

Daganat-kemoterápiás kutatások Magyarországon az 1950–2000 közötti években

JENEY ANDRÁS, KRALOVÁNSZKY JUDIT, LAPIS KÁROLY

Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

Levezézési cím:

Dr. Jeney András, Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, 1085 Budapest, Üllői út 26.
E-mail: ajeney@korb1.sote.hu

Közlésre érkezett:

2017. november 23.

Elfogadva:

2017. november 30.

A jelen áttekintés a hazai daganat-kemoterápia történetéről a hatásmechanizmus kutatásának a jelentőségére kívánja felhívni a figyelmet, mivel annak eredményeiből újdonságértékű és klinikailag hasznosítható ismeretek származnak. A múlt század második felében Magyarországon onkológiai célból előállított vegyületek az alábbi új onkofarmakológiai tulajdonságokkal rendelkeztek. A Myelobromol (dibrómmanit, DBM) csontvelő-károsító hatása irányította a figyelmet a CML terápiájában történő alkalmazás lehetőségére, továbbá a DBM igen hasznosnak bizonyult a csontvelő-transzplantáció előkészítésében is. A farmakokinetikai vizsgálatok kimutatták az Elobromol (dibrómducit, DBD) bejutását az agyba, amely elindította alkalmazását egyes agydaganatok terápiájára. A kémiai szerkezetében egymáshoz közel álló dezoxiuridinszármazékok ígéretes onkofarmakológiai hatásokat mutattak a preklinikai vizsgálatokban. Az 5-etil-2'-deoxiuridin a dihidropirimidin-dehidrogenáz gátlása útján emeli az 5-fluorouracil koncentrációját a vérben, amely kedvez a tumorgátló hatásnak. Az 5-hexil-2'-deoxiuridin gátolja a tumorok áttétképzését, amely a csökkent heparánszulfát-proteoglikán-szintézisnek tulajdonítható. A jelen beszámoló ismertetést nyújt a preklinikai vizsgálatokban ígéretesnek talált hatóanyagokról, pl. aminoszteroidok, gonadotropin, hatékonyabb antiösztrogének és kevésbé toxikus új vinkaalkaloidák. *Magy Onkol* 61:375–382, 2017

Kulcsszavak: gyógyszertervezés, hatásmód, farmakokinetika, metasztázis, klinikai alkalmazás

The present review about the history of anticancer drug research in Hungary intends to call attention to the importance of studies on their mode of action. Several lines of evidence suggest that clinically usable oncopharmacological properties could be revealed by this way. Among the numerous compounds certain alkylating sugar alcohols and 2'-deoxyuridine derivatives were submitted to detailed investigations concerning their mode of action. Myelobromol with selective action on the myeloid elements of bone marrow has been justified for its application in chronic myeloid leukemia therapy and also in bone marrow ablation before transplantation. Mitolactol is able to cross blood-brain barrier, consequently could control certain brain tumors. 5-ethyl-2'-deoxyuridine by reducing dihydropyrimidine dehydrogenase activity is able to increase 5-fluorouracil concentration in the blood, resulting in improved antitumor effect. In contrast, 5-hexyl-2'-deoxyuridine, as an inhibitor of glycoconjugate pathway by reducing heparan sulfate production, has the ability to prevent metastasis. Noteworthy, the remarkable effects of vinca alkaloids, antiestrogens, and GNRH analogues were also presented in this review.

*Jeney A, Kralovánszky J, Lapis K. Anticancer drug research in Hungary, 1950–2000. *Magy Onkol* 61:375–382, 2017*

Keywords: drug design, mode of action, pharmacokinetics, metastasis, clinical application

A HAZAI DAGANAT-KEMOTERÁPIÁS KUTATÁSOK GYÖKEREI

A daganat-kemoterápiás kutatások a XX. század első felében kezdődtek el, miután a patológiai tanulmányok rámutattak a terápia célpontjára, és rendelkezésre álltak a kémiai vegyületek tumorgátló hatásának kimutatására alkalmas módszerek. A patológiai vizsgálatok alapján a daganatterápia célpontjának a malignus kórkép kiemelkedő jellemzőjét, az osztódó tumor növekedését lehet tekinteni. A tumornövekedés vizsgálatára a kis állatokban transzplantálható tumorok mutatkoztak ígéretesnek.

A daganat-kemoterápiás kutatások harmadik tényezője, az iránymutató kémiai szerkezet sokáig hiányzott. A megoldást az első világháborúban harci gázként alkalmazott mustárgáz okozta csontvelő-károsodás felismerése jelentette, mivel az a mustárgáz reaktív csoportjának, a klóretilaminnak a sejtosztódást gátló hatására utalt (1, 2). Ez ösztönözte a mustárgáz tumorbiológiai vizsgálatára több országban, így Magyarországon is az 1920–1930-as években (3, 4). Sellei és Jány a mustárgázzal kezelt tumorsejtek glikolízisének csökkenéséről és a sejtlegzés fokozódásáról számolt be 1931-ben (4). Ugyanezekben az években Németh és Sellei a mustárgáz tumornövekedést gátló hatását állapította meg kísérleti állatokban (5). A mustárgáz bomlékonysága és a normális sejtekkel szembeni toxicitása indokolta a kémiai szerkezet módosítását, amelynek eredményeként Goodman és Gilman a mustárnitrogént (bisz-2-klóretilamin-metilamin-hidroklorid) javasolták klinikai vizsgálatra (6). A mustárnitrogén hatékonyságának megállapítása előrehaladott, radiorezisztens limfoszarkómával diagnosztizált betegen történt a New York-i Yale Egyetemen 1942-ben. A beteg igen rossz fizikai állapota látványosan javult a $10 \times 0,1$ mg/ttkg mustárnitrogén-kezelés hatására (7). A betegség kórlefolrásának értékelése ugyan nagy érdeklődést váltott ki, az USA Orvoskutató Bizottsága azonban komoly aggodalmát fejezte ki a kórkép rövid idejű javulása és a súlyos mellékhatások miatt (8). Ennek tulajdonítható, hogy az USA-ban a folátok, purin- és pirimidinszármazékok kutatása került a gyógyszerfejlesztés előterébe. Ezzel szemben Európában az onkológusok ígéretesnek tartották a mustárnitrogénre épített gyógyszerfejlesztést (9), amelynek kémiai és biológiai alapjait a londoni Rákkutató Intézet kémikusai, orvosai és biológusai dolgozták ki. Az alkilezőcsoportot hordozó szerves vegyületek reaktivitását és kovalens kötődését meghatározó tényezők ismerete útmutatást adott a preklinikai vizsgálatokhoz. Az alkilezők tumorgátló hatásához szükséges két klóretilamin-csoport magyarázatot adott a DNS polinukleotid-láncai közötti keresztkötésre. Elsőként ismerték fel az alkilező gyógyszerek kovalens kötődését a DNS guaninbázisához, amely az irreverzibilis genetikai károsodás molekuláris alapját képezi (10, 11). Ezekre a kutatási eredményekre támaszkodva, Haddow és Bergel (10, 12) jelölte ki azt a gyógyszerfejlesztési stratégiát, mely szerint az alkilezőcsoport (pl. klóretilamin) kapcsolása elektront elszívó molekulához fokozottan szelektív tumorgátló

hatású gyógyszer kifejlesztését teszi lehetővé. Ez a felfogás nyert igazolást a fenilalanin-mustárnitrogén (melfalán) előállításakor, amely 60 év után, napjainkban is alkalmazható az onkoterápiában (9).

