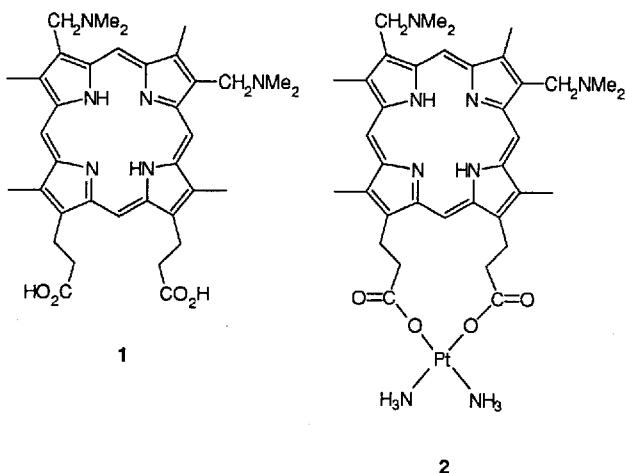


Platin(II)-Komplexe mit Porphyrinliganden – additive cytotoxische und photodynamische Wirkung**

Henri Brunner* und Herbert Obermeier

Porphyrine werden in der photodynamischen Therapie zur Behandlung von Tumoren eingesetzt^[1, 2]. Dabei wirken sie, mit Licht einer Wellenlänge von ca. 630 nm bestrahlt, als Photosensibilisatoren. Der entstehende Singuletsauerstoff führt zum Zelltod^[1, 3]. Diese Verwendung ist nur möglich, weil Porphyrine im Tumorgewebe angereichert werden. Dafür gibt es zwei Erklärungen. Nach der älteren Theorie erfolgt die Aufnahme über Low-Density-Lipoproteine (LDLs), die beim Cholesterinstoffwechsel eine wichtige Rolle spielen. Da Tumorzellen eine höhere LDL-Rezeptoraktivität als normale Zellen aufweisen, kommt es somit zu einer spezifischen Anreicherung der Porphyrine in malignem Gewebe^[4]. Die neuere Theorie führt die Selektivität auf den niedrigeren pH-Wert von Tumorgewebe im Vergleich zu normalem Gewebe zurück, der einen größeren Anteil an neutralen, die Zellmembran durchdringenden Teilchen im Krebsgewebe bedingt^[5, 6]. Die Cytostatica Diammin(dichloro)platin(II) (Cisplatin) und Diammin(cyclobutandicarboxylato)platin(II) (Carboplatin) sind in den letzten Jahren die wichtigsten Krebs-Chemotherapeutica geworden^[7, 8]. Sie wirken jedoch unspezifisch und schädigen neben dem Tumor alle schnell wachsenden Körperfekte.

Über die Anreicherung von Porphyrinen in malignem Gewebe versuchen wir derzeit, cytostatische Platin-Komplexe gezielt im Tumorgewebe zu akkumulieren. Dazu binden wir den $(\text{NH}_3)_2\text{Pt}$ -Rest an die Carboxylatgruppen der Propionsäureseitenketten von Porphyrinen^[9] und erhalten so Systeme ähnlich dem Carboplatin. Wegen der Carrier-Eigenschaften der Porphyrine sollte es zu einer spezifischen Anreicherung derartiger cytostatischer Platin-Komplexe im Tumorgewebe kommen (drug targeting). Zusätzlich sollten die Porphyrine bei Bestrahlung tumordestruktiv wirken. Am Ligand-Komplex-Paar **1/2** weisen wir nun die Additivität beider Effekte in Zellkulturexperimenten nach.



[*] Prof. Dr. H. Brunner, Dr. H. Obermeier
Institut für Anorganische Chemie der Universität
D-93040 Regensburg
Telefax: Int. + 941/943-4443

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Herrn Dr. R.-M. Szeimies von der Klinik und Poliklinik für Dermatologie der Universität Regensburg danken wir für die Unterstützung bei der Durchführung der Zellkulturexperimente.

