

KAROLINA ŻÓŁTOWSKA^{A–D, F}, MARCIN SOBCZAK^{A, E, F}

Perspektywy wykorzystania polimerowych nośników epidoksorubicyny i cyklofosfamidu w terapii nowotworów

Perspectives of Use of Polymer Carriers of Epirubicin and Cyclophosphamide in Cancer Therapy

Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

A – koncepcja i projekt badania; B – gromadzenie i/lub zestawianie danych; C – analiza i interpretacja danych; D – napisanie artykułu; E – krytyczne zrecenzowanie artykułu; F – zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu; G – inne

Streszczenie

Choroby nowotworowe są ważnym problemem współczesnej medycyny klinicznej i farmakologii. Chemioterapia z wykorzystaniem leków cytostatycznych rozwinęła się w ciągu ostatnich 30 lat i jest obecnie główną metodą leczenia nowotworów rozsianych oraz metodą wspomagającą w terapii wielu innych nowotworów. Istotną grupą leków wykorzystywanych w terapii chorób nowotworowych są leki cytostatyczne, które mają szczególne znaczenie w leczeniu guzów litych i hematologicznych. Stosowanie leków cytostatycznych jest jednak ograniczone ze względu na ich toksyczne działanie na zdrowe komórki organizmu. Obecnie są prowadzone intensywne badania mające na celu zmniejszenie toksyczności cytostatyków, co jednocześnie przyczynia się do polepszenia ich właściwości terapeutycznych. W niniejszej publikacji przedstawiono dotychczasowe dokonania z tego zakresu na przykładzie dwóch szeroko wykorzystywanych leków przeciwnowotworowych: epirubicyny i cyklofosfamidu (**Polim. Med. 2014, 44, 1, 51–62**).

Słowa kluczowe: terapia nowotworów, cytostatyki, epidoksorubicyna, cyklofosfamid, terapia skojarzona, nośniki polimerowe epidoksorubicyny i cyklofosfamidu.

Abstract

Cancer diseases are an important problem of the contemporary clinical medicine and pharmacology. Chemotherapy using cytostatic drugs has developed in the last 30 years. At present, it is the main method of therapy of metastatic cancers. Cytostatics have an important role in the cancer therapy. They have particular meaning in the therapy of solid and hematological tumors. However, using cytostatic drugs is limited due to their toxic effects on healthy cells. In last years, the decrease of toxicity of cytostatic drugs and the increase of their therapeutic properties are intensively investigated. In this paper, the polymer carriers of cytostatic drugs (mainly epirubicin and cyclophosphamide) and examples of their applications were described (**Polim. Med. 2014, 44, 1, 51–62**).

Key words: chemotherapy, cytostatic drugs, epirubicin, cyclophosphamide, combined therapy, polymeric carriers of epirubicin and cyclophosphamide.

Choroby nowotworowe od lat są jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie, a chemioterapia jako metoda leczenia choroby nowotworowej za pomocą naturalnych i syntetycznych leków cytostatycznych rozwinęła się w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat i jest obecnie podstawową metodą w leczeniu nowotworów rozsianych [1]. Stosuje się ją także wspomagająco w le-

czeniu nowotworów ograniczonych, gdy pomimo zastosowanej radioterapii lub przeprowadzonego zabiegu chirurgicznego istnieje możliwość przerzutów [1, 2]. Działanie leków cytostatycznych polega na blokowaniu cyklu komórkowego, przez co uruchamiają za pomocą procesów biochemicznych genetycznie zaprogramowane mechanizmy śmierci komórkowej, czyli indukują

apoptozę [3]. Cytostatyki na ogół nie wywierają wybiórczego działania przeciwnowotworowego, atakując przede wszystkim szybko dzielące się komórki. Z tego względu nowotwory szybko rosnące, takie jak ostra białaczka limfatyczna u dzieci, nabłoniak kosmówkowy lub chłoniak Burkitta, łatwiej poddają się leczeniu cytostatycznym niż nowotwory wolno rosnące odporne na działanie cytostatyków [3].

Wobec nieswoistości działania i wąskiego współczynnika leczniczego cytostatyków chemioterapia nowotworów jest postępowaniem niezwykle trudnym i skomplikowanym, które wymaga zarówno znajomości właściwości biologicznych komórki nowotworowej, jak również uwzględnienia mechanizmów działania, farmakokinetyki, sposobu dawkowania, częstości i czasu stosowania leków przeciwnowotworowych [1].

Głównym celem w leczeniu chorób nowotworowych jest wyprowadzenie pacjenta z ewolucyjnej fazy choroby, a następnie utrzymanie uzyskanej poprawy, co pozwala przedłużyć życie i zachować sprawność chorego [1].

Geneza i przyczyny powstawania nowotworu

Nowotworem (*neoplasma*) według definicji Willisa nazywamy nieprawidłową tkankę, która rozrasta się nadmiernie i w sposób nieskoordynowany z tkankami właściwymi. Nadmierny rozrost jest spowodowany niepohamowaną proliferacją komórek, nieustającą nawet po wyeliminowaniu czynnika, który ją wywołał [1]. Należy przy tym zaznaczyć, że nadmiernej proliferacji towarzyszą zaburzenia różnicowania komórek, że jest ona bezcelowa dla organizmu i dla niego szkodliwa oraz że nowotwór do pewnego stopnia rośnie autonomicznie, chociaż jego wzrost jest uzależniony od dopływu krwi gospodarza i niekiedy od stymulacji hormonalnej. Nowotwór może powstać z każdej tkanki, której komórki zachowały zdolność do rozmnażania się. Inną cechą charakterystyczną nowotworów jest ich zdolność do tworzenia ognisk przerzutowych [1]. Nowotwory można podzielić na dwie grupy: niezłośliwe zwane też łagodnymi (*neoplasma benignum*) i złośliwe (*neoplasma malignum*).

Powstawanie nowotworu jest procesem wieloetapowym. Czynniki rakotwórcze (kancerogenne), które oddziałują na organizm zwykle nie wywołują bezpośrednio rozwoju nowotworu, a jedynie indukują powstanie endogennych czynników pośrednich, którymi są m.in. wolne rodniki tlenowe lub utlenowane przez nie związki. Dopiero one uszkadzają DNA i wywołują mutacje punktowe lub chromosomowe. Niektóre z tych mutacji prowadzą do transformacji nowotworowej dotkniętej nimi komórki i w rezultacie do powstania nowotworu [4].

W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat odsetek osób dotkniętych chorobami nowotworowymi znacznie się zwiększył. Wzrost ten jest niewątpliwie związany ze stresem, nieracjonalnym odżywianiem i zmniejszeniem aktywności fizycznej człowieka. Inne bezpośrednie czynniki zwiększające prawdopodobieństwo powstania nowotworu to dym papierosowy, spaliny, promieniowanie jonizujące, mykotoksyny.

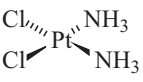
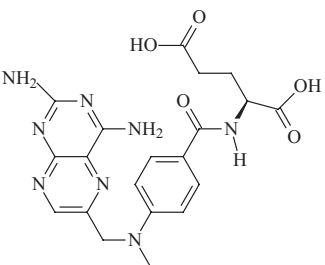
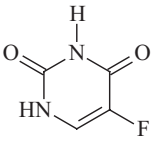
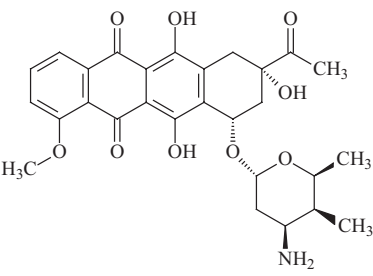
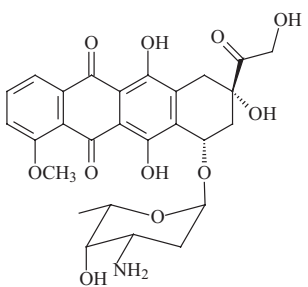
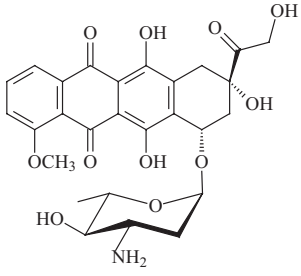
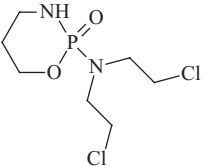
Ogólna charakterystyka leków cytostatycznych

Leki cytostatyczne to bardzo heterogenna grupa. Podstawowym kryterium ich podziału jest mechanizm działania. Do najlepiej poznanych i najpowszechniej stosowanych należą leki alkilujące, antymetabolity oraz preparaty pochodzenia naturalnego.

