

# Polimerowe i oligomerowe nośniki doksorubicyny

Krzysztof Kik<sup>1</sup>, Felicja Lwow<sup>2</sup>, Leszek Szmigiero<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Chemii Biomedycznej, Zakład Farmakologii Molekularnej  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

<sup>2</sup> Katedra Medycyny Sportowej, Zakład Promocji Zdrowia  
Akademii Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

---

## Streszczenie

Doksorubicyna oraz inne pochodne antracykliny odgrywają istotną rolę w leczeniu wielu chorób nowotworowych. Niestety, kliniczna skuteczność tej klasy leków ograniczona jest przez kumulatywną kardiotoxycznosc, która występuje u znaczącego odsetka pacjentów w zakresie kumulatywnej dawki 450-600 mg/m<sup>2</sup>. Z tego powodu opracowano kilka strategii zmierzających do obniżenia kardiotoxycznego działania doksorubicyny i jej analogów.

Jedną z możliwych dróg, która może doprowadzić do poprawienia przeciwnowotworowej selektywności doksorubicyny, jest opracowanie polimerowych i oligomerowych nośników, które mogą transportować cząsteczki leku do komórek nowotworowych bardziej wydajnie i specyficznie. Syntetyczne polimery stają się coraz bardziej interesujące jako czynniki terapeutyczne, ponieważ w porównaniu ze związkami niskocząsteczkowymi wykazują lepsze właściwości farmakokinetyczne.

Obecnie rozwijana jest nowa klasa wielofunkcyjnych polimerów, które potrafią „ukryć” biologicznie aktywne związki, takie jak leki cytotoxyczne, do czasu osiągnięcia przez nie miejsc docelowych, gdzie zostają uwolnione do wykonania działania terapeutycznego. Słuszność koncepcji wykorzystania polimerowych nośników doksorubicyny jest potwierdzona przez wzrastającą liczbę doniesień klinicznych wykazujących, że użycie rozpuszczalnych w wodzie polimerów oraz stabilizowanych polimerami liposomów jako czynników transportujących, daje lepsze wyniki terapeutyczne w porównaniu z konwencjonalną metodą podawania wolnego leku.

W artykule tym przedstawiamy najbardziej obiecujące strategie zmierzające do opracowania lepszych farmakologicznych form antracyklin, opartych o polimerowe lub

oligomerowe nośniki. Omówione zostały: 1) liposomowe nośniki doxorubicyny pokrywane glikolem polietylenowym; 2) prekursory leku aktywowane pozakomórkowo, które są konjugatami doxorubicyny z peptydami; 3) doxorubicyna w otoczce wysokopolimeryzowanych glikozaminoglikanów; 4) doxorubicyna skonjugowana z kopolimerem N-(2-hydroksypropylo)-metakrylamidu (HPMA).

**Słowa kluczowe:** doxorubicyna, liposomowe nośniki pokrywane PEG, konjugaty doxorubicyny

---

## Polimer and oligomer based doxorubicin carriers

### Summary

Doxorubicin and other anthracycline derivatives play an important role in the treatment of many malignant diseases. Unfortunately, clinical effectiveness of this class of drugs is limited by cumulative cardiotoxicity which occurs in significant percentage of patients at cumulative dose in the range 450-600 mg/m<sup>2</sup>. Therefore, several strategies have been developed to reduce cardiotoxicity of doxorubicin and its analogues.

One of the possible ways leading to the improvement of anticancer selectivity of doxorubicin is the design of polymer and oligomer carriers which may transport drug molecules more efficiently and more specifically. Synthetic polymers are of increasing interest as therapeutic agents owing to their enhanced pharmacokinetic profiles relative to small molecule drugs.

Currently a new class of multifunctional polymers is being prepared that can mask biologically active compounds, such as cytotoxic agents, until they reach target sites, but which can then release the agent *in situ* to effect the therapy. The legitimacy of the development of polymer based doxorubicine carriers is supported by the growing number of clinical reports indicating that the use of hydrophilic polymers or polymer coated liposomes as a platform for delivery of the drug results in better therapeutic effects than the free drug.

In this article we present the most promising strategies directed at the development of improved anthracycline drugs formulations based of polymer and oligomer carriers. We

review: 1) polyethylenoglycol-coated (“pegylated”) liposomal doxorubicin; 2) extracellular tumor-activated prodrugs which are conjugates of doxorubicin with peptides; 3) doxorubicin coated by highly polymerised glycosoaminoglycans; 4) conjugates of doxorubicin with copolymer of *N*-(2-hydroxypropyl)methacrylamide.

**Key words:** doxorubicine, polyethylenoglycol-coated liposomal doxorubicin, doxorubicin conjugates

---

## WSTĘP

Należąca do klasy antracyklin doksorubicyna (DOX), dzięki swojej wysokiej aktywności przeciwnowotworowej jest stosowana w leczeniu wielu chorób nowotworowych. Wysoka kardiotoxyczność antracyklin stała się jednakże głównym czynnikiem ograniczającym ich kliniczne zastosowanie. Istnieje kilka koncepcji, mających na celu zwiększenie efektywności terapii antracyklinami poprzez redukcję ich kardiotoxycznego działania. Jedną z nich jest wykorzystanie polimerowych nośników, stanowiących specyficzny środek transportu leków do komórek nowotworowych.

Leki przeciwnowotworowe podawane drogą wlewów dożylnych lub doustnie, wykazują pewną selektywność działania względem komórek nowotworowych, jednak rozprawdane są po całym organizmie, przez co nie każda z molekuł wypełnia swoją założoną funkcję, lecz wiele z nich wywołuje niepożądane działania uboczne, z których w przypadku antracyklin, najbardziej szkodliwym jest toksyczne działanie na komórki mięśnia sercowego [1]. Zastosowanie polimerowego nośnika, stanowiącego często formę otoczki, pozwala w pewnej mierze zniwelować szkodliwe działanie leku, zapobiegając jego przenikaniu do zdrowych tkanek organizmu oraz zwiększając jego efektywność [2, 3]. Taki sposób transportu leku, bądź innej substancji, jest o wiele bezpieczniejszy dla organizmu oraz chroni substancję przed szybką degradacją metaboliczną.

