

## DERIVÁTY PAKLITAXELU PRO CÍLENÝ TRANSPORT CYTOSTATIKA

MARIE PŘIBYLOVÁ<sup>a,b</sup>, MARCELA DVOŘÁKOVÁ<sup>a,c</sup> a TOMÁŠ VANĚK<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratoř rostlinných biotechnologií, Společná laboratoř Ústavu experimentální botaniky AV ČR, v.v.i. a Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i., Rozvojová 263, 165 02 Praha 6, <sup>b</sup>Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Albertov 6, 128 43 Praha 2, <sup>c</sup>Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Albertov 6, 128 43 Praha 2  
vanek@ueb.cas.cz

Došlo 20.3.09, přepracováno 22.3.10, přijato 8.4.10.

Klíčová slova: paklitaxel, cílený transport léčiv

### Obsah

1. Úvod
2. Paklitaxel
3. Strategie cíleného transportu cytostatika do nádorové tkáně
4. Deriváty paklitaxelu pro cílený transport cytostatika
  - 4.1. Transport cytostatika s kyselinou listovou
  - 4.2. Transport cytostatika s kyselinou hyaluronovou
  - 4.3. Transport cytostatika s protilátkami
  - 4.4. Transport cytostatika s peptidovými hormony
    - 4.4.1. Somatostatin
    - 4.4.2. Oxytocin
  - 4.5. Transport cytostatika se steroidními hormony
    - 4.5.1. Estradiol
  - 4.6. Transport cytostatika s mastnými kyselinami
  - 4.7. Transport cytostatika se sacharidy
5. Závěr

### 1. Úvod

Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) zemřelo na rakovinu v roce 2004 ve světě 7,4 mil lidí, což představuje přibližně 13 % všech úmrtí<sup>1</sup>. V České republice mají zhoubné novotvary za následek každé čtvrté úmrtí. Vývoj počtu hlášených onemocnění má rostoucí trend; naštěstí vývoj úmrtnosti v ČR tento trend nekopíruje<sup>2</sup>.

V dnešní době existuje mnoho metod boje s nádorovým onemocněním, mezi ty základní patří onkologická chirurgie, chemoterapie a radioterapie.

Chemoterapie stejně jako ostatní jmenované metody má svá úskalí. Hlavním omezujícím prvkem při léčbě chemoterapeutiky je jejich nespecifický účinek, tzn. že klasická chemoterapeutika působí na buňky bez rozdílu, zda jde o nádorové či zdravé tkáně. Z tohoto důvodu je chemoterapie doprovázena řadou nežádoucích vedlejších účinků. Cílená chemoterapeutika jsou pro svou zvýšenou selektivitu vůči nádorovým buňkám slibnou budoucností pro redukci těchto nežádoucích účinků.

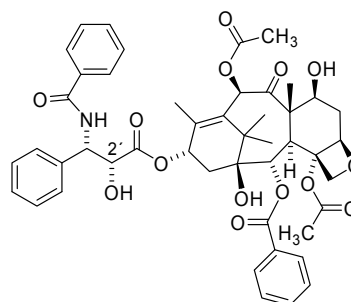
### 2. Paklitaxel

Paklitaxel, známý také pod obchodním názvem Taxol<sup>®</sup> (registrovaná obchodní značka firmy Bristol-Myers Squibb)<sup>3</sup>, patří do skupiny taxanů, přírodních diterpenoidů (obr. 1). Paklitaxel byl objeven v rámci programu National Cancer Institute, který prozkoumával protinádorovou účinnost tisíců extraktů rostlin<sup>4</sup>. Cytotoxická účinnost extraktu tisu *Taxus brevifolia* byla prokázána roku 1964 (cit.<sup>3</sup>) a roku 1971 byla poprvé publikována struktura paklitaxelu jako účinné složky tohoto extraktu<sup>5</sup>.

Cytostatická účinnost paklitaxelu spočívá v jeho schopnosti stabilizovat mikrotubuly a blokovat jejich depolymerizaci zpět na tubulin<sup>6</sup>. Mikrotubuly patří mezi životně důležité buněčné struktury, které se účastní nejen dělení buněk. Zásahem do funkce mikrotubulů se zastaví buněčné dělení.

Problémem při aplikaci paklitaxelu je jeho nízká rozpustnost ve vodě. Tento problém byl částečně vyřešen jeho intravenosním podáváním ve formě směsi ethanolu s derivatizovaným ricinovým olejem Cremophorem EL<sup>®</sup> (registrovaná obchodní značka firmy BASF Corporation)<sup>7</sup>.

