



Antikanser Ajanlar İçin Hedef Olarak DNA Topoizomerazlar

DNA Topoisomerase as Targets for Anticancer Agents

Ulviye Acar Çevik^{1,2*}

¹Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya AD, 26000, Eskişehir, Türkiye

²Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Doping ve Narkotik Analiz Laboratuvarı, 26000, Eskişehir, Türkiye

Makale bilgisi

Alındı: 02.06.2020
Revize makale alındı: 31.07.2020
Kabul: 14.08.2020
Online yayım: 05.09.2020

Anahtar kelimeler

Topoizomeraz I
Topoizomeraz II
Kanser

Article info

Keywords

Topoisomerase I
Topoisomerase II
Cancer

Received: 02.06.2020
Received in revised form: 31.07.2020
Accepted: 14.08.2020
Available online: 05.09.2020

Özet

Kanser, hücrenin temel işlevlerini düzenleyen mekanizmalardaki bozuklukların sonucunda ortaya çıkan ve çeşitli genetik değişikliklerden kaynaklanan kompleks bir hastalıktır. Bu genetik değişiklikler neticesinde hücre döngüsünün bozulması sürekli olarak yeni kanser hücrelerinin meydana gelmesi ve yok edilememesi ile karakterize bir hastalıktır. Kanser, dünya çapında ölümlerin ana nedenlerinden biridir. Yılda yaklaşık olarak 9 milyon kişinin ölümüne neden olur. Kanser tedavisinde mortaliteyi azaltmak ve sağ kalımı arttırmak için birçok farklı tedavi modaliteleri uygulanmaktadır. Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler olmak üzere başlıca üç yaklaşım bulunmaktadır. Bunların içerisinde en sık kullanılan yöntem olan kemoterapi, kimyasal ajanlarla kanser hücrelerinin apoptozu hedeflenirken aynı zamanda kanserin durdurularak yayılması da engellenir. Ancak var olan ilaçların, yüksek toksisiteye, istenmeyen yan etkiler ve ilaç direncine neden olmasından dolayı hala günümüzde kanser tedavisinde yeni yaklaşımlar araştırılmaktadır. Bugünkü araştırmaların önemli bir hedefi, özellikle en agresif tümörler için yeni, daha spesifik kemoterapötiklerin geliştirilmesi ve yeni biyolojik hedeflerin tanımlanmasıdır. Kanser tedavisi için çeşitli moleküler hedefler arasında, DNA topoizomerazlar yer almaktadır. Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve hayatta kalması sırasındaki temel rolleri nedeniyle iyi karakterize edilmiş hedeflerdir. Bu enzimler, DNA üzerinde geçici kırıklar oluşturarak molekülün kimyasal yapısını etkilemeden üç boyutlu yapısını değiştirirler. Tek zincir üzerinde veya çift zincir üzerinde kırık oluşturmalarına göre tip I ve tip II olarak iki alt sınıfa ayrılırlar.

Abstract

Cancer is a complex disease resulting from various genetic changes that lead to disorders in the mechanisms regulating the basic functions of the cell. As a result of these genetic changes, it is a disease characterized by the fact that new cancer cells are constantly formed and cannot be destroyed by disrupting the cell cycle. Cancer is one of the main causes of deaths worldwide. It causes approximately 9 million deaths annually. Many different treatment modalities are applied in cancer treatment to decrease mortality and increase survival. There are three main approaches in cancer treatment: chemotherapy, radiotherapy and surgical methods. In chemotherapy, which is the most commonly used method among these, while apoptosis of cancer cells is targeted with chemical agents, it is also prevented from stopping the cancer by spreading. However, new approaches to cancer treatment are still being investigated today, since existing drugs cause high toxicity, undesirable side effects and drug resistance. An important goal of current researches is the development of new, more specific chemotherapeutics and the identification of new biological targets, especially for the most aggressive tumors. DNA topoisomerases are among the various molecular targets for cancer treatment. Cell proliferation are well-characterized targets due to their essential role in differentiation and survival. These enzymes change the three dimensional structure of DNA without affecting chemical structure through transient breaks. They are divided into two subclasses as type I and type II according to their fracture formation on a single chain or double chain.

Derleme makalesi

Review article

GİRİŞ

DNA, genetik bilgiyi taşıyan molekül olduğundan canlılığın devamlılığı için büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle DNA molekülünün hücre içindeki bütünlüğünün korunması, canlılığın devamı açısından büyük önem taşır. Replikasyon, rekombinasyon ve transkripsiyon gibi hücre faaliyetleri sırasında meydana gelebilecek DNA kırıkları hücrede genom bütünlüğünün bozulmasına ve tamir edilmediği takdirde hücrenin ölümüne neden olabilmektedir¹.

