancer. *Cancer* 2004;100(10):2048-51.
11. The American Cancer Society. The History of Cancer. <http://www.cancer.org/cancer/cancerbasics/thehistoryofcancer/index?sitearea>. Erişim tarihi 25.08.2015.
12. Hajdu SI. Thoughts about the cause of cancer. *Cancer* 2006;106(8):1643-9.
13. Graner J. History of infectious disease oncology. Galen to Rous. In: Goedert JJ, editor. *Infectious causes of cancer: Target for Intervention*, Totowa (NJ/ABD): Humana Press (Springer); 2000.
14. Bezabeh T, Mowat MR, Jarolim L, Greenberg AH, Smith IC. Detection of drug-induced apoptosis and necrosis in human cervical carcinoma cells using ¹H NMR spectroscopy. *Cell Death Differ* 2001;8(3):219-24.
15. Lefranc F, Facchini V, Kiss R. Proautophagic drugs: a novel means to combat apoptosis-resistant cancers, with a special emphasis on glioblastomas. *Oncologist* 2007;12(12):1395-403.
16. Ricci MS, Zong WX. Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways. *Oncologist* 2006;11(4):342-57.
17. Schulmeister L. Extravasation. In: Olver IN, editor. *The MASCC Textbook of Cancer Supportive Care and Survivorship*. New York: Springer; 2011.
18. Espinosa E, Zamora P, Feliu J, González Barón M. Classification of anticancer drugs-a new system based on therapeutic targets. *Cancer Treat Rev* 2003;29(6):515-23.
19. Rafi I. Classification and principles of use of anticancer drugs. In: *An introduction to the use of anticancer drugs*. New York: Elsevier; 2006.
20. Coward M, Coley HM. Chemotherapy. In: Kearney N, Richardson A, editors. *Nursing patients with cancer: Principles and Practice*. New York: Elsevier; 2006.
21. Priestman T. *Cancer chemotherapy in clinical practice*. London: Springer; 2008.

22. McGovern JP. Pharmaceutical principles. In: Dorr RT, von Hoff DD, editors. Cancer chemotherapy handbook. 2nd ed. Connecticut: Appleton & Lange; 1994.
23. Strebhardt K, Ullrich A. Paul Ehrlich's magic bullet concept: 100 years of progress. *Nat Rev Cancer* 2008;8(6):473-80.
24. Parascandola J. The theoretical basis of Paul Ehrlich's chemotherapy. *J Hist Med Allied Sci* 1981;36(1):19-43.
25. Ehrlich P. Aus theorie und praxis der chemotherapie. *Folia Serologica* 1911;7:697-714.
26. Ehrlich P, Hata S. Die experimentelle chemotherapie der spirillosen. Berlin: Springer; 1910.
27. Craigie J. Sarcoma 37 and ascites tumours. *Ann R Coll Surg Engl* 1952;11(5):287-99.
28. Worley LG, Spater HW. The cytoplasmic cytology of sarcoma 180. *J Microsc Sci (J Cell Sci)* 1952;93:413-25.
29. Zeybek Ü. Kanser araştırmaları ve deneysel modeller. *Deney Tıp Derg* 2013;3(5):1-12.
30. Waud WR. Murine L1210 and P388 leukemias. In: Teicher BA, editor. Tumor models in cancer research. 2. ed. New York: Humana Press (Springer); 2011.
31. Sausville EA. Preclinical models for anticancer drug development. In: Hidalgo M, Garret-Mayer E, Clendenin NJ, Eckhardt SG, editors. Principles of anticancer drug development. New York: Humana Press (Springer); 2011.
32. The US National Cancer Institute, the Developmental Therapeutics Program. NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screen online. <http://dtp.nci.nih.gov/branches/btb/ivclsp.html>. Erişim tarihi: 20.02.2014.
33. DeVita VT Jr, Chu E. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Res* 2008;68(21):8643-53.
34. Galmarini D, Galmarini CM, Galmarini FC. Cancer chemotherapy: a critical analysis of its 60 years of history. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012;84(2):181-99.