## LIPOSOMY I GLIKOL POLIETYLENOWY (PEG)

Obecnie najbardziej powszechnym nośnikiem leków cytostatycznych z grupy antracyklin są sferyczne, zamknięte struktury zbudowane z bimolekularnej warstwy lipidowej, określane terminem „liposomy”. Podstawą jednostką strukturalną liposomu są amfipatyczne fosfolipidy. Podczas hydratacji tworzą one pęcherzyki liposomowe, umożliwiając tym samym „zamknięcie” leków w ich wewnętrznej, wypełnionej fazą wodną przestrzeni.

Stosowanie liposomów jako czynników transportujących leki niesie za sobą pewne ograniczenia. Wynikają one w głównej mierze z nietrwałości liposomów, których dystrybucja ograniczana jest przez układ siateczkowo-sródbłonowy - RES (ang. *Reticulo-Endothelial System*), który je rozpoznaje i usuwa z układu krążenia [4, 5]. Kolejnym czynnikiem ograniczającym efektywność form liposomowych jest ich „przeciekanie”, skutkujące uwalnianiem leku do krwiobiegu oraz trudności z pokonywaniem bariery krew-tkanka [6, 7].

Przełomem w badaniach zmierzających do opracowania bardziej trwałych form liposomowych okazało się użycie syntetycznego polimeru – hydrofilowego glikolu polietylenowego (PEG – ang. *Polyethylene Glycol*) [8]. Użyto go do opłaszczenia liposomów, uzyskując w ten sposób molekuly o znacznie większym czasie półtrwania. Ułożenie przestrzenne głównych grup PEG stanowi barierę ochronną liposomu, zapobiegając jego interakcjom ze składnikami krwi oraz układem RES komórek [9, 10].

Opracowanie bardziej stabilnej „otoczki” zaowocowało wprowadzeniem do użytku klinicznego liposomowej formy doksorubicyny powlekanej glikolem polietylenowym – PEG-DOX (ang. *Pegylated Doxorubicin*), występującej pod handlową nazwą - Doxil® (USA) /Caelyx® (UE). Doxil® jest lekiem zawierającym doksorubicynę zamkniętą w liposomowych nośnikach STEALTH®. Liposomy te składają się z trzech komponentów lipidowych: całkowicie uwodorowanej fosfatydylocholiny z soji (HSPC), cholesterolu oraz karbaminianowego konjugatu distearynylo-fosfatydyloetanoloaminy (DSPE) z metoksyłową formą glikolu polietylenowego 2000 (MPEG), występujących w odpowiednim stosunku molowym równym 56:38:5 [11] (Ryc. 1).

Warto zauważyć, iż wszystkie z tych składników, z wyjątkiem MPEG, występują w diecie i są naturalnymi komponentami błony komórkowej. Syntetyczne, hydrofilowe łańcuchy MPEG należą do klasy polieterów, składają się z 45 jednostek monomerowych i posiadają masę 2000 Da. Reszty MPEG rozciągają się od wewnętrznej do zewnętrznej fazy wodnej i

zakotwiczone są w liposomie za pośrednictwem reszt etanoloaminowych grup DSPE, z którymi są kowalencyjnie związane [11] (Ryc. 2).

Do chwili obecnej przeprowadzono szereg badań klinicznych nad PEG-DOX. Dotyczyły one głównie terapii nowotworu piersi, jajnika, szpiczaka mnogiego, ziarnicy złośliwej, raka płuc, nowotworów układu pokarmowego. Duża skuteczność PEG-DOX zaowocowała m.in. wprowadzeniem go do użytku klinicznego w USA, gdzie stosowany jest obecnie w terapii raka jajnika – stanowiąc drugą „linię obrony” przed tym nowotworem [12]. Lek ten został również zatwierdzony w Unii Europejskiej, gdzie wykorzystywany jest w leczeniu raka piersi u pacjentek z podwyższonym ryzykiem wystąpienia kardiomiopatii poantracyklinowej.

Ważną cechą PEG-DOX jest znacznie obniżona kardiotoxyczność, która została potwierdzona m.in. w dwóch prowadzonych na szeroką skalę badaniach [13, 14]. Oba badania kliniczne dowiodły, iż opisywana forma doksorubicyny jest znacznie lepiej tolerowana przez organizm, umożliwiając tym samym zastosowanie większych dawek terapeutycznych, bez ryzyka wystąpienia powikłań ze strony układu krążenia. Zanotowano znaczny spadek kardiotoxyczności w stosunku do tradycyjnej formy doksorubicyny [13-15].

### **PREKURSORY LEKÓW AKTYWOWANE POZAKOMÓRKOWO - ETAP (ANG. EXTRACELLULARY TUMOR-ACTIVATED PRODRUGS)**

Do oligomerowych nośników leków przeciwnowotworowych, można zaliczyć konjugaty antracyklin z łańcuchami peptydowymi o określonej sekwencji aminokwasowej. Sekwencje te wymagają aktywacji proteolitycznej przez specyficzne dla siebie peptydazy, gdyż ich formy pierwotne nie są zdolne do penetracji komórek nowotworu. Przykładem prekursora leku korzystającego z peptydowego nośnika jest L-377,202, będący konjugatem DOX oraz przyłączonej kowalencyjnie reszty *N*-glutarylo-[4-hydroxyprolylo]-Ala-Ser-cyklaheksaglicylo-Glu-Ser-Leucyna. Prekursor ten ulega aktywacji przez specyficzny antygen PSA (ang. *Prostate Specific Antigen*) o aktywności proteazowej, stając się tym samym lekiem specyficznym dla nowotworu prostaty. Reszta peptydowa L-377,202 hydrolizowana jest przez PSA, uwalniając pierwotną postać DOX lub DOX-Leu. Ta ostatnia posiada zdolność wnikania do komórek, aczkolwiek DOX-Leu ulega dodatkowo w komórkach nowotworu dalszej hydrolizie do DOX [16, 17].

