



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

II. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2017ko maiatzaren 10, 11 eta 12
Iruñea, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

**Minbiziaren aurkako jomuga
garrantzitsua: Topoisomerasa I**

*Endika Martin Encinas,
Concepción Estibaliz Alonso Perez,
Gloria Rubiales Alcaine eta
Fancisco Javier Palacios Gamba*

116-123 or.
<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.ii.05.17>

ANTOLATZAILEA:



ELKARLANEAN:



LAGUNTZAILEAK:



Minbiziaren aurkako jomuga garrantzitsua: I Topoisomerasa

Martin-Encinas, E., Alonso, C., Rubiales, G. eta Palacios, F.

*Kimika Organika I Saila, Farmazi Fakultatea eta Lascaray ikergunea, Euskal Herriko Unibertsitatea (EHU), Unibertsitate Ibilbidea 7, 01006, Vitoria-Gasteiz, Araba, Euskal Herria.
endika_690@hotmail.com*

Laburpena

Minbiziaren kontrako hautagai berriak topatu nahian, zenbait 1,2,3,4-tetrahidrokinolina eta kinolina berrien serieen sintesia aurkezten dugu hemen. Sintetizatutako produktu gehienek I Topoisomerasa inhibitzeko gaitasuna erakutsi dute. Are gehiago, produktuen azpimultzo batek giza giltzurruneko minbizian (HEK-3), giza birikako adenokartzinoman (A-549) eta giza obulutegiko kartzinoman (SKOV3) zitotoxizitate efektu bat erakutsi dutela frogatu du “in vitro” azterketak.

Hitz gakoak: minbizia, entzima, inhibizioa, I Topoisomerasa, Kanptotezina, kinolina.

Abstract

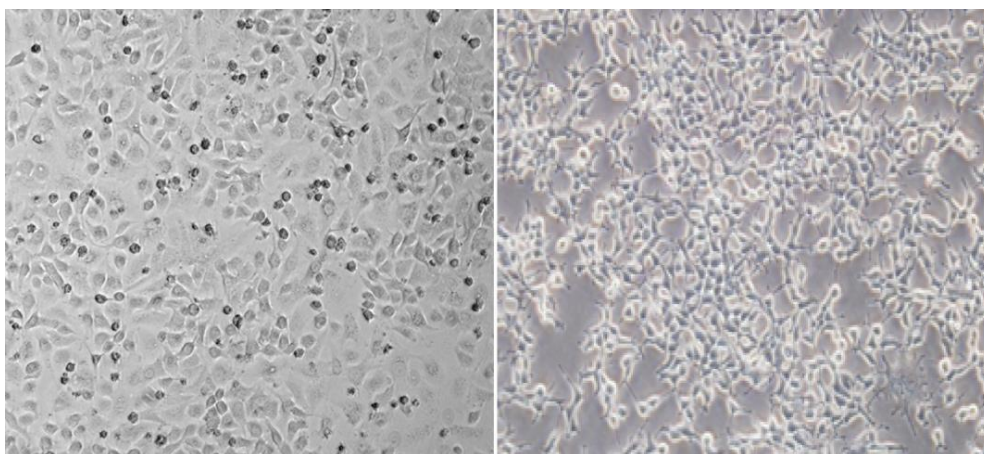
In an effort to establish new candidates with improved anticancer activity, we report here the synthesis of various series of 1,2,3,4-tetrahydroquinolines and novel quinolines. Most of the products which were synthesized were able to inhibit Topoisomerase I activity. Moreover, in vitro testing demonstrated that a subset of the products exhibited a cytotoxic effect on cell lines derived from human kidney cancer (HEK-3), human lung adenocarcinoma (A-549), or human ovarian carcinoma (SKOV3).

Keywords: cancer, enzyme, inhibition, Topoisomerase I, Camptothecin, quinoline.