Paklitaxel našel široké klinické využití. Poprvé byl schválen v roce 1992 americkou Food and Drug Administration pro léčbu nádorů vaječníků<sup>3</sup>. Dnes je paklitaxel používán při léčbě karcinomu prsu, vaječníků a určitých forem karcinomu plic<sup>8</sup>.



Obr. 1. Struktura paklitaxelu

Stejně jako ostatní cytostatika vykazuje paklitaxel u pacientů nežádoucí vedlejší účinky, jako např. reakce z přecitlivělosti na paklitaxel, neutropenie či periferní neuropatie<sup>4,9</sup>. Některé z těchto nežádoucích účinků jsou spojovány nejen se samým cytostatikem, ale také s jeho pomocnou látkou, již dříve zmiňovaným Cremophorem EL.

### 3. Strategie cíleného transportu cytostatika do nádorové tkáně

Jak již bylo zmíněno v úvodu, hlavním nedostatkem chemoterapeutik je jejich neselektivita cytotoxicity vůči nádorovým buňkám. Cílená chemoterapie je jednou z možností, jak tento nedostatek zmírnit a zvýšit efektivitu léčby. Důležitým pozitivem, souvisejícím se snížením nežádoucích vedlejších účinků léčby, je zlepšení života pacienta během léčby.

Strategie cíleného transportu je založena na faktu, že nádorové buňky se od zdravých buněk liší v některých strukturálních prvcích a dějích. Na základě toho jsou hledány látky, které po navázání na cytostatikum fungují jako nosiče či navigátory k těmto specifickým strukturám a pomáhají při vstupu cytostatika do buňky. Významnou roli přitom hraje také vazba cytostatika s touto navigační molekulou, tzv. spojka. Spojka musí zajistit takovou vazbu s cytostatikem, která neporuší schopnost vazby navigační molekuly na její receptory, a také nedovolí uvolnění cytostatika z výsledného konjugátu před dosažením cílové tkáně.

### 4. Deriváty paklitaxelu pro cílený transport cytostatika

Přípravu jednoho z prvních cílených konjugátů paklitaxelu publikoval Safavy<sup>10</sup> v roce 1999. Od té doby byla připravena řada cílených derivátů paklitaxelu lišících se ve svém přepravci k cílovým buňkám. V této práci bude podán průřez pracemi z posledních 10 let.

#### 4.1. Transport cytostatika s kyselinou listovou

Kyselina listová (pteroylglutamová kyselina) je důležitým ve vodě rozpustným vitamínem<sup>11</sup>. Kyselina listová je nezbytná pro normální růst buňky a její dělení. Redukovaná forma tohoto vitamínu, kyselina tetrahydrolistová (tetrahydrofolát), je koenzymem, který se účastní reakcí, při nichž se přenášejí jednoválcové zbytky<sup>12</sup>.

Folátový transport je prováděn dvěma rozdílnými systémy<sup>13</sup>. Z hlediska cílených derivátů cytostatik je důležitý přenos folátovými receptory, které jsou vázány k povrchu buňky přes glykosylfosfatidylinositolovou kotvu a přenos se děje endocytózou zprostředkovanou receptorem<sup>14</sup>.

Byly popsány<sup>15</sup> tři isoformy folátových receptorů – FR $\alpha$ , FR $\beta$  a FR $\gamma$ . Každá z těchto isoform se nachází na

specifické tkáni a má jinou vazebnou schopnost. Folátové receptory jsou ve velkém množství exprimovány mnoha druhy nádorových buněk, např. karcinomem vaječnicků či ledvin<sup>16</sup>.

Lee<sup>17</sup> připravil konjugáty kyseliny listové s paklitaxelem kovalentně vázaným na  $\gamma$ -karboxylovou skupinu folátu přes různé oligo(ethylenglykolové) spojky. Takto připravené konjugáty mají mít zachovanou schopnost vázat se na receptory a prostupovat do buňky endocytózou zprostředkovanou receptorem. Na základě testů hydrolyzy připravených konjugátů a testů *in vitro* v buněčných kulturách byl pro zkoušení *in vivo* vybrán konjugát paklitaxel-7-PEG-folát. U tohoto konjugátu byla zachována vazebná afinita k folátovým receptorům a v testech *in vivo* prokázána menší toxicita než u paklitaxelu. Konjugát ovšem nebyl v testech *in vitro* v buněčných kulturách selektivní vůči tumorovým buňkám s expresí folátových receptorů a v testech *in vivo* neprokázal zvýšenou účinnost ve srovnání s paklitaxelem<sup>17</sup>.

