

## Antitumorska aktivnost kompleksa platine(II) i paladija(II) s etil kinolilmetilfosfonatima

Ljerka Tušek-Božić

Institut «Ruđer Bošković», Zagreb, Hrvatska  
Autor za korespondenciju: Ljerka Tušek-Božić  
Institut «Ruđer Bošković», Zavod za Fizičku kemiju, Bijenička c. 54, 10000 Zagreb  
Tel.: 01-4571217; fax: +01-4680245  
E-mail: tusek@irb.hr

Pregledni članak  
UDK 616-097:616-006  
Prispjelo: lipanj 2010.

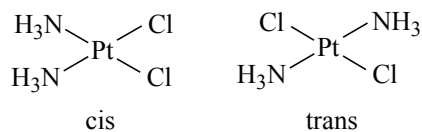
Nakon otkrića antitumorske aktivnosti cisplatine i njezinih analoga, te njihove vrlo uspješne kliničke primjene u liječenju određenih tipova tumora, intenzivno se istražuju novi platinski kompleksi i kompleksi drugih metala s ciljem dobivanja citostatika s boljim antitumorskim djelovanjem i manje izraženim nuspojavama. Naša istraživanja u tom području usmjerena su na komplekse platine i paladija s derivatima aminofosfonskih kiselina.

U ovom radu dan je pregled kompleksa platine(II) i paladija(II) s dietil i monoetil 2- i 8-kinolilmetilfosfonatima te rezultati testiranja njihove in vitro antitumorske aktivnosti prema KB stanicama karcinoma kože kod ljudi i L1210 stanicama leukemije kod miša. Nekoliko kompleksa pokazalo je visoku aktivnost. Razmatran je odnos antitumorske aktivnosti kompleksa o njihovim strukturnim i fizičko-kemijskim svojstvima.

**Ključne riječi:** Platinski kompleksi; Paladijevi kompleksi; Kompleksi kinolilmetilfosfonata; Antitumorska aktivnost

### UVOD

Prošlo je 40 godina od kada je Barnett Rosenberg sa svojim suradnicima 1969. godine objavio rad u «Nature» pod naslovom «Platinum compounds: a new class of potent antitumor agents» u kojem je opisano otkriće antitumorske aktivnosti platinskih kompleksnih spojeva. Najznačajniji je svakako cis-diammindikloroplatina(II) kompleks koji je pod imenom cis-platina postao jedan od najučinkovitijih i najčešće korištenih citostatika u liječenju tumora, posebno karcinoma testisa, jajnika i pluća (1,2). Ovaj kompleks prvi je pripremio još 1844. godine mladi francuski kemičar Michele Peyrone, te je po njemu dobio ime «Peyronov klorid» (3). Stereokemiju kompleksa, odnosno postojanje cis i trans izomera odredio je 1892 godine Švicarac Alfred Werner (4), koji je za svoja temeljna istraživanja u području strukturne anorganske kemije dobio 1913. godine Nobelovu nagradu.



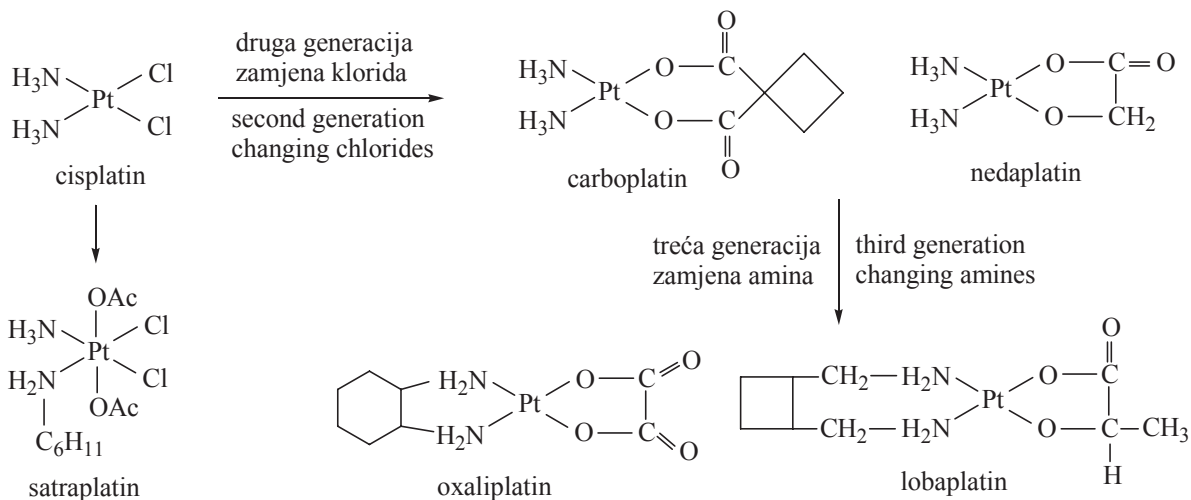
Inhibitorsko djelovanje cis izomera ovog aminskog kompleksa na diobu stanica *Escherichia coli* otkrio je Rosenberg sa suradnicima sasvim slučajno 1965 godine (5). Promatrali su utjecaj električne struje na bakteriju uz amonijev klorid kao elektrolit između dviju platinskih elektroda. Isprva se mislilo da do promjena dolazi uslijed električne struje, dok nije doka-

zano da elektrolizom amonijeve soli te reakcijom s platinskom elektrodom dolazi do stvaranja više platinskih kompleksa. Utvrđeno je da je samo cis izomer diammindikloroplatina(II) kompleksa odgovoran za opaženo usporavanje diobe bakterijskih stanica. Time se otvorila i mogućnost njegove primjene pri liječenju tumora. Uslijedila su intenzivna istraživanja u tom smjeru prvo na tumorskim stanicama kod životinja te ljudi, a pošto su rezultati bili iznenađujuće dobri, 1971. godine napravljena su prva predklinička ispitivanja, dok početak kliničke primjene datira od 1978 godine.

### Cisplatina i njezini analozi

Pri terapiji cisplatinom suočeni smo nažalost i s nizom negativnih pojava kao što su određen stupanj toksičnosti na pojedine organe, ograničena doza upotrebe, relativno ograničen spektar djelovanja i mogućnost rezistencije. Da bi se dobio lijek s boljim toksikološkim i farmakološkim svojstvima, kontinuirano se provode intenzivna istraživanja u više pravaca: (i) primjenjuju se različiti protokoli pri terapiji liječenja kao što su variranje doze i vremena davanja lijeka, terapija uz dodatak drugih lijekova ili se kemoterapija provodi uz hidratacijsku terapiju; (ii) proučavaju se reakcije cisplatine kao i drugih aktivnih platinskih kompleksa s DNK koja je glavna meta njihova djelovanja, što bi moglo pomoći pri dizajniranju i pripremi novog efikasnijeg lijeka; (iii) istražuju se novi kompleksni spojevi metala s potencijalnim antitumorskim djelovanjem i farmaceutskom primjenom (5,6).

SLIKA 1.  
 Kemijska struktura platinskih kompleksa koji se koriste kao antitumorski lijekovi  
 FIGURE 1.  
 Chemical structure of platinum complexes clinically applied as anticancer drugs.