A hazai daganat-kemoterápiás kutatások középpontjában hosszú éveken át, hasonlóan a londoni Rákkutató Intézethez, a mustárnitrogén származékainak a szintézise és hatástani vizsgálata állt. Ennek a döntésnek megalapozottságát szolgálta Sellei és Gráf beszámolója a mustárnitrogén-kezelés hazai klinikai tapasztalatairól 1948-ban, két évvel az észak-amerikai klinikusok közleménye után (9). A fentiekben bemutatott vizsgálatokból levont következtetések irányt mutattak a kiszélesedő hazai daganat-kemoterápiás kutatások számára. Az Országos Onkológiai Intézet Onkopatológiai Intézetének koordináló tevékenysége több egyetemi és kutató intézetet vonzott magához a daganat-kemoterápiás vizsgálatok körébe.

A több száz kémiai vegyület szintézisében a Gyógyszerkutató Intézet, az MTA Központi Kémiai Kutató Intézet, az ELTE peptidkémiai munkacsoport, a BME Kémiai Tanszék és a Chinoin Gyógyszergyár vegyészei vettek részt. A hazai előállítású, szabadalomképes kémiai vegyületek daganatnövekedést gátló hatásának megállapítása laboratóriumi és klinikai szinten egymáshoz kapcsolódóan haladt. Az *in vitro* és *in vivo* alaputatás-szintű hatástani vizsgálatok komplex feltételrendszereit előbb Kellner Béla, majd Lapis Károly és Sugár János alakították ki. Eckhardt Sándor a klinikai vizsgálatokat irányította, továbbá megszervezte a klinikai vizsgálati anyagok farmakokinetikai és farmakobiokémiai vizsgálatára alkalmas Klinikai Kísérleti Laboratóriumi Osztályt.

A jelen tanulmány rövid áttekintést kíván nyújtani a hazai, daganat elleni gyógyszerek fejlesztéséről, amelynek részletes ismertetése több, az elmúlt évtizedekben megjelent kézikönyv és közlemény tárgyát képezte (13–16).

A DAGANAT NÖVEKEDÉSÉT GÁTLÓ GYÓGYSZEREK TERVEZÉSE

A DNS-t károsító alkilező vegyületek

Alkilezőcsoport kapcsolása cukoralkoholokhoz

A tumorsejtek jelentős mértékű glükózfelvételének ismerete ösztönözte Vargha Lászlót és munkatársait az alkilezőcsoport (pl. klóretilamin) mannit-hoz, mint cukoralkoholhoz történő kapcsolására (17). A Gyógyszerkutató Intézetben szintetizált cukoralkohol-származékok daganatnövekedést gátló hatásának tanulmányozása preklinikai, *in vitro* és *in vivo* vizsgálati modelleken az Országos Onkológiai Intézetben történt. A kutatóhely onkopatológiai felkészültsége adhat magyarázatot arra, hogy a tumorgátló hatás kiértékelésére patomorfológiai módszereket alkalmaztak. Az 1,6-didezoxi-2-klóretilamin-D-mannit (Degranol, BCM) toxicitása nagyságrenddel kisebbnek bizonyult a mustárnitrogénénél és jelentősen gátolta a tumorok növekedését (18). A minimálisan toxikus adagok a limfoid rendszert érintették, ezért a klinikai vizsgálatok a limfogranulomatózisra irányultak (18). A Degranol antimetasztatikus hatását Lapis Károly és Né-

meth László tanulmányozták új preklinikai kísérleti modellen (19). A klinikai vizsgálatok szintén igazolták a gyógyszertervezés helyességét, amikor a két klóretilamino-csoportot tartalmazó Degranol jelentősen kedvezőbben befolyásolta a limfoid eredetű malignus kórképeket, mint a mustárnitrogén (20). A szelektív tumorgátló hatás fokozására irányuló törekvés kiterjedt a reaktív csoport megváltozására is, ezért előbb metilszulfonát-csoportot, majd brómatomot kötöttek a mannit-hoz és a dulcithoz. A szén-bróm reaktív gyök bevezetése lényegesen alacsonyabb toxicitású és hatékonyabb tumornövekedést korlátozó gyógyszerfejlesztés lehetőségét tárta fel. Az első hatástani vizsgálatokban kiderült, hogy az 1,6-dibróm-1,6-didezoxi-mannit (DBM, Myelobromol) a Degranolnál is kevésbé toxikus, és nem a limfoid sejteket, hanem szelektíven a hematopoetikus rendszer mieloid elemeit károsítja (21, 22). A hexit szerkezetű cukoralkoholok másik sztereoizomerje, az 1,6-dibróm-1,6-didezoxi-dulcitol (DBD) Mitolactol néven széles körű figyelmet kapott a szolid daganatok klinikai terápiás vizsgálataiban (23, 24). A dibróm-hexitekből diepoxid-származékok, pontosabban dianhidromannit, illetve dianhidrogalaktit képződhet enyhén lúgos (pH=7,0–8,0) közegben (25). Miután mindkét dianhidrohexit tumorgátló hatású, felvetődött, hogy azok a dibrómhexitek aktív metabolitjai (25). A széleskörű preklinikai tanulmányok azonban ezt a felvetést nem erősítették meg, ugyanakkor kimutatták, hogy pl. a dianhidrogalaktit által okozott súlyos mellékhatások jelentősen csökkenthetők frakcionált adagolás alkalmazásával (26). A klinikai vizsgálatok pedig kimutatták, hogy a DBM, DBD és a DAG patomorfológiailag eltérő emberi daganatokra hatnak (27).