Autoři Wu, Liu a Lee<sup>18</sup> popsali originální způsob propojení liposomu a kyseliny listové jako nosičů paklitaxelu k folátovým receptorům. Liposom byl zvolen jako náhrada běžně používaného rozpouštědla Cremophor EL, čímž se měly eliminovat nežádoucí vedlejší účinky této látky. Další výhodou tohoto propojení měla být prodloužená cirkulace léčiva v systému a jeho selektivní cílení k folátovým receptorům na nádorových buňkách. Liposomy byly složeny ze směsi lipidů a folátu vázaného přes poly(ethylenglykol). Molární poměr cytostatikum:lipidy činil 1:33. Testy cytotoxicity byly provedeny v buněčné linii karcinomu úst KB, která má zvýšenou koncentraci folátových receptorů. Závěr této práce byl velmi pozitivní, neboť se ukázalo, že buněčný příjem liposomů nesoucích folát je vyšší než liposomů bez něj. Na základě pokusu, v němž byl buněčný příjem těchto liposomů blokován v závislosti na volném folátu, je možné dojít k závěru, že tyto liposomy jsou aktivní v interakci s folátovými receptory. U paklitaxelu v liposomech nesoucích folát byla IC<sub>50</sub> (koncentrace látky, která usmrtí 50 % buněk za určitou dobu expozice ve srovnání s kontrolou) přibližně čtyřikrát nižší než u paklitaxelu v necílených liposomech. IC<sub>50</sub> paklitaxelu rozpuštěného ve směsi Cremophor EL/ethanol byla ve srovnání s paklitaxelem v cílených liposomech přibližně 2,5 krát vyšší.

Další publikace, která se týká využití listové kyseliny a paklitaxelu k syntéze cíleného derivátu cytostatika, vyšla nedávno<sup>19</sup>. V této práci byly použity nanočástice připravené ze směsi poly(laktidu)-*d*- $\alpha$ -tokoferyl-poly(ethylenglykol)-sukcinátu a *d*- $\alpha$ -tokoferyl-poly(ethylenglykol)-sukcinátu s navázaným folátem. Paklitaxel zapouzdřený v těchto nanočásticích vykázal mnoho výhod ve srovnání s volným paklitaxelem. Pozitivním výsledkem byl důkaz, že částice s vázaným folátem jsou zacíleny na příslušné nádorové buňky, čímž se zvyšuje terapeutický efekt a snižují vedlejší účinky paklitaxelu.

#### 4.2. Transport cytostatika s kyselinou hyaluronovou

Kyselina hyaluronová (HA) je biopolysacharid vyskytující se v organismech. Mezi hlavní biologické funkce HA patří podpora viskoelasticity pojivových tkání a řízení hydratace tkání.

Kyselina hyaluronová je vysoce hydrofilní a v těle na sebe váže vodu. Její viskózní roztoky pak působí jako mazadla v pohyblivých částech těla, jako jsou klouby<sup>20</sup>. Bylo zjištěno, že kyselina hyaluronová hraje určitou roli i v procesu růstu nádorů<sup>21</sup>.

Receptory kyseliny hyaluronové CD44 a RHAMM jsou výrazně více exprimovány řadou nádorů, např. vaječnicků, žaludku či akutní leukemie<sup>20</sup>.

Auzenne<sup>22</sup> připravil na základě předchozí práce<sup>23</sup> konjugát paklitaxelu a kyseliny hyaluronové, v němž bylo využito této kyseliny jako hydrofilního nosiče, který zároveň pomáhá při specifickém příjmu léčiva receptory CD44. Testy byly prováděny v buněčných liniích karcinomu vaječnicků NMP-1 a SKOV-3ip, které exprimují receptory CD44. Selektivita buněčného příjmu konjugátu byla zjišťována blokováním receptorů CD44 volnou kyselinou hyaluronovou a následnou aplikací konjugátu paklitaxelu s kyselinou hyaluronovou. Výsledkem byla snížená cytotoxicita konjugátu ve srovnání s cytotoxicitou bez aplikace volné kyseliny hyaluronové. Tento závěr potvrzuje, že konjugát je přijímán hlavně CD44 receptory. Byly provedeny testy *in vivo*, v nichž prokazoval tento konjugát slibnou účinnost.

#### 4.3. Transport cytostatika s protilátkami

Monoklonální protilátky našly v protinádorové léčbě široké využití. Protilátky jsou v léčbě používány samostatně nebo mohou být konjugovány s radionuklidem či toxinem<sup>24</sup>.

