

Razvoj, raziskave in uporaba spojin s kovinami v medicinske namene

Iztok Turel

Kovine in njihove spojine so se od nekdaj uporabljale v medicinske namene. Že starodavni Mezopotamci, Indijci, Kitajci in Egipčani so v naravi našli številne minerale, kristale in samorodne kovine ter začeli preizkušati njihove lastnosti. Nekateri najzgodnejši dokumentirani primeri segajo v leto 3.000 pred našim štetjem, ko so stari Egipčani uporabljali na primer bakrov sulfat za sterilizacijo vode, natron (mešanico natrijevih spojin) kot antiseptik in antimonove spojine za zdravljenje okužb s paraziti. *Ebersov papirus* iz leta 1.500 pred našim štetjem je prvo pisno poročilo o uporabi kovin (bakra) za zdravljenje bolezni. Kitajci so že pred 2.000 leti uporabljali razne zmesi, nekatere so vsebovale celo do petintrideset različnih elementov! Številne kovine in metaloidi (polkovine) so bili kasneje uporabljeni v medicinske (in druge podobne) namene. Uporabljati so jih začeli na podlagi neznanstvenih poskusov in včasih se je kasneje pokazalo, da so bili nekateri uporabljeni kovinski pripravki močno strupeni in neprimerni za medicinsko uporabo. Znani primer je elementarno živo srebro (pa tudi spojine živega srebra), za katerega so včasih verjeli, da ima zdravilno moč.

Čin Ši Huang (Qin Shi Huang; 259-210 pred našim štetjem) je bil prvi kitajski cesar združene Kitajske. Ena od podmen o vzroku njegove smrti je tudi zastrupitev z živim srebrom. V želji po večnem življenju so mu njegovi zdravniki predpisovali tudi eliksirje, ki naj bi vsebovali živo srebro. Danes se nam zdi to čudno in seveda na ta element gledamo povsem drugače. Kljub njegovi strupenosti so se živo srebro in njegove spojine tudi precej kasneje precej uporabljali tudi v medicini (kot diuretiki, protiglivična sredstva, konzervansi v cepivih in drugo). Ne pozabimo tudi na »nepogrešljive« zobne zalivke iz amalgama. Uporaba živega srebra je danes marsikje močno omejena, če že ne popolnoma prepovedana.

Dejstvo je, da je učinek snovi močno odvisen od količine, kar je ugotovil že švicarski zdravnik, alkimist in filozof Paracelsus (1493-1541). Trdil je, da je vsaka snov lahko strup ali pa zdravilo, učinek je odvisen od količine. Vsekakor se pogled človeka tudi na uporabo snovi za zdravljenje polagoma spreminja. Tako se nam uporaba nekaterih snovi danes zdi kar neverjetna, včasih pa se je zdela smiselna in nenevarna. Po odkritju

radioaktivnosti so recimo nekateri verjeli, da so majhne zaužite doze radioaktivnih snovi dobre za zdravje. Komercialni izdelek *Radium* je vseboval radioaktivni radij v destilirani vodi. K sreči je bil napitek drag, saj je bil nedvomno škodljiv.

Taki in drugačni primeri so povzročili razvoj in krepitev nacionalnih agencij, ki bdijo nad hrano in zdravili (recimo ameriška Uprava za hrano in zdravila, Food and Drug Administration, FDA). To je gotovo smiselno, saj so posledice uporabe nepreverjenih snovi lahko izjemno hude. Pogoji za uvedbo zdravila so tako strogi, da traja razvoj zdravila zelo dolgo, celotni postopek pa je tudi izjemno drag. Groba ocena, ki je pred časom veljala, je bila, da je od nastanka zdravila do njegove uporabe minilo okrog deset let, celotni razvoj zdravila pa stane približno milijardo evrov. V mnogih primerih so takšne številke v zadnjem času še bistveno višje.

