

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

**Přírodovědecká fakulta
Katedra anorganické chemie**



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Komplexní sloučeniny zlata s různě
substituovanými deriváty hypoxantinu s
potenciální biologickou aktivitou**

Vypracoval:	Bc. Jakub Hutýra
Vedoucí diplomové práce:	Mgr. Radka Křikavová, Ph.D.
Studijní obor:	N1407 Chemie
Studijní program:	1401T002 Anorganická Chemie

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci napsal zcela samostatně pod odborným vedením
Mgr. Radky Křikavové, PhD a použil zdrojů uvedených v seznamu literatury.

V Olomouci dne

.....

Vlastnoruční podpis

Chtěl bych tímto poděkovat vedoucí mé diplomové práce Mgr. Radce Křikavové, PhD a to za poskytnuté rady a věnovaný čas při řešení nastalých problémů, možnosti tvořit pod jejím odborným vedením tuto práci a zároveň naměření NMR spekter. Dále bych chtěl poděkovat RNDr. Janě Gálikové, PhD za naměřená infračervená spektra, RNDr. Bohuslavu Drahošovi za změření hmotnostních spekter, Mgr. Pavlu Štarhovi, PhD za provedení termické analýzy, prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, PhD za naměření a vyhodnocení rentgenostrukturní analýzy. Zvláštní poděkování patří mým rodičům za jejich všestrannou podporu během celého studia.

Předložená diplomová práce vznikla za podpory následujících projektů Interní grantové agentury Univerzity Palackého:

PrF_2012_009 *Komplexy přechodných kovů s aplikačním potenciálem*, hlavní řešitel: Prof. RNDr. Zdeněk Trávníček, Ph.D.

PrF_2013_015 *Studium koordinačních sloučenin s medicínálně využitelnými a magneticky zajímavými vlastnostmi*, hlavní řešitel: Prof. RNDr. Zdeněk Trávníček, Ph.D.

PrF_2014_009 *Medicínálně využitelné komplexní sloučeniny a magneticky zajímavé komplexy*, hlavní řešitel: Prof. RNDr. Zdeněk Trávníček, Ph.D.

OBSAH

1. ÚVOD	1
2. TEORETICKÁ ČÁST	2
2.1 Zlato	3
2.1.1 Fyzikální a chemické vlastnosti zlata.....	3
2.2 Oxidační stavy zlata v jeho sloučeninách	4
2.2.1 Oxidační stavy nižší než +I.....	4
2.2.2 Oxidační stav +I.....	4
2.2.3 Oxidační stav +II.....	4
2.2.4 Oxidační stav +III	5
2.2.5 Oxidační stavy vyšší než +III	5
2.3 Hypoxantin.....	6
2.3.1 Biologicky aktivní deriváty purinu	6
2.3.2 Terapeutické cíle derivátů purinů	7
2.3.2.1 Cyklin-dependentní kinázy	7
2.3.2.2 O ⁶ -alkylguanin-DNA alkyltransferáza.....	9
2.4 Terapeutické použití sloučenin zlata.....	9
2.4.1 Revmatoidní artritida	10
2.4.1.1 Thioredoxin reduktáza	11
2.4.2 Rakovina	12
2.4.2.1 Auranofin a jeho analoga	13
2.4.2.2 Lipofilní iontové zlatné fosfiny.....	14
2.4.2.3 Zlatné komplexy s N-heterocyklickými karbeny.....	15
2.4.3 Aktivita proti HIV a AIDS.....	15
2.4.4 Komplexy zlata jako antiparazitika.....	16
2.5 Farmakologie sloučenin zlata.....	17
2.5.1 Reakce ligandové výměny	17
2.5.2 Auranofin a jeho analoga	18

2.5.3 Kyanidové metabolity	19
2.5.4 Oxidační stavy zlata <i>in vivo</i>	20
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	21
4. VÝSLEDKY A DISKUSE	22
5. ZÁVĚR.....	23
6. SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	24
7. CITOVANÁ LITERATURA	26

