

Kompleksy metali w terapii nowotworowej. Teraźniejszość i przyszłość

Lilianna Trynda-Lemiesz, Urszula Śliwińska-Hill

Pomimo tego, że cisplatyna ma obecnie wiodącą, dobrze ugruntowaną pozycję wśród leków używanych w terapii chorób nowotworowych, jej stosowanie jest ograniczone przez toksyczne efekty uboczne. Obok wysokiej toksyczności drugi problem stanowi wrodzona lub nabyta oporność komórek nowotworowych na leki platynowe. Te problemy spowodowały poszukiwania alternatywnych strategii, opartych na syntezie nowych związków ukierunkowanych na różne cele. Prowadzone obecnie badania dotyczą projektowania leków, które będą działały bardziej selektywnie i powodowały mniejsze skutki uboczne niż cisplatyna i jej pochodne.

Przedstawiony przegląd literatury obejmuje badania dotyczące stosowanych w praktyce klinicznej leków platynowych, sposób ich oddziaływania z DNA oraz mechanizm cytotoksycznego działania. W wyniku poszukiwania nowych, lepszych, chemioterapeutyków na bazie platyny, zsyntetyzowano wielordzeniowe związki zawierające kilka centrów metalicznych, które charakteryzują się odmiennym niż cisplatyna sposobem wiązania z DNA. W badaniach zwrócono również uwagę na kompleksy platyny (IV), które „zabezpieczają” cząsteczkę bardziej reaktywnego kompleksu platyny (II) podczas transportu do docelowego miejsca działania. Związki te, ze względu na stabilność i biodostępność, badane są pod kątem leków do podania doustnego. Przykładem takiego kompleksu, znajdującego się w zaawansowanym stadium badań klinicznych, jest satraplatyna.

W celu uniknięcia wysokiej systemowej toksyczności projektowane są systemy selektywnego dostarczania leków tylko do komórek nowotworowych. Jednym z przykładów tej strategii jest inkapsulacja związków platyny (cisplatyna, karboplatyna) w miejscu żelaza w ferrytynie lub mini-komórkach pochodzenia bakteryjnego. W przeglądzie opisane zostały także różne sposoby dostarczania kompleksów platyny (IV) bezpośrednio do komórek nowotworowych i ich wewnątrzkomórkowa redukcja.

Metal complexes in anticancer therapy. Present and future

Although cisplatin is currently holding its well-established position in the list of drugs used in cancer therapy the clinical use of cisplatin is severely limited by toxic side-effects. Apart from their high toxicity one must also keep in mind inherent or acquired resistance of cancer cells to platinum drugs. Therefore a lot of research was aimed at the synthesis of new complexes and directed at different targets. Current research concentrates on designing drugs, which will act more selectively and cause lower toxic side-effect than cisplatin and its derivatives.

We present an overview of the literature regarding platinum-based anticancer drugs applied clinically, their interactions with DNA and mechanisms of cytotoxicity. The search for new and better chemotherapeutic agents based on platinum has allowed to synthesize multinuclear compounds containing several metallic centers, which differ from cisplatin as to the mode of DNA binding. Literature reports also highlight platinum (IV) complexes, which “protect” the molecules of more reactive platinum (II) complexes during transport to the target site of action. Due to their increased stability these compounds are suitable for oral application. An example of such a complex, already in advanced stages of clinical trials is satraplatin.

In order to avoid the high systemic toxicity of traditional platinum anticancer agents special drug delivery systems have been designed. These are capable of delivering drugs to tumour cells only. One of the examples of this strategy is the encapsulation of platinum complexes (cisplatin, carboplatin) in the hollow protein cage of the iron storage protein ferritin or in bacterially-derived minicells. The review also presents various ways of delivering complexes of platinum (IV) directly into the tumour cells and their intracellular reduction.

Słowa kluczowe: leki przeciwnowotworowe, oporność komórek, cisplatyna i jej pochodne

Key words: anticancer drugs, cells resistance, cisplatin and its derivatives

Wprowadzenie

Badania dotyczące zastosowań kompleksów metali w medycynie należą do jednej z najbardziej zintegrowanych dziedzin nowoczesnej chemii nieorganicznej, łączącej szereg danych o strukturze i właściwościach kompleksów metali oraz przebiegu i kontroli procesów życiowych organizmu.

Osiągnięcia chemii koordynacyjnej w projektowaniu nowych leków przeciwnowotworowych, opartych na kompleksach metali, stanowią ważny wkład w rozwój coraz bardziej skutecznych metod chemioterapii. Czy najnowsze odkrycia biologii molekularnej są szansą na skuteczniejsze niż obecnie leczenie nowotworów? Niewątpliwie tak, chociaż identyfikacja genów związanych z transformacją komórki normalnej w nowotworową jest dopiero początkiem drogi. Całkowita likwidacja nowotworu wymaga korekcji lub zniszczenia wszystkich zmienionych komórek, a to jest bardzo trudne, nawet przy zastosowaniu wielolekowych kuracji.

Istotną zmianą, jaką w ciągu ostatnich lat obserwuje się w farmakoterapii nowotworów, jest przejście z ogólnie rozumianej cytotoksyczności do swoistej, ściśle ukierunkowanej, aktywności przeciwnowotworowej. Zmiana ta jest wynikiem rozwoju technik identyfikacji celu działania leku, jak również strukturalnych podstaw projektowania leków. Wymuszone zmiany w farmakoterapii nowotworów są również konsekwencją licznych, często bardzo ciężkich, działań niepożądanych, jakie niosą obecnie stosowane leki oraz wrodzoną lub nabytą opornością komórek nowotworowych na stosowane w terapii związki. Ograniczenia te wymuszają poszukiwania innych bardziej skutecznych i mniej toksycznych leków.

Badania dotyczące leków przeciwnowotworowych prowadzone są w dwóch kierunkach:

- poszukiwanie nowych leków o większej aktywności i mniejszej toksyczności;
- próby udoskonalenia terapii już stosowanych leków, ze szczególnym uwzględnieniem kuracji wielolekowych.

Te dwa kierunki obserwuje się również w badaniach aktywnych przeciwnowotworowo kompleksów metali.

Badania dotyczące aktywności przeciwnowotworowej kompleksów metali zostały zapoczątkowane w latach 60. ubiegłego stulecia, dzięki odkryciu przez Rosenberga biologicznego działania cisplatyny. Od tego

czasu chemia koordynacyjna stanowi ważną część chemioterapii.

Próby zsyntetyzowania analogów cisplatyny miały na celu zwiększenie efektywności oraz selektywności w stosunku do tkanek nowotworowych, a przede wszystkim zmniejszenie toksyczności. Synteza nowych analogów cisplatyny ma również na celu poprawienie właściwości farmakologicznych leku, takich jak możliwość jego doustnego podawania.

W ciągu ostatnich pięćdziesięciu lat zsyntetyzowanych zostało około 3000 związków platyny, które były badane pod kątem aktywności przeciwnowotworowej. Jednak niewiele z nich (około 30) dotarło do etapu badań klinicznych, a zastosowanie kliniczne znalazło zaledwie sześć związków (Ryc. 1).

Wysoka aktywność przeciwnowotworowa kompleksów platyny spowodowała poszukiwanie nowych, nieplatynowych związków koordynacyjnych, o równie dobrej aktywności i mniejszej toksyczności. Duże nadzieje pokłada się w kompleksach rutenu, między innymi dlatego, że wykazują one właściwości antymetastatyczne.