Do danas je predklinički testirano nekoliko tisuća spojeva, a od toga je svega njih nešto više od tridesetak našlo kliničku primjenu. Na Slici 1. prikazani su uz cisplatinu najznačajniji njezini analozi tzv. platinski kompleksi druge i treće generacije dobiveni zamjenom kloridnog, odnosno amskog liganda. Karboplatina (carboplatin), diammin(1,1-ciklobutan-dikarboksilato)platina(II) kompleks, uz cisplatinu svakako je najpoznatiji i najviše propisivan citostatik koji se koristi u cijelom svijetu. Najpoznatiji njezin analog je lobaplatina koja ima ciklobutanski prsten u amskom dijelu molekule (7-10).

Istraživanja su pokazala da je DNK glavna meta cisplatinu i općenito platinskih kompleksa (11,12). Stvaranjem adicijonih kompleksa s nukleobazama preko njihovih N i O atoma ti spojevi uzrokuju znatne deformacije na spiralnoj uzvojnici DNK i time sprječavaju njezinu replikaciju. Glavno mjesto vezanja metala je N-7 dušik u guaninu. Nakon hidrolize jednog kloridnog iona dolazi do stvaranja monofunkcionalnog kompleksa, a hidrolizom i drugog kloridnog iona dolazi do stvaranja bifunkcionalnog kompleksa platine koji se može vezati na dvije baze smještene na suprotnim stranama dvostruke uzvojnice DNK, na dvije baze na istoj strani uzvojnice koje se nalaze u susjednom položaju ili su odvojene drugom bazom, a može doći i do vezanja na protein ili dvije različite baze (npr. guanin i adenin). Potrebno je napomenuti da trans izomer diammindikloroplatina(II) kompleksa (tzv. transplatinu) pokazuje za jedan red veličine nižu aktivnost od cisplatinu te se ne može koristiti u terapijske svrhe. Za aktivnost kompleksa bitna je pretvorba monofunkcionalnog u bifunkcionalni kompleks koji u stvari uzrokuje glavne deformacije na DNK, a koja je mnogo sporija kod transplatinu. Njezini monofunkcionalni adukti stoga imaju veću mogućnost reagiranja s glutationom i drugim biomolekulama pri čemu dolazi do labavljenja veze s nukleobazama i do pucanja veze s DNK. Reparacijski mehanizam transplatinu je mnogo brži nego kod cisplatinu koji

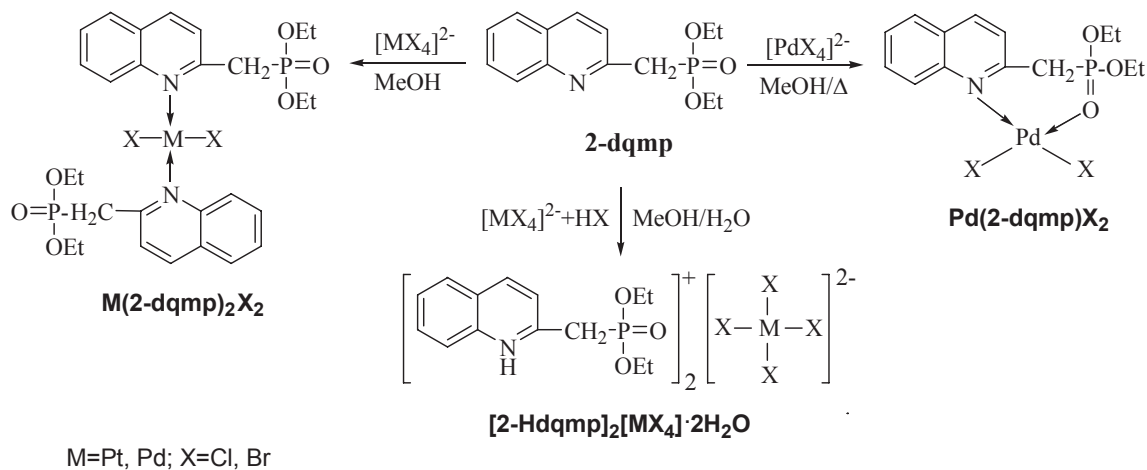
počinje već nakon par sati, a nakon 24 sata ostane vrlo malo DNK adukta što nije slučaj sa cisplatinom.

#### Razvoj metalnih kompleksa s antitumorskim djelovanjem

Dosta se dugo smatralo da aktivan spoj mora imati strukturu sličnu cisplatinu opće formule  $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{Am})_2\text{X}_2]$ , koji u cis položaju ima čvrsto vezan par liganada uz metal tzv. nosive (carrier) ligande (Am) kao što su amini i različiti aminoderivati s barem jednom NH skupinom, te srednje labilnom vezom vezan drugi par liganada koji se lako odcijepi uz enzimatsku aktivaciju. To su tzv. odlazeći (leaving) ligandi (X). Obično su to anionski ligandi kao što su halogeni te anioni mono ili dikarbonskih kiselina. Kompleksi s labilno vezanom odlazećom grupom kao što su perklorati i nitrati vrlo su toksični, dok su kompleksi s inertnom odlazećom grupom neaktivni spojevi. Nadalje, smatralo se da kompleks mora biti neutralan, te da je potrebno prisustvo barem jedne skupine u amino ligandu koja se može vodikovim vezama vezati uz DNK. Važna je i topljivost i lipofilnost kompleksa. Ako je usporediva topljivost kompleksa u vodi i lipidima, njegova je toksičnost manja i veće je terapijsko djelovanje.

Današnja istraživanja nisu više usmjerena samo na analoge cisplatinu (13-15). Pripravljen je čitav niz vrlo aktivnih kompleksnih spojeva različitih struktura koje možemo podijeliti u tri skupine. Prvo su to kompleksni spojevi koji ne zadovoljavaju klasična pravila o odnosu struktura-aktivnost i odnose se na platina(II) komplekse trans-konfiguracije koji sadrže planarne aromatske ligande kao što su derivati piridina i kinolina, te različite iminoetere, cikloheksilamine i asimetrične alifatske amine kao ligande (17-20). Zatim su to ionski kompleksi bilo kationski ili anionski (19,20), polinuklearni kompleksi u kojima su platinski ioni međusobno povezani preko poveznika koji može biti linearni ili supstituirani alifatski diamin,

SLIKA 2.  
 Kompleksi platine(II) i paladija(II) s dietil 2-kinolilmetilfosfonatom (2-dqmp)  
 FIGURE 2.  
 Platinum(II) and palladium(II) complexes of diethyl 2-quinolylmethylphosphonate (2-dqmp)



tetraamin ili bifunkcionalna tiourea, te kompleksi platine(IV) (21,22).

Drugu skupinu čine platinski kompleksi koji su vezani na bioaktivni sustav tzv. nosač aktivne molekule koji omogućuje akumulaciju citotoksične komponente u različitim organima i tkivima, te dobivanje polifunkcionalnih preparata sa sinergijskim djelovanjem. U tu svrhu koriste se DNK interkalatori kao što su antrakini, akridini, fenilkinolini, zatim šećeri i steroidi, te aminokiseline i aminofosfonske kiseline (23-26).