DNA molekülünün kendi üzerinde dönerek/kıvrılarak oluşturduğu yapıya “süpersarmal” denir. Hücrenin

topoizomerazlara gereksinimi, DNA'nın çift heliks yapıda olmasından ileri gelir. DNA topoizomerazlar, DNA metabolizmasında kritik rol oynayan tüm hücre organizmalarda bulunan temel enzimlerdir^{2,3}.

Topoizomerazlar DNA replikasyonu, transkripsiyon, rekombinasyon ve onarımda önemli rolleri olan enzim ailesidir⁴. Transkripsiyon, replikasyon, rekombinasyon gibi olayların hepsinde DNA heliksinin ya kısmen ya da tamamen açılması gerekir. DNA topoizomeraz enzimleri DNA'nın yapısında geçici kırıklar oluşturarak transkripsiyon ve replikasyon gibi işlemlerin gerçekleşmesine olanak sağlarlar⁵⁻⁹. DNA topoizome-

razlarının aktivitelerinin bozulmasının ve/veya inhibisyonunun DNA replikasyonunun/transkripsiyonunun baskılanmasına ve sonuç olarak programlanmış hücre ölümünün (apoptoz) indüklenmesine neden olmaktadır¹⁰.

Topoizomeraz enzimlerinin aktivitesinin baskılanmasının genom fonksiyonlarını engelleyebileceği, kromozom stabilitesini tehlikeye atabileceği ve bu nedenle zararlı sitotoksisteyi tetikleyebileceği göz önüne alındığında, klinikte kanser terapötikleri olarak topoizomeraz enzimlerini hedefleyen çeşitli ajanlar geliştirilmekte ve araştırılmaktadır¹¹. Ayrıca, topoizomeraz mutasyonları kanserin yanında nörodejenerasyon, otizm ve otoimmün hastalıklar gibi çeşitli insan hastalıkları ile de ilişkilendirilmiştir¹².

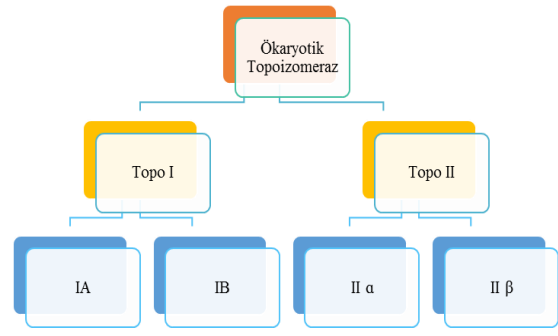
DNA Topoizomeraz enzimlerinin sınıflandırılması

DNA topoizomeraz keşfi 1971'de James Wang tarafından *E. coli*'de gerçekleştirilmiştir. Topoizomerazlar, bir seferde DNA tek iplikçliğini kesmelerine veya DNA'da çift-iplikçikli kırmalarına göre iki ana aile olarak sınıflandırılırlar; tip I ve tip II topoizomeraz. DNA topoizomeraz I ilk defa 1971'de, DNA topoizomeraz II ise 1976'da tanımlanmıştır. Topoizomerazlar genellikle katalitik fonksiyonlarına, reaksiyon mekanizmalarına, amino asit sekanslarına ve yapılarına dayanarak alt sınıflara ayrılırlar^{2,13,14}.

İnsan DNA topoizomeraz I replikasyon, transkripsiyon ve rekombinasyonda önemli bir rol oynar, ancak hücrenin hayatta kalması için gerekli değildir. İnsan DNA topoizomeraz II DNA replikasyonu, rekombinasyon ve transkripsiyonda rol oynayan önemli bir enzimdir. Aynı zamanda, kromozomlarının ayrılması, kardeş kromatitlerin ayrılması ve kromozomal yoğunlaşma / dekonkonsasyonda hücre bölünmesi sırasında kritik bir rol oynar^{15,16}.

Tip I topoizomerazlar kendi içinde iki alt bölümlere ayrılır: tip IA ve tip IB (Şekil 1). Tip II enzimler de tip II α ve tip II β olmak üzere iki alt sınıfa ayrılırlar. Tip II α bakteri ve ökaryotlarda bulunurken, II β arkeada, bitkilerde ve plazmodiyal parazitlerde bulunmaktadır. Bu iki topoizomeraz II enzimi benzer katalitik aktivitelere ve yapısal özelliklere sahiptir, ancak biyolojik işlemlerde farklı rollere sahiptir. Topoizomeraz II α öncelikle hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde rol alırken, Topoizomeraz II β esas olarak hücre farklılaşması ve transkripsiyonu ile ilişkilidir. Her iki topoizomerazII izoenziminin klinik kullanımda çok sayıda topoizomerazII-hedefleyici antikanser ilacı tarafından hücre hedefler olduğu

gösterilmiştir^{4,17,18}.