Przeprowadzone nad L-377,202 badania *in vitro* wykazały, iż lek ten jest kilkakrotnie bardziej efektywny w leczeniu nowotworu prostaty niż konwencjonalna doksorubicyna wykazując dużą selektywność oraz znacznie mniejszą kardiotoxycznosc [18, 19] (ryc. 3)

Innym obiecującym związkiem należącym do grupy leków aktywowanych pozakomórkowo jest CPI-0004Na (*N*-bursztynylo- $\beta$ -Ala-L-Leu-L-Ala-L-Leu-DOX). Związek ten nie ulega hydrolizie we krwi oraz nie posiada zdolności wchodzenia do komórek. Podobnie jak L-377,202 lek ten ulega aktywacji przez peptydazy charakterystyczne dla komórek określonego nowotworu. Jego aktywacja polega na hydrolizie do *N*-(L-Leu-DOX). Produkt hydrolizy posiada zdolność przechodzenia przez błony komórek nowotworowych, podobnie jak opisywany L-377,202. Badania *in vitro* przeprowadzone na myszach wykazały, że CPI-0004Na jest również znacznie mniej toksyczny w stosunku do komórek prawidłowych aniżeli doksorubicyna, wykazując jednocześnie znacznie większą aktywność przeciwnowotworową [20, 21] (ryc. 4).

## **NOŚNIKI DOKSORUBICYNY WYKORZYSTUJĄCE GLIKOZAMINOGLIKANY**

Kolejnym przykładem zastosowania polimerów w celu dostarczania antracyklin do komórek nowotworowych, jest użycie długołańcuchowych glikozaminoglikanów. W celu opracowania nośnika dla doksorubicyny wykorzystano siarczan dermatanu 435 (DS 435). Glikozaminoglikan ten tworzy bardzo stabilną otoczkę dla antracykliny. Dzieje się tak za sprawą dodatnio naładowanej uprotonowanej grupy aminowej doksorubicyny, która oddziałuje z ładunkami ujemnymi reszt siarczanowych dermatanu [22]. DS 435 jest heksaminoglikanem o masie 22,2 kDa, wykazującym bardzo małe właściwości antykoagulacyjne i fibrynolityczne. Dzięki zastosowaniu specyficznych fragmentów oligosacharydowych przyłączonych do DS 435, udało się autorom pomysłu zwiększyć powinowactwo polimerowej otoczki do kofaktora HC-II (ang. *Heparin Cofactor II*). Fakt ekspozycji oligosacharydów o sekwencji rozpoznawanej przez HCII, zaowocował wzmożonym pobieraniem DS-DOX przez komórki nowotworowe [23, 24].

Należąca do glikozaminoglikanów heparyna również znalazła zastosowanie do otrzymywania nośników doksorubicyny. W odróżnieniu od siarczanu dermatanu będącego jedynym składnikiem otoczki leku, heparyna wchodzi w skład liposomów, które stabilizuje poprzez neutralizację dodatnich ładunków powierzchni lipidowej [25]. Dzięki temu liposomy

są w mniejszym stopniu wychwytywane przez układ siateczkowo-sródbłonkowy wątroby i śledziony [25] (ryc. 5).

## KONJUGAT PK2

Jako nośniki molekuł terapeutycznych użyteczne wydają się być również polimery bazujące na HPMA (*N*-(2-hydroksypropylo)metakrylamid). Charakteryzują się one wysoką uniwersalnością zarówno od strony chemicznej, jak i dużą biokompatybilnością. Molekuły te wykorzystywane są już do dostarczania antybiotyków, związków przeciwnowotworowych z przeciwciałami, białek i cukrów prostych [26-31]. Przykładem wykorzystania kopolimeru HPMA jest PK2 - konjugat złożony z DOX, połączonej tetrapeptydowym mostkiem z *N*-(2-hydroksypropylo)metakrylamidem, posiadającym na jednym końcu resztę galaktozaminy.

Kopolimer ten dzięki swoistej biokompatybilności oraz obecności reszty galaktozaminy rozpoznawany jest przez białka receptorowe, znajdujące się na powierzchni komórek nowotworowych. Dokładniej ujmując, przez receptory ASGPR (ang. *Asialoglycoprotein Receptor*) specyficzne dla komórek wątroby [29]. W przypadku PK2 w celu połączenia nośnika HPMA oraz DOX, posłużono się tetrapeptydowym łącznikiem (Gly-Phe-Leu-Gly). Peptyd ten posiada sekwencję rozpoznawaną przez lizosomalne katepsyny, dzięki czemu ulega strawieniu uwalniając chemioterapeutyk – DOX [32].

Wyniki I fazy badań klinicznych przeprowadzonych na 31 pacjentach z pierwotnym lub przerzutuującym rakiem wątroby wykazały, iż konjugat PK2 dużo efektywniej akumulowany jest przez komórki wątrobowe, aniżeli nie sprzężona z nośnikiem „wolna” dokсорubicyna. Podobnie jak wcześniej opisywane leki, tak i PK2 przejawiał znacznie większą skuteczność działania oraz dużo słabszą toksyczność w stosunku do komórek prawidłowych, umożliwiając tym samym zastosowanie większych dawek kumulatywnych leku i zwiększenie efektywności chemioterapii [33] (ryc. 6).

## PODSUMOWANIE

Polimery, zarówno sztuczne jak i pochodzenia naturalnego, coraz częściej znajdują zastosowanie do otrzymywania nośników leków. Jako substancje organiczne są stosunkowo dobrze tolerowane przez organizm i nie wywołują dotkliwych działań ubocznych.

Zwiększają selektywność transportu toksycznych leków, przez co zmniejszają toksyczne skutki działania leków w tkankach zdrowych. Polimerowe nośniki wykorzystywane do

transportu przeciwnowotworowego leku dokсорubicyny są dobrym przykładem korzyści, jakie daje ten sposób dostarczania leku do miejsc ich działania. Terapia antracyklinowa (szczególnie z wykorzystaniem dokсорubicyny), niesie za sobą ryzyko wystąpienia kardiomiopatii. Stanowi to w przypadku pacjentów z zaburzeniami układu sercowo-naczyniowego dużą przeszkodę w terapii, wykluczając ich niekiedy z kuracji przeciwnowotworowej.