A DAG tumorgátló hatásának felismerése nyomán az MTA Központi Kémiai Kutató Intézetében szintetizálták az 1,2-5,6-dianhidro-3,4-diacetát-galaktitot (DiacDAG), majd az 1,2-5,6-dianhidro-3,4-diszukcinát-galaktitot (DisuDAG), amelynek terápiás indexe nagyobbak bizonyult a DAG-énál (14). A Chinoin Gyógyszergyár Onkológiai Laboratóriumában xilitszármazékokat is szintetizáltak, amelyek közül említést érdemel az 1,2-4,5-dianhidro-3-fenil-benzoil-xilit, amely a tumor növekedését és áttétképzését egyaránt gátolta (14). A Gyógyszerkutató Intézetben különböző cukoralkoholokhoz (mannit, dulcitol, treitol, eritrit) kapcsolták a 2-klóretil-nitrozourea reaktív csoportot. Kiemelkedő hatásúnak találták a 2-klóretilamino-nitrozourea-DL-treitot, mivel teljes tumormentességet váltott ki két tumormodellel (14). A Richter Gedeon Gyógyszergyár vegyészei az 1,4-di-(metilszulfoniloxi-etilamino)-1,4-didezoxi-eritrit-dimetilszulfonátot (Lycurim, R74) szintetizálták, amely lokális kezelésére bizonyult alkalmasnak (14, 28).

Alkilezőcsoport kapcsolása biológiailag aktív peptidekhez
Süli-Vargha Helga és Medzihradzky Kálmán kezdeményezték az alkilezőcsoport kapcsolását a tumorban szerepet játszó peptidekhez, ami a célzott támadáspontú terápiára nyújtott lehetőséget. A melaninstimuláló hormon (MSH) fragmenshez,

valamint a kollagén eredetű (773–779 szekvencia) peptidhez kapcsolt alkilezők szelektív tumorgátló hatása fokozódott. Ez a gyógyszertervezés iránymutatást nyújtott a tumormarkerek szerepének igénybevételére az alkilező gyógyszerek tumorban történő aktiválásában (14, 29–31).

A mitotikus orsót gátló alkaloidok

A vinkaalkaloidok a tumorsejtek osztódását a mitotikus orsó működésének felfüggesztése útján gátolják, amelynek mechanizmusát Sugár János és munkatársai citometriai módszerekkel jellemezték (32). A neurotoxicitás kizárása céljából Szántai Csaba és munkatársai Catharanthus-alkaloidok családjába tartozó vinblasztinszármazékokat szintetizáltak, amelyek tumorbiológiai hatását Somfai-Relle Zsuzsanna és mtsai tanulmányozták (14).

Hormonszabályozást módosítók

Borvendég János, Csányi Endre és Tory Kálmán a Gyógyszerkutató Intézetben új antiösztrogén hatású vegyületeket tanulmányoztak. A szintetizált trifluor-vegyületek közül az 1,2-difenil-1-1-{4-[2-hidroxi-etilamino/-etoxi]-fenil}-3,3,3-trifluor-propén jelentősen gátolta a kémiai indukált és ösztrogénfüggő emlődaganat növekedését és meghosszabbította a kísérleti állatok élettartamát (14).

Az MTA-ELTE Peptidkutató Laboratóriumában aminopeptidáz-rezisztens, a vérben stabil gonadotropin kiáramlását szabályozó GnRH-analógokat tanulmányoztak. A GnRH-hoz tetrapeptid útján poli-(N-vinilpirrolidon-ko-maleinsav) kopolimert kapcsoltak. Az Országos Onkológiai Intézetben Pályi István és Vincze Borbála megállapította a GnRH-származék proteolízissel szembeni rezisztenciáját, receptorhoz való kötődését és gátló hatását az emberi emlőtumorok növekedésére (33).

Antimetabolitok

Ötvös László és munkatársai különböző hosszúságú alifás csoportot kapcsoltak a dezoxiuridinhez, amelyek a szénlánc hosszától függően eltérő tumorgátló hatást mutattak. Az 5-etil-2'-dezoxiuridin kizárólag *in vitro* csökkentette a tumorsejtek osztódását, ettől eltérően az 5-hexil-2'-dezoxiuridin gátolta a tumorsejtek migrációját és metasztatizációját (34). Kisfaludy és munkacsoportja három timopoetinfragmenst szintetizáltak, amelyek tumorbiológiai tulajdonságairól Szende és munkatársai számoltak be. Megállapították, hogy a tímusz eredetű oligopeptidekkel – kiemelkedően a TP-3-mal (Arg-Lys-Asp) – a tumoros állatok immunszuppressziójának a felfüggesztése útján csökkentették az áttétképződést (35).

A HATÁSMECHANIZMUS VIZSGÁLATA

A hatásmechanizmus tanulmányozásának jelentősége egyre erősödött, ahogyan nyilvánvalóvá vált az onkofarmakonok hatékonyságának korlátozottsága. A tumor növekedését gátló hatásuk fokozására és a toxikus mellékhatások csökkentésére irányuló törekvések mellett az onkofarmakonok célirányos alkalmazása, valamint a kombinált kezelés tervezése moleku-

lárís támadási pontjuk ismeretét igényli. A hatásmechanizmus kutatása eredményei klinikai hasznosításának tulajdonítható, hogy több, ebben az időben kifejlesztett gyógyszer napjainkban is az onkoterápia részét képezi. A daganatellenes gyógyszerek hatásmechanizmusának tanulmányozása magába foglalja az onkopatológia, a farmakokinetika, farmakobiokémia és a molekuláris genetika módszereit és szemléletét, így ezeket a gyógyszereket ma már onkofarmakonoknak tekinthetjük.

Celluláris támadási pont vizsgálata

Az osztódó és nyugvó tumorsejtek onkofarmakonokkal szembeni eltérő válaszreakciói

Az onkofarmakonok sejtproliferációtól függő hatásának megállapítására alkalmas modellnek bizonyult az ugyanazon tumor növekedése korai és előrehaladt szakaszának összehasonlítása, mivel a tumorsejtek szaporodási üteme a tumortömeg megnagyobbodásával fokozatosan csökken. Ebben a vizsgálati rendszerben az egyes onkofarmakonok eltérő mértékben károsították a gyorsan szaporodó és a nyugvó tumorsejteket [36]. Fontos megállapításnak tekinthető, hogy a nyugvó tumorsejt-populációk elpusztíthatók a sejtproliferáció mértékétől függetlenül ható onkofarmakonnal vagy osztódásra serkentő trimetil-lizin és a sejtproliferációtól függő hatású onkofarmakon kombinált kezelésével [37].

