

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



Bakalářská práce

Příprava a charakterizace komplexních sloučenin
platiny(II) s různě *O*-substituovanými deriváty
9-deazahypoxantinu

Autor práce:

Anna Böhmerová

Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Jana Gálíková, Ph.D.

Studijní obor:

Bioanorganická chemie

Studijní program:

B1407 Chemie

Olomouc 2015

Bibliografická identifikace:**Jméno a příjmení autora:**

Anna Böhmerová

Název práce:

Příprava a charakterizace komplexních
sloučenin platiny(II) s různě O-
substituovanými deriváty
9-deazahypoxantinu

Typ práce:

Bakalářská práce

Pracoviště:

Katedra anorganické chemie

Vedoucí práce:

RNDr. Jana Gálíková, Ph.D.

Rok obhajoby práce:

2015

Abstrakt:

Klíčová slova:

Počet stran: 51

Jazyk: Čeština

Bibliographical identification:

Author:	Anna Böhmerová
Title:	Synthesis and characterization of platinum-based compounds with various O-substituted 9-deazahypoxanthine derivatives
Type of thesis:	Bachelor thesis
Department:	Department of Inorganic Chemistry
Advisor:	RNDr. Jana Gálíková, Ph.D.
The year of presentation:	2015
Abstract:	

Keywords:

Number of pages:

51

Language:

Czech

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci sepsala sama pouze pod odborným vedením RNDr. Jany Gálikové, Ph.D. a za použití zdrojů uvedených v seznamu literatury.

V Olomouci, dne 24. 7. 2015

.....

Vlastnoruční podpis

Chtěla bych zde poděkovat RNDr. Janě Gálíkové, Ph.D. za odborné vedení a připomínky při vypracovávání této bakalářské práce a za změření infračervených spekter, a pomoc s interpretací výsledků provedených technik. Dále děkuji paní Erice Bartoňkové za provedení elementární analýzy, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení hmotnostní spektrometrie, Mgr. Radce Křikavové, Ph.D. za změření NMR spekter, Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za provedení termické analýzy a Mgr. Jakubu Hutyrovi za pomoc při měření vodivosti.

Také bych chtěla poděkovat za finanční podporu projektu POST UP I, který byl spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky, ESF ECOP CZ.1.07/2.3.00/30.0004, „Podpora vytváření excelentních výzkumných týmů a intersektorální mobility na Univerzitě Palackého v Olomouci“.

2. Teoretická část

2.1 Platina, její výskyt a sloučeniny

Pojmenování platiny pochází ze španělské zdvojnásobiny pro stříbro. Objevena byla ekvádorskými indiány ve zlatých dolech, které se nachází na území dnešního státu Kolumbie. První kdo ji zkoumal, byl španělský astronom a námořní důstojník Antonio de Ulloa, který ji také dovezl do Evropy. Její zastoupení v zemské kůře činí podle odhadů 10^{-1} až 10^{-4} ppm.⁽¹⁾ Nalézá se v rudách společně s ostatními platinovými kovy (Pd, Ru, Ir, Rh, Os), jako ryzí, rozptýlená v aluviálních rýžovištích nebo v podobě sulfidů a arsenidů v rudách obsahující Ni, Cu a Fe.⁽²⁾ Její nejstarší naleziště je v Jižní Americe, dnes se těží v Rusku na Uralu, Kanadě a v Jihoafrické republice.^(2,4)

Platina se z rud dostává poměrně složitou cestou, rozmanitou a komplikovanou rafinací, jejímž hlavním cílem je oddělit ji od ostatních kovů (Au, Ag a platinových kovů).⁽²⁾ Docenění a většího použití dosáhla až v 70. letech 19. století, po zdokonalení technik k jejímu zpracování souvisejících s dosažením vysokých teplot k jejímu roztavení.⁽⁴⁾

Platina je kov šedobílé barvy, má kubickou plošně centrovanou strukturu.^(2,3) Je to kov velmi tvrdý s vysokým bodem tání a varu, a s hustotou $21,24 \text{ g.cm}^{-3}$. Je dobře kujná a tažná, snadno se zpracovává. Její ušlechtilost a stálost je zapříčiněna vysokou hodnotou atomizační enthalpie. Jako surový kov je málo reaktivní, odolává účinkům atmosféry. V jemně rozptýlené formě, jako sametově černý prášek, se platina používá pod názvem platinová čern pro katalýzu, např. při oxidaci amoniaku k výrobě kyseliny dusičné nebo při reformování ropy.^(3,4) Platinová síťka se používá v katalyzátorech pro oxidaci výfukových plynů automobilů. Dále schopnost její taveniny pohlcovat kyslík a vodík se využívá při oxidačních a hydrogenačních procesech.⁽²⁾ Upotřebení našla i v sklářském a chemickém průmyslu.⁽⁴⁾

Platina je odolná vůči většině chemických činidel, kromě lučavky královské.⁽³⁾ Je dobře rozpustná v taveninách oxidů a peroxidů alkalických kovů.^(2,5) Oxidační stavy, ve kterých se nejčastěji vyskytuje, jsou 0, II a IV.^(4, 5, 6) Ve formě oxidu se vyskytuje v oxidu platičitém PtO_2 , který se získává alkalickým srážením vodného roztoku chloridu platičitého a následnou dehydratací sraženiny.⁽⁴⁾ Také tvoří dva sulfidy, sulfid platičitý PtS_2 a sulfid platnatý PtS . Nejvyššího oxidačního čísla dosahuje ve fluoridu platinovém PtF_6 , který je natolik silné oxidovadlo, že oxiduje i O_2 a Xe.⁽³⁾ Halogenidy platičité jsou známy všechny, liší se od sebe zbarvením od žlutohnědých fluoridů přes hnědočervený chlorid a bromid po hnědočerný jodid. Platina v oxidačním stavu +II tvoří halogenidy s výjimkou PtF_2 , jelikož fluor má silné oxidační účinky a platina není schopna si udržet nízký oxidační stupeň.

Chlorid platnatý lze získat přímým slučováním z prvků, v závislosti na reakčních podmínkách může existovat ve dvou formách α -PtCl₂ a β -PtCl₂. Hnědozeleně zbarvený α -PtCl₂ lze rozpouštět v kyselině chlorovodíkové za vzniku roztoků obsahujících tetrachloroplatnaté anionty [PtCl₄]²⁻.⁽⁴⁾

Dále platina tvoří komplexní sloučeniny a to v oxidačním stavu II a IV. Komplexy platiny v oxidačním stavu +II mají čtvercově planární uspořádání s konfigurací centrálního atomu (₅₄Xe) 4f¹⁴ 5d⁸ 6s⁰.^(2, 3, 4) Komplexy Pt^{II} jsou nízkospinové a diamagnetické, protože vliv ligandů na štěpení *d*-orbitalů platiny se projevuje silněji než u jiných lehčích kovů.⁽⁵⁾ Nepočetnou skupinu komplexů tvoří Pt^{II} s *O*-donorovými ligandy, např. komplexy obecného vzorce [Pt(O₂CMe)₂]₄, (MeCOO = acetato ligand), které jsou oktaedrické a obsahují vazbu kov-kov. Další skupinu tvoří komplexy Pt^{II} s obecným vzorcem [PtX₄]²⁻, kde X představuje halogenidový anion (Cl⁻, Br⁻, I⁻), kyanidový anion (CN⁻) nebo anionty s těžšími donorovými atomy (např. SCN⁻).^(2, 3, 4) Tyto komplexy krystalizují ve formě amonných solí z vodných roztoků.⁽⁶⁾

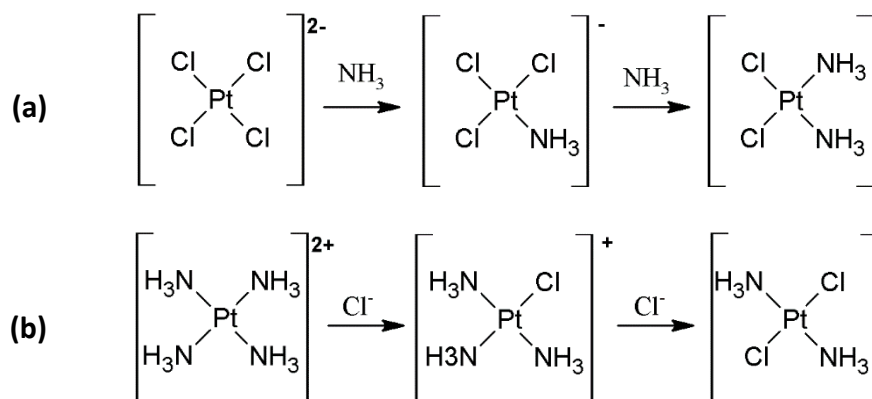
Nejvíce komplexů tvoří Pt^{II} s *N*-donorovými ligandy, a to sloučeniny obecného vzorce [PtL₄]²⁺ nebo [PtL₂X₂].^(2, 3) Jako první připravený komplex Pt^{II} s *N*-donorovým ligandem je známá Magnusonova sůl [Pt(NH₃)₄][PtCl₄], kterou v roce 1828 připravil G. Magnusen.⁽⁶⁾ Poprvé se dostaly komplexní sloučeniny Pt^{II} do širšího podvědomí, díky ruskému chemikovi I. Čerňajevovi, který popsal substituční reakce probíhající na amminokomplexech Pt^{II}. Jeho pozorování a odvozená pravidla jsou dnes známá pod názvem „*trans*-efekt“. ⁽⁴⁾ Čerňajev si komplexy platiny vybral záměrně, protože u nich snadno dochází k substituci ligandů, hlavně pokud výchozí sloučenina obsahuje [PtCl₄]²⁻ anion. Podle schopnosti usnadňovat substituci ligandů, vázaných vůči původnímu ligandu v poloze *trans*, byla sestavena řada se zvyšující se schopností ligandu vyvolat *trans*-efekt.⁽¹⁾ Tento teorém *trans*-efektu je využíván především pro přípravu *cis* a *trans* izomerů komplexů platiny, pro názornost je tento efekt zdokumentován na obrázku 1.