Safavy<sup>25</sup> připravil konjugát paklitaxelu s monoklonální protilátkou cílenou na receptory epidermálního růstového faktoru. Tato protilátka – Erbitux (C225) – byla navázána amidovou vazbou na 2'-sukcinylpaklitaxel. Receptory pro epidermální růstový faktor (EGFR) jsou exprimovány např. buňkami karcinomu jícnu a plic<sup>26</sup>. EGFR hraje roli v buněčných procesech, jako je buněčné rozmnožování či ochrana před programovanou buněčnou smrtí<sup>27</sup>. Byla prokázána zvýšená cytotoxicita konjugátu paklitaxel-C225 ve srovnání s volným paklitaxelem, protilátkou C225 a směsí paklitaxelu s protilátkou C225 v buněčných liniích (A431, UM-SCC-1 a UM-SCC-6), které vyjadřují receptory epidermálního růstového faktoru. V testech *in vivo* byla sledována biodistribuce značeného konjugátu paklitaxel-C225 a protilátky C225. Vzhledem k tomu, že obě látky byly nalezeny ve stejných tkáních, bylo doloženo, že vazba paklitaxelu na protilátku neovlivňuje vazebné místo protilátky na antigen.

V další práci<sup>28</sup> byl paklitaxel spojen s protilátkou MC192, která je cílena na receptory p75. Receptor p75 je transmembránový receptor pro neurotrofiny. Mezi neurotrofiny patří např. nervový růstový faktor (NGF), neurotro-

fin 3 (NT3) nebo neurotrofin 4/5 (NT4/5). S nervovým růstovým faktorem je kromě receptoru p75 spojen ještě receptor trkA. Receptory trkA či p75 jsou exprimovány buňkami některých nádorů, např. melanomu<sup>29</sup>. Protilátka MC192 byla vázána na 2'-glutaryl-paklitaxel amidovou vazbou. Bylo zjištěno, že vazba paklitaxelu na tuto protilátku v poměru 1:1 neovlivňuje její vazebnou schopnost. Testy *in vitro* byly provedeny v buněčných liniích neuroblastomu B104 a prokázaly vyšší účinnost a selektivitu konjugátu ve srovnání s paklitaxelem při stejné koncentraci. V testech *in vivo* měl konjugát paklitaxel-MC192 významnou protinádorovou účinnost<sup>28</sup>.

#### 4.4. Transport cytostatika s peptidovými hormony

Další skupinou látek, které mají své receptory exprimovány nádorovými buňkami a mohou tedy sloužit jako nosiče paklitaxelu k určitým tkáním, jsou hormony. Tato kapitola je rozdělena na podkapitoly podle struktury hormonů, které se dělí na peptidové a steroidní<sup>30</sup>.

##### 4.4.1. Somatostatin

Somatostatin (SST) je tetradekapeptid, který vykazuje široké spektrum biologické účinnosti. Hlavní úlohou somatostatinu je zamezit uvolňování růstového hormonu. Somatostatin má antiproliferační (tlumící růst) vliv na některé druhy nádorů. Vzhledem k rychlé degradaci somatostatinu bylo intenzivně pracováno na přípravě jeho analogů s delší dobou působení, vyšší odolností proti degradaci a zvýšenou účinností. Vazebná místa pro somatostatin a jeho analogy byla nalezena na některých druzích nádorů<sup>31</sup>.

Huang<sup>32</sup> připravil konjugát paklitaxelu s oktapeptidovým analogem somatostatinu – oktrotidem (SMS 201-995, Sandostatin<sup>TM</sup>). Konjugát byl připraven navázáním oktrotidu na 2'-sukcinylpaklitaxel. Pro testy cytotoxicity a selektivity tohoto konjugátu byla vybrána buněčná linie karcinomu prsu MCF-7 a buněčná linie CHO (buňky z vaječnicků čínského křečka). V testech byla sledována struktura mikrotubulů, jader a chromatinu buněk po léčbě paklitaxelem, konjugátem oktrotid-paklitaxel a bez cytostatik. Z těchto pozorování byly vyvozeny závěry, že si konjugát zachoval biologickou aktivitu paklitaxelu. Selektivita cytotoxicity konjugátu byla sledována v již zmíněných buňkách MCF-7 (vysoká koncentrace somatostatinových receptorů) a buňkách CHO (nízká koncentrace somatostatinových receptorů). Na rozdíl od buněčné linie MCF-7, kde měl konjugát pouze mírně sníženou cytotoxicitu ve srovnání s paklitaxelem, byla cytotoxicita konjugátu v buněčné linii CHO výrazně nižší. Vstup konjugátu do buňky endocytózou zprostředkovanou somatostatinovými receptory (SSTR) byl zjišťován inkubací MCF-7 buněk s volným oktrotidem a následnou aplikací konjugátu. Výsledkem byla snížená cytotoxicita konjugátu ve srovnání s cytotoxicitou bez volného oktrotidu.