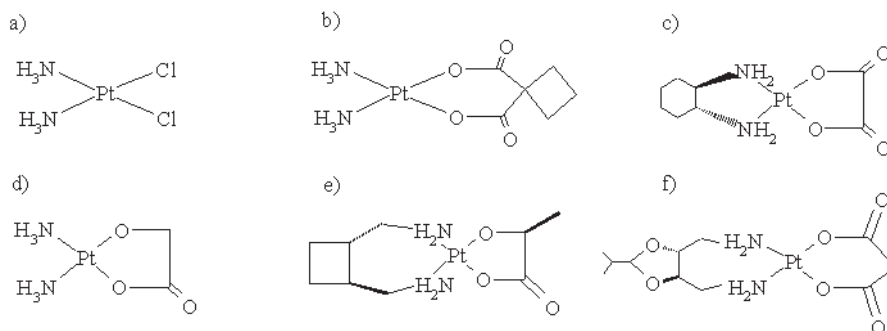
Obecnie dominującym kryterium przy poszukiwaniu leków przeciwnowotworowych na bazie metali jest wysoka swoistość wobec komórek nowotworowych. Istotnym punktem badań są kompleksy ukierunkowane na nieklasyczne cele działania – białka oraz enzymy procesu nowotworzenia.

Mechanizm działania aktywnych przeciwnowotworowo kompleksów platyny

Leki cytotoksyczne stosowane w chemioterapii nowotworów oprócz działania antyproliferacyjnego nie wywierają specyficznego działania hamującego ani na inwazyjność, ani na utratę zdolności do różnicowania, czy zdolność do przerzutów. W większości działają w fazie S, a wynikające z tych oddziaływań uszkodzenia DNA inicjują apoptozę.

W zależności od mechanizmu działania leki cytotoksyczne dzielimy na cztery główne grupy:

- **związki alkilujące** i ich pochodne, które działają poprzez tworzenie wiązań z DNA, uniemożliwiając jego replikację. Głównym miejscem działania tej grupy leków jest silnie nukleofilowy atom N(7) guaniny, jakkolwiek atomy N(1) i N(3) adeniny oraz N(3) cytozyny również mogą brać udział w tym oddziaływaniu. Do



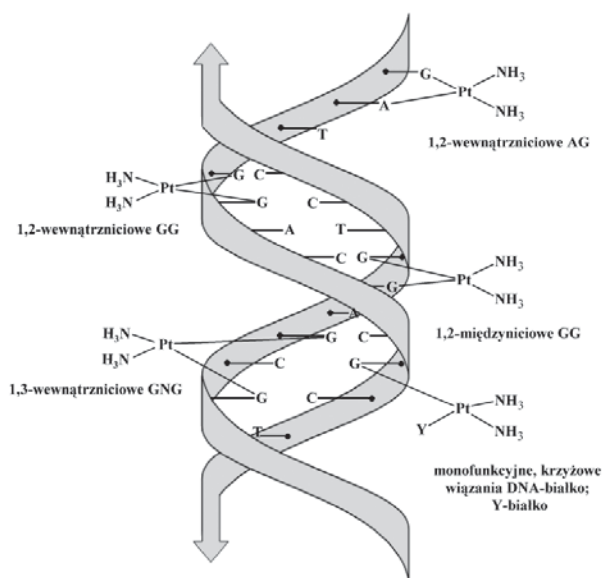
Ryc. 1. Wzory strukturalne stosowanych związków platyny (II): cisplatyna (a), karboplatyna (b), oksaliplatyna (c), nedaplatyna (d), lobaplatyna (e), heptaplatyna (f) [1]

leków alkilujących należą strukturalnie różne podgrupy związków chemicznych (pochodne iperytu azotowego, estry kwasu sulfonowego, pochodne nitrozomocznika, kompleksy platyny);

- **antymetabolity**, strukturalne analogi naturalnych metabolitów lub koenzymów, które blokują lub odwracają jeden lub więcej szlaków metabolicznych zaangażowanych w syntezę DNA. Szybko rosnąca tkanka nowotworowa pochłania większą ilość metabolitu i dlatego ulega uszkodzeniu w większym stopniu niż prawidłowa. Leki te są swoiste fazowo, zabijają komórkę w fazie S. Należą tu antagoniści kwasu foliowego (np. metotreksat), analogi pirymidyny (fluorouracyl) oraz antagoniści puryn, np. merkaptopuryna i pentostatyna;
- **antybiotyki cytotoksyczne**, wykazują zwykle kilka działań cytotoksycznych. Hamują zarówno syntezę DNA jak i RNA. W większości przypadków główne działanie cytotoksyczne tej grupy leków zależy od wpływu na topoizomerazę II, której aktywność ulega podwyższeniu w komórkach proliferujących. Topoizomeraza tworzy szczelinę (tzw. bańkę replikacyjną), rozdzielając obydwie nici DNA. Efektem działania większości antracyklin (doksorubicyna, adriamycyna, daktynomycyna) jest stabilizowanie kompleksu DNA-topoizomeraza II po rozkręceniu obu nici i w konsekwencji zatrzymanie procesu replikacji w tym punkcie;
- **leki pochodzenia roślinnego**, które uszkadzają specyficznie mikrotubule i uniemożliwiają tworzenie wrzeciona mitotycznego (działają w fazie M cyklu komórkowego). Do tej grupy należą alkaloidy barwinka (*Vinca rosea*), takie jak: vinkrystyna, vinblastyna, vindezyna i winorelbina. Leki te działają poprzez wiązanie się z tubuliną, hamując jej polimeryzację do mikrotubul, co uniemożliwia wytworzenie wrzeciona mitotycznego. Do tej grupy leków należą również taksany, które stabilizują mikrotubule w stadium polimeryzacji, dając tzw. efekt „zamrożenia”. Do grupy leków pochodzenia roślinnego o stosunkowo małej toksyczności należą kampotecyny (irynotekan i topotekan), których działanie polega na inaktywacji topoizomerazy I, której wysoki poziom obserwuje się w cyklu komórkowym. Leczenie z zastosowaniem kombinacji kilku leków zwiększa cytotoksyczność, zmniejsza też możliwość rozwoju oporności w stosunku do pojedynczych leków. Leki są na ogół podawane w dużych dawkach w sposób przerywany, głównie ze względu na możliwość regeneracji szpiku kostnego.

Kompleksy platyny, jak wspomniano wcześniej, należą do grupy leków alkilujących. Szeroko prowadzone badania stosowanej od końca lat 70. cisplatyny pozwoliły zrozumieć dokładnie mechanizmy aktywności tej grupy leków [2-4].

Podstawą mechanizmu działania kompleksów platyny jest inhibicja replikacji DNA poprzez tworzenie wiązań wewnątrznicowych (wiązanie do atomów N(7) sąsiadujących guanin). Spośród wszystkich połączeń tworzonych przez cisplatynę w przybliżeniu 65% stanowi dwu-



