

Tumorhemmende Cyclopentadienylmetall-Komplexe: experimentelle Untersuchungen zur Überprüfung der Cyclopentadien-Hypothese

Petra Köpf–Maier

Institut für Anatomie, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Strasse 15, 1 Berlin 33

und Hartmut Köpf*

Institut für Anorganische und Analytische Chemie, Technische Universität Berlin, Strasse des 17. Juni 135, 1 Berlin 12

(Eingegangen den 9. September 1987)

Abstract

Bis(cyclopentadienyl)metall(IV) diacido complexes $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)_2\text{MX}_2$ represent a recently developed group of cytostatic non-platinum-group metal complexes. Their cancerostatic activity clearly depends on the central atom M and, to a lesser extent, on the acido ligands X. Chemical modification of the cyclopentadienyl rings as well as the exchange of one of the C_5H_5 ligands result in a distinct reduction of antiproliferative activity. In the present study, the antitumor activity of intraperitoneally applied cyclopentadiene C_5H_6 and dicyclopentadiene $\text{C}_{10}\text{H}_{12}$ was tested against fluid Ehrlich ascites tumor, proliferating in the peritoneal cavity, and against solid Ehrlich ascites tumor, growing subcutaneously in the nuchal region of mice. This was done to evaluate the conclusiveness of the "cyclopentadiene hypothesis" which ascribes the antitumor effectivity of metallocene complexes exclusively to cyclopentadiene released by hydrolytic cleavage of titanocene complexes. Whereas C_5H_6 and $\text{C}_{10}\text{H}_{12}$, administered locally into the fluid tumor, unfolded unspecific cytotoxic activity, they did not influence the growth of solid tumors. Thus, neither compound displays systemic tumor-inhibiting properties. So C_5H_6 and $\text{C}_{10}\text{H}_{12}$ cannot be assumed to be the intrinsically active species of cytostatic cyclopentadienylmetal complexes.

Zusammenfassung

Bis(cyclopentadienyl)metall(IV)diacido-Komplexe $(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)_2\text{MX}_2$ repräsentieren eine neuentwickelte Gruppe tumorhemmender Nicht-Platinmetall-Komplexe. Ihre cancerostatische Wirksamkeit hängt stark vom Zentralatom M und weniger von den Acido-Liganden X ab. Modifikationen am Cyclopentadienyl-Ring ebenso wie

Austausch eines C_5H_5 -Liganden führen zu einer deutlichen Beeinträchtigung der antiproliferativen Aktivität. Zur Überprüfung der "Cyclopentadien-Hypothese", die die tumorhemmende Wirksamkeit von Metallocen-Verbindungen ausschliesslich hydrolytisch freigesetzten Cyclopentadien-Molekülen zuschreibt, wird die Antitumoraktivität von intraperitoneal appliziertem Cyclopentadien C_5H_6 und Dicyclopentadien $C_{10}H_{12}$ am flüssigen, in der Bauchhöhle proliferierenden sowie am soliden, in der Nackengegend wachsenden Ehrlich-Ascites-Tumor der Maus untersucht. Während beide Verbindungen bei lokaler Behandlung des flüssigen Tumors eine unspezifisch cytotoxische Wirkung entfalten, wird das Wachstum solider Tumoren durch intraperitoneale Applikation von C_5H_6 und $C_{10}H_{12}$ nicht beeinflusst. Keine der beiden Verbindungen verfügt daher über systemisch tumorhemmende Eigenschaften. Weder C_5H_6 noch $C_{10}H_{12}$ dürfte demzufolge die eigentlich wirksame Species cytostatisch aktiver Cyclopentadienylmetall-Komplexe darstellen.

Einleitung

Frühe Übergangsmetall-Verbindungen vom Typ der Bis(cyclopentadienyl)metall(IV)-Komplexe $(\eta^5-C_5H_5)_2MX_2$ mit $M = Ti, V, Nb, Mo$ bei $X = Cl$ [1–5] oder mit $M = Ti$ bei $X = F, Br, I, NCS, N_3, cis-OCOCH=CHCOOH, OCOCl_3, OC_6F_5, SC_6F_5$ [6–9] zeichnen sich durch ausgeprägte tumorhemmende Eigenschaften gegenüber verschiedenen tierischen und menschlichen Neoplasien aus. Dies konnte in den vergangenen Jahren durch experimentelle Untersuchungen an flüssigen und soliden tierischen Tumoren belegt werden, z.B. Ehrlich-Ascites-Tumor [1–10], Sarcom 180 [11], Melanom B16 [12], Colon-38-Carcinom [12] und Lewis-Lung-Carcinosarcom [13,9]. Zum anderen vermögen Titanocen-Komplexe das Wachstum heterotransplantierte menschlicher Carcinome, insbesondere von Adenocarcinomen des Dickdarms und Magens zum Teil erheblich zu hemmen [14–16].

