

CÍLENÉ POLYMERNÍ NOSIČE LÉČIV V TERAPII NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

MARTIN HRUBÝ^{a*}, JAN KUČKA^b,
JÁN KOZEMPEL^b a ONDŘEJ LEBEDA^c

^a Ústav makromolekulární chemie, Akademie věd České republiky, Heyrovského nám. 6, 162 06 Praha 6, ^b Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 128 43 Praha, ^c Ústav jaderné fyziky, Akademie věd České republiky, 250 68 Řež u Prahy
mhruby@centrum.cz

Došlo 15.6.05, přijato 30.7.05.

Klíčová slova: kancerostatika, polymerní nosič, nádorová tkáň, EPR efekt, cílená doprava, řízené uvolňování

Obsah

1. Úvod
2. Cílení účinku lokální aplikací
3. Cílení účinku léčiva fyzikální aktivací zevnějšku organismu
4. Cílení založené na morfoloické, případně obecně fyziologické specifitě nádorové tkáně
5. Cílení buněčně specifickým ligandem
6. Selektivní enzymatická aktivace léčiva v nádorové tkáni
7. Cílení specifickými přenašeči živin a vitamínů akumulujících se ve zvýšené míře v nádoru
8. Pretargeting
9. Závěr

1. Úvod

Nosiče léčiv jsou v současnosti stále více studovány v kontextu vývoje nových terapeutických systémů pro léčbu mnoha typů onemocnění. Tyto nosiče by měly především umožnit prodlouženou cirkulaci účinných látek v krevním řečišti, řízenou aktivaci a účinek selektivně zaměřený na cílovou tkáň, soubor buněk (např. nádor), jednotlivou buňku nebo dokonce i jen buněčné kompart-

menty. Tím lze omezit nežádoucí účinky terapie, zajistit rozpustnost ve vodě nerozpustných aktivních sloučenin, potlačit rezistenci cílové tkáně k léčivu aj. Byla vyvinuta celá řada typů nosičů, založených na rozpustných polymezech, liposomech, nanočásticích a polymerních micelách.

Největší pozornost se zaměřuje na vývoj nosičů kancerostatik a to především z důvodů vysoké společenské závažnosti nádorových onemocnění, která je dána jejich častým výskytem, dodnes mnohdy málo účinnou léčbou a s tím spojenou vysokou úmrtností. Dnes užívaná protinádorová léčiva jsou totiž nedostatečně selektivní pro nádorovou tkáň, což se projevuje výraznými nežádoucími vedlejšími účinky. Ty omezují účinnou léčbu mnoha typů nádorových onemocnění, protože dávky cytotoxického léčiva potřebné pro dosažení úplného terapeutického účinku jsou příliš vysoké. Tento referát je zaměřen na výsledky dosavadního studia použití polymerních nosičových systémů pro cílený transport a aktivaci léčiv v terapii nádorových onemocnění. Na tomto místě je třeba zdůraznit, že přes intenzivní výzkum prováděný v posledních letech a zcela jasný trend vývoje nových léčiv tímto směrem je naprostá většina těchto systémů ve stadiu laboratorních, předklinických a klinických zkoušek. Konkrétních léčiv schválených pro použití v humánní medicíně je jen několik.

2. Cílení účinku lokální aplikací

Jde o nejjednodušší způsob cílení účinku léčiva, kdy je účinná látka navázaná na polymerní nosič aplikována přímo na místo určení. Polymerní nosič zajistí setrvání léčiva na místě aplikace a jeho řízené uvolňování. Z hlediska léčby nádorových onemocnění jsou z tohoto pohledu studovány zejména gely¹ a implantáty² určené k chirurgické implantaci po vyjmutí většiny té nádorové tkáně, která je operabilní, dále pak intratumorální injekce³ a případně intraperitoneálně aplikované systémy proti nádorům diseminovaným v dutině břišní⁴.

Tento postup lze však použít jen u lokalizovaných nádorů, kde má jisté výhody, zejména určitou spolehlivost. Naopak nevýhodou je, že nelze zabránit úniku cytotoxického léčiva z nádoru do zdravé tkáně a že tento způsob mnohdy nelze užít z důvodů anatomického umístění nádoru a obecně u metastáz, kterých může být po těle mnoho. Navíc je nutná speciální, mnohdy chirurgická aplikace systému.

* Poznámka redakce: Autor článku je pracovníkem Oddělení biolékařských polymerů Ústavu makromolekulární chemie AV ČR. Vedoucím tohoto oddělení a zároveň ředitelem ústavu je prof. Ing. Karel Ulbrich, DrSc., který v letošním roce získal jednu z národních cen Česká hlava za výsledky dosažené v oboru velmi blízkém tématu tohoto příspěvku.

3. Cílení účinku léčiva fyzikální aktivací zvnějšku organismu

Aktivace účinku fyzikálním působením zvnějšku organismu je přístupem, který kombinuje parenterální aplikaci léčiva na nosiči s dodatečným vnějším fyzikálním podnětem. Tím lze užít dvojího cílení – jednak zacílit vlastní nosič, např. ligandem (viz dále), jednak lokalizovat samotné aktivující pole, čímž se selektivita násobí.