Ryc. 2. Schemat wiązania cisplatyny z DNA

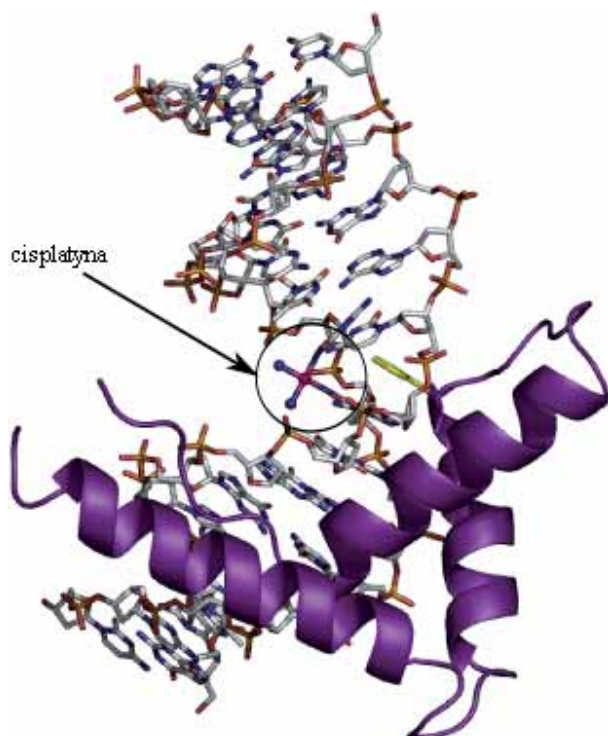
funkcyjne 1,2-wewnątrznicowe, krzyżowe połączenie, w którym kompleks platyny (II) tworzy krzyżowe wiązanie pomiędzy dwoma sąsiednimi atomami N(7) guaniny (Ryc. 2) i ten rodzaj wiązania jest głównie odpowiedzialny za aktywność związków platyny. Nukleofilowy azot N(7) guaniny jest zarazem miejscem o dużej dostępności, ponieważ miejsce to jest wyeksponowane na głównym rowku podwójnej helisy i nie bierze udziału w tworzeniu wiązania wodorowego pomiędzy komplementarnymi parami zasad azotowych [5].

W zrozumieniu mechanizmów działania związków platyny niewątpliwie pomogły badania aktywności farmakologicznej izomeru *trans*, który ze względu na swoją budowę przestrzenną nie może tworzyć 1,2-wewnątrznicowych, krzyżowych połączeń pomiędzy sąsiednimi guaninami [6, 7]. Transplatyna tworzy głównie 1,3-wewnątrznicowe, krzyżowe połączenia, a także, podobnie jak cisplatyna, połączenia międzynicowe i jednofunkcyjne. Izomer *trans* nie wykazuje aktywności przeciwnowotworowej.

Wiązanie Pt-N(7)G odpowiedzialne za cytotoksyczność połączeń z DNA jest niezwykle stabilne i może być rozerwane tylko przez silne czynniki nukleofilowe, takie jak cyjanek lub tiomocznik. Charakterystyczną cechą tego wiązania jest specyficzne zgięcie podwójnej nici DNA, które uważane jest za główne uszkodzenie prowadzące do apoptozy [4, 5].

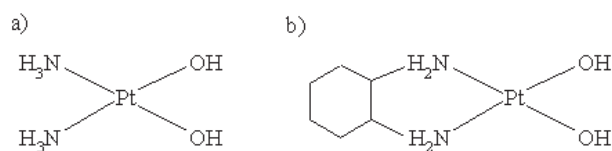
Miejsce zagięcia jest specyficznie rozpoznawane przez białko hMSH2, należące do grupy białek HMG (*high mobility group*), które w prawidłowych warunkach kontrolują DNA, wyszukując uszkodzenia (Ryc. 3).

Białko hMSH2 występuje w dużych ilościach w jądrze i w jajniku, co wyjaśnia, dlaczego cisplatyna jest najbardziej skuteczna w leczeniu nowotworów wywodzących się z tych narządów. Wydaje się, że białka HMG odgrywają istotną rolę zarówno w cytotoksyczności, jak również w oporności na tę grupę leków [8].



Ryc. 3. Zgięcie łańcucha DNA po związaniu cisplatyny; (domena A białka HMG (fioletowy) z zaznaczoną grupą fenylową (żółty), oddziaływująca bezpośrednio z DNA) [5]

Oddziaływanie leków platynowych z DNA jest poprzedzone hydrolizą kompleksu, co jest pierwszym etapem biotransformacji tych związków w organizmie i prowadzi we wszystkich przypadkach do otrzymania aktywnych metabolitów, takich jak: *cis*-diaminadihydroxy-platyna(II) dla cisplatyny, karboplatyny i nedaplatyny czy *trans*-diaminacyklohexan-dihydroxy-platyna(II) dla oxaliplatyny (Ryc. 4).



Ryc. 4. Aktywne metabolity kompleksów platyny; *cis*-diaminadihydroxy-platyna(II) (a), *trans*-diaminacyklohexan-dihydroxy-platyna(II) (b)

Dlatego wprowadzone kompleksy platyny można traktować jako proleki, które dopiero w wyniku hydrolizy tworzą aktywne metabolity. Proces hydrolizy wymienionych leków ma różną kinetykę. Najszybciej hydrolizie ulega cisplatyna [9, 10].

Kompleksy platyny stosowane jako leki oraz znajdujące się w zaawansowanym stadium badań klinicznych

Z kilku tysięcy zsyntetyzowanych związków platyny zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej znalazło sześć związków (Ryc. 1). Są to: cisplatyna, stosowana od 1978 r., lek drugiej generacji – karboplatyna, stosowana

od 1980 r. oraz oksaliplatyna, stosowana od 1988 r. Pozostałe trzy związki – nedaplatyna, lobaplatyna i heptaplatyna (Ryc. 1 d, e, f) są dopuszczone do stosowania klinicznego tylko na terenie Japonii, Chin i Korei Południowej. Większość leków platynowych jest efektywna w kombinowanych kuracjach wielolekowych [11, 12]. Cisplatyna jest skuteczna w niedrobnokomórkowym raku płuca (NSCLC) i stała się podstawą leczenia nowotworów: pęcherza moczowego, szyjki macicy, głowy, przełyku oraz wielu nowotworów występujących u dzieci. W większości tych nowotworów cisplatyna pozostaje lekiem pierwszego wyboru z tendencją do zastępowania jej karboplatyną [13, 14].

Karboplatyna zachowuje dwa ligandy NH_3 w konformacji *cis*, a miejsce ligandów chlorkowych zastępuje ligand cyklobutylokarboksylowy, z atomem tlenu grupy karboksylowej, podatnym na podstawienie nukleofilowe (Ryc. 1b) [1]. Stosuje się ją przede wszystkim w terapii wielolekowej (głównie w kombinacji z paklitaksemem), najczęściej w przypadku złej tolerancji cisplatyny [15, 16].

Występowanie w strukturze leków platynowych nowej generacji mniej labilnego ligandu powoduje, że związki te wykazują mniejszą toksyczność, szczególnie neuro- i nefro-toksyczność, zachowując jednocześnie taką samą, a w niektórych przypadkach większą, aktywność przeciwnowotworową.

Nowszej generacji leki, będące analogami cisplatyny, zachowują mechanizm działania podobny jak w przypadku cisplatyny. Różnice zarówno w aktywności, jak i toksyczności tych kompleksów wynikają z obecności różnych ligandów, co powoduje, że inna jest kinetyka wymiany tych ligandów [17]. Charakter liganda może mieć wpływ na ilość i rodzaj tworzonych adduktów z DNA, czym tłumaczy się między innymi skuteczność oksaliplatyny w przypadkach nowotworów opornych na cisplatynę [18]. Rodzaj liganda ma również istotny wpływ na farmakokinetykę leku, ponieważ tylko niezwiązana frakcja leku może wywołać efekt farmakologiczny. Interakcje z białkami i innymi składnikami krwi, szczególnie wówczas gdy tworzą się wiązania nieodwracalne, obniżają stężenie aktywnej formy leku, zmniejszając jego skuteczność. Dlatego jednym z kierunków badań kompleksów platyny o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych są badania możliwości tworzenia przez te kompleksy nieodwracalnych wiązań koordynacyjnych z albuminą [19, 20]. Poszukiwanie nowych leków opartych na bazie cisplatyny wiąże się głównie z mechanizmami oporności komórkowej na cisplatynę. Oporność komórek nowotworowych na związki platyny jest procesem, na który składa się prawdopodobnie wiele czynników [13]. Niektóre z nich występują przed osiągnięciem miejsca działania leku i są to różne modyfikacje farmakokinetyki (zmniejszenie wewnątrzkomórkowej akumulacji, usuwanie leku z komórki, inaktywacja poprzez cząsteczki redukujące, zawierające ligandy siarkowe, np. GSH czy metalotioninę, reakcja z biomolekułami innymi niż DNA). Przede wszystkim jednak należy brać pod uwagę mechanizmy oporności wewnątrzkomórkowej, do których należą: zwiększona aktywność procesów naprawy DNA, zwiększona

szenie tolerancji na deformację DNA, obniżenie odpowiadzi komórkowej na uszkodzenia kompleksami [6]. Efektem działania leków platynowych jest uruchomienie procesu apoptozy. Komórki nowotworowe próbują zapobiec temu procesowi m.in. poprzez nadekspresję białka Bcl-2, którego „wyłączenie” zwiększa prawdopodobieństwo samobójczej śmierci komórki poprzez blokowanie uwalniania cytochromu c, co jest sygnałem do apoptozy [21].