Neben Bis(cyclopentadienyl)metall(IV)-Komplexen entfalten auch andere Übergangselement-Verbindungen mit organischen Liganden cancerostatische Eigenschaften. Titan-Derivate vom Typ der *cis*-Dihalogenobis(benzoylacetato)titan(IV)-Komplexe [17], Bis(cyclopentadienyl)eisen(III)-Salze mit verschiedenen Anionen [18], *trans*-Bis(salicylaldoximato)kupfer(II)-Verbindungen [19] und Gold(I)-Komplexsalze vom Typ des Bis[1,2-bis(diphenylphosphino)ethan]gold(I)chlorids [20] sind charakteristische Vertreter.

Systematische Untersuchungen wurden während der letzten Jahre durchgeführt, um den Einfluss der Variation des $(C_5H_5)_2TiCl_2$ -Moleküls am Zentralatom, an den Acido-Liganden und den Cyclopentadienyl-Ringen auf die tumorhemmende Aktivität zu studieren. Die wichtigsten Ergebnisse sind nachstehend zusammengefasst und werden im Licht neuer experimenteller Befunde zur "Cyclopentadien-Hypothese" erörtert. Diese schreibt die tumorhemmende Wirksamkeit von Titanocen-Verbindungen nicht dem Metallocen-Komplex selbst, sondern ausschliesslich den bei der Hydrolyse von Bis(cyclopentadienyl)metall(IV)-Komplexen freigesetzten Cyclopentadien-Molekülen zu [21].

Einfluss des Metalls auf die Tumorhemmung

Die Variation des Zentralatoms M im $(C_5H_5)_2MCl_2$ -Molekül zeigt eine deutliche Abhängigkeit der Tumorhemmung vom vorliegenden Zentralatom (Tabelle 1). Nach

Tabelle 1
Pharmakologische Daten ^a von Metallocendichloriden

$(C_5H_5)_2MCl_2$ M	Optimale Dosis (mg/kg)	Heilungsrate bei optimaler Dosis (%)	LD ₅₀ (mg/kg)	Ref.
Ti	40–60	100	100	[1,26]
Zr	–	0	75	[26]
Hf	–	0	220	[26]
V	80–90	100	110	[2]
Nb	20–25	100	35	[4]
Ta	80–170	25 ^b	200	[4]
Mo	75–100	100	175	[3]
W	100–400	13 ^b	500	[4]

^a Ehrlich-Ascites-Tumor. ^b Sporadische Heilungsraten ausserhalb einer festen Dosis-Wirkungs-Beziehung.

Einbau der acht Zentralmetalle aus der IV., V. und VI. Nebengruppe, von denen bislang Metallocendihalogenide bekannt sind, erweisen sich im flüssigen Ehrlich-Ascites-Tumor-Modell

- (i) die Komplexe mit M = Ti, V, Nb und Mo im Rahmen einer klaren Dosis-Wirkungs-Beziehung als ausgeprägt tumorhemmend wirksam [1–5],
- (ii) die Derivate mit M = Ta und W als nur sporadisch aktiv [4],
- (iii) und die Analoga mit M = Zr und Hf als cancerostatisch unwirksam [22].

Bezeichnenderweise lässt sich abnehmende Tumorhemmung entsprechend der Reihung Ti > Zr > Hf in ähnlicher Weise für oktaedrische *cis*-Dihalogenbis(benzoylacetato)metall(IV)-Komplexe aufzeigen, die keine Cyclopentadienyl-Ringe in direkter Metall-Kohlenstoff-Bindung, sondern *O,O*-koordinierte Benzoylacetato-Liganden enthalten [23].

Darüber hinaus wurden während der letzten Jahre tumorhemmende Eigenschaften auch für andere Metalle enthaltende Cyclopentadienyl-Komplexe aufgedeckt:

- (i) die ionischen Bis(cyclopentadienyl)metall(III)-Verbindungen $[(C_5H_5)_2M]^+ X^-$ vor allem mit M = Fe [18,24] und
- (ii) die neutralen decasubstituierten Bis(cyclopentadienyl)metall(II)-Komplexe $[(C_5R_5)_2M]$ mit Elementen der IV. Hauptgruppe, M = Ge oder Sn, und den Substituenten R = C₆H₅ oder CH₂C₆H₅ [25].