##### 4.4.2. Oxytocin

Hormon oxytocin (OT) je hypothalamický nonapep-

tid, který má mnoho biologických funkcí. Tou hlavní je působení oxytocinu na dělohu při porodu, další je např. vylučování mléka. Oxytocin má vliv i na chování jedinců spojené s reprodukcí a starostí o potomstvo<sup>33</sup>. Důvod, proč byl tento hormon vybrán jako nosič paklitaxelu, je výskyt jeho receptorů mimo jiné na nádorových buňkách prsu<sup>34</sup>.

Cavallaro<sup>35</sup> připravil konjugát paklitaxelu s oxytocinem, v němž byl využit jako nosič  $\alpha, \beta$ -poly[*N*-(2-hydroxyethyl)-DL-aspartamid] (PHEA) s navázaným poly(ethylen glykolem) (PEG). Tento polymerní nosič PHEA-PEG2000 slouží ke zvýšení rozpustnosti látky a k prodloužení přítomnosti léčiva v krevním oběhu. Struktura výsledného konjugátu tedy byla PHEA-PEG2000-sukcinyloxytocin-sukcinylpaklitaxel. Konjugát obstál v testech stability *in vitro*. Předběžné testy cytotoxicity byly provedeny s buňkami karcinomu prsu MCF-7, které exprimují oxytocinové receptory<sup>34</sup>. Testován byl paklitaxel, sukcinylpaklitaxel, PHEA-PEG2000-sukcinylpaklitaxel a PHEA-PEG2000-sukcinyloxytocin-sukcinylpaklitaxel. Testy *in vitro* v buněčných liniích ukázaly, že paklitaxel, sukcinylpaklitaxel a cílený konjugát PHEA-PEG2000-sukcinyloxytocin-sukcinylpaklitaxel vykazují téměř stejnou inhibiční účinnost, zatímco necílený konjugát PHEA-PEG2000-sukcinylpaklitaxel měl poloviční inhibiční účinnost. Tyto výsledky potvrzují, že vazba oxytocinu jako nosiče cytostatika k jeho receptorům zvyšuje cytotoxickou účinnost ve srovnání s necíleným derivátem.

#### 4.5. Transport cytostatika se steroidními hormony

Další skupinou potenciálních navigátorů paklitaxelu k cílovým tkáním jsou steroidní hormony.

##### 4.5.1. Estradiol

Estradiol-17 $\beta$  je pohlavní hormon patřící do skupiny estrogenů. Tento hormon je vylučován především vaječníky<sup>30</sup>. Estradiol se váže na dva typy receptorů ER- $\alpha$  a ER- $\beta$ . Estrogenní receptory (ER) jsou exprimovány např. buňkami nádoru prsu<sup>36</sup>.

Liu<sup>37</sup> připravil konjugáty paklitaxelu v polohách 2', 7 a 10 a estradiolu v polohách 11 a 16. Testy cytotoxicity byly provedeny v buněčné linii karcinomu vaječníků A2780 (ER negativní), v buněčné linii karcinomu prostaty PC-3 (ER- $\beta$  pozitivní) a ve dvou buněčných liniích karcinomu prsu MDA-MB-231 (ER- $\beta$  pozitivní) a MCF-7 (ER- $\alpha$  pozitivní).

Oba konjugáty, v kterých byla využita 2' poloha paklitaxelu, byly v buněčné linii karcinomu prostaty PC-3 téměř stejně účinné jako paklitaxel, jeden z konjugátů byl dokonce účinnější než paklitaxel. V obou buněčných liniích karcinomu prsu byly konjugáty méně účinné než paklitaxel. V těchto buněčných liniích byla cytotoxicita konjugátu vyšší v buněčné linii MDA-MB-231 (ER- $\beta$  pozitivní) ve srovnání s cytotoxicitou konjugátů v buněčné linii MCF-7 (ER- $\alpha$  pozitivní). Vzhledem k vyšší účinnosti konjugátů v buněčných liniích ER- $\beta$  pozitivních je možné předpokládat, že jsou tyto konjugáty cíleny k tomuto typu

estrogenových receptorů.

Oba konjugáty v poloze 7 paklitaxelu byly méně účinné než paklitaxel v buněčné linii karcinomu prostaty PC-3. Tyto konjugáty byly také mnohem méně účinné než paklitaxel v obou buněčných liniích karcinomu prsu. V těchto buněčných liniích byla cytotoxicita konjugátů pouze mírně vyšší v buněčné linii MCF-7 (ER- $\alpha$  pozitivní) ve srovnání s cytotoxicitou konjugátů v buněčné linii MDA-MB-231 (ER- $\alpha$  negativní).