Coraz lepsze poznanie mechanizmów oporności pozwala na projektowanie bardziej skutecznych leków opartych na bazie kompleksów metali.

Obecnie większość prowadzonych badań jest ukierunkowana na poszukiwanie nowych leków, opartych na bazie kompleksów metali, ale wykazujących inny mechanizm działania niż cisplatyna i jej analogi.

W wyniku poszukiwania związków o lepszej cytotoxyczności i szerszym spektrum aktywności, w porównaniu do analogów cisplatyny, zostały zsyntetyzowane kompleksy wielordzeniowe, zawierające dwa lub więcej atomów centralnych, z których każdy ma możliwość tworzenia kowalencyjnych połączeń z DNA, odmiennych od wiązań tworzonych przez cisplatynę i jej analogi [22-24]. Stopień i ilość interakcji kompleksów wielordzeniowych z DNA może się znacznie różnić, w zależności od charakteru liganda wiążącego, geometrii centrum metalicznego oraz ładunku kompleksu. W badaniach znajdują się głównie dwu- i trójrdzeniowe dodatnio naładowane kompleksy z ligandami poliamidowymi [23].

Charakterystyczną cechą tych kompleksów jest posiadanie dodatniego ładunku, który prawdopodobnie w dużym stopniu jest odpowiedzialny za przełamanie wrodzonej i nabytej oporności na konwencjonalną terapię cytostatykami. Stwierdzono, że kompleksy wielordzeniowe wykazują aktywność w dawkach dużo mniejszych niż cisplatyna czy karboplatyna. Pierwszym związkiem wielordzeniowym, który został zakwalifikowany do badań klinicznych, jest trójrdzeniowy związek BBR3464 (Ryc. 5) [25]. Obecnie znajduje się on w II fazie badań klinicznych [26].

Związek ten w testowanych liniach komórek nowotworowych wykazuje znacznie większą aktywność w stosunku do cisplatyny, a przede wszystkim jest aktywny wobec linii komórkowych opornych na cisplatynę i jej analogi [27]. Reaguje znacznie szybciej z DNA niż stosowane dotychczas leki, co wynika z posiadanego ładunku dodatniego, ułatwiającego interakcję z polianionowym DNA. Kompleksy wielordzeniowe mają zdolność tworzenia w przeważającej ilości międzyciniowych wiązań krzyżowych z DNA, począwszy od połączeń krótkiego zasię-

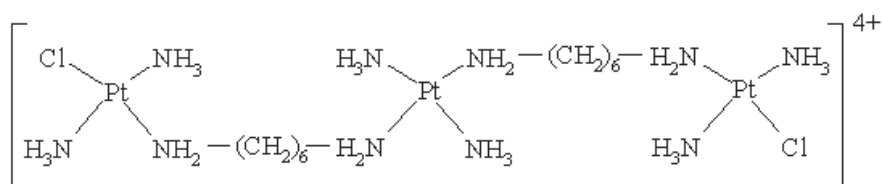
gu – 1,2-wewnątrznicinowe GG do odległych, takich jak – 1,6-międzyciniowe GG [28]. Tworzą również połączenia z mniejszym rowkiem DNA. Związki te posiadają możliwość bezpośredniego wiązania się z DNA poprzez wiązania wodorowe.

Dotychczas nie udało się dokładnie ustalić, które z możliwych wiązań są przyczyną wyjątkowej aktywności tych kompleksów, ale badania potwierdziły, że istotne różnice strukturalne między tymi związkami a analogami cisplatyny prowadzą do otrzymania innego typu adduktów z DNA oraz innego spektrum klinicznej aktywności.

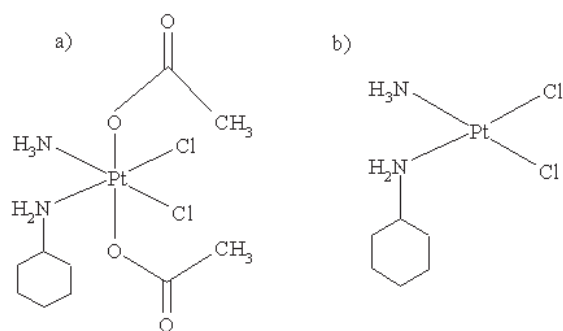
Oddzielną grupę związków stanowią kompleksy platyny (IV), które są badane pod kątem stosowania doustnego. Wszystkie stosowane obecnie kompleksy platyny podawane są w postaci infuzji dożylniej.

Strukturę kompleksów platyny (IV) charakteryzuje oktaedryczna geometria, z dwoma dodatkowymi miejscami wiążącymi ligandy oraz wysoka kinetyczna inercyjność. Ligandy występujące w związkach platyny (IV) w pozycji aksjalnej nadają tym kompleksom unikalną zdolność modyfikacji parametrów farmakokinetycznych [29]. Wpływają m.in. na zmiany lipofilności, której wzrost zwiększa udział dyfuzji biernej kosztem transportu aktywnego podczas wychwytu leków przez komórki. Skutkiem tego jest zwiększona akumulacja leku w komórkach. Ligandy aksjalne mogą również mieć wpływ na potencjał oksydacyjno-redukcyjny związku – poprzez wolniejsze tempo redukcji lek łatwiej osiąga miejsce docelowe go działania w formie niezmienionej. Redukcji najłatwiej ulegają kompleksy z ligandami chlorkowymi w pozycji aksjalnej, najsłabiej – z grupami hydroksylowymi [30]. Modyfikacja ligandów może zmieniać właściwości kompleksu, natomiast warunkiem koniecznym cytotoxyczności kompleksów platyny (IV) jest redukcja metalu do Pt (II), która to forma jest odpowiedzialna za mechanizm działania cytotoxycznego [29, 30]. W związku z różnicami metabolicznymi (zwiększone potrzeby energetyczne, generowanie nadmiaru kwasu mlekowego, co powoduje niższe pH) potencjał elektrochemiczny wewnątrz komórek nowotworowych jest zasadniczo niższy w porównaniu do tkanki normalnej, co powoduje aktywację kompleksu poprzez redukcję.

Kompleksy platyny (IV) „zabezpieczają” cząsteczkę bardziej reaktywnego związku platyny (II) podczas transportu do miejsca działania, ponieważ znaczna część wprowadzonych kompleksów platyny (II) zostaje wyeliminowana na skutek wiązania z białkami osocza oraz innych reakcji ubocznych. W zaawansowanym stadium badań klinicznych (II i III faza) znajduje się satraplaty-



Ryc. 5. Trójrdzeniowy kompleks platyny BBR3464



Ryc. 6. Wzór strukturalny satraplatyny (a) i jej metabolitu JM 118 (b) [29]

na [31, 45] – kompleks platyny(IV) (Ryc. 6 a) posiadający jako ligandy aksjalne dwie grupy acetylowe, co zwiększa lipofilowy charakter cząsteczki, i co za tym idzie, jego biodostępność po podaniu doustnym. Metabolizm satraplatyny w krwioobiegu przebiega poprzez utratę dwóch grup acetylowych i utworzenie związku dichloro-(cykloheksyloamina)-platyna(II) (JM118) (Ryc. 6 b) – strukturalnie podobnego do cisplatyny. Powstały w ten sposób metabolit powoduje zniekształcenie matrycy DNA przez tworzenie krzyżowych wiązań między- i wewnątrz-niciowych, inhibicję procesów replikacji i transkrypcji, a w efekcie indukację apoptozy. Na charakter tworzonych wiązań oraz nietypowe właściwości wpływają również ligandy „stałe” – w przypadku satraplatyny jest to ligand aminowy i cykloheksyloaminowy [31].

Profil toksyczności satraplatyny zbliżony jest do karboplatyny, ale obserwuje się znacznie słabszą nefrotoksyczność, neurotoksyczność oraz ototoksyczność [31]. Działania toksyczne ograniczające podanie satraplatyny to trombocytopenia i neutropenia, które są odwracalne i niekumulujące. Najczęściej występującymi (ok. 10% pacjentów) działaniami niepożądanymi są dolegliwości ze strony układu pokarmowego. Obecnie prowadzone są badania kliniczne II i III fazy w celu określenia efektywności działania satraplatyny zarówno w monoterapii, jak również w skojarzeniu z innymi lekami [32].

Nowe trendy w projektowaniu leków przeciwnowotworowych na bazie kompleksów platyny

W klasycznej chemioterapii lekami opartymi na związkach platyny głównym celem jest DNA, którego skuteczne, trudne do usunięcia uszkodzenia prowadzą do apoptozy.

Wysoka toksyczność stosowanych leków platynowych wiąże się z faktem, że leki te wywierają również wpływ na szybko dzielące się zdrowe komórki. W związku z tym w najnowszych badaniach projektuje się przede wszystkim systemy selektywnego dostarczania leków tylko do komórek nowotworowych.

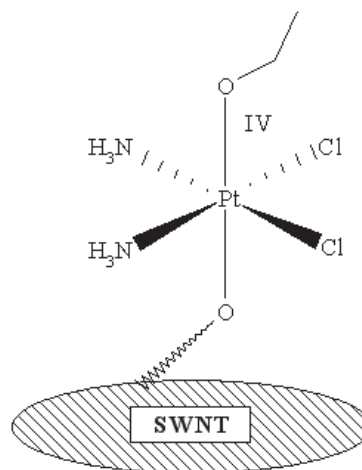
Jednym z przykładów tej strategii jest inkapsulacja cisplatyny i karboplatyny w miejscu żelaza w ferrytynie. Ferrytyna jest obojętnym białkiem, kompleksującym jony Fe^{3+} , biorąc udział zarówno w transporcie tych jonów, jak również w ich magazynowaniu. Białko to zbu-

dowane jest z 24 podjednostek, tworzących rodzaj „białkowej klatki”, która umożliwia zamknięcie w jej wnętrzu różnych substancji. W cząsteczce apotransferyny można zamknąć około 2 cząsteczek cisplatyny lub 5 cząsteczek karboplatyny. Przeprowadzone badania [33, 34] wykazały, że wypełnione lekiem białko wykazuje aktywność cytotoksyczną w stosunku do wybranych komórek nowotworowych, a leki są do nich dostarczane poprzez miejsca wiążące na błonach i selektywną endocytozę. Modyfikacja taka sprawia, że efekt cytotoksyczny dotyczy tylko komórek nowotworowych i można w ten sposób uniknąć ciężkiej systemowej toksyczności [33-35].

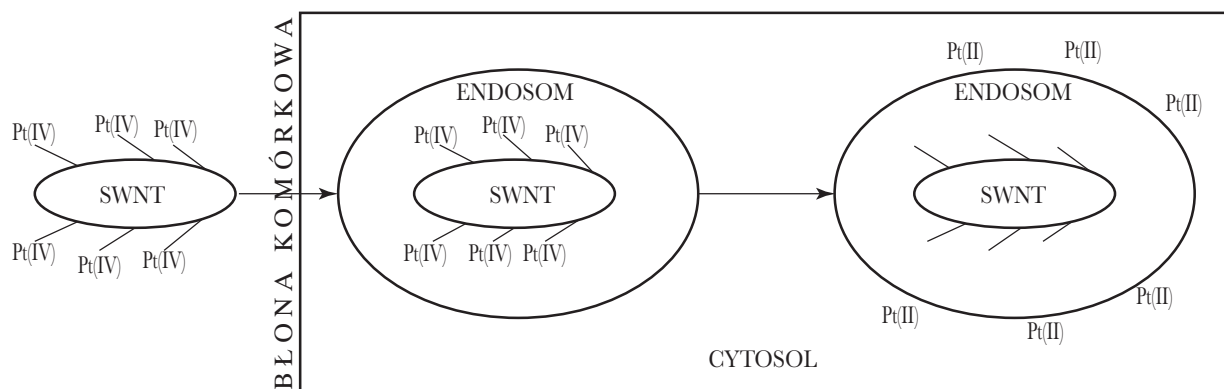
Podobny efekt można osiągnąć poprzez „zamknięcie” cytostatyków, takich jak kompleksy platyny czy takasany w mini-komórkach pochodzenia bakteryjnego [15]. W badaniach proponuje się system przenośników opartych na bezjądrowych nanocząsteczkach, powstałych po inaktywacji bakteryjnych genów odpowiedzialnych za podziały komórkowe. Są to najczęściej 400 nm bezjądrowe cząsteczki, odpowiednio oczyszczone i ukierunkowane przez bispecyficzne przeciwciała (BsAbs), które wiążą się z mini-komórką poprzez O-polisacharyd, a następnie są rozpoznawane przez odpowiednie receptory na komórkach nowotworowych. Tak wypełniona mini-komórka na drodze endocytozy wnika do komórek nowotworowych, gdzie zostaje uwolniony lek. Istotną zaletą tej metody dostarczania leków jest brak niepożądanych efektów ubocznych oraz mniejsza dawka cytostatyku, w porównaniu z dawką podaną systemowo w celu osiągnięcia jednakowego efektu terapeutycznego [36].

Nieco innym sposobem rozwiązania problemu dostarczania leków bezpośrednio do miejsc oddziaływania jest połączenie ich z transporterem i utworzenie koniugatu o dobrych właściwościach penetracji komórek. Badania te dotyczą w szczególności związków platyny (IV). Rola transportera mogą spełniać rozpuszczalne, jednościenne nanorurki węglowe (SWNT), które są zdolne do adsorpcji na bocznych ściankach cząsteczek o różnym charakterze, ładunku i rozmiarze (Ryc. 7).

Te wysoce efektywne nośniki transportują niekowalencyjnie związane kompleksy Pt(IV) do komórki nowo-



Ryc. 7. Schemat koniugatu kompleksu Pt(IV) z SWNT



Ryc. 8. Schemat transportu Pt(IV) za pomocą SWNT

tworowej za pośrednictwem klatryno-zależnej endocytozy. Związki Pt(IV) w środowisku o niższym pH ulegają redukcji i w postaci kompleksu Pt(II) są uwalniane do cytosolu komórki nowotworowej (Ryc. 8) [37].