1. Sarrera eta motibazioa

Minbizi hitzak hainbat eritasun barne hartzen ditu, guztiak tumore gaizto baten zelula multzoen hazkuntza, zatiketa eta hedatzearekin erlazionatuta (Avendaño eta Menéndez, 2008). Ehun horien gehiegizko hazkuntzari neoplasia deritzo (Willis, 1952), eta era berean, neoplasia tumore ere deitzen zaio hazkuntza medikoan (Kumar, Abbas eta Fausto, 2008). Oso ohikoa da (minbiziagatik heriotzen %90ean) tumore hori gorputzeko beste atal batzuetara hedatzea, metastasia bezala ezagutzen den prozesu baten bidez (Avendaño eta Menéndez, 2008). Gaur egun, munduko heriotzen %13aren arduraduna da minbizia.

1. irudia. Bi minbizi-zelulen hazkuntzen argazkiak: ezkerrean, birikako minbizi zelulak (A-549); eskubian, giltzurruneko minbizi zelulak (HEK-3).



Tumore guztiek, onberak izan ala gaiztoak izan, oinarritzko bi ehun-osagarri dituzte: parenkima alde batetik, zelula neoplasikoz osatua, eta sostengu-estroma bestetik, neoplasia elikatzen duten odol-hodiak eta ehun konektiboz osatua (Kumar, Abbas eta Fausto, 2008).

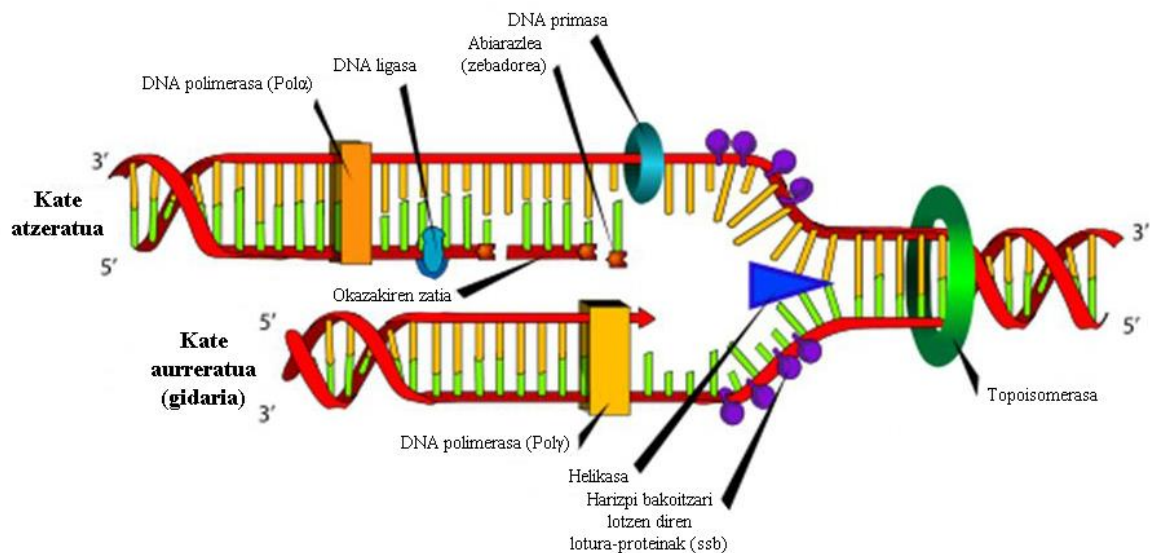
Minbiziaren aurkako tratamenduan diziiplina ezberdinek hartzen dute parte, eta gaur egun erabiltzen direnak honakoak dira (Neidle, 2008):

- Kirurgia: minbiziaren aurreko uneetan zein garatua dagoenetan tumorearen erauzketan datza.
- Radioterapia: eritasunaren garapenaren arabera indarrarekin X izpiak bidaltzen dira tumorea suntsitzeko.
- Kimioterapia: heriotz zelularra eragiteko gaitasuna duten 20 edo 30 bat konposatu kimioterapeutiko erabili daitezke.