Nekateri primeri kovinskih spojin, ki se uporabljajo v klinični rabi

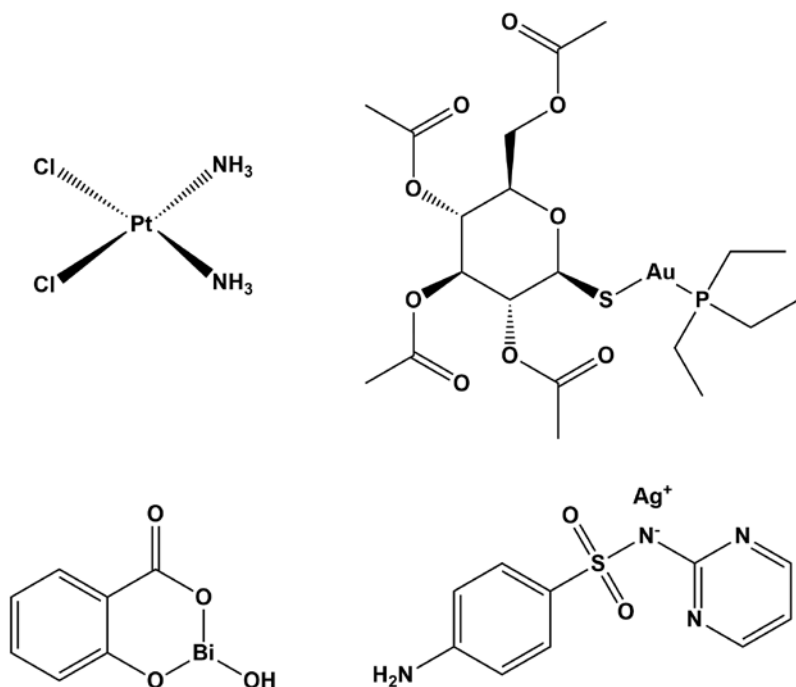
Zdravila, ki jih danes uporabljamo v praksi, so večinoma organske spojine. Vendar pa vseeno obstaja kar nekaj zdravil, ki vsebuje-

jo kovinske ione. Tovrstne spojine pa precej uporabljajo tudi pri ugotavljanju in določanju bolezni, v dodatkih v prehrani in drugod. Dejstvo je, da kovine predstavljajo pretežni del periodnega sistema in da kovinske spojine kažejo raznolike koristne lastnosti, zato so možnosti za njihovo uporabo tudi v prihodnje velike. V nadaljevanju bom na kratko opisal nekatere uspešne primere kovinskih spojin, ki so v klinični uporabi (slika 1).

Spojino *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] (cisplatin) je prvi pripravil in opisal italijanski kemik Michele Peyrone že leta 1845. Šele precej kasneje, leta 1965, je Barnett Rosenberg s sodelavci odkril izjemne biološke lastnosti te spojine. Lahko bi nekako rekli, da je bila ta spojina speča Trnuljčica. Dolgo časa je spala in potreben je bil sposoben znanstvenik, da jo je zbudil. Zgodba o tem je tudi sicer zelo zanimiva in jasno kaže, da v znanosti nikoli vnaprej natančno ne vemo, kaj bomo odkrili, oziroma da pogosto odkrijemo nekaj popolnoma drugega, kot

smo nameravali. Rosenberg je želel preučiti, kako vpliva električni tok na rast celic. Pri poskusih je opazil, da nekaj zavira običajno delitev in rast bakterij (*E. coli*) in da se te razvijejo v neobičajne »špagetaste« oblike (Rosenberg, VanCamp, Krigas, 1965). Kmalu je pravilno ugotovil, da je med elektrolizo platinskih elektrod, ki jih je uporabil pri poskusu, v rahlo amoniakalnem mediju nastal kompleks platine - cisplatin, ki je povzročal nenavadno obnašanje bakterij. V nadaljnjih poskusih so ugotovili, da ta spojina zelo učinkovito zmanjša velikost sarkomov pri podganah, in že leta 1978 je ameriška Uprava za hrano in zdravila odobrila uporabo cisplatina pri zdravljenju raka testisov in jajčnikov. Čeprav je cisplatin daleč od idealnega zdravila, ga še danes zelo uspešno in pogosto uporabljajo pri zdravljenju nekaterih vrst raka.