35. Morrison WB. Cancer chemotherapy: an annotated history. *J Vet Intern Med* 2010;24(6):1249-62.
36. Mattes WB, Hartley JA, Kohn KW. DNA sequence selectivity of guanine-N7 alkylation by nitrogen mustards. *Nucleic Acids Res* 1986;14(7):2971-87.
37. Colvin M. Alkylating agents and platinum antitumor compounds. In: Kufe DW, et al. *Holland-Frei Cancer Medicine*. 6th ed. Hamilton: BC Decker Inc; 2003.
38. Gilman A, Philips FS. The biological actions and therapeutic applications of the B-chloroethyl amines and sulfides. *Science* 1946;103(2675):409-15.
39. Goodman LS, Wintrobe MM, et al. Nitrogen mustard therapy; use of methyl-bis (beta-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (beta-chloroethyl) amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *J Am Med Assoc* 1946;132:126-32.
40. Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953;171(4356):737-8.
41. Baguley BC. A brief history of cancer chemotherapy. In: Baguley BC, Kerr DJ, editors. *Anticancer drug development*. San Diego: Academic Press (Elsevier); 2002.
42. Corrie PG. Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects. *Medicine* 2008;36(1):24-28.
43. Zong WX, Thompson CB. Necrotic death as a cell fate. *Genes Dev* 2006;20(1):1-15.
44. Damia G, D'Incalci M. Mechanisms of resistance to alkylating agents. *Cytotechnology* 1998;27(1-3):165-73.
45. Airley R. Classical anticancer agents. In: *Cancer Chemotherapy: Basic Science to the Clinic*. Oxford: Wiley-Blackwell (John Wiley & Sons); 2009.
46. Boarder M, Newby D, Navti P. Cancer chemotherapy. In: *Pharmacology for pharmacy and the health sciences: a patient-centered approach*. Oxford: Oxford University Press; 2010.
47. Francisco AP, Perry MJ, Moreira R, Mendes E. Alkylating agents. In: Missailidis S, (ed.), *Anticancer Therapeutics*. West Sussex (BK): John Wiley & Sons; 2008.
48. Sakallı H, Çalikuřu Z, Sariakçalı B, Polat A, Canatarođlu A. Urinary n-acetyl-beta-d-glucosaminidase levels in cancer patients treated with cisplatin. *Nobel Med* 2013;9(1):56-60.
49. Sneader W. Antimetabolites. In: *Drug discovery: a history*. West Sussex (BK): John Wiley & Sons; 2005.
50. Mitchell HK, Snell EE, Williams RJ. The concentration of "folic acid." *J Am Chem Soc* 1941;63:2284.
51. Mills SD, Stickney JM, Hagedorn AB. Observations on acute leukemia in children treated with 4-aminopteroylglutamic acid. *Pediatrics* 1950;5(1):52-6.
52. Bertino JR. Methotrexate: historical aspects. In: Cronstein BN, Bertino JR, editors. *Milestones in drug therapy: Methotrexate*. Berlin: Springer; 2000.
53. English WM. Principles of chemotherapy. *Paediatr Child Health* 2010;20(3):123-8.
54. Farber S, Diamond LK, Mercer RD, Sylvester RF, Wolff JA. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin). *N Engl J Med* 1948;238(23):787-93.
55. Wright JC, Prigot A, Wright B, Weintraub S, Wright LT. An evaluation of folic acid antagonists in adults with neoplastic diseases: a study of 93 patients with incurable neoplasms. *J Natl Med Assoc* 1951;43(4):211-40.
56. LePage GA. Purine antagonists. In: Becker FF, editor.

- Cancer – A Comprehensive Treatise: Chemotherapy, vol. 5. New York: Plenum Press (Springer); 1977.
57. Chabner BA, Myers CE. Antimetabolites. In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*, vol 1. 3rd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Company; 1989. p. 350-67.
 58. Lind MJ. Principles of cytotoxic chemotherapy. *Medicine* 2011;39(12):711-6.
 59. Parker WB. Enzymology of purine and pyrimidine antimetabolites used in the treatment of cancer. *Chem Rev* 2009;109(7):2880-93.