1.ÚVOD

Nezveřejněno

2.TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Zlato

Zlato (*lat. aurum*) je velmi vzácný prvek v zemské kůře, patří mezi takzvané mincovní kovy spolu s mědí a stříbrem kvůli jejich hlavnímu použití jako platidla již dávno před příchodem zlatých mincí v Egyptě okolo roku 3400 př.n.l. V přírodě se zlato vyskytuje převážně jako elementární v podobě valounů. Do roku 1830 hlavní podíl burzovního zlata pocházel z antických a jihoamerických civilizací, tedy šlo o recyklaci zlata a průměrná roční produkce nového zlata nebyla více než 12 tun. Poté došlo k objevu zásob zlata na Sibiři a vypukly „zlaté horečky“ v Kalifornii (to byl také důvod, proč se americké západní pobřeží vůbec osídlilo), Austrálii, Kanadě a Aljašce. Do roku 1890 se produkce zlata zvýšila na 150 tun ročně a dnes činí přibližně 2300 tun. ⁽⁸⁾

2.1.1 Fyzikální a chemické vlastnosti zlata

Jediným v přírodě se vyskytujícím izotopem je ^{197}Au , jeho elektronegativita má hodnotu 2,4, tedy srovnatelnou se selenem a blízkou síře a jódu. Elektronová afinita činí 222,8 kJ/mol a důsledkem je například chování sloučeniny CsAu, která má více vlastností podobných soli než slitině. Své jméno dostalo zlato kvůli své zlaté barvě, lze jej však získat i jako modré, červené nebo fialové koloidní roztoky v závislosti na použitém redukčním činidle. Pozoruhodně stálá je Cassiova purpura vzniklá redukcí AuCl_3 pomocí SnCl_2 , jedná se o elementární zlato vyloučené na povrchu částic SnO_2 poskytuje charakteristické zbarvení. Pomocí Cassiovy purpury se barví sklo a keramika do rubínově červené barvy.

Reaktivita ve skupině Cu, Ag a Au klesá směrem dolů a zlato se svou inertností blíží platinovým kovům. Na suchém vzduchu při pokojové teplotě je zlato stálé a jako jediný kov nereaguje přímo se sírou. Všeobecně reakce elementárního zlata vyžaduje přítomnost oxidačního činidla. Zlato se z kyselin rozpouští pouze směsí HCl a HNO_3 v poměru 3:1 a koncentrované kyselině selenové za varu. Lépe jej však rozpustit v roztoku Cl_2 a $\text{Me}_3\text{NH}^+\text{Cl}^-$ v acetonitrilu. Průmyslově se využívá reakce zlata s vodným roztokem NaCN za přítomnosti kyslíku. Vzniká rozpustný kyanokomplex $\text{Na}[\text{Au}(\text{CN})_2]$, který tak lze snadno oddělit od hlušiny. Poté se zinkem vyredukuje elementární zlato. ⁽⁸⁾

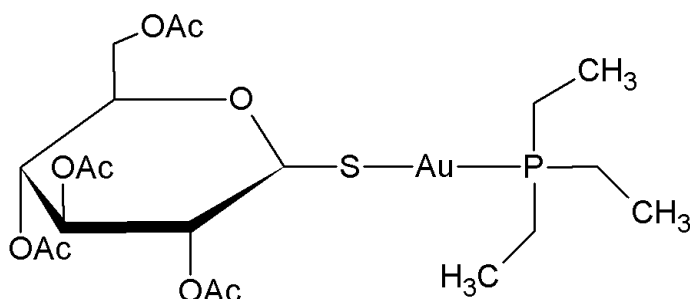
2.2 Oxidační stavy zlata v jeho sloučeninách

2.2.1 Oxidační stavy nižší než +I

Tento oxidační stav se vyskytuje v koordinačních sloučeninách obsahujících vazbu Au-Au, jako je například $[(\text{Ph}_3\text{P})\text{Au}\{\text{Au}(\text{PPh}_3)\}_7]^{2+}$ a nabývá tak zlomkových oxidačních stavů mezi 0 a +I. ⁽⁸⁾

2.2.2 Oxidační stav +I

Tento oxidační stav je u zlata poměrně běžný a vyskytuje se ve velkém množství sloučenin. Mezi ně patří například AuX ($\text{X}=\text{F}, \text{Cl}, \text{Br}$), Au_2S , nebo již zmíněný $\text{Na}[\text{Au}(\text{CN})_2]$. Široce zkoumané jsou komplexní sloučeniny s organickými fosfiny (obecně PR_3) pro své biologické účinky. Byly syntetizovány komplexy od jednoduchých $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)]$ až po složitější, kdy je chloridový ligand substituován organickým ligandem. Mezi zlatné fosfinové komplexy patří některé, které jsou používány v medicíně. Jedním z nich je Auranofin (*obr. 3*). ⁽⁸⁾