Nejznámější komplexní sloučeninou je *cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] neboli *cisplatin*a. O objev její biologické aktivity se zasloužil Rosenberg, který při výzkumu vlivu elektrického pole na růst bakterií *Escherichia coli* zjistil, že při růstu bakterií nedocházelo k buněčnému dělení. Později, při dalším výzkumu tohoto jevu, byla objevena protinádorová aktivita *cisplatin*y.⁽¹³⁾

Komplexy Pt^{IV} jsou stejně početné jako komplexy Pt^{II}. Platina v oxidačním stupni +IV má v komplexních sloučeninách oktaedrické uspořádání s konfigurací centrálního atomu (₅₄Xe) 4f¹⁴ 5d⁶.⁽²⁾ Platičité komplexy upřednostňují *N*-donorové ligandy (NH₃, R-

NH₂, N₃) a halogenidové ligandy. Také jsou známy komplexy Pt^{IV} s O-donorovými ligandy (OH⁻, acac) a s ligandy obsahujícími S, Se, P a As atomy ve své struktuře. Většina platičitých komplexů je kineticky inertních a termodynamicky stabilních.^(4, 5)

V dnešní době jsou sloučeniny platiny používány v různých odvětvích chemie a velký zájem o ně jeví především medicína.



Obrázek 1. *Trans*-efekt: Tvorba *cis*-isomeru z tetrachloroplatnaté soli (a) a tvorba *trans*-isomeru z tetraamminplatnaté soli (b).⁽⁴⁾

2.2 Komplexní sloučeniny platiny (II/IV) v medicíně

Pod pojmem chemoterapie se mezi odbornou lékařskou veřejností myslí jakékoliv působení syntetických látek na organismus, jako jsou antibiotika, virostatika nebo antipyretika.⁽⁸⁾ Široká laická veřejnost má s pojmem chemoterapie spojenou léčbu nějakého typu rakoviny pomocí cytostatika nebo kancerostatika. Léčba pomocí cytostatik se používá ve všech stádiích rakovinného bujení pro zastavení proliferace rakovinných buněk a také má schopnost ničit rakovinné buňky na místech v organismu vzdálených od původního nádoru. Mezi cíle chemoterapie tedy patří: zastavení postupu patologického stavu, zmírnění průběhu onemocnění a eliminace doprovodných jevů.⁽⁹⁾ Skupina cytostatik je poměrně široká, od organických látek až po komplexní sloučeniny.

Komplexní sloučeniny platiny našly svoje uplatnění v lékařské praxi a to při léčbě různých typů onkologických onemocnění jako chemoterapeutika. Například objevení biologické aktivity *cisplatin*, *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], a její patentování jako protinádorového léčiva představuje velký mezník v syntéze stejně tak i ve studiu koordinačních sloučenin. Posledních 40 let se *cisplatin*a používá k léčení karcinomů krku, varlat, vaječníků, močového měchýře a malobuněčného karcinomu plic.^(5, 7) V posledních pár letech se řady

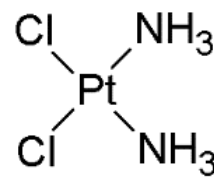
platnatých komplexů rozrostly o další látky. Do této skupiny chemoterapeutik patří komplexní sloučeniny *oxaliplatina* a *karboplatina*. Průběh chemoterapie je u všech tří sloučenin stejný, pacientovi se podává intravenózně ve formě roztoku.⁽¹⁰⁾ Mezi třetí generaci analogů *cisplatiny* patří *nedaplatina*, *heptaplatina* a *lobaplatina*, tyto se používají ve státech východní Asie.⁽⁷⁾

I přes velký úspěch těchto léčiv je jejich používání doprovázeno nevýhodami v podobě rezistence, vysoké toxicity pro zdravé tkáně a nesnadné manipulace (intravenózní podávání). Z těchto důvodů je nutné hledat nové komplexní sloučeniny platiny (II/IV), které by nevykazovaly toxicitu vůči zdravé tkáni a rezistenci, a zároveň by byly onkologicky aktivnější než doposud používaná léčiva jako např. *cisplatina*.⁽⁷⁾

Onkologická onemocnění jsou podle statistik WHO druhou nejrozšířenější civilizační nemocí, hned po onemocnění kardiovaskulárního systému.⁽¹¹⁾ Jejich abnormálně zvýšený výskyt je hlavně v industriálně vyspělých zemích, kde bývá jedním z nejčastějších důvodů úmrtí.⁽¹¹⁾ Nádor je shluk buněk, který se vymkl kontrole imunitního systému a nekontrolovatelně se množí a roste, přičemž může ohrožovat okolní zdravou tkáň. Nádorové novotvary se dělí na maligní (lat. *malignus* = zhoubný) a benigní (lat. *benignus* = neškodný). Maligní nádory jsou rychle rostoucí, metastazující nádory způsobující destrukci tkáně v okolí tohoto útvaru. Do této skupiny patří velké množství typů rakoviny od leukemie po nádorové útvary na orgánech a tkáních.⁽¹²⁾ Příčinou vzniku takového bujení mohou být chemické karcinogeny, onkogenní viry, nebo fyzikální a biologické vlivy.⁽⁹⁾ Léčba závisí na druhu, stádiu a velikosti nádoru, nejčastějšími formami léčby jsou chirurgické odstranění, radioterapie, chemoterapie a imunoterapie. V chemoterapii se používá tzv. cytostatikum což je látka zastavující růst buněk vedoucí v některých případech až k jejich destrukci. Ideální cytostatikum by mělo být dostatečně selektivní, což znamená, že by mělo zničit nádorové buňky a zároveň nepoškozovat zdravé buňky a tkáně. Selektivita dnes používaných látek je řízena „kineticky“, to znamená, že zasahují nejvíce tam, kde jsou nejrychleji akumulovány a to je v rychle se množících rakovinných buňkách. V organismu je ovšem více rychle se množících tkání a buněk, které jsou zdravé a přitom napadány cytostatiky. Mezi tyto zdravé buňky patří například hepatocyty a nefrony, důsledkem jsou nežádoucí vedlejší účinky platnatých cytostatik, jako jsou nefrotoxicita a hepatotoxicita. Ideální cytostatikum, které by ničilo pouze poškozenou tkáň, dosud nebylo nalezeno.⁽¹²⁾

2.2.1 Cisplatina

Cisplatina (Obrázek 2.) je komplexní sloučenina, která má čtvercově planární uspořádání, stejné jako většina jejích analogů používaných v klinické praxi.⁽¹⁴⁾ Centrálním kovem je platina s konfigurací ($_{54}\text{Xe}$) $4f^{14} 5d^8$, na kterém jsou navázány dva snadno odstoupitelné chloridové ligandy a dva amminové



Obrázek 2. *Cisplatina*.⁽¹⁴⁾

ligandy v *cis* upořádání.⁽¹⁵⁾ Její objev a zavedení do klinické praxe v roce 1978 doposud představuje významný mezník v léčbě rakoviny. *Cisplatina* již dlouhé roky patří mezi nejpoužívanější cytostatika v chemoterapii i přes velké množství vedlejších a nežádoucích účinků jako např. nefrotoxicita, porucha krvetvorby, snížení počtu trombocytů a leukocytů, zvracení a ztráta chuti k jídlu. *Cisplatina* je hojně používá při léčbě karcinomů vaječníku, děložního čípku, prostaty a močového měchýře. Pacientům se podává ve formě roztoku pomocí infúze.⁽¹⁶⁾

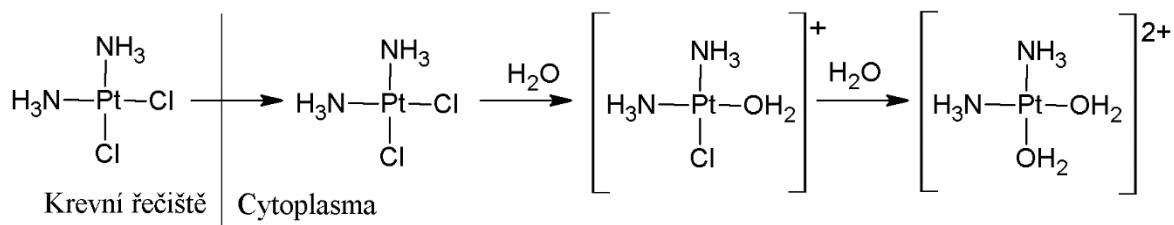
2.2.1.1 Mechanismus reakce cisplatiny v buňkách

Cisplatina se váže dvěma způsoby na DNA, vnitřními nebo meziřetězcovými *cross-linky*, a tím zamezuje RNA transkripci a DNA replikaci, a následně tak spouští buněčnou smrt (apoptózu).⁽¹⁷⁾ Mechanismus účinku má několik stupňů. Těmi jsou akumulace v buňkách, aktivace *cisplatiny* a její buněčný metabolismus.

Nejpravděpodobnějším mechanismem vstupu *cisplatiny* do buňky je pasivní difúze přes buněčnou membránu jako neutrální molekula. Další diskutovanou možností vstupu *cisplatiny* do buňky je pomocí aktivního transportu přes Ctr1p, což jsou transportní kanálky pro měď v plasmatické membráně přítomné u savců a kvasinek.⁽¹⁸⁾ Většina vědců se přiklání k názoru existence více cest vstupu *cisplatiny* do buněk⁽⁷⁾.

