

# Metallkomplexe mit N-heterocyclischen Carbenliganden: Entwicklungsmöglichkeiten für metallhaltige Krebsmedikamente

Federico Cisnetti und Arnaud Gautier\*

DNA · Krebsmedikamente · N-heterocyclische Carbene · Proteine · Wirkstoffentwicklung

Weil schwerwiegende Nebenwirkungen und Resistenzen ihre klinische Anwendung einschränken, besteht der dringende Bedarf, die in der Krebstherapie weit verbreiteten platinhaltigen Medikamente zu ersetzen. Außerdem sind platinhaltige Wirkstoffe nicht gegen alle Arten von Krebszellen wirksam. Ihre Zielstruktur, DNA, ist überall in allen Zellarten vorhanden, einschließlich gesunden Zellen, was zu einer systemischen Toxizität führt. Um diese Nachteile zu umgehen, wurde vorgeschlagen, nach neuen Metallkomplexen zu forschen, die auf Mitochondrien wirken, und ihre pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften zu untersuchen.<sup>[1a]</sup> Dabei zeigten Metallkomplexe (insbesondere Goldkomplexe) von N-heterocyclischen Carbenen (NHC) kürzlich sehr vielversprechende Ergebnisse. Die Vorteile des Einsatzes von Au-NHCs (und entsprechenden Komplexe anderer Übergangsmetalle) als Wirkstoffe begründen sich mit der Eigenschaft des Liganden, das Metallzentrum zu stabilisieren (besonders Au<sup>I</sup> gegen Disproportionierung), mit der starken Metall-Kohlenstoff-Bindung (im Vergleich zu Metall-Phosphan-Komplexen wie Aurano-fin) und mit der großen Strukturvielfalt, die durch (relativ) einfache Synthesewege zugänglich ist. Daher können sie im breiten Spektrum der biologischen Zielstrukturen möglicherweise Wirkung zeigen.<sup>[1b,c]</sup> Deshalb stellt die Entwicklung von Metall-NHCs, die auf Mitochondrien wirken (Abbildung 1), eine neue Forschungsrichtung dar, die alternative Therapiemöglichkeiten gegen Krebs aufzeigen könnte.<sup>[2]</sup>

Die zentrale Rolle der Mitochondrien als Regulatoren der Apoptose (des programmierten Zelltods) ist mittlerweile anerkannt, und daher überrascht es nicht, dass sie bei der Suche nach neuen Ansätzen zur Krebs-Chemotherapie oftmals als Ziel ausgewählt werden. In der Tat laufen in diesen Organellen etliche proapoptotische Signale zusammen, um eine Permeabilisierung der äußeren Mitochondrienmembran (MOMP) zu bewirken. Diese verläuft tödlich wegen der Aktivierung von Caspase-Kaskaden und/oder der Freisetzung von Caspase-unabhängigen Todes-Effektoren wie des Apo-

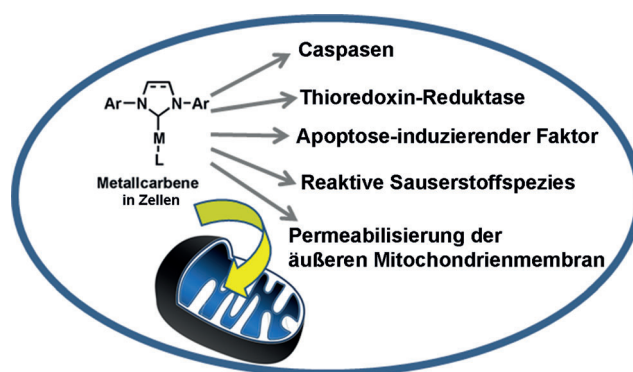
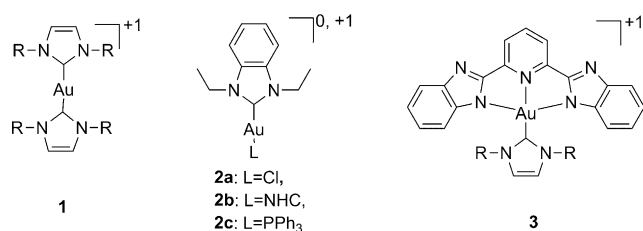


Abbildung 1. Angriffspunkte für Metall-NHCs: Mitochondrien und Proteine.