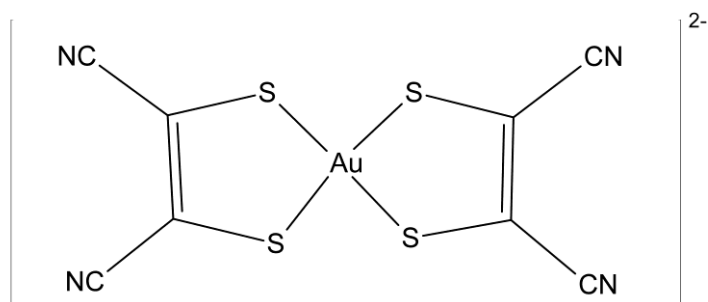


Obrázek 3: Auranofin

2.2.3 Oxidační stav +II

Oxidační stav +II je u zlata nevýznamný, ve velké většině sloučenin, kdy formálně vychází oxidační stav zlata +II, se ve skutečnosti jedná o mixed-valence sloučeniny $\text{Au}^{\text{I}}/\text{Au}^{\text{III}}$. Příkladem mohou být $\text{Au}^{\text{I}}\text{Au}^{\text{III}}(\text{SO}_4)_2$ nebo $\text{Cs}_2[\text{Au}^{\text{I}}\text{Cl}_2][\text{Au}^{\text{III}}\text{Cl}_4]$ obsahující jak lineárně koordinovaný Au^{I} , tak Au^{III} s tetragonální stereochemií. Komplexů majících ve své struktuře

opravdu atom zlata v oxidačním stupni +II je pouze málo. Jedním z nich je například komplex, kde vystupuje jako ligand maleonitrildithiolát. (obr. 4)⁽⁸⁾



Obrázek 4: Komplex zlata s oxidačním stavem +II, maleonitrildithiolát zlatnatý

2.2.4 Oxidační stav +III

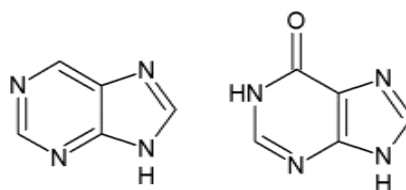
Zlato se v největší míře vyskytuje v tomto oxidačním stavu a často bývá srovnáváno s izoelektronovou Pt^{II} , protože čtvercové komplexy mající konfiguraci d^8 by mohly být ekvivalenty cisplatiny. Nejběžnější cesta k přípravě sloučeniny v tomto oxidačním stavu začíná rozpuštěním kovového zlata v lučavce královské a po odpaření získaný $\text{H}[\text{AuCl}_4] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ se použije k dalším reakcím. Vyrobit můžeme oxid Au_2O_3 , sulfid Au_2S_3 , komplexní halogenidy $[\text{AuX}_4]$ ($\text{X}=\text{F}, \text{Cl}, \text{Br}$) případně $[\text{AuF}_6]^{3-}$ a nepřeberné množství komplexních sloučenin.⁽⁸⁾