Cisplatina reaguje s DNA v jádrech buněk, kde je koncentrace chloridových iontů podstatně nižší než v extracelulární matrix, což má za následek snadné odstoupení chloridových ligandů a jejich náhradu za molekuly vody, které vstoupí do koordinační sféry atomu platiny. To vede k vytvoření kladně nabitých mono- a diaqua komplexů. Proces hydrolýzy *cisplatiny* v cytoplasmě je znázorněn na obrázku 3.⁽¹⁹⁾ Proces hydrolýzy je klíčový, protože bylo prokázáno, že pouze hydrolyzovaná forma *cisplatiny* může reagovat

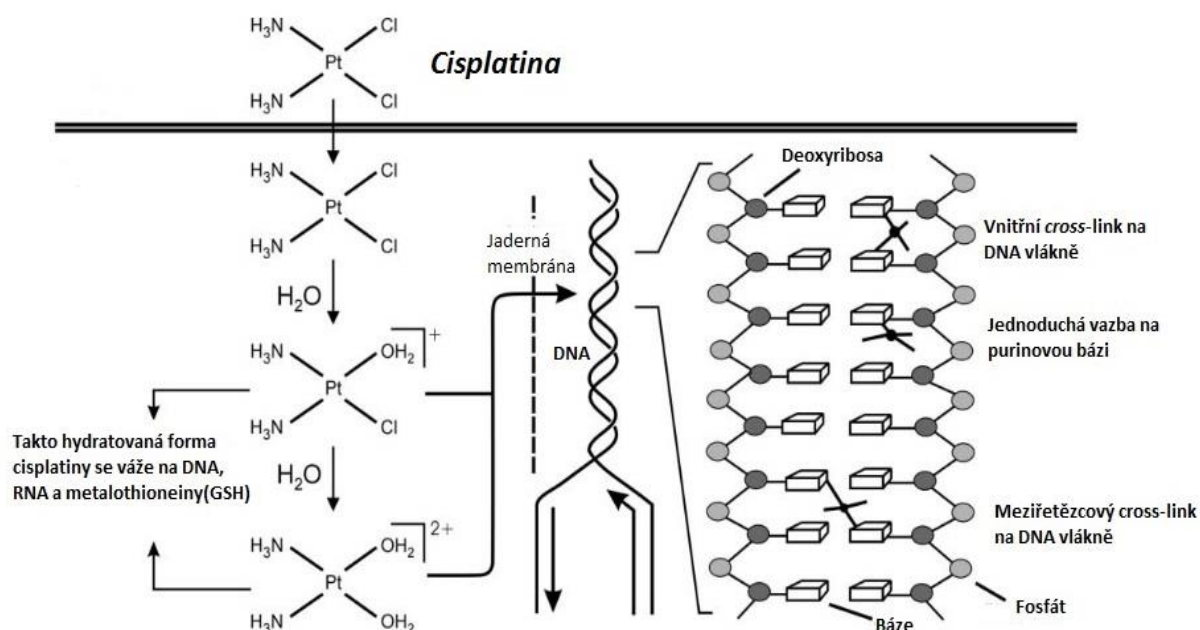
s DNA. Reakce s jadernou DNA je jedním z předpokládaných účinků protinádorové aktivity.⁽⁷⁾



Obrázek 3. Hydrolyzá *cisplatiny* po vstupu do cytoplasmy buňky z krevního řečiště.⁽¹⁹⁾

Při aplikaci *cisplatiny* na nádorové buněčné linie bylo pozorováno zastavení proliferace nádorových buněk, přičemž určité procento buněk dál rostlo, a při určité koncentraci *cisplatiny* došlo k apoptóze většiny buněk. Na základě znalostí buněčných metabolismů vědci předpokládají, že *cisplatina* se kovalentně váže na molekulu DNA, čímž zabráňuje množení, ale nezastavuje růst nádorových buněk. *Cisplatina* tvoří vnitřní cross-link mezi purinovou bází guaninem a pyrimidinovou bází cytosinem a tím způsobuje narušení DNA dvoušroubovice. Koordinace *cisplatiny* na purinové báze DNA má za následek inhibici transkripce a translace, čímž způsobuje zastavení proliferace rakovinných buněk a zároveň buněčnou smrt (Obrázek 4). *Cisplatina* taktéž tvoří meziřetězcové cross-linky, pokud dochází pouze k částečné hydrataci molekuly, vytváří se jen jednoduché vazby na DNA. Meziřetězcové cross-linky jsou méně časté než vnitřní.^(12, 21)

Důvodem proč *cisplatina* zabíjí rakovinné buňky, je zastavení exprese genů a tím tvorby proteinů v důsledku vazby na DNA. *Cisplatina* se koordinuje na N7 atom purinových zbytků a tvoří dva podíly vnitřních cross-linků, a to buď hlavní podíly cross-linků mezi 1,2 GG nebo 1,2 AG bázemi, a menší počet cross-linků mezi 1,3 GXG bázemi (X = A, C, T). Tato koordinace narušuje sekundární strukturu DNA a vede k výrazným konformačním změnám. Atom platiny mezi nukleotidovými bázemi vychyluje tyto báze mimo rovinu, čímž přerušuje vodíkové vazby v GC páru bází, tím způsobuje zploštění a rozšíření malého žlábků šroubovice DNA, a v důsledku celkovou distorzi molekuly.⁽²⁰⁾



Obrázek 4. Vazba *cisplatiny* na purinové báze v DNA.⁽²¹⁾

2.2.1.2 Rezistence buněk na *cisplatinu*

Léčba *cisplatinou* má velmi mnoho omezení. Vedle jejího úzkého použití je dalším limitujícím faktorem rezistence rakovinných buněk. Rezistence buněk může být na jedné straně přirozená, ale na druhé straně se může u některých nádorových linií vyvinout v důsledku dlouhodobého užívání léčiva.⁽²⁵⁾

Cisplatin je pro buňku látkou cizorodou, proto se jí organismus snaží odstranit. Bylo rozpoznáno několik obranných mechanismů vůči *cisplatině*, především zvýšené vylučování buňkou, tzn. snížení akumulace. Mezi obranné mechanismy patří také inaktivace *cisplatiny* pomocí koordinace metalothioneinů přes atomy síry na atom platiny. Toto se děje na základě vysoké afinity síry vůči platině. Obecně jsou metalothioneiny skupinou proteinů obsahujících velké množství cysteinu (obsahuje thiolovou skupinu -SH), jejichž zvýšená produkce játry je odpovědí na výskyt těžkých kovů v organismu.⁽²²⁾ Jednou z možností, jak zabránit inaktivaci léčiva metalothioneiny, je záměna NH_3 ligandů *cisplatiny* za stericky bráněné aminy. Příkladem je *pikoplatina*, která tvoří podobné adukty s DNA jako *cisplatin*, ale její interakce s metalothioneiny je podstatně nižší.⁽²³⁾

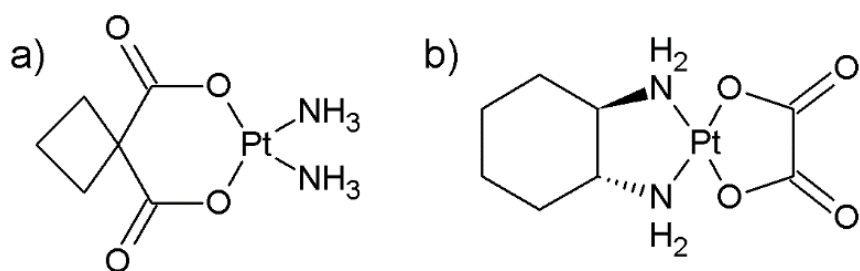
Samotná DNA se proti *cross-linkům* brání opravným systémem NER (Nucleotide excision repair), kdy poškozenou část DNA vystřihne a nahradí novými nukleotidy. NER systém opravuje převážně 1,2 GG *cross-linky*. Mezi další buněčné mechanismy ovlivňující protirakovinnou účinnost *cisplatiny* patří rekombinace a oprava chyb pomocí opravné DNA-polymerázy.⁽²¹⁾ Vzhledem k výrazné afinitě platiny k atomům síry a selenu přítomných

u mnoha proteinů v krevní plazmě, je použití *cisplatiny* limitováno i tím, že může reagovat s těmito proteiny a enzymy a to vede k narušení jejich funkce. Tento fakt lze demonstrovat na tom, že pouze 1% intravenózně podávané *cisplatiny* se dostane do jádra buňky, kde interaguje s DNA.⁽²⁴⁾

2.2.2 *Karboplatina a oxaliplatina*

Karboplatina (Obrázek 5a), diammin-[1,1'-cyklobutandikarboxylato(2⁻)]-O,O'-platnatý komplex, patří do druhé generace platinových protinádorových léčiv. V závislosti na typu rakoviny je podávána samostatně nebo v kombinaci s léčivem posilujícím její účinek. Představuje přímé analogy *cisplatiny*, to znamená že, že zůstaly zachovány ammin ligandy a chloridové ligandy byly vyměněny za rovněž snadno odstupující 1,1'-cyklobutandikarboxylovou kyselinu, která se váže bidentátně na atom platiny přes dva donorové atomy kyslíku. Mechanismus účinku *karboplatiny* je podobný jako v případě *cisplatiny*.⁽⁵⁾ Avšak přítomnost bidentátně se vázajícího ligandu v struktuře *karboplatiny* zpomaluje proces hydrolýzy komplexu v cytoplasmě. Tvorba interakcí mezi *karboplatinou* a DNA je pomalá, což vede k opoždění nástupu účinku oproti *cisplatině*. Navíc je potřeba skoro 230ti násobně větší dávky než *cisplatiny* pro dosažení stejného počtu interakcí s DNA. Naproti tomu je výše dávky *karboplatiny* omezena její toxicitou vůči kostní dřeni. Lékaři ji podávají pacientům se zvýšenou citlivostí nebo rezistencí proti *cisplatině*.⁽²⁶⁾

Oxaliplatina, (1*R*,2*R*-diaminocyklohexan)oxalatoplatnatý komplex, jako další strukturní analog *cisplatiny* (druhá generace léčiv) vznikl náhradou chloridových ligandů za bidentátně se vážící oxalát a ammino ligandů za cyklohexan-1,2-diamin, jak je patrné z obrázku 5b. Tato komplexní sloučenina se stala v roce 2002 celosvětově užívaným chemoterapeutikem.⁽²⁷⁾ Využití našla hlavně při léčbě rakoviny tlustého střeva. *Oxaliplatina* se často v klinické praxi používá v kombinaci s 5-fluorouracilem a kyselinou listovou.⁽²⁸⁾ Výhodou léčby *oxaliplatinou* je malá nebo žádná rezistence rakovinových buněk v porovnání s *cisplatinou* a *karboplatinou*. Podávání je ale omezeno její neurotoxicitou.⁽²⁹⁾ *Oxaliplatina* má podobný mechanismus účinku jako *cisplatina*, váže se na DNA. Odstupujícím ligandem při hydrolýze *oxaliplatiny* je oxalát, k odstoupení oxalátového aniontu dochází pomaleji než k odstoupení chloridových ligandů u *cisplatiny*.⁽¹⁵⁾