Leki alkilujące (chlorambucyl, cyklofosfamid, ifosfamid, estramustyna, chlormetyna, melfalan, karmustyna, lomustyna, streptozocyna, cisplatyna, karboplatyna, oksaliplatyna, busulfan, dekarbazyna, prokarbazyna, temozolomid) charakteryzują się mechanizmem działania polegającym na przeniesieniu grup alkilowych do DNA, RNA i białek [1]. Zjawisko to jest określane mianem alkilacji. Powoduje ona upośledzenie podstawowych procesów życiowych komórki nowotworowej, prowadząc w konsekwencji do jej śmierci. Leki alkilujące działają niezależnie od fazy cyklu komórkowego. Są stosowane zarówno w formie monoterapii, jak i terapii wielolekowej. Do leków alkilujących należy jedna z najważniejszych grup cytostatyków stosowanych w chemioterapii – pochodne platyny. Jej głównym przedstawicielem jest cisplatyna (*cis*-diaminodichloroplatyna) (tabela 1), będąca unikatowym nieorganicznym kompleksem zawierającym platynę [3]. Była pierwszym preparatem z grupy związków koordynacyjnych platyny(II) wprowadzonym do lecznictwa na początku lat 70. XX w. Cisplatyna jest skutecznym lekiem w terapii nowotworu jądra, pęcherza moczowego, jajnika, mięsaka kościopodobnego czy w nowotworach głowy i szyi, zwłaszcza w połączeniu z innymi chemioterapeutykami. Istotną rolę odgrywają również pochodne nitromocznika, które dobrze rozpuszczają się w tłuszczach, dzięki czemu łatwo przenikają do ośrodkowego układu nerwowego (o.u.n.) i dlatego są stosowane w nowotworach mózgu i naciekach białaczkowych o.u.n. [5].

Antymetabolity (metotreksat, pemetreksed, fludarabina, merkaptopuryna, tioguanina, 5-fluorouracyl, gemcytabina, cytarabina, kapecytabina) są to zmodyfikowane cząsteczki hamujące przemianę zasad purynowych lub pirymidynowych, z których jest zbudowany DNA i RNA [3]. Antymetabolity są lekami wyłącznie syntetycznymi, swoistymi dla fazy, aktywnymi przede wszystkim w fazie S cyklu komórkowego [5]. Wbudowanie ich do struktury DNA w miejsce właściwych

Tabela 1. Wzory chemiczne cytostatyków**Table 1.** The chemical structure of cytostatic drugs

Nazwa substancji leczniczej	Wzór chemiczny
Cisplatyna	
Metotreksat	
5-fluorouracyl	
Daunorubicyna	
Doksorubicyna	
Epirubicyna	
Cyklofosfamid	

cząsteczek zasad purynowych lub pirymidynowych (dochodzi do tego ze względu na podobieństwo w budowie chemicznej) lub hamowanie enzymów kluczowych dla przemian tych zasad blokuje dalszą syntezę DNA lub RNA i w ten sposób doprowadza do śmierci komórki [3]. Najlepsze rezultaty obserwuje się w leczeniu guzów szybko rosnących. Dużą popularność ma gemcytabina stosowana w raku płuca, pęcherza moczowego, trzustki, piersi, jajnika oraz fludarabina używana najczęściej w terapii przewlekłej białaczki limfatycznej i indolentnych chłoniakach nieziarniczych [5].

Innym ważnym i najczęściej stosowanym lekiem z tej grupy jest metotreksat (tabela 1) – w ostrej białaczce limfoblastycznej i szpikowej, nabłoniaku kosmówkowym, raku piersi, jajnika, płuca, w nowotworach litych głowy i szyi, nasieniaku, mięsaku kościopochodnym i w ciężkich postaciach łuszczyca oraz jako lek immunosupresyjny. Jest to lek bardzo toksyczny. Może uszkadzać szpik, błonę śluzową przewodu pokarmowego, powodując stany zapalne, nadżerki, nudności, wymioty, biegunkę, wywołuje także zapalenie błon śluzowych, wypadanie włosów, niekiedy zapalenie lub marskość wątroby. Ciężkość tych objawów zależy głównie od czasu ekspozycji na lek. W dużych dawkach metotreksat może być nefrotoksyczny, a podany dokanałowo neurotoksyczny. Bardzo ważne i mające duże znaczenie kliniczne są interakcje metotreksatu z innymi jednocześnie stosowanymi lekami. Leki o charakterze słabych kwasów, jak: salicylany, sulfonamidy, probenecid, cefalotyna, penicylina, hamują konkurencyjnie wydalanie metotreksatu przez kanalikuli nerkowe. Salicylany, sulfonamidy, fenylobutazon, fenytoina wypierają metotreksat z połączeń z białkami krwi, przez co zwiększają jego toksyczność. Podczas terapii łącznej z wymienionymi lekami jest konieczne zmniejszenie dawki metotreksatu. Gryzeofulwina przyspiesza metabolizm metotreksatu, osłabiając jego działanie [1].

Na szczególną uwagę zasługuje również 5-fluorouracyl (tabela 1), który ulega wewnątrzkomórkowemu przekształceniu w postać biologicznie czynną – fosfodeoksyrybonukleotyd (5-dUMP) oraz trifosforan fluorourydyny (FUTP). 5-dUMP blokuje syntezę tymidylową, enzym katalizujący metylację kwasu deoksyuridyłowego do kwasu tymidylowego, niezbędnego składnika DNA. Prowadzi to do zahamowania biosyntezy DNA i śmierci komórki. Jednocześnie przez wbudowanie FUTP do kwasu rybonukleinowego i zablokowanie fosfatazy uracylowej zostaje zaburzone przekształcenie uracylu i powstaje RNA o nieprawidłowej budowie. Lek jest stosowany w terapii raka przewodu pokarmowego (żołądka, jelita grubego), trzustki, wątroby, piersi, jajnika, macicy, gruczołu krokowego, pęcherza moczowego, w nowotworach nosogardzieli i zatok. Fluorouracyl uszkadza szpik oraz błonę śluzową przewodu pokarmowego. W dużych dawkach może uszkadzać o.u.n. Przed jego toksycznym działaniem może chronić podanie tymidyny [1].

Do leków pochodzenia naturalnego należą antybiotyki przeciwnowotworowe (doksorubicyna, epirubicyna, idarubicyna, daunorubicyna, bleomycyna, daktynomycyna, mitomycyna, mitoksantron), które stanowią wypadkową kilku mechanizmów. Niszczą strukturę DNA, generują wolne rodniki oraz mogą bezpośrednio uszkadzać błonę komórki nowotworowej [5]. Są substancjami swoistymi dla cyklu komórkowego, z wyjątkiem bleomycyny, działającej głównie na fazę G1 [1].