ptose-induzierender Faktors (AIF). Skulachev-Kationen,<sup>[3a]</sup> die auch als delokalisierte lipophile Kationen (DLCs) bekannt sind, dringen aufgrund ihres stark negativen Membranpotentials ( $\Delta\psi_m$ ) in die Mitochondrien ein. Zuerst wurden Triphenylalkylphosphonium-Kationen als „elektrische Lokomotiven“ eingesetzt, um einen angehängten Pharmakophor (Antioxidans) in Mitochondrien einzuschleusen.<sup>[3b]</sup> Das Konzept von DLCs wurde durch den Gebrauch der kationischen Gold(I)-Phosphan-Komplexe  $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$  oder  $[\text{Au}(\text{d2pypp})_2]\text{Cl}$ , und neulich durch homoleptische Au<sup>I</sup>-NHC-Komplexe, auf das Gebiet der Krebstherapie ausgeweitet. Es wurde nachgewiesen, dass Au<sup>I</sup>-NHCs die Produktion der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) innerhalb der Mitochondrien steigern, was letztlich zum Zelltod führt. In diesen Fällen stellt der Carbenligand die lipophile Hilfskomponente dar, die präzise angepasst werden kann; und das Metall gilt als reaktives Zentrum, das mit Proteinen wechselwirkt, und zwar mit denen, die Cysteine oder Selenocysteine beinhalten. Berners-Price und Mitarbeiter haben nachgewiesen, dass eine Reihe von Au<sup>I</sup>-NHCs (**1**; Schema 1) aufgrund ihrer Lipophilie ein Anschwellen der Mitochondrien bewirkt und die Selenoenzym-Thioredoxin-Reduktase (TrxR) hemmt, ein Enzym, das in mehreren menschlichen Karzinomen überexprimiert wird.<sup>[4a]</sup> Vor allem spielt die TrxR eine Hauptrolle bei der Regulierung des zellulären Redoxzustands, und ihre Inhibierung verursacht die Überprodukti-

[\*] Dr. F. Cisnetti, Dr. A. Gautier  
Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, UMR CNRS 6296  
Université Blaise Pascal  
BP 10448, 63000 Clermont-Ferrand (Frankreich)  
E-Mail: arnaud.gautier@univ-bpclermont.fr



**Schema 1.** Gold-NHCs, die Mitochondrien angreifen und TrxR inhibieren.

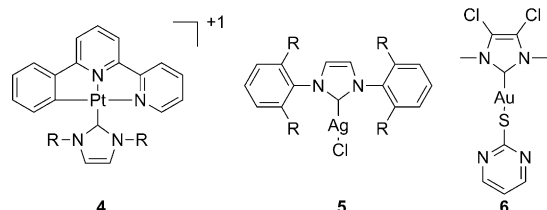
on von ROS. Beide Vorgänge entstehen durch MOMP und enden mit der Freisetzung von Cytochrom C, was die Caspasen-Kaskade auslöst und schließlich zu DNA-Fragmentierung führt. In lebenden Zellen wird die Selektivität bezüglich TrxR dadurch nachgewiesen, dass diese vorrangig gehemmt wird, gegenüber der Glutathion-Reduktase (GR), einem eng verwandten Enzym, das keine Selenocysteine enthält. Für Substanz **2** wurde die effektive Aufnahme von Gold in die Mitochondrien in MCF-7-Zellen untersucht und sie zeigt einen Anstieg des Goldgehalts in der Größenordnung  $2\mathbf{a} < 2\mathbf{b} \ll 2\mathbf{c}$ , was deren Ladung und deren Lipophilie widerspiegelt.<sup>[4b,c]</sup>

Der Nachweis der Lokalisierung in den Mitochondrien wurde kürzlich von Che und Mitarbeitern erhalten, indem sie die Prolumineszenz des DLC-Gold(III)-Komplexes **3** nutzten.<sup>[5]</sup> Die starke Emission von 2,6-Bis(benzimidazol-2-yl)pyridin ( $\text{H}_2\text{BPB}$ ) wird als Ligand durch das  $\text{Au}^{\text{III}}$ -Zentrum gelöscht, aber sie wird nach der Freisetzung von  $\text{H}_2\text{BPB}$  als Folge der Reduktion zu  $\text{Au}^{\text{I}}$  durch Glutathion (GSH) induziert. Daher wurde bereits wenige Minuten nach der Behandlung von HeLa-Zellen eine blaue Fluoreszenz detektiert, die in den Mitochondrien lokalisiert war. Dieser Prozess erinnert an das, was für  $\text{Pt}^{\text{IV}}$ -Wirkstoffvorstufen beobachtet wird, die eine Zwei-Elektronen-Reduktion durch GSH in die aktiven Wirkstoffe umwandelt. Wenn erst eine Reduktion stattgefunden hat, erfolgt die Hemmung von TrxR in HeLa-Zellen durch weitere Aktivierung der apoptotischen Caspasen 3, 7, 9 sowie PARP (was auf einen direkten oder indirekten DNA-Strangbruch hinweist). Das Auftreten von antimitchondrialen Effekten ist nicht nur mit kationischen  $\text{Au}^{\text{III}}$ -NHCs verbunden. In HeLa-Zellen wird eine 300-fach erhöhte Zytotoxizität (verglichen mit Cisplatin) für den photolumineszierenden kationischen  $\text{Pt}^{\text{II}}$ -NHC-Komplex **4** beobachtet, der mit Mitotracker kolokalisiert (Schema 2).<sup>[6]</sup> Diese erstaunlich hohe Aktivität ist der Hemmung von Survivin zuzuschreiben, einem Apoptose-Inhibitor, der in den meisten Tumoren stark exprimiert wird und der mit der