Jeden způsob je založen na uvolnění fyzikálně (hydrofóbními interakcemi) vázaného léčiva z polymerní micely⁵ ultrazvukem. Nevýhodou je to, že ultrazvuk zrychluje uvolňování léčiva z micely jen málo a že je nutné použít výkonný ultrazvukový svazek, který už sám může mechanicky poškodit okolní tkáň.

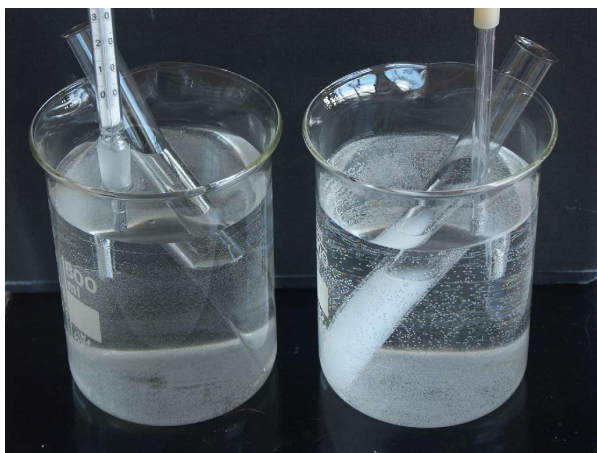
Cílení vnějším magnetickým polem představuje v současné době intenzivně studovanou problematiku⁶. Ve většině studií je do krevního oběhu aplikováno léčivo na superparamagnetické částici (např. ferrofluidu) a k místu, kam je třeba zacílit účinek, je zvnějšku přiložen silný magnet. Aplikace je limitována na nádorová onemocnění blízko povrchu těla⁷ nebo na místa, kam lze magnet přiložit. Další omezení plyne z toho, že používané materiály nejsou biodegradovatelné. Výhodou je naopak možnost vytvořit lokální hypertermii v nádoru vysokofrekvenčním vnějším magnetickým polem a tím docílit případného zvýšení účinku.

Další způsob je založen na termosenzitivním chování speciálního polymerního nosiče, aktivovaného lokálním zvýšením teploty v nádorové tkáni vnějším zahřátím. Je-li v krevním oběhu přítomen nosič léčiva, který je při teplotě lidského těla v krevní plazmě rozpustný, ale za zvýšené teploty se sráží, lze jej v takto přehřáté tkáni zkoncentrovat. Ze systémů, které jsou ve vodném prostředí rozpustné při laboratorní teplotě, ale mají dolní kritickou rozpouštěcí

teplotu (LCST), nad kterou už jsou nerozpustné (viz obr. 1), jsou studovány především „elastin-like“ peptidové systémy, polyethylenoxid-*block*-polypropylenoxid-*block*-polyethylenoxid a kopolymery *N*-isopropylakrylamidu, *N*-isopropylmethakrylamidu a *N,N*-diethylakrylamidu⁸. Termosenzitivního chování lze využít jak v případě rozpustných systémů, tak i termosenzitivních liposomů, gelů a micel. Společnou nevýhodou termosenzitivních systémů je fakt, že praktickou limitou lokální hypertermie je teplota cca 42–43 °C, což je jen o 5–6 °C více než je normální teplota lidského těla. Vzhledem k tomu, že teplota separace fází termosenzitivních polymerů je silně závislá na koncentraci a u kopolymerů navíc značně závislá na obsahu skupin s jinou polaritou, než mají majoritní monomerní jednotky odpovědné za termosenzitivní chování (separace fází je založena na hydrofóbní interakci, která nad určitou teplotou již nemůže být kompenzována solvatací polárních skupin), nelze zaručit kompletní vysrážení v cílové tkáni⁹.

Cílení neutronovým svazkem je založeno na jaderné reakci: z biologicky relativně neškodného proudu zpomalených epitermálních neutronů vzniká ve tkáni s dostatečnou koncentrací vhodného stabilního nuklidu sekundární ionizující záření, které má mnohem intenzivnější biologické účinky. Využívá se zde tedy opět duálního cílení, kde se nosič vhodného nuklidu zkoncentruje jiným mechanismem¹⁰ v nádorové tkáni; pak je pacient ozářen úzkým proudem epitermálních neutronů kolimovaným na tuto nádorovou tkáň, čímž se násobí selektivita. Nejvíce se z tohoto typu terapií prosadila borová terapie zachycování neutronů (boron neutron capture therapy; BNCT), využívající tvorby biologicky vysoce účinného α záření z ^{10}B epitermálními neutrony. Nevýhodou tohoto přístupu je – kvůli relativně nízkému účinnému průřezu ^{10}B vůči reakci s neutrony – především nutnost dosáhnout vysokých koncentrací ^{10}B v cílové tkáni, aby byl proces dostatečně efektivní a konkurenční reakce s uhlíkem, vodíkem a sodíkem ve tkáních byly potlačeny. Je tedy potřeba podat injekčně až desítky gramů bórem ^{10}B obohacené látky¹⁰. To klade často nesplnitelné požadavky na nosič léčiva, zejména je-li využito cílení ligandem, které je saturovatelné a závislé na koncentraci receptoru na povrchu buněk cílové tkáně. Další nevýhodou je konkurenční přeměna sodíku ^{23}Na (izotopické zastoupení nuklidu ^{23}Na v přírodním Na je 100 %) v sodných solích v krvi a tkáních na radioaktivní ^{24}Na (β^- zářič, $T_{1/2} = 14,96$ h), která způsobuje, že pacient je zatížen indukovanou radioaktivitou ještě řadu hodin po ozáření.