Diese Befunde weisen darauf hin, dass die durch Cyclopentadienylmetall-Komplexe verursachte Tumorhemmung in deutlicher Weise vom vorliegenden Metall abhängig ist, dass jedoch auf der anderen Seite recht unterschiedliche Metalle in verschiedenen Prototypen von Cyclopentadienylmetall-Verbindungen ähnliche Tumorhemmung auszulösen vermögen.

Einfluss der Acido-Liganden auf die Tumorhemmung

Variiert man die Acido-Liganden X im $(C_5H_5)_2TiX_2$ -System, so lassen sich eine ganze Reihe hochaktiver Titanocen-Derivate herstellen, die alle im optimalen Dosisbereich 80–100% der behandelten Tiere heilen. Hierunter fallen Halogen-, Pseudohalogen- und Carboxylato-Komplexe ebenso wie Derivate, die diverse

Tabelle 2

Pharmakologische Daten^a von Titanocendiaco-Komplexen

$(C_5H_5)_2TiX_2$	Optimale Dosis (mg/kg)	Heilungsrate bei optimaler Dosis (%)	LD ₅₀ (mg/kg)	Ref.
X =				
F	40	100	60	[6]
Cl	40–60	100	100	[6]
Br	40–80	100	135	[6]
I	60–100	100	145	[6]
NCS	80	100	135	[6]
N ₃	50–70	100	95	[6]
<i>cis</i> -OCOCH=CHCOOH	60–120	100	170	[7]
OCOCCl ₃	100–360	100	440	[7]
OC ₆ F ₅	340–360	100	480	[9]
SC ₆ F ₅	120–180	100	260	[9]
$(C_5H_5)_2Ti(Cl)SeC_6H_5$	80–100	80	150	[9]
$(C_5H_5)_2Ti[cis-1,2-S_2C_2(CN)_2]$	80–120	85	240	[9]

^a Ehrlich-Ascites-Tumor.

Chalcogenolat-Liganden enthalten (Tabelle 2). Andererseits wird cancerostatische Unwirksamkeit bei einigen extrem hydrophoben Titanocen-chalcogeno-Derivaten, z.B. $(C_5H_5)_2TiS_5$, sowie bei dem pentakoordinierten Komplex Titanocenpyridin-2,6-dicarboxylat $(C_5H_5)_2Ti[2,6-(OCO)_2-C_5H_3N]$ beobachtet, der zwei Carboxyl-Sauerstoffatome und den Pyridin-Stickstoff als koordinierende Atome und somit als 18-Elektronen-Komplex keine Koordinationslücke mehr enthält [26].

Die Acido-Liganden in den pseudotetraedrischen Bis(cyclopentadienyl)-metall(IV)-Komplexen sind stets in *cis*-artiger Position angeordnet und bauen zusammen mit dem Zentralatom eine Diacidometall-Gruppierung auf, wie sie auch für das *cis*-Diammindichloroplatin(II)-Molekül und viele weitere tumorhemmende Platin-Komplexe typisch ist. Da jedoch auch andersartige Cyclopentadienylmetall-Verbindungen wie die Ferricenium-Salze $[(C_5H_5)_2Fe]^+X^-$ mit formal nur einem Liganden X, der aber als negativ geladener, ionisch gebundener Acido-Rest X^- vorliegt, oder decasubstituierte Stannocene und Germanocene $[(C_5R_5)_2M]$, die weder koordinativ noch ionisch gebundene Acido-Liganden enthalten, vergleichbare Tumorhemmung bedingen, scheint das Vorhandensein von zwei *cis*-ständigen, koordinativ gebundenen und dissoziationsfähigen Acido-Liganden im Fall der Cyclopentadienylmetall-Komplexe keine unabdingbare Voraussetzung für das Zustandekommen cancerostatischer Aktivität zu sein, wie es für tumorhemmende Platin-Verbindungen postuliert wird [27]. Unterschiede im molekularen Wirkmechanismus von cytotostischen Platin-Komplexen und tumorhemmenden Cyclopentadienylmetall-Verbindungen lassen sich hieraus ableiten.