Konjugát vytvořený v poloze 10 paklitaxelu projevoval cytotoxicitu srovnatelnou s paklitaxelem v buněčné linii PC-3. Konjugát byl výrazně méně účinný než paklitaxel v obou buněčných liniích karcinomu prsu. V těchto buněčných liniích byla cytotoxicita konjugátu několikrát vyšší v buněčné linii MCF-7 ve srovnání s cytotoxicitou konjugátu v buněčné linii MDA-MB-231.

#### 4.6. Transport cytostatika s mastnými kyselinami

Tento způsob transportu cytostatika k nádorovým tkáním se liší od předchozích způsobů. Není spojen s receptory cílových buněk, ale vychází z metabolismu nádorových buněk, které často ve zvýšené míře přijímají některé mastné kyseliny. Předpokládá se, že mastné kyseliny slouží nádorovým buňkám jako zdroj uhlíku<sup>38</sup>. Některé nenasyčené mastné kyseliny hrají také roli v prevenci nádorových onemocnění<sup>39</sup>.

Bradley<sup>40</sup> připravil 2'-*O*-acylkonjugát paklitaxelu a dokosaheptaenové kyseliny (DHA). DHA je  $\omega$ -3 přírodní nenasyčená mastná kyselina s šesti dvojnými vazbami.  $\omega$ -3-Nenasyčené mastné kyseliny jsou důležitě pro např. vývoj a funkci sítnice či mozkové kůry<sup>41</sup>.

Konjugát DHA-paklitaxel byl testován *in vitro* v 56 liniích nádorových buněk (test NCI) zahrnujících buňky leukemie, melanomu, nádorů plic a mnoho dalších. V tomto testu projevoval konjugát DHA-paklitaxel nižší cytotoxicitu ve srovnání s paklitaxelem. U obou látek – paklitaxelu i konjugátu DHA-paklitaxel – byl buněčný cyklus zablokovan v G<sub>2</sub>-M fázi buněčného cyklu. Bylo zjištěno, že konjugát DHA-paklitaxel je v testech *in vivo* méně toxický než paklitaxel. U obou látek byla myelosuprese limitujícím činitelem při zvyšování dávek. V experimentech na myších, jimž byl naočkován karcinom plic M109, vykázal konjugát DHA-paklitaxel mnohem vyšší protinádorovou účinnost ve srovnání s paklitaxelem. Další testy byly prováděny na myších, jimž byl implantován HT-29 lidský karcinom tlustého střeva. V těchto testech projevil konjugát DHA-paklitaxel vyšší účinnost než sám paklitaxel.

S cílem potvrdit předpoklad, že se účinnost konjugátu zvyšuje připojením DHA kyseliny, byla porovnána farmakokinetika konjugátu DHA-paklitaxel a paklitaxelu u myší s karcinomem plic M109. Bylo zjištěno, že koncentrace paklitaxelu pocházejícího z konjugátu DHA-paklitaxel zůstává v tumoru zvýšená po delší dobu než po podání samotného paklitaxelu<sup>40</sup>.

## 4.7. Transport cytotatika se sacharidy

D-Glukosa je základním zdrojem energie a důležitým článkem chemických pochodů. Je přijímána v potravě nebo syntetizována při glukoneogenezi. Glukosa je do buněk transportována integrálními transportními proteiny. Tyto přenašeče tvoří dvě strukturně a funkčně odlišné skupiny. V první skupině transportérů SGLT (1-6) je přenos glukosy spojen s transportem sodíku, jde o sekundární aktivní transport. Ten se uplatňuje při transportu glukosy proti koncentračnímu gradientu. Druhý typ přenosu glukosy přes membránu probíhá mechanismem usnadněné difuze a účastní se ho transportéry GLUT (1-12). GLUT transportéry se liší kinetikou, lokalizací a citlivostí na insulin<sup>42</sup>. Nádorové buňky často přijímají více glukosy než normální buňky. Tento příjem se uskutečňuje s účastí transportních proteinů GLUT, které jsou u nádorových buněk exprimovány ve vyšším množství než u zdravých buněk<sup>43</sup>.

Proto Liu<sup>44</sup> připravil konjugát paklitaxelu s methyl- $\alpha$ -D-glukopyranosidem vázaným v poloze 2' sukcinátovou spojkou. Tento konjugát paklitaxelu je rozpustnější ve vodě ve srovnání s paklitaxelem. Konjugát byl testován v osmi nádorových buněčných liniích, kde projevil nižší účinnost než paklitaxel. Výjimkou byla buněčná linie karcinomu prsu MCF-7, kde byl konjugát podobně účinný jako paklitaxel. Tato buněčná linie se vyznačuje několika isoformami glukosových transportérů (GLUT)<sup>45</sup>. Konjugát byl také testován v linii zdravých buněk RPTEC, kde neprojevoval cytotoxicitu, zatímco paklitaxel růst těchto zdravých buněk silně inhiboval. Vzhledem k tomu lze u konjugátu předpokládat nižší toxicitu pro zdravé buňky než u paklitaxelu a usnadněný přenos konjugátů glukosovými transportéry (GLUT).