 60. Namlı Ş, Özkök A, Çolak Y, Erten N, Karan MA, Taşcıoğlu C ve ark. L-tiroksin yerine yanlılıkla uzun süre metotreksat kullanımına bağlı toksisite: hastaları tedavileri konusunda yeterince bilgilendiriyor muyuz? *Nobel Med* 2007;3(3):31-4.
 61. Özcengiz G, Demain AL. Recent advances in the biosynthesis of penicillins, cephalosporins and clavams and its regulation. *Biotechnol Adv* 2013;31(2):287-311.
 62. Molinari G. Natural products in drug discovery: present status and perspectives. In: Guzman CA, Feuerstein GZ, editors. *Pharmaceutical biotechnology: Advances in experimental medicine and biology*. vol. 665. New York: Springer; 2009.
 63. Kinghorn AD, Chin YW, Swanson SM. Discovery of natural product anticancer agents from biodiverse organisms. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2009;12(2):189-96.
 64. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod* 2007;70(3):461-77.
 65. Cragg GM, Kingston DGI, Newman DJ. Introduction. In: Cragg GM, Kingston DGI, Newman DJ, editors. *Anticancer Agents from Natural Products*. 2nd ed. Boca Raton (FL/ABD): Taylor & Francis; 2012.
 66. Efferth T, Wink M. Chemical-biology of natural products from medicinal plants for cancer therapy. In: Jamali MA, editor. *Alternative and complementary therapies for cancer: Integrative approaches and discovery of conventional drugs*. New York: Springer; 2010.
 67. Coleman MTD, Sunassee SN. Marine bioprospecting in Southern Africa. In: Chibale K, Coleman MD, Masimirembwa, editors. *Drug discovery in Africa*. New York: Springer; 2012.
 68. Cragg GM, Newman DJ. Natural products drug discovery and development at the United States National Cancer Institute. In: Lin Y, Betz JM, Bindra JS, Bobzin SC editors. *Drug discovery and traditional Chinese medicine: Science, regulation, and globalization*. New York: Springer; 2001.
 69. The US National Cancer Institute, the Division of Cancer Treatment and Diagnosis, the Developmental Therapeutics Program online. <http://dctd.cancer.gov/ProgramPages/dtp/> Erişim tarihi: 21.12.2013.
 70. Dorr RT, von Hoff DD. Drug monographs. In: Dorr RT, von Hoff DD, editors. *Cancer chemotherapy handbook*. 2nd ed. Connecticut: Appleton & Lange; 1994.
 71. Schwartzmann G, Ratain MJ, Cragg GM, Wong JE, Saijo N, Parkinson DR, et al. Anticancer drug discovery and development throughout the world. *J Clin Oncol* 2002;20(18 Suppl):47-59.
 72. Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anticancer agents. *J Ethnopharmacol* 2005;100(1-2):72-9.
 73. Svoboda GH, Johnson IS, Gorman M, Neuss N. Current status of research on the alkaloids of *Vinca Rosea* Linn. (*Catharanthus roseus* G. Don). *J Pharm Sci* 1962;51:707-20.
 74. Degraeve N. Genetic and related effects of *Vinca rosea* alkaloids. *Mutat Res* 1978;55(1):31-42.
 75. Khazir J, Mir BA, Pilcher L, Riley DL. Role of plants in anticancer drug discovery. *Phytochem Lett* 2014;7 (February 2014):173-81.
 76. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci* 2005;78(5):431-41.
 77. Gascoigne KE, Taylor SS. How do anti-mitotic drugs kill cancer cells? *J Cell Sci* 2009;122(Pt 15):2579-85.
 78. The US General Accounting Office. Report to the Honorable Ron Wyden, U.S. Senate: Technology Transfer: NIH–Private Sector Partnership in the Development of Taxol, 2003.
 79. Waksman SA, Woodruff HB. The Soil as a Source of Microorganisms Antagonistic to Disease-Producing Bacteria. *J Bacteriol* 1940;40(4):581-600.