Największe znaczenie w tej grupie mają związki antracyklinowe (antracykliny I i II generacji). Po raz pierwszy wyizolowano je około 50 lat temu z grzybów *Streptomyces percerius* oraz *Streptomyces caesi*. Wspólną cechą ich budowy jest obecność wiązania między pierścieniem glikozydowym a daunozaminą. Należą do leków przeciwnowotworowych cyklozależnych, fazowo specyficznych i mają złożony mechanizm działania [6, 7]. Polega on na wiązaniu się z podwójną helisą DNA, rozrywaniu i stabilizacji fragmentacji podwójnej helisy DNA przez zahamowanie aktywności topoizomerazy II i w następstwie na zahamowaniu syntezy DNA i RNA. Tworzenie wolnych rodników przez antybiotyki antracyklinowe jest odpowiedzialne zarówno za ich działanie przeciwnowotworowe, jak i kardiotoxyczne. Reagują ponadto bezpośrednio z błoną komórkową, uszkadzając jej funkcje [1].

Antybiotyki antracyklinowe reprezentują jedną z ważniejszych grup leków przeciwnowotworowych. Są aktywne przeciwko różnym nowotworom hematologicznym i guzom litym [8], a ich aktywność jako proleków wielkocząsteczkowych jest badana już od ponad dwóch dekad (tabela 2) [8–35]. Ich skuteczność kliniczna jest jednak często ograniczona przez mały indeks terapeutyczny prowadzący do kardiotoxyczności i supresji szpiku [8]. Kardiotoxycznemu działaniu antracyklin można zapobiec, podając deksrazoksan (Cardioxane), który powoduje chelatowanie wewnątrzkomórkowego żelaza, dzięki czemu zapobiega tworzeniu się kompleksów antracyklin z żelazem, co w następstwie powoduje zahamowanie tworzenia się wolnych rodników tlenu. Chroni to przed uszkodzeniem mięśnia sercowego, nie osłabiając działania przeciwnowotworowego antracyklin [1].

Antracykliny mają bardzo silną pozycję w terapii raka piersi. Zastosowanie ich w leczeniu przedoperacyjnym umożliwia uzyskanie obiektywnej odpowiedzi u 60–80% pacjentów, z czego u około 10% chorych udaje się otrzymać całkowitą patologiczną remisję. Stosowane są również w uogólnionej postaci choroby [6]. Do najczęściej stosowanych antracyklin należą: daunorubicyna, doksorubicyna i epirubicyna.

Daunorubicyna (tabela 1) jest wytwarzana ze *Streptomyces peucetius*. Po podaniu dożylnym szybko przenika do tkanek, metabolizowana w wątrobie do daunorubicynolu, który jest także aktywnym związkiem. Jest jednym z najskuteczniejszych leków stosowanych w ostrej białaczce limfoblastycznej i szpikowej [1, 36].

Z kolei doksorubicyna (tabela 1) w porównaniu z daunorubicyną ma szersze spektrum działania. Znajduje zastosowanie nie tylko w leczeniu ostrej białaczki, ale również w różnych nowotworach narządowych, często w terapii wielolekowej [1, 36]. Do niepożądanych objawów, które towarzyszą leczeniu doksorubicyną niezależnych od dawki należą: uszkodzenie szpiku, nudności, wymioty, biegunka, zapalenie jamy ustnej, gorączka, wyłysienie, działanie kardiotoxyczne w postaci zaburzeń rytmu i przewodzenia. W miarę zwiększania dawki do 550 mg/m² powierzchni ciała i po jej przekroczeniu zwiększa się niebezpieczeństwo wystąpienia kardiomiopatii zastoinowej [1].

Inhibitory topoizomerazy są alkaloidami roślinnymi, niekiedy dodatkowo modyfikowanymi chemicznie [3]. Topoizomerazy są enzymami wewnątrzjądrowymi odpowiedzialnymi za prawidłową replikację materiału genetycznego komórki nowotworowej [5]. Zaliczamy do nich: etopozyd i tenipozyd, alkaloidy mądryzka (*Podophyllum*), inhibitory topoizomerazy II oraz topotekan i irinotekan, alkaloidy *Camptotheca*, inhibitory topoizomerazy I [3].

Inhibitory wrzeciona kariokinetycznego (winblastyna, winkrystyna, winorelbina, paklitaksel, docetaksel, topotekan, irinotekan) zaburzają podział jądra komórkowego poprzedzający podział całej komórki, wskutek czego następuje śmierć komórki nowotworowej [5].

Enzymy, np. L-asparaginaza – do celów leczniczych pozyskuje się z hodowli szczepów bakterii. Jej mechanizm działania polega na wykorzystywaniu różnic metabolicznych między komórkami nowotworowymi a prawidłowymi [5].

Oporność komórek nowotworowych oraz leki cytostatyczne stosowane w chemioterapii wielolekowej

Oporność wielolekowa (ang. *multidrug resistance* – MDR) jest jedną z najważniejszych przyczyn niepowodzeń chemioterapii przeciwnowotworowej. Jest to jednoczesna niewrażliwość komórek nowotworowych na kilka różnych niezwiązanych ze sobą czynników terapeutycznych, która rozwija się w odpowiedzi na zastosowanie pojedynczego leku cytostatycznego. Niektóre z nowotworów wykazują oporność pierwotną na stosowane leki, inne, początkowo wrażliwe, nabywają cechę lekooporności podczas chemioterapii [37]. Podstawowym mechanizmem wywołującym zjawisko oporności jest nadekspresja transporterów błonowych (w błonie plazmatycznej komórek opornych), z których większość należy do nadrodziny transporterów ABC (*ATP-binding cassette family*), do której zalicza się białka zawierające domenę wiążącą ATP [37]. Jest ona jedną z najliczniejszych klas białek występujących zarówno u organizmów pro-, jak i eukariotycznych. U tych ostatnich najważniejszym spośród białek trans-

Tabela 2. Działanie terapeutyczne wielkocząsteczkowych proleków przeciwnowotworowych**Table 2.** Therapeutic activity of macromolecular anticancer prodrugs

Lek	Nośnik	Łącznik/Metoda przyłączenia	Rezultat
Daunorubicyna	dekstran	ultenianie nadjodanem	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> oraz <i>in vitro</i> [9], zmniejszona kardiotoksyczność [10]
	DNA	kompleksowanie	zmniejszenie kardiotoksyczności [11]
	poli-D-lizyna	karbodiimid	aktywność nowotworowa zależna od pH zależnego uwalniania leku [12]
	HPMA	aktywny ester	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> oraz <i>in vitro</i> [13–15]
	melanotropina	ultenianie leku nadjodanem	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vitro</i> [16]
Doksorubicyna	albuminy	aldehyd glutarowy	obejście oporności wielolekowej <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i> [17, 18]
	DNA	kompleksowanie	zmniejszenie kardiotoksyczności [11]
	HPMA	aktywny ester	wydłużenie cyrkulacji w osoczu [19], zmniejszenie kardiotoksyczności [20]
	kopolimer blokowy PGE-kwas poliasparaginowy	karbodiimid	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> [21]
	przeciwciało monoklonalne (przeciw czerniakowi)	karbodiimid	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> oraz <i>in vitro</i> [22, 23]
Metotreksat	albuminy	karbodiimid	Zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> i <i>in vitro</i> [24–26]
	poli-L-lizyna	karbodiimid	obejście lekooporności [27–29]
	przeciwciało monoklonalne (receptor przeciw transferynie)	aktywny ester	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> i <i>in vitro</i> [30]
5-Fluorouracyl	kwas polijabłkowy	karbodiimid	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> [31]
	polimer winylowy	polimeryzacja	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> [32]
Cisplatyna	dekstran karboksymetylowy	kompleksowanie	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> i <i>in vitro</i> [33,34]
	kwas poli-L-glutaminowy	kompleksowanie	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vivo</i> oraz <i>in vitro</i> [35]
	przeciwciała poliklonalne	kompleksowanie plus karbodiimid (pośrednio dekstran karboksymetylowy)	zwiększona aktywność przeciwnowotworowa <i>in vitro</i> [34]

portowych jest glikoproteina P (Pgp) [37], której nadekspresja w komórkach nowotworowych może być czynnikiem związanym z nieskutecznością chemioterapii. Podłożem genetycznym oporności komórek nowotworowych na cytostatyki jest utrata zdolności do indukcji apoptozy.