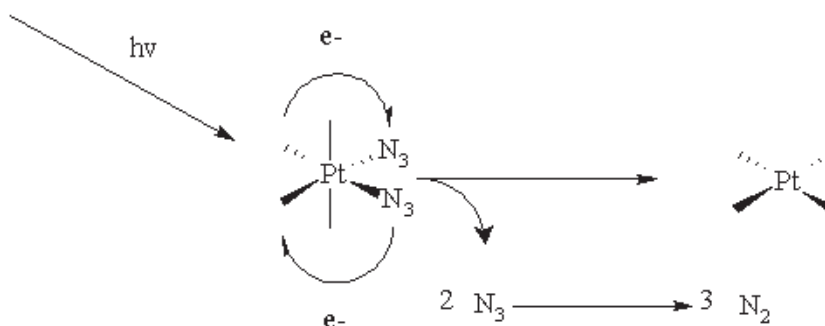
Związki platyny (IV) traktowane jako proleki są wykorzystywane do ominięcia problemów, jakie niesie ze sobą stosowanie cisplatyny oraz jej analogów. Kompleksy Pt(IV), jak wspomniano wcześniej, charakteryzuje oktaedryczna geometria oraz wysoka kinetyczna inercyjność, która powoduje stabilność leku oraz możliwości modyfikowania parametrów farmakokinetycznych. Wewnątrzkomórkowa aktywacja kompleksów Pt(IV) poprzez redukcję do Pt(II) jest podstawą mechanizmu cytotoksyczności tych związków [29, 30]. Proleki oparte na kompleksach Pt(IV) warunkują lepszy sposób dostarczania cisplatyny (lub jej analogów) do komórek nowotworowych i chro-

nią przed ujawnieniem cytotoksyczności poza komórką nowotworową [29].

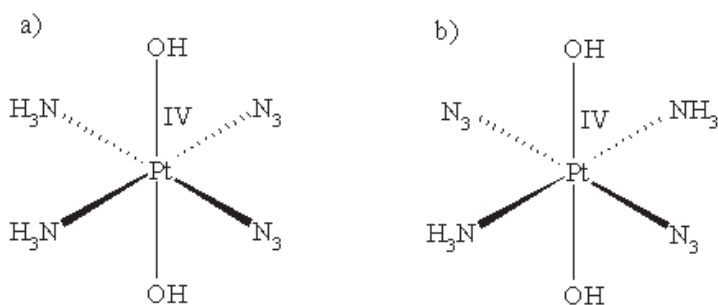
Jedną z nowszych strategii jest również fotochemiczna aktywacja proleków opartych na związkach Pt(IV) (Ryc. 9). Związki te po osiągnięciu docelowego miejsca działania są aktywowane promieniowaniem UV.

Badane azydkowe kompleksy *trans*-dihydroksy-Pt(IV) [5] nie wykazują aktywności (Ryc. 10), natomiast poddane działaniu promieniowania ulegają redukcji do Pt(II) i w krótkim czasie zyskują właściwości cytotoksyczne, porównywalne z cisplatyną. Związki te po aktywacji są cytotoksyczne w stosunku do ludzkich komórek raka skóry, a związek 10b wpływa na spowolnienie wzrostu komórek ludzkiego nowotworu pęcherza [15].

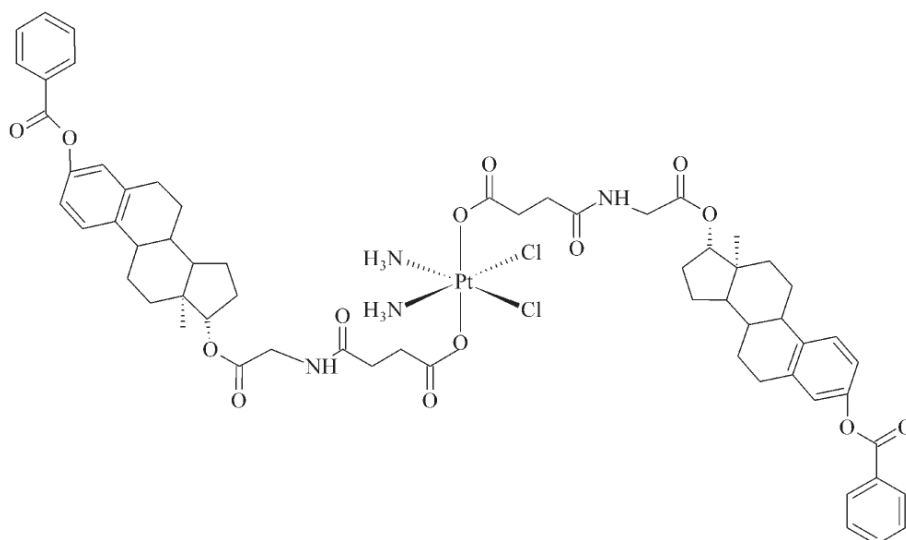
Odmianą strategii dotyczy poszukiwania możliwości polepszenia działania stosowanych już cytostatyków poprzez wykorzystanie właściwości białka HMG.



Ryc. 9. Mechanizm fotoredukcji kompleksu Pt(IV) [5]



Ryc. 10. Wzory strukturalne związków platyny (IV): *cis, trans, cis*-[Pt(N₃)₂(OH)₂(NH₃)₂] (a) i *trans, trans, trans*-[Pt(N₃)₂(OH)₂(NH₃)₂] (b) [5]



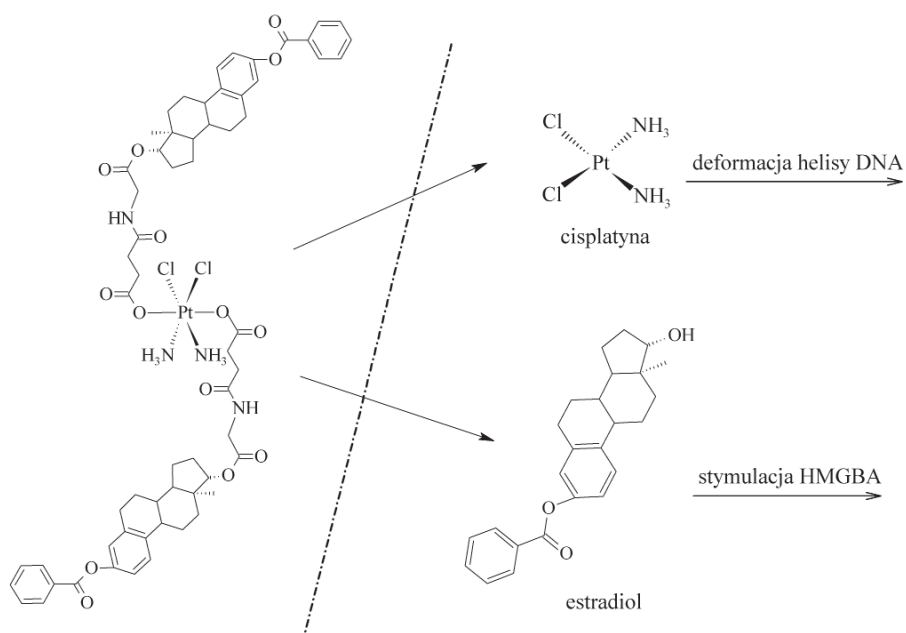
Ryc. 11. Estrogenowa pochodna Pt(IV)

Jak dowiodły badania, komórki raka piersi stymulowane estrogenami (ER+) są bardziej wrażliwe na cisplatinę. Działanie estrogenów wywołuje nadekspresję białek typu HMGB1, które osłaniają uplatynowane DNA przed naprawą. Synteza kompleksu Pt(IV) (Ryc. 11), zawierającego dwa ligandy estradiolowe, miała na celu skierowanie związku bezpośrednio do komórek zawierających receptor estrogenowy (ER+) i przez jego stymulację wywołać nadekspresję białek HMGB1.