Fotodynamická terapie¹¹ je založena na aplikaci makrocyclů, především derivátů porfyriu a ftalocyaninu, schopných po ozáření viditelným světlem aktivovat kyslík ve tkáních na kyslík v singletovém stavu. Singletový kyslík, který je velmi reaktivní, působí cytotoxicky (poškozuje zejména DNA). Příslušná fotosenzibilizující látka, citlivá k viditelnému záření, je aplikována do krevního oběhu; po určité době, kdy dojde k jejímu uložení do nádorové tkáně, je světlovodným vláknem k nádoru přivedeno aktivující světelné záření. Vznikající singletový kyslík pak poškodí ozařovanou tkáň. Nevýhod této metody je



Obr. 1. Příklad fázové separace termosenzitivního polymeru; v obou zkumavkách je roztok poly(*N*-isopropylakrylamidu) ($0,5 \text{ mg ml}^{-1}$) ve vodném chloridu sodném ($0,15 \text{ mol l}^{-1}$), levá lázeň má teplotu místnosti (23 °C), pravá lázeň má teplotu lidského těla (37 °C)

několik. Především, což bylo nejkritičtější zejména u prvních generací fotosenzibilizátorů, se tyto látky ukládají i v kůži s poměrně dlouhým poločasem vylučování, takže pacient musel zůstat ve tmě nebo silném šeru až řadu dní, aby neriskoval popáleniny slunečním světlem. Dále je nutné zavést světlovod přímo k nádoru, což přináší podobné problémy jako lokální aplikace (viz výše). Další nevýhodou je, že nedostatečně prosvětlené okrajové části nádoru, které bývají proliferace nejaktivnější, jsou nedostatečně inhibovány a mnohdy je tam proliferace buněk hormonálním efektem dokonce stimulována. Velmi závažným omezením této metody je také to, že nádorová tkáň je velmi často hypoxická. Nedostatek volného kyslíku jako reaktantu pro vznik singletového kyslíku pak logicky způsobí nedostatečnou tvorbu singletového kyslíku.

4. Cílení založené na morfologické, případně obecně fyziologické specifitě nádorové tkáně

Nově vzniklá nádorová tkáň má řadu morfologických specifíků, na kterých lze založit cílení nosičů léčiv. Především jde o mnohem větší propustnost cévního systému nádorové tkáně pro velké molekuly (fenestrace), což spolu s nedostatečným nebo často i úplně chybějícím odtokem lymfy způsobuje hromadění velkých molekul v nádorové tkáni (tzv. „Enhanced Permeation and Retention“ (EPR) efekt¹²). Proto se makromolekuly o velké relativní molekulové hmotnosti, micely, nanočástice a liposomy hromadí v nádorové tkáni, často s více než dvacetinásobnou selektivitou oproti normální tkáni¹³. Vzhledem k charakteru interakce je toto cílení označováno jako pasivní a je hojně využíváno při návrhu struktur různých nosičových systémů pro protinádorová léčiva^{13–19}. Dostatečně velké částice lze cílit i do tkání, které mají zúžený průsvit krevních kapilár (embolizace²⁰), zejména jsou-li aplikovány do arterie vyživující příslušný orgán, jako např. částice TheraSphereTM. EPR efekt je dosti univerzální pro mnoho pevných nádorů, ale např. pro radiofarmaka s velmi krátkým poločasem rozpadu je příliš pomalý (k akumulaci dochází v řádu hodin až dnů). Navíc EPR efekt cílí do intersticiálního prostoru tkáně, nikoliv dovnitř buněk²¹. Proto je výhodné EPR efekt kombinovat s cílením ligandem, pH-řízeným uvolňováním apod.²²

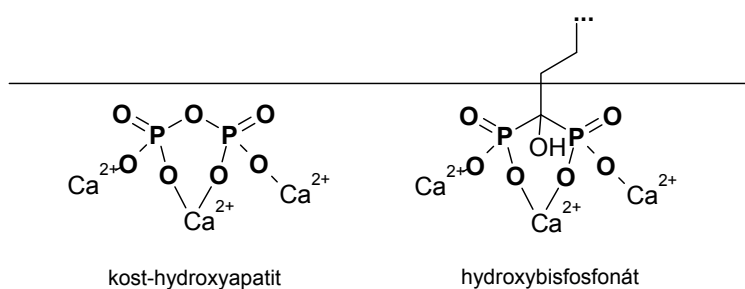
Nádorová tkáň je, díky intenzivnímu metabolismu a relativnímu nedostatku kyslíku, poměrně kyselá (pH 5–6) ve srovnání s krevní plazmou (pH 7,4) (cit.²³). Lze tedy využít systémů, které uvolní léčivo při snížení pH z neutrální do mírně kyselé oblasti. Toho lze dosáhnout např. štěpením acidolabilní hydrazonové nebo *cis*-akonitylové spojky mezi léčivem a polymerem, užitím liposomálních lékových forem, kde se liposom rozpadne v kyselém prostředí, hydrofóbní vazbou léčiva charakteru slabě hydrofóbní báze do jádra polymerní micely, případně použitím polymerní micely disociovatelné či degradovatelné v kyselém prostředí^{8,24}.