Az áttétképző tumor terápiaja

A hazai kísérleti daganat-kemoterápiás kutatások kiemelkedő törekvésének tekinthető az áttétképzés egyes folyamatainak gyógyszerhatástani vizsgálatra alkalmas modellként történő alkalmazása. Ennek nyomán olyan modelleket alakítottak ki, amelyekben a fokozott áttétképzést a gazdaszervezet immunszupprimált állapotával vagy a tumorsejt-populáció szelekciójával hozták létre [14, 38]. Az áttétképződés komplexitását magába foglaló különböző kísérleti vizsgálati rendszerek alkalmasnak bizonyultak a metasztázis molekuláris jellemzésére, így az emelkedett heparánszulfát-proteoglikán-képződés kimutatására a fokozottan metasztatizáló tumorsejtekben. Tímár és munkatársai kimutatták, hogy az 5-hexil-2'-dezoxiuridin szelektíven a fokozottan metasztatizáló tumorsejteken hatásos, de nem gátolja osztódásukat [34].

Az áttétképzést indirekt úton, az immunrendszer serkentésén keresztül szintén lehet korlátozni. Így a makrofágok aktiválása a poliszacharid hatóanyagot tartalmazó lentinánnal jelentősen csökkentette a tumorsejtek áttétképzését, kivéve a heparánszulfát-proteoglikánt erősebben expresszáló, fokozott áttétképző képességű egér tüdőtumorsejtét [38]. Hasonlóképpen, a timopoetin-eredetű, immunválaszt serkentő oligopeptiddel [Arg-Lys-Asp] csökkenteni lehetett az immunszupprimált gazdaszervezetben megemelkedett áttétképzést [35].

Onkofarmakonok hatása a hipoxiás tumorsejtre

Az onkofarmakonok oxigénfüggő hatékonyságának megállapítása a tumorsejt-populáció 3-D tenyészetében kialakuló szferoidok perifériás és centrális sejtjei gyógyszerhatással

szembeni érzékenységének összehasonlítása alapján történt. A szferoidok külső felszínén elhelyezkedő normoxiás sejtek életképességét a ciszplatin, ezzel szemben a belső hipoxiás sejteket a dibrómdulcit csökkentette [39].

Molekuláris támadási pont vizsgálata

A cukoralkohol alkilezők újdonságot jelentő szerkezete és kedvező terápiás indexe ösztönzőleg hatott molekuláris támadási pontjuk tanulmányozására. Az érdeklődés középpontjában a DNS és a működését szabályozó kromatinfehérjék vizsgálata állt. Hídvégi és mtsai megállapították, hogy a Degranol, hasonlóan egyéb, klóretilamin reaktív csoportot tartalmazó onkofarmakonokhoz, a nukleinsavak szintézisét és mennyiségét csökkenti [40]. A dibrómhexitek vizsgálatok kitűnt a hisztonok DNS-hez való csökkent kötődő képessége, amely magyarázatot adhatott az indukálható enzimek fokozott expressziójára [41]. A DNS guaninbázisának alkilezése mellett a dibrómdulcit kromatinfehérjékhez való jelentős mértékű kötődését lehetett megállapítani [42–44]. Ezek a vizsgálati eredmények arra utalnak, hogy a szén-bróm kötésű reaktív csoportot tartalmazó onkofarmakonok a fehérjékhez, így a hisztonokhoz és transzkripció faktorokhoz kötődve a génszabályozást módosítják [44].

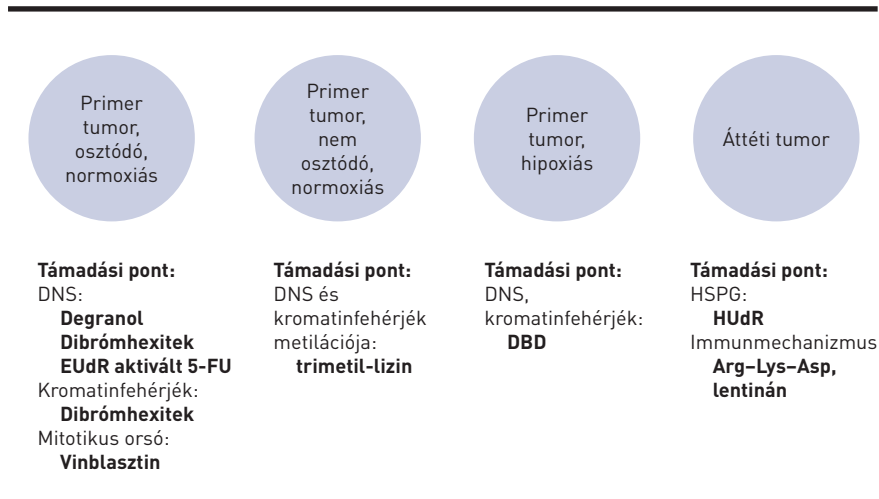
A hatásmechanizmus-vizsgálatok adtak magyarázatot az 5-fluorouracil szelektív tumorgátló hatásának fokozódására az 5-etil-2'-dezoxiuridinnal előkezelt kísérleti egerekben. Az 5-etil-2'-dezoxiuridin és az 5-fluorouracil közel egy időben történő adagolásával kiváltható kedvező tumorgátlást az 5-etil-2'-dezoxiuridin pirimidinek átalakulását módosító hatásának lehet tulajdonítani, amelynek legfontosabb tényezője az 5-fluorouracilt lebontó dihidropirimidin-dehidrogenáz gátlása [45–47]. Az 5-hexil-2'-dezoxiuridin nem szubsztrátja a timidinkináznak, ezért nem foszforilálódik, így nem gátolja a DNS-szintézist. Kiemelkedő tulajdonsága az, hogy gátolja a heparánszulfát-proteoglikánok képződését, amely egyes tumorok sejtfelszínén részt vesz az áttétképzésben [48, 49].

A malignus tumorok sejtpopulációi heterogének, a genetikai és a mikrokörnyezeti befolyástól függően az osztódó sejtek mellett nem osztódó, normoxiás és hipoxiás, valamint áttétképző tumorsejtek változó arányban vannak jelen a tumorban. Ebből következtethető, hogy a tumorok egyes szubpopulációinak molekuláris mechanizmusa és ezáltal onkofarmakonokkal szembeni válaszreakciója igen eltérő lehet. Az onkopatológiai szemlélet érvényesült a hazai gyógyszerek egyes malignus fenotípusú sejtek szelektív károsításának kimutatásakor.

A vizsgált onkofarmakonok celluláris és molekuláris szintű hatásainak kapcsolatát az 1. ábra mutatja be. Ez az összeállítás az osztódó és a nem osztódó normoxiás, valamint hipoxiás és az áttéti tumorsejtek célzott károsításának lehetőségét hivatott kifejezni.

FARMAKOLÓGIAI VIZSGÁLATOK

Az alkilező onkofarmakonok biztonságos és hatékony klinikai alkalmazásához a farmakológiának speciális szempontokat és technikákat is igénybe kell venni, mint pl.