Avranofin je kovinski kompleks, ki vsebuje zlato. Že več desetletij ga uporabljajo kot zdravilo proti revmatoidnem artritisu (Kean, Hart, Buchanan, 1997), vendar v zadnjem



Slika 1: Nekaterе kovinske spojine, ki so v klinični uporabi (cisplatin, avranofin, bizmutov subsalicilat in srebrev sulfadiazin).

času manj, saj se pri dolgotrajnem zdravljenju te kronične bolezni pojavijo neželeni stranski učinki. Zanimivo pa je, da v zadnjih letih to spojino precej raziskujejo tudi kot možno zdravilo za zdravljenje različnih drugih bolezni (določenih vrst raka, celo covid-19, ...). Uporaba starih zdravil pri novih načinih zdravljenja (angleško *drug repositioning*, tudi *drug repurposing*) je sicer danes precej aktualna.

Različne bizmutove spojine so za zdravljenje raznih bolezni, predvsem različnih prebavnih težav, uporabljali že od osemnajstega stoletja naprej. Med bolj poznanimi spojinami bizmuta, ki jih uporabljajo še danes, je bizmutov subsalicilat. Pogosta težava pri bizmutovih spojinah je določitev natančne formule, saj spojine zelo rade hidrolizirajo in so strukture zelo kompleksne. Formule se zato pogosto napišejo kar v poenostavljeni ali domnevni obliki, kot je prikazano na primeru na sliki 1. Tako so tudi natančno kristalno strukturo bizmutovega subsalicilata določili šele pred kratkim (Svensson Grape, Rooth, Nero, Willhammar, Inge, 2022). Pomembna je tudi uporaba bizmutovih spojin pri zdravljenju okužb z bakterijo *Helicobacter pylori*, nekatere spojine pa so učinkovite tudi proti virusu *SARS-CoV-2*.

Obstaja vrsta tako imenovanih zapostavljenih bolezni, ki jim namenjamo mnogo manj pozornosti in tudi denarja za uspešen razvoj zdravil. Terjajo visok davek, predvsem v manj razvitih državah. Ena od takih bolezni je lišmanioza (tudi leishmanioza). Povzročajo jo bičkarji, ki jih prenašajo predvsem peščene muhe. Lišmanioza je druga najpogostejša parazitska bolezen (za malarijo), za njo na leto umre od dvajset do trideset tisoč ljudi. Idealnih zdravil za to bolezen ni, precej pa uporabljajo razne antimonove spojine, kot na primer natrijev stibogluconat (Frézard, Demicheli, Ribeiro, 2009).

Zelo dolgo je že poznan tudi protimikrobni učinek srebrovih spojin. Še danes nekatere spojine, na primer srebrov sulfadiazin, uporabljajo pri preprečevanju okužb, predvsem

pri opeklinah (Heyneman, Hoeksema, Vandekerckhove, Pirayesh, Monstrey, 2016). Je pa danes uporaba takšnih spojin manjša kot v preteklosti, predvsem zaradi nekaterih stranskih učinkov. Srebro zaradi protimikrobne učinkovitosti sicer dodajajo tudi v nekatere povoje, katetre in druge medicinske inštrumente.

Nekaj primerov raziskav iz naših laboratorijev

Zaradi dolgotrajnosti in visoke cene razvoja je precej popularno odkrivanje zdravljenja novih bolezni z že znanimi zdravili. Med bolj poznanimi primeri je gotovo aspirin. Že od devetnajstega stoletja naprej ga uporabljajo predvsem kot sredstvo za blaženje bolečin in za zniževanje telesne temperature, mnogo kasneje pa so ugotovili, da v določeni meri preprečuje tudi nastanek krvnih strdkov. Zato se v majhnih odmerkih uporablja tudi za preprečevanje srčnega infarkta in možganske kapi.