5. Cílení buněčně specifickým ligandem

Mnoho typů nádorových buněk hyperexprimuje na svém povrchu receptory pro ligandy nebo antigeny normálně přítomné v organismu v malé míře, často mnohonásobně oproti normální tkáni, nebo dokonce receptory a antigeny v normální tkáni nepřítomné. Jestliže je k nosiči léčiva připojen příslušný ligand komplementární k takovému receptoru nebo protilátka proti takovému antigenu, pak může dojít ke specifické interakci takového nosiče léčiva s nádorovými buňkami a v důsledku toho k jeho akumulaci v nádorové tkáni. Je-li navíc receptor – po vazbě ligandu – schopen endocytózy, může takový ligand zprostředkovat i endocytózu celého systému. Cílení ligandem může být velmi specifické, ligand však musí být kovalentně navázan na nosič přes spojku („spacer“), která nebrání vazbě na receptor. Receptor také musí být přítomen v kompartmentu dostupném pro nosič. Hlavní nevýhody a omezení cílení ligandem vyplývají z různých fází vývoje nádorové buňky, ve kterých buňka nemusí exprimovat příslušný receptor či antigen, a ze saturovatelnosti a pomalé obnovy dostupných receptorů a antigenů v případě vyšších dávek směřovaného léčiva. Problémem může být i snížení koncentrace receptorů pro daný ligand v cílové tkáni vlivem zpětné vazby jako reakce buňky na nadbytek tohoto ligandu („downregulation“), u nádorových onemocnění v pozdějších stádiích nádorových onemocnění i diferenciací nádorové tkáně na imunologicky a biochemicky nehomogenní populace a následná selekce rezistentních populací vlivem cíleného léčiva. Podstatným faktorem může rovněž být fenotypová variabilita nádorových onemocnění, takže je obtížné najít ligand, který by byl alespoň částečně univerzální pro určitou skupinu nádorových onemocnění. Řada struktur, hyperexprimovaných v nádorové tkáni a užívaných ke studiu možnosti cílení (např. folátový receptor, viz dále), je v určité, byť menší míře přítomna i v jiných tkáních, které pak mohou být cytostatikem také zasaženy.

Ke studiu cílení léčiv do jater je využívána laktosa, galaktosa nebo galaktosamin (parenchymatické jaterní buňky), resp. trinitrofenylová skupina (neparenchymatické jaterní buňky)^{25–27}. Retikuloendotelový systém (RES; játra, slezina, lymfatické uzliny, makrofágy) rovněž zachytává látky s obecně málo biokompatibilní strukturou²⁸. Toho se dá využít i pro radiodiagnostiku RES. Mohlo by jít i o užitečný nástroj pro adjuvantní chemoterapii po operativním odstranění nádorové tkáně pro potlačení tvorby metastáz přes lymfatický systém²⁹.

Tvorba protilátek představuje jednu z velmi selektivních specifických obran lidského těla proti cizorodým strukturám. Možnost použití protilátek jako cílicích skupin proti nádorovým antigenům byla studována pro liposomy (tzv. imunoliposomy³⁰), micely (tzv. imunomicely^{18,31}) a další nosičové systémy^{32,33}. Nevýhody protilátek spočívají v jejich vysoké ceně, vysoké citlivosti ke ztrátě jejich vazebné aktivity vlivem chemických modifikací a tím i obtížné reprodukovatelnosti aktivity připravených preparátů, obtížném a finančně náročném čištění od ostatních



Obr. 2. Mechanismus vazby hydroxybisfosfonátů na hydroxyapatit

bílkočin ze zdrojového biologického systému, obtížné dosažitelné neinfekčnosti zejména u preparátů vyrobených z krve, pomalé kinetice vychytávání, silných nespecifických interakcích protilátek s tkáněmi, do nichž nejsou cílené, nutnosti použít protilátku téhož živočišného druhu kvůli imunogenicitě, ale i v problémech s internalizací do buněk³⁴. Vysoká relativní molekulová hmotnost imunoglobulinů (cca 150 000) sice zvyšuje EPR efekt, ale snižuje dosažitelnou transportní kapacitu pro léčivo. Proto jsou často studovány i Fab fragmenty protilátek, které jsou odpovědné za vazebnou aktivitu protilátky a mají nižší relativní molekulovou hmotnost³⁵.