Przeprowadzone badania kliniczne omawianych polimerowych nośników dokсорubicyny jednoznacznie dowodzą skuteczności ich działania. Dzięki ich wykorzystaniu w znacznym stopniu udało się zredukować dawkę terapeutyczną leku, oraz zminimalizować ryzyko wystąpienia powikłań ze strony układu sercowo-naczyniowego – charakterystycznych dla konwencjonalnej formy dokсорubicyny. Trudno obecnie wskazać, jaki typ polimerowych nośników dokсорubicyny okaże się najlepszy. Interesującą nową koncepcją, która może poprawić selektywność transportu leków jest zastosowanie polimerowych nośników, które pod wpływem energii akustycznej uwalniają lek w miejscu występowania komórek nowotworowych [34]. W niedalekiej przyszłości wiele korzyści może przynieść opracowanie nanopolimerów skonjugowanych z dokсорubicyną [35] oraz konjugatów fullerenu tworzących spontanicznie liposomo-podobne nanostruktury zdolne do zamykania fazy wodnej [36].

## LITERATURA

- [1] ELLIOTT P.: Pathogenesis of cardiotoxicity induced by anthracyclines. *Semin. Oncol.* (2006), 33, 2-7.
- [2] O'BRIEN M. E., WIGLER N., INBAR M., ROSSO R., GRISCHKE E., SANTORO A., CATANE R., KIEBACK D. G., TOMCZAK P., ACKLAND S. P., ORLANDI F., MELLARS L., ALLAND L., TENDLER C.: Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (CAELYX/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Ann. Oncol.* (2004), 15(3), 440-449.
- [3] EWER M.S., MARTIN F.J., HENDERSON C., SHAPIRO C.L., BENJAMIN R. S., GABIZON A.A.: Cardiac safety of liposomal anthracyclines. *Semin. Oncol.* (2004), 31, 161-181.



- [4] PARK J. W., Benz C. C., MARTIN F. J.: Future directions of liposome- and immunoliposome-based cancer therapeutics. *Semin. Oncol.*, (2004), 31, 196-205.
- [5] ALLEN T. M., MARTIN F. J.: Advantages of liposomal delivery systems for anthracyclines. *Semin. Oncol.* (2004) 31, 5-15.
- [6] HWANG K. J., PADKI M. M., CHOW D. D., ESSIEN H. E., LAI J. Y., BEAUMIER P. L.: Uptake of small liposomes by non-reticuloendothelial tissues. *Biochim. Biophys. Acta.* (1987), 901, 88-96.
- [7] GABIZON A., PAPAHA DJOPOULOS D.: Liposome formulations with prolonged circulation time in blood and enhanced uptake by tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* (1988), 85, 6949-6953.
- [8] WOODLE M. C., LASIC D. D.: Sterically stabilized liposomes. *Biochim. Biophys. Acta.* (1992), 1113, 171-199.
- [9] ZALIPSKY S., BRANDEIS E., NEWMAN M. S., WOODLE M. C.: Long circulating, cationic liposomes containing amino-PEG-phosphatidylethanolamine. *FEBS Lett.* (1994) ,353, 71-74.
- [10] GABIZON A., MARTIN F. Polyethylene glycol-coated (pegylated) liposomal doxorubicin. Rationale for use in solid tumours. *Drugs.* (1997), 54 , 15-21.
- [11] WORKING P. K., DAYAN A. D.: Pharmacological-toxicological expert report. CAELYX. (Stealth liposomal doxorubicin HCl). *Hum. Exp. Toxicol.* (1996), 15, 751-785.
- [12] Doxil® (doxorubicin HCl liposome injection) – package insert. Raritan, NJ, Ortho Biotech. Products L. P. (2001).
- [13] SAFRA T., MUGGIA F., JEFFERS S., TSAO-WEI D. D., GROSHEN S., LYASS O., HENDERSON R., BERRY G., GABIZON A.: Pegylated liposomal doxorubicin (doxil): reduced clinical cardiotoxicity in patients reaching or exceeding cumulative doses of 500 mg/m<sup>2</sup>. *Ann. Oncol.* (2000), 11, 1029-1033.

- [14] WIGLER N., O'BRIEN M., ROSSO R.: Reduced cardiac toxicity and comparable efficacy in phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin (CAELYX™ / DOXIL®) vs. Doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. 38<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology, Orlando, Florida, May 18-21, 2002.
- [15] SAFRA T. Cardiac safety of liposomal anthracyclines. *Oncologist*. (2003), 8(2), 17-24
- [16] DENMEADE S. R., NAGY A., GAO J., LILJA H., SCHALLY A. V., ISAACS J. T.: Enzymatic activation of a doxorubicin-peptide prodrug by prostate-specific antigen. *Cancer Res.* (1998), 58, 2537-2540.
- [17] DEFEO-JONES D., GARSKY V. M., WONG B. K., FENG D. M., BOLYAR T., HASKELL K., KIEFER D. M., LEANDER K., MCAVOY E., LUMMA P., WAI J., SENDERAK E. T., MOTZEL S. L., KEENAN K., VAN ZWIETEN M., LIN J. H., FREIDINGER R., HUFF J., OLIFF A., JONES R. E.: A peptide-doxorubicin 'prodrug' activated by prostate-specific antigen selectively kills prostate tumor cells positive for prostate-specific antigen in vivo. *Nat Med.* (2000), 6, 1248-1252.
- [18] WONG B. K., DEFEO-JONES D., JONES R. E., GARSKY V. M., FENG D. M., OLIFF A., CHIBA M., ELLIS J. D., LIN J. H.: PSA-specific and non-PSA-specific conversion of a PSA-targeted peptide conjugate of doxorubicin to its active metabolites. *Drug Metab. Dispos.* (2001), 29, 313-318.
- [19] DIPAOLO R. S., RINEHART J., NEMUNAITIS J., EBBINGHAUS S., RUBIN E., CAPANNA T., CIARDELLA M., DOYLE-LINDRUD S., GOODWIN S., FONTAINE M., ADAMS N., WILLIAMS A., SCHWARTZ M., WINCHELL G., WICKERSHAM K., DEUTSCH P., YAO S. L.: Characterization of a novel prostate-specific antigen-activated peptide-doxorubicin conjugate in patients with prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* (2002), 20, 1874-1879
- [20] TROUET A., PASSIOUKOV A., VAN DERPOORTEN K., FERNANDEZ A. M., ABARCA-QUINONES J., BAURAIN R., LOBL T. J., OLIYAI C., SHOCHAT D., DUBOIS V.: Extracellularly tumor-activated prodrugs for the selective chemotherapy of cancer, application to doxorubicin