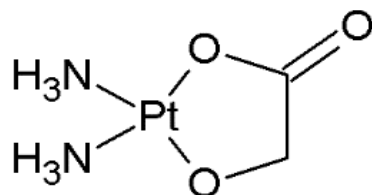


Obrázek 5. a) Karboplatina, b) Oxaliplatina.⁽¹²⁾

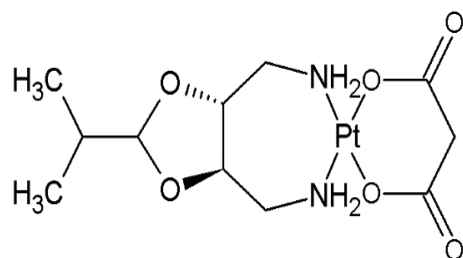
2.2.3 Nedaplatina, heptaplatina a lobaplatina

Nedaplatina, *heptaplatina* a *lobaplatina* představují již třetí řadu protinádorových léčiv na bázi platiny se schváleným užíváním při léčbě onkologických onemocnění v Asii. *Nedaplatina*, *cis*-diammin-glykolatoplatnatý komplex (Obrázek 6), se řadí mezi strukturní analogy *cisplatinu*. Tato komplexní sloučenina se používá k léčbě pacientů s rakovinou jícnu, žaludku, hlavy, krku, vaječníků, prostaty a děložního čípku v Japonsku.⁽³⁰⁾

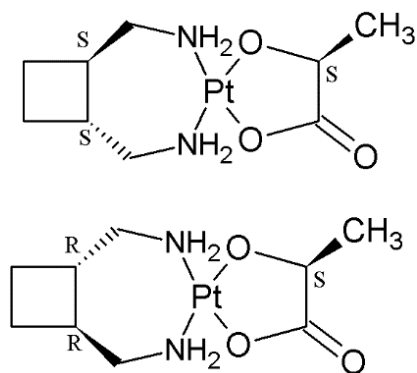
Heptaplatina, *cis*-malonato-[(4*R*,5*R*)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxo]platnatý komplex, je také analogem *cisplatinu*. *Heptaplatina* se používá k léčbě rakoviny žaludku, hlavy a krku na Korejském poloostrově. Je podávána s Paclitaxelem, rostlinným alkaloidem, který se používá v medicíně pro svou schopnost zastavovat dělení buňky.⁽³¹⁾ *Heptaplatina* se projevuje jako velmi slibné cytostatikum pro léčbu nádorů resistantních na *cisplatinu* a mezi její výhody navíc patří nízká hepatotoxicita a myelosuprese. Jediným limitujícím faktorem je její nefrotoxicita, která určuje výši její dávky.⁽³²⁾



Obrázek 6. *Nedaplatina*.⁽¹⁵⁾



Obrázek 7. *Heptaplatina*.⁽⁷⁾



Obrázek 8. Diastereoizomery *lobaplatiny*.⁽⁷⁾

Lobaplatina je diastereomerická směs komplexů Pt^{II} (Obrázek 8), která obsahuje 1,2-bis(aminomethyl)cyclobutan jako neodstupující ligand a kyselinu mléčnou jako odstupující

skupinu. *Lobaplatina* ovlivňuje expresi c-Myc genu. Tento gen kóduje transkripční faktor a multifunkční jaderný fosfoprotein, který hraje důležitou roli v progresi buněčného cyklu, v buněčné transformaci a apoptóze. *Lobaplatina* byla schválena na léčbu leukémie, metastazující rakovinu prsu a rakovinu plic v Číně.⁽³³⁾

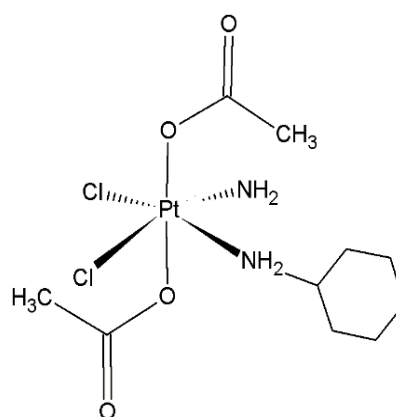
2.2.4 Sloučeniny platiny(IV), *satraplatina*

Závažné nežádoucí vedlejší účinky a nepohodlné intravenózní podávání chemoterapeutik na bázi platiny(II) vedly k hledání nových, méně toxických prekurzorů léků, jako i léčiv, které by bylo možné aplikovat orálně. Právě platičité komplexy představují vhodné kandidáty.⁽³⁴⁾

Přítomností ligandů v axiálních polohách oktaedrického uspořádání komplexů platiny(IV) na rozdíl od komplexů platiny(II) se čtvercovým uspořádáním, se mění vlastnosti komplexních sloučenin Pt^{IV} jako jsou redukční potenciál, lipofilita a specifita komplexů. Platičité komplexy jsou kineticky inertní k ligandové substituci, a proto k docílení účinku a vazby na cílovou DNA je nutná jejich redukce na platnaté komplexy (*in vivo*). Z důvodu redukce platičitých komplexů se o nich hovoří spíše jako o prekurzorech a jejich redukováné analogy se považují za účinné látky.⁽³⁵⁾ Inertnost platičitých komplexů poskytuje možnost překonání některých omezení platnatých komplexů, jako jsou rezistence a toxicita. Prvořadý význam u vývoje nových platičitých komplexů má redukční potenciál, na rozdíl od hydrolýzy, která už nehraje takovou roli jako např. u *cisplatin*y, protože hydrolýza platičitých komplexů probíhá velmi pomalu a obtížně.^(36,37)

V případě komplexů Pt^{IV} , které obsahují karboxylátové ligandy v axiálních polohách, bylo zjištěno, že jsou lépe absorbovány v gastrointestinálním traktu než Pt^{II} komplexy, a mají dobrý potenciál pro jejich využití jako perorálně podávané léky. Zástupcem této skupiny je *satraplatina*.⁽²¹⁾

Satraplatina, bis(acetato)amino-dichlorido-(cyklohexylamin)platičítý komplex (Obrázek 9) jako prekurzor, je aktivována redukcí v přítomnosti intracelulárních redukčních činidel, jako jsou glutathion a kyselina L-askorbová. Vykazuje malou nefrotoxicitu a neurotoxicitu.⁽³⁸⁾ *Satraplatina* už byla v klinickém testování na rakovinu prostaty, které však

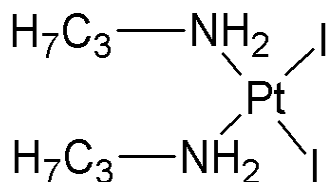


Obrázek 9. *Satraplatina*.⁽²¹⁾

bylo zastaveno ve třetí fázi. V současnosti se *Satraplatina* nachází v třetí fázi klinického testování na rakovinu plic.⁽³⁹⁾

2.3 Dijodo-komplexní sloučeniny platiny(II/IV)

Dijodo-komplexní sloučeniny platiny(II) obecného vzorce $[\text{Pt}(\text{L})_2\text{I}_2]$ jsou důležitými prekurzory při výrobě *cisplatiny* jako i jejích analogů s *cis* uspořádáním. I přes svoji syntetickou důležitost jsou z farmakologického pohledu často opomíjenými sloučeninami. První *in vitro* cytotoxické testy ukázaly, že *cis*-diammin-dijodoplatnatý komplex byl protinádorově neaktivní. Vzhledem k tomu, že protinádorovou aktivitu nejde předem určit ani predikovat, nadále jsou syntetizovány a zkoumány nové dijodo-komplexy platiny(II).⁽⁴¹⁾ Do současné doby zatím bylo připraveno několik málo dijodo-komplexů, které měly výraznější protinádorovou aktivitu nebo dokonce byly aktivnější než v praxi používaná platinová metaloterapeutika. Příkladem je diisopropyldijodoplatnatý komplex (Obrázek 10), který byl testován na *in vitro* protinádorovou aktivitu vůči nádorovým buněčným liniím karcinomu vaječníků (A2780), děložního čípku (HeLa), tlustého střeva (WiDr) a prsu (HBL–100, T–47D). Hodnoty IC_{50} (inhibiční koncentrace) tohoto komplexu se pohybovaly v rozmezí hodnot 0,26–2,6 μM a byly zhruba 5–11krát účinnější na liniích T–47D a WiDr než *cisplatina*, jejíž IC_{50} se pohybovalo v rozpětí 15–26 μM u těchto dvou linií.⁽⁴⁰⁾



Obrázek 10. Diisopropyldijodoplatnatý komplex⁽⁴⁰⁾

Možností, jak docílit požadované protinádorové aktivity u dijodo-komplexů platiny je modifikace *N*-donorových ligandů. Příkladem jsou komplexní sloučeniny obecného vzorce *cis/trans*- $[\text{PtI}_2(\text{L}')_2]$ nebo *cis/trans*- $[\text{PtI}_2(\text{L}')(\text{L}'')]$, které obsahují jednu nebo dvě monodentátní heterocyklické molekuly (L' , L'/L''), kde donorovým atomem je endocyklický atom dusíku. Příkladem této heterocyklické molekuly může být *L*-histidin.⁽⁴²⁾ Komplex $[\text{Pt}(\text{Histidin})\text{I}_2]$ lze připravit přímo z K_2PtI_4 , tento komplex vykazuje i dobrou rozpustnost ve vodě ($>5\text{mg/ml}$), *in vitro* testy jeho cytotoxické aktivity byly prováděny pomocí kolorimetrického stanovení (MMT) buněčného metabolismu na nádorových liniích rakoviny plic (A549/ATCC), tlustého střeva (HT-29) a adenokarcinomu prostaty (LNCap). Tento komplex ovšem ani u jedné z linií nevykazoval cytotoxickou aktivitu, hodnoty IC_{50} u všech tří linií byly větší než 100 μM . Naproti tomu *cisplatina*, která byla použita pro srovnání, měla

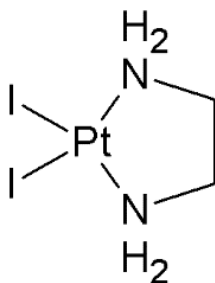
hodnoty IC_{50} u těchto linií od 2,4-17,3 μM . Oproti tomu $Pt(Histidin)Cl_2$ vykazoval cytotoxicitu srovnatelnou s *karboplatinou*.⁽⁴³⁾ Dále byly popsány a patentovány diiodo-komplexy s karbenovými ligandy a pyrimidinem, které lze využít pro léčbu nádorových onemocnění, spis WO 2012/085475.⁽⁴⁴⁾ Mezi další ligandy diiodo-komplexů platiny (II) patří například 2,3-pyridindiamin, imidazol a jeho deriváty (např. di(1*H*-imidazol-2-yl)methan a dimethyl-2-(di(1*H*-imidazol-2-yl)methyl)malonát) a různě substituované deriváty pyrimidinu (př. 5,7-difenyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidin). Diiodo-komplexy s těmito ligandy většinou vykazovaly menší protinádorovou aktivitu než jejich dichloro-analogy nebo *cisplatinu*, některé z těchto komplexů byly inaktivní.⁽⁴²⁾