Agente kimioterapeutikoen artean Topoisomerasaren inhibitzaile deritzen entzimak daude. Tumorearen hazkuntza gauzatzeko DNAREN erreplikazioan parte hartzen dute topoisomerasek, DNA den helize bikoitzaren harizpietako batekin (I Topoisomerasa) edo birekin (II Topoisomerasa) jokatzuz (Avendaño eta Menéndez, 2008; Lauria, Ippolito eta Almerico, 2007). Hauen inhibitzaileek erreplikazioa oztopatuko dute, hala tumorearen hazkuntza saihestuz.

Lan honetan I Topoisomerasaren inhibitzaileengan zentratuko gara. I Topoisomerasa entzima 765 aminoazidok osatzen dute eta hauek 4 eremutan banatzen dira: N-terminalaren eremua, Oinarritzko eremua, Lokailua eta C-terminalaren eremua (Leppard eta Champoux, 2005). Azken honetan, DNAREkin elkartzen den puntua dago (Tesauro et al., 2010; Pommier, 2009; Koster et al., 2005; Redinbo et al., 1998; Stewart et al., 1998; Stewart et al., 1996). Horretarako, lehenik eraso nukleofilikoa deritzon prozesua eragiten du eta gero, puntu hori lokailu hartuta, DNAREkin konplexu bat osatzen du, erreplikazioa martxan jarritz. Behin bere betebeharra bete duenean, bigarren eraso bat gertatzen da, DNA eta I Topoisomerasa askatu eta azken hau hurrengo DNA zatiaren bila joan ahal dadin (Neidle, 2008).

2. irudia. DNA heliziearen bi harizpiak banandu eta erreplikazioa hasten da. Bertan Topoisomerasa eta SSB proteinak ikus daitezke bi harizpiak bananduta mantentzeaz arduratzen.

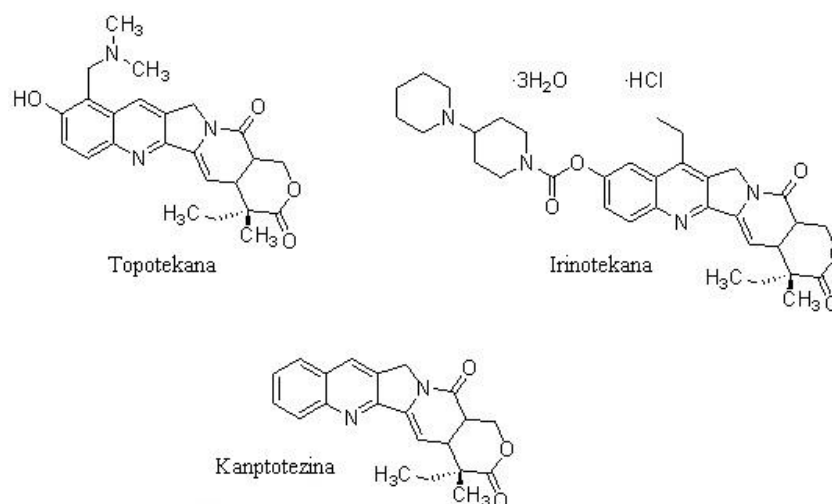


Erreplikazioan duen funtsezko aktibitatea dela eta, I Topoisomerasak edozein ziklo zelularretan duen garrantzia ukaezina da, baina are garrantzi handiagoa du minbizia prozesuetan, I Topoisomerasa kontzentrazioa askoz handiagoa baita minbizidun ehunetan ehun osasuntsuetan baino. Horrela, bere inhibizioaren azterketa oso garrantzitsua da tumoreen aurkako tratamendua hobetzeko (Khadka eta Cho, 2011).

Bere inhibizioa eraso nukleofiliko-mailan edota konplexu osaera-mailan eragin daiteke. Aipatutako bigarren eraso nukleofilikoa gauzatzen ez bada, DNA eta I Topoisomerasa bateratuta geratzen dira, eta honek sortzen duen tentsioagatik, heriotz zelularra gertatzen da. Erlaxazio hori gauzatzen uzten ez duten molekulak I Topoisomerasaren pozoin bezala ezagutzen dira (Neidle, 2008).

Inhibitzaileak ezagunena Kanptotezina da, zuhaitz txinatar batetik lor daitekeena (Wall et al., 1966). Dituen ezaugarriengatik, hau eta beregandik deribatutako molekulak dira erabilienak. Baina pozoin honek ere badu bere “antidotoa” (Neidle, 2008), eta dituen ahuleziak konpentsatu nahian, Kanptotezinatik deribatuak ez dauden beste I Topoisomerasa inhibitzaile batzuk garatu dira, Topotekana eta Irinotekana besteak beste (Cinelli et al., 2009; Stein eta Pardee, 2004; Vermeulen, Van Bockstaele eta Berneman, 2003; Khadka eta Cho, 2011).

3. irudia. Topotekana, Irinotekana eta Kanptotezinaren egitura kimikoak.



2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Ameriketako Estatu Batuetako Osasun eta Giza Zerbitzu Sailak “Sendagai eta Elikagaien Administrazioa” deritzon erakundea kudeatzen du, eta honen helburua janari eta sendagaien erabilera segurua kontrolatzea da. I Topoisomerasaren inhibitzaileak diren bi farmakok bakarrik lortu dute erakunde honen onespina; biak Kanptotezinaren deribatuak dira (Thomas, Rahier eta Hecht, 2004).

Lehen aipatu den bezalaxe, Kanptotezinak eta bere deribatuek badituzte bere mugak (Teicher, 2008; Schaeppi, Fleischman eta Clooney, 1974), hortaz Kanptotezinatik deribatuak ez diren molekulen ikerketa puri purian dago (Nagarajan et al., 2004). Bide horretatik, onartzeko bidean dauden bi farmako berri garatu dira (Peterson et al., 2011; Pommier eta Cushman, 2009; Antony et al., 2007), eta beraien egituragatik aurrekoak baino aktiboagoak direla frogatu da (Begouin eta Hesse, 2006; Kumar et al., 2010).

Hori dela eta, Kanptotezinatik deribatuak ez diren molekula zehatz batzuen diseinua planteatzen da lan honetan, Kanptotezinak dituen ahuleziak gailentzen dituztenak eta I Topoisomerasaren inhibitzaile bezala ondo lan egin lezaketenak. Ideia horrekin eta konposatuek komunean dituzten ezaugarri batzuetan oinarrituta, konposatu zehatz batzuk sintetizatzeke erabilera anitzeko metodo erraz bat

bilatzea da beste helburuetako bat. Horretarako, “Povarov” izeneko erreakzio mota batzuek jarraitzen duten sintesi eskema jarraituko da.

Laburbilduz, honako hauek dira lan honen helburuak:

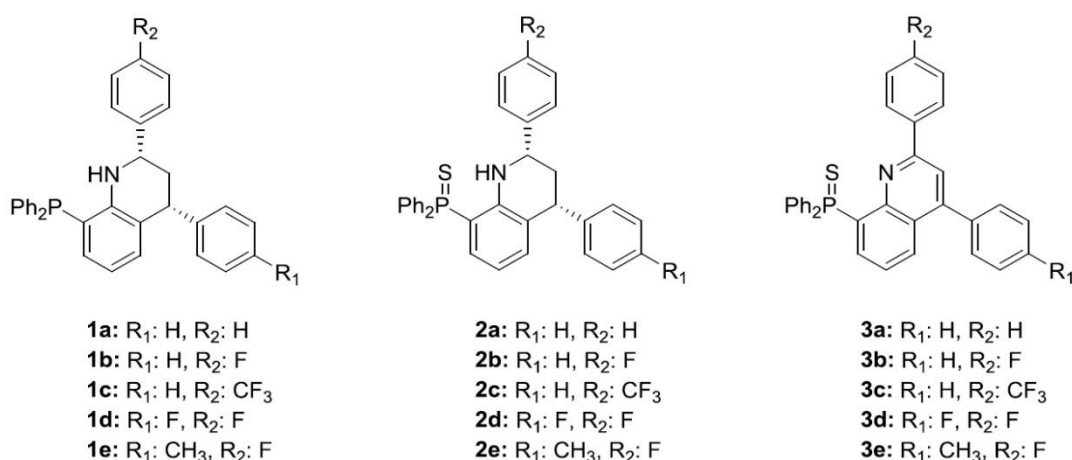
1. Kanptotezinatik deribatuak ez diren konposatuek dituzten egituren antzeko konposatuen erreaktibitatea aztertzea.
2. Ezaugarri zehatz batzuk dituzten konposatuak sortzea.
3. Aurrekoen aktibitate biologikoa aztertzea “in vitro” (laborategiko esperimentazioa) egoeretan.