2.2.5 Oxidační stavy vyšší než +III

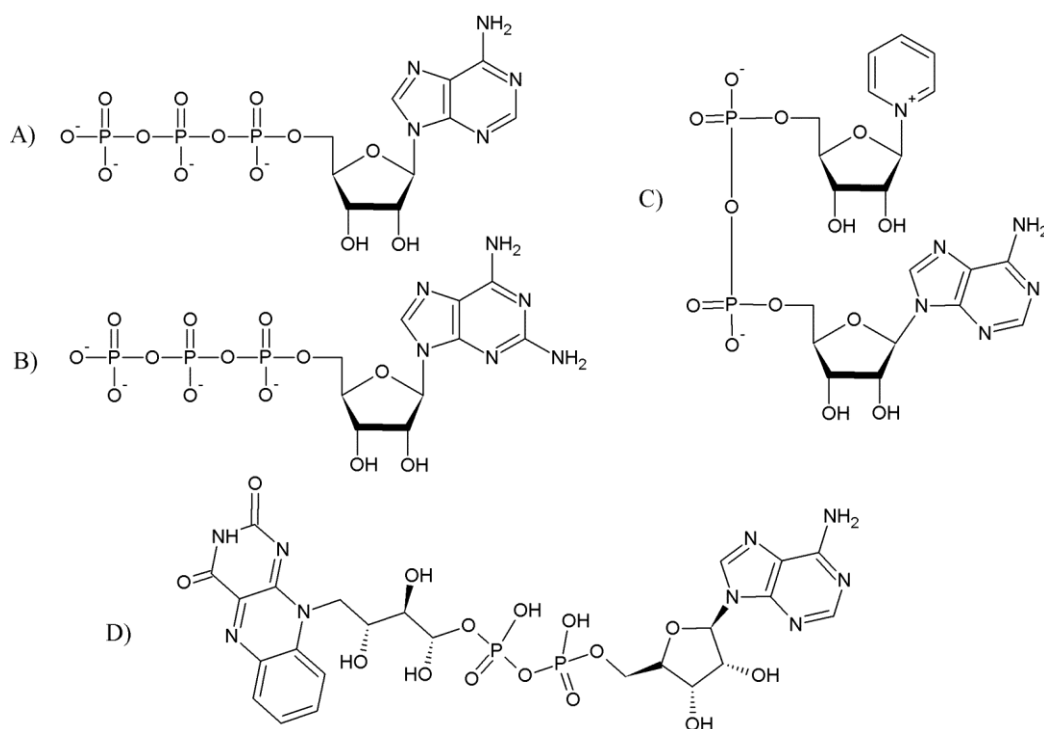
Jedinou sloučeninou s vyšším oxidačním stavem než +III je AuF_5 případně $[\text{Xe}_2\text{F}_3][\text{AuF}_6]$. Fluorid zlatičný získáme reakcí kovového zlata v atmosféře kyslíku a fluoru při 370°C jako nestálý, polymerní tmavě červený prášek. Má tendenci disociovat na AuF_3 a pokud jej vystavíme XeF_2 v prostředí bezvodého fluorovodíku za teploty 0°C získáme žluto-oranžové krystalky $[\text{Xe}_2\text{F}_3][\text{AuF}_6]$.⁽⁸⁾

2.3 Hypoxantin

Hypoxantin neboli 1*H*-purin-6(9*H*)-on (obr. 5) je přírodně se vyskytující látka u rostlin i živočichů. Podle systematického názvu je zřejmé, že hypoxantin je odvozen od purinu (obr. 5) jehož skelet je obsažen nejen v hypoxantinu, ale v nepřeberném množství dalších důležitých látek v přírodě. Jedná se například o nukleové báze případně ko-faktory umožňující průběh biologických procesů jako ATP, GTP, NAD, FAD (obr. 6) a další.⁽⁹⁾



Obrázek 5: Purin (vlevo) a Hypoxantin



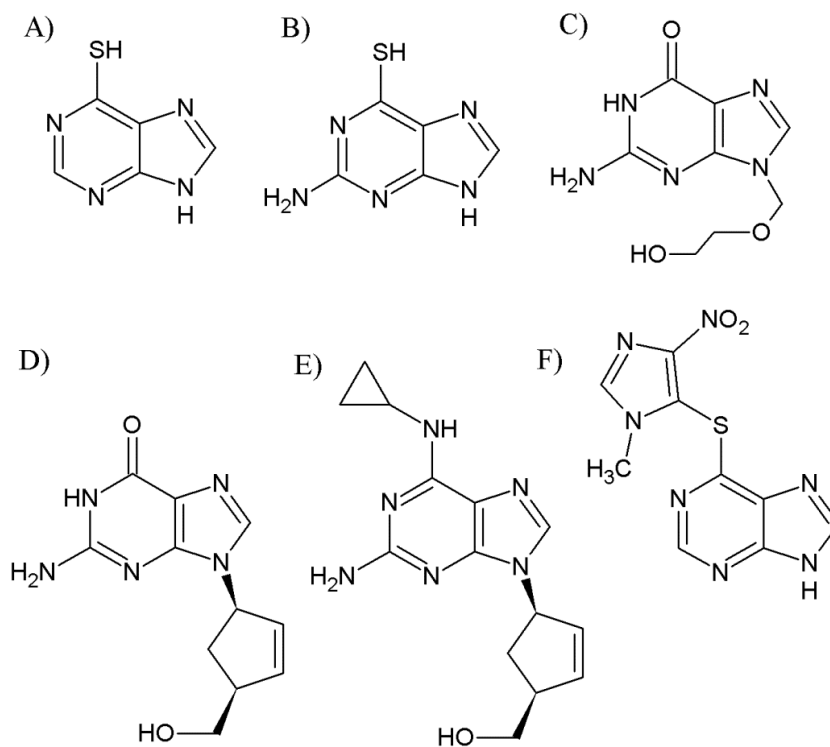
Obrázek 6: Biologicky významné látky obsahující purinový skelet