Dijodokomplexů platiny(II/IV) byla připravená celá řada. Ve specializovaných databázích (např. Reaxys, Sci-finder), můžeme nalézt komplexy s ligandy, jako jsou jednoduché alifatické řetězce, například komplex $[Pt(CH_3)_2I_2]$,⁽⁴⁵⁾ dále velmi rozmanitou třídu tvoří bidentátně se vážící *N*-donorové ligandy. Tyto mohou být strukturně a stericky nenáročné jako například ethan-1,2-diamin (obrázek 11)⁽⁴⁷⁾ nebo mohou tvořit velké, různě substituované rigidní struktury jako je tomu u sloučeniny na obrázku 12. Tyto platnaté diiodokomplexy (C_1 - C_3), kde jako *N*-donorové ligandy vystupují estery kyseliny (*S,S*)-1,3-propandiamin-*N,N'*-di-2-(3-cyklohexyl)propanové (R^{1-3}), byly testovány na liniích karcinomu děložního čípku (HeLa), plicního karcinomu (A549), karcinomu prsu (MDA-MB-231), karcinomu tlustého střeva (LS-174) a na fibroblastech plicní tkáně (MCR-5). Zároveň s komplexy byly podrobeny testování i samostatné ligandy. Výsledky ukázaly, že diiodokomplexní sloučeniny mají lepší hodnoty IC_{50} než samostatné ligandy. Hodnoty IC_{50} komplexů se pohybovaly v rozmezí hodnot 4,6-17,2 μM a jsou srovnatelné s *cisplatinou*. Pomocí ICP MS byl sledován mechanismus účinku komplexů na linii HeLa, výsledkem bylo zjištění, že u daných komplexů dochází k větší akumulaci v buňce a lepšímu navázání na DNA než je tomu u *cisplatinu*.⁽⁴⁶⁾ Na komplexech *trans*, *cis*- $[Pt(en)(OH)_2I_2]$ a $[Pt(en)I_2]$ byly prováděny studie mechanismu reakce diiodoplatnatých komplexů pomocí ICP-MS a dále pak studie reakce těchto látek s lidským albuminem. Studie ukázaly, že I^- je dobře odstupujícím ligandem v alkalickém prostředí, a také to, že OH skupiny v axiálních polohách zlepšují rozpustnost komplexu ve vodě.⁽⁴⁷⁾

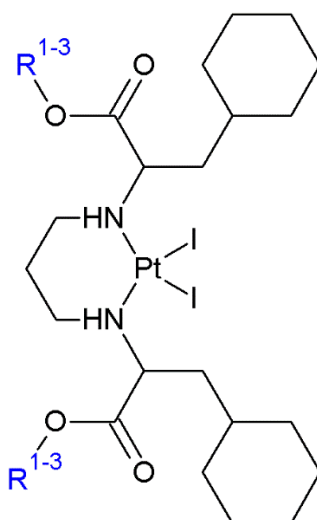
Existují ovšem i komplexy s monodentátně se vážícím objemnými *N*-donorovými ligandy, mezi takové patří například chinolin. V roce 2014 byla uveřejněna krystalografická struktura *cis*-dijodobis(chinolin- κN)platnatého komplexu, struktura na obrázku 13.⁽⁴⁸⁾ Mezi diiodokomplexy platiny můžeme nalézt i komplexy s ligandy bidentátně se vážícími přes atomy síry jako je tomu u *cis*- $[\kappa^2$ -SS-(L) $PtI_2]$, kde

$L = \text{HOCH}_2\text{Ph-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-PhCH}_2\text{OH}$, strukturní vzorec na obrázku 14. Tato sloučenina je stálá na vzduchu, mírně rozpustná v DMSO a teplém acetonitrilu, není rozpustná v ethanolu, chloroformu, byla prozatím podrobena analytické charakterizaci (NMR, IR-FTIR, Raman), experimentálním a teoretickým studiím, její cytotoxicita testována nebyla.⁽⁴⁹⁾ Jiným možným donorovým atomem je i fosfor, to dokazuje sloučenina s ligandem pent-4-en-1-yl(difenyl)fosfanem, tento ligand se váže tridentátně pomocí jednoho atomu fosforu a zbylé dvě vazby jsou donací π -vazby mezi pátým a čtvrtým uhlíkem pent-4-en-1-yl(difenyl)fosfanu. (Obrázek 15).⁽⁵⁰⁾

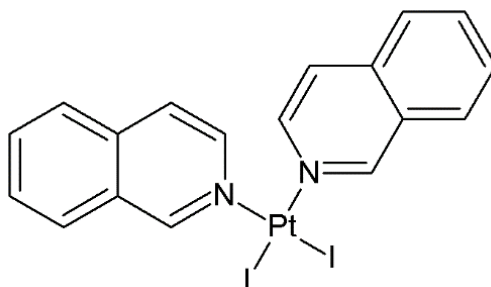
Výše zmíněné databáze poskytují i informace o diiodoplatických komplexech, připraveny byly také diiodokomplexy kde I^- vystupuje jako můstkující ligand mezi dvěma atomy platiny(II, IV). Výše zmíněné diiodokomplexní sloučeniny byly převážně předmětem kinetických, teoretických a experimentálních studií, které zahrnovaly charakterizaci těchto sloučenin na několika analytických technikách, jako jsou NMR, IČ, monokrystalová rentgenová spektrometrie, hmotnostní spektrometrie (ICP-MS) a další. U některých zmíněných byly prováděny i testy cytotoxicity, ovšem bez kladných výsledků. Mezi syntetizovanými a testovanými látkami převažují komplexní sloučeniny Pt(II) s *N*-donorovými ligandy.^(51,52)



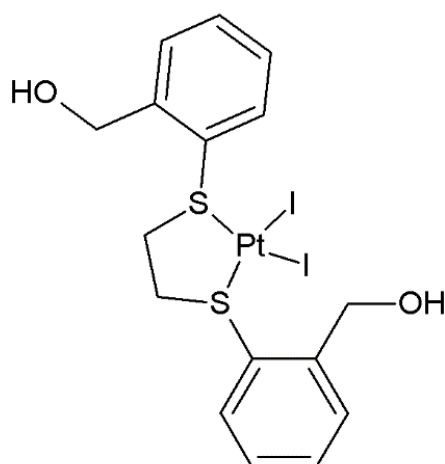
Obrázek 11. Dijodoethyl-1,2-diaminplatnatý komplex.⁽⁴⁷⁾



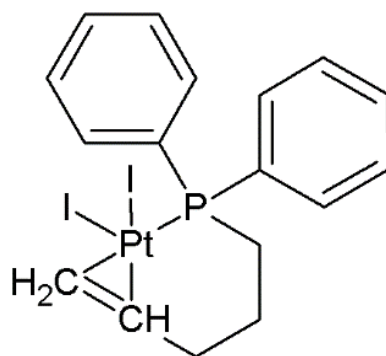
Obrázek 12. Dijodoplatnaté komplexy (C₁-C₃) s estery kyseliny (S,S)-1,3-propandiamin-N,N'-di-2-(3-cyklohexyl)propanové, R¹= isobutyl, R²= n-pentyl, R³= isopentyl.⁽⁴⁶⁾



Obrázek 13. Cis-dijodobis(chinolin-κN)platnatý komplex.⁽⁴⁸⁾

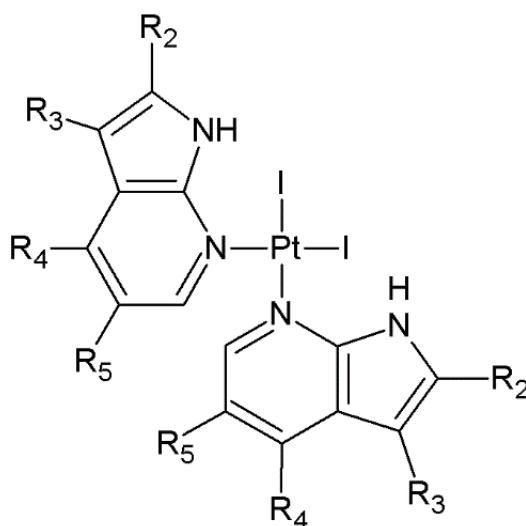


Obrázek 14. cis-[κ²-SS-(L)PtI₂], kde L= HOCH₂Ph-S-CH₂-CH₂-S-PhCH₂OH.⁽⁴⁹⁾



Obrázek 15. Dijodoplatnatý komplex s pent-4-en-1-yl(difeny)fosfanem.⁽⁵⁰⁾

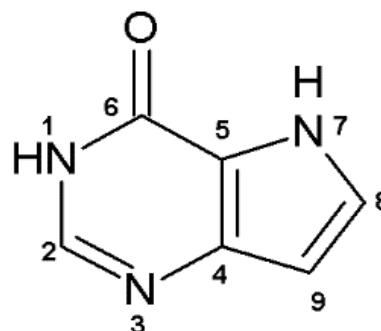
Katedře anorganické chemie Univerzity Palackého byl v roce 2014 udělen užitný vzor týkající se diiodo-komplexů s deriváty 7-azaindolu obecného vzorce $cis-[Pt(L)_2I_2]$. Tyto komplexní sloučeniny byly testovány na *in vitro* cytotoxicitu vůči nádorovým liniím osteosarkomu (HOS), prsnímu karcinomu (MCF7), karcinomu prostaty (22Rv1), plicnímu karcinomu (A549), malignímu melanomu (G361), karcinomu děložního čípku (HeLa), karcinomu vaječníku (A2780) a na buněčnou linii resistantní vůči *cisplatině* (A2780R). Výše zmíněné komplexy vykazovaly vyšší účinek *in vitro* cytotoxicity vůči vyjmenovaným nádorovým liniím v porovnání s *cisplatinou*.⁽⁴¹⁾ Nejlepší výsledky cytotoxicity vykazoval komplex $cis-[Pt(L_8)_2I_2]$, kde (L_8 =2-methyl-4-chlor-7-azaindol), tento komplex měl hodnoty IC_{50} mezi 1,0–3,8 μM u linií A549, HeLa, A2780, A2780R a 22Rv1.⁽⁴¹⁾