Die Synthese des Liganden **1** ging von Deuteroporphyrin-dimethylester^[10] aus. Die zwei Dimethylaminofunktionen in 3- und 8-Stellung wurden durch Substitution mit dem „Eischenmoser-Salz“ *N,N'*-Dimethylmethylenammonium-iodid eingeführt^[11]. Nach der sauren Esterhydrolyse erhielt man den Liganden **1**^[12]. Um Cisplatin für die Komplexierung zu aktivieren, hydrolysierten wir es mit Silbernitrat und chromatographierten über einen basischen Ionenaustauscher^[13]. Es bildete sich Diammin(diaqua)platin(II)-hydroxid, das mit **1** in Ethanol/Wasser den Porphyrinplatin(II)-Komplex **2**^[14] ergab.

Die Additivität des cytotoxischen Effektes des Platinrests und der photodynamischen Aktivität des Porphyrins in **2** wurde *in vitro* mit der MDA-MB-231-Mammatumor-Zelllinie überprüft. Die Aussaat der Zellen, die Substanzzugebung und die Aufarbeitung erfolgten wie beschrieben^[13, 15]. Während einer dreitägigen Inkubation mit einem der getesteten Cytostatica (siehe Tabelle 1) im Dunklen wurde das Zellwachstum durch alle

Tabelle 1. Vergleich der Antitumoraktivitäten von Ligand **1**, Komplex **2**, **1**/Cisplatin-Gemisch, Cisplatin und Photofrin in einer Konzentration von 10^{-5} mol L⁻¹ *in vitro* an der MDA-MB-231-Mammatumor-Zelllinie in Wasser. Die angegebenen Werte sind Aktivitätsmittelwerte aus 16 Messungen, die eine Schwankungsbreite von etwa 10–20% haben.

	ohne Bestrahlung	mit Bestrahlung
1	>100	81
2	63	38
1/Cisplatin	53	14
Cisplatin	49	44
Photofrin (10 $\mu\text{g mL}^{-1}$)	100	20

Platinverbindungen gehemmt. Anschließend wurden die Zellkulturen mit einer IR-Lampe, die inkohärentes, rotes Licht in einem Wellenlängenbereich von 600–800 nm emittierte, 20 min bestrahlt^[16]. Zur Bestimmung der Vitalität der Zellen färbte man die Zellkulturen mit 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) an und ermittelte die Konzentration der Zellen durch Messung der optischen Dichte in einem Photometer. In einer Konzentration von 10^{-5} mol L⁻¹ wurden der Ligand **1**, der Komplex **2**, ein **1/Cisplatin**-Gemisch, Cisplatin und Photofrin eingesetzt. Photofrin, eine auf 80–90% angereicherte oligomere Fraktion von Hämatoxylin-derivat, ist derzeit das einzige in der klinischen Praxis am Menschen getestete Porphyrin^[2].

Die in Tabelle 1 angegebenen Zahlenwerte entsprechen der Vitalität der Zellen bezogen auf die unbehandelte Kontrollgruppe, die 100% definieren. Der Ligand **1** wirkt ohne Bestrahlung nicht; er wird erst bei Bestrahlung tumordestruktiv, wobei er das Zellwachstum auf etwa 81% reduziert. Durch die Komplexierung mit Platin wird die Wirksamkeit gesteigert: Der Komplex **2** wirkt bereits ohne Bestrahlung cytostatisch und erniedrigt die Vitalität der Zellen auf Werte um 63%. Bei Bestrahlung erhöht sich seine Aktivität, und das Zellwachstum sinkt auf 38%. Darin wird die Additivität der phototoxischen Wirkung des Porphyrins und der cytostatischen Wirkung des Platins im Komplex deutlich. Cisplatin allein und auch zusammen mit **1** hemmt das Zellwachstum um etwa 50%. In der Kombination **1/Cisplatin** kommt bei Bestrahlung der photodynamische Effekt des Liganden **1** hinzu (Herabsetzung auf 14%). Photofrin erreicht in einer Konzentration von 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Vitalitätswerte um 20%. Wenn man für Photofrin ein Molekulargewicht von 1000 annimmt, entspricht diese Konzentration ungefähr einer von 10^{-5} mol L⁻¹.

Eingegangen am 30. Juni 1994 [Z 7085]

- [1] R. Pottier, *Photosensitisation; Molecular, Cellular and Medical Aspects*, Springer, Berlin, 1988, S. 2.
- [2] T. J. Dougherty, *Adv. Photochem.* 1992, 17, 275.
- [3] M. Landthaler, A. Rück, R.-M. Szeimies, *Hautarzt* 1993, 44, 69.
- [4] T. J. Dougherty, *Photochem. Photobiol.* 1987, 46, 569.
- [5] R. Pottier, J. C. Kennedy, *J. Photochem. Photobiol. B* 1990, 8, 1.
- [6] A. J. Bonnett, J. C. Kennedy, R. A. Jones, P. Nadeau, R. Pottier, *J. Photochem. Photobiol B* 1990, 6, 309.
- [7] B. K. Keppler, *Metal Complexes in Cancer Therapy*, VCH, Weinheim, 1993.
- [8] B. K. Keppler, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 1987, 35, 1029.
- [9] H. Obermeier, Dissertation, Universität Regensburg, 1994.
- [10] W. S. Caughey, J. D. Alben, W. Y. Fujimoto, J. L. York, *J. Org. Chem.* 1966, 31, 2631.
- [11] K. M. Smith, R. K. Pandey, F.-Y. Shian, N. W. Smith, P. Iakovides, T. J. Dougherty, *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.* 1992, 1654, 274.
- [12] 1: Violettes Pulver, Schmp. >250 °C, Ausb. 89%. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 1720 cm⁻¹ (CO); ¹H-NMR (250 MHz, [D₆]DMSO): δ = 11.20 (s, 2H; COOH), 10.41, 10.36, 10.23, 10.16 (4s, 4H; =CH), 5.86, 5.81 (2s, 4H; CH₂NMe₂), 4.33 (m, 4H; =CCH₂), 3.92, 3.81, 3.71, 3.63 (4s, 12H; =CCH₃), 3.16 (s, 12H; NMe₂), ca. -4 (breit; =NH).
2: Braunes Pulver, Schmp. >250 °C, Ausb. 50%. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 1560 cm⁻¹ (CO); PI-LISMS: (Glycerin/DMSO): m/z : 625 [1 + H]⁺; ¹H-NMR (250 MHz, [D₆]DMSO): δ = 10.46, 10.41, 10.32, 10.29 (4s, 4H; =CH), 5.30 (m, 4H; CH₂NMe₂), 4.36 (m, 4H; =CCH₂), 3.94 (m, 6H; NH₂), 3.74, 3.65 (2s, 12H; =CCH₃), 3.18 (m, 4H; O₂CCH₂), 2.81 (2s, 12H; NMe₂), -3.88 (s, 2H; =NH). Korrekte C,H,N-Analyse.
- [13] H. Brunner, F. Maiterth, B. Treitinger, *Chem. Ber.*, im Druck.
- [14] 2: Braunes Pulver, Schmp. >250 °C, Ausb. 50%. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 1560 cm⁻¹ (CO); PI-LISMS: (Glycerin/DMSO): m/z : 625 [1 + H]⁺; ¹H-NMR (250 MHz, [D₆]DMSO): δ = 10.46, 10.41, 10.32, 10.29 (4s, 4H; =CH), 5.30 (m, 4H; CH₂NMe₂), 4.36 (m, 4H; =CCH₂), 3.94 (m, 6H; NH₂), 3.74, 3.65 (2s, 12H; =CCH₃), 3.18 (m, 4H; O₂CCH₂), 2.81 (2s, 12H; NMe₂), -3.88 (s, 2H; =NH). Korrekte C,H,N-Analyse.
- [15] H. Brunner, F. Maiterth, B. Treitinger, *Z. Naturforsch. B* 1992, 47, 942.
- [16] Waldmann Lichttechnik, Typ PDT 1200; Lampenabstand 1.0 m; Intensität 50 mW cm⁻²; Leistung 60 J cm⁻²; R.-M. Szeimies, R. Hein, W. Bäumler, A. Heine, M. Landthaler, *Acta Derm. Venereol.* 1988, 74, 315.

Tabelle 1. Die Squalestatine S1, S2 und H1 (1a–1c) und die Saragossäuren A–D₂ (1a, 2a–d).

Verbindung	R ¹	R ²
Saragossasäure A/ Squalestatin S1 1a		
Squalestatin S2 1b		
Squalestatin H 1c	H	
Saragossasäure B 2a		
Saragossasäure C 2b		
Saragossasäure D 2c		
Saragossasäure D ₂ 2d		

kürzlich nachgewiesen, daß 1a eine mäßig hohe Affinität gegenüber Ca²⁺-Ionen hat, eine Eigenschaft, die möglicherweise der Grund für die biologische Aktivität ist^[19]. Als Vorspiel zur Totalsynthese von 1a, verwandten Verbindungen und maßgeschneiderten, synthetischen Analoga begannen wir mit Untersuchungen zur Retrosynthese und zur Synthese von 1a.

Nach unserer Strategie (Abb. 1) werden durch die Abspaltung der Esterseitenkette an C6 (Schritt 1), die Spaltung des Acetals an C1 (Schritt 2) und den Bruch der C1-C7-Bindung

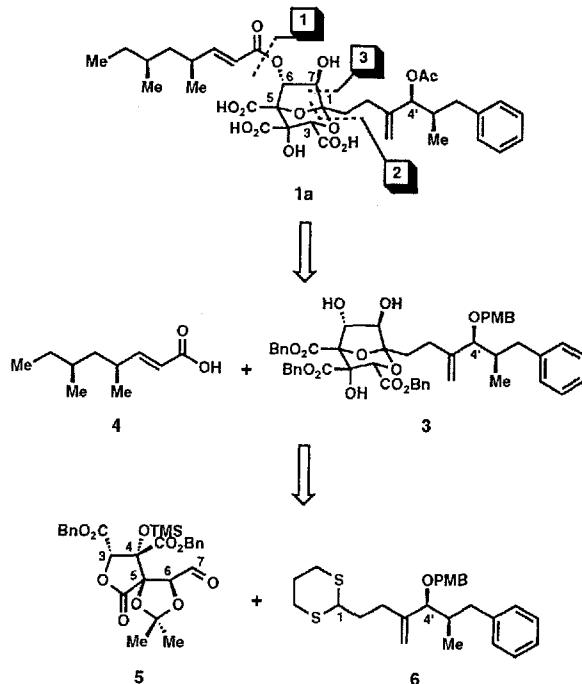


Abb. 1. Retrosynthese von Saragossasäure A/Squalestatin S1 1a.

Saragossasäure A/Squalestatin S1: synthetische und retrosynthetische Untersuchungen**

Kyriacos Costa Nicolaou*, Eddy W. Yue,
Yoshimitsu Naniwa, Francesco De Riccardis,
Alan Nadin, James E. Leresche, Susan La Greca
und Zhen Yang

1992 berichteten Forscher der Firmen Merck^[11] und Glaxo^[2] unabhängig voneinander über die Isolierung und Charakterisierung einer Gruppe von strukturell verwandten Naturstoffen, die sie Saragossasäuren bzw. Squalestatine nannten. Drei Squalestatine (S1, S2 und H1 1a–c; Tabelle 1) und fünf Saragossasäuren (A–D und D₂ 1a, 2a–d; Tabelle 1)^[3, 4] wurden bislang isoliert. Sie sind bemerkenswert starke und selektive Inhibitoren der Squalensynthase von Säugetieren und Pilzen sowohl *in vivo* als auch *in vitro*^[5]. Dementsprechend können sie möglicherweise als Therapeutica für die Senkung des Serum-Cholesterinspiegels eingesetzt werden. Einige Analoga wurden für die Untersuchung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen hergestellt^[6, 7]. Saragossasäure A/Squalestatin S1 1a ist darüber hinaus gegenüber vielen wichtigen Hefe- und Pilzpathogenen aktiv^[1a] sowie ein wirksamer Inhibitor der ras-Farnesyltransferase^[8]. Es wurde

[*] Prof. Dr. K. C. Nicolaou, E. W. Yue, Y. Naniwa, F. De Riccardis, A. Nadin, J. E. Leresche, S. La Greca, Z. Yang

Department of Chemistry, The Scripps Research Institute
10666 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)
und

Department of Chemistry and Biochemistry, University of California
San Diego, 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093 (USA)
Telefax: Int. + 619/554-6738

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health, den Firmen Glaxo (E. W. Y.) und Teijin Corporation, Japan (Y. N.), dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (J. E. L.) sowie durch Stipendien von der Firma Merck, Sharp and Dohme unterstützt. Wir danken Dr. Dee H. Huang und Dr. Gary Siuzdak vom Scripps Research Institute für NMR- bzw. massenspektrometrische Messungen.