Idea cílení laktiny, tj. oligomerními rostlinnými bílkoviny schopnými selektivně vázat sacharidové struktury, je založena na odlišné glykosylaci membrán nádorových buněk a tím i vyšší afinitě mnoha laktinů k nádorové tkáni oproti normální tkáni^{36–38}. Navíc řada laktinů je sama silně cytotoxických (např. viskotoxin, ricin) inhibicí proteosyntézy. Nevýhody cílení laktiny plynou především z toho, že jde o rostlinné, tělu cizí a tudíž imunogenní bílkoviny. Podjednotky funkční oligomerní struktury jsou navíc vázány poměrně slabě nekovalentně, takže mají tendenci k reverzibilní deagregaci, nehledě na fakt, že konstanta stability vazby sacharidů na laktiny je poměrně nízká na efektní cílení.

Proliferace tkáni je podmíněna růstovými faktory a řada nádorů hyperexprimuje receptory pro tyto faktory, což představuje další možnou strategii pro cílení nosičů léčiv^{36,39}. Nevýhodou růstových faktorů jako směřujících jednotek je, kromě poměrně malé transpční kapacity, zejména silné zpětnovazebné potlačení exprese receptoru vlivem nadbytku ligandu v cílové tkáni⁴⁰.

Nově vytvořená nádorová vaskulatura obsahuje ve zvýšené míře integriny, které specificky vážou RGD (Arg-Gly-Asp) peptid a jeho analoga, na čemž je založen design polymerních nosičů pro cílení na nádorovou vaskulaturu^{41–43}. Expresi integrinu vázajícího RGD peptid v nádorové tkáni lze dále významně zvýšit ozářením této tkáně ionizujícím zářením, což představuje možnost dalšího zlepšení selektivity cílení pomocí RGD kombinací s radioterapií^{44,45} (synergický efekt). V poslední době se pro vyhledávání potenciálních peptidických ligandů pro (nejen) nádorovou tkán ve velké míře využívá kombinatoriální přístup – metoda „phage display“⁴⁶.

Kostní tkán, ve své podstatě přírodní orientovaný kompozit s mechanickou funkcí, je v těle ojedinělá díky přítomnosti vyztužující anorganické matrice hydroxyapatitu. Tento fosfátový vápenatý minerál, díky příhodné krystalové struktuře, silně váže hydroxybisfosfonáty, které se chovají jako strukturní analoga difosfátu (viz obr. 2) normálně přítomného ve struktuře hydroxyapatitu^{47,48}. Hydroxybisfosfonáty a jejich kovové komplexy se po podání do organismu silně a velmi rychle hromadí v kostech⁴⁹ a inhibují odbourávání kostní hmoty, čehož se využívá terapeuticky pro paliaci kostních metastáz, léčbu osteoporózy a Pagetovy choroby i diagnosticky pro scintigrafii kostí, zejména pro radiodiagnostiku kostních metastáz⁴⁸. Byl proto navržen modelový nosič léčiv pro kostní cílení^{50–52}.

Biokompatibilní polysacharid hyaluronan je rovněž využíván ke konstrukci slibných nosičových systémů pro léčiva cílená do nádorové tkáně, protože má afinitu k receptoru CD 44, hyperexprimovanému v řadě nádorových tkáni⁵³. Nevýhodou hyaluronanu je nutnost jeho izolace z biologického materiálu obdobně jako u protilátek.

I řada enzymů vázaných na membrány je ve zvýšené míře exprimována v nádorové tkáni, což představuje další trend cílení do nádorové tkáně pomocí inhibitorů těchto enzymů jako cílicích ligandů. Především jde o karboxypeptidasu II (cit.⁵⁴) a isoenzym *onco*-APasu (*onco*-APasa je alkalická fosfatasa hyperexprimovaná v řadě mozkových nádorů, jejímiž ligandy jsou deriváty 1,4-dihydro-naftochinon difosfátu⁵⁵).

6. Selektivní enzymatická aktivace léčiva v nádorové tkáni

Selektivní účinek léčiva vázaného na polymerní konjugát lze cílit i tím, že k uvolnění aktivní látky enzymaticky štěpitelnou spojkou dojde selektivně především v nádorové tkáni díky zvýšené aktivitě příslušného enzymu v této tkáni. S výhodou lze tento přístup kombinovat s jinými technikami cílení. Nejčastěji je studováno cílení založené na oligopeptidických spojkách štěpených nádorově specifickými metaloproteasami⁵⁶. Z enzymaticky štěpitelných spojek jsou dále studovány oligopeptidy hydrolyzovatelné endosomálními enzymy (např. sekvence Gly-Phe-Leu-Gly, cit.^{57,58}); tyto enzymy však nejsou nádorově

specifické, a proto lze tuto aktivaci použít pouze v kombinaci s jiným cílením celého systému. Selektivní metabolická aktivace je dnes intenzivně zkoumána a v řadě případů již i v praxi využívána pro nízkomolekulární léčiva („prodrug“ strategie), což přesahuje rámec tohoto referátu.

7. Cílení specifickými přenašeči živin a vitamínů ve zvýšené míře vychytávanými nádorem

Nádor je tkáň, která se rychle dělí a rychle roste, a proto spotřebovává mnoho organických i minerálních živin a vitamínů, více než nedělící se tkáň. Je tedy přirozené, že ve zvýšené míře také akumuluje tyto živiny, případně jejich přenašeče, což lze využít pro cílení nosičů léčiv.