ATP (A), GTP (B), NAD (C), FAD (D)

2.3.1 Biologicky aktivní deriváty purinu

Mezi oblastí, kde se sloučeniny mající ve své struktuře purinový skelet uplatňují jako léčiva, patří například léčba rakoviny. Komerčně dostupnými přípravky pro léčbu rakoviny jsou Purinethol (6-merkaptopurin) a Lanvis (6-thioguanin). Další oblastí jsou virová onemocnění jako herpes nebo AIDS. Používanými léky jsou Acyklovir, Carbovir a Abacavir. Azathioprin prodáváný pod názvem Imuran se používá u pacientů po transplantaci orgánů.

Snižuje odpověď imunitního systému vůči transplantovanému orgánu, aby nedošlo k jeho odmítnutí (Obr.7).⁽⁹⁾



Obrázek 7: A) 6-merkaptopurin B) 6-thioguanin C) Acyklovir D) Carbovir E) Abacavir F) Azathioprine

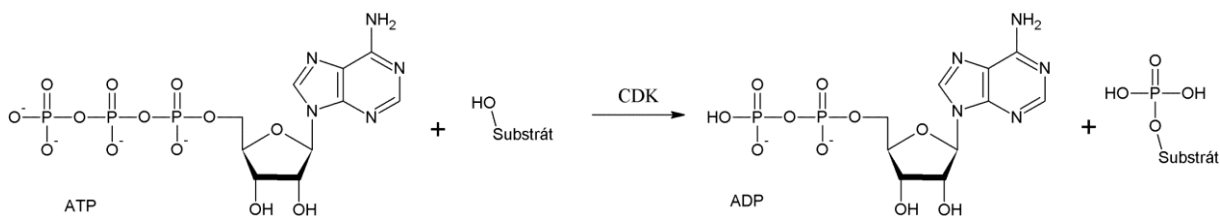
2.3.2 Terapeutické cíle derivátů purinů

Mezi hlavní cíle purinových derivátů patří enzymy hrající v buňce důležitou roli. Příkladem může být skupina enzymů cyklin-dependentních kináz (CDK) nebo O⁶-alkylguanin-DNA alkyltransferáza (AGT). Ovlivněním funkce těchto enzymů ve výsledku dojde k úmrtí buňky, což je zvláště v případě nádorových buněk výhodné.

2.3.2.1 Cyklin-dependentní kinázy

Jakou funkci mají CDK? Jak jejich název napovídá, jsou cyklin-dependentní, tedy závislé na cyklinu. Cykliny jsou skupina proteinů řídících cyklus dělení buňky prostřednictvím aktivace a deaktivace určité CDK. CDK jsou kinázy a jejich biologická role je přenést molekulu fosfátu z vysokoenergetické molekuly, jakou je například ATP na

molekulu substrátu. Přenosem fosfátu se substrát aktivuje pro další děje v organismu (obr. 8). Právě zde vstupují do hry inhibitory CDK. Molekula ATP v sobě obsahuje purinový derivát – adenin. Inhibitory vycházející z purinového skeletu proto s ATP soupeří o obsazení aktivního místa CDK. Pokud připravený derivát poskytuje pevnější vazbu s aktivním místem než

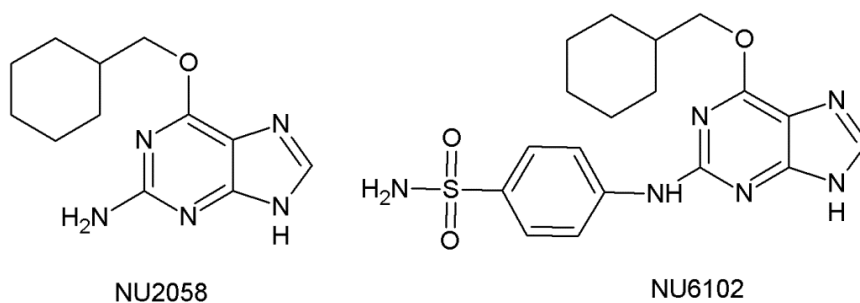


Obr.8: Schéma obecného mechanismu kináz

molekula ATP, dochází k inhibici. ⁽⁹⁾ Různou substitucí purinového jádra lze modulovat interakce s aminokyselinovými jednotkami enzymu v jeho aktivním místě a tedy upravit jeho schopnost inhibice. ⁽¹⁰⁾