Şekil 1. Topoizomerazların Sınıflandırılması

Topoizomeraz hedefli antikanser ilaçlar iki sınıfta incelenebilir. Birinci sınıf ilaçlar, enzimin DNA'ya bağlanması veya enzimin katalitik aktivitesine müdahale eden ajanlardır. Kovalent DNA-topoizomeraz enzim kompleksi oluşumuna engel olurlar. Bu grup ilaçlar "katalitik inhibitörler" olarak adlandırılırlar. İkinci sınıf ilaçlar, enzime veya DNA'ya bağlanmaz, kovalent topoizomeraz-DNA kompleksleri (cleavage complex) üzerinde etki ederler. Bu bileşiklerin çoğu, yarılama alanındaki baz çiftleri arasında araya girer ve DNA'nın kırık uçlarının birleşmesini engellerler. Enzim DNA üzerinde kovalent olarak hapsolür. Bu maddeler de "topoizomeraz zehirleri" olarak adlandırılırlar^{19,20}.

DNA Topoizomeraz I

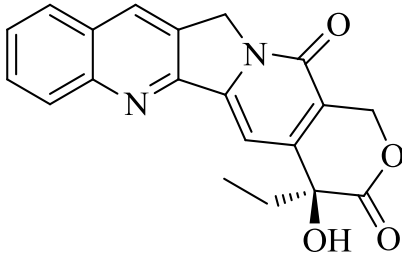
Topoizomeraz I'in normal enzimatik döngüsü geri dönüşümlü bir transesterifikasyon reaksiyonu içerir. Merkezlerinde bulunan tirozin amino asidinin hidroksil grubu DNA'nın fosfat grubuna atakta bulunur, geçici fosfotirozin bağı kurar ve DNA'nın fosfodiester bağının kırılmasını sağlar. Daha sonra ilk reaksiyonun tam tersi bir transesterifikasyon reaksiyonu gerçekleşir, protein ve DNA arasındaki fosfotirozin bağı kırılır ve ligasyon gerçekleşir²¹⁻²³. Normal şartlar altında ligasyon hızı, yarılama hızından çok daha yüksektir; bununla birlikte bazı durumlarda ligasyon hızı yavaşlar ve DNA-Topoizomeraz I kovalent kompleksleri stabil görünür. Yarılmış DNA şeridinin eski haline getirilememesi durumunda daha toksik çift zincirli kopmalara dönüşebilen tek zincirli kopmalar meydana gelir²⁴.

Kamptotesin, topotekan, irinotekan ve belotekan topoizomeraz I zehirlerine örnektir²⁵.

Kamptotesin

Antikanser aktivitesi için geniş bir doğal ürün taramasında, alkaloid olan kamptotesin (Şekil 2) Çin ve Tibet'te yetişen *Camptotheca acuminata* ağacının kabuğundan 1966 yılında izole edilmiştir. Keşfinden sonra, klinik testler sonucunda

kamptotesin antikanser aktivitesini gösterdiği bulunmuştur. Ancak, sahip olduğu ateş, nötropeni, trombositopeni, pnömonit ve özofajit gibi yan etkilerden ve sudaki düşük çözünürlüğünden dolayı bir süre çalışmalara ara verilmiştir. Daha sonra suda çözünebilir kamptotesin türevi bileşikler sentezlenerek, kamptotesin türevleri klinikte kullanılmaya başlanmıştır²⁶⁻²⁹.

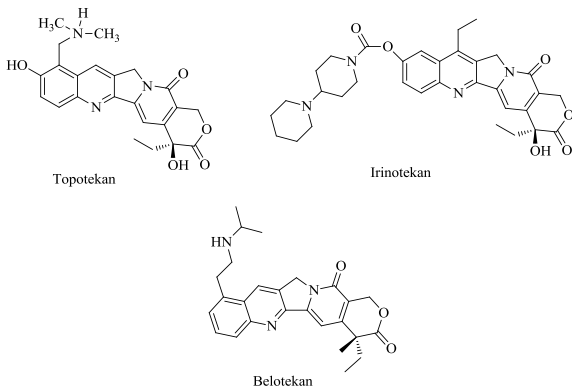


Şekil 2. Kamptotesin molekülünün kimyasal yapısı²⁶

Kamptotesinin aktif kapalı halkasal lakton formu fizyolojik koşullarda hızlı ve geri dönüşümsüz olarak insan serum albuminine bağlanan inaktif açık halka formuna dönüştüğü için çok kararsızdır. Yine DNA ile oluşturduğu kovalent kompleksin hızlı bir şekilde hücresel mekanizmalarca uzaklaştırılması klinikte uzun süreli ve çok tekrarlı bir uygulama gerektirdiğinden toksik etkisine uzun süre maruz kalınmaktadır. Ayrıca zamanla hücrelerin özellikle dışa atım pompaları nedeniyle kazandığı direnç kullanımlarını kısıtlamaktadır^{30,31}.