Chemotherapie-Resistenz in Verbindung gebracht wird. Neueste Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Aktivität von Metall-NHCs nicht nur von der Gegenwart einer positiven Ladung abhängt. Tatsächlich wurde gezeigt, dass heteroleptische  $\text{Ag}^{\text{I}}$ -NHCs stark zytotoxisch wirken können,<sup>[1b,c]</sup> und es wurde nachgewiesen, dass proapoptotische  $\text{Ag}^{\text{I}}$ -NHCs (**5**), die an Mitochondrien lokalisieren, zu einer Depolarisierung der Membran und einer starken ROS-Produktion führen.<sup>[7a]</sup> Interessanterweise bewirkt Silber durch Translokation von AIF und Caspase 12 den Tod von Krebszellen unabhängig von der klassischen Caspase-Kaskade. Daher bleiben hier die exakten zellulären Zielstrukturen (Proteine) noch zu bestimmen. Eine Studie deutet aber darauf hin, dass  $\text{Ag}^{\text{I}}$ -NHCs eine stärkere TrxR-Inhibition als Gold verursachen.<sup>[7b]</sup> Auch der neutrale  $\text{Au}^{\text{I}}$ -NHC-Komplex **2a** führt zum Zelltod, indem er auf Mitochondrien mit ROS-Produktion wirkt und TrxR hemmt; gleiches gilt für den Neutralkomplex **6**, einen effektiven und selektiven Inhibitor von TrxR1 und 2 (TrxR1 > TrxR2), die jeweils im Cytosol und in den Mitochondrien lokalisiert sind.<sup>[7c]</sup> Daher weisen neueste Studien darauf hin, dass die Krebshemmung von einem Metall-NHC nicht auf kationische Strukturen beschränkt ist.

Die Effizienz einiger Metall-NHCs wurde durch In-vivo-Tests bestätigt. Obwohl sie unvollständig sind, ermöglichen diese wichtigen Studien eine vorläufige Einschätzung der Möglichkeiten von Metall-NHCs bei der Krebstherapie.  $\text{Au}^{\text{I}}$ -NHC **3**, der in Nacktmäusen ( $10 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Woche}^{-1}$ ) mit Leberzellkarzinom (PLC) getestet wurde, führt zu einer signifikanten 47%igen Unterdrückung des Tumorwachstums.<sup>[5]</sup> Ein Silberkomplex wies bei hohen Konzentrationen ( $> 300 \text{ mg kg}^{-1}$ ) keine toxischen Effekte in wichtigen Organen auf, und bei Mäusen mit OVCAR-3-Fremdimplantaten wurde das Absterben von Krebszellen beobachtet.<sup>[8]</sup> Wenn  $\text{Pt}^{\text{II}}$ -NHC **4** ( $\text{R} = \text{Bu}$ ) in einer Konzentration von  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  in Nacktmäuse injiziert wird, hemmt er das Tumorwachstum von Nichtkleinzelligem Bronchialkarzinom (NCI-H460) signifikant um 55 %, ohne dass Nebenwirkungen bei gesundem Gewebe festgestellt werden konnten.<sup>[6]</sup>

Diese neuen Untersuchungen belegen, dass Metall-NHCs durch die Hemmung von TrxR und anderen Proteinen die Mitochondrien beeinträchtigen. Die Möglichkeit, neue Azoliumvorstufen und unterschiedliche Metalle einzusetzen, sollte interessante Perspektiven zur schnellen und selektiven Entwicklung von Bibliotheken mit hoher molekularer Vielfalt und Komplexität bieten. Diese könnten durch Prä-<sup>[9a]</sup> oder Post-Funktionalisierung<sup>[9b-c]</sup> oder durch Auto-Funktionalisierung von azidhaltigen  $\text{Cu}^{\text{I}}$ -NHCs<sup>[9f]</sup> erhalten werden, wodurch eine Grundlage für die Entwicklung von metallbasierten Wirkstoffen im Zusammenhang mit neuen biologischen Zielstrukturen geschaffen wird.