Druga možna uporaba znanih zdravil pa je pretvorba v drugačno obliko. To je tudi ena od pomembnih raziskovalnih strategij našega laboratorija. Veliko se ukvarjamo z vezavo zdravil, ki so v klinični uporabi, na različne kovinske ione. Pri tem dobimo tako imenovane koordinacijske spojine (imenovane tudi kovinski kompleksi). Nove spojine natančno opredelimo z različnimi fizikalno-kemijskimi metodami, v sodelovanju z drugimi raziskovalnimi skupinami pa raziščemo še njihove biološke lastnosti. Predvsem nas zanima, če je pri nastanku spojine prišlo do sinergijskega učinka. Pogosto namreč lahko kombinacija sestavnih delov, ki imajo neko (biološko ali drugo) lastnost, izraža takšno lastnost še močnejše. V nadaljevanju bom za lažjo predstavbo nekoliko podrobneje predstavil nekaj tovrstnih sistemov.

Razni substituirani kinoloni so sintetične protibakterijske učinkovine, ki jih veliko uporabljajo pri zdravljenju različnih bakterijskih okužb (slika 2). Znane so že štiri

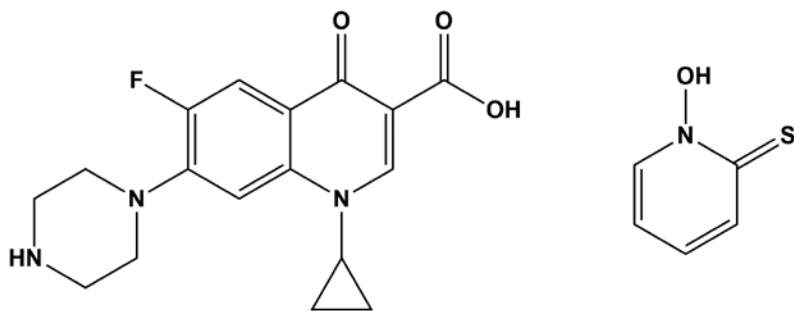
generacije tovrstnih spojin. Že od uvedbe v klinično uporabo (nekaj po letu 1960) so vedeli, da kinoloni reagirajo s kovinskimi ioni, kar je zmanjševalo njihovo učinkovitost. Zato je odsvetovana hkratna uporaba kinolonov in raznih pripravkov, ki vsebujejo kovinske ione (recimo železo). Na drugi strani pa so odkrili, da so magnezijevi ioni (v telesu imamo okrog 25 gramov magnezija) nujno potrebni za delovanje kinolonov. Torej lahko rečemo, da ima medsebojno vplivanje med kovinami in kinoloni dva obraza - pozitivnega in negativnega. Tudi zato je bilo zaželeno, da se takšni sistemi natančno raziščejo.

V naših laboratorijih smo pripravili večje število kovinskih kompleksov kinolonov z zelo različnimi kovinskimi ioni (magnezijevimi, bakrovimi, vanadijevimi, borovimi, evropijevimi, rutenijevimi ...). V začetku smo se veliko ukvarjali s pripravo magnezijevih kompleksov, ki so se pokazali za zelo težavne. Spojine so slabo topne, nastajajo zelo kompleksne zmesi, ki jih je težko analizirati. Vseeno smo uspeli pripraviti nekaj spojin in jim tudi določiti strukturo v trdnem stanju. Te rezultate smo objavili v mednarodnih znanstvenih revijah (Turel, 2002; Drevenšek, Košmrlj, Giester, Skauge, Sletten, Sepčič, Turel, 2006) in kasneje z zadovoljstvom ugotovili, da so naše ugotovitve s pridom uporabili drugi raziskovalci, ki so se ukvarjali z razlagami mehanizma delovanja teh spojin (Wohlkonig, Chan,