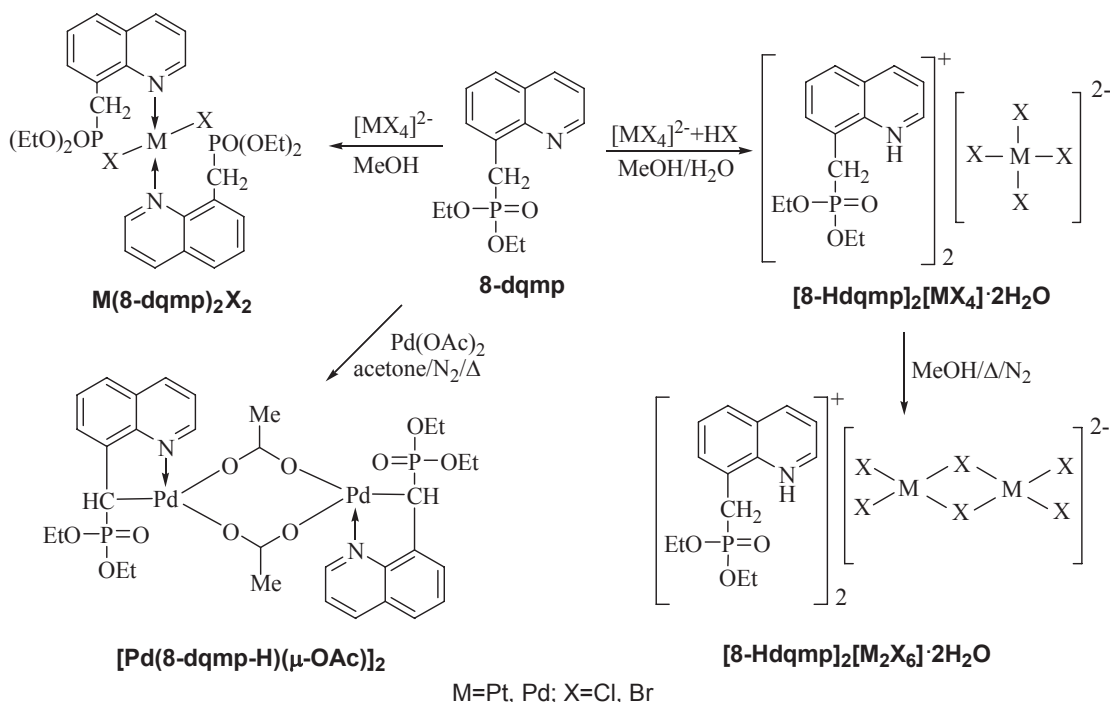
U trećoj skupini su neplatinski kompleksi i to ponajprije kompleksi platinske grupe metala kao što su Pd, Rh, Ru, Ir te kompleksi nekih prijelaznih metala kao što su Ga, Ti, V, Cu, Os, Au, i Sn. (27-33). Iako ima iznimno dobrih rezultata na tom području, posebice se to odnosi na komplekse rutenija (27-29), vrlo je spori pomak prema kliničkoj primjeni tih spojeva. Uglavnom se radi o istraživanjima koja potječu iz akademskih sredina, a ne iz farmaceutskih laboratorija.

Iako je koordinacijska kemija paladija i platine vrlo slična te u pravilu oba metala daju isti tip kompleksa, opaženo je da paladijev analog cisplatine pokazuje znatno nižu aktivnost od cisplatine. Paladij je puno reaktivniji od platine za oko 105 puta te brže dolazi do hidrolize kompleksa i stvaranja reaktivnih specija koje mogu reagirati s različitim biomolekulama prije nego što uopće dospiju do tumorske stanice. Pripravom kompleksa s aromatskim heterocikličkim ligandima koji sadrže dušik kao donorni atom kao što su piridin, kinolin, pirazol i 1,10-fenantrolin, hidroliza metalnog kompleksa može se usporiti te je pripremljen niz paladijevih kompleksa visoke antitumorske aktivnosti (34-45). Biološka aktivnost kompleksa jako ovisi i o prirodni liganda, stoga su mnoga današnja istraživanja usmjerena na metalne komplekse s biološki važnim ligandima u svrhu proširenja spektra djelovanja kompleksa. Među njima interesantni su derivati fosfonskih i aminofosfonskih

kiseline zbog svoje raznolike biološke aktivnosti (46,47), te su pripremljeni fosfonatni kompleksi platine s antitumorskim djelovanjem (48-53). Fosfonski dio kompleksa, koji pokazuje afinitet prema kostima i drugim kalcificiranim tkivima, može poslužiti kao nosač aktivnog dijela molekule kompleksa.

Naša istraživanja usmjerena su na kloridne i bromidne komplekse paladija(II) s dialkil i monoalkil esterima anilinobenzilfosfonskih kiseline sa i bez azo skupine (39,54,55), te kloridne, bromidne i acetatne komplekse platine(II) i paladija(II) s dietil i metil esterima 2- i 8-kinolilmetilfosfonskih kiseline (36,37,40,43,51,53,56). To su ligandi s anilinskim, azo ili kinolinskim dušikom te fosforilnim ili fosfonatnim kisikom kao donornim atomima, a postoji mogućnost stvaranja i ciklopaladiranih kompleksa. Ovisno o reakcijskim uvjetima pripremljeni su različiti tipovi molekularnih i ionskih kompleksa kao što su adicijski trans i cis konfiguracije, kelatni kompleksi s peteročlanim, šesteročlanim i sedmeročlanim prstenom, mono- i dinuklearni kompleksi te tri-, tetra- i heksahalogeni ionski kompleksi. Biološka svojstva kompleksa ispitivana su određivanjem njihove *in vitro* antitumorske aktivnosti prema različitim tumorskim stanicama ljudskog i životinjskog podrijetla, te *in vitro* antivirusne aktivnosti prema DNK i RNK virusima, a provedena su u suradnji s Institutom za biomedicinska istraživanja u Trstu, Italija (Prof. Ariella Furlani i suradnici) te Kraljevskim institutom za medicinska istraživanja u Leuvenu, Belgija (prof dr. Erik de Clercq i suradnici). Istraživanja su pokazala da je antivirusna aktivnost kompleksa uglavnom neznatna, dok je niz kompleksa pokazao visoku antitumorsku aktivnost. U ovom radu pobliže je dan pregled kompleksa platine(II) i paladija(II) s dietilnim i monoetilnim esterima 2- i 8-kinolilmetilfosfonske kiseline te rezultati testiranja njihove *in vitro* antitumorske aktivnosti prema KB stanicama karcinoma kože kod ljudi i L1210 stanicama leukemije kod miša. Razmatran je odnos aktivnosti o strukturnim i fizičko-kemijskim svojstvima kompleksa.

SLIKA 3.  
 Kompleksi platine(II) i paladija(II) s dietil 8—kinolilmetilfosfonatom (8—dqmp)  
 FIGURE 3.  
 Platinum(II) and palladium(II) complexes of diethyl 8—quinolylmethylphosphonate (8—dqmp)



### Kompleksi platine(II) i paladija(II) s kinolilmetilfosfonatima

Dietil 2-kinolilmetilfosfonat (2-dqmp) reakcijom s tetrahalopaladatom daje dvije vrste molekularnih dihalopaladijevih kompleksa (Slika 2.). Kod sobne temperature dobiveni su adicioni kompleksi 1:2 metal-ligand odnosa s metalom vezanim preko kinolinskog dušika u *trans* položaju, dok kod povišene temperature ulazi i fosforilni kisik u koordinaciju te se dobije cis 1:1 kelatni kompleks (36). Reakcijom u kiselom mediju pri pH<3 dobiju se ionski kompleksi s protoniranim ligandom kao kationom i tetrahalopaladatom kao anionom. Od platinskih kompleksa dobiveni su samo 1:2 adicioni, odnosno ionski tetrahaloplatinatni kompleksi (51).