- and preliminary in vitro and in vivo studies. *Cancer Res.* (2001), 61, 2843-2846.
- [21] DUBOIS V., DASNOIS L., LEBTAHI K., COLLOT F., HEYLEN N., HAVAUX N., FERNANDEZ A. M., LOBL T. J., OLIYAI C., NIEDER M., SHOCHAT D., YARRANTON G. T., TROUET A.: CPI-0004Na, a new extracellularly tumor-activated prodrug of doxorubicin, in vivo toxicity, activity, and tissue distribution confirm tumor cell selectivity. *Cancer Res.* (2002), 62, 2327-2331.
- [22] RANNEY D. R.: In vivo agents comprising cationic drugs, peptides and metal chelators with acidic saccharides and glycosaminoglycans, giving improved site-selective localization, uptake mechanism, sensitivity and kinetic-spatial profiles, including tumor sites. US patent 6,106,866. August 22, (2000).
- [23] MASCELLANI G., LIVERANI L., BIANCHINI P., PARMA B., TORRI G., BISIO A., GUERRINI M., CASU B.: Structure and contribution to the heparin cofactor II-mediated inhibition of thrombin of naturally oversulphated sequences of dermatan sulphate. *Biochem. J.* (1993), 296, 639-648.
- [24] MAIMONE M. M., TOLLEFSEN D. M.: Structure of a dermatan sulfate hexasaccharide that binds to heparin cofactor II with high affinity. *J. Biol. Chem.* (1990), 65, 18263-71 Erratum in, *J. Biol. Chem.* (1991), 266, 14830.
- [25] HAN H. D, LEE A., SONG C. K., HWANG T., SEONG H., LEE C. O., SHIN B. C.: In vivo distribution and antitumor activity of heparin-stabilized doxorubicin-loaded liposomes. *Int. J. Pharm.* (2006), 313, 181-8.
- [26] HOVORKA O., ETRYCH T., SUBR V., STROHALM J., ULBRICH K., RIHOVA B.: HPMa based macromolecular therapeutics: internalization, intracellular pathway and cell death depend on the character of covalent bond between the drug and the peptidic spacer and also on spacer composition. *J. Drug Target.* (2006), 14, 391-403.

- [27] NAN A., GHANDEHARI H., HEBERT C., SIAVASH H., NIKITAKIS N., REYNOLDS M., SAUK J. J.: Water-soluble polymers for targeted drug delivery to human squamous carcinoma of head and neck. *J. Drug Target.* (2005), 13, 189-97.
- [28] GRECO F., VICENT M. J., GEE S., JONES A.T., GEE J., NICHOLSON R. I., DUNCAN R.: Investigating the mechanism of enhanced cytotoxicity of HPMa copolymer-Dox-AGM in breast cancer cells. *J. Control Release* (2007), 117, 28-39.
- [29] Hopewell J. W. Duncan R., Wilding D., Chakrabarti K.: Preclinical evaluation of the cardiotoxicity of PK2: A novel HPMa copolymer–doxorubicin–galactosamine conjugate antitumour agent. *Human & Exp. Toxicol.*, (2001), 20, 461- 470
- [30] DUNCAN R., VINCENT M. J., GRECO F., NICHOLSON R. I.: Polymer–drug conjugates: towards a novel approach for the treatment of endocrine-related cancer. *Endocrine-Related Cancer* (2005), 12, 189-199.
- [31] SEYMOUR L.W.: Soluble polymers for lectin-mediated drug targeting. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (1994), 14, 89-111.
- [32] WEDGE S. R., DUNCAN R., KOPECKOVA P.: Comparison of the liver subcellular distribution of free daunomycin and that bound to galactosamine targeted N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers, following intravenous administration in the rat. *Br. J. Cancer* (1991), 63, 546-549.
- [33] SEYMOUR L. W., FERRY D.R., ANDERSON D., HESSLEWOOD S., JULYAN P. J., POYNER R., DORAN J., YOUNG A. M., BURTLES S., KERR D.J.: Cancer Research Campaign Phase I/II Clinical Trials committee. Hepatic drug targeting: phase I evaluation of polymer-bound doxorubicin. *J. Clin. Oncol.* (2002), 20, 1668-1676.
- [34] GAO Z. G., FAIN H. D., RAPOPORT N.: Controlled and targeted tumor chemotherapy by micellar-encapsulated drug and ultrasound. *J Control Release.* (2005), 102, 203-222.

[35] JEDLINSKI Z., MATUSZOWICZ A., JUZWA M., KURCOK P., ZAWIDLAK B.: Nowe koniugaty leku cytotoksycznego, sposób ich wytwarzania oraz środki farmaceutyczne zawierające te koniugaty". Polskie Zgłoszenie Patentowe Nr 364513. (2004).

[36] KATO H., KANETA N., NII S., KOBAYASHI K., FUKUI N., SHINOHARA H., NISHIDA Y.: Preparation and supramolecular properties of unadulterated glycosyl liposomes from a bis(alpha-D-mannopyranosyl)-fullerene conjugate. Chem. Biodivers. (2005), 2, 1232-1241.