W wyniku wewnątrzkomórkowej redukcji kompleksu Pt(IV) wyzwolana jest jedna cząsteczka cisplatiny oraz dwa równocenne estradiole (Ryc. 12). Zaprojektowany związek nazwano roboczo BEPn (skrót od bis-estrogen-cisdiaminadichloroplatyna (IV)), gdzie n oznacza ilość grup metylenowych w łańcuchu pomiędzy pochodną estradiolową a cisplatiną [15, 29, 38].

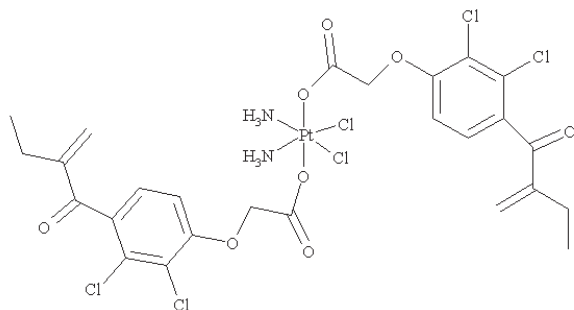
Jednym z istotnych problemów chemioterapii jest pokonanie oporności na stosowane leki. Oporność komórek nowotworowych na cytostatyki może być spowodowana m.in. obecnością izoenzymów transferazy glutationowej – GST [39]. Enzymy GST są rodziną enzymów należących do kategorii enzymów detoksyfikacyjnych fazy II, które katalizują przyłączanie glutationu do wielu endogennych i egzogennych elektrofilowych związków. Przyłączanie glutationu jest pierwszym etapem procesu, który prowadzi do późniejszego usunięcia związków toksycznych z organizmu.

Prowadzone badania nad nabłonkowym rakiem jajnika wykazały nadmierną obecność izoenzymów GST-p (jedna z klas cytozolowego GST) w liniach komórek opornych na cisplatinę. Enzymy te wywołują oporność komórek przez bezpośrednią detoksyfikację leku oraz



BŁONA KOMÓRKOWA

Ryc. 12. Schemat działania estrogenowego kompleksu Pt(IV)



Ryc. 13. Struktura ethacraplatyny

spełnianie roli inhibitora szlaku kinaz MAP, które kontrolują sygnały przeżycia i śmierci komórki. Zarówno cisplatylna jak i inne leki przeciwnowotworowe indukują apoptozę przez aktywację tych właśnie enzymów, wykazując przez to maksimum cytotoksyczności. Zahamowanie działania szlaku sygnałowego kinaz prowadzi do osłabienia apoptozy indukowanej cisplatiną, dlatego też enzymy GST stanowią interesujące miejsce działania chemioterapeutyków. W toku badań nad tą grupą enzymów zsyntetyzowano kompleks platyny z dwiema cząsteczkami kwasu etakrynowego – ethacraplatynę (Ryc. 13), którego celem są enzymy GST w komórkach nowotworowych. Związek ten w komórce ulega redukcji i uwalniane są dwa potencjalne inhibitory GST oraz jedna cisplatylna [29, 39, 40]. Zatem końcowym efektem zaprojektowanego leku – ethacraplatyny było przełamanie oporności komórkowej na cisplatinę. Dalsze badania wykazały zwiększony wychwyty leku do komórek nowotworowych przy zastosowaniu ethacraplatyny, w porównaniu do zastosowania kompleksu platyny bez inhibitora GST, jak również uzyskane tą metodą 10-krotnie wyższe stężenie leku w komórce. Wydaje się, że ethacraplatyna stanowi obiecującą strategię przełamania oporności komórkowej na kompleksy platyny.

Jak wynika z przedstawionego przeglądu literatury główne trendy w badaniach kompleksów metali jako leków przeciwnowotworowych to ograniczenie toksyczności m.in. poprzez zastosowanie bardziej inertnych kompleksów platyny (IV), z wykorzystaniem mechanizmu redukcji Pt (IV) do Pt (II) oraz poszukiwania bezpośredniego transportu leku do miejsca działania, z wykorzystaniem coraz większej wiedzy dotyczącej różnic pomiędzy komórkami zdrowymi i zmienionymi w procesie nowotworzenia.

Odkrycie cisplatylny jako leku przeciwnowotworowego, a przede wszystkim zrozumienie mechanizmów działania tej grupy związków, pociągnęło za sobą intensywne poszukiwania innych kompleksów metali o dobrych właściwościach przeciwnowotworowych i mniejszej toksyczności. Szczególnie dobrą aktywność przeciwnowotworową (również względem nowotworów niewrażliwych na cisplatinę), oraz niższą toksyczność wykazują kompleksy rutenu (III), o ogólnym wzorze HL trans-[RuL₂Cl₄] (L-zasada heterocykliczna), które testowane są głównie jako leki antymetastatyczne [41].

Atrakcyjność kompleksów rutenu (III) wynika niewątpliwie z faktu, że posiadają one właściwości hamowa-

nia przerzutów nowotworowych, czego nie obserwuje się w przypadku innych kompleksów metali [41, 42]. Drugą, niezwykle istotną cechą omawianych kompleksów jest ich zdolność koordynacji do apotransferyny. Apotransferyna może wiązać odwracalnie kompleksy rutenu (III) w miejscu wiązania żelaza (III), stając się naturalnym nośnikiem tych związków do komórek nowotworowych. Szybko dzielące się komórki nowotworowe wykazują zwiększone zapotrzebowanie na wysokospinowe żelazo, wyrażające się zwiększoną ekspresją receptorów dla transferyny. W ten sposób cykl transferynowy staje się naturalną drogą dla selektywnej dostawy tej grupy leków do komórek nowotworowych [43].

Jednym z niewielu zsyntetyzowanych dotychczas związków chemicznych, selektywnych w stosunku do komórek przerzutów nowotworowych, jest kompleks Ru (III) – NAMI-A. Kompleks ten wykazuje większą aktywność w guzach przerzutowych, w porównaniu do pierwotnych nowotworów. Badania wykazały, że mechanizm kontroli przerzutów nowotworowych NAMI-A można przypisać łącznej aktywności antyangiogennej i antyinwazyjnej na komórki guza i naczynia krwionośne [42, 44]. Związek ten znajduje się obecnie w II fazie badań klinicznych [43]. Oprócz kompleksów rutenu w badaniach związków „nieplatynowych”, które wykazują właściwości cytotoksyczne, znajdują się m.in. związki złota, kobaltu, miedzi, żelaza i niklu.

Dr hab. n. chem. Lilianna Trynda-Lemiesz
Katedra i Zakład Chemii Analitycznej
Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich
ul. Szewska 38, 50-139 Wrocław

Piśmiennictwo

1. Timerbaev AR, Hartinger CG, Aleksenko SS i wsp. Interactions of antitumor metallodrugs with serum proteins: advances in characterization. *Chem Rev* 2006; 106: 2224-48.
2. Ohndorf UM, Rould MA, He Q i wsp. Basis for recognition of cisplatin-modified DNA by high-mobility-group proteins. *Nature* 1999; 399: 708-12.
3. Takahara PM, Rosenzweig AC, Frederick CA i wsp. Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin. *Nature* 1995; 377: 649-52.
4. Gelasco A, Lippard SJ. NMR solution structure of a DNA dodecamer duplex containing a cis-Diammineplatinum(II) D(GpG) intrastrand cross-link, the major adduct of the anticancer drug cisplatin. *Biochemistry* 1998; 37: 9230-9.
5. Pizarro AM, Sadler PJ. Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes. *Biochemie* 2009; 91: 1198-211.
6. Kartalou M, Essigmann JM. Mechanisms of resistance to cisplatin. *Mutation Res* 2001; 478: 23-43.
7. Natile G, Coluccia M. Current status of trans-platinum compounds in cancer therapy. *Coord Chem Rev* 2001; 216-217: 383-410.
8. Brabec V, Kasparkova J. Molecular aspects of resistance to antitumor platinum drugs. *Drug Resist Updates* 2002; 5: 147-61.
9. Martin RB. Platinum complexes: hydrolysis and binding to N(7) and N(1) of purines. W: *Cisplatin*. Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich; 1999, 183-205.
10. Berners-Price SJ, Appleton TG. The chemistry of cisplatin in aqueous solution. W: *Platinum-based Drugs in Cancer Therapy*. Humana Press Inc, Totowa; 2000, 3-35.