Fosberry, Homes, Huang, Kranz, Leydon, Miles, Pearson, Perera, Shillings, Gwynn, Bax, 2010). Struktura magnezijevih kompleksov s kinoloni je bila pomembna informacija pri razlagi povezave kinolona, encima in DNA. Znanost je pogosto podobna sestavljanju (»puzzle«), kjer več posameznih raziskav pomaga sestaviti večjo sliko.

Omenil bi še naše raziskave rutenijevih spojin s kinoloni. Razne rutenijeve spojine so v zadnjih desetletjih zelo priljubljene, predvsem zaradi svojih citotoksičnih lastnosti. To pa je predvsem zanimivo pri razvoju novih protirakavih spojin. Pripravili smo vrsto rutenijevih spojin s kinoloni in si predvsem prizadevali poiskati povezavo med strukturo in učinkovitostjo spojin (*structure activity relationship*). Rutenijeve spojine so bile v nasprotju z drugimi kovinskimi spojinami kinolonov tudi dobro topne, kar je zelo zaželena lastnost potencialnih zdravil. Prav tako so bili nekateri biološki rezultati zanimivi. Ugotovili smo na primer, da je ena od možnih tarč takšnih spojin tudi DNA (slika 3) (Kljun, Bratsos, Alessio, Psomas, Repnik, Butinar, Turk, Turel, 2013). Žal pa ostale lastnosti niso bile take, da bi upravičile nadaljnje, največkrat zelo drage raziskave.

Pirition (slika 2) je spojina, ki se nahaja v rastlinah (perzijski šalotki), lahko pa se pripravi tudi v laboratoriju. V Aziji, kjer ta šalotka uspeva, so jo od nekdaj uporabljali v kulinariki, pa tudi v tradicionalni medicini, saj zatira rast mnogih mikroorganiz-

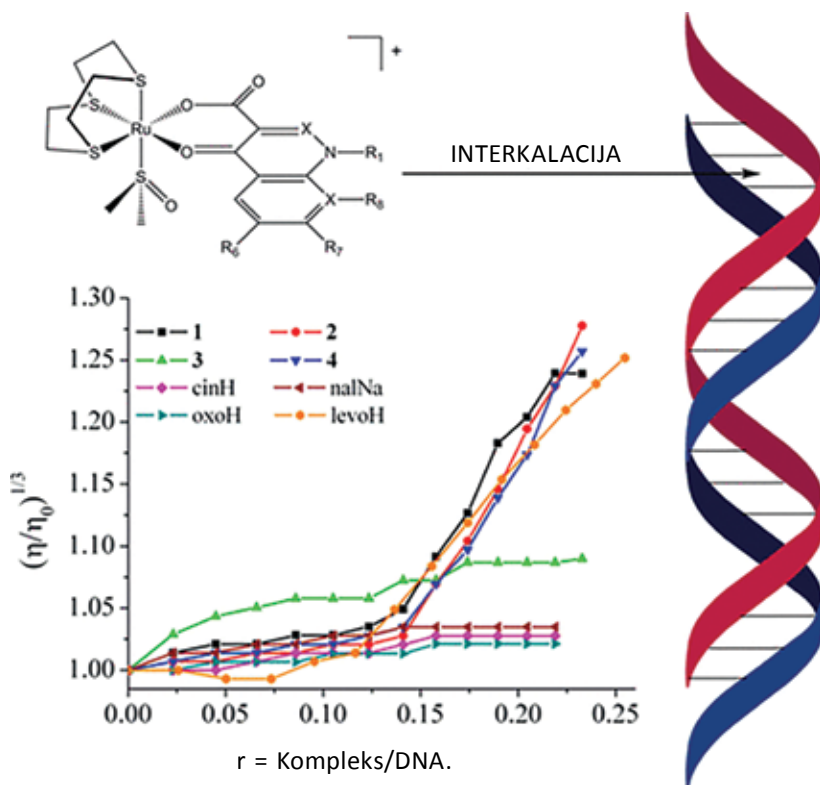


Slika 2: Formuli predstavnik kinolonov - ciprofloksacina (levo) in piritiona (desno).