Obrázek 16. Dijodo-komplex s deriváty 7-azaindolu obecného vzorce $cis-[Pt(L)_2I_2]$, kde $R_{2,3,4,5}$ =alkyl nebo halogen.⁽⁴¹⁾

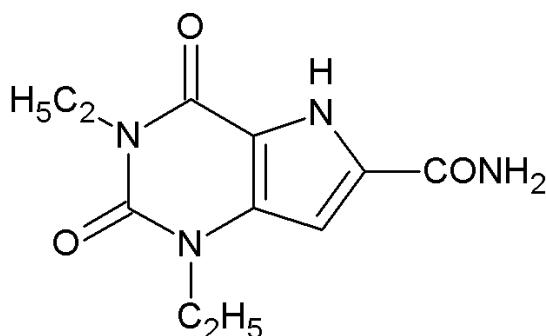
2.4 3*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on (9-Deazahypoxantin) a jeho deriváty

3*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on triviálním názvem 9-deazahypoxantin, (Obrázek 17) a jeho *O*-substituované deriváty (4-alkyloxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidiny) spadají do široké skupiny organických látek pyrrolopyrimidinů. Základní skelet různě substituovaných organických pyrrolopyrimidinů je tvořený heterocyklickými kondenzovanými kruhy šestičlenného pyrimidinu a pětičlenného pyrrolu.



Obrázek 17. 9-deazahypoxantin.⁽⁹⁾

Jeden z prvních článků o syntéze a biologické aktivitě těchto látek publikoval roku 1964 Kin-ichi Imai. Konkrétně se jednalo o různé substituční deriváty 5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidinů. Tyto látky byly testovány na liniích Yoshidova sarkomu, adenokarcinomu 755 a jako inhibitory růstu bakterií *Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecalis* a prvoka *Tetrahymena geleii*. Dále pak byla testována inhibiční aktivita těchto látek na fibroblastech kuřecích embryí. Jako účinný inhibitor růstové aktivity u bakterií mléčného kvašení a protozoí se ukázala látka 4,6-diethyl-5,7-dioxo-4,5,6,7-tetrahydro-1,4,6-triazainden-2-karboxamid (obrázek 18), která je aktivní i proti Yoshidově sarkomu. Oproti tomu se při těchto testech 9-deazahypoxantin, 9-deazaadenin a 9-deazaguanin ukázali jako málo aktivní.^(53,54)



Obrázek 18: 4,6-diethyl-5,7-dioxo-4,5,6,7-tetrahydro-1,4,6-triazainden-2-karboxamid, jeden ze substitučních derivátů 5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidinů, který vykazoval cytostatickou aktivitu.⁽⁵³⁾

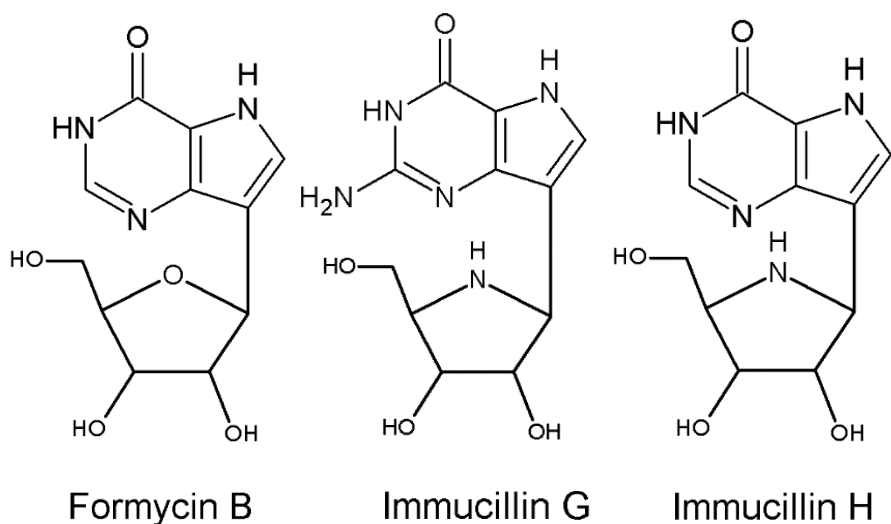
Pyrrolopyrimidiny představují inhibitory různých enzymů, jako jsou kinázy (Janusova kináza, serin/threonin kináza, cyklin-dependentní kináza, kináza pro fokální adhezi atd.), methylthioadenosin fosforyláza, purin nukleosid fosforyláza (PNP) a enzymy pro replikaci HIV. Dále byla u těchto látek popsána antibakteriální, protizánětlivá a antiparazitní aktivita.⁽⁵⁵⁾ Zaměření se na inhibici kináz má svůj opodstatněný důvod. Buněčné kinázy totiž nemají schopnost fosforylovat nukleosidové analogy, kdežto například herpesvirová „thymidinkinasa“ takovouto schopnost má. Tento postup léčby je založen na aktivaci antimetabolitu, který může být specifický pro virově specifické enzymy. Právě proto se často modifikují nukleosidy, které mají poté schopnost vystupovat jako antimetabolity a narušovat tak biochemické dráhy např. virů.⁽⁹⁾

Deriváty 9-deazahypoxantinu patří také do skupiny PNP inhibitorů.⁽⁵⁶⁾ Purinnukleosidfosforylasa (PNP) je enzym štěpící fosforylovou vazbu mezi purinovou bází a monofosfátribosou, může ovšem katalyzovat reakci i v opačném směru. Její aktivita v tomto ohledu záleží na systému, se kterým je spřažena. Při spřažení reakce s xanthinoxidasou je PNP enzymem katabolismu purinů. Naproti tomu při spřažení s hypoxantin/guaninfosforibosyltransferasou je enzymem záchranné cesty purinových bází, tato cesta slouží k opětovnému využití purinových bází k syntéze nukleosidů. PNP jsou důležité pro správnou funkci imunitního systému, jak ukázala studie dětských PNP enzymů, kdy děti s touto nedostatečností trpěly vzácnou poruchou imunitního systému.^(9,57) Tato porucha se projevuje nedostatečnou funkcí T-lymfocytů, což je druh lymfocytu, který je nezbytnou součástí specifické neboli získané imunity. Tyto T-lymfocyty se starají o odstranění nádorových buněk nebo buněk napadených viry. Aktivita PNP je nezbytná pro správnou funkci a proliferaci T-lymfocytů z kostní dřeně, proto se od nich očekává, že mohou tvořit novou třídu selektivních imunosupresiv, sloužících pro léčbu široké škály poruch způsobených nedostatkem T-lymfocytů.⁽⁵⁸⁾

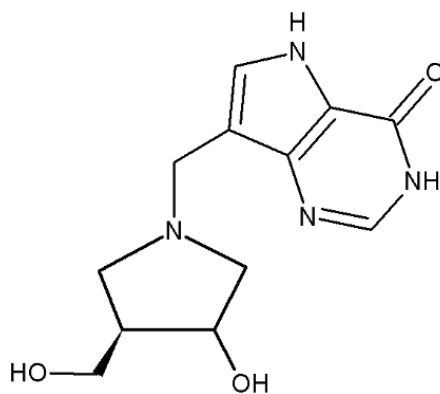
Skupina inhibitorů PNPasy obsahuje několik členů, které ve svém skeletu mají purinový analog 9-deazahypoxantin. Tato skupina se nazývá Immucilliny (Immucillin H a G), jsou to 4'-aza analogy formycinu, který taktéž inhibuje PNPasu a byl zkoumán pro možnost léčby infekcí vyvolaných *Trypanosomou cruzi*.^(9,59)

Immucillin H (BCX-1777, forodesine) systematickým názvem (S)-1-(9-deazahypoxantin-9-yl)-1,4-dideoxy-1,4-imino-D-ribitol, v roce 2011 po dokončení klinických testů byla navržena komercializace forodesinu pro onkologické použití. FDA akceptovala toto léčivo pro léčbu T-buněčného lymfomu a Non-Hodgkinova lymfomu (NHL), což je široká skupina zhoubných nádorových onemocnění krve a mízních uzlin.⁽⁶⁰⁾

V roce 2003 byla patentována syntéza 9-deazahypoxantinu v patentu s číslem US2004/0214840A1. Syntéza 9-deazahypoxantinu byla také popsána v práci Kamath V.P. et al., která byla zaměřená na syntézu PNP inhibitoru BCX-4208. BCX-4208 je ještě účinnější PNP inhibitor než je její strukturní analog Immullicin H, který byl schválen pro léčbu výše uvedených nemocí. BCX-4208 zároveň představuje i účinný inhibitor proliferace lymfocytů. *In vitro* a *in vivo* testy ukázaly, že tato látka má vysoký potenciál pro léčbu autoimunitních onemocnění způsobených poruchami metabolismu T- a B-lymfocytů.⁽⁶¹⁾ Látka zatím nevstoupila do klinického testování, důvodem je příliš nákladná a drahá syntéza (viz. Kamath), obdobně je situace stejná u Immullicinu H, ten je schválen FDA, která jej zařadila do látek ekonomicky nevýhodných. Podrobně je modifikovaná Kamathova syntéza 9-deazahypoxantinu rozepsána v experimentální části.^(60,62)



Obrázek 19. Formycin B a Immucilliny (G a.H).⁽⁹⁾



BCX-4208

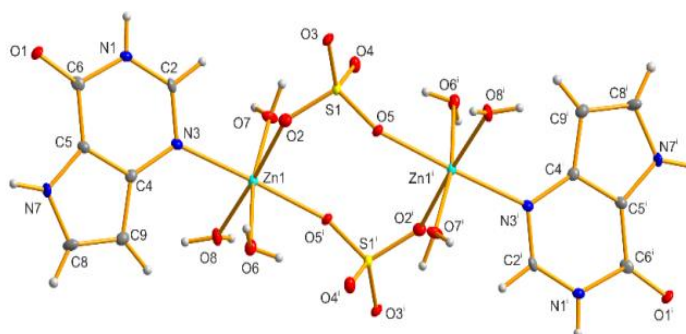
Obrázek 20. Strukturní vzorec BCX-4208 ⁽⁶¹⁾

2.5 Komplexní sloučeniny 9-deazahypoxantinu a jeho derivátu

I přes výše uvedený biologický potenciál 3*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-onu (9dhx) a jeho derivátu (4-alkyloxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidiny), je jejich koordinační chemie stále poměrně nová. První komplexní sloučeniny, kde tyto deriváty vystupují jako ligandy, byly uveřejněny v roce 2014.⁽⁵⁶⁾ Jedná se o tři komplexní sloučeniny $\text{Zn}^{\text{II}}((9\text{dhxH})_2[\text{ZnCl}_4]\cdot\text{H}_2\text{O})$, $[\{\text{Zn}(9\text{dhx})(\text{H}_2\text{O})_3\}_2(\mu\text{-SO}_4)_2]$, $[\text{Zn}(9\text{dhx})\text{Cl}_2]_n$, jejichž studium bylo zaměřeno na objasnění způsobu koordinace 9-deazahypoxantinu a na zjištění jejich potencionální protirakovinné aktivity.