Szeroko rozumiana lekooporność może być następstwem różnorodnych uwarunkowań:

- farmakologicznych – zmiany dostępności biologicznej leku, zmiany metabolizmu, nieprawidłowe dawkowanie,

- komórkowych – zmiany szybkości wnikania leków do komórki i ich transportu cytoplazma–jadro komórkowe, zmiany ilości i powinowactwa enzymów docelowych dla cytostatyków, aktywacja lub inaktywacja związków farmakologicznych w komórkach nowotworowych, zdolności komórek nowotworowych do zaburzania regulacji procesu apoptozy, zmiany w procesach naprawy DNA, możliwości aktywnego usuwania cytostatyków z komórki przez białka transportowe w błonie [37].

W celu zniesienia oporności wielolekowej w nowotworach stosuje się m.in. „chemouczulacze” (modula-

tory MDR) – związki, które wiążą się z transporterem MDR, blokując w ten sposób jego działanie, zmniejszając wyrzut leków z komórki, przez co komórka nowotworowa staje się bardziej wrażliwa na działanie leku. Do związków tych należą m.in. blokery kanałów wapniowych, peptydy hydrofobowe, inhibitory kinazy białkowej, pochodne hormonów i flawonoidy, a ostatnio także siRNA. Ich zastosowanie pozwala zmniejszyć lekooporność w modelach eksperymentalnych, w badaniach klinicznych nie wszystkie z nich przynoszą jednak zadowalające rezultaty, głównie ze względu na brak wybiórczości i działania niepożądane [37].

Zwiększenie oporności komórek nowotworowych na stosowane leki oraz ich silne działania niepożądane, a także potrzeba zwiększenia skuteczności stosowanych terapii powoduje, że w praktyce klinicznej stosuje się najczęściej schematy terapii wielolekowej. Polega ona na podawaniu jednocześnie co najmniej dwóch związków o odmiennym mechanizmie działania. Wynika to z tego, że różne leki działają na różne typy komórek nowotworowych oraz na inne fazy cyklu komórkowego. Leki dobiera się w zależności od fenotypu oraz zaawansowania nowotworu. Przykładem takich schematów mogą być: CMF (cyklofosamid, metotreksat, 5-fluorouracyl) oraz CMFVP (cyklofosamid, metotreksat, 5-fluorouracyl, winkrystyna, prednizon) stosowane w chemioterapii raka piersi. W fazie badań klinicznych znajduje się również połączenie leków: paklitaksel, 5-fluorouracyl, kwas foliowy i cisplatyna o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu zaawansowanego raka żołądka [2, 38].

Oprócz terapii wielolekowej stosuje się również połączenie leków cytostatycznych z hormonoterapią, a także z przeciwciałami monoklonalnymi. Trastuzumab w połączeniu z tradycyjną chemioterapią ma zastosowanie w leczeniu HER2-dodatniego raka piersi, a bewacizumab w skojarzeniu z karboplatiną lub 5-fluorouracylem jest stosowany odpowiednio w leczeniu nowotworów płuc lub przerzutowego raka jelita [2, 38].

Jednym z ciekawszych badań przeprowadzonych w ostatnich latach przez polskich naukowców było sprawdzenie skuteczności karboplatyny podawanej dootrzewnowo w dawce 30–40% dawki dożylniej łącznie ze schematem chemioterapii dożylniej złożonej z karboplatyny, cyklofosfamidu i epirubicyny w leczeniu zaawansowanej postaci raka jelita. Dawka karboplatyny podawanej dootrzewnowo była częścią dawki całkowitej. Postawiono tezę, że podawanie dootrzewnowe karboplatyny może poprawić skuteczność schematu klasycznego chemioterapii bez zwiększenia jej toksyczności. Badanie prowadzono na grupie 29 chorych z rozpoznaniem gruczolakiem jajnika. Obserwację prowadzono przez 4 lata. Po III lub IV kursach chemioterapii pacjentki były kwalifikowane do operacji *second look* (ponowna ocena) lub *third look* (kolejna weryfikacja) w celu patomorfologicznej oceny stanu

chorych po chemioterapii. Za całkowitą remisję uznawano nieobecność nowotworu w preparatach histopatologicznych w materiale z operacji *second* i *third look* oraz brak odchyień w badaniach obrazowych przez co najmniej trzy miesiące. Za częściową remisję uznano co najmniej 50% zmniejszenie się rozmiarów guza w operacji lub/i w badaniach obrazowych oraz niepojawienie się zmian w ciągu 4 tygodni. Stabilizację choroby określono natomiast jako obecność nowych ognisk lub brak rozwoju zmian już istniejących w ciągu 8 tygodni. Za postęp choroby przyjęto pojawienie się nowych zmian oraz zwiększenie się ich o 25%. Oceniono czas trwania remisji częściowych i całkowitych oraz stabilizacji choroby. Uzyskano 58% remisji całkowitych, 45% remisji częściowych i 7% stabilizacji choroby. Dziesięć remisji całkowitych i jedną częściową uzyskano u pacjentek z chorobą resztkową mniejszą niż 2 cm, a cztery remisje całkowite i dwanaście częściowych u pacjentek z chorobą resztkową większą niż 2 cm. Stabilizację choroby obserwowano u dwóch chorych z chorobą resztkową większą niż 2 cm.

Uzyskane wyniki potwierdziły przypuszczenie o skuteczności chemioterapii dootrzewnowej karboplatyną w chorobie resztkowej mniejszej niż 2 cm. Stwierdzono również, że podana chemioterapia umożliwiła resekcję pozostałej części guza w operacjach typu *second look*. W związku z tym schemat chemioterapii złożony z epirubicyny, cyklofosfamidu i karboplatyny podanej dootrzewnowo i dożylnie uznano za wartościowy w leczeniu zaawansowanego raka jajnika [39].

Innym przykładem terapii skojarzonej jest stosowanie połączenia 5-fluorouracylu, doksorubicyny, cyklofosfamidu (FAC) oraz docetakselu, doksorubicyny, cyklofosfamidu (TAC) w leczeniu raka piersi. W kilku ośrodkach naukowych (m.in. Hiszpanii, Polsce i Niemczech) prowadzono intensywne badania mające na celu określenie toksyczności FAC i TAC oraz ich wpływu na zmianę jakości życia pacjentek cierpiących na nowotwór piersi z dużym ryzykiem przerzutów do węzłów chłonnych. Po włączeniu do leczenia pierwszych 237 pacjentów protokół badawczy został zmieniony w celu dołączenia pierwotnej profilaktyki G-CSF (czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów) (PPG) (podawanego z TAC) ze względu na dużą częstotliwość występowania neutropenii gorączkowej. Dodanie PPG do TAC znacząco zmniejszyło częstość występowania neutropenii, niedokrwistości 2–4 stopnia, osłabienia, braku apetytu, chorób paznokci, zapalenia jamy ustnej, bóli mięśniowych i zaburzeń smaku. Jakość życia pacjentów pogarszała się podczas chemioterapii bardziej w przypadku leczenia TAC niż FAC, ale powracała do wartości wyjściowych po jej zakończeniu. Dodanie PPG do TAC znacznie zmniejszyło odsetek pacjentów z istotnym klinicznie pogorszeniem się stanu zdrowia, zwłaszcza na końcu chemioterapii (64 wobec 46%, $p < 0,03$) [40, 41].