Dietil 8-kinolilmetilfosfonat (8-dqmp) u neutralnom mediju daje 1:2 adicione komplekse, a u kiselom mediju ionske kinolinium tetrahalometalatne komplekse, koji u metanolu kod povišene temperature prelaze u heksahalodimetalatne ionske komplekse (Slika 3.) (37,53,56). Reakcijom s paladijevim acetatom dobiven je dinuklearni kompleks u kojemu se ciklopaladacijom preko kinolinskog dušika i benzilnog C atoma dobije peteročlani kelatni prsten, a paladijevi ioni su povezani preko dvije acetatne skupine u mostu (43).

Monoetil ester 2-kinolilmetilfosfonske kiseline (2-Hmqmp) daje dvije vrste platinskih, odnosno paladijevih molekularnih i ionskih kompleksa (40,51). Oba metala reakcijom u metanolu daju adicione dihalogene komplekse, a u vodi pri pH>6 dobiven je kelatni kompleks u kojem je metal vezan preko

kinolinskog dušika i kisika deprotonirane fosfonske POH skupine te stvara šesteročlani prsten. Situacija je nešto složenija kod ionskih kompleksa gdje su nešto veće razlike kako u pripravi tako i u vrsti nastalih platinskih i paladijevih kompleksa (Slika 4.). Ako se reakcija provodi u vodi pri pH~3,5 dobiveni su kinolinium heksahalodiplatinati dok su pri pH<3 izolirani tetrahaloplatinati. Paladij u vodenom mediju pri pH~3,5 daje adicione dihalogene komplekse, a pri pH<3 kinolinium trihalopaladate u kojima je anion kinolinium trihalopaladatni kompleks s paladijem vezanim preko kisika deprotonirane POH skupine. Ovi kompleksi zagrijavanjem u metanolu prelaze u kinolinium heksahalodipaladate. Reakcijom 2-Hmqmp s paladijevim acetatom kod povišene temperature dobije se dinuklearni acetatni kompleks u kojemu su dva paladijeva atoma povezana u mostu s dvije acetatne skupine (43).

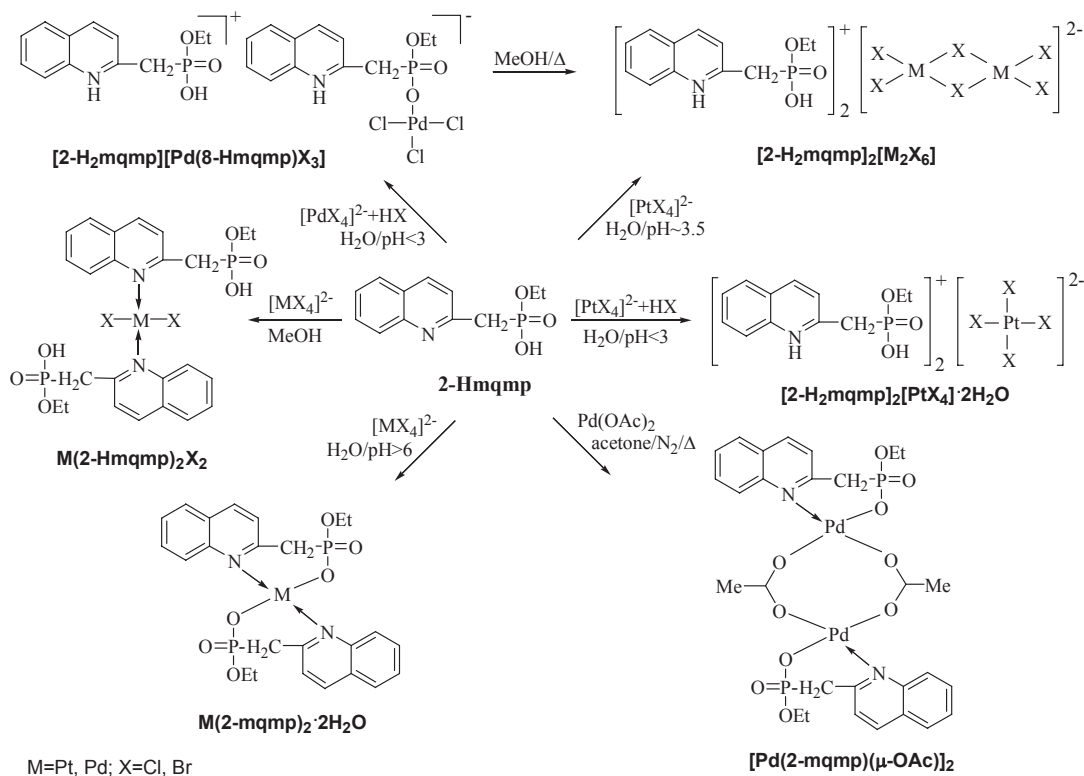
Za pripravu kompleksa monoetil estera 8-kinolilmetilfosfonske kiseline (8-Hmqmp) kao ishodni spoj upotrebljena je natrijeva sol monoestera koja reakcijom s tetrahaloplatinatom, odnosno tetrahalopaladatom daje kelatni kompleks sa sedmeročlanim prstenom, dok su u kiselom mediju pri pH<3 dobiveni ionski kinolinium tetrahalometalati (53,56). Zagrijavanjem u metanolu platinski kompleks se raspada, dok paladijev kompleks prelazi u ionski kompleks u kojemu je anion kinolinium trihalopaladatni kompleks. Reakcijom s tetrahaloplatinatom pri pH~3,5 dobiveni su kinolinium tetrahaloplatinati. Kod istih uvjeta paladij daje heksahalodipaladate (Slika 5.).

SLIKA 4.

Kompleksi platine(II) i paladija(II) s monoethyl 2-kinolilmetilfosfonatom (2-Hmqmp)

FIGURE 4.

Platinum(II) and palladium(II) complexes of monoethyl 2-quinolylmethylphosphonate (2-Hmqmp)

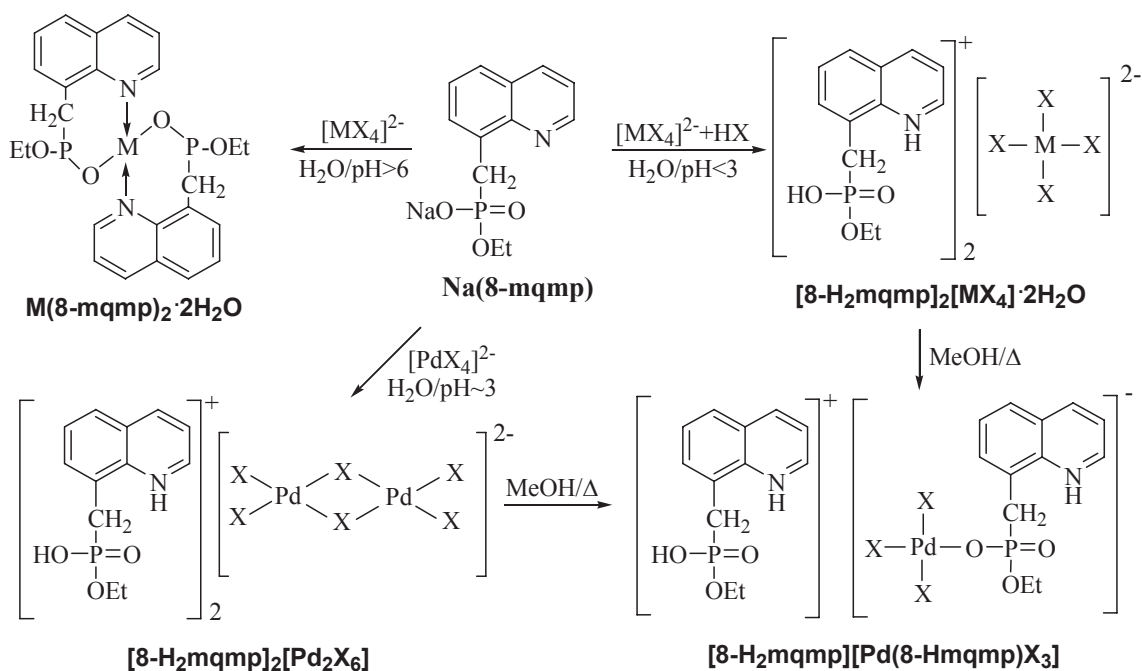


SLIKA 5.