3. Ikerketaren muina

Kanptotezinatik deribatuak ez diren I Topoisomerasaren inhibitzaileak lortzearekin hasi zen prozesua. Beraien ezaugarriengatik 1,2,3,4-tetrahidrokinolina eta kinolina berriak deritzen motako produktuak lortu ziren. 3. irudian ikus daitezkeen irudikapen grafikoetan argi ikusten da konposatu hauek, berdin berdinak ez diren arren, egitura oso antzekoak direla.

Modu erraz batean ulertzeko, erreakzioa puzzle bat bezala ulertu behar da. R_1 eta R_2 muturretan hainbat elementu edo molekula jarri daitezke eta hala, konbinazio anitzak sortu. Kasu honetan, muturretan Hidrogenoa (H), Fluorra (F), Trifluorometil molekula organofluoratua (CF_3) eta metiloa (CH_3) dertitzen molekula organikoak txertatu dira. Bi muturretan jarritakoaren arabera produktu ezberdinak sortu dira (Ikus 3. irudiaren beheko zatia).

4. irudia. Erabilitako produktuen irudikapen grafikoak eta konbinazioak.



Datozen lerroetan esperimentazio atalaren azalpena aurki daiteke; laburpena 1. taulan.

Lehenik zیتotoxizitate frogak egin dira, hau da, lortutako produktuek zein gaitasun duten minbizidun zelulak hiltzeko. “ IC_{50} ” bezala ezagutzen den neurketa sistema erabili da horretarako, hau da, produktuaren zenbat kantitate behar den, kasu honetan, lagineko minbizi-zelulen %50a hiltzeko. Produktu bakoitzaren kantitate berak laginaren zein portzentai hiltzen duen aztertu da, Otik 50erako balioak erabili direlarik horretarako.

Ikerketa honetan hiru esperimentazio eremu erabili dira: giza giltzurruneko minbizi (HEK-3) zelulak, giza birikako adenokartzinoma (A-549) zelulak eta giza obulutegi kartzinoma (SKOV3) zelulak. Kontuan izan behar da kasu honetan, DNAREN eta honek dakarren zelulen bikoizketa ekiditea dela helburua, tumorea handitu ez dadin. Beraz, gero eta zیتotoxizitate maila altuagoa izan orduan eta hobe izango da molekula minbiziaren aurkako farmako bezala.

Artikuluaren lehen ataletan azaldutako ezaugarriengatik Kanptotezina da erreferentetzat hartzen dena. Bere zitotoxizitate maila, lehen esan bezala, altua dela kontuan izanda, 0,001ekoa da, gutxi gorabehera, hiru minbizi ehunetan. Birika adenokartzinomaren kasuan, disolbagarritasun arazoengatik erreakzioak gauzatu ez diren produktuak kenduta (2e eta 3e), gainontzekoek emaitza hobea erakutsi dute, eta kasu batzuetan (3a, 3b, 3c eta 3d) askoz hobea, 50 baino gehiagokoa. Giltzurrun minbiziaren eta obulutegi kartzinomaren kasuetan sintetizatutako produktu guztiek lortu dute 50 baino balio handiagoa zitotoxizitatean.

Bestalde I Topoisomerasa inhibitzeko gaitasuna duten ala ez ere aztertu da. Horretarako, entsegu enzimatikoak erabili dira. Elektroforesia deritzon teknika baten bidez, azterketa kualitatibo bat egin daiteke eta inhibizio maila ezberdinak interpretatu.

Kasu honetan ere egoera ezberdinak planteatu dira:

1. egoera: Aurreinkubaziorik gabe
2. egoera: DNArekin aurreinkubazioa 15 minutuz.
3. egoera: I Topoisomerasarekin aurreinkubazioa 15 minutuz.