**Schema 2.** Metall-NHCs und ihre Wirkung auf Survivin, TrxR und AIF.

Eingegangen am 31. Juli 2013  
Online veröffentlicht am 2. Oktober 2013

- [1] a) C. G. Hartinger, N. Metzler-Nolte, P. J. Dyson, *Organometallics* **2012**, *31*, 5677–5685; b) A. Gautier, F. Cisnetti, *Metallomics* **2012**, *4*, 23–32; c) L. Oehninger, R. Rubbiani, I. Ott, *Dalton Trans.* **2013**, 42, 3269–3284; d) I. Romero-Canelón, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* **2013**, DOI: 10.1021/ic400835n.

- [2] S. J. Berners-Price, A. Filipovska, *Metallomics* **2011**, 3, 863–873.
- [3] a) E. A. Liberman, V. P. Topaly, L. M. Tsofina, A. A. Jasaitis, V. P. Skulachev, *Nature* **1969**, 222, 1076–1078; b) S. Chalmers, S. T. Caldwell, C. Quin, T. A. Prime, A. M. James, A. G. Cairns, M. P. Murphy, J. G. McCarron, R. C. Hartley, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 758–761.
- [4] a) J. L. Hickey, R. A. Ruhayel, P. J. Barnard, M. V. Baker, S. J. Berners-Price, A. Filipovska, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 12570–12571; b) R. Rubbiani, I. Kitanovic, H. Alborzinia, S. Can, A. Kitanovic, L. A. Onambele, M. Stefanopoulou, Y. Geldmacher, W. S. Sheldrick, G. Wolber, A. Prokop, S. Wölfl, I. Ott, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 8608–8618; c) R. Rubbiani, S. Can, I. Kitanovic, H. Alborzinia, M. Stefanopoulou, M. Kokoschka, S. Mönchgesang, W. S. Sheldrick, S. Wölfl, I. Ott, *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 8646–8657.
- [5] T. Zou, C. T. Lum, S.-Y. Chui, C.-M. Che, *Angew. Chem.* **2013**, 125, 3002–3005; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 2930–2933.
- [6] R. Wai-Yin Sun, A. Lok-Fung Chow, X.-H. Li, J. J. Yan, S. Sin-Yin Chui, C.-M. Che, *Chem. Sci.* **2011**, 2, 728–736.
- [7] a) L. Eloy, A.-S. Jarrousse, M.-L. Teyssot, A. Gautier, L. Morel, C. Jolival, T. Cresteil, S. Roland, *ChemMedChem* **2012**, 7, 805–814; b) A. Citta, E. Schuh, F. Mohr, A. Folda, M. L. Massimino, A. Bindoli, A. Casini, M. Pia Rigobello, *Metallomics* **2013**, 5, 1006–1015; c) E. Schuh, C. Pflüger, A. Citta, A. Folda, M. P. Rigobello, A. Bindoli, A. Casini, F. Mohr, *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 5518–5528.
- [8] D. A. Medvetz, K. M. Hindi, M. J. Panzner, A. J. Ditto, Y. H. Yun, W. J. Youngs, *Metal-Based Drugs* **2008**, 384010.
- [9] a) M. Chtchigrovsky, L. Eloy, H. Jullien, L. Saker, E. Ségal-Bendirdjian, J. Poupon, S. Bombard, T. Cresteil, P. Retailleau, A. Marinetti, *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 2074–2086; b) J. Weaver, S. Gaillard, C. Toye, S. Macpherson, S. P. Nolan, A. Riches, *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 6620–6624; c) E. Chardon, G.-L. Puleo, G. Dahm, G. Guichard, S. Bellemin-Laponnaz, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 5864–5866; d) E. Chardon, G.-L. Puleo, G. Dahm, S. Fournel, G. Guichard, S. Bellemin-Laponnaz, *ChemPlusChem* **2012**, 77, 1028–1038; e) S. D. Köster, H. Alborzinia, S. Can, I. Kitanovic, S. Wölfl, R. Rubbiani, I. Ott, P. Riesterer, A. Prokop, K. Merz, N. Metzler-Nolte, *Chem. Sci.* **2012**, 3, 2062–2072; f) C. Gibard, D. Avignant, F. Cisnetti, A. Gautier, *Organometallics* **2012**, 31, 7902–7908.