Co se týče koordinačních schopností, bylo zjištěno, že 3*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on může vystupovat jako protonovaný kationt u molekuly $(9\text{dhxH})_2[\text{ZnCl}_4]\cdot\text{H}_2\text{O}$, zároveň může vystupovat 9dhx jako odlišně se koordinující ligand, jak ukázaly komplexy $[\text{Zn}(9\text{dhx})\text{Cl}_2]_n$ a $[\{\text{Zn}(9\text{dhx})(\text{H}_2\text{O})_3\}_2(\mu\text{-SO}_4)_2]$. V případě $[\text{Zn}(9\text{dhx})\text{Cl}_2]_n$ vystupuje 9dhx jako můstkující ligand spojující jednotlivé $[\text{ZnCl}_2]$ jednotky do polymeru, ale u druhého komplexu $[\{\text{Zn}(9\text{dhx})(\text{H}_2\text{O})_3\}_2(\mu\text{-SO}_4)_2]$ se 9dhx koordinuje pře N3 dusík na $\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_3$ jednotku a můstkujícím ligandem je v tomto případě SO_4^{2-} aniont. U těchto komplexů byla testována protinádorová aktivita na buňkách zhoubného melanomu (G361) a rakoviny prostaty (22Rv1), bohužel ani u jednoho z komplexů neměl nižší hodnoty IC_{50} než *cisplatin* [$\text{IC}_{50}=5,3\mu\text{M}$ (G361) a $26,9\mu\text{M}$ (22Rv1)], která v tomto testování byla použita jako srovnávací látka.⁽⁵⁶⁾ V nedávné době se poznatky o zinečnatých komplexech s 9-deazahypoxantinem rozrostly o skupinu komplexů obecného vzorce $[\text{Zn}(\text{L}_n)_2\text{Cl}_2]\cdot\text{Solv}$, kde L_n představuje různě *O*-substituované deriváty 9-deazahypoxantinu ($\text{L}_1= 4\text{-ethoxy-5H-pyrrolo[3,2-}d\text{]pyrimidin}$, $\text{L}_2= 4\text{-isopropoxy-5H-pyrrolo[3,2-}d\text{]pyrimidin}$, $\text{L}_3= 4\text{-$

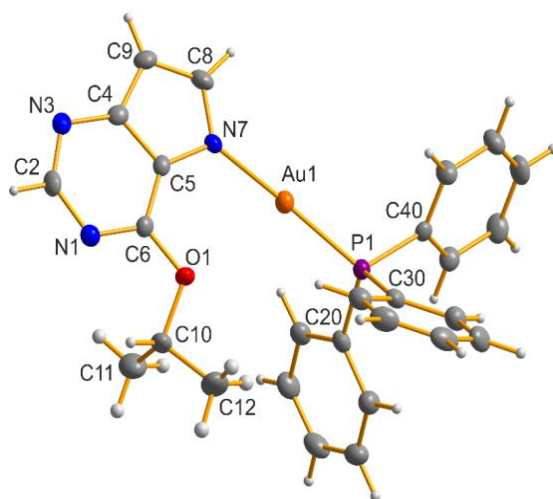
cyklohexylmethoxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin , $L_4 = 4$ -benzyloxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin a $L_5 = 4$ -fenylethyloxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin), $[Zn(L_1)_2Cl_2] \cdot Solv$ je solvatován acetonitrilem CH_3CN a komplexy $[Zn(L_2)_2Cl_2] \cdot Solv$, $[Zn(L_4)_2Cl_2] \cdot Solv$ jsou solvatovány $\frac{1}{2} H_2O$. U komplexu $[Zn(L_1)_2Cl_2] \cdot 2CH_3CN$ byla naměřena i monokrystalová rentgenostrukturní analýza. Výše zmíněné zinečnaté komplexy byly testovány *in vitro* na liniích rakoviny vaječníku (A2780), prostaty (PC3) a adenokarcinomu prostaty (LNCaP). *In vitro* testování bylo vyhodnocováno pomocí kolorimetrického MTT testu. Výsledky testování ukázaly, že komplexy nevykazovaly *in vitro* cytotoxicitu v rozmezí 0,0–50 μM vůči nádorovým buněčným liniím PC3, LNCaP, A2780. Naopak, tyto komplexy ukázaly schopnost zvyšovat celkové množství MMP-2 proteinu (MMP-2 = zinek-dependentní proteináza) a tím významně ovlivňovat množství této aktivované proteinázy.⁽⁶³⁾



deriváty koordinují přes atom N7. U těchto komplexů byla také předpokládána protirakovinná a protizánětlivá aktivita. Protirakovinná aktivita byla testována *in vitro* na buněčných liniích rakoviny prsu (MCF7), osteosarkomu (HOS), děložního čípku (HeLa), vaječníku (A2780), vaječníku s rezistencí na *cisplatinu* (A2780R), prostaty (22Rv1) a dále pak na myeloidní leukémii typu THP-1, melanomu (G361) a adenokarcinomu (A549). Poté byly ještě testovány *in vivo* protizánětlivé účinky na makrofázích v pravených do zadní tlapy potkanů a také *in vitro* na modelu makrofágů aktivovaných lipopolysacharidy (LPS-activated macrophages). Bylo zjištěno, že série komplexů $[\text{Au}(\text{L}_n)(\text{PPh}_3)]$, kdy L jsou 4-alkyloxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidiny, mají výrazné cytotoxické účinky na buňky rakovinných linií MCF7, HOS, A2780, A2780R a 22Rv1. Hodnoty IC_{50} se u všech těchto komplexních sloučenin pohybovaly mezi 0,6–5,3 μM .⁽⁶⁴⁾

Nejvíce účinným komplexem byl vyhodnocen komplex, kde ligandem byl 4-isopropoxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin. Tento komplex je zhruba 20krát účinnější na buňky rakoviny prsu a osteosarkomu než *cisplatina*. Dalším pozitivem těchto sloučenin je, že byly méně toxické pro zdravé lidské hepatocyty (HEP220), tato cytotoxicita na zdravé buňky byla 30krát nižší než cytotoxicita u rakovinných buněk. Další testy, *in vivo* a *in vitro* protizánětlivých účinků, těchto komplexů ukázaly výraznou aktivitu u komplexů s ligandy 4-isopropoxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidinem a 4-phenetyloxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidinem. Oba komplexy vykazovaly aktivitu srovnatelnou s komerčně používaným Auranofinem.⁽⁶⁴⁾

Výše uvedená fakta jsou prvopočátkem dalšího zkoumání různých komplexních sloučenin obsahujících jako ligand různé 4-alkyloxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidiny. Novými směry, kterými se lze ubírat je změna centrálního atomu nebo obměna aniontových ligandů. Další možností zkoumání těchto sloučenin jsou kinetické a biologické studie.



Obrázek 23. Molekulová struktura $[\text{Au}(\text{L}_2)(\text{PPh}_3)]$, (L_2 =4-isopropoxy-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin).⁽⁶⁴⁾

6. Seznam zkratek

A	Adenin
A2780, A2780R	Nádorová linie rakoviny vaječníku a linie resistantní na cisplatinu
A549	Nádorová linie rakoviny plic
ATCC	Nádorová linie rakoviny plic
ATR	Zeslabená úplná reflektance
BCX-1777	Imucillin H, forodensin
BCX-4208	Ulodesin, inhibitor PNP
C	Cytosin
c-myc	Genový regulátor, kóduje transkripční faktor
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DMF	N,N'-dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
HT-29	Nádorová linie tlustého střeva
MS-ESI	Hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem
MS-ICP	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem
IR-FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
G	Guanin
G361	Nádorová linie maligního melanomu
HBL-100	Nádorová linie rakoviny prsu
HeLa	Nádorová linie rakoviny děložního čípku
HEP220	Buněčná linie lidských hepatocytů
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti
HOS	Nádorová linie rakoviny osteosarkomu
HPLC	Vysokúčinná kapalinová chromatografie
IC ₅₀	Polovina maximální inhibiční koncentrace
LN-cap	Nádorová linie rakoviny prostaty
LPS	Liposacharidy aktivované makrofágy
LS-174	Nádorová linie rakoviny tlustého střeva
MDA-MB-231	Nádorová linie rakoviny prsu
MCF7	Nádorová linie rakoviny prsu

MMT test	Kolorimetrické stanovení apoptózy buněk
MMP-2	Zinek dependentní proteinasa
MRC5	Fibroblasty plicní tkáně
NER	Opravný mechanismus DNA
NHL	Non-Hodgkinův lymfom
NMR	Nukleární magnetická rezonance
PC3	Nádorová linie rakoviny prostaty
PNP	Purin nukleosid fosforyláza, enzym metabolismu purinů
RAMAN	Ramanova spektrometrie
RNA	Ribonukleová kyselina
T	Thymin
THP-1	Myeloidní leukemie
TLC	Tenkovrstvá kapalinová chromatografie
TG/DTA	Simultánní termogravimetrie a diferenční termická analýza
T-47D	Nádorová linie rakoviny prsu
WiDr	Nádorová linie rakoviny tlustého střeva
WHO	Světová zdravotnická organizace
22Rv1	Nádorová linie rakoviny prostaty