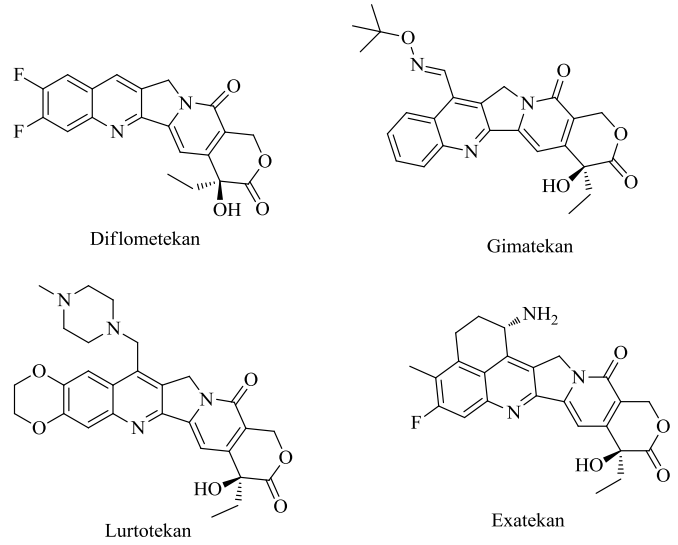
Topotekan, Irinotekan ve Belotekan

Topotecan, irinotekan ve belotekan (Şekil 3) suda çözülebilir kamptotesin analoglarıdır. Günümüzde, irinotekan ve topotecan klinik uygulamaları ve aktiviteleri giderek daha iyi karakterize edilen ve en yaygın olarak kullanılan kamptotesin analoglarıdır. Kolon, akciğer ve yumurtalık kanserleri dahil katı tümörlerin ve pediyatrik tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılırlar. Neredeyse 20 yıl önce FDA onaylarından bu yana, pazarlanan tek topoizomeraz I inhibitörleridir³²⁻³⁴.



Şekil 3. Topotecan, Irinotekan ve Belotekan moleküllerinin kimyasal yapısı³²

Ayrıca, Faz I çalışmasında umut verici sonuçlar elde edilen kamptotesin türevi diflomotekan (Şekil 4) için Faz II çalışmalarına geçilmiştir. Gimatecan, lurtotekan ve exatecan (Şekil 4) ayrıca klinik çalışmalarda test edilmektedir^{35,36}.



Şekil 4. Diflomotekan, Gimatecan, Lurtotekan ve Exatecan moleküllerinin kimyasal yapısı³⁵

DNA Topoizomeraz II

Tüm tip II topoizomerazlar, alt birimlerinin kontrollü birleşme ve ayrışmalarını içeren kompleks bir mekanizma ile hareket ederler³⁷⁻³⁸. Bu reaksiyonda, DNA segmentlerinden biri (G segmenti) dimerik enzim tarafından tutulur ve kırılır, diğer segment de (T segmenti) oluşturulan kırıktan geçirilir. G segmentinin kırılması, Mg²⁺ iyonu varlığında simetrik olarak bağlantılı iki adet tirozin amino asidinin kovalent olarak DNA'ya bağlanmasıyla gerçekleşir^{42,43}. Topoizomeraz II, topoizomeraz I enziminin aksine, işini yapmak için ATP şeklinde enerjiye ihtiyaç duyar. ATP hidrolizi, bu enzimin iplikçik geçiş aktivitesi için gereklidir, ancak ATP yokluğunda DNA bölünmesi meydana gelebilir. Topoizomeraz II ayrıca DNA replikasyonunda önemli bir rol oynar ve kromozomların yoğunlaşması ve ayrılması için gereklidir. Bu enzimin ifadesi hücre döngüsüne bağlıdır ve protein seviyesi ve katalitik aktivitesi G2/M fazında en yüksektir^{6,39}.

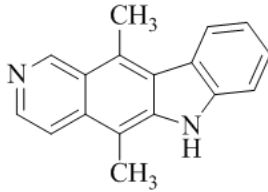
Topoizomeraz II enziminin aktivitesi hücre içerisinde hassas bir denge üzerine kuruludur. Bu dengenin korunması, uygun kromozom segregasyonunu ve diğer proseslerin sağlıklı şekilde yürütülerek hücrenin normal olarak büyümesini sağlar. Enzim tarafından oluşturulan DNA kırıkları geri dönüştürülebilir ve hücre tarafından tolere edilebilecek düzeydedir. Ancak dengenin inhibitörler veya zehirler aracılığıyla bozulması hücreyi ölüme götürür. Topoizomeraz II enziminin bu özelliği,

kanser hücreleriyle savaşılmasında bu enzimin hedef alınmasını sağlar^{40,42}.

Eliptisin, Etoposid, teniposid, daunorubisin, doksorubisin ve amsakrin topo II zehirlerine örnektir⁴³.

Eliptisin

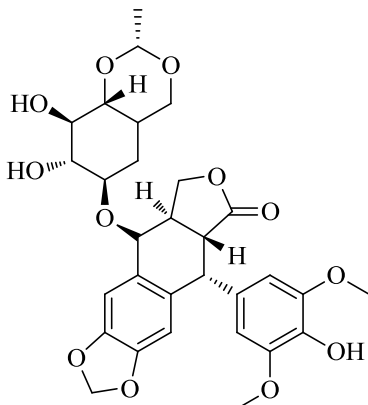
Eliptisin (5,11-dimethyl-6H-pirido[4,3-b]karbazol) (Şekil 5) ilk olarak 1959 yılında *Apocynaceae* ailesine ait *Ochrosia elliptica* bitkisinden izole edilmiş bitkisel bir alkaloiddir. Piridin halkasına bağlı karbazol iskeleti sayesinde hidrofobik yapı kazanan eliptisin molekülü antitümör etkinliği keşfedildikten sonra modifiye edilerek türevlendirilmiştir. Eliptisinler etkilerini dolaylı veya direkt olarak nükleik asitler üzerinden gösterirler. Güçlü bir interkalatör ajan olan eliptisin, doğrudan DNA interkalasyonu ile veya DNA polimeraz, RNA polimeraz ve çoğunlukla DNA topoizomeraz II gibi enzimlerle etkileşerek nükleik asit proseslerini engeller ve hücre büyümesini inhibe eder⁴⁴.



Şekil 5. Eliptisin molekülünün kimyasal yapısı⁴⁴

Etoposid

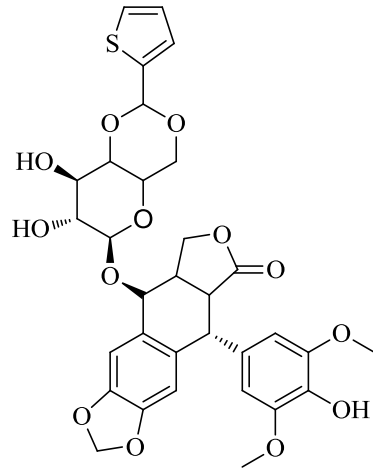
Etoposid (Şekil 6), 1980'lerden beri çeşitli maligniteleri tedavi etmek için kullanılan başarılı bir antikanser ajandır. Etoposid, Topoizomeraz II enzime doğrudan bağlanır ve Topoizomeraz II enziminin kırılmış DNA uçlarını tekrar birleştirme yeteneğini inhibe eder. Topoizomeraz II- DNA bölünme komplekslerinin stabilizasyonuna ve birikmesine yol açar. Bu yarımla komplekslerinin birikimi, transkripsiyon ve replikasyonu bloke etme ve DNA çift iplik kopuşlarının hızlı bir şekilde üretilmesi dahil olmak üzere hücre fonksiyonu üzerinde çok çeşitli zararlı etkilere sahiptir. Bu şekilde hücrenin apoptozuna neden olur⁴⁵.



Şekil 6. Etoposid molekülünün kimyasal yapısı⁴⁵

Tenipozit

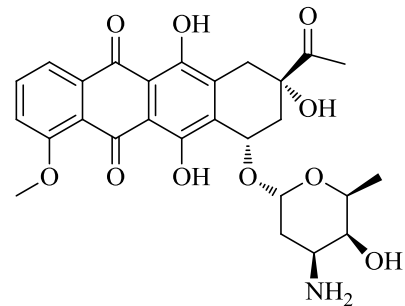
Tenipozit (Şekil 7) akut lenfositik lösemi, Hodgkin lenfoma, beyin tümörleri ve diğer kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılır. *Podophyllotoxin*'den türetilir ve *in vivo* kanser hücresi büyümesine karşı baskılayıcı aktiviteye sahiptir. Mekanik olarak tenipozit'in DNA hasarına neden olduğu ve bir topoizomeraz II inhibitörü olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Son zamanlarda tenipozitin insan P2X7'sini submikromolar konsantrasyonlarda güçlü ve spesifik olarak bloke ettiği ve bu da kemik kanserinde ağrı yönetimindeki potansiyel faydasının olabileceği koşunda araştırmalar devam etmektedir⁴⁶.



Şekil 7. Tenipozit molekülünün kimyasal yapısı⁴⁶

Daunorubisin

İlk keşfedilen antrasiklin Daunorubisindir (Şekil 8). Streptomyces bakterisinden izole edilmiştir ve halen akut lösemi tedavisinde intravenöz yoldan uygulanmaktadır. Kardiyotoksisite oranının az olması sebebiyle daha yaygın bir kullanıma sahiptir. DNA baz çiftleri arasında girmesiyle kompleks oluşturarak DNA'nın heliks yapısında bozulmaya neden olur. Lipozomal formülasyonu FDA tarafından 1996'da onaylanmıştır⁴⁷⁻⁴⁹.

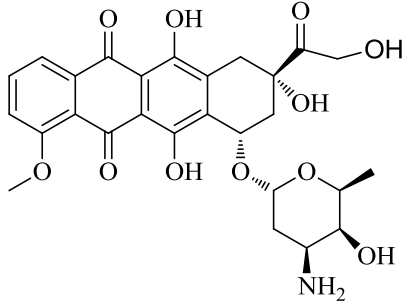


Şekil 8. Daunorubisin molekülünün kimyasal yapısı⁴⁷

Doksorubisin

Doksorubisin (Şekil 9) katı tümörlerin ve hematolojik malignitelerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan güçlü bir antrasiklin türevi bileşiktir. İlaç, topoizomeraz II'yi bağlar ve

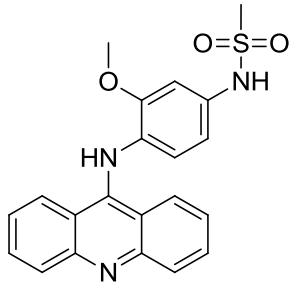
Topoizomeraz II: DNA kovalent komplekslerinin oluşumuna yol açar. Topoizomeraz II'den bağımsız olarak doksorubisin için bir dizi farklı etki mekanizması önerilmiş olsa da, doksorubisin ile tedavi, yüksek seviyelerde Topoizomeraz II: DNA kompleksleri ile ilişkili olduğu düşünülen DNA hasarının hızlı bir şekilde üretilmesi ile sonuçlanmaktadır⁵⁰⁻⁵⁴.



Şekil 9. Doksorubisin molekülünün kimyasal yapısı⁵⁰

Amsakrin

Amsakrin, akut miyeloid lösemi (AML), akut lenfoblastik lösemi ve akut promiyelositik lösemnin tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılan 9-aminoakridin (Şekil 10) iskeletine sahip bir Topoizomeraz II inhibitörüdür⁵⁵.



Şekil 10. Amsakrin molekülünün kimyasal yapısı⁵⁵

SONUÇ

Topoizomeraz enzimlerinin hücrenin çoğalmasında ve yaşamını devam ettirmesinde önemli rolleri olduğu açıktır. Yapılan çalışmalarla enzimlerin mekanizması günümüzde oldukça iyi şekilde aydınlatılmıştır. Ancak, hala hücre döngüsü boyunca aktivitesi için gereksinimler değiştiğinden topoizomeraz enzimlerinin fonksiyonunun nasıl farklı şekilde düzenlendiği hakkında öğrenilmesi gereken çok şey vardır. Günümüzde mevcut topoizomeraz inhibitörleri antikanser ajan olarak kullanılsa da var olan yan etkilerini azaltmak ve mevcut ilaç tedavilerinin etkinliğini artırmaya yönelik çalışmalar devam etmektedir.

Çıkar çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

KAYNAKLAR

1. Buck D. DNA topology. *Proceedings of Symposia in Applied Mathematics*, 2009; 66.
2. Gómez-Herreros F. DNA double strand breaks and chromosomal translocations induced by DNA topoisomerase II. *Front Mol Biosci*. 2019;6:141.
3. Ceramella J, Mariconda A, Iacopetta D, Saturnino C, Barbarossa A, Caruso A, et al. From coins to cancer therapy: Gold, silver and copper complexes targeting human topoisomerases. *Bioorg Med Chem Lett*. 2019;30 (3):126905.
4. Bax BD, Murshudov G, Maxwell A, Germe T. DNA topoisomerase inhibitors: trapping a DNA-cleaving machine in motion. *J Mol Biol*. 2019;431(18):3427-49.
5. Dehshahri A, Ashrafizadeh M, Afshar EG, Pardakhty A, Mandegary A, Mohammadinejad R, ve ark. Topoisomerase inhibitors: pharmacology and emerging nanoscale delivery systems. *Pharmacol Res*. 2019;151:104551
6. Wtorek K, Długosz A, Janecka A. Drug resistance in topoisomerase-targeting therapy. *Adv Hygiene Exp Med*. 2018;72:1073-83.
7. Shu B, Yu Q, Hu DX, Che T, Zhang SS, Li D. Synthesis and biological evaluation of novel indole-pyrazoline hybrid derivatives as potential topoisomerase I inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2020;30(4),126925.
8. Bjornsti MA, Kaufmann SH. Topoisomerases and cancer chemotherapy: recent advances and unanswered questions. *F1000Res*. 2019;8:1704.
9. Mei C, Lei L, Tan LM, Xu XJ, He BM, Luo C, Liu ZQ, et al. The role of single strand break repair pathways in cellular responses to camptothecin induced DNA damage. *Biomed Pharmacother*. 2020;125:109875.
10. Hsieh TC, Chao HH, Wu JM. Control of DNA structure and function by phytochemicals/DNA interaction: Resveratrol/piceatannol induces Cu²⁺-independent, cleavage of supercoiled plasmid DNA. *Free Radic Biol Med*. 2020;147:212-19.
11. Lee JF, Chang TY, Liu ZF, Lee NZ, Yeh YH, Chen YS, Lin MH, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of heterotetracyclic quinolinone derivatives as anticancer agents targeting topoisomerases. *Eur J Med Chem*. 2020;190:112074.
12. Lee SK, Wang W. Roles of topoisomerases in heterochromatin, aging, and diseases. *Genes*. 2019;10(11):884.
13. Liang X, Wu Q, Luan S, Yin Z, He C, Yin L, He M, et al. A comprehensive review of topoisomerase inhibitors as anticancer agents in the past decade. *Eur J Med Chem*. 2019;171:129-68.
14. Marinello J, Delcuratolo M, Capranico G. Anthracyclines as topoisomerase II poisons: from early studies to new perspectives. *Inter J Mol Sci*. 2018;19(11):3480.

15. Wang JC. DNA topoisomerases. *Annu Rev Biochem.* 1996;65:635-92.
16. Watt PM, Hickson ID. Structure and function of type II DNA topoisomerases. *Biochem J.* 1994;303:681-95.
17. Shu J, Cui D, Ma Y, Xiong X, Sun Y, Zhao, Y. SCF β -TrCP-mediated degradation of TOP2 β promotes cancer cell survival in response to chemotherapeutic drugs targeting topoisomerase II. *Oncogenesis.* 2020;9(2):1-14.
18. Pedatella S, Cerchia C, Manfra M, Cioce A, Bolognese A, Lavecchia, A. Antitumor agents 7. Synthesis, antiproliferative activity and molecular modeling of new 1-lysine-conjugated pyridophenoxazinones as potent DNA-binding ligands and topoisomerase II α inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2020;187:111960.
19. Cinelli MA. Topoisomerase 1B poisons: Over a half century of drug leads, clinical candidates, and serendipitous discoveries. *Med Res Rev.* 2019;39(4):1294-1337.
20. Skok Z, Zidar N, Kikelj D, Ilaš J. Dual inhibitors of human DNA topoisomerase II and other cancer-related targets. *J Med Chem.* 2019;63(3): 884-904.
21. Morimoto S, Tsuda M, Bunch H, Sasanuma H, Austin C, Takeda S. Type II DNA topoisomerases cause spontaneous double-strand breaks in genomic DNA. *Genes.* 2019;10(11), 868.
22. Schoeffler AJ, Berger JM. DNA topoisomerases: harnessing and constraining energy to govern chromosome topology. *Q Rev Biophys.* 2008;41(1):41-101.
23. Wang JC. Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective. *Nature.* 2002; 3:430-40.
24. Zakharenko A, Dyrkheeva N, Lavrik O. Dual DNA topoisomerase I and tyrosyl-DNA phosphodiesterase I inhibition for improved anticancer activity. *Med Res Rev.* 2019;39(4):1427-41.
25. Shu B, Yu Q, Hu DX, Che T, Zhang SS, Li D. Synthesis and biological evaluation of novel indole-pyrazoline hybrid derivatives as potential topoisomerase I inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2020;30(4):126925.
26. Esselen M, Barth SW. Food-borne topoisomerase inhibitors: risk or benefit. *Advances in Molecular Toxicology.* 2014;8:124-61.
27. Hong B, Meng G, Tan H, Li J, Kong K, Zhang Q. Synthesis and antitumor activity of pyrano [3,2-i]-fused camptothecin derivatives. *Med Chem Res.* 2019;28(6):884-891
28. Yang F, Wang L, Zhang L, Zhang Y, Mao L, Jiang H. Synthesis and biological activities of two camptothecin derivatives against *Spodoptera exigua*. *Sci Reports.* 2019;9(1): 1-8.
29. Tesaro C, Simonsen AK, Andersen MB, Petersen KW, Kristoffersen EL, Algreen L, Gromov P, et al. Topoisomerase I activity and sensitivity to camptothecin in breast cancer-derived cells: a comparative study. *Bmc Cancer.* 2019;19(1): 1-15.
30. Pommier Y, Liao Z, Meng L. Development of new topoisomerase I targeting compounds as candidate anticancer drugs. In: Andoh T, Editor. DNA Topoisomerases in Cancer Therapy Present and Future. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, p. 145-165; 2003.
31. Pommier Y, Cushman M. The indenoisoquinoline noncamptothecin topoisomerase I inhibitors: update and perspectives. *Mol Cancer Ther.* 2009;8:1008-14.
32. Pommier Y, Cushman M, Doroshow JH. Novel clinical indenoisoquinoline topoisomerase I inhibitors: a twist around the camptothecins. *Oncotarget.* 2018;9(99):37286.
33. Bailly C. Irinotecan: 25 years of cancer treatment. *Pharmacol Res.* 2019; 104398.
34. Xu Y, Her C. Inhibition of topoisomerase (DNA) I (TOP1): DNA damage repair and anticancer therapy. *Biomol.* 2015;5(3):1652-1670.
35. Kroep JR, Gelderblom H. Diflomotecan, a promising homocamptothecin for cancer therapy. *Expert Opin Investig Drugs.* 2009;18(1):69-75.
36. Saulnier MG, Balasubramanian BN, Long BH, Frennesson DB, Ruediger E, Zimmermann K, Eummer JT, et al. Discovery of a fluoroindolo[2,3-a]carbazole clinical candidate with broad spectrum antitumor activity in preclinical tumor models superior to the marketed oncology drug, CPT-11. *J Med Chem.* 2005;48:2258-2261.
37. Wendorff TJ, Schmidt BH, Heslop P, Austin CA, Berger JM. The structure of DNA-bound human topoisomerase II α : Conformational mechanisms for coordinating inter-subunit interactions with DNA cleavage. *J Mol Biol.* 2012;424(3-4):109-24.
38. Nitiss JL. DNA Topoisomerase II and its growing repertoire of 45 biological functions. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(5):327-37.
39. Keck JM, Conner JD, Wilso JT, Jiang X, Lisic EC, Deweese JE. Clarifying the mechanism of copper (II) α -(n)-heterocyclic thiosemicarbazone complexes on DNA Topoisomerase II α and II β . *Chem Res Toxicol.* 2019;32(10):2135-2143.
40. Burden DA, Osheroff N. Mechanism of action of eukaryotic topoisomerase II and drugs targeted to the enzyme. *Biochim Biophys Acta.* 1998;1400:139-54.
41. McClendon AK, Osheroff N. DNA topoisomerase II, genotoxicity, and cancer. *Mut Res - Fund M.* 2007;623(1-2):83-97.
42. Pendleton M, Lindsey RH, Felix CA, Grimwade D, Osheroff N. Topoisomerase II and leukemia. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;1310(1):98-110.
43. El-Metwally SA, Khalil AK, El-Sayed WM. Design, molecular modeling and anticancer evaluation of thieno [2,3-d] pyrimidine derivatives as inhibitors of topoisomerase II. *Bioorg Chem.* 2020;94:103492.