3. ÁBRA. A heterogén tumorsejt-populáció gyógyszeres terápiájának lehetőségei. Az onkofarmakok túlnyomó többsége a gyorsan szaporodó sejteket károsítja. A nyugvó sejtpopuláció trimetil-lizin-kezeléssel osztódásra készíthető. A Mitolactol (DBD) kifejezettebben hatékony a hipoxiás, mint a normoxiás sejteken. A heparánszulfát-proteoglikán (HSPG) közreműködésével fenntartott metasztázis hexil-dezoxiuridinnel (HUdR) gátolható. Az immunsuppresszióban fokozódott áttétek korlátozhatók lentinánnal vagy timopoetin-peptidfragmensekkel (Arg-Lys-Asp)

a kémiai reaktivitás, irreverzibilis toxicitás. A hazai onkofarmakológiai feladatok ellátásában az Országos Onkológiai Intézet Klinikai Kísérleti Laboratóriumi Osztálya jelentős részt vállalt.

A toxikológiai vizsgálatok felvilágosítást adtak az onkofarmakon dózisemelését korlátozó szöveti toxicitásáról, valamint az optimális adagolás módjáról. A Myelobromol szelektív, a csontvelő mieloid elemeit károsító hatásának megállapítása utat nyitott a CML-es betegekben történő vizsgálatokhoz (13, 22). Az alkilező cukoralkoholok kémiai reaktivitási kinetikája útmutatást szolgáltat arról is, hogy klinikai alkalmazásuk szisztémás vagy lokális legyen-e. Ennek jelentőségét igazolta Kerpel-Fronius, Hegedüs és Eckhardt, amikor megállapították a Lycirim igen gyors és metabolikus aktiválást nem igénylő reaktivitását. Ez a vizsgálati eredmény tette lehetővé a petefészekrák intraperitoneális és a hólyagrák lokális kezelését Lycurimmal (14, 28).

A farmakokinetikai tanulmányok tájékoztatást adtak a hazai onkofarmakonok szövetek közötti megoszlásáról és tartózkodási idejükről (50, 51). A DBD és a metabolitjának tekinthető DAG farmakokinetikai összehasonlításakor a DBD hosszabb tartózkodási ideje a vérkeringésben a DAG-nál kedvezőbb feltételt biztosít a klinikai hatékonyság számára (51). A farmakokinetikai vizsgálatok kiemelkedő eredményének tekinthető a DBD vér-agy gáton történő áthaladásának kimutatása, amelyről hazai és külföldi munkacsoportok számoltak be (51, 52).

A farmakokinetikai vizsgálat további magyarázatot nyújtott az 5-etil-2'-dezoxiuridin és az 5-fluorouracil kombinációja tumorgátló hatásáról, amikor adatot szolgáltatott az

5-fluorouracil hosszú keringési idejéről 5-etil-2'-dezoxiuridin előkezelés után. Az 5-fluorouracil biológiai aktív monofoszfát-származékának koncentrációja a keringő vérben és a tumorban emelkedett (46).

KLINIKAI VIZSGÁLATOK

A fentiekben bemutatott tumorgátló hatóanyagok közül a Degranol, a Myelobromol és a Mitolactol került klinikai vizsgálatra, amelyek eredményeiről először Sellei Camilló, Eckhardt Sándor és munkatársai számoltak be (13, 53). A külföldi onkológiai intézetek érdeklődését felkeltették előbb a Degranol, majd a dibrómhexitek kedvező farmakológiai tulajdonságai, és maguk is megkezdték azok vizsgálatát. Az alkilező cukoralkohol-származékok klinikai vizsgálatáról nagyszámú közlemény jelent meg, a PubMed (2017) szerint a Degranolról 208, a Myelobromolról 85, a Mitolactolról 196. A Degranol egymagában a limfoid eredetű hemoblasztózisok egyes típusában a túlélési időt a betegek 20–60%-ában 2 évvel meghosszabbította. Ezt a vizsgálati eredményt több nemzetközi onkológiai intézmény klinikusai rövid időn belül megerősítették és megállapították, hogy hatékonysága azonos a ciklofoszamidéval (13, 27). A Degranoltól eltérően a Myelobromolnak kiemelten a csontvelő mieloid elemekre irányuló toxicitása utat nyitott a krónikus mieloid leukémia klinikai terápiájában történő alkalmazásra, amelynek eredményességét először magyarországi, majd külföldi klinikai vizsgálatok igazolták (13, 53–55). A Myelobromol szelektív mielotoxikus hatásának jelentőségét a csontvelő-transzplantáció előkészítésében Kelemen Endre ismerte fel (56). Ezt követően Kelemen Endre és Masszi Tamás

munkacsoportjai vezették be Magyarországon a CML, majd az AML terápiájában az egész test radiológiai besugárzását helyettesítő, DBM-re épülő citotoxikus kezelést a csontvelő-transzplantáció előtt. Figyelmet érdemel, hogy a csontvelő-transzplantáció előtt adagolt citotoxikus gyógyszerek megfelelő adagolásával a betegek allografttal szembeni kedvezőtlen válaszreakciója csökkent, amelyet Petrányi Győző és munkacsoportja jellemzett (57).

A Mitolactol (Elobromol) első klinikai vizsgálatakor előbb laphámrákok és a melanóma progressziójának gátlását figyelték meg, majd antraciklinszármazékokkal kombinált kezelésben az emlőrák kezelésekor mutatott hatékonyságot (14). A Mitolactol agyi transzportjának felismerése (51, 52) érthetően az agydaganatok terápiájában történő alkalmazására irányította több hazai és külföldi onkológiai intézet érdeklődését (58–60). Az agytumörök Mitolactollal szembeni érzékenysége azonban igen szelektívnek bizonyult a klinikai vizsgálatokban. Jelentős mértékben lehetett csökkenteni a medulloblasztóma, az ependimóma és a neuroektodermális tumorok növekedését Mitolactol-kezeléssel, amelyek eredményeként meghosszabbodott a betegek progressziómentes élettartama (59). Schuler Dezső és munkatársai

kimutatták, hogy neoadjuváns alkalmazásban a Mitolactol hozzájárul a medulloblasztóma és az ependimóma sikeres sebészi eltávolításához (52).

MEGBESZÉLÉS

A hazai daganat-kemoterápia kibontakozása az 1950-es években az alábbi három oszlopra támaszkodhatott: 1.) a mustárgáz tumorgátló hatásáról két évtizeddel előbb szerzett tapasztalatokra, 2.) tudományos eredményekre az onkopatológiában, 3.) a kiemelkedő cukorkémiai ismeretekre. Gyógyszervegyészek, patológusok, biológusok és orvosok összehangolt munkája tette lehetővé nagyszámú vegyület daganat elleni hatásának vizsgálatát Magyarországon, egy időben a nemzetközileg megindult daganat-kemoterápiás kutatásokkal. Ezek közül négy hexitszármazék mutatott hatékonyságot a klinikai vizsgálatokban. Több ígéretes és értékes, újdonságot képviselő hatóanyag ugyanakkor nem került klinikai kipróbálásra (1. táblázat). Reménységgel lehetett tekinteni a citotoxikus reaktív csoportot hordozó cukoralkoholok bevezetésére az onkoterápiába, mivel a tumorsejtek fokozott glükózfelvetele biztosítékként szolgált a szelektív tumorgátló hatás kialakulásához. Ez az elvárás megerősítést nyert

1. TÁBLÁZAT. Hazai fejlesztésű daganat-kemoterápiás gyógyszerek és hatóanyagok

Kémiai szerkezet (gyógyszer-név és/vagy rövidítés)	Vizsgált hatásmechanizmus	Egyedi sajátosság	Igazolt klinikai hatás	Irodalom
1,6-didezoxi-2-klóretilamin-D-mannit (Degranol, BCM)	DNS-, RNS-szintézis gátlása	limfoid sejtek károsítása	malignus limfóma, Hodgkin-kór	17, 18, 20, 40
1,6-dibróm-1,6-didezoxi-mannit (Myelobromol, DBM)	genetikai szabályozás zavara	szelektív csontvelő-károsítás	CML, csontvelő-transzplantáció	21, 22, 53–57
1,6-dibróm-1,6-didezoxi-dulcitol (Mitolactol, Elobromol, DBD)	DNS, kromatinfehérjék alkilezése	agyai transzport, tumornövekedés gátlása	medulloblasztóma, ependimóma, malignus asztrocitóma	23, 24, 41–44, 51, 52, 58–60
1,2-dianhidro-5,6-dianhidro-galaktit (DAG)	DNS, alkilezés	tumornövekedés gátlása	tüdőrák	25, 26
1,4-didezoxi-eritrit-dimetilszulfonát (Lycurim, R74)	rövid idejű alkilezés	lokális hatás	petefészekrák, hólyagrák	14, 28
2-kloroetilnitro-nitrozourea- Trp-Gly-Lys-Pro-Val (MSH-peptid-nitrozourea)	MSH-receptor-közvetített alkilezés	tumornövekedés gátlása	nem vizsgált	29, 30
klóretilamino-fenilalanin-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly (melfalán-hexapeptid, MHP)	kollagenáz-közvetített alkilezés	tumornövekedés gátlása	nem vizsgált	31
5-hexil-2'-deozuridin (HUdR)	heparánszulfát-proteoglikán-szintézis gátlása	áttétképzés gátlása	nem vizsgált	34, 48, 49
5-etil-2'-deoxiuridin (EUdR)	dihidropirimidin-dehidrogenáz gátlása	5-fluorouracil tumorgátló hatásának fokozása	nem vizsgált	45–47
Trimetil-lizin (TML)	DNS- és hisztonmetiláció	sejtosztódás-szabályozás	nem vizsgált	37
Arg-Lys-Asp oligopeptid	immunszuppresszió felfüggesztése	áttétképzés gátlása	nem vizsgált	57

nemcsak a hazai, hanem a külföldi klinikusok vizsgálataiban is, akik arról számoltak be, hogy a Degranol hatékonysága azonos a ciklofoszfamidéval, a Myelobromol hatása pedig megegyező a Myleranéval. A következő években azonban szembe kellett nézni a tumorsejt-proliferáció mechanizmusát gátló gyógyszerek, beleértve a cukoralkohol-származékok korlátozott hatékonyságával.

Ebben a helyzetben a továbblépést a célirányosabban ható újabb vegyületek szintézise, valamint a már ismert gyógyszerek hatékonyságának fokozása jelentette. Ez utóbbi célkitűzés megvalósítása igényelte a gyógyszerek hatásmechanizmusa kutatásának kiterjesztését farmakobiokémiai és farmakokinetikai vizsgálatokkal. A farmakológiai tanulmányozásból kitűnt, hogy a mannit és a dulcitol egyaránt csökkenti a hozzájuk kapcsolt alkilezőcsoport toxicitását, azonban a szervezetben történő megoszlást és a szöveti károsodás jellegét eltérően befolyásolják.

A komplex citomorfológiai, immunológiai és molekuláris vizsgálatok eredményei alapján vált alkalmassá a Mitolactol (DBM) a CML terápiájára és a csontvelő-transzplantáció előkészítésére. A klinikai farmakokinetikai tanulmányok kiemelkedő érdeklődést kiváltó megállapításának a Mitolactol agyban történő felhalmozódását lehet tekinteni, amely utat nyitott egyes agydaganatok terápiájához. Különlegesnek tartható az 5-fluorouracil tumorgátló hatásának fokozása 5-etil-2'-dezoxiuridin kombináció útján, mely elsősorban a fokozott timidilátszintáz-gátlás és az apoptózis indukciójának eredménye. Az 5-hexil-2'-dezoxiuridin *in vitro* nem csökkentette a tumortenyészet növekedését, ezzel szemben *in vivo* az emelkedett mértékben áttétképző tumor növekedését jelentősen gátolta.

A jelen visszatekintés akkor nyújt hiteles képet a hazai daganat-kemoterápiáról, ha említés történik a tumorbiológiai kutatások megtermékenyítő szerepéről. A kísérleti modellek ugyanis lehetővé teszik a gyógyszerhatás és a tumorsejtek metabolizmusa közötti kölcsönhatások megismerését, valamint a citomorfológiai változások molekuláris hátterének a jellemzését. A tumornövekedés és a gyógyszerhatás közötti kapcsolat tanulmányozása rávilágított arra, hogy a tumor tömegének emelkedésével csökken a sejtproliferáció üteme és fokozódik a proteoglikánok expressziója a sejtfelszínen. Az 5-hexil-2'-dezoxiuridin áttétképzést gátló mechanizmusának tanulmányozása derítette fel, hogy egyes tumorok áttétképzésében meghatározó szerepet játszik a heparánszulfát-proteoglikán. Mindezen, több modellt magába foglaló vizsgálatok eredményeiből levonható az a következtetés, miszerint a kémiai vegyületek daganat-kemoterápiás értéke nem mutatható ki kizárólag a tumorsejt-proliferációt gátló hatásuk alapján. Ennek a következtetésnek az alátámasztására érdemes számba venni a tumorprogresszió során kialakuló tumorbiológiai eseményeket (migráció, hipoxia stb.), amelyekkel szemben kívánatos a gyógyszeres terápia.

Elmondható, hogy Magyarországon a XX. század utolsó éveiben az emberi daganatok *in vitro* és *in vivo* vizsgálati modelljeihez kapcsolódó, korszerű farmakokinetikai, farmakobiokémiai és onkogenomikai módszerek működtek az onkológiai ellátás számára. A bemutatott múltbeli tapasztalatok is azt sugallják, hogy a gyógyszeres onkoterápia előrehaladásának egyik feltétele a gyógyszerek és a kezelendő tumorból származó szöveti minták közötti molekuláris kölcsönhatások jellemzése.

IRODALOM

- Papac RJ. Origins of cancer therapy. *Yale J Biol Med* 74:391–398, 2001
- Krumbhaar EB. Role of the blood and the bone marrow in yellow cross gas (mustard gas) poisoning. I. Peripheral blood changes and their significance. *J Am Med Assoc* 72:39–41, 1919
- Adair FE, Bagg HJ. Experimental and clinical studies on the treatment of cancer by dichloroethylsulphide (mustard gas). *Ann Surg* 93:190–199, 1931
- Sellei C, Jány J. Über die Wirkung einiger giftiger Gase auf den Stoffwechsel der Tumor Zellen. *Biochem Zschr* 275:234, 1935
- Németh L, Sellei C, Mayer Gy. Kísérleti patológiai és terápiás vizsgálatok mustárgázzal kezelt patkányokban (1936). Idézte: Sellei C, Eckhardt S, Németh L. *Chemotherapy of neoplastic diseases*. Akadémiai Kiadó, Budapest 1970
- Gilman A. The initial clinical trial of nitrogen mustard. *Am J Surg* 105:574–578, 1963
- Goodman LSG, Wintrobe MM, Dameshek W, et al. Nitrogen mustard therapy. Use of methyl-bis(beta-chloroethyl)amine hydrochloride and tris(beta-chloroethyl)amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *JAMA* 132:126–132, 1946
- Rhoads CP. Nitrogen mustards in the treatment of neoplastic disease; official statement. *J Am Med Assoc* 131:656–658, 1946
- Sellei C, Gráf F. Tapasztalatok a mustárnitrogen terápiás alkalmazásával. *Orv Hetil* 34:542–544, 1948
- Haddow A, Kon GA, Ross WC. Effects upon tumours of various haloalkylarylamines. *Nature* 162:824–825, 1948
- Brookes P, Lawley PD. The reaction of mono- and di-functional alkylating agents with nucleic acids. *Biochem J* 80:496–503, 1961
- Bergel F, Stock JA. Cytotoxic alpha amino acids and endopeptidase. *Br Emp Cancer Comp Annu* 31:6–21, 1953
- Sellei C, Eckhardt S, Németh L. *Chemotherapy of neoplastic diseases*. Akadémiai Kiadó, Budapest 1970
- Eckhardt S, Kerpel-Fronius S. *CMEA Chemotherapy Symposium* 1984. Akadémiai Kiadó, Budapest 1985
- Lapis K, Jeney A. Regulation and control of cell proliferation. Akadémiai Kiadó, Budapest 1984
- Sugár J, Kellner B. Effect of acute and chronic nitrogen mustard treatment on the organs of the rat. *Acta Morphol Acad Sci Hung* 3:233–253, 1953
- Vargha L, Toldy L, Fehér O, et al. New sugar derivatives with cytostatic effectiveness. *Acta Physiol Acad Sci Hung* 19:305–312, 1961
- Kellner B, Németh L. 1,6-Bis(beta-chlorethylamino)-1,6-desoxy-D-mannit dichlorhydrate (BCM), a new nitrogen derivative. *Z Krebsforsch* 61:165–179, 1956
- Lapis K, Németh L. Effect of various chemotherapeutic agents on metastasis. *Br J Cancer* 10:719–723, 1956
- Sellei C, Eckhardt S, Hartai F, et al. Clinical trial of a new nitrogen-mustard compound. *Lancet* 267:785–786, 1956
- Horváth IP, Institóris L. Influence of the chemical structure on the biological tendency of cytostatic compounds related to dibromomanitol. II. Mechanism of action. *Arzneimittelforschung* 17:149–155, 1967
- Csányi E, Horváth IP, Institóris L. Tumor inhibitory, hematological and toxicological effects of 1,6-dibromo-1,6-didesoxy-D-mannitol. *Arzneimittelforschung* 14:670–673, 1964

23. Kellner B, Németh L, Horváth IP, et al. 1,6-Dibromo-1,6-dideoxy-dulcitol: a new antitumoral agent. *Nature* 28:402–403, 1967
24. Kellner B, Németh L, Sugár J, et al. Pharmacology of 1,6-Dibromo-1,6 dideoxy-dulcitol and its cytostatic effect on transplantable tumours. *Arzneimittelforschung* 17:1037–1043, 1967
25. Horváth IP, Somfai-Relle S, Hegedűs L, et al. Toxicity, antitumour and haematological effects of 1,2-anhydro-6-bromogalactitol and D-mannitol: a comparison with the related dibromo- and dianhydro-derivatives. *Eur J Cancer Clin Oncol* 18:573–577, 1982
26. Kralóvánszky J, Prajda N, Kerpel-Fronius S, et al. Effect of a single high dose and repeated small doses of dianhydrogalactitol (DAG; NSC-132313) on rat intestinal mucosa. *Cancer Chemother Pharmacol* 11:167–171, 1983
27. Chiuten DF, Rozenzweig M, Von Hoff DD, et al. Clinical trials with the hexitol derivatives in the U.S. *Cancer* 47:442–451, 1981
28. Hegedűs L, Kerpel-Fronius S, Horváth IP, et al. A sensitive assay for the pharmacokinetic investigation of a rapidly hydrolyzing alkylating agent Lycurim (Ritrosulfan; R-74; NSC-122 402). *Eur J Cancer Clin Oncol* 20:933–938, 1984
29. Süli-Vargha H, Jeney A, Kopper L, et al. Investigations on the antitumor effect and mutagenicity of alpha-MSH fragments containing melphalan. *Cancer Lett* 54:157–162, 1990
30. Jeney A, Kopper L, Lapis K, et al. Antitumor action of N-[2-chloroethyl]-N-nitrosocarbonyl derivatives of biologically active polypeptide hormone fragments. *Cancer Chemother Pharmacol* 16:129–132, 1986
31. Tímár F, Botyánszki J, Süli-Vargha H, et al. The antiproliferative action of a melphalan-hexapeptide with collagenase cleavable site. *Cancer Chemother Pharmacol* 41:292–298, 1998
32. Csuka O, Sugár J, Pályi I, et al. The mode of action of Vinca alkaloids. *Oncology* 37(Suppl 1):83–87, 1980
33. Pályi I, Vincze B, Lovas S, et al. Gonadotropin-releasing hormone analogue conjugates with strong selective antitumor activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:2361–2366, 1999
34. Tímár J, Pogány G, Balázs M, et al. Modulation of membrane phenotype, matrix adhesion and microinvasiveness of metastatic tumour cells by HUdR. *Cell Biochem Funct* 8:211–220, 1990
35. Szende B, Lapis K, Pál K, et al. The effect of TP-3 (Arg-Lys-Asp), TP-4 (Arg-Lys-Asp-Val), and TP-5 on the metastatic capacity of intravenously injected Lewis lung tumor cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 9:19–24, 1987
36. Kopper L, Jeney A, Lapis K, et al. Studies on the growth of an ascites tumour II. A system to study the tumour age dependent effect of antitumour agents. *Eur J Cancer* 14:75–82, 1978
37. Kopper L, Szende B, Lapis K, et al. Examination of the tumour growth promoting effect of N-trimethyllysine. An autoradiographic study. *Neoplasma* 18:251–256, 1971
38. Ladányi A, Tímár J, Lapis K. Effect of lentinan on macrophage cytotoxicity against metastatic tumor cells. *Cancer Immunol Immunother* 36:123–126, 1993
39. Jeney A, Kovalszky I, Rásó E, et al. The biological activity of cisplatin and dibromodulcitol in combination therapy. *Br J Cancer* 71:317–321, 1995
40. Hídvégi EJ, Antoni F, Lapis K. Effect of chemotherapeutics on the nucleic acid metabolism of tumours. Incorporation of ³²P into nucleic acids following treatment with degranol. *Br J Cancer* 14:139–146, 1960
41. Jeney A, Szabó I, Vályi-Nagy T, et al. Pharmacobiochemical studies on cytotoxic polyol derivatives II. The effect of biological alkylating agents on the thermal-denaturation properties of DNA. *Eur J Cancer* 6:297–302, 1970
42. Institóris E, Holczinger L. The effect of dibromodulcitol on the template activity of DNA chromatin and nuclei from Yoshida sarcoma cells. *Chem Biol Interact* 12:241–250, 1976
43. Institóris E, Tamás J. Identification of guanine and adenine adducts in DNA alkylated by dibromodulcitol in vitro and in vivo. *Chem Biol Interact* 47:133–144, 1983
44. Jeney A, Dzurillay É, Lapis K, et al. Chromatin proteins as a possible target for antitumour agents: alterations of chromatin proteins in dibromodulcitol treated Yoshida tumours. *Chem Biol Interact* 26:349–361, 1979
45. Katona C, Tímár F, Jeney A, et al. Modulation of 5-fluorouracil by 5-ethyl-2'-deoxyuridine on cell lines expressing different dihydropyrimidine dehydrogenase activities. *Anticancer Drugs* 10:561–567, 1999
46. Kralóvánszky J, Katona C, Jeney A, et al. 5-ethyl-2'-deoxyuridine, a modulator of both antitumour action and pharmacokinetics of 5-fluorouracil. *J Cancer Res Clin Oncol* 125:675–684, 1999
47. Kopper L, Magyarosy E, Jeney A, et al. Potentiation of the antitumor action of 5-fluorouracil with 5-ethyl-2'-deoxyuridine in human colorectal tumor xenografts. *Oncology* 41:155–158, 1984
48. Tímár J, Diczházi C, Bartha I, et al. Modulation of heparan-sulphate/chondroitin-sulphate ratio by glycosaminoglycan biosynthesis inhibitors affects liver metastatic potential of tumor cells. *Int J Cancer* 62:755–761, 1995
49. Pogány G, Jeney A, Tímár J, et al. Modulation of glycoconjugate biosynthesis by 5-hexyl-2'-deoxyuridine in highly metastatic Lewis lung carcinoma cells. *Neoplasma* 37:501–510, 1990
50. Erdélyi-Tóth V, Kerpel-Fronius S, Kanyár B, et al. Pharmacokinetic study in a phase I trial with an alkylating agent, diacetyldianhydrogalactitol (DADAG). *Cancer Chemother Pharmacol* 16:257–263, 1986
51. Horváth IP, Csetényi J, Hindy I, et al. Metabolism and pharmacokinetics of dibromodulcitol (DBD, NSC-104800) in man – II. pharmacokinetics of DBD. *Eur J Cancer Clin Oncol* 18:1211–1219, 1982
52. Schuler D, Somló P, Koós R, et al. Treatment of malignant scala posterior brain tumors in children: the chemotherapy of relapsed medulloblastoma with a dibromodulcitol containing drug regime and pharmacokinetic studies of dibromodulcitol in children. *Med Pediatr Oncol* 20:312–314, 1992
53. Sellei C, Eckhardt S. [Trial treatment of neoplastic diseases by 1,6-dibromomannitol]. *Rev Fr Etud Clin Biol* 8:483–484, 1963
54. Canellos GP, Young RC, Neiman PE, et al. Dibromomannitol in the treatment of chronic granulocytic leukemia: a prospective randomized comparison with busulfan. *Blood* 45:197–203, 1975
55. Levin WC, Mims CH, Haut A. Dibromomannitol (NSC-94100): a clinical study of previously treated patients with refractory chronic myelocytic leukemia and blastic transformation. *Cancer Chemother Rep* 58:223–228, 1974
56. Kelemen E, Jakab K, Váradi G, et al. Non-supralethal mitobronitol/ cytarabine/cyclophosphamide conditioning without irradiation before bone marrow transplantation for accelerated chronic granulocytic leukemia: apparent absence of acute graft-versus-host disease. *Leukemia* 7:939–945, 1993
57. Barta A, Dénes R, Masszi T, et al. Remarkably reduced transplant-related complications by dibromomannitol non-myeloablative conditioning before allogeneic bone marrow transplantation in chronic myeloid leukemia. *Acta Haematol* 105:64–70, 2001
58. Bellet RE, Catalano RB, Mastrangelo MJ, et al. Positive phase II trial of dibromodulcitol in patients with metastatic melanoma refractory to DTIC and a nitrosourea. *Cancer Treat Rep* 62:2095–2099, 1978
59. Áfra D, Kocsis B, Kerpel-Fronius S, et al. Dibromodulcitol-based combined postoperative chemotherapy of malignant astrocytomas and glioblastomas. *J Neurooncol* 4:65–70, 1986
60. Levin VA, Edwards MS, Gutin PH, et al. Phase II evaluation of dibromodulcitol in the treatment of recurrent medulloblastoma, ependymoma, and malignant astrocytoma. *J Neurosurg* 61:1063–1068, 1984