mov. Še bolj poznan je cinkov kompleks s piritionom (»cinkov pirition«), ki so ga zelo pogosto dodajali šamponom proti prhljaju, prav tako pa tudi premazom, ki preprečujejo gnitje lesa. Pred kratkim so v Evropi njegovo uporabo v kozmetiki zaradi okoljskih vzrokov prepovedali. Pirition je zelo dober ligand in raziskovalci so z njim pripravili kovinske spojine s skoraj vsemi kovinskimi ioni. V začetku naših raziskav smo prvi pripravili nekaj rutenijevih kompleksov s piritionom, v sodelovanju s kolegi z Medicinske fakultete v Ljubljani pa smo ugotovili, da so nekatere tovrstne spojine močno citotoksične proti določenim tumorskim celicam in da tudi dobro zavirajo delovanje nekaterih encimov, ki so pomembni za rakave celice (Kljun, Anko, Traven, Sinreih, Pavlič, Peršič, Ude, Codina, Stojan, Lanišnik Rižner, Turel, 2016). Na podlagi tega smo se odločili za pripravo večjega nabora tovrstnih

spojin in še bolj poglobljene raziskave, ki še vedno potekajo (Kladnik, Kljun, Burmeister, Ott, Romero Canelon, Turel, 2019). Kot zanimivost bi omenil tudi, da smo se v času epidemije SARS-CoV-2 (covid-19) odločili, da preizkusimo učinkovitost različnih piritionov in njihovih kompleksov na ta virus oziroma na encime, ki so za virus pomembni. Ugotovili smo, da predvsem cinkove spojine odlično zavirajo encima katepsin L in PLPro, ki sta pomembna za vstop virusa v gostiteljske celice oziroma za njegovo podvojevanje. Na podlagi teh spodbudnih rezultatov je nato sodelujoča španska skupina s testi na človeškem pljučnem tkivu potrdila zelo dobro protivirusno delovanje cinkovega piritiona (slika 4) (Kladnik, Dolinar, Kljun, Perea, Grau-Expósito, Genescà, Novinec, Buzon, Turel, 2022).

Kot vemo, smo sicer za zdravljenje koronavirusne bolezni covid-19 zelo hitro dobili



Slika 3: Prikaz medsebojnega vplivanja med rutenijevimi kompleksi in molekulami DNA. Pridobljeno iz članka, ki so ga Kljun, Bratsos, Alessio, Psomas, Repnik, Butinar, Turk in Turel objavili leta 2013 v reviji Inorganic Chemistry, z dovoljenjem Copyright © 2013, American Chemical Society.

odobritev različnih cepiv, hkrati pa so ves čas raziskovali tudi druge možnosti zdravljenja. Naše raziskave (ki sicer deloma še potekajo) sicer niso pripeljale do uvedbe spojin v klinično uporabo, smo pa gotovo prišli do zanimivih spoznanj o vlogi cinka in cinkovih spojin pri morebitnem zdravljenju okužb s tem neugodnim virusom.

Sklenem lahko, da nekatere kovinske spojine tudi v današnjem času pomenijo močno orožje v boju z različnimi boleznimi. Kljub nekaterim slabostim (predvsem stranskim učinkom) se zaradi njihove raznovrstnosti in lastnosti, ki jih organske spojine nimajo, za njihovo prihodnost v medicini ni treba bati.