44. Grummitt AR, Harding MM, Anderberg PI, Rodger A. Carbohydrate derivatives of the antitumour alkaloid 9 hydroxyellipticine. *Eur J Org Chem.* 2003; (1):63-71.
45. Wise HC, Iyer GV, Moore K, Temkin SM, Gordon S, Aghajanian C, Grisham RN. Activity of M3814, an oral DNA-PK inhibitor, in combination with Topoisomerase II inhibitors in ovarian cancer models. *Sci Rep.* 2019;9:18882.
46. Yan J, Sun J, Zeng Z. Teniposide ameliorates bone cancer nociception in rats via the P2X7 receptor. *Inflammopharmacology.* 2018;26(2):395-402.
47. Niaki EF, Van Acker T, Imre L, Nánási P, Tarapcsák S, Bacsó Z, Szabó G. et al. interactions of cisplatin and Daunorubicin at the chromatin level. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-12.
48. Moiseeva AA, Artyushin OI, Anikina LV, Brel VK. Synthesis and antitumor activity of daunorubicin conjugates with of 3, 4-methylendioxybenzaldehyde. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2019;29(19):126617.
49. Mycek JM, Harvey RA, Champe PC. *Pharmacology* (2nd Ed). Philadelphia: Lippincott – Raven Publishers, 1997.
50. Gewirtz D. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochem Pharmacol.* 1999;57:727-41.
51. Tewey KM, Rowe TC, Yang L, Halligan BD, Liu LF. Adriamycin-induced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II. *Sci.* 1984;226:466-8.
52. Nitiss JL. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2009;9:338-50.
53. Kerrigan D, Pommier Y, Kohn KW. Protein-linked DNA strand breaks produced by etoposide and teniposide in mouse L1210 and human VA-13 and HT-29 cell lines: relationship to cytotoxicity. *NCI Monogr.* 1987;117-21.
54. Covey JM, Kohn KW, Kerrigan D, Tilchen EJ, Pommier Y. Topoisomerase II-mediated DNA damage produced by 4'-(9-acridinylamino)-methanesulfon-m-anisidide and related acridines in L1210 cells and isolated nuclei: relation to cytotoxicity. *Cancer Res.* 1988;48(4):860-65.
55. Zhang B, Dou Z, Xiong Z, Wang N, He S, Yan X, Jin H. Design, synthesis and biological research of novel N-phenylbenzamide-4-methylamine acridine derivatives as potential topoisomerase I/II and apoptosis-inducing agents. *Bioorg Med Chem Lett.* 2019;29(23):126714