**Praca sfinansowana przez Uniwersytet medyczny w Łodzi, temat nr 503-2009-1.**

Adres autorów

<sup>1</sup>Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Zakład Farmakologii Molekularnej

ul. Mazowiecka 6/8, 92-215 Łódź

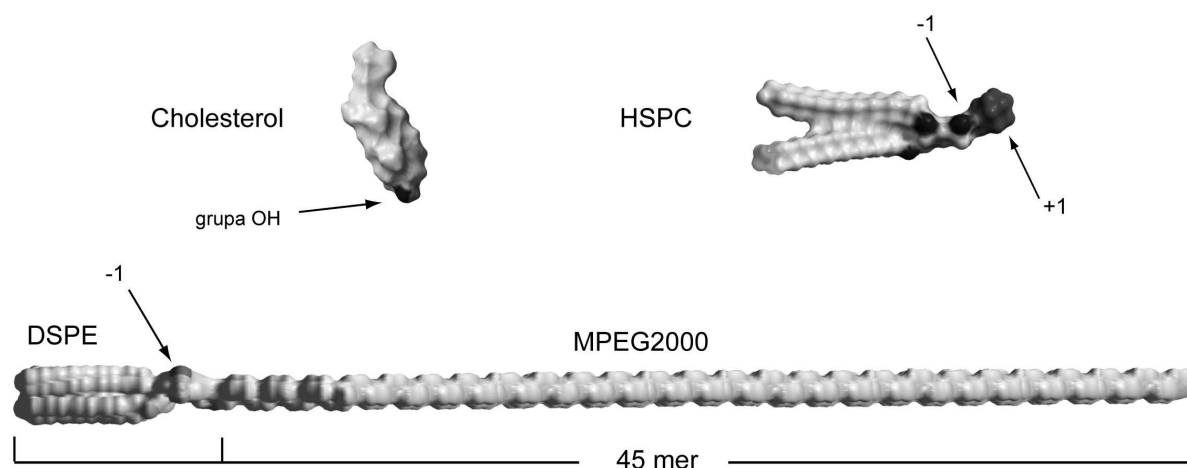
e-mail: [chemgen@csk.umed.lodz.pl](mailto:chemgen@csk.umed.lodz.pl)

<sup>2</sup>Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

Zakład Promocji Zdrowia

al. Paderewskiego 35, 51-612 Wrocław

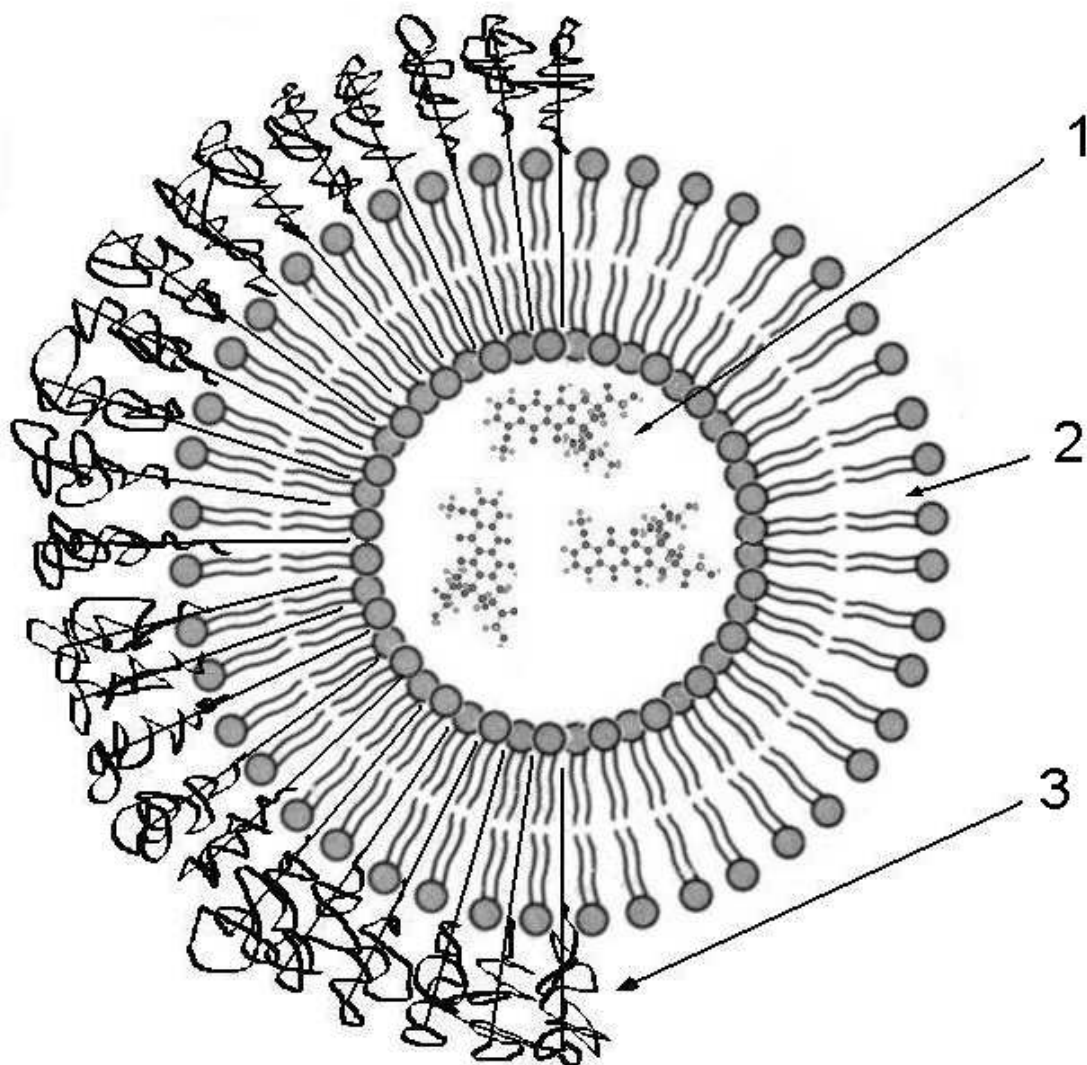
e-mail: [promocja@wf.wroc.pl](mailto:promocja@wf.wroc.pl)