7. Literatura

1. Toužín, J., *Stručný přehled chemie prvků*, 2008, Tribun EU, ISBN 978-80-7399-5270.
2. Cotton, F. A., Wilkinson, G., *Anorganická chemie*, 1973, Academia.
3. Heslop, R. B., Jones, K., *Anorganická chemie*, 1982, SNTL.
4. Greenwood, N. N., Ernschaw, A., *Chemie prvků II*, 1993, Informatorium, ISBN 80-85427-38-9.
5. Housecraft, E. C., Sharpe, G. A., *Anorganická chemie*, 2014, VŠCHT, ISBN 978-80-7080-872-6.
6. Kameníček, J., Šindelář, Z., Pastorek, R., Kašpárek, F., *Anorganická chemie*, 2009, ISBN 978-80-244-2387-6.
7. Alessio, E., *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, 2011, Wiley-VCH, ISBN 978-3-527-32631-0.
8. Vokurka, M., Hugo, J., *Velký lékařský slovník*, 2009, Maxdorf, ISBN 978-80-7345-202-5.
9. Holý, A., *Principy bioorganické chemie ve vývoji antivirotik a cytostatik*, 2004, UPOL, ISBN 80-244-0855-4.
10. <http://www.linkos.cz/farmakoterapie/databaze-onkologickych-leciv/> (11. 6. 2015).
11. Stewart, B., Wild, C. P., *World Cancer Report*, 2014, IARC Nonserial Publication, ISBN 978-92-8320-429-9
12. Hampl, F., Rádl, S., Paleček, J., *Farmakochemie*, 2007, 2. vydání, VŠCHT, ISBN 978-80-7080-639-5.
13. Rosenberg, B., VanCamp, L., Trosko, J. E., *Nature*, 1969, 222, 385–386.
14. Wilson, J. J., Lippard, S. J., *Chemical Reviews*, 2014, 114, 4470–4495.
15. Lippard, S. J., Bertini, I., Gray, H. B., *Metals in Medicine In Bioinorganic Chemistry*, 1994, Sausalito, 505–583.
16. <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?kod=0163318> (7. 7. 2015).
17. Todd, R. C., Lippard, S. J., *Metallomics*, 2009, 1, 280–291.

18. Ishida, S., Lee, J., Thiele, D. J., Herskowitz, I., *The National Academy of Science*, 2002, 99, 14298–14302.
19. Gielem, M., Tiekink, R. T. E., *Metallotherapeutic Drug and Metal-based diagnostic agents*, 2005, Wiley, ISBN 0–470–86403–6.
20. Villani, G., Le Gac, N. T., Hoffmann, J. S., *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, 1999, Wiley, ISBN 978–3–906–39042–0.
21. Kartalou, M., Essigmann, J. M., *Mutation Research*, 2001, 478, 1–21.
22. Koolman, J., Röhm K. H., *Barevný atlas biochemie*, 2012, Grada, ISBN 978–80–247–2977–0.
23. Komeda, S., Casini, A., *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2012, 12, 219–235.
24. Medici, S., Peana, M., Nurchi, V. M., Lachowicz, J. I., Crisponi, G., Zoroddu, M. A., *Coordination Chemistry Reviews*, 2015, 284, 329–350.
25. Slíva, J., Votava, M., *Farmakologie*, 2011, ISBN 978-80-7387-500-8
26. Blommaert, F. A., Dijk-Knijnenburg, H. C. M., Dijt, F. J., Engelse, L., Baan, R. A., Berends, F., Fichtinger-Schepman, A. M., *Biochemistry*, 1995, 34, 8474–8480.
27. Lokich, J., *Cancer Invest*, 2001, 19, 756–760.
28. Lewi, F., Metzger, G., Massari, C., Milano, G., *Clin. Pharmacokinetics*, 2000, 38, 1–21.
29. O'Dwyer, P. J., Stevenson, P. J., Johnson, S. W., *Drugs*, 2000, 59, 19–27.
30. Monk, B. J., Alberts, D. S., Burger, R. A., *Gyn. Onco.*, 2005, 71, 308–312.
31. Ledermann, J. A., Parmak, M. K., Colombo, M., *The Lancet*, 2003, 361, 2199–2206.
32. Dabrowiak, J. C., *Metals in medicine*, 2009, Wiley, ISBN: 978–0–470–68196–1.
33. McKeage, M. J., *Lobaplatin: A new antitumour platinum drug*, *Expert Opin. Inv. Drugs* 2001, 10, 119–128.
34. Pizarro, A. M., McQuitty, R. J., Mackay, F. S., Zhao, Y., Woods, J. A., Sadler, P. J., *Chem. Med. Chem.*, 2014, 1, 1169–1175.
35. Hall, M. D., Dolman, R., Hambley, T. W., *Metal ions in Biological Systems*, 2004, 42, Fontis Media S. A., ISBN: 0–8248–5494–8.

36. Hall, M. D., Foran, G. J., Zhang, M., Beale, P. J., Hambley T. W., *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 7524–7525.
37. Davies, M. S., Hall, M. D., Berness-Price, S. J., Hambley, T. W., *Inorg. Chem.*, 2008, 47, 7673–7680.
38. Muhammad, N., Guo, Z., *Current Opinion in Chem. Biol.*, 2014, 19, 144–153.
39. Centnar, J., Wilding, G., McNeel, N., LoConte, N. K., McFarland, A. T., Eickhoff, J., Liu, G., *Urologie on Oncology*, 2013, 31, 436–441.
40. Messori, L., Casini, A., Gabbiani, Ch., Michelucci, E., Cubo, L., Rios-Luci, C., Padrón, J. M., Navarro-Ranniger, C., Quiroga, *ACS Med. Chem. Lett.*, 2010, 1, 381.
41. Štarha, P., Trávníček, Z., *Užitný vzor 27 031*, 2014.
42. Łakomska, I., Fandzloch, M., Popławska, B., Sitkowski, J., *Spectrochim. Acta A*, 2012, 91, 126–129.
43. Ye, Q. S., Xie, M. J., Liu, W. P., Chen, X. Z., Yu, J., Chang, Q. W., Hou, S. Q., *Chem. Pharm. Bull.*, 2009, 424–427.
44. Patent US 20140057887A1, spis WO 2012/085475.
45. Hall, J. R., Swile, G. A., *Australian Journal of Chemistry*, 1971, 423–426.
46. Savic, A., Filipovic, L., Aranajilovic, S., Doicinovic, B., Radulovic, S., Sabo., T. J., Grguric-Sipka, S., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 372–384.
47. Marina, P., Kratochwil, N. A., Sadler, P. J., *Journal of Analytical Atomic Spektrometry*, 1999, 633–637.
48. Kwang, H., *Zeitschrift für Kristallographie*, 2014, 165–166.
49. Gonzales-Montiel, S., Martinez-Otero, D., Andrade-Lopez, N., Alvarado-Rodriguez, J. G., Carmona-Pichardo, M., Cruz-Barbolla, J., Pandiyan, T., Pineda, L. W., *Polyhedron*, 2015, 181–193.
50. Bennet, M. A., Kouwenhoven, H. W., Lewis, J., Nyholm, R. S., *Journal of the Chemical Society*, 1964, 4570–4577.
51. Biswa-Nath, G., Lentz, D., Schlecht, S., *New Journal of Chemistry*, 2015, 3536–3542.

52. Johnstone, T. C., Lippard, S. J., *Chimica Acta*, 2015, 2015, 254-259.
53. Imai, K., *Chem. Pharm. Bull.*, 1964, 12, 1030-1042.
54. Otmar, M., Masojídková, M., Votruba, I., Holý, A., *Bioorg. Med. Chem.*, 2004, 12, 3187-3195.
55. Khalaf, A., Huggan, J. K., Suckling, C. J., Gibson, C. L., Stewart, K., Giordani, F., Barret, M. P., Wong, P. E., Barrack, K. L., Hunter, W. N., *J. Med. Chem.*, 2014, 57, 6479-6494.
56. Galíková, J., Trávníček, Z., *Polyhedron*, 2014, 79, 269–276.
57. Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., *Essential Cell Biology*, 1997, Garland, ISBN 081–532–9717.
58. Bantia, S., Miller, P. J., Parker, C. D., *Inter. Immunopharm.*, 2001, 1, 1199–1210.
59. McCabe, R. B., Remington, J. S., Araujo, F. G., *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1985, p. 491-494.
60. <http://www.biocryst.com/forodesine> (17. 6. 2015).
61. Bantia, S., Parker, C., Upshaw, R., Cunningham, A., Kotian, P., Kilpatrick, J. M., Morris, P., Chand, P., Babu, Y. S., *International Immunopharmacology*, 2010, 10, 784-790.
62. Kamath, V. P., Juarez-Brambila, J. J., Morris, C. B., Winslow, C. D., Jr.; Morris, P. E., *Org. Process Res. Dev.*, 2009, 13, 928–932.
63. Gálíková J., Hošek, J., Trávníček, Z., *Inorganica Chimica Acta*, 2015, 67-73.
64. Vančo, J., Gálíková, J., Hošek, J., Dvořák, Z., Paráková, L., Trávníček, Z., *Ploseone*, 2014, vol. 9, 10.
65. Nakamoto, K., *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Part B: Applications in Coordination, Organometallic and Bioinorganic Chemistry*, 5th ed., 1997, Wiley, ISBN: 978–0–471–74493–1.
66. Novotná, R., et al., *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, 2013, 158.
67. Červinka, O., Dědek, V., Ferles, M., *Organická chemie*, 1970, SNTL.
68. Dhara, S. C., *Indian J. Chem.*, 1970, 8, 193–194.

69. Geary, W. J., *Coord. Chem. Rev.*, 1970, 82–122.
70. Tessier, Ch., Rochon, F.D., *Inorganica Chimica Acta*, 1999, 295, 25 – 38.
71. Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., Weil, P. A., *Harperova Ilustrovaná Biochemie*, 2012, Galén, ISBN 978-80-7262-907-7.
72. <http://lekarske.slovníky.cz/lexikon-pojem/kinazy-1> (6. 6. 2015).
73. Peyrone, M., *Über die Einwirkung des Ammoniaks auf Platinchlorür*, *Ann. Chem. Pharm.*, 1844, 51
74. Howe, J. L., Holtz, H. C., *Bibliography of the platinum group. Platinum, Palladium, Iridium, Rhodium, Osmium, Ruthenium 1748-1917*, 1919, Washington