Kompleksi platine(II) i paladija(II) s monoethyl 8-kinolilmetilfosfonatom (8-Hmqmp)

FIGURE 5.

Platinum(II) and palladium(II) complexes of monoethyl 8-quinolylmethylphosphonate (8-Hmqmp)



TABLICA 1.

Pregled in vitro antitumorske aktivnosti kompleksa platine(II) i paladija(II) s etil kinolilmetilfosfonatima

TABLE 1

Review of in vitro antitumor activity of platinum(II) and palladium(II) complexes with ethyl quinolylmethylphosphonates.

Kompleks	IC <sub>50</sub> (μ M) <sup>a</sup>			
	KB stanice <sup>b</sup>		L1210 stanice <sup>c</sup>	
	KB cells <sup>b</sup>		L1210 cells <sup>c</sup>	
	2Q <sup>d</sup>	8Q <sup>e</sup>	2Q <sup>d</sup>	8Q <sup>e</sup>
[Pt(dqmp) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	14.79 <sup>f</sup>	15.38 <sup>g</sup>	9.11 <sup>f</sup>	11.42 <sup>g</sup>
[Pd(dqmp) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	64.91 <sup>h</sup>	9.03 <sup>i</sup>	77.71 <sup>h</sup>	10.76 <sup>i</sup>
[Pt(dqmp) <sub>2</sub> Br <sub>2</sub> ]	13.31 <sup>f</sup>	14.67 <sup>g</sup>	8.29 <sup>f</sup>	10.74 <sup>g</sup>
[Pd(dqmp) <sub>2</sub> Br <sub>2</sub> ]	12.72 <sup>h</sup>	(12.12) <sup>i</sup>	(3.30) <sup>h</sup>	(15.42) <sup>i</sup>
[Pd(dqmp)Cl <sub>2</sub> ]	51.22 <sup>h</sup>	—	11.52 <sup>h</sup>	—
[Pd(dqmp)Br <sub>2</sub> ]	42.22 <sup>h</sup>	—	13.01 <sup>h</sup>	—
[Hdqmp] <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]·2H <sub>2</sub> O	14.29 <sup>f</sup>	13.90 <sup>g</sup>	9.82 <sup>f</sup>	10.19 <sup>g</sup>
[Hdqmp] <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ]·2H <sub>2</sub> O	> 100 <sup>h</sup>	18.98 <sup>i</sup>	52.47 <sup>h</sup>	13.65 <sup>i</sup>
[Hdqmp] <sub>2</sub> [PtBr <sub>4</sub> ]·2H <sub>2</sub> O	> 100 <sup>f</sup>	10.90 <sup>g</sup>	> 100 <sup>f</sup>	8.42 <sup>g</sup>
[Hdqmp] <sub>2</sub> [PdBr <sub>4</sub> ]·2H <sub>2</sub> O	35.69 <sup>h</sup>	10.04 <sup>i</sup>	3.05 <sup>h</sup>	9.98 <sup>i</sup>
[Hdqmp] <sub>2</sub> [Pt <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub> ]	—	11.29 <sup>g</sup>	—	8.34 <sup>g</sup>
[Hdqmp] <sub>2</sub> [Pd <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub> ]	—	18.98 <sup>i</sup>	—	16.33 <sup>i</sup>
[Hdqmp] <sub>2</sub> [Pt <sub>2</sub> Br <sub>6</sub> ]	—	9.72 <sup>g</sup>	—	7.00 <sup>g</sup>
[Hdqmp] <sub>2</sub> [Pd <sub>2</sub> Br <sub>6</sub> ]	—	14.04 <sup>i</sup>	—	11.80 <sup>i</sup>
[Pt(mqmp) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	> 100 <sup>f</sup>	—	> 100 <sup>f</sup>	—
[Pd(mqmp) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	26.72 <sup>j</sup>	—	25.89 <sup>j</sup>	—
[Pd(mqmp) <sub>2</sub> Br <sub>2</sub> ]	> 100 <sup>j</sup>	—	14.53 <sup>j</sup>	—
[H <sub>2</sub> mqmp] <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]·2H <sub>2</sub> O	> 100 <sup>f</sup>	> 100 <sup>g</sup>	> 100 <sup>f</sup>	> 100 <sup>g</sup>

Nastavak - TABLICA 1.

Continuation - TABLE 1

$[H_2mqmp]_2[PdCl_4]$	—	$> 100^k$	—	$20.35^k$
$[H_2mqmp]_2[PtBr_4] \cdot 2H_2O$	$> 100^f$	$> 100^g$	$> 100^f$	$> 100^g$
$[H_2mqmp]_2[PdBr_4] \cdot 2H_2O$	—	$42.42^k$	—	$12.74^k$
$[H_2mqmp]_2[Pt_2Cl_6]$	$> 100^f$	—	$> 100^f$	—
$[H_2mqmp]_2[Pd_2Cl_6]$	—	$> 100^k$	—	$19.62^k$
$[H_2mqmp]_2[Pt_2Br_6]$	$> 100^f$	—	$> 100^f$	—
$[H_2mqmp]_2[Pd_2Br_6]$	$15.31^j$	$25.30^k$	$10.51^j$	$8.14^k$
$[H_2mqmp][Pd(Hmqmp)Cl_3]$	$61.11^j$	$63.39^k$	$30.91^j$	$24.05^k$
$[H_2mqmp][Pd(Hmqmp)Br_3]$	$32.02^j$	$37.66^k$	$18.73^j$	$13.88^k$
$[Pt(mqmp)_2] \cdot 2H_2O$	$> 100^f$	$> 100^g$	$> 100^f$	$> 100^g$
$[Pd(mqmp)_2] \cdot 2H_2O$	$42.01^j$	$28.62^k$	$25.91^j$	$26.91^k$
$[Pd(8-dmqmp-H)(m-OAc)]_2$	—	—	—	$2.80^l$
$[Pd(2-mqmp)(m-OAc)]_2$	—	—	$> 100^l$	—

<sup>a</sup> Koncentracija koja usporava razmnožavanje stanica za 50%.

<sup>a</sup> Concentration to inhibit the growth of cells by 50%.

<sup>b</sup> KB – stanice karcinoma kože kod ljudi.

<sup>b</sup> KB – epidermoid human carcinoma cell line.

<sup>c</sup> L1210 – stanice leukemije kod miša.

<sup>c</sup> L1210 – murine leukemia cell line.

<sup>d</sup> Kompleksi dietil (2-dqmp) i monoetil (2-Hmqmp) kinolil metilfosfonata.

<sup>d</sup> Complexes of diethyl (2-dqmp) and monoethyl (2-Hmqmp) quinolylmethylphosphonates.

<sup>e</sup> Kompleksi dietil (8-dqmp) i monoetil (8-Hmqmp) kinolilmetilfosfonata.