### Konjugat DSPE-MPEG

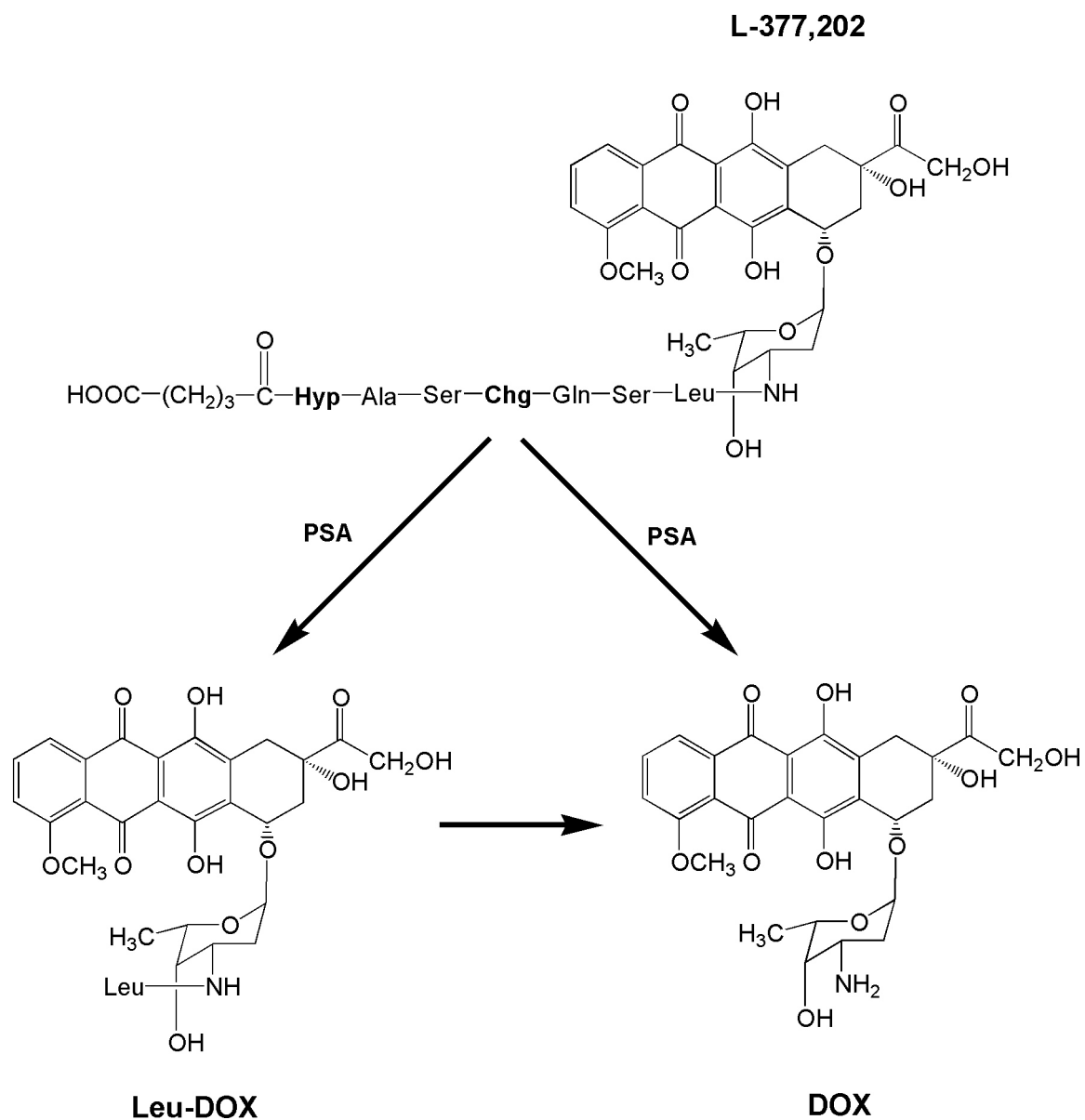
Ryc. 1. Modele składników liposomu STEALTH®. Modele przedstawiają powierzchnię cząsteczek dostępną dla rozpuszczalników, na której znajduje się mapa ładunków cząstkowych. Wskazane strzałkami mocno zaciemnione fragmenty cząsteczek mają charakter hydrofilowy ponieważ są obdarzone ładunkiem lub posiadają silnie spolaryzowane grupy funkcyjne. Długi łańcuch polieterowy MPEG2000, mimo równomiernego rozłożenia ładunków cząstkowych także posiada charakter hydrofilowy, co wynika z obecności dużej liczby atomów tlenu (co trzeci atom w łańcuchu). STEALTH® jest zastrzeżonym znakiem towarowym ALZA Corporation

Fig. 1. Molecular model of liposome STEALTH® components. Models presents solvent accessible molecular surface mapped by partial charges. Arrows show dark parts of molecules which are hydrophilic as they are charged or possess strongly polarized functional groups. The long polyether chain MPEG2000 possesses uniform partial charges along the chain but it is also hydrophilic due to the high oxygen content as every third atom is oxygen. STEALTH® is registered trademark of ALZA Corporation