Produktu bakoitza hiru egoeretan aztertu da, eta bere inhibizio-gaitasuna neurtu da 4 une ezberdinetan: 15 segundu, 45 segundu, minutu 1 edota 3 pasa bezain pronto. Kanptotezinak errendimendu oso ona erakutsi du hiru egoeretan, bereziki lehen hiru uneetan. 2e eta 3e produktuek disolbagarritasun arazoak izan dituztenez, ez dute froga hau gainditu.

1. egoeran, aurreinkubaziorik gabekoan, 2c konposatuak ez du erreakzionatu eta 3a-k, lehen faseetan ondo edo nahiko ondo inhibititu duen arren, amaierarako ez du gehiegi inhibititu. Gainontzeko 11 konposatuek inhibizio maila altuak edo oso altuak erakutsi dituzte, Kanptotezina bera baino handiagoak, izatez.

2. egoeran, 15 minutuz DNArekin aurreinkubatuz, 3a produktuak ez du erreakzionatu eta 1 d-k ia ere ez. 1a, 1e, 2d, 3b eta 3d produktuek lehen uneetan errendimendu oso ona adierazi duten arren, 3 minutu pasa ostean, beraien inhibitzeko gaitasuna desagertu egin da. 1b eta 2b denboran zehar modu berdintsu batean inhibititu dute, baina beti maila nahiko kaxkarrean. Azkenik, 1c, 2a, 2c eta 3c produktuek oso inhibizio maila altua erakutsi dute I Topoisomerasaren aurrean, Kanptotezinarena baino hobea.

3. egoeran, 15 minutuz I Topoisomerasarekin aurreinkubatuz 2a produktuan hasieran errendimendu izugarria izan duen arren, hurrengo uneetan gaitasun hori guztiz desagertu da, eta 2b produktuak inhibizio maila konstante baina baxua erakutsi du. Gainontzeko 11 konposatuek inhibizio maila altua edo oso altua erakutsi dute, Kanptotezinak emandako emaitza gailenduaz.

Produktu berdinek egoera ezberdinetan lortutako emaitzei begiratuta, 15 minutuz DNArekin aurreinkubatua edukitzeak eman ditu emaitza kaxkarrenak orohar, eta aurreinkubazio ezak edota 15 minutuko I Topoisomerasaren aurreinkubazioak, aldiz, emaitza oso oparoak eman ditu.

Orokorrean, fluordun konposatuek inhibizio gaitasuna erakutsi dute, baina, mutur bakarra bete beharran bi betetzen zituztenean, emaitzak hobeak izan dira (bereziki lehen uneetan). Trifluorometilari dagokionez, orokorrean emaitzarik onenak eman ditu (emaitzarik eman ez duen kasua kenduta) egoera guztietan. Metiloa eta fluorra txertatuta zeuden serieetan berriz, egituretako batean emaitza nahiko onak eman dituen arren, beste bietan disolbagarritasun arazoak eman ditu.

1. taula. Esperimentazio atala: Zitotoxitatea eta I-h Topoisomerasaren inhibizioa.

Konposatua	Zitotoxizitatea			I-hTopoisomerasaren inhibizioa											
	A-549	VK-O3	HEK-3	Aurreinkubaziorik gabe				DNArekin aurreinkubazioa 15min				ITop-rekin aurreinkubazioa 15min			
				15 s	45 s	1 min	3 min	15s	45s	1min	3min	15s	45s	1min	3min
Kanptotezina	$1.10^{-3} \pm 6.10^{-5}$	$1.10^{-3} \pm 6.10^{-5}$	$1.10^{-3} \pm 6.10^{-3}$	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+
1a	0.60 ± 2.1	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	+++	+	+	++++	++++	++++	++++
1b	0.57 ± 3.2	>50	>50	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	++++	++++	++++	++++
1c	16.2 ± 4.9	>50	>50	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++++	++++	++++	++++
1d	0.08 ± 0.01	>50	>50	++++	++++	++++	+++	+	-	-	-	++++	++++	++++	++++
1e	0.25 ± 0.12	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	++	++	-	++++	++++	++++	++++
2a	0.16 ± 0.01	>50	>50	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-
2b	0.27 ± 0.05	>50	>50	++++	++++	++++	++++	++	++	++	++	++	++	++	+
2c	0.22 ± 0.01	>50	>50	-	-	-	-	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++
2d	0.03 ± 0.02	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	++	++	-	++++	++++	++++	++++
2e	Ez d.	>50	>50	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.
3a	>50	>50	>50	+++	++	++	-	-	-	-	-	++++	+++	+++	++
3b	>50	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	++	++	-	++++	++++	++++	++++
3c	>50	>50	>50	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
3d	>50	>50	>50	++++	+++	+++	+++	++++	++	++	-	++++	++++	++++	++++
3e	Ez d.	>50	>50	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.	Ez d.