Železo je v organismu transportováno v podobě bílkoviny transferrinu. Bylo zjištěno, že transferrin je účinným nástrojem cílení různých nosičů léčiv do nádorové tkáně⁵⁹, jeho hlavní nevýhodou však je nutnost jeho izolace z lidské plazmy.

Jedním z vitamínů je kyselina listová. Bylo zjištěno, že receptory zprostředkovávající příjem solí kyseliny listové (folátů) jsou silně hyperexprimovány v mnoha typech nádorů. Folát je proto dodnes velmi studovaným cílicím ligandem^{60,61}. Stal se i modelovou látkou řady studií na cílení obecně, např. při řešení otázky, kolik molekul folátu stačí na cílení jednoho liposomu, jak hustota cílicích skupin na povrchu liposomu ovlivní selektivitu⁶² nebo jak způsob vazby folátu na nosič (který z jeho dvou karboxylů je využit pro vazbu) ovlivní jeho cílicí schopnost⁶³. Folát se zprvu zdál ideální cílicí skupinou, stále více autorů však poukazuje na jeho malou selektivitu pro nádorovou tkáň díky tomu, že jde o přirozený vitamin⁶⁴. Antagonisté kyseliny listové (antifolika, např. methotrexát nebo modernější raltitrexát) jsou nicméně často užívanými a účinnými kancerostatiky, protože tento vitamin je nezbytný pro biosyntézu bázi nukleových kyselin a tím i pro buněčné dělení.

8. Pretargeting

Když bylo zjištěno, že rychlost vychytávání řady zejména bílkovinných ligandů, jako jsou protilátky, v nádorové tkáni je malá, začaly být vyvíjeny metody, jak odstranit tuto, zejména z hlediska imunoradioterapie, velmi podstatnou nevýhodu pomocí tzv. „pretargetingu“. „Pretargeting“ je založen na rozdělení cílení do dvou kroků. Nejprve se do cílové tkáně vnese selektivní, ale pomalu cílicí skupinou sám o sobě neškodný receptor, na který existuje cílení s podstatně rychlejší kinetikou. Po určité době nutné k akumulaci v cílové tkáni se pak podá vlastní účinné léčivo cílené ligandem vhodným pro tento sekundárně vnesený receptor. Ze studovaných přístupů jde především o ADEPT („antibody directed enzyme prodrug therapy“, cit.⁶⁵), GDEPT („gene directed enzyme prodrug therapy“, cit.⁶⁵), PTAPT („peptide transporter-associated

prodrug therapy“, cit.⁶⁵), LEAPT („lectin-directed enzyme-activated prodrug therapy“, cit.⁶⁶) a o pretargeting pomocí specifické interakce biotin-avidin nebo biotin-streptavidin²⁵. V případě GDEPT je do cílové tkáně nejprve vnesen gen pro enzym, který není obsažen v normální tkáni a který je schopen štěpit vazbu v nízkomolekulárním proléčivu („prodrug“, viz výše), neštěpitelnou jakýmkoliv jiným enzymem v organismu. Proléčivo, samo o sobě neúčinné, se tedy aktivuje pouze v cílové tkáni jako u „prodrug“ strategie. ADEPT, LEAPT a PTAPT využívají cílení ligandem (ADEPT protilátkou, LEAPT lektinem a PTAPT peptidem), kterým je do cílové tkáně vnesen enzym pro strategii „prodrug“. Pretargeting prováděný pomocí velmi rychlé a specifické interakce biotin-avidin nebo biotin-streptavidin představuje vnesení bílkoviny avidinu, resp. streptavidinu do cílové tkáně vhodným cílicím ligandem. Pak je aplikován konjugát biotinu s příslušným léčivem, který je vychytán v příslušné tkáni na avidinu, resp. streptavidinu. Nevýhodou pretargetingu je značná složitost těchto systémů, ze které plyne jejich vysoká cena, obtížná reprodukovatelnost přípravy a těžko předvídatelný, nespolehlivý účinek. Kromě toho „pretargeting“ využívá bílkoviny, což s sebou nese nevýhody uvedené u cílení protilátkami (viz výše).

9. Závěr

Tento článek je přehledem různých typů polymerních nosičů pro cílený transport a aktivaci léčiv v terapii nádorových onemocnění, jejich výhod i nevýhod. Polymerní nosiče v současnosti představují intenzivně studovaný přístup v designu protinádorových léčiv. O nadějnosti této problematiky svědčí i to, že některé pasivně cílené systémy se už dostaly do klinické praxe (např. TheraSphereTM, CaelyxTM nebo Cremophor ELTM) a řada systémů je ve fázi klinických zkoušek.

Vypracováno s finanční podporou Grantové agentury Akademie věd České republiky, grant č. B 4050408.