## 5. Závěr

Cílené deriváty cytotatik jsou cenným přínosem při léčbě nádorových onemocnění. Bylo již publikováno mnoho prací na toto téma a jejich počet stále roste. Výběr molekul, které mohou působit jako navigátor cytotatika k určitým tkáním, závisí na stupni znalosti vlastností nádorových buněk. Lze tedy předpokládat, že se cytotatika budou stále zlepšovat. V této práci je uveden přehled prací, které se zabývají přípravou cílených derivátů paklitaxelu. Vhodné nosiče paklitaxelu ke specifickým tkáním jsou kyselina listová, kyselina hyaluronová, protilátky, peptidové hormony, steroidní hormony a sacharidy. Mnoho konjugátů paklitaxelu projevovalo slibnou protinádorovou účinnost v testech *in vitro* i *in vivo*. Naše laboratoř se zabývá přípravou konjugátů paklitaxelu především s peptidovými hormony, jejichž protinádorová účinnost se zjišťuje ve vybraných nádorových buněčných liniích. Příprava těchto konjugátů je předmětem patentu<sup>46</sup>.

## LITERATURA

1. World Health Organization. [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html), staženo 25.2.2009.
2. Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky: *Zdravotnictví České republiky 2007 ve statistických údajích* (2008); [www.uzis.cz](http://www.uzis.cz), staženo 3.12.2008.
3. Suffness M., Wall M. E., v knize: *Taxol<sup>®</sup>: Science and Applications* (Suffness M., ed.), kap. 1. CRC Press, Boca Raton 1995.
4. Rowinsky E. K., Donehower R. C.: *N. Engl. J. Med.* 332, 1004 (1995).
5. Wani M. C., Taylor H. L., Wall M. E., Coggon P., McPhail A. T: *J. Am. Chem. Soc.* 93, 2325 (1971).
6. Schiff P. B., Fant J., Horwitz S. B.: *Nature* 277, 665 (1979).
7. Straubinger R. M., v knize: *Taxol<sup>®</sup>: Science and Applications* (Suffness M., ed.), kap. 9. CRC Press, Boca Raton 1995.
8. Příbalová informace léku Paclitaxel-Teva 6 mg/ml firmy Teva Pharmaceuticals CR, s.r.o., Česká republika.
9. Arbuck S. G., Blaylock B. A., v knize: *Taxol<sup>®</sup>: Science and Applications* (Suffness M., ed.), kap. 14. CRC Press, Boca Raton 1995.
10. Safavy A., Raisch K. P., Khzaeli M. B., Buchsbaum D. J., Bonner J. A.: *J. Med. Chem.* 42, 4919 (1999).
11. Eichholzer M., Tönz O., Zimmermann R.: *Lancet* 367, 1352 (2006).
12. Choi S. W., Mason J. B.: *J. Nutr.* 130, 129 (2000).
13. Kelemen L. E.: *Int. J. Cancer* 119, 243 (2006).
14. Kamen B.A., Capdevila A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 5983 (1986).
15. Antony A. C.: *Annu. Rev. Nutr.* 16, 501 (1996).
16. Parker N., Turk M. J., Westrick E., Lewis J. D., Low P. S., Leamon C.P.: *Anal. Biochem.* 338, 284 (2005).
17. Lee J. W., Lu J. Y., Low P. S., Fuchs P. L.: *Bioorg. Med. Chem.* 10, 2397 (2002).
18. Wu J., Liu Q., Lee R. J.: *Int. J. Pharm.* 316, 148 (2006).
19. Pan J., Feng S.-S.: *Biomaterials* 29, 2663 (2008).
20. Necas J., Bartosikova L., Brauner P., Kolar J.: *Vet. Med.* 53, 397 (2008).
21. Lin G., Stern R.: *Cancer Lett.* 163, 95 (2001).
22. Auzenne E., Ghosh S. C., Khodadadian M., Rivera B., Farquhar D., Price R. E., Ravoori M., Kundra V., Freedman R. S., Klostergaard J.: *Neoplasia* 9, 479 (2007).
23. Luo Y., Ziebell M. R., Prestwich G. D.: *Biomacromolecules* 1, 208 (2000).
24. Klener P.: *Onkologie* 2, 33 (2008).
25. Safavy A., Bonner J. A., Waksal H. W., Buchsbaum D. J., Gillespie G. Y., Khzaeli M. B., Arani R., Chen D.-T., Carpenter M., Raisch K. P.: *Bioconjugate Chem.* 14, 302 (2003).
26. Salomon D. S., Brandt R., Ciardiello F., Normanno N.: *Crit. Rev. Oncol./Hematol.* 19, 183 (1995).