Zahvala

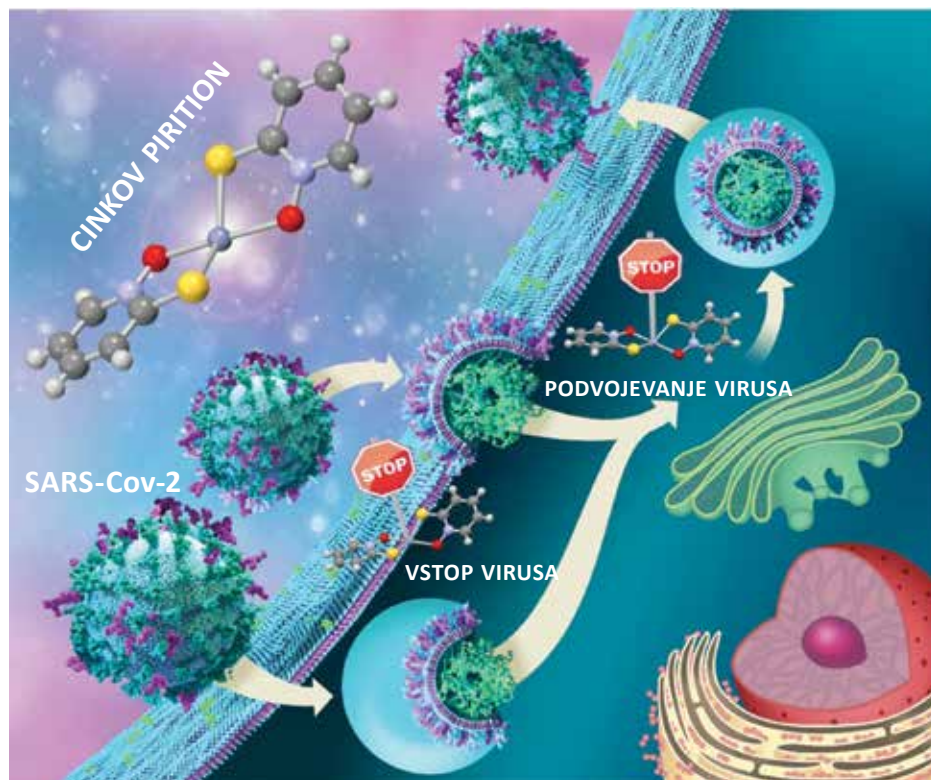
Doktorskemu študentu Urošu Rapušu se zahvaljujem za pripravo slik 1 in 2.

Slovarček:

Citotoksičnost. Podatek, ki pove, kako strupena je kaka snov za celice. Raziskovalci iščejo citotoksične substance tudi pri razvijanju zdravil (predvsem za zdravljenje rakavih bolezni). Idealno je, da je delovanje snovi čim bolj selektivno. To pa pomeni, da snov čim bolj učinkuje na hitro deleče se rakave celice in čim manj škoduje normalnim celicam.

Sarkom. Rakava bolezen, ki se lahko pojavi v različnih tkivih. Delijo se v dve glavni skupini (kostne in mehkotkivne sarkome).

Slika 4: Cinkova spojina s piritionom zavira vstop virusa SARS-CoV-2 v celico in njegovo podvojevanje. Ilustracijo izdelal Simon Kajtna. Pridobljeno iz članka, ki so ga Kladnik, Dolinar, Kljun, Perea, Grau-Expósito, Genescà, Novinec, Buzon in Turel objavili leta 2022 v reviji Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, z dovoljenjem Copyright © 2022, Taylor & Francis Group.



Koordinacijske spojine (tudi: kompleksne spojine, kovinski kompleksi). Kemijske spojine, ki so običajno sestavljene iz osrednjega atoma ali iona, na katerega so vezani ligandi (molekule ali anioni). Ligand navadno donira (daje) osrednjemu atomu ali ionu najmanj en elektronski par.