Znaczenie nośników polimerowych w terapii nowotworów

Współczesna technologia farmaceutyczna dąży do otrzymywania nowych postaci leków, które będą umożliwiały uzyskanie odpowiedniego stężenia terapeutycznego substancji leczniczej oraz pozwalały na precyzyjny transport substancji aktywnej do wybranych miejsc w organizmie. W związku z tym w ostatnim czasie są prowadzone intensywne prace badawcze i technologiczne nad innowacyjnymi systemami dostarczania leków (DDS). Jak wiadomo, systemy DDS mają na celu uwolnienie takiej ilości substancji leczniczej, by uzyskać efekt terapeutyczny utrzymujący się przez dłuższy czas w organizmie, nie wywołując przy tym skutków ubocznych. Możliwe jest to dzięki zastosowaniu w DDS różnego rodzaju nośników polimerowych, które pozwalają na spowolnione uwalnianie substancji aktywnej lub zmodyfikowanie procesu uwalniania [42, 43]. Istnieje kilka powodów dążenia do uzyskania opóźnionego działania leku:

- wrażliwość substancji leczniczej na działanie kwaśnego środowiska soku żołądkowego,
- zmniejszenie częstości podawania leku,
- unikanie zbyt dużego stężenia substancji aktywnej w osoczu i zbyt długich okresów, kiedy jej stężenie jest zbyt małe.

Współczesne badania nad nowymi nośnikami substancji leczniczych koncentrują się głównie na otrzymywaniu polimerów biodegradowalnych i bioresorbowalnych. Pozwalają one zwiększyć aktywność substancji

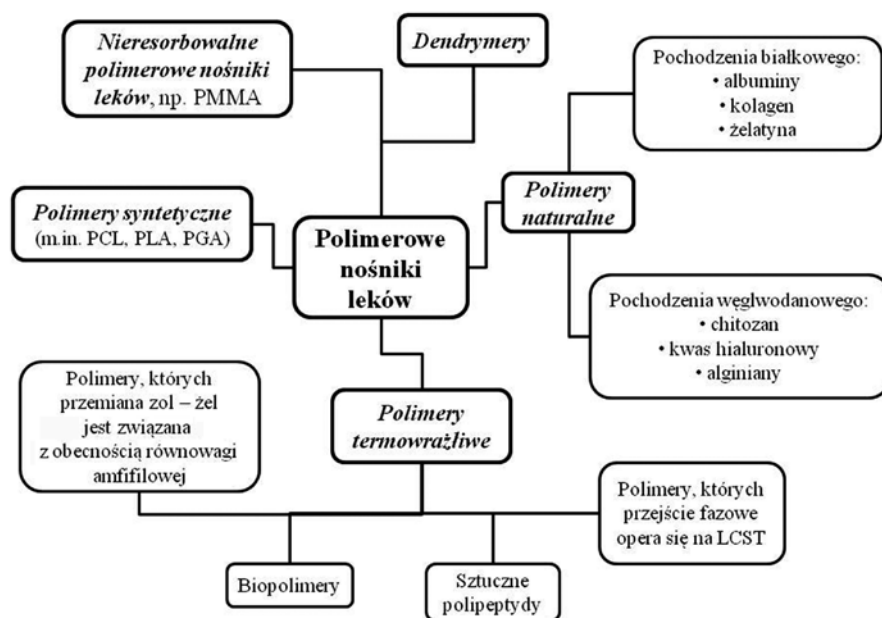
leczniczej, przedłużają jej działanie oraz zmniejszają skutki uboczne [42].

Zainteresowanie polimerami jako nośnikami leków wynika z tego, że substancje lecznicze najczęściej charakteryzują się słabą rozpuszczalnością w wodzie, uwalnianie substancji leczniczej może być kontrolowane, substancje lecznicze wykazujące toksyczność wymagają zabezpieczenia przed zbyt szybkim uwolnieniem, materiał nośnika zapewnia ochronę przed niekontrolowaną hydrolizą lub degradacją enzymatyczną substancji leczniczej [42].

Do chwili obecnej zbadano skuteczność terapeutyczną wielu typów DDS. Zwykle substancja lecznicza jest wiązana kowalencyjnie z nośnikiem, tworząc koniugat nośnik–substancja aktywna. W tabeli 3 przedstawiono przykłady koniugatów będące w fazie badań klinicznych [44].

Pierwszym preparatem nośnik–substancja lecznicza testowanym klinicznie był koniugat HPMA-doksorubicyna. Badania farmakokinetyczne potwierdziły wydłużony biologiczny okres półtrwania doksorubicyny podanej w postaci skoniugowanej. Poza tym wykazano, że maksymalna tolerowana dawka doksorubicyny w tej formie jest 4 razy większa niż wolnego leku. Co ciekawe, mimo zwiększonej dawki nie zaobserwowano kardiotoxyczności, która jest częstym skutkiem ubocznym stosowania doksorubicyny. Odpowiedź na leczenie uzyskano również u pacjentów opornych na chemioterapię [44].

Skutecznym koniugatem nośnik–substancja lecznicza okazał się również koniugat paklitakselu i polimeru kwasu glutaminowego (XYOTAX). We wstępnych badaniach klinicznych odpowiedź uzyskano u dużej licz-



Ryc. 1. Podział polimerowych nośników substancji leczniczych

Fig. 1. Classification of polymeric carriers of drugs

Tabela 3. Aktualny stan kliniczny niektórych koniugatów nośnik–substancja lecznicza**Table 3.** The current clinical status of some polymer carrier-drug conjugates

Terapeutyk	Lek	Nośnik	Stan	Zastosowanie
PK1; FCE28068	doksorubicyna	HPMA	faza II	rak piersi, płuc i inne
PK2, FCE28069	doksorubicyna-galaktozoamina	HPMA	faza I/II	rak wątrobowokomórkowy, inne
PNU166945	paklitaksel	HPMA	faza I zakończona	różne
PNU166148	kamptotecyna	HPMA	faza I zakończona	różne
CT-2103, XYOTAX	paklitaksel	PGA	faza III	niedrobnokomórkowy rak płuc oraz rak jajnika
NK911	doksorubicyna i kwas asparaginowy	PEG	faza I zakończona	różne
MTX-HSA	metotreksat	albumina	faza II	różne

by pacjentów z różnymi typami nowotworów. Wyniki badań klinicznych III fazy wykazały, że XYOTAX jest mniej toksyczny i bardziej skuteczny w leczeniu raka niedrobnokomórkowego płuca, co jest szczególnie ważne dla pacjentów będących w złym stanie [44].

Epirubicyna, rodzaje nośników i wielkocząsteczkowych proleków epirubicyny

Epidoksorubicyna, wytwarzana przez bakterie *Streptomyces*, należy do drugiej generacji antybiotyków antracyklinowych. Charakteryzuje się szerokim spektrum działania przeciwnowotworowego [45]. Jest epimerem doksorubicyny, a różnica dotyczy położenia grupy wodorotlenowej w pozycji 4'-aminosacharydu (tabela 1) [36, 45]. Struktura ta jest odpowiedzialna za mniejszą kardiotoxyczność epidoksorubicyny w porównaniu z doksorubicyną, dlatego może być stosowana w większych dawkach [45, 46]. Na małą kardiotoxyczność wpływa również szybsza eliminacja z organizmu i mniejsza kumulacja w mięśniu sercowym [6, 45, 47]. Działa przede wszystkim w fazie S cyklu komórkowego. Tworzy wiązania między nićmi DNA, przez co hamuje replikację oraz transkrypcję. Indukując zaś powstawanie wolnych rodników, powoduje uszkodzenie DNA, lipidów błony komórkowej oraz mitochondriów. Stosuje się ją w terapii m.in.: raka piersi, dróg moczowo-płciowych, tarczycy, płuc, żołądka [6, 48]. W chemioterapii raka piersi jest podawana w skojarzeniu (75–100 mg/m²) z cyklofosfamidem oraz 5-fluorouracyłem, co 21 dni [6].

Coraz bardziej popularne stają się połączenia leków przeciwnowotworowych z polimerami, co zwiększa m.in. ich skuteczność terapeutyczną. Jednym z syntetyzowanych i przebadanych połączeń epirubicyny (EPI) ze związkami wielkocząsteczkowymi była jej koniugacja z glikolem polioksyetylenowym (PEG) wraz z tlenkiem azotu(II). Otrzymano trzy koniugaty: (1) EPI-PEG-

-(COOH)₄, (2) EPI-PEG-(NO)₄, (3) EPI-PEG-(NO)₈. Połączenie NO i EPI w jednym nośniku wykazuje dwie zalety: NO chroni kardiomiocyty przed apoptozą wywołaną doksorubicyną, a zatem może zapobiegać kardiomiopatii powodowanej przez antracykliny; jak również zwiększa aktywność przeciwnowotworową antracyklin *in vitro*. Wstępne badania na szczurach potwierdziły, że koniugat EPI-PEG-(NO)₈ był zdolny do indukcji zwiększonej apoptozy w komórkach Caco-2, redukując przy tym toksyczność EPI w komórkach serca, a także 95% zmniejszenie nowotworu w komórkach Caco-2 i SKOV-2 [47]. Koniugaty 2 i 3 wykazały ponadto dużo lepszy profil biologiczny *in vitro* w porównaniu z koniugatem 1 oraz wolną EPI. Okazały się bardziej aktywne w stosunku do komórek nowotworowych, wykazując przy tym mniejszą toksyczność w stosunku do komórek endotelialnych i kardiomiocytów [48].

W innym projekcie realizowanym przez zespół Canala [49] syntetyzowano wiele koniugatów typu PEG-epirubicyna z różną zawartością kwasu foliowego w łańcuchu polimeru w celu zbadania wpływu ilości kwasu foliowego na cytotoxyczność, wychwyt komórkowy oraz wewnątrzkomórkową lokalizację nośnika. Modyfikacja z użyciem kwasu foliowego miała na celu kierowanie przygotowanego koniugatu do komórek nowotworowych wykazujących na swojej powierzchni nadekspresję receptora dla kwasu foliowego. Heterobifunkcyjny HO-PEG-COOH został użyty jako nośnik polimerowy. Wykazano, że obecność selektywnych jednostek kierujących oraz ich zawartość w strukturze koniugatu polimer-substancja lecznicza może mieć istotne znaczenie w kierowaniu nośnika do komórek nowotworu i określaniu jego cytotoxyczności. Aby dojść do takiego wniosku, zsyntetyzowano dwie serie koniugatu PEG-epirubicyna ukierunkowane i nieukierunkowane na wybrane komórki nowotworu z użyciem kwasu foliowego jako elementu kierującego. Koniugaty te wykazały odrębne zachowanie podczas badań biologicznych na trzech liniach komórkowych różniących się ekspresją receptora folianu. Cytotoxyczność koniugatów ukierun-

kowanych była zależna zarówno od liczby jednostek kwasu foliowego na łańcuchu PEG, jak i poziomu ekspresji receptora kwasu foliowego. Natomiast cytotoksyczność koniugatów nieukierunkowanych, chociaż wykazywały większą aktywność, była niemal na tym samym poziomie we wszystkich trzech liniach komórkowych niezależnie od ilości kwasu foliowego. Rolę kwasu foliowego i jego zawartość w wewnątrzkomórkowym transporcie przedstawiono wyraźnie za pomocą komórek FR ++, gdzie cząsteczki koniugatów o dużej zawartości kwasu foliowego wykazały wzmożony wychwyt komórkowy, co potwierdziły także badania konfokalne. Autorzy projektu oczekują, że rola kwasu foliowego może okazać się jeszcze bardziej istotna w analizie *in vivo*. Silne interakcje i internalizacja koniugatów ukierunkowanych w liniach komórkowych z nadekspresją receptora folianu sugerują, że koniugaty te powinny gromadzić się w nowotworze szybciej niż ich nieukierunkowane odpowiedniki. Uzyskane wyniki podkreślają znaczenie ugrupowania kierującego w projektowaniu zaawansowanych koniugatów polimer–substancja lecznicza. Prawidłowo skonstruowane będą w stanie selektywnie dotrzeć do żądanej populacji komórek nowotworowych, oszczędzając przy tym zdrowie pacjenta [49].

Należy również wspomnieć o publikacjach Greco et al., w których przedstawiono wyniki badań dotyczących kwasu polisialowego (PSA) jako małowymagającego nośnika leków przeciwnowotworowych. Zsyntetyzowano koniugaty typu PSA-epirubicyna i porównano ich skuteczność z innymi, znanymi wcześniej koniugatami epirubicyny, do otrzymania których wykorzystano N-(2-hydroksypropylo)metakrylamid (HPMA), kopolimery glikolu etylenowego i kwasu glutaminowego. Oceny biologicznej otrzymanych koniugatów dokonywano, wykorzystując linie komórkowe raka sutka MCF-7 oraz linie MCF-7/DX odporne na antracykliny. Przeprowadzona analiza wykazała największą aktywność koniugatu PSA-epirubicyna (30–40% komórek ulegało apoptozie w obu liniach komórkowych). Stwierdzono ponadto, że po 5 godz. inkubacji koniugatu PSA-epirubicyna z ekstraktem lizosomalnym uwalnianie substancji leczniczej wynosiło ok. 40%. Wykazano również w toku badań *in vivo*, że wszystkie otrzymane koniugaty charakteryzowały się znacznie dłuższym okresem półtrwania w porównaniu z wolną epirubicyną [50].

Cyklofosfamid

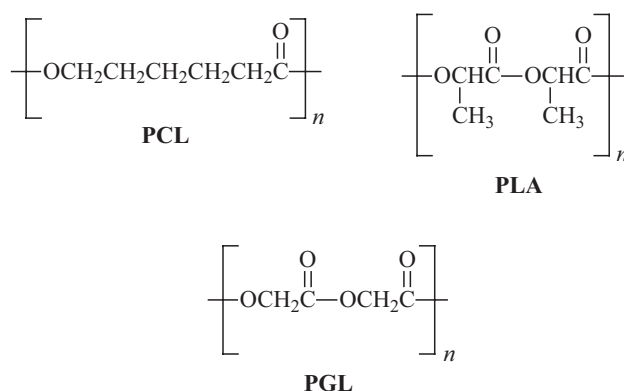
– obecne zastosowanie i nowe perspektywy

Jednym z najczęściej wykorzystywanych cytostatyków z grupy leków alkilujących jest cyklofosfamid (cykliczny ester N,N-bis-(β-chloro-etylo)-N'-3-hydroksypropyloxy kwasu diaminofosforowego) (tabela 1) [36]. Ma on spośród nich najszerszy zakres

działania przeciwnowotworowego oraz charakteryzuje się stosunkowo małą toksycznością [51]. Jest cytostatykiem fazowo niespecyficznym, swoistym dla cyklu komórkowego [52]. Stosowany w terapii chłoniaków, białaczek, raka oskrzeli, żołądka, płuc, sutka, jajnika, jądra. Używany także w transplantologii oraz w leczeniu niektórych chorób o podłożu autoimmunologicznym. Znanych jest kilka mechanizmów działania cyklofosfamid. Jednym z nich jest nasilenie odpowiedzi przeciwnowotworowej w wyniku nieswoistego blokowania subpopulacji supresorowych/regulatorowych limfocytów T (CD4+ CD25+) zarówno w modelu *in vitro*, jak i *in vivo* [51, 53]. Poprzez syntezę i uwalnianie interleukiny 4, interleukiny 10 oraz TGF-beta, komórki T CD4+ CD25+ są odpowiedzialne za powstanie stanu immunosupresji i utratę nadzoru nad komórkami rakowymi przez układ immunologiczny [53, 54]. Aktywność biomodulacyjna cyklofosfamid ma szczególne znaczenie w kombinowanej terapii czerniaka złośliwego, w której użyto go razem z genetycznie modyfikowanym genem dla IL-2 komórek linii ustalonej mysiego czerniaka B-16 i małymi dawkami IL-1. Spowodowało to wydłużenie czasu przeżycia zwierząt oraz ograniczyło odległe przerzuty czerniaka w płucach [53, 55].

Obecnie autorzy niniejszego artykułu prowadzą prace badawcze nad otrzymaniem biodegradowalnych i bioresorbowlanych matryc polimerowych tego leku. Jako surowce są wykorzystywane poli(ε-kaprolakton) (PCL), polilaktyd (PLA), poliglikolid (PGL) oraz ko- i terpolimery ε-kaprolaktanu, *rac*-laktydu i glikolidu (ryc. 2).

Zadaniem otrzymanych nośników jest kontrolowana kinetyka uwalniania wyżej wymienionej substancji leczniczej. Wspomniany kierunek badań nad polimerowymi nośnikami cyklofosfamid wydaje się bardzo perspektywiczny i daje nadzieję na uzyskanie skutecznych systemów terapeutycznych. Wstępne wyniki badań własnych wskazują na bardzo dużą kontrolę uwalniania cyklofosfamid z wyżej wspomnianych matryc.



Ryc. 2. Biodegradowalne i bioresorbowlalne matryce cyklofosfamid

Fig. 2. Biodegradable and bioresorbable matrices of cyclophosphamide

Podsumowanie

Metody leczenia chorób nowotworowych znacznie zmieniły się w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat. Wynika to z potrzeby poszukiwania nowych, skuteczniejszych środków terapeutycznych o ściśle ukierunkowanej aktywności przeciwnowotworowej. W związku z tym dużo uwagi poświęca się badaniom nad selektywnym dostarczaniem leków i ich aktywacją w miejscu docelowego działania. Takie właściwości mają m.in. nośniki polimerowe. Zwiększa się przeświadczenie, że przyniosą one znaczący postęp w leczeniu wielu chorób, w tym również nowotworowych. Potwierdza to rosnąca

liczba koniugatów nośnik–białko (Adagen, Oncaspar, Neulasta) oraz obszerne badania kliniczne koniugatów nośnik–substancja lecznicza (tabela 3). Koniugaty typu polimer–substancja lecznicza mają zdolność wybiórczego działania na komórki nowotworowe, co zwiększa skuteczność chemioterapii przy jednoczesnym zmniejszeniu jej działań ubocznych. Ma to szczególne znaczenie w przypadku długotrwałego leczenia. W ostatnich latach obserwuje się intensyfikację prac nad polimerowymi nośnikami epirubicyny i cyklofosfamidu. Należy się spodziewać, że w niedługiej perspektywie pojawią się nowe innowacyjne postacie leku zawierające wspomniane cytostatyki.

Piśmiennictwo

- [1] Janiec W., Krupińska J.: Farmakodynamika. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002, 856.
- [2] Śliwińska-Hill U., Trocha J.: Najnowsze terapie przeciwnowotworowe. Postępy Farmacji, www.postepy-farmacji.pl.
- [3] Jędrzejczak W., Deptała A.: Podstawy terapii systemowej nowotworów. Onkologia w praktyce. Red.: Deptała A. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2006, 120–123.
- [4] Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W.: Immunologia. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006, 522.
- [5] http://www.zwrotnikraka.pl/cytostatyki_leki_cytostatyczne-98.
- [6] Głogowska I., Dubiański R., Skrzypczyk A., Pieńkowski T.: Rola antracyklin w leczeniu zaawansowanego raka piersi – miejsce niepegylowanej doksorubicyny liposomalnej, Onkologia w Praktyce Klinicznej 2010, supl A, A8–A17.
- [7] Hortobagyi G.N.: Anthracyclines in the treatment of cancer. Drugs 1997, 54, suppl. 4, 1–7.
- [8] Takakura Y., Hashida M.: Macromolecular drug carrier systems in cancer chemotherapy: macromolecular prodrugs. Critical Rev. Oncol./Hematol. 1995, 18, 207–231.
- [9] Bernstein A., Hurwitz E., Maron R., Arnon R., Sela M., Wilchek M.: Higher antitumor efficacy of daunomycin when linked to dextran: in vivo and in vitro studies. J. Natl. Cancer Inst. 1978, 60, 379–384.
- [10] Levi-Schaffer F., Bernstein A., Meshorer A., Arnon R.: Reduced toxicity of daunorubicin by conjugation to dextran. Cancer Treat. Rep. 1982, 66, 107–114.
- [11] Langslet A., Oye I., Lie S.O.: Decreased cardiac toxicity of adriamycin and daunorubicin when bound to DNA. Acta Pharmacol. Toxicol. 1974, 35, 379–385.
- [12] Shen W.C., Ryser H.J.-P.: Cis-aconityl spacer between daunomycin and macromolecular carriers: a model of pH-sensitive linkage releasing drug from a lysosomotropic conjugate. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1981, 102, 1048–1054.
- [13] Duncan R., Kopeckowa-Rejmanowa P., Strohalm J., Hume I.C., Lloyd J.B., Kopecek J.: Anticancer agents coupled to N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymers. I. Evaluation of daunomycin and puromycin conjugates in vitro. Br. J. Cancer 1987, 55, 165–175.
- [14] Duncan R., Kopeckowa-Rejmanowa P., Strohalm J., Hume I.C., Lloyd J.B., Kopecek J.: Anticancer agents coupled to N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymers. II. Evaluation of daunomycin conjugates in vitro against L1210 leukemia. Br. J. Cancer 1988, 55, 147–156.
- [15] Cassidy J., Duncan R., Morrison G.J., Strohalm J., Kopecek J., Kaye S.B.: Activity of N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymers containing daunomycin against a rat tumor model. Biochem. Pharmacol. 1989, 38, 875–879.
- [16] Varga J.M., Asato N., Lande S., Lemer A.B.: Melanotropindaunomycin conjugate shows receptor-mediated cytotoxicity in cultured murine melanoma cells. Nature 1977, 26, 556–558.
- [17] Ohkawa K., Hatano T., Tsukada Y., Matsuda M.: Chemotherapeutic efficacy of the protein-doxorubicin conjugates on multidrug resistant rat hepatoma cell line in vitro. Br. J. Cancer 1993, 67, 274–278.
- [18] Ohkawa K., Hatano T., Yamada K., Joh K., Takada K., Tsukada Y., Matsuda M.: Bovine serum albumin-doxorubicin conjugate overcomes multidrug resistance in a rat hepatoma. Cancer Res. 1993, 53, 4238–4242.
- [19] Seymour L.W., Ulbrich K., Strohalm J., Kopecek J., Duncan R.: The pharmacokinetics of polymer-bound adriamycin. Biochem. Pharmacol. 1990, 39, 1125–1131.
- [20] Yeung T.K., Hopewell J.W., Simmonds R.H. et al.: Reduced cardiotoxicity of doxorubicin given in the form of N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide conjugates: an experimental study in the rat. Cancer Chemother. Pharmacol. 1991, 29, 105–111.
- [21] Yokoyama M., Miyauchi M., Yamada N. et al.: Characterization and anticancer activity of the micelle-forming polymeric anticancer drug adriamycinconjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. Cancer Res. 1990, 50, 1693–1700.
- [22] Yang H.M., Reisfeld R.A.: Doxorubicin conjugated with a monoclonal antibody directed to a human melanoma-associated proteoglycan suppresses the growth of established tumor xenografts in nude mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988, 85, 1189–1193.