11. Uchida N, Kasai H, Takeda Y i wsp. Synergy of combination of nedaplatin with etoposide in murine and human lung carcinoma. *Anticancer Res* 1998; 18: 247.
12. Misset JL. Oxaliplatin in practice. *Br J Cancer* 1998; 77, S4: 4-7.
13. Desoize B, Madoulet C. Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment. *Critical Rev Oncology/Hematology* 2002; 42: 317-25.
14. Ahmad S, Sab AA, Ali S. Structural and mechanistic aspects of platinum anticancer agents. *Trans Metal Chem* 2006; 31: 1003-16.
15. Bruijninx PCA, Sadler PJ. New trends for metal complexes with anticancer activity. *Current Opinion Chem Biol* 2008; 12: 197-206.
16. Markman M, Kennedy A, Webster K i wsp. Combination chemotherapy with Carboplatin and Docetaxel in the treatment of cancers of the ovary and fallopian tube and primary carcinoma of the peritoneum. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1901-05.
17. Kozelka J, Legendre F, Reeder F i wsp. Kinetic aspects of interactions between DNA and platinum complexes. *Coord Chem Rev* 1999; 190-192: 61-81.
18. Chaney SG, Campbell SL, Bassett E i wsp. Recognition and processing of cisplatin- and oxaliplatin-DNA adducts. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005; 53: 3-11.
19. Trynda-Lemiesz L, Luczkowski M. Human serum albumin: spectroscopic studies of the paclitaxel binding and proximity relationships with cisplatin and adriamycin. *J Inorg Biochem* 2004; 98/11: 1851-6.
20. Trynda-Lemiesz L, Kozłowski H, Keppler BK. Effect of cis-trans-Diamminedichloroplatinum(II) and DBP on Human Serum Albumin. *J Inorg Biochem* 1999; 77: 141-6.
21. Rodi D, Janes R, Sanganee H i wsp. Screening of a Library of Phage-displayed Peptides Identifies Human Bcl-2 as a Taxol-binding Protein. *J Mol Biol* 1999; 285: 197-203.
22. Manzotti C, Pratesi G, Menta E i wsp. BBR 3464: a novel triplatinum complex, exhibiting a preclinical profile of antitumor efficacy different from cisplatin. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2626-34.
23. Wheate NJ, Collins JG. Multi-nuclear platinum complexes as anti-cancer drugs. *Coord Chem Rev* 2003; 241: 133-45.
24. Wheate NJ, Collins JG. Multi-nuclear platinum drugs: a new paradigm in chemotherapy. *Curr Med Chem Anticanc Agents* 2005; 5: 267-79.
25. Sessa C, Capri G, Gianni L i wsp. Clinical and pharmacological phase I study with accelerated titration design of a daily times five schedule of BBR3464, a novel cationic triplatinum complex. *Ann Oncol* 2000; 11: 977-83.
26. Davies MS, Thomas DS, Hegmans A i wsp. Kinetic and equilibria studies of the aquation of the trinuclear platinum phase II anticancer agent (BBR3464). *Inorg Chem* 2002; 41: 1101-9.
27. Pratesi G, Perego P, Polizzi D i wsp. A novel charged trinuclear platinum complex effective against cisplatin-resistant tumours: hypersensitivity of p53-mutant human tumour xenografts. *Br J Cancer* 1999; 80: 1912-9.
28. Hegmans A, Berners-Price SJ, Davies MS i wsp. Long range 1,4 and 1,6-interstrand cross-links formed by a trinuclear platinum complex. Minor groove preassociation affects kinetics and mechanism of cross-link formation as well as adduct structure. *J Am Chem Soc* 2004; 126: 2166-80.
29. Hall MD, Mellor HR, Callaghan R i wsp. Basis for Design and Development of Platinum(IV) Anticancer Complexes. *J Med Chem* 2007; 50: 3404-11.
30. Hall MD, Hambley TW. Platinum (IV) antitumour compounds: their bioinorganic chemistry. *Coord Chem Rev* 2002; 232: 49-67.
31. Choy H, Park C, Yao M. Current Status and Future Prospects for Satraplatin, an Oral Platinum Analogue. *Clin Cancer Res* 2008; 16: 33-8.
32. Smith II JW, McIntyre KJ, Acevedo PV i wsp. Results of a phase II open-label, nonrandomized trial of oral satraplatin in patients with metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 118: 361-7.
33. Yang Z, Wang X, Diao H i wsp. Encapsulation of platinum anticancer drugs by apoferritin. *Chem Commun* 2007; 3453-5.
34. Fan H, Villegas C, Wright JA. A link between ferritin gene expression and ribonucleotide reductase R2 protein, as demonstrated by retroviral vector mediated stable expression of R2 Edna. *FEBS Letters* 1996; 382: 145-8.
35. Konijn M, Meyron-Holtz EG, Levy R i wsp. Specific binding of placental acidic isoferritin to cells of the T-cell line HD MARA. *FEBS Letters* 1990; 263: 229-32.
36. MacDiarmid JA, Mugridge NB, Weiss JC i wsp. Bacterially Derived 400 nm Particles for Encapsulation and Cancer Cell Targeting of Chemotherapeutics. *Cancer Cell* 2007; 11: 431-45.
37. Feazell RP, Nakayama-Ratchford N, Dai H i wsp. Soluble Single-Walled Carbon Nanotubes as Longboat Delivery Systems for Platinum(IV) Anticancer Drug Design. *J Am Chem Soc* 2007; 129: 8438-9.
38. Barnes KR, Kutikov A, Lippard SJ. Synthesis, Characterization, and Cytotoxicity of a Series of Estrogen-Tethered Platinum(IV) Complexes. *Chemistry & Biology* 2004; 11: 557-64.
39. Townsend DM, Tew KD. The role of glutathione-S-transferase in anticancer drug resistance. *Oncogene* 2003; 22: 7369-75.
40. Ang WH, Khalaila I, Allardyce CS i wsp. Rational Design of Platinum(IV) Compounds to Overcome Glutathione-S-Transferase Mediated Drug Resistance. *J Am Chem Soc* 2005; 127: 1382-3.
41. Zhang CX, Lippard SJ. New metal complexes as potential therapeutics. *Current Opinion in Chemical Biology* 2003; 7: 481-9.
42. Bergamo A, Sava G. Ruthenium complexes can target determinants of tumour malignancy. *Dalton Trans* 2007; 1267-72.
43. Antonarakis ES, Emadi A. Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time? *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 1-9.
44. Dyson PJ, Sava G. Metal-based antitumour drugs in the post genomic era. *Dalton Trans* 2006; 1929-33.
45. www.clinicaltrial.gov/ct2/results?term=satraplatin

Otrzymano: 12 stycznia 2011 r.
Przyjęto do druku: 23 lutego 2011 r.