 80. Waksman SA, Woodruff HB. *Actinomyces antibioticus*, a New Soil Organism Antagonistic to Pathogenic and Non-pathogenic Bacteria. *J Bacteriol* 1941;42(2):231-49.
 81. Hollstein U. Actinomycin; chemistry and mechanism of action. *Chem Rev* 1974;74(6):625-52.
 82. Waksman SA, Katz E, Vining LC. Nomenclature of the actinomycins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1958;44(6):602-12.
 83. Ravina E. Antibiotics. In: *The Evolution of Drug Discovery: From Traditional Medicine to Modern Drugs*. Weinheim: Wiley-VCH (John Wiley & Sons); 2011.
 84. Ferrier DR. RNA structure, synthesis, and processing. In: Lippincott's illustrated reviews: biochemistry. 6th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
 85. Mross K, Massing U, Kratz F. DNA-intercalators–the anthracyclines. In: Pinedo HM, Smorenburg CH, editors. *Drugs affecting the growth of tumours*. Basel: Springer; 2006. p. 19-22.
 86. Booser DJ, Hortobagyi GN. Anthracycline antibiotic

- ics in cancer therapy. Focus on drug resistance. *Drugs* 1994;47(2):223-58.
87. Demain AL, Sanchez S. Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot (Tokyo)* 2009;62(1):5-16.
 88. Apetoh L, Mignot G, Panaretakis T, Kroemer G, Zitvogel L. Immunogenicity of anthracyclines: moving towards more personalized medicine. *Trends Mol Med* 2008;14(4):141-51.
 89. Hopwood DA. Antibiotic discovery and resistance. In: *Streptomyces in nature and medicine: The antibiotic makers*. Oxford: Oxford University Press; 2007.
 90. Williams C. Antibiotics: the dirt on microorganisms. In: *Medicinal plants in Australia: an antipodean apothecary*. vol. 4. Kenthurst (NSW/AU): Rosenberg Publishing; 2013.
 91. The US National Cancer Institute Drug Dictionary online. <http://www.cancer.gov/drugdictionary>. Erişim tarihi: 10.01.2014.
 92. Ormrod D, Holm K, Goa K, Spencer C. Epirubicin: a review of its efficacy as adjuvant therapy and in the treatment of metastatic disease in breast cancer. *Drugs Aging* 1999;15(5):389-416.
 93. Bhatnagar I, Kim SK. Immense essence of excellence: marine microbial bioactive compounds. *Mar Drugs* 2010;8(10):2673-701.
 94. Simmons TL, Andrianasolo E, McPhail K, Flatt P, Gerwick WH. Marine natural products as anticancer drugs. *Mol Cancer Ther* 2005;4(2):333-42.
 95. Amador ML, Jimeno J, Paz-Ares L, Cortes-Funes H, Hidalgo M. Progress in the development and acquisition of anticancer agents from marine sources. *Ann Oncol* 2003;14(11):1607-15.
 96. Burja AM, Banaigs B, Abou-Mansour E, Burgess JG, Wright PC. Marine cyanobacteria—a prolific source of natural products. *Tetrahedron* 2001;57(46):9347-77.
 97. Schwartzmann G, Brondani da Rocha A, Berlinck RG, Jimeno J. Marine organisms as a source of new anticancer agents. *Lancet Oncol* 2001;2(4):221-5.
 98. Haefner B. Drugs from the deep: marine natural products as drug candidates. *Drug Discov Today* 2003;8(12):536-44.
 99. Pizzolato JF, Saltz LB. The camptothecins. *Lancet*. 2003;361(9376):2235-42.
 100. Hait WN, Rubin E, Alli E, Goodin S. Tubulin targeting agents. *Update Cancer Therapeut* 2007;2(1):1-18.
 101. Risinger AL, Giles FJ, Mooberry SL. Microtubule dynamics as a target in oncology. *Cancer Treat Rev* 2009;35(3):255-61.
 102. Rabbani A, Finn RM, Ausió J. The anthracycline antibiotics: antitumor drugs that alter chromatin structure. *Bioessays* 2005;27(1):50-6.