- [23] **Yang H.M., Reisfeld R.A.:** Pharmacokinetics and mechanism of action of a doxorubicin-mono-clonal antibody conjugate directed to a human melanoma proteoglycan. *J. Natl. Cancer Inst.* 1988, 80, 1154–1159.
- [24] **Chu B.C.F., Whiteley J.M.:** High molecular weight derivatives of methotrexate as chemotherapeutic agent. *Mol. Pharmacol.* 1977, 13, 80–88.
- [25] **Chu B.C.F., Whiteley J.M.:** The interaction of carrier-bound methotrexate with L1210 cells. *Mol. Pharmacol.* 1980, 17, 382–387.
- [26] **Chu B.C.F., Howell S.P.:** Differential toxicity of carrier-bound methotrexate toward human lymphocytes, marrow and tumor cells. *Biochem. Pharmacol.* 1981, 30, 2545–2552.
- [27] **Shen W.C., Ryser H.J.P.:** Conjugation of methotrexate to poly(L-lysine) increases drug transport and overcomes drug resistance in cultured cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1978, 75, 3867–3870.
- [28] **Shen W.C., Ryser H.J.P.:** Poly(L-lysine) and poly(D-lysine) conjugates of methotrexate: different inhibitory effect on drug resistant cells. *Mol. Pharmacol.* 1979, 16, 614–622.
- [29] **Ryser H.J.P., Mandel R., Hacopian A., Shen W.C.:** Methotrexatepoly(lysine) as a selective agent for mutants of Chinese hamster ovary cells defective in endocytosis. *J. Cell Physiol.* 1985, 135, 277–284.
- [30] **Kanellos J., Pietersz G.A., McKenzie I.F.C.:** Studies of methotrexate-mono-clonal antibody conjugates for immunotherapy. *J. Natl. Cancer Inst.* 1985, 75, 319–332.
- [31] **Ouchi T., Fujino A., Tanaka K., Banba T.:** Synthesis and antitumor activity of conjugates of poly(o-malic acid) and 5-fluorouracils bound via ester, amide or carbamoyl bonds. I. Controlled Release. 1990, 12, 143–153.
- [32] **Ouchi T., Hagita K., Inoi T., Kawashima T., Tashiro T.:** Synthesis and antitumor activity of vinyl polymers containing 5-fluorouracils attached via carbamoyl bonds to organosilicon groups. *J. Controlled Release* 1988, 8, 141–150.
- [33] **Schechther B., Pauzner R., Amon R., Wilcheck M.:** Cis-platinum(II) complexes of carboxymethyl-dextran as potential antitumor agents. I. Preparation and characterization. *Cancer Biochem. Biophys.* 1986, 8, 277–287.
- [34] **Schechther B., Pauzner R., Wilcheck M., Amon R.:** Cis-platinum(II) complexes of carboxymethyl-dextran as potential antitumor agents. II. In vitro and in vivo activity. *Cancer Biochem. Biophys.* 1986, 8, 289–298.
- [35] **Schechther B., Wilcheck M., Smon R.:** Increased therapeutic efficacy of cis-platinum complexes of poly-L-glutamic acid against a murine carcinoma. *Int. J. Cancer* 1987, 39, 409–413.
- [36] **Gorczyca M.:** Chemioterapia chorób nowotworowych. Leki przeciwnowotworowe. *Chemia leków*. Red.: Zejc A., Gorczyca M., Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2004, 728–758.
- [37] **Lenart K., Szyda A., Kiełbasiński M., Duś D., Podolak-Dawidziak M.:** Kliniczne skutki oporności wielolekowej w nowotworach. *Onkol. Prakt. Klin.* 2005, 1, 18–26.
- [38] **Greco F., Vicent M.J.:** Combination therapy: Opportunities and challenges for polymer-drug conjugates as anticancer nanomedicines. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2009, 61, 1203–1213.
- [39] **Kaliński A., Staszewski A., Szczylik C., Wcisło G., Korniluk J. et al.:** Chemioterapia ogólnoustrojowa złożona z cyklofosfamidu, epirubicyny, karboplatyny w połączeniu z chemioterapią dootrzewnową z karboplatiną w terapii raka jajnika. *Współcz. Onkol.* 1993, 3(5), 203–207.
- [40] **Martin M., Lluch A., Segui M.A., Ruiz A., Ramos M.:** Toxicity and health-related quality of life in breast cancer patients receiving adjuvant docetaxel, doxorubicin, cyclophosphamide (TAC) or 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide (FAC): impact of adding primary prophylactic granulocyte-colony stimulating factor to the TAC regimen. *Ann. Oncol.* 2006, 17, 1205–1212.
- [41] **Montella L., Addeo R., Guarrasi R., Cennamo G., Faiola V., Capasso E., Caraglia M., Del Prete S. et al.:** Once-per-cycle pegfilgrastim in breast cancer patients treated with docetaxel/epidoxorubicin/cyclophosphamide. *Eur. J. Cancer Care* 2010, 19, 200–204.
- [42] **Jaworska P., Trusek-Hołownia A.:** Wykorzystanie polimerowych membran do dozowania substancji. *Inż. Apar. Chem.* 2012, 54 (4), 131–132.
- [43] **Moritz M., Geszke-Moritz M.:** Zastosowanie modyfikowanych krzemionkowych materiałów mezoporowatych jako nośników w systemach dostarczania substancji leczniczych. 2012, 68 (6), 433–438.
- [44] **Nevozhay D., Kańska U., Budzyńska R., Boratyński J.:** Współczesny stan badań nad koniugatami i innymi systemami dostarczania leków w leczeniu schorzeń nowotworowych i innych jednostek chorobowych. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2007, 61, 350–360.
- [45] **Sobczak A., Jelińska A., Leśniewska M., Firlej A., Oszczapowicz I.:** Stability of epidoxorubicin in solid state. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2011, 54, 869–872.
- [46] **Arcamone F.:** New developments in antitumor anthracyclines. *Pharmacol. Ther.* 1997, 76, 117–124.
- [47] **Deptała A., Omyła-Staszewska J., Staszewska-Skurczyńska M.:** Kardiotoksyczność antracyklin i kardioprotekcja. *Fakty i mity. Wsp. Onkol.* 2004, 8, 107–111.
- [48] **Pasut G., Greco F., Mero A., Mendichi R., Fante C., Green R.J., Veronese F.M.:** Polymer – drug conjugates for combination anticancer therapy: investigating the mechanism of action. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 6499–6502.
- [49] **Canal F., Vicent M.J., Pasut G., Schiavon O.:** Relevance of folic acid/polymer ratio in targeted PEG-epirubicin conjugates. *J. Contr. Rel.* 2010, 146, 388–399.
- [50] **Greco F., Arif I., Botting R., Fante C., Quintieri L., Clementi C., Schiavon O., Pasut G.:** Polysialic acid as a drug carrier: Evaluation of a new polysialic acid-epirubicin conjugate and its comparison against established drug carriers. *Polym. Chem.* 2013, 4, 1600–1609.
- [51] **Mitchell M.S.:** Immunotherapy as part of combinations for the treatment of cancer. *Int. Immunopharmacol* 2003, 3 (8), 1051–1059.
- [52] <http://pl.wikipedia.org/wiki/Cyklofosamid>

- [53] Mackiewicz A., Iżycki D., Baksalary-Iżycka K., Gryśka K., Łaciak M., Nawrocki S.: Wpływ cyklofosfamidu na tumorigenność komórek czerniaka modyfikowanych genetycznie IL-6 i Hyper IL-6. *Współcz. Onkol.* 2004, 8 (3), 124–131.
- [54] Mitchell M.S.: Combinations of anticancer drugs and immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.* 2003, 52 (11), 686–692.
- [55] Cao X., Zhang W., Wan T., et al.: Enhanced antitumor immune responses of IL-2 gene-modified tumor vaccine by combination with IL-1 and low dose cyclophosphamide. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 1999, 18 (2), 173–179.

Adres do korespondencji:

Karolina Żółtowska
Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Banacha 1
02-097 Warszawa
tel.: (+48) 22 572 07 55
faks: (+48) 22 572 07 84
e-mail: karolina_zoltowska@tlen.pl

Konflikt interesów: nie występuje.

Praca wpłynęła do Redakcji: 15.12.2013 r.
Po recenzji: 8.03.2014 r.
Zaakceptowano do druku: 4.04.2014 r.

Received: 15.12.2013
Revised: 8.03.2014
Accepted: 4.04.2014