<sup>e</sup> Complexes of diethyl (8-dqmp) and monoethyl (8-Hmqmp) quinolylmethylphosphonates.

<sup>f</sup> Podatci iz lit. (51).

<sup>f</sup> Data taken from ref. [51].

<sup>g</sup> Podatci iz lit. (53).

<sup>g</sup> Data taken from ref. [53].

<sup>h</sup> Podatci iz lit. (36).

<sup>h</sup> Data taken from ref. [36].

<sup>i</sup> Podatci iz lit. (37).

<sup>i</sup> Data taken from ref. [37].

<sup>j</sup> Podatci iz lit. (40).

<sup>j</sup> Data taken from ref. [40].

<sup>k</sup> Podatci iz lit. (56).

<sup>k</sup> Data taken from ref. [56].

<sup>l</sup> Podatci iz lit. (43).

<sup>l</sup> Data taken from ref. [43].

### ***In vitro* antitumorska aktivnost kompleksnih spojeva**

Svim platinskim i paladijevim kompleksima kinolilmetilfosfonata određena je *in vitro* antitumorska aktivnost prema KB stanicama karcinoma kože kod ljudi i L1210 stanicama leu-

kemije kod miša. Rezultati testiranja dani su u Tablici 1., a aktivnost kompleksa izražena je u obliku  $IC_{50}$  vrijednosti koja označava koncentraciju kompleksa u  $\mu M$  koja je potrebna da se uspori rast tumorskih stanica za 50% u odnosu na kontrolni uzorak. Smatra se da kompleks ima vrlo visoku aktivnost ako

je ta vrijednost manja od 1, visoka ako je između 1 i 10, a mala je ako je iznad 100. Rezultati testiranja kompleksa pokazuju da su kompleksi nešto aktivniji prema stanicama leukemije kod miša te da su aktivniji kompleksi diestera u odnosu na komplekse monoestera. U većini slučajeva nešto je viša aktivnost bromidnih kompleksa u odnosu na kloridne komplekse i nisu velike razlike u aktivnosti između kompleksa dvaju diestera, odnosno dvaju monoestera. Dok kod diestera nema velikih razlika u aktivnosti između kompleksa platine i paladija, kod oba monoestera te su razlike dosta velike. Svi platinski kompleksi monoestera imaju neznatnu aktivnost ( $IC_{50} > 100$ ) dok je aktivnost paladijevih kompleksa viša ( $IC_{50}$  ca. 15-100  $\mu M$  kod KB i 8-30  $\mu M$  kod L1210 stanica). Kod platinskih kompleksa najaktivniji su kompleksi diestera 8-dqmp ( $IC_{50}$  ca. 8-16  $\mu M$  kod KB i 7-11  $\mu M$  kod L1210 stanica). Paladijevi kompleksi tog liganda neznatno su manje aktivni ( $IC_{50}$  ca. 9-19  $\mu M$  kod KB i 10-16  $\mu M$  kod L1210 stanica). Najvišu *in vitro* antitumorsku aktivnost s  $IC_{50}$  vrijednosti od ca. 3  $\mu M$  pokazali su dibromopaladijev i tetrabromopaladijev kompleks diestera 2-dqmp te acetatni kompleks diestera 8-dqmp.

Promatranjem odnosa aktivnosti kompleksa o fizičko-kemijskim svojstvima kompleksa i njihovoj strukturi vidimo da više faktora igra važnu ulogu i da se njihov utjecaj međusobno nadopunjuje. To su topljivost i lipofilnost kompleksa, čvrstoća metal-halogen, odnosno acetat veze, mogućnost vezanja kompleksa vodikovim vezama uz nukleobaze DNK te sterički faktori. Relativno dobra topljivost i lipofilnost kompleksa jesu jedan od osnovnih uvjeta za aktivnost kompleksa. Ovdje su dane grube relacije topljivosti između kompleksa i one više manje odgovaraju odnosu njihove aktivnosti: diesteri > monoesteri; acetatni > bromidni > kloridni (diesteri); neutralni > ionski (diesteri); neutralni > ionski (monoesteri); adicijoni < ciklopaladirani. Nadalje, promatramo li utjecaj čvrstoće metal-halogen veze (ispitivana spektroskopskim i termičkim mjerenjima) na aktivnost kompleksa vidimo da labavija veza uvjetuje veću aktivnost kompleksa: diesteri < monoesteri; kloridni > bromidni; neutralni < ionski. Vodikovim vezama pospješuje se približavanje metalnog kompleksa k DNK i stabilizira se kompleks dobiven interakcijom s DNK (57,58). U stvaranju vodikovih veza mogu učestvovati P=O, P-OH,  $NH^+ H_2O$  skupine u kompleksima. Što se tiče steričkih faktora, oni se mogu povezati s topljivosti i lipofilnosti kompleksa. Više su izraženi kod diestera i bromidnih kompleksa. Potrebno je napomenuti da je u principu teško uspoređivati aktivnost kompleksa tako različitih strukturnih karakteristika, a može se pretpostaviti da postoje i razlike u mehanizmu njihova djelovanja.

## ZAKLJUČAK

Na osnovi rezultata dobivenih variranjem metalnog iona (platina/paladij) kinetički inertnog kinolilmetilfosfonatnog ligan-da (diester/monoester) te tumorske stanične linije (KB/L1210) dobivene su vrijedne informacije o odnosu između aktivnosti ispitivanih kompleksa o njihovoj strukturi i fizičko-kemijskim svojstvima. Međutim, za bolje razumijevanje tog odnosa trebalo bi ispitati i potencijalni mehanizam djelovanja kompleksa kao i provesti farmakološka ispitivanja. Niti jedan od preko četrdesetak opisanih kompleksa ne pokazuje aktivnost

u terapijski prihvatljivim granicama ( $IC_{50} < 1 \mu M$ ), međutim desetak kompleksa pokazuje visoku aktivnost ( $IC_{50}$  1-10  $\mu M$ ). Dobiveni rezultati mogu nam koristiti za buduća istraživanja pri dizajnu kompleksnih spojeva s potencijalno boljim svojstvima. Općenito, sva istraživanja odnosa aktivnosti kompleksa o njegovoj strukturi opisana u literaturi pokazuju da je taj odnos ekstremno složen i ovisi još o mnogo drugih faktora kao što su reakcije koje se zbivaju s kompleksom prije vezanja kompleksa na DNK, brzini i tipu reakcije vezanja kompleksa na DNK te otklanjanju metal/DNK adukta i reparaciji DNK. Svi ti faktori nadalje mogu biti bitno različiti za različite vrste tumora. Glavni cilj svih istraživanja u ovom području je dobiti spoj s dobrim toksikološkim i farmakološkim svojstvima.

Zahvala

Zahvaljujem Ministarstvu znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske na financijskoj potpori (projekt 098-0982915-2950).

## LITERATURA

1. Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, Mansour VH. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature*. 1969;222:385-6.
2. Lippert B, urednik. Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug. Zürich and Weinheim: VHCA and Wiley-VCH; 1999.
3. Peyrone M. Über die Einwirkung des Ammonia auf Platin chlor. *An Chem Pharm*. 1844;51:1-29.
4. Rosenberg B, VanCamp L, Krigas T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis from a platinum electrode. *Nature*. 1965;205:698-9.
5. Van Zutphen S, Reedijk J. Targeting platinum anti-tumour drugs: overview of strategies employed to reduce systemic toxicity. *Coord Chem Rev*. 2005;249:2845-53.
6. Desoize B, Madoulet C. Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2002;42:317-25.
7. O'Dwyer PJ, Stevenson P, Johnson SW. Clinical status of cisplatin, carboplatin, and other platinum-based antitumor drugs. U: Lippert B, urednik. Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug. Zürich and Weinheim: VHCA and Wiley-VCH; 1999. str. 31-72.
8. Marzano C, Bettio F, Baccichetti F, Trevisan A, Giovagnoli L, Fregona D. Antitumor activity of a new platinum(II) complex with low nephrotoxicity and genotoxicity. *Chem-Biol Interact*. 2004;148:37-48.
9. Ott I, Gust R. Preclinical and clinical studies on the use of platinum complexes for breast cancer treatment. *Anti-Cancer Agents Med Chem*. 2007;7:95-110.
10. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Rev Cancer*. 2007;7:573-84.
11. Jung Y, Lippard SJ. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chem Rev*. 2007;107:1387-407.
12. Reedijk J. Platinum anticancer coordination compounds: study of DNA binding inspires new drug design. *Eur J Inorg Chem*. 2009;1301-12.
13. Momekov G, Bakalova A, Karaivanova M. Novel approaches towards development of non-classical platinum-based antineoplastic agents: design of platinum complexes characterized by an alternative DNA-binding pattern and/or tumor-targeted cytotoxicity. *Curr Med Chem*. 2005;12:2177-91.
14. Dyson PJ, Sava G. Metal-based antitumour drugs in the post genomic era. *Dalton Trans*. 2006;1929-33.



15. Jakupec MA, Galanski M, Arion VB, Hartinger CG, Keppler BK. Antitumour metal compounds: more than theme and variations. *Dalton Trans.* 2008;183-94.
16. Natile G, Coluccia M. Current status of trans-platinum compounds in cancer therapy. *Coord Chem Rev.* 2001;216-217:383-410.
17. Aris SM, Farrell NP. Towards antitumor active trans-platinum compounds. *Eur J Inorg Chem.* 2009;1293-302.
18. Coluccia M, Nassi A, Bocarelli A, Giordano D, Cardellicchio N, Locker D, i sur. In vitro and in vivo antitumour activity and cellular pharmacological properties of new platinum-iminoether complexes with different configuration at the iminoether ligands. *J Inorg Biochem.* 1999;77:31-5.
19. Abrams MJ, Picker DH, Fackler PH, Lock CJL, Howard-Lock HE, Faggiani R, i sur. Synthesis and structure of bis[rhodamine 123] tetrachloroplatinate dihydrate: the first tetrachloroplatinate(II) salt with anticancer activity. *Inorg Chem.* 1986;25:3980-3.
20. Valentini A, Conforti F, Crispini A, De Martino A, Condello R, Stelliatano C, i sur. Synthesis, oxydant properties, and antitumoral effects of a heteroleptic palladium(II) complex of curcumin on human prostate cancer cells. *J Med Chem.* 2009;52:484-91.
21. Farrell N, Qu Y, Bierbach U, Valsecchi M, Menta E. Structure-activity relationships within di- and trinuclear platinum phase I clinical anticancer agents. U: Lippert B, urednik. *Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug.* Basel: Verlag-CH; 1999. str. 479-96.
22. Rubino S, Portanova P, Albanese A, Calvaruso G, Orecchio S, Fontana G, i sur. Mono- and polynuclear complexes of Pt(II) polypyridyl ligands. Synthesis, spectroscopic and structural characterization and cytotoxic activity. *J Inorg Biochem.* 2007;101:1473-82.
23. Sachinvala ND, Chen H, Niemczura WP, Furusawa E, Cramer RE, Rupp JJ, i sur. Synthesis, characterization, and anticancer activities of the 1st platinum complexes from sucrose. *J Med Chem.* 1993;36:1791-5.
24. Mikata Y, Yokoyama M, Mogami K, Kato M, Okura I, Chikira M, i sur. Intercalator-linked cisplatin: synthesis and antitumor activity of cis-dichloroplatinum(II) complexes connected to acridine and phenylquinolines by one methylene chain. *Inorg Chim Acta.* 1998;279:51-7.
25. Marqués-Gallego P, den Dulk H, Brouwer J, Kooijman H, Spek AL, Roubeau O, i sur. Synthesis, crystal structure, studies in solution and cytotoxicity of two new fluorescent platinum(II) compounds containing anthracene derivatives as a carrier ligand. *Inorg Chem.* 2008;47:11171-9.
26. Gibson D, Mansur N, Gean KF. Preparation, characterization, and antitumor properties of cis-PtCl<sub>2</sub> complexes linked to anthraquinones through position number-2. *J Inorg Biochem.* 1995;58:79-88.
27. Alessio E, Mestroni G, Bergamo A, Sava G. Ruthenium antimetastatic agents. *Curr Top Med Chem.* 2004;4:1525-35.
28. Vock CA, Ang WH, Scolaro C, Phillips AD, Lagopoulos L, Juillerat-Jeanneret L, i sur. Development of ruthenium antitumor drugs that overcome multidrug resistance mechanisms. *J Med Chem.* 2007;50:2166-75.
29. Reedijk J. Metal-ligand exchange kinetics in platinum and ruthenium complexes. Significance for effectiveness as anticancer drugs. *Platinum Metals Rev.* 2008;52:2-11.
30. Alama A, Tasso B, Novelli F, Sparatore F. Organometallic compounds in oncology: implications of novel organotin as antitumor agents. *Drug Discov Today.* 2009;14:500-8.
31. Casini A, Hartinger C, Gabbiani C, Mini E, Dyson PJ, Keppler BK, i sur. Gold(III) compounds as anticancer agents: relevance of gold-protein interactions for their mechanism of action. *J Inorg Biochem.* 2008;102:564-75.
32. Jakupec MA, Keppler BK. Gallium in cancer treatment. *Curr Top Med Chem.* 2004;4:1575-83.
33. Stepanenko IN, Krokhin AA, John RO, Roller A, Arion VB, Jakupec MA, i sur. Synthesis, structure, spectroscopic properties, and antiproliferative activity in vitro of novel osmium(III) complexes withazole heterocycles. *Inorg Chem.* 2008;47:7338-47.
34. Castan P, Colacioreddrodriguez E, Beauchamp AL, Cros S, Wimmer S. Platinum and palladium complexes of 3-methyl orotic-acid - a route toward palladium complexes with good antitumor-activity. *J Inorg Biochem.* 1990;38:225-39.
35. Hollis LS. U: Howell SB, urednik. *Platinum and other metal coordination compounds in cancer chemotherapy.* New York: Plenum Press; 1991. str. 115-25.
36. Tušek-Božić Lj, Matijašić I, Bocelli G, Calestani G, Furlani A, Scarcia V, i sur. Preparation, characterization and activity of palladium(II) halide complexes with diethyl 2-quinolylmethylphosphonate (2-dqmp). X-ray crystal structures of trans-[Pd(2-dqmp)<sub>2</sub>X<sub>2</sub>] (X=Cl, Br). *J Chem Soc Dalton Trans.* 1991;195-201.
37. Tušek-Božić Lj, Matijašić I, Bocelli G, Sgarabotto P, Furlani A, Scarcia V, i sur. Preparation, characterization and activity of palladium(II) halide complexes with diethyl 8-quinolylmethylphosphonate (8-dqmp). X-ray crystal structure of [8-dqmpH]<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]·2H<sub>2</sub>O and [8-dqmpH]<sub>2</sub>[Pd<sub>2</sub>Br<sub>6</sub>]. *Inorg Chim Acta.* 1991;185:229-37.
38. Higgins III JD, Neely L, Fricker S. Synthesis and cytotoxicity of some cyclometalated palladium complexes. *J Inorg Biochem.* 1993;49:149-56.
39. Ćurić M, Tušek-Božić Lj, Vikić-Topić D, Scarcia V, Furlani A, Balzarini J, i sur. Palladium(II) complexes of dialkyl  $\alpha$ -anilinobenzylphosphonates. Synthesis, characterization, and cytostatic activity. *J Inorg Biochem.* 1996;63:125-42.
40. Tušek-Božić Lj, Furlani A, Scarcia V, De Clercq E, Balzarini J. Spectroscopic and biological properties of palladium(II) complexes of ethyl 2-quinolylmethylphosphonate. *J Inorg Biochem.* 1998;72:201-10.
41. Budzisz E, Krajewska U, Rozalski M, Szulawska A, Czyz M, Nawrot B. Biological evaluation of novel Pt(II) and Pd(II) complexes with pyrazole-containing ligands. *Eur J Pharmacol.* 2004;502:59-65.
42. Kuduk-Jaworska J, Puszek A, Kibiak M, Pelczynska M. Synthesis, structural, physico-chemical and biological properties of new palladium(II) complexes with 2,6-dimethyl-4-nitropyridine. *J Inorg Biochem.* 2004;98:1447-56.
43. Tušek-Božić Lj, Cmrečki V, Balzarini J, De Clercq E. Cytotoxicity and antiviral activity of palladium(II) quinolylmethylphosphonate complexes. Synthesis of acetate complexes. *Lett Drug Des Discov.* 2006;3:528-33.
44. Kovala-Demertzi D, Bocarelli A, Demertzis MA, Coluccia M. In vitro antitumor activity of 2-acetyl pyridine 4N-ethyl thiosemicarbazone and its platinum(II) and palladium(II) complexes. *Chemotherapy.* 2007;53:148-52.
45. Caires ACF. Recent advances involving palladium(II) complexes for the cancer therapy. *Anti-Cancer Agents Med Chem.* 2007;7:484-91.
46. Kafarski P, Lejczak B. Aminophosphonic acids of potential medicinal importance. *Curr Med Chem Anti-Cancer Agents.* 2001;1:301-12.
47. Kraicheva I, Bogomilova A, Tsacheva I, Momekov G, Troev K. Synthesis, NMR characterization and in vitro antitumor evaluation of new aminophosphonic acid diesters. *Eur J Med Chem.* 2009;44:3363-7.
48. Klenner T, Valenzuela-Paz P, Amelung F, Münch H, Zahn H, Keppler BK, Blum H. Platinum phosphonate complexes with particular activity against bone malignancies. An evaluation of an experimental model highly predictive for the clinical situation. U: Keppler BK, urednik. *Metal complexes in cancer chemotherapy.* Weinheim: VCH; 1993. str. 85-127.
49. Bloemink MJ, Dorenbos JP, Heeterbij RJ, Keppler BK, Reedijk J, Zahn H. New antitumor platinum compounds linked to amino phosphonic-acids which lose the phosphonate and tertiary amine ligand upon binding to nucleic-acids. *Inorg Chem.* 1994;33:1127-32.