27. Adam Z., Pour L., Vorlíček J., Hájek R., Koptíková J., Šmardová J.: *Remedia* 15, 390 (2005).
28. Guillemard V., Saragovi H. U.: *Cancer Res.* 61, 694 (2001).
29. Saragovi H. U., Gehring K.: *Trends Pharmacol. Sci.* 21, 93 (2000).
30. Hanč O., Pádr Z.: *Hormony*. Academia, Praha 1982.
31. Schally A. V.: *Cancer Res.* 48, 6977 (1988).
32. Huang C. M., Wu Y. T., Chen S. T.: *Chem. Biol.* 7, 453 (2000).
33. Gimpl G., Fahrenholz F.: *Physiol. Rev.* 81, 629 (2001).
34. Ito Y, Kobayashi T., Kimura T., Matsuura N., Wakasugi E., Takeda T., Shimano T., Kubota Y., Nobunaga T., Makino Y., Azuma C., Saji F., Monden M.: *Endocrinology* 137, 773 (1996).
35. Cavallaro G., Maniscalco L., Campisi M., Schillaci D., Giammona G.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 66, 182 (2007).
36. Bird C. E., Houghton B., Westenbrink W., Tenniswood M., Sterns E. E., Clark A. F.: *Can. Med. Assoc. J.* 124, 1010 (1981).
37. Liu C., Strobl J. S., Bane S., Schilling J. K., McCracken M., Chatterjee S. K., Rahim-Bata R., Kingston D. G. I.: *J. Nat. Prod.* 67, 152 (2004).
38. Sauer L. A., Nagel W. O., Dauchy R. T., Miceli L. A., Austin J. E.: *Cancer Res.* 46, 3469 (1986).
39. Larsson S. C., Kumlin M., Ingelman-Sundberg M., Wolk A.: *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 935 (2004).
40. Bradley M. O., Webb N. L., Anthony F. H., Devanesan P., Witman P. A., Hemamalini S., Chander M. C., Baker S. D., He L., Horwitz S. B., Swindell C. S.: *Clin. Cancer Res.* 7, 3229 (2001).
41. Connor W. E., Neuringen M.: *Prog. Clin. Biol. Res.* 282, 275 (1988).
42. Wood I. S., Trayhurn P.: *Br. J. Nutr.* 89, 3 (2003).
43. Ito S., Fukusato T., Nemoto T., Sekihara H., Seyama Y., Kubota S.: *J. Natl. Cancer Inst.* 94, 1080 (2002).
44. Liu D. Z., Sinchaikul S., Reddy P. V. G., Chang M. Y., Chen S. T.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 617 (2007).
45. Grover-McKay M., Walsh S. A., Seftor E. A., Thomas P. A., Hendrix M. J. C.: *Pathol. Oncol. Res.* 4, 115 (1998).
46. Vaněk T., Příbylová M., Dvořáková M., Barth T. (Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i.): CZ 301004 B6.

**M. Příbylová<sup>a,b</sup>, M. Dvořáková<sup>a,c</sup>, and T. Vaněk<sup>a</sup>**  
<sup>a</sup> *Laboratory of Plant Biotechnologies, Joint Laboratory of Institute of Experimental Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic and Research Institute of Crop Production, Prague,* <sup>b</sup> *Department of Biochemistry,* <sup>c</sup> *Department of Organic and Nuclear Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic):* **Paclitaxel Derivatives for Targeted Delivery to Cancer Cells**

Paclitaxel is an important anticancer drug, which is used for treatment of ovarian, breast and lung cancer. The paclitaxel treatment shows two main limitations – poor water solubility of the drug and lack of tumor-specificity. Conjugation of paclitaxel with specific targeting compounds might improve its effectivity and decrease undesirable side effects. This review resumes the research results in the last ten years. Many targeted conjugates of paclitaxel were developed, folic acid, hyaluronic acid, monoclonal antibodies, hormones, fatty acids and glucose being used as tumor-targeting moieties in the conjugates. The conjugates were tested for cytotoxicity; many of them possess a better anticancer activity than free paclitaxel. The targeted delivery of paclitaxel to cancer cells is a potential promising chemotherapy.