Ez d.: Ez disolbagarria.

4. Ondorioak

“Povarov” erreakzioaren bidez, laborategian egitura zehatz baten fluordun eta fosforodun deribatu batzuek aktibitate biologiko handia erakutsi dute I Topoisomerasaren inhibitzaile bezala. Lortutako konposatu batzuek inhibizio entseguetan Kanptotezinak berak baino I Topoisomerasa inhibititzeko gaitasun handiagoa dutela erakutsi dute.

Bestalde, zitotoxizitate entseguetan Kanptotezinak berak baino gaitasun handiagoa dutela erakutsi dute konposatu batzuek. Dena den, konposatu horien herenak bakarrik lortzen du hain aktibitate indartsua Kanptotezinaren kontzentrazio beretsuan; besteek kontzentrazio handiagoa behar dute efektu hori lortzeko.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Ordenagailuzko zein laborategiko azterketen bidez, lortutako konposatuen egituren aldaera ezberdinekin zitotoxizitate eta inhibizio frogak egitea, lortutako emaitzak hobetzea helburu.

6. Erreferentziak

- Antony, S., Agama, K. K., Miao, Z.-H., Takagi, K., Wright, M. H., Robles, A. I., Varticovski, L., Nagarajan, M., Morrell, A., Cushman, M. eta Pommier, Y. (2007). Novel Indenoisoquinolines NSC 725776 and NSC 724998 Produce Persistent Topoisomerase I Cleavage Complexes and Overcome Multidrug Resistance, *Cancer Research*, 67, 10397- 10405.
- Avendaño, C., eta Menéndez, J. C. (2008). *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, Elsevier, Holanda.
- Begouin, A. eta Hesse, S. (2006): Synthesis of novel benzoannelated eight -membered heterocycles: easy access to benzo[f][1,4]oxazocin-1-ones, J. A. Seijas, eta M. P. Vázquez-Tata (arg.), *10th Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*, MDPI, Suitza, CD-ROM formatuan argitaratua.
- Cinelli, M. A., Cordero, B., Dexheimer, T. S., Pommier, Y. eta Cushman, M., (2009). Synthesis and Biological Evaluation of 14-(Aminoalkyl-aminomethyl)aromathecins as Topoisomerase I Inhibitors: Investigating the Hypothesis of Shared Structure-Activity Relationships, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 7145-7155.
- Khadka, D. B., eta Cho, W.-J. (2011). 3-Arylisoquinolines as novel topoisomerase I inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19, 724-734.
- Koster, D. A., Croquette, V., Dekker, C., Shuman, S. eta Dekker, N. H. (2005). Friction and torque govern the relaxation of DNA supercoils by eukaryotic topoisomerase IB, *Nature*, 434, 671-674.
- Kumar, R. S., Rajesh, S. M., Perumal, S., Banerjee, D., Yogeeswari, P. eta Sriram, D. (2010). A Facile Synthesis and Discovery of Highly Functionalized Tetrahydro-pyridines and Pyridines as Antimycobacterial Agents, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58, 602-610.
- Kumar, V., Abbas, A. K. eta Fausto, N. (2008). *Robbins Patología Humana*, Elsevier, Espainia
- Lauria, A., Ippolito, M. eta Almerico, A. M. (2007). Molecular docking approach on the Topoisomerase I inhibitors series included in the NCI anti -cancer agents mechanism database, *Journal of Molecular Modeling*, 13, 393-400.
- Leppard, J. B. eta Champoux, J. J. (2005). Human DNA topoisomerase I: relaxation, roles, and damage control, *Chromosoma*, 114, 75-85.
- Nagarajan, M., Morrell, A., Fort, B. C., Meckey, M. R., Antony, S., Kohlhagen, G., Pommier, Y. eta Cushman, M. (2004). Synthesis and Anticancer Activity of Simplified Indenoisoquinoline Topoisomerase I Inhibitors Lacking Substituents on the Aromatic Rings, *Journal of Medicinal Chemistry*, 47, 5651-5661.
- Neidle, S. (2008). *Cancer Drug Design and Discovery*, Elsevier, Erresuma Batua.
- Peterson, K. E., Cinelli, M. A., Mowell, A. E., Mehta, A., Dexheimer, T. S., Agama, K. K., Antony, S., Pommier, Y. eta Cushman, M. (2011). Alcohol -, Diol-, and Carbohydrate-Substituted Indenoisoquinolines as Topoisomerase I Inhibitors: Investigating the Relationships Involving Stereochemistry, Hydrogen Bonding, and Biological Activity, *Journal of Medicinal Chemistry*, 54, 4937-4953.