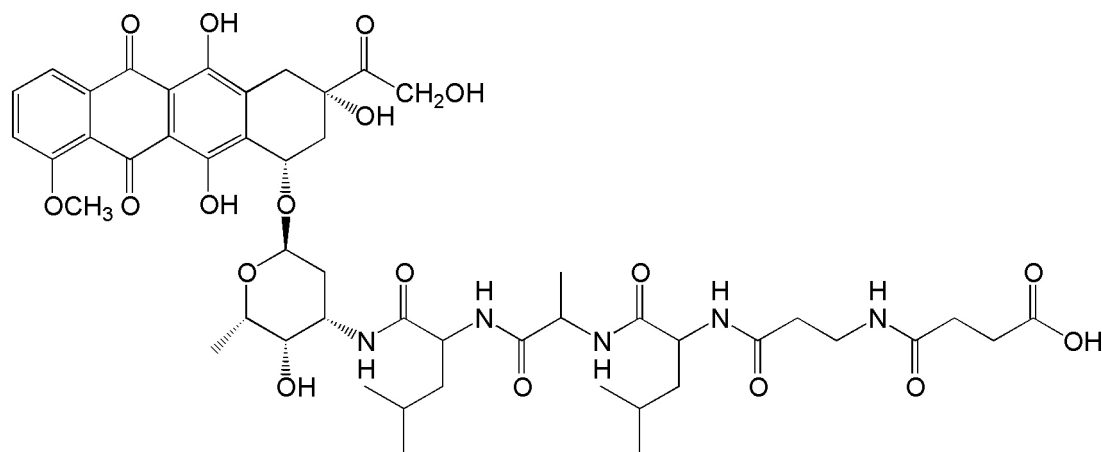
Ryc. 2. Doxil®. 1 – faza wodna zawierająca dokсорubicynę; 2 – dwuwarstwa lipidowa zbudowana z HSPC i cholesterolu; 3 – osłonka z MPEG. Doxil® jest zastrzeżonym znakiem towarowym ALZA Corporation

Fig. 2. Doxil®. 1 – water phase containing doxorubicin; 2 – lipids bilayer made of HSPC and cholesterol; 3 – MPEG coating. Doxil® is registered trademark of ALZA Corporation



Ryc. 3. Enzymatyczna hydroliza L-377,202 - zależna od PSA (*Prostate Specific Antygen*).

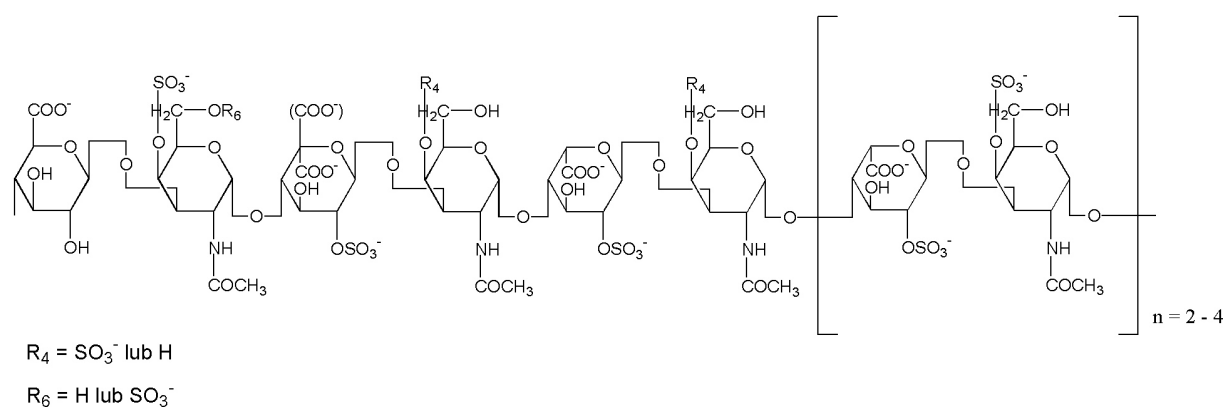
Fig. 3. PSA (*Prostate Specific Antigen*) dependent enzymatic hydrolysis of L-377,202





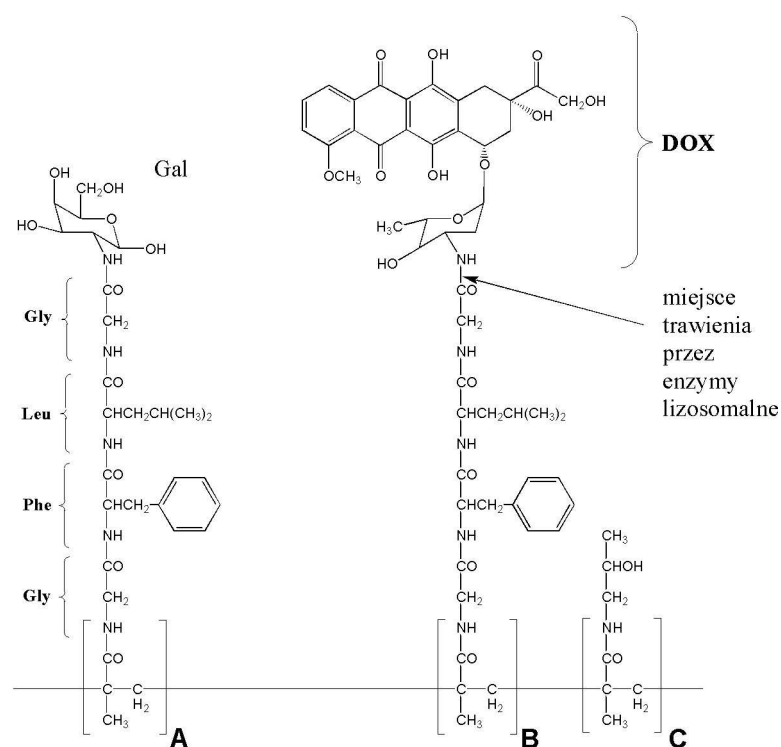
#### Ryc. 4. Struktura CPI-0004Na

Fig. 4. Structure of CPI-0004Na



#### Rys. 5. Oligosacharydowy fragment DS435 odpowiedzialny za wiązanie z HC-II

Fig. 5. Oligosaccharide fragment of DS435 responsible for HC-II binding



#### Rys. 6. Struktura PK2. A – 1,5 mol%; B – 2,4 mol%; C – 96,1 mol%. Strzałka 1 wskazuje wiązanie peptydowe trawione przez proteazy cysternowe

Fig. 6. Structure of PK2. A – 1,5 mol%; B – 2,4 mol%; C – 96,1 mol%. Arrow 1 indicates peptide bond digested by cysteine proteases.