CDK byly zkoumány jako cíl nádorové terapie a výsledky provedených studií *in vitro* i *in vivo* potvrzují, že inhibice CDK má pozitivní přínos při nádorové léčbě. ⁽¹⁰⁾ V rakoviných buňkách dochází k narušení mnoha důležitých mechanismů, mezi něž patří i dělení buňky. Narušením kontroly CDK nad dělením buňky dojde k neregulovanému nádorovému bujení. ⁽¹¹⁾

Mezi efektivní inhibitory CDK z řad derivátů hypoxantinu patří 2-amino-*O*¹-cyklohexylmethylhypoxantin (NU2058) s hodnotou inhibice CDK2 $IC_{50} = 17\mu M$. Další substitucí se dosáhlo zlepšení interakcí v aktivním místě a tedy snížení hodnot IC_{50} až na 5nM u NU6102. (Obr. 9) Dalším zástupcem inhibitorů CDK je *O*¹-benzylhypoxantin, který je v současné době ve druhé fázi klinických testů jako protirakovinný přípravek. ⁽¹¹⁾



Obr. 9: Inhibitory CDK2

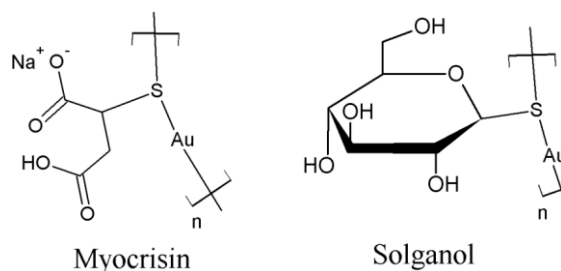
2.3.2.2 O^6 -alkylguanin-DNA alkyltransferáza

Rakovinné, mutagenní a cytotoxické procesy v buňce jsou nezdívka kdy zahájeny navázáním aduktu na O^6 pozici guaninu v DNA řetězci. Odstranění tohoto aduktu musí proběhnout předtím, než dojde k transkripci do RNA podle tohoto pozměněného řetězce DNA. O opravný proces se stará O^6 -alkylguanin-DNA alkyltransferáza (AGT), ta katalyzuje přenos navázaného O^6 aduktu guaninu na cysteinovou jednotku obsaženou ve svém aktivním místě, čímž uvede řetězec DNA do původního stavu. AGT opravuje DNA jak ve zdravých, tak v rakovinných buňkách. Výhodné je tedy kombinovat inhibici AGT spolu s dalšími látkami tvořícími adukty s DNA a zvýšit tak jejich účinnost. Příkladem léčiv poskytujícím adukty s DNA jsou komplexy odvozené od cisplatiny. ⁽¹²⁾

2.4 Terapeutické použití sloučenin zlata

Už od pradávna se zlatu přisuzoval léčebný charakter. Zlaté amulety, talismany nebo medailonky byly používány k ochraně před nemocemi a zlými duchy. V mnoha případech byly nemocným lidem podávány lektvary obsahující práškové zlato. ⁽¹³⁾ Moderní pozůstatek těchto léčebných procedur je takzvaná „Zlatá voda“ obsahující vločky zlata, které mohou být protřepáním suspendovány. Nebylo však prokázáno, že by měla nějaký léčebný efekt. Naopak sloučeniny zlata v různých oxidačních stavech, především +I a +III, se při léčbě používají. ^(14,15)

Zájem o sloučeniny zlata se zvýšil po objevu *in vitro* protituberkulózních vlastností kyanidu zlatného Robertem Kochem v roce 1890. Protože je kyanid zlatný příliš toxický pro použití v lidské medicíně, výzkum se zaměřil na zlatné thiolátové soli pro léčbu tuberkulózy. ⁽¹⁶⁾ (obr. 10) Landé si všiml, že u kontrolní skupiny pacientů netrpících



Obr. 10: Thiolátové soli Myocrisin a Solganol

tuberkulózu léčba sloučeninami zlata vedla ke značné redukci bolesti kloubů. To vedlo francouzského lékaře Jacquese Forestiera k zahájení výzkumu léčby revmatoidní artritidy (RA) pomocí sloučenin zlata a své pozitivní výsledky publikoval v roce 1935. Poté se však řadu let objevovaly protichůdné výsledky snažící se efektivitu sloučenin zlata k léčbě RA

vyvrátit. Avšak v roce 1960 publikovala Imperiální rada pro revmatismