

Właściwości przeciwnowotworowe oraz przydatność kliniczna cis-platyny i jej pochodnych, zdecydowały o celowości poszukiwań związków o podobnej aktywności, zawierających inne metale. Udowodniono, że wykazują ją przede wszystkim związki tytanu (IV), germanu (IV), galu (III), rutenu (III), palladu (II) i cyny (IV), z których tylko trzy pierwsze pomyślnie przeszły badania kliniczne I/II fazy.

W artykule przedstawiono aktualny stan wiedzy o mechanizmach działania wybranych związków tytanu, germanu i galu, profilach ich aktywności przeciwnowotworowej w badaniach laboratoryjnych *in vivo* i *in vitro* oraz prowadzonych badaniach klinicznych.

Słowa kluczowe: przeciwnowotworowe kompleksy metali, cytotoksyczność

The anti-cancer properties and clinical usefulness of cisplatin and its derivatives indicated a need of searching for other metal complexes of similar activities. Anti-cancer activity was proved for complexes of titanium (IV), germanium (IV), gallium (III), ruthenium (III), palladium (II) and tin (IV). Only the first three of them favorably passed I/II phase of clinical trials.

*In this article the actual state of knowledge about mechanisms of activity of several titanium, germanium and gallium complexes, profiles of their anti-cancer activity observed in *in vivo* and *in vitro* laboratory investigations as well as conducted clinical trials are presented.*

Keywords: anti-cancer metal complexes, cytotoxicity

Aspekty zastosowania wybranych związków metali w terapii przeciwnowotworowej

Aspects of use of selected metal complexes in anti-cancer therapy

Tomasz Dąbrowski

Katedra i Zakład Fizyki i Biofizyki Akademii Medycznej w Gdańsku

WSTĘP

Pierwsze wzmianki o próbach terapeutycznego stosowania związków złota pochodzą ze starożytnych Chin (2500-2000 r. p.n.e.). Następnie Paracelsus (1493-1541) – ojciec nowożytnej chemioterapii [1, 2], zafascynowany alchemią, próbował leczyć różne choroby (w tym nowotwory) stosując mieszaniny i związki metali ciężkich [1]. W 1865 r. Lissauer przeprowadził próbę leczenia dwóch pacjentów z białaczką, podając im związki arsenu. Pierwszym, powszechnie stosowanym na początku XX wieku lekiem zawierającym metal była arsenamina (Salwarsan), wykazująca aktywność przeciw krętkom kiły. Została wprowadzona do terapii przez P. Ehrlicha w 1910 r. W tym okresie Koch prowadził próby z cyjanianem złota w leczeniu gruźlicy, a w 1912 r. próbowano wprowadzić związki antymonu do terapii leiszmaniazy [1, 3]. Pomimo ogólnego zainteresowania przeciwbakteryjnym działaniem związków metali na początku XX wieku, odnotowano tylko pojedynczą próbę użycia ich w terapii przeciwnowotworowej (fosforan ołowiu i ołów koloidalny) [1]. Dopiero w 1969 r. przypadkowe odkrycie przez Rosenberga cytotoksyczności i właściwości przeciwnowotworowych cis-diaminodichloroplatyny (cis-platyny) [4, 5], stało się punktem zwrotnym rozwoju nowoczesnej chemioterapii związkami metali.

Uwzględniając fakt, że cis-platyna i inne związki platyny wykazują silną cytotoksyczność tylko w niektórych rodzajach nowotworów oraz fakt, że w trakcie leczenia chemicznego dochodzi często do rozwoju wtórnej chemiooporności, w okresie ostatniego dwudziestolecia trwały intensywne prace nad stworzeniem innych, równie skutecznych cytostatyków zawierających metale. Udowodniono, że oprócz platyny, aktywność przeciwnowotworową *in vivo* i *in vitro* wykazują organiczne i nieorganiczne związki metali grupy 13-15 układu okresowego pierwiastków oraz metale grupy 4-11, tj. pallad (II), ruten (III), gal (III), tytan

(IV), german (IV), cyna (IV), złoto (I) (III), miedź (II), bizmut (III), antymon (III), wanaad (IV), niob (IV), molibden (IV), rod (I) (II), iryd (I) (II), glin, ind, cyrkon i hafn, z których tylko związki tytanu, germanu i galu przeszły pomyślnie badania kliniczne I/II fazy [1, 6].

ZWIĄZKI TYTANU

Budotytan. Pierwszym po cis-platynie cytostatykiem zawierającym metal, który wszedł w I fazę badań klinicznych jest budotytan – cis-dietoksy-bis (1-fenylbutano-1,3-dionato) tytan (IV). W badaniach przedklinicznych preparat ten wykazywał aktywność wobec zwierzęcych guzów puchlinowych: Ehrlicha, typ Sztokholm, mięsaka 180, modeli mięsaka Walker 256 oraz gruczolakoraków okrężnicy MAC 15A [1, 7, 8, 9] i autochtonicznych guzów okrężniczo-odbytniczych AMMN (*acetoxymethylmethylnitrosoamine-induced*) [10, 11]. Wobec ostatniego z wymienionych, budotytan okazał się bardziej aktywny niż 5-fluorouracyl. Nie udało się natomiast jednoznacznie określić komórkowych mechanizmów działania tego związku – przypuszczalnie wywołuje on interkalację łańcuchów DNA lub RNA.

W badaniach klinicznych budotytan początkowo podawany był dożylnie w pojedynczej dawce 2, 4, 6, 9, 14 i 21 mg/kg m.c., a następnie od 2 razy w tygodniu do 1 razu w miesiącu [6, 7, 12, 13]. Dawka maksymalna, tolerowana przez pacjentów to 14-21 mg/kg m.c., przy której obserwowano podwyższenie poziomu enzymów wątrobowych i dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy krwi [11, 14]. Podwyższenie dawki do 21 mg/kg m.c. i więcej, powodowało nefrotoksyczność w stopniu 2 wg WHO [1, 12, 13] oraz nudności, osłabienie i złe samopoczucie, natomiast upośledzenie i odwracalna utrata smaku występowały przy dawce powyżej 9 mg/kg m.c. Wykazano, że dożylnie podanie leku 2 razy w tyg. w dawce ≤ 180 mg/m² daje najmniejsze ryzyko wystąpienia ostrej tok-

syczności. Czynnikiem zmuszającym do ograniczenia dawki do 230 mg/m² była kardiotoxyczność pod postacią zaburzeń rytmu [11].

Tytanocen. Ustalono, że celem działania tytanocenu, czyli dwuchloru tytanocenu = [bis (cyklopentanodienilo) dichlorotytanu (IV)] jest interakcja z DNA komórki poprzez tworzenie prostych adduktów z atomami azotu N-9 puryn [15] oraz złożonych adduktów pomiędzy atomami N-7 i O-6 [16]. Związek wykazuje aktywność przeciwko różnym typom doświadczalnych nowotworów zwierzęcych, tj. guza puchlinowego Ehrlicha, mięsaka 180, czerniaka B16, raka płuca Lewis, mysiego guza sutka TA3Ha i gruczolakoraka okrężnicy 38 [17]. Jest też jednym z pierwszych związków zawierających metale, testowanych na modelach kilku ludzkich nowotworów przeszczepionych myszom pozbawionym grasicy [1]. Badania te wykazały aktywność cytotoxyczną tytanocenu wobec raków okrężnicy i odbytnicy (głównie typ C-Stg 2, następnie C-Stg 3, M-Stg 4), raka płuca (głównie typ L 215, L 261), raka sutka (głównie typ MX 1, FM 2) oraz w mniejszym stopniu wobec raków głowy i szyi (typ LKM 1) [1]. Ostatnio wykazano cytotoxyczność tytanocenu w odniesieniu do komórek raka jajnika [18].

W badaniach klinicznych I fazy tytanocen podawany był pacjentom dożylnie w pojedynczych dawkach od 15 mg/m² do 560 mg/m², stosując eskalację dawek zgodnie z procedurą Fibonacciego [19]. Głównym objawem niepożądanym była nefrotoksyczność manifestująca się wzrostem poziomu kreatyniny w surowicy krwi. U dwóch chorych po dawkach 240 i 420 mg/m² doszło do hepatotoksyczności w I stopniu wg WHO. U części pacjentów leczonych dawkami powyżej 134 mg/m² odnotowano odwracalne uczucie metalicznego smaku bezpośrednio po podaniu leku, jedna osoba przejściowo utraciła smak [7,13]. Przypuszcza się, że tytanocen wpływa niekorzystnie na poziom glukozy, prawdopodobnie drogą oddziaływania na receptory insulinowe [1] – część pacjentów wykazywała zależną od dawki hypoglikemię [19], objaw ten obserwowano także w badaniach na zwierzętach [1, 20].

Badania kliniczne II fazy prowadzone są obecnie pod kierunkiem A.I.O. (*Arbeitsgruppe Internistische Onkologie*) z Niemieckiego Towarzystwa Onkologicznego [6].

ZWIĄZKI GERMANU

Spirogerman. Spirogerman – dwuchlorowodorek 8,8-dietylo-2-[3-(N-dimetylamino)propylo]-2-azo-8-germaspiro[4,5]dekanu wykazuje aktywność przeciwnowotworową *in vitro* względem komórek HeLa, ludzkich komórek białaczkowych [21], w badaniach *in vivo* hamuje wzrost mięsaka Walkera 256, wszczepionego dootrzewnowo szczurom, raka gruczołu krokowego 11 095 i gruczolakoraka sutka 13 762 szczura [1, 21]. Mechanizmem działania spirogermanu jest hamowanie syntezy DNA, RNA i białek. Ten

ostatni efekt jest najsilniejszy i może prowadzić do uszkodzenia błony komórkowej już przy niskich dawkach leku [1, 22]. Działanie związku jest niezależne od cyklu rozwojowego komórki, choć cytotoxyczność zwiększa się w fazie wzrostu logarytmicznego komórek [1, 22, 23, 24]. W czasie badań klinicznych I fazy lek podawany był w dawce 8-50 mg/m² w szybkich iniekcjach dożylnych, w dawce 50-80 mg/m² w 30 min. wlewie dożylnym lub w dawce 120-160 mg/m² w 1-2 godzinowym wlewie dożylnym [23]. Najkorzystniejszym wydaje się 30 min. wlew dożylny 2-3 razy w tygodniu w dawce 50-80 mg/m². Odnotowano neurotoksyczność pod postacią przemijającej senności, zawrotów głowy, oczopląsu, ataksji, zaburzeń widzenia i parestezji, ale lek ten pod względem klinicznym jest na ogół dobrze tolerowany. Jego najważniejszym działaniem niepożądanym jest neurotoksyczność, czasem występują nudności, wymioty oraz metaliczny smak [1].

Przeprowadzone badania kliniczne II fazy wykazały odpowiedź na leczenie u pacjentów z chłoniakami nieziarniczymi [23, 25, 27], rakiem jajnika [26] i gruczolakorakiem jelita [1, 25]. Z kolei spośród 28 chorych z nowotworami pochodzenia neuroepitelialnego (rdzeniak płodowy, skąpodrzewiak, wyściółczak anaplastyczny i gwiaździatek), po dawkach 80-120 mg/m² w krótkotrwałych wlewach i.v. 3 razy w tyg., tylko u 14 proc. uzyskano częściową remisję, natomiast 18 proc. badanych wykazało poprawę kliniczną przy nie zmienionej wielkości guza [1, 28]. W przypadku chorych z zaawansowanym rakiem jajnika i rakiem sutka odnotowano wyraźną odpowiedź u 6 osób z 18 (33 proc.) lub stabilizację choroby u 7 osób z 28 (25 proc.) [1, 29, 30]. Wśród chorych z ziarnicą złośliwą, wyraźna lub częściowa odpowiedź wystąpiła u 1 z 4 osób, natomiast w przypadku chłoniaków nieziarniczych – u 4 z 19 osób [31].

ZWIĄZKI GALU

Azotan galu. Aktywność przeciwnowotworowa galu ma silny związek z powinowactwem do transferyny – białka transportującego jony żelaza do komórek. Z powodu wzrostu zapotrzebowania na żelazo i dużej ilości receptorów dla transferyny na komórkach nowotworowych, związki galu wiążące się z transferyną w większości docierają do wnętrza komórek nowotworowych [32]. Docelowym punktem działania tego związku w komórce jest reduktaza rybonukleotydomowa [33], co powoduje hamowanie syntezy DNA i podziału komórki [34]. Enzym ten jest inaktywowany, kiedy gal blokuje wiązanie żelaza z podjednostką M2 reduktazy [35]. Azotan galu wykazuje aktywność *in vitro* w odniesieniu do linii komórkowych ludzkiej białaczki promielocytowej HL-60 [36], ludzkiego rdzeniaka 324, ludzkiego mięśniakomięsaka prądkowanokomórkowego TE 671 [34, 37] i zwierzęcej linii komórek białaczkowych L 1210 [33, 35]. Odnotowano także aktywność związku *in vivo* w odniesieniu

do komórek ludzkiego rdzeniaka Daoy, wszczepionych bezwłosym myszom [38].

Azotan galu był przedmiotem licznych badań klinicznych I i II fazy. W monoterapii wykazuje znaczną cytotoxyczność przeciwko rakom urotelialnym nawracającym i opornym na wcześniejsze leczenie, w szczególności wobec raka przejściowokomórkowego pęcherza, a także w odniesieniu do chłoniaków nieziarniczych. Średnią aktywność wykazuje w stosunku do nawracających i zaawansowanych raków szyjki macicy, natomiast nieznaczną wobec nawracających raków jajnika i raków gruczołu krokowego [32]. Osiągnięto obiecujące wyniki wykorzystując azotan galu w chemioterapii wielolekowej, tj. w skojarzeniu z winblastyną i ifosfamidem u nie leczonych chorych z rozsia- nym rakiem urotelialnym [39] oraz w skojarzeniu z 5-fluorouracylem w leczeniu II rzutu u pacjentów z przerzutowym rakiem przejściowokomórkowym pęcherza moczowego [40]. W trakcie badań u leczonych pacjentów odnotowano nefrotoksyczność, mielotoksyczność, nudności i wymioty.

Azotan galu jest silnym inhibitorem resorpcji kości. Gal wbudowując się do kości czyni hydroksypapatyty mniej rozpuszczalnymi, a więc bardziej odpornymi na osteolizę spowodowaną obecnością przerzutów nowotworowych [1, 41].

PODSUMOWANIE

Pomimo obiecujących wyników badań laboratoryjnych i silnej aktywności przeciwnowotworowej związków tytanu, germanu i galu, ich działanie terapeutyczne nie jest wystarczająco wybiórcze, obciążone jest też szeregiem poważnych objawów ubocznych limitujących ich przydatność (tj. mielotoksyczność, nefrotoksyczność, neuropatia). Próby kliniczne wskazują na całkowitą remisję choroby jedynie u niewielkiego odsetka leczonych. Niemniej jednak, powyższe związki metali mogą stać się skuteczniejszym narzędziem chemioterapii po opracowaniu odpowiednich postaci leków, zwiększających ich wybiórczość w odniesieniu do tkanek nowotworowych (np. odpowiednio dobrana wielkość cząsteczki nośnika leku; liposomalne, emulsyjne i poli- merowe postaci nośnika).

PIŚMIENNICTWO

1. Köpf-Maier P. *Complexes of metals other than platinum as antitumour agents*. Eur J Clin Pharmacol 1994; 47:1-16.
2. Williams DR. *Bioinorganic Drugs-1*. Educ Chem 124-127.
3. Sadler PJ. *Inorganic chemistry and drug design*. Adv Inorg Chem 1991; 36:1-48.
4. Rosenberg B, VanCamp L, Krigas Th. *Inhibition of cell development in Escherichia coli bacteria by electrolysis from a platinum electrode*. Nature 1965; 205:698-699.
5. Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, et al. *Platinum compounds: a new class of potent anti-tumour agents*. Nature 1969; 222:385-386.
6. Kratz F, Schütte MT. *Anticancer metal complexes and tumour targeting strategies*. Cancer J 1998; 11, 2:60-67.

7. Keppler BK, Friesen C, Moritz HG, Vongerichten H, Vogel E. *Tumor-inhibiting bis- β -diketonato metal complexes. Budotitane, cis-diethoxybis (1-phenylbutane-1,3-dionato) titanium (IV). The first transition metal complex after platinum to qualify for clinical trials.* Struct Bond 1991; 78, 97-127.
8. Keppler BK, Diez A, Seifried V. *Antitumor activity of phenyl substituted dihalogenobis (1-phenyl-1,3-butanedionato) titanium (IV) compounds.* Arzneimittelforschung/Drug Res 1985; 35:1832-1836.
9. Keppler BK, Berger MR, Heim ME. *New tumor-inhibiting metal complexes.* Cancer Treat Rev 1990; 17:261-277.
10. Bischoff H, Berger MR, Keppler BK, et al. *Efficacy of β -diketonato complexes of titanium, zirconium and hafnium against chemically induced autochthonous colonic tumors in rats.* J Cancer Res Clin Oncol 1987; 113:446-450.
11. Schilling T, Keppler KB, Heim ME, et al. *Clinical phase I and pharmacokinetic trial of the new titanium complex budotitane.* Invest New Drugs 1996; 13:327-332.
12. Keppler BK, Heim ME. *Antitumor-active bis- β -diketonato metal complexes: budotitane - a new anti-tumor agent.* Drugs Future 1988; 13:637-652.
13. Heim ME, Bischoff H, Keppler BK. *Clinical studies with budotitane - a new non-platinum complex for cancer therapy.* Metal ions in biology and medicine. Libbey, Paris, 508-510.
14. Heim ME, Flechner H, Keppler BK, et al. *Clinical studies with budotitane, a new non-platinum metal complex for cancer therapy.* Contrib Oncol 1989; 37:168-175.
15. Beauchamp AL, Cozak D, Mardhy A. *Synthesis and crystal structure of chlorobis(η^5 -cyclopentadienyl) purinato titanium (IV), a model compound for the interaction of the antitumor titanocene dichloride molecule with DNA bases.* Inorg Chim Acta 1984; 92:191-197.
16. Cozak D, Mardhy A, Olivier MJ, Beauchamp AL. *N7/O6 chelation in a complex with an analogue of guanine. Preparation, spectroscopic study and crystal structure of bis(η^5 -cyclopentadienyl) (theophyllinato) titanium (III).* Inorg Chem 1986; 25:2600-2606.
17. Köpf-Maier P, Köpf H. *Transition and main-group metal cyclopentadienyl complexes: preclinical studies on a series of antitumor agents of different structural type.* Struct Bond 1988; 70:103-185.
18. Moebus VJ, Stein R, Kieback DG, et al. *Antitumor activity of new organometallic compounds in human ovarian cancer cell lines and comparison to platinum derivatives.* Anticancer Res 1997; 17:815-822.
19. Berdel WE, Schmoll HJ, Scheulen ME, et al. *Phase I clinical trial of titanocene dichloride in adults with advanced solid tumors.* J Cancer Res Clin Oncol 1994; 120 (Suppl.), R172.
20. Köpf-Maier P, Gerlach S. *Pattern of toxicity by titanocene dichloride in mice. Blood and urine chemical parameters.* J Cancer Res Clin Oncol 1986; 111:243-247.
21. Rice LM, Slavik M, Schein P. *Clinical brochure: spirogermanium (NSC-192965).* National Cancer Institute. Bethesda, Maryland.
22. Whelan RD, Hill BT. *Spirogermanium, a new type of antitumor agent: cytotoxic effects and biological activity.* Br J Cancer 1982; 45:639.
23. Schein PS, Slavik M, Smythe T, et al. *Phase I clinical trial of spirogermanium.* Cancer Treat Rep 1980; 64:1051-1056.
24. Slavik M, Blanc O, Davis J. *Spirogermanium: a new investigational drug of novel structure and lack of bone marrow toxicity.* Invest New Drugs 1987; 1:223-234.
25. Mattson W. *A phase I study of spirogermanium.* Proc Am Assoc Cancer Res 1980; 21:194.
26. Ajani JA, Legha SL, Burgess MA, Bodey GP. *Phase I study of spirogermanium given for five consecutive days per week.* Proc Am Soc Clin Oncol 1982; 1:16.
27. Legha SS, Ajani JA, Bodey GP. *Phase I trial of spirogermanium given daily.* J Clin Oncol 1983; 1:331-336.
28. Goodwin JW, Crowley J, Trantum B, et al. *Phase II trial of spirogermanium in central nervous system tumors: a Southwest Oncology Group study.* Cancer Treat Rep 1987; 71:99-100.
29. Trope C, Mattson W, Gynning I, Johnsson JE, et al. *Phase II study of spirogermanium in advanced ovarian malignancy.* Cancer Treat Rep 1981; 65:119-120.
30. Falkson G, Falkson HC. *Phase II trial of spirogermanium for treatment of advanced breast cancer.* Cancer Treat Rep 1983; 67:189-190.
31. Espana P, Kaplan R, Robichaud K, et al. *Phase II study of spirogermanium in lymphoma patients.* Proc Am Soc Clin Oncol 1982; 1:C-647.
32. Head JF, Wang F, Elliott RL. *Antineoplastic drugs that interfere with iron metabolism in cancer cells.* Advan Enzyme Regul 1997; 37:147-169.
33. Chitambar CR, Narasimhan J, Guy J, et al. *Inhibition of ribonucleotide reductase by gallium in murine leukemic L1210 cells.* Cancer Res 1991; 51:6199-6201.
34. Whelan HT, Przybylski C, Chitambar CR. *Alteration of DNA synthesis in human brain tumor cells by gallium nitrate in vitro.* Pediatr Neurol 1991; 7:352-354.
35. Narasimhan J, Antholine WE, Chitambar CR. *Effect of gallium on the tyrosyl radical of the iron-dependent M2 subunit of ribonucleotide reductase.* Biochem Pharmacol 1992; 44:2403-2408.
36. Chitambar CR, Zivkovic Z. *Uptake of gallium-67 by human leukemic cells: Demonstration of transferrin receptor-dependent and transferrin-independent mechanisms.* Cancer Res 1987; 47:3929-3934.
37. Whelan HT, Przybylski C, Chitambar CR. *Differential effects of gallium nitrate on proliferation of brain tumor cells in vitro.* Pediatr Neurol 1991; 7:23-27.
38. Whelan HT, Schmidt MH, Anderson GS, et al. *Antineoplastic effects of gallium nitrate on human medulloblastoma in vivo.* Pediatr Neurol 1992; 8:323-327.
39. Einhorn LH, Roth BJ, Ansari R, et al. *Vinblastine, ifosfamide and gallium (VIG) combination chemotherapy in urothelial carcinoma.* Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol 1994; 13:A702.
40. Schultz P, Bajorin D, Kelly WK, et al. *Combination gallium nitrate and 5-fluorouracil for platinum-resistant metastatic transitional cell carcinoma of the bladder.* Proc Annu Meet Am Soc Cancer Res 1993; 34:A1209.
41. Farina C, Gagliardi S. *Exp Opin Ther Patents* 1999; 9 (2):157-168.

ADRES DO KORESPONDENCJI

lek. med. **Tomasz Dąbrowski**
 Katedra i Zakład Fizyki i Biofizyki
 Akademia Medyczna w Gdańsku
 ul. Dębinki 1
 80-211 Gdańsk