Einfluss der Cyclopentadienyl-Liganden auf die Tumorhemmung

Titanocendichlorid-Derivate, die an den Cyclopentadienyl-Ringen durch Mono-, 1,1'-Di- bis hin zu Decasubstitution mit Alkyl-, Alkylsilyl- oder Alkylgermyl-Grup-

Tabelle 3

Pharmakologische Daten^a einiger am Cyclopentadienyl-Ring modifizierter Cyclopentadienylmetall(IV)-Derivate

	Optimale Dosis (mg/kg)	Heilungsrate bei optimaler Dosis (%)	LD ₅₀ (mg/kg)	Ref.
<u>(RC₅H₄)(C₅H₅)TiCl₂</u>				
R = C ₂ H ₅	50–70	60	100	[28]
R = Si(CH ₃) ₃	40–70	80	100	[28]
<u>(RC₅H₄)₂TiCl₂</u>				
R = Si(CH ₃) ₃	280–300	20 ^b	360	[28]
R = Ge(CH ₃) ₃	240–320	28 ^b	400	[28]
<u>Z(C₅H₄)₂TiCl₂</u>				
Z = CHCH ₃	200–260	10 ^b	320	[28]
Z = SiHCH ₃	160–220	30 ^b	300	[28]
Z = Ge(CH ₃) ₂	220–260	13 ^b	280	[28]
<u>[(CH₃)₅C₅]₂MX₂</u>				
M = Ti, X = Cl	–	0	240	[9]
M = V, X = NCS	–	0	360	[29]
<u>(C₅H₅)TiX₃</u>				
X = Cl	50–130	31 ^b	130	[30]
X = NCS	70–110	24 ^b	120	[30]

^a Ehrlich-Ascites-Tumor. ^b Sporadische Heilungsraten ausserhalb einer festen Dosis-Wirkungs-Beziehung.

pen variiert sind, zeigen generell verringerte Antitumoraktivität, wobei die Verminderung umso ausgeprägter ist, je weitgehender die Cyclopentadienyl-Ringe modifiziert sind (Tabelle 3) [28–30]. Analoge Phänomene lassen sich auch im Fall von Vanadocen- und Ferricenium-Komplexen beobachten. Keiner der drei Tetra- bzw. Pentamethylcyclopentadienyl-Komplexe [(CH₃)₄C₅H]V(NCS)₂, [(CH₃)₅C₅]₂V(NCS)₂ [29,9] und {[(CH₃)₅C₅]₂Fe}⁺Br₃[–] [31,9] verlängert die Überlebenszeit von Ehrlich-Ascites-Tumor-tragenden Mäusen.

Diese Ergebnisse deuten auf eine entscheidende Rolle der unsubstituierten kompakten, scheibenförmigen Cyclopentadienyl-Ringe für die Antitumoraktivität von Cyclopentadienylmetall-Komplexen vom Typ (C₅H₅)₂MX₂ und [(C₅H₅)₂Fe]⁺X[–] hin. Alle Übergänge von einer reinen Transportfunktion, bei der die C₅H₅-Ringe dem aktiven Metallzentrum den Durchtritt beispielsweise durch biologische Membranen ermöglichen, bis hin zu einer entscheidenden Wechselwirkung der metallgebundenen (C₅H₅)-Ringe oder von freigesetztem Cyclopentadien C₅H₆ bzw. dessen Diels–Alder-Dimerem Dicyclopentadien C₁₀H₁₂ mit den biologischen Zielmolekülen sind hierbei denkbar. Da für (C₅H₅)₂TiCl₂ gezeigt wurde, dass zumindest ein (C₅H₅)-Ring im Rahmen von Hydrolyse-Reaktionen relativ rasch abgespalten werden kann [32–34], ohne dass entstehende Hydrolyse-Produkte wie [(C₅H₅)₂TiCl]₂(μ-O) oder [(C₅H₅)TiCl(μ-O)]₄ offenkundig die eigentlich wirksamen Derivate darstellen [5,28], müssen in der Tat Cyclopentadien und Dicyclopent-

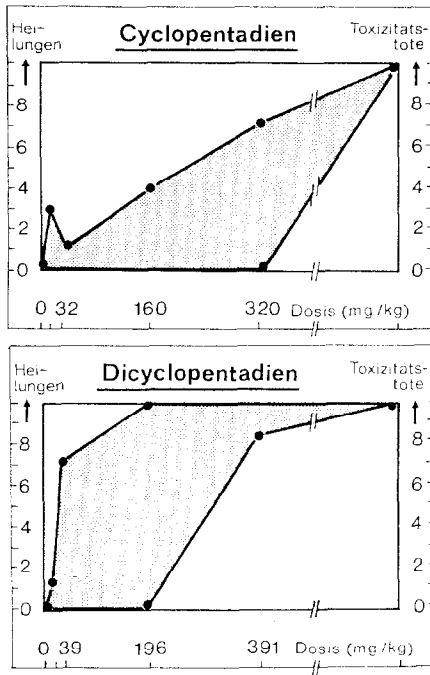


Fig. 1. Dosis-Wirkungs- und Dosis-Letalitäts-Beziehungen von C_5H_6 und $C_{10}H_{12}$ am Modell des flüssigen Ehrlich-Ascites-Tumors. Getönter Bereich: überlebende Tiere.

tadien in die Diskussion über den molekularen Wirkmechanismus von Metallocen-Komplexen einbezogen werden.