50. Bloemink MJ, Diederer JH, Dorenbos JP, Heeterbij RJ, Keppler BK, Reedijk J. Calcium ions do accelerate the DNA binding of new antitumor-active platinum aminophosphonate complexes. *Eur J Inorg Chem.* 1999;10:1655-7.
51. Tušek-Božić Lj, Frausin F, Scarcia V, Furlani A. Synthesis, characterization and antitumor activity of platinum(II) complexes with diethyl and monoethyl 2-quinolylmethylphosphonate. *J Inorg Biochem.* 2003;95:259-69.
52. Aranowska K, Graczyk J, Chęcinska L, Pakulska W, Ochocki J. Antitumor effect of Pt(II) amine phosphonate complexes on sarcoma Sa-180 in mice. Crystal structure of cis-dichlorobis(diethyl-4-pyridylmethyl-phosphonate-kappa N)platinum(II) hydrate, cis-[PtCl<sub>2</sub>(4-pmpe)(2)] center dot H<sub>2</sub>O. *Pharmazie.* 2006;61:457-60.
53. Tušek-Božić Lj, Juribašić M, Scarcia V, Furlani A. Platinum(II) complexes of 8-quinolylmethylphosphonates: synthesis, characterization and cytotoxicity. *Polyhedron.* 2010;29:2527-36.
54. Tušek-Božić Lj, Ćurić M, Balzarini J, De Clercq E. Biological activity of some dialkyl  $\alpha$ -anilinobenzylphosphonates and their palladium(II) complexes. *Nucleosides Nucleotides.* 1995;14:777-81.
55. Tušek-Božić Lj, Komac M, Ćurić M, Lyčka A, D'Alpaos M, Scarcia V, i sur. Five-membered [C,N] and [N,O] metallocyclic complexes of palladium(II) with monoalkyl [ $\alpha$ -(4-benzeneazoanilino)-N-benyl] phosphonates: synthesis, characterization and antitumour activity. *Polyhedron.* 2000;19:937-48.
56. Tušek-Božić Lj, Juribašić M, Traldi P, Scarcia V, Furlani A. Synthesis, characterization and antitumor activity of palladium(II) complexes of monoethyl 8-quinolylmethylphosphonate. *Polyhedron* 2008;27:1317-28.
57. Reedijk J. The relevance of hydrogen bonding in the mechanism of action of platinum antitumor compounds. *Inorg Chim Acta.* 1992;198-200:873-81.
58. Scolaro C, Geldbach TJ, Rochat S, Dorcier A, Gossens C, Bergamo A, i sur. Influence of hydrogen-bonding substituents on the cytotoxicity of RAPTA compounds. *Organometallics.* 2006;25:756-65.

## ANTITUMOR ACTIVITY OF PLATINUM(II) AND PALLADIUM(II) COMPLEXES WITH ETHYL QUINOLYLMETHYLPHOSPHONATES

Ljerka Tušek-Božić

Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska

Corresponding author: Ljerka Tušek-Božić, Institut Ruđer Bošković, Zavod za Fizičku kemiju  
Bijenička c. 54, 10000 Zagreb

Tel.: 01-4571217; fax: +01-4680245 / E-mail: tusek@irb.hr

Review

### ABSTRACT

After the discovery of antitumor activity of cisplatin and its analogues, as well as their successful medical application in the treatment of a variety of tumors, there is a continuing interest in development of new platinum- or other metal-based drugs with improved antitumor activity and less pronounced side effects. Our specific interest in this field is focused on platinum and palladium complexes with derivatives of aminophosphonic acids.

The purpose of this review is to describe the platinum (II) and palladium(II) complexes of diethyl and monoethyl 2- and 8-quinolylmethylphosphonates and the results obtained by evaluation for their ability to inhibit the cancer growth in vitro in the epidermoid human carcinoma (KB) and murine leukemia (L1210) cell lines. Some complexes have shown high cell growth inhibitory effects. Relation between the activity of complexes and their physico-chemical and structural properties has been discussed.

**Key words:** Platinum complexes; Palladium complexes; Quinolylmethylphosphonate complexes; Antitumor activity

### Acknowledgement

This research has been supported by the Ministry of Science, Education and Sports of the Republic of Croatia (Project no. 098-0982915-2950)