- Pommier, Y. (2009). DNA Topoisomerase I Inhibitors: Chemistry, Biology, and Interfacial Inhibition, *Chemical Reviews*, 109, 2894-2902.
- Pommier, Y. eta Cushman, M. (2009). The indenoisoquinoline noncamptothecin topoisomerase I inhibitors: update and perspectives, *Molecular Cancer Therapeutics*, 8, 1008-1014.
- Redinbo, M. R., Stewart, L., Kuhn, P., Champoux, J. J. eta Hol, W. G. J. (1998). Crystal structures of human topoisomerase I in covalent and noncovalent complexes with DNA, *Science*, 279, 1504-1513.
- Schaeppi, U., Fleischman, R. eta Clooney, D. W. (1974). Cancer Chemotherapy Reports, 58, 25-36.
- Stein, G. S. eta Pardee A. B. (2004). *Cell Cycle & Growth Control*, John Wiley & Sons, Ameriketako Estatu Batuak.
- Stewart, L., Ireton, G. C., Parker, L. H., Madden, K. R. eta Champoux J. J. (1996). Biochemical and Biophysical Analyses of Recombinant Forms of Human Topoisomerase I, *Journal of Biological Chemistry*, 271, 7593-7601.
- Stewart, L., Redinbo, M. R., Qiu, X., Hol, W. G. J., eta Champoux J. J. (1998). A model for the mechanism of human topoisomerase I, *Science*, 279, 1534-1541.
- Teicher, B. A. (2008). Next generation topoisomerase I inhibitors: Rationale and biomarker strategies, *Biochemical Pharmacology*, 75, 1262-1271
- Tesauro, C., Fiorani, P., D'Annessa, I., Chilleni, G., Turchi, G. eta Desidari, A. (2010). Erybraedin C, a natural compound from the plant Bituminaria bituminosa, inhibits both the cleavage and religation activities of human topoisomerase I, *Biochemical Journal*, 425, 531-539.
- Thomas, C. J., Rahier, N. J. eta Hecht, S. M. (2004). Camptothecin: current perspectives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12, 1585-1604.
- Vermeulen, K., Van Bockstaele, D. R. eta Berneman, Z. N. (2003). The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer, *Cell Proliferation*, 36, 131-149.
- Wall, M. E., Wani, M. C., Cook, C. E., Palmer, K. H., McPhail, A. T., eta Sim, G. A. (1966). Plant Antitumor Agents. I. The Isolation and Structure of Camptothecin, a Novel Alkaloidal Leukemia and Tumor Inhibitor from Camptotheca acuminata, *Journal of the American Chemical Society*, 88, 3888-3890.
- Willis, R. A. (1952). *The Spread of Tumors in the Human Body*, Butterworth & Co, Erresuma Batua.