Von Döppert [21] wurde in diesem Zusammenhang kürzlich postuliert, dass sowohl Mono- als auch Bis(cyclopentadienyl)titan(IV)-Komplexe im Organismus durch Hydrolyse vollständig zu dem unlöslichen, polymeren Oxo-Komplex $\{[(C_5H_5)TiO]_4O_2\}_x$ abgebaut und unter weiterer Cyclopentadien-Abspaltung zu TiO_2 zersetzt werden sollen. Die hierbei freiwerdenden reaktiven Dien-Moleküle sollen die eigentlich cancerostatisch aktiven Species darstellen und die tumorhemmende Wirkung bedingen [21].

Ist diese These richtig, so sollte sich durch intraperitoneale Gabe von Cyclopentadien oder Dicyclopentadien sowohl das Wachstum des in der Bauchhöhle (intraperitoneal, i.p.) proliferierenden flüssigen als auch des an anderer Stelle, nämlich in der Nackengegend subcutan wachsenden Ehrlich-Ascites-Tumors, eines gegenüber Metallocen-Komplexen sehr empfindlichen experimentellen Tumors hemmen lassen. Entsprechende Versuche zeigten folgende Ergebnisse:

- (i) Bei lokaler (i.p./i.p.) Behandlung von flüssigem Ehrlich-Ascites-Tumor entfalten sowohl C_5H_6 als auch $C_{10}H_{12}$ tumorhemmende Wirkung und führen in optimalen Dosen bei 40–70% (C_5H_6) bzw. 70–100% ($C_{10}H_{12}$) der behandelten Tiere zur völligen Tumorregression (Fig. 1).
- (ii) Bei i.p.-Behandlung und subcutanem Tumorwachstum hingegen beeinflusste weder C_5H_6 noch $C_{10}H_{12}$ die Proliferation des soliden Ehrlich-Ascites-Tumors (Fig. 2).

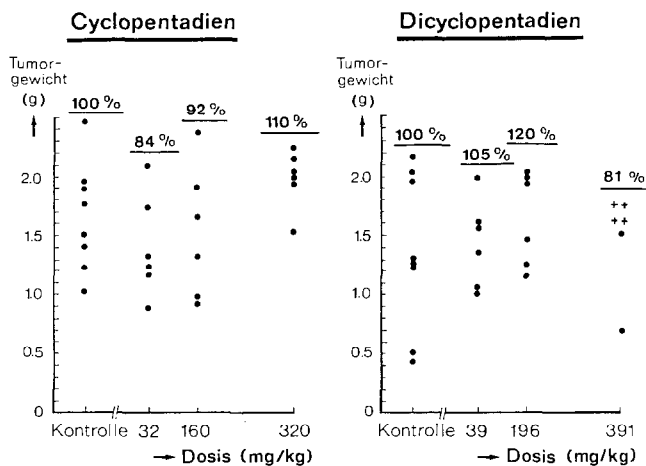


Fig. 2. Einzeltumorgewichte des *soliden* Ehrlich-Ascites-Tumors am Tag 8 nach Transplantation. Behandlung am Tag 1 mit C_5H_6 bzw. $C_{10}H_{12}$. Keine signifikanten Unterschiede ($2 P > 0.05$) zwischen den Tumorgewichten behandelter und un behandelter Tiere (Kruskal-Wallis-Test). Prozentwerte über den Säulen sind T/C-Werte (Def. s. Exp. Teil). + Toxischer Todesfall vor Tag 8.

(iii) Beide Substanzen sind dosisabhängig durch Schmerzreaktionen belastet, die nach Gabe äquivalenter Dosen von $C_{10}H_{12}$ heftiger sind als bei C_5H_6 . Auch die toxischen Schwellenwerte (LD_{10} , LD_{50}) liegen für $C_{10}H_{12}$ niedriger als für C_5H_6 (Fig. 1).

Diese Befunde belegen, dass beide Cycloolefine bei lokaler Anwendung im Rahmen einer offenkundig unspezifisch zellzerstörenden Wirkung Ehrlich-Ascites-Tumorzellen schädigen und damit das Tumorwachstum hemmen können, dass sie aber keine systemisch antineoplastischen Effekte auslösen, wie sie für Titanocen- und Ferricenium-Komplexe typisch sind.

Zum anderen sind bei lokaler Behandlung wesentlich höhere Dosen von C_5H_6 und $C_{10}H_{12}$ zur Induktion maximaler Heilungsraten notwendig, als beispielsweise bei $(C_5H_5)_2TiCl_2$ (Tabelle 4). Der Vergleich der toxischen Schwellenwerte (LD_{50} , LD_{100}) deckt eine ähnliche Diskrepanz auf und zeigt, dass wesentlich höhere Dosen von C_5H_6 und $C_{10}H_{12}$ nötig sind als von $(C_5H_5)_2TiCl_2$, um äquitoxische Effekte auszulösen (Tabelle 4). Dieser Umstand deutet ebenfalls darauf hin, dass weder C_5H_6 noch $C_{10}H_{12}$ die eigentlich aktive Spezies von Cyclopentadienylmetall-Komplexen darstellt.

Tabelle 4

Effektive und toxische Dosen^a von Cyclopentadien, Dicyclopentadien und Titanocendichlorid

Substanz	Optimale Dosis ^b		Letale Dosis (LD_{100})	
	(mg/kg)	(mmol/kg)	(mg/kg)	(mmol/kg)
C_5H_6	320	4.85	> 320	> 4.85
$C_{10}H_{12}$	196	1.48	> 391	> 2.96
$(C_5H_5)_2TiCl_2$	60	0.24	140	0.56

^a Ehrlich-Ascites-Tumor. ^b Heilungsrate 70% (C_5H_6) bzw. 100% ($C_{10}H_{12}$, $(C_5H_5)_2TiCl_2$).

Neben der Antitumoraktivität entfaltet $(C_5H_5)_2TiCl_2$ auch entzündungshemmende und antiarthritische Eigenschaften [35]. Auch in diesen Modellen zeigt Cyclopentadien keine biologische Aktivität, selbst wenn es in zehnfach höherer Dosis appliziert wird [35].

Damit stellt sich erneut die Frage, welche Komplexeinheiten für die biologischen Wirkungen von Cyclopentadienylmetall-Verbindungen verantwortlich sind. Die beschriebene Abhängigkeit der Antitumoraktivität sowohl vom vorliegenden komplexierten Metall als auch vom Substitutionstyp des η^5 -gebundenen organischen Liganden deuten darauf hin, dass beide für die molekulare Wirkungsweise eine Rolle spielen. Transport- oder Ankerfunktionen des Liganden für das Metallzentrum wären eine Möglichkeit. Diese würden auch die cancerostatische Inaktivität von $(C_5H_5)_2ZrCl_2$ [22] erklären, da die in diesem Komplex deutlich labilere (C_5H_5) -M-Bindung [34] wegen vorzeitiger Abspaltung der Cyclopentadienyl-Ringe etwa den Transport des Komplexmoleküls zum Wirkungsort verhindern könnte.

Als Modelle von Wechselwirkungen zwischen Metallocen-Species und Nucleinsäure-Molekülen beispielsweise könnten einerseits die von Cozak et al. [36–38] dargestellten $(C_5H_5)_2Ti^{IV}$ - und $(C_5H_5)_2Ti^{III}$ -Komplexe mit Purinen und Oxopurinen als Liganden, andererseits ein von Toney et al. [39] beschriebener Komplex $[(C_5H_5)_2V(H_2O)_2]^{2+}[PO_2(OC_6H_5)_2]_2^-$ mit Wasserstoff-Brückenbindungen von den Aquo-Liganden zu den Oxo-Sauerstoffatomen der Phosphorsäureester-Anionen dienen. Im Fall von Titanocen-Komplexen muss jedoch auch die Abspaltung eines oder beider Cyclopentadienyl-Liganden vor der Bindung an Biomoleküle in Betracht gezogen werden [9].

Experimenteller Teil

Tiere

Weibliche CF1-Mäuse (20–22 g, 6–8 Wochen alt) wurden unter Standardbedingungen gehalten (Altromin[®] und Leitungswasser ad libitum, 22–23°C, 12 h-Hell/Dunkel-Rhythmus).

Tumoren

Die Untersuchungen wurden am Ehrlich-Ascites-Tumor in ascitischer und solider Wachstumsform durchgeführt.

Zum Zweck der Tumortransplantation des flüssigen Ehrlich-Ascites-Tumors wurden 6×10^6 Tumorzellen aus dem Tumorascites eines Spendertieres, das den Tumor 8 Tage getragen hatte, in 0.3 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung (0.9% NaCl) aufgeschwemmt und intraperitoneal (i.p.) injiziert. Solide wachsende Tumoren wurden durch subcutane Injektion von 10^7 Zellen in 0.2 ml 0.9% NaCl unter die Nackenhaut gesetzt.

Substanzen

Monomeres Cyclopentadien (C_5H_6) wurde durch Crackung von Dicyclopentadien ($C_{10}H_{12}$) (Merck, Darmstadt) frisch hergestellt [40], unter flüssigem Stickstoff aufbewahrt und innerhalb von 12 h verwendet. Zum Zweck der biologischen Testungen wurden $C_{10}H_{12}$ frisch vakuumdestilliert oder C_5H_6 mit Tween 80 (Serva, Heidelberg) und 0.9% NaCl homogen vermischt und tumortragenden Tieren 24 h nach Transplantation in Gesamtvolumina von 0.5 ml, die jeweils 0.01 ml

Tabelle 5

Applizierte Mengen von Cyclopentadien und Dicyclopentadien

Substanz	Volumen pro Tier (ml)	Äquivalente Mengenangaben	
		(mg/kg)	(mmol/kg)
C ₅ H ₆	0.0005	16	0.24
	0.001	32	0.49
	0.005	160	2.43
	0.01	321	4.85
	0.05	1604	24.28
C ₁₀ H ₁₂	0.0005	20	0.15
	0.001	39	0.30
	0.005	196	1.48
	0.01	391	2.96
	0.05	1956	14.80

Tween 80 und folgende Anteile C₅H₆ bzw. C₁₀H₁₂ enthielten, intraperitoneal verabreicht:

- (i) im Fall des flüssigen Ehrlich-Ascites-Tumors 0.0005, 0.001, 0.005, 0.01, und 0.05 ml,
(ii) im Fall des soliden Ehrlich-Ascites-Tumors 0.001, 0.005, und 0.01 ml.

Die äquivalenten Massen- bzw. Mengenangaben in mg/kg und mmol/kg sind für C₅H₆ und C₁₀H₁₂ in Tabelle 5 zusammengestellt.

Jede Dosisgruppe bestand im Fall des flüssigen Ehrlich-Ascites-Tumors aus 10, im Fall des soliden Tumors aus 6 Tieren. In beiden Fällen dienten 10 Tiere als unbehandelte Kontrolle und erhielten am Tag 1 nach Transplantation eine Injektion von 0.5 ml 0.9% NaCl ohne Zusatz.

Versuchsauswertung

Als Parameter im Fall des flüssigen Ehrlich-Ascites-Tumors diente die Überlebensdauer. Tiere, die innerhalb von 7 Tagen nach Substanzinjektion verstarben, wurden als toxische Todesfälle gezählt. Tiere, die 90 Tage nach Tumortransplantation noch lebten, wurden als geheilt betrachtet. Alle unbehandelten Kontrolltiere verstarben zwischen Tag 17 und 25 nach Tumortransplantation (Mittelwert: 21.2 ± 2.0 d).

Bei den Tieren mit solidem Ehrlich-Ascites-Tumor wurden die Tumoren am Tag 8 nach Tumortransplantation entnommen und gewogen. Nach Errechnung der Mittelwerte in allen Gruppen wurde der T/C-Wert (mittleres Tumorgewicht einer Dosisgruppe/mittleres Tumorgewicht der Kontrollgruppe) in % als Mass der cancerostatischen Aktivität bestimmt. T/C-Werte kleiner als 50% belegen eine deutliche Tumorphemmung.

Dank

Für experimentelle Mithilfe danken wir Frau A. Stöckel. Die Arbeit wurde durch eine Spende aus der Trude-Goerke-Erbschaft zugunsten der Krebsforschung an der Freien Universität Berlin unterstützt.

Literatur

- 1 H. Köpf und P. Köpf-Maier, *Angew. Chem.*, 91 (1979) 509; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 18 (1979) 477.
- 2 P. Köpf-Maier und H. Köpf, *Z. Naturforsch. B*, 34 (1979) 805.
- 3 P. Köpf-Maier, M. Leitner, R. Voigtländer und H. Köpf, *Z. Naturforsch. C*, 34 (1979) 1174.
- 4 P. Köpf-Maier, M. Leitner und H. Köpf, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 42 (1980) 1789.
- 5 H. Köpf und P. Köpf-Maier, *ACS Symp. Ser.*, 209 (1983) 315.
- 6 P. Köpf-Maier, B. Hesse, R. Voigtländer und H. Köpf, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 97 (1980) 31.
- 7 P. Köpf-Maier, S. Grabowski, J. Liegener und H. Köpf, *Inorg. Chim. Acta*, 108 (1985) 99.
- 8 P. Köpf-Maier und H. Köpf, *Anticancer Res.*, 6 (1986) 227.
- 9 P. Köpf-Maier und H. Köpf, *Struct. Bond.*, im Druck.
- 10 P. Köpf-Maier, W. Wagner, B. Hesse und H. Köpf, *Eur. J. Cancer*, 17 (1981) 665.
- 11 P. Köpf-Maier, F. Preiss, T. Marx, T. Klapötke und H. Köpf, *Anticancer Res.*, 6 (1986) 33.
- 12 P. Köpf-Maier und H. Köpf, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 37 (1987) 532.
- 13 S.I. Chang, Yao Hsueh T'ung Pao, 16 (1981) 57.
- 14 P. Köpf-Maier, A. Moormann und H. Köpf, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 21 (1985) 853.
- 15 P. Köpf-Maier, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 113 (1987) 342.
- 16 P. Köpf-Maier und H. Köpf, *Chem. Rev.*, 87 (1987) 1137.
- 17 B.K. Keppler und D. Schmähl, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 36 (1986) 1822.
- 18 P. Köpf-Maier, H. Köpf und E.W. Neuse, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 108 (1984) 336.
- 19 H.O. Elo und P.O. Lumme, *Cancer Treat. Rep.*, 69 (1984) 1021.
- 20 S.J. Berners-Price, C.K. Mirabelli, R.K. Johnson, M.R. Mattern, F.L. McCabe, L.F. Faucette, C.M. Sung, S.M. Mong, P.J. Sadler und S.T. Crooke, *Cancer Res.*, 46 (1986) 5486.
- 21 K. Döppert, *J. Organomet. Chem.*, 319 (1987) 351.
- 22 P. Köpf-Maier, B. Hesse und H. Köpf, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 96 (1980) 43.
- 23 B.K. Keppler, H. Bischoff, M.R. Berger, M.E. Heim und D. Schmähl, *Proc. 5th Int. Symp. Platinum Other Metal Coord. Comp. Cancer Chemother.*, Padua, June 29–July 2, 1987, p. 313.
- 24 P. Köpf-Maier, *Z. Naturforsch. C*, 40 (1985) 843.
- 25 H. Schumann, C. Janiak, E. Hahn, C. Kolax, J. Loebel, M.D. Rausch, J.J. Zuckerman und M.J. Heeg, *Chem. Ber.*, 119 (1986) 2656.
- 26 R. Leik, L. Zsolnai, G. Huttner, E.W. Neuse und H.H. Brintzinger, *J. Organomet. Chem.*, 312 (1986) 177.
- 27 B. Rosenberg, *Cancer*, 55 (1985) 2303.
- 28 P. Köpf-Maier, W. Kahl, N. Klouros, G. Hermann und H. Köpf, *Eur. J. Med. Chem.*, 16 (1981) 275.
- 29 M. Moran, J.R. Masaguer und V. Fernández, *J. Organomet. Chem.*, 291 (1985) 311.
- 30 P. Köpf-Maier, S. Grabowski und H. Köpf, *Eur. J. Med. Chem.*, 19 (1984) 347.
- 31 H. Schumann und R. Mohtachemi, persönliche Mitteilung.
- 32 K. Döppert, *J. Organomet. Chem.*, 178 (1979) C3.
- 33 H. Köpf, S. Grabowski und R. Voigtländer, *J. Organomet. Chem.*, 216 (1981) 185.
- 34 J.H. Toney und T.J. Marks, *J. Am. Chem. Soc.*, 107 (1985) 947.
- 35 D.P. Fairlie, M.W. Whitehouse und J.A. Broomhead, *Chem. Biol. Interact.*, 61 (1987) 277.
- 36 A.L. Beauchamp, D. Cozak und A. Mardhy, *Inorg. Chim. Acta*, 92 (1984) 191.
- 37 D. Cozak, A. Mardhy, M.J. Olivier und A.L. Beauchamp, *Inorg. Chem.*, 25 (1986) 2600.
- 38 A.L. Beauchamp, F. Bélanger-Gariépy, A. Mardhy und D. Cozak, *Inorg. Chim. Acta*, 124 (1986) L23.
- 39 J.H. Toney, C.P. Brock und T.J. Marks, *J. Am. Chem. Soc.*, 108 (1986) 7263.
- 40 A. Zilkha und A. Ottolenghi, *J. Polym. Sci.*, 56 (1962) 539.