LITERATURA

1. Štastný M., Plocová D., Etrych T., Kovář M., Ulbrich K., Říhová B.: *J. Controlled Release* 81, 101 (2002).
2. Fung L. K., Saltzman W. M.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 26, 209 (1997).
3. Goldberg E. P., Hadba A. R., Almond B. A., Marotta J. S.: *J. Pharm. Pharmacol.* 54, 159 (2002).
4. Bredow J., Kretzschmar M., Wunderlich G., Dorr W., Pohl T., Franke W. G., Kotzerke J.: *Nuklearmedizin* 2004, 2.
5. Husseini G. A., Myrup G. D., Pitt W. G., Christensen D. A., Rapoport N. A. Y.: *J. Controlled Release* 69, 43 (2000).
6. Hafeli U. O.: *Int. J. Pharm.* 277, 19 (2004).

7. Jain K. K.: *Drug Delivery in Cancer: Technologies and Commercial Opportunities*. Decision Resources, Inc., Waltham 2000.
8. Gil E. S., Hudson S. A.: *Prog. Polym. Sci.* 29, 1173 (2004).
9. Chytrý V., Ulbrich K.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 16, 427 (2001).
10. Mehta S. C., Lu D. R.: *Pharm. Res.* 13, 344 (1996).
11. Hirth A., Michelsen U., Wohrle D.: *Chem. Unserer Zeit* 33, 84 (1999).
12. Kataoka K., Harada A., Nagasaki Y.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 47, 113 (2001).
13. Nishiyama N., Okazaki S., Cabral H., Miyamoto M., Kato Y., Sugiyama Y., Nishio K., Matsumura Y., Kataoka K.: *Cancer Res.* 63, 8977 (2003).
14. Fonseca C., Simoes S., Gaspar R. E.: *J. Controlled Release* 83, 273 (2002).
15. Hoste K., De Winne K., Schacht E.: *Int. J. Pharm.* 277, 119 (2004).
16. Kopeček J., Kopečková P., Minko T., Lu Z. R., Peterson C. M.: *J. Controlled Release* 74, 147 (2001).
17. Nishiyama N., Kataoka K.: *J. Controlled Release* 74, 83 (2001).
18. Torchilin V. P.: *Cell. Mol. Life Sci.* 61, 2549 (2004).
19. Yokoyama M., Okano T., Sakurai Y., Fukushima S., Okamoto K., Kataoka K.: *J. Drug Targeting* 7, 171 (1999).
20. Kato T., Sato K., Sasaki R., Kakinuma H., Moriyama M.: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 37, 289 (1996).
21. Kostarelos K., Emfietzoglou D., Papakostas A., Yang W. H., Ballangrud A., Sgouros G.: *Int. J. Cancer* 112, 713 (2004).
22. Park J. W., Hong K., Kirpotin D. B., Meyer O., Papahadjopoulos D., Benz C. C.: *Cancer Lett.* 118, 153 (1997).
23. Ulbrich K., Šubr V.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, 1023 (2004).
24. Gillies E. R., Frechet J. M. J.: *Pure Appl. Chem.* 76, 1295 (2004).
25. Chen L., Schechter B., Arnon, R., Wilchek M.: *Drug Dev. Res.* 50, 258 (2000).
26. Seymour L. W., Ulbrich K., Wedge S. R., Hume I. C., Strohalm J., Duncan R.: *Br. J. Cancer* 63, 859 (1991).
27. Zern M. A., Kresina T. F.: *Hepatology* 25, 484 (1997).
28. Gaur U., Sahoo S. K., De T. K., Ghosh P. C., Maitra A., Ghosh P. K.: *Int. J. Pharm.* 202, 1 (2000).
29. Averbach A. M., Jacquet P., Sugarbaker P. H.: *GI Cancer* 1, 239 (1996).
30. Mastrobattista E., Koning G. A., Storm G.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 40, 103 (1999).
31. Torchilin V. P., Lukyanov A. N., Gao Z. G., Papahadjopoulos-Sternberg B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 6039 (2003).
32. Říhová B.: *Drugs Future* 28, 1189 (2003).
33. Seymour L. W., Flanagan P. A., Alshamkhani A., Šubr V., Ulbrich K., Cassidy J., Duncan R.: *Sel. Cancer Ther.* 7, 59 (1991).
34. Carrion C., de Madariaga M. A., Domingo J. C.: *Life Sci.* 75, 313 (2004).
35. Říhová B., Jelínková M., Strohalm J., Šubr V., Ploková D., Hovorka O., Novák M., Plundrová D., Germano Y., Ulbrich K.: *J. Controlled Release* 64, 241 (2000).
36. Gabius S., Kayser K., Bovin N. V., Yamazaki N., Kojima S., Kaltner H., Gabius H. J.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 42, 250 (1996).
37. Minko T.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, 491 (2004).
38. Wroblewski S., Kopečková P., Říhová B., Kopeček J.: *Macromol. Chem. Phys.* 199, 2601 (1998).
39. Kullberg E. B., Bergstrand N., Carlsson J., Edwards K., Johnsson M., Sjöberg S., Gedda L.: *Bioconjugate Chem.* 13, 737 (2002).
40. Broxterman H. J., Lankelma J., Hoekman K.: *Drug Resist. Updat.* 6, 111 (2003).
41. Park J. H., Kwon S. G., Nam J. O., Park R. W., Chung H., Seo S. B., Kim I. S., Kwon I. C., Jeong S. Y.: *J. Controlled Release* 95, 579 (2004).
42. Zitzmann S., Ehemann V., Schwab M.: *Cancer Res.* 62, 5139 (2002).
43. Nasongkla N., Shuai X., Ai H., Weinberg B. D., Pink J., Boothman D. A., Gao J. M.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 43, 6323 (2004).
44. Hallahan D. E., Qu S. M., Geng L., Cmelak A., Chakravarthy, A., Martin W., Scarfone C., Giorgio T.: *Am. J. Clin. Oncol. Cancer Clin. Trials* 24, 473 (2001).
45. Hallahan D., Geng L., Qu S. M., Scarfone C., Giorgio T., Donnelly E., Gao X., Clanton J.: *Cancer Cell* 3, 63 (2003).
46. Shadidi M., Sioud M.: *FASEB J.* 2002, 16.
47. Fleisch H.: *Exp. Opin. Ther. Patents* 11, 1371 (2001).
48. Fleisch H.: *Breast Cancer Res.* 4, 30 (2002).
49. Shigematsu M., Shiomi S., Iwao H., Ochi H.: *Ann. Nucl. Med.* 16, 55 (2002).
50. Hirabayashi H., Takahashi T., Fujisaki J., Masunaga T., Sato S., Hiroi J., Tokunaga Y., Kimura S., Hata T.: *J. Controlled Release* 70, 183 (2001).
51. Hirabayashi H., Fujisaki J.: *Clin. Pharmacokinet.* 42, 1319 (2003).
52. Wang D., Miller S., Sima M., Kopečková P., Kopeček J.: *Bioconjugate Chem.* 14, 853 (2003).
53. Luo Y., Ziebell M. R., Prestwich G. D.: *Biomacromolecules* 1, 208 (2000).
54. Barinka C., Šácha P., Sklenář J., Man P., Bezouška K., Slusher B. S., Konvalinka J.: *Protein Sci.* 13, 1627 (2004).
55. Zalutsky M. R., Vaidyanathan G.: *Curr. Pharm. Design* 6, 1433 (2000).
56. Bae M., Cho S., Song J., Lee G. Y., Kim K., Yang J., Cho K., Kim S. Y., Byun Y.: *Drugs Exp. Clin. Res.* 29, 15 (2003).
57. Jelínková M., Strohalm J., Etrych T., Ulbrich K., Říhová B.: *Pharm. Res.* 20, 1558 (2003).
58. Kasuya Y., Lu Z. R., Kopečková P., Minko T., Tabibi S. E., Kopeček, J.: *J. Controlled Release* 74, 203 (2001).