Literatura:

Drevenšek, P., Košmrlj, J., Giester, G., Skauge, T., Sletten, E., Sepčić, K., Turel, I., 2006: *X-Ray crystallographic, NMR and antimicrobial activity studies of magnesium complexes of fluoroquinolones – racemic ofloxacin and its S-form, levofloxacin. Journal of Inorganic Biochemistry, 100: 1755–1763.*

Frézard, F., Demicheli, C., Ribeiro, R. R., 2009: *Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs. Molecules, 14: 2317–2336.*

Heyneman, A., Hoeksema, H., Vandekerckhove, D., Pirayesh, A., Monstrey, S., 2016: *The role of silver sulphadiazine in the conservative treatment of partial thickness burn wounds: A systematic review. Burns, 42: 1377–1386.*

Kean, W. F., Hart, L., Buchanan, W. W., 1997: *Auranofin. British Journal of Rheumatology, 36: 560–572.*

Kladnik, J., Kljun, J., Burmeister, H., Ott, I., Romero Canelon, I., Turel, I., 2019: *Towards Identification of Essential Structural Elements of Organoruthenium(II)-Pyridylthione Complexes for Anticancer Activity. Chemistry: A European Journal, 25: 14169–14182.*

Kladnik, J., Dolinar, A., Kljun, J., Perea, D., Grau-Expósito, J., Genescà, M., Novinec, M., Buzon, M. J., Turel, I., 2022: *Zinc pyridylthione is a potent inhibitor of PLPro and cathepsin L enzymes with ex vivo inhibition of SARS-CoV-2 entry and replication. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 37: 2158–2168.*

Kljun, J., Bratsos, I., Alessio, E., Psomas, G., Repnik, U., Butinar, M., Turk, B., Turel, I., 2013: *New Uses for Old Drugs: Attempts to Convert Quinolone Antibacterials into Potential Anticancer Agents Containing Ruthenium. Inorganic Chemistry, 52: 9039–9052.*

Kljun, J., Anko, M., Traven, K., Sinreih, M., Pavlič, R., Peršič, Š., Ude, Ž., Codina, E., Stojan, J., Lanišnik Rižner, T., Turel, I., 2016: *Pyridylthione-based ruthenium complexes as inhibitors of aldo-keto reductase 1C enzymes and anticancer agents. Dalton Transactions, 45: 11791–11800.*

Rosenberg, B., VanCamp, L., Krigas, T., 1965: *Inhibition of Cell Division in Escherichia coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. Nature, 205: 698–699.*

Svensson Grape, E., Rooth, V., Nero, M., Willhammar, T., Inge, A. K., 2022: *Structure of the active pharmaceutical ingredient bismuth subsalicylate. Nature Communications, 13: 1984.*

Turel, I., 2002: *The interactions of metal ions with quinolone antibacterial agents. Coordination Chemistry Reviews, 232: 27–47.*

Wohlkonig, A., Chan, P., Fosberry, A. P., Homes, P., Huang, J., Kranz, M., Leydon, V. R., Miles, T. J., Pearson, N. D., Perera, R. L., Shillings, A. J., Gwynn, M. N., Bax, B. D., 2010: *Structural basis of quinolone inhibition of type IIA topoisomerases and target-mediated resistance. Nature Structural & Molecular Biology, 17: 1152–1153.*



Iztok Turel je redni profesor za anorgansko kemijo na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani. Je strokovnjak za koordinacijsko kemijo. Skupaj s sodelavci raziskuje predvsem interakcije kovinskih ionov in kompleksov z biološko pomembnimi snovmi in farmacevtskimi učinkovinami ter tudi uporabo kovinskih kompleksov v katalizi. Rezultati tovrstnih raziskav so pomembni za boljše razumevanje načinov in pomena interakcij kovinskih ionov z biološko pomembnimi molekulami. Leta 2016 je za svoje delo prejel Zoisovo priznanje za pomembne znanstvene dosežke v kemiji.