59. Zijlstra J. M., Hoekstra O. S., Raijmakers P. G. H. M., Comans E. F. I., van der Hoeven J. J. M., Teule G. J. J., Jonkhoff A. R., von Tinteren H., Lammertsma A. A., Huijgens P. C.: *Br. J. Haematol.* 123, 454 (2003).
60. Leamon C. P., Low P. S.: *Drug Discov. Today* 6, 44 (2001).
61. Leamon C. P., Reddy J. A.: *Adv. Drug Delivery Rev.* 56, 1127 (2004).
62. Saul J. M., Annapragada A., Natarajan J. V., Bellamkonda R. V.: *J. Controlled Release* 92, 49 (2003).
63. Reddy J. A., Low P. S.: *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 15, 587 (1998).
64. Gabizon A., Horowitz A. T., Goren D., Tzemach D., Shmeeda H., Zalipsky S.: *Clin. Cancer Res.* 9, 6551 (2003).
65. Han H. K., Amidon G. L.: *AAPS PharmSci* 2000, 2.
66. Robinson M. A., Charlton S. T., Garnier P., Wang X. T., Davis S. S., Perkins A. C., Frier M., Duncan R.,

Savage T. J., Wyatt D. A., Watson S. A., Davis B. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 14527 (2004).

M. Hrubý^a, J. Kučka^b, J. Kozempel^b, and O. Lebeda^c (^a *Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, ^b *Department of Organic and Nuclear Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*, ^c *Nuclear Physics Institute, Academy of Sciences of the Czech Republic, Řež at Prague*): **Targeted Polymeric Drug Carriers in the Therapy of Tumor Diseases**

This review deals with the scope and limitations of targeted delivery of anticancer drugs using polymeric drug delivery systems. Currently studied targeting strategies are considered.



Katedra analytické chemie PŘF
Univerzity Palackého v Olomouci
ve spolupráci
s Českou společností chemickou
a firmou Merck, s.r.o. Praha



pořádá ve dnech

30. - 31. ledna 2006

SOUTĚŽ MLADÝCH ANALYTICKÝCH CHEMIKŮ “o cenu firmy Merck”

Vážené kolegyně a kolegové,

dovolujeme si Vás pozvat na 9. ročník soutěže o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie, která se uskuteční ve dnech **30. a 31. ledna 2006** na půdě katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Veškeré informace o soutěži naleznete na:

<http://ach.upol.cz/soutez>

Juraj Ševčík a Jan Petr za organizační výbor

Česká společnost chemická a časopis Chemické listy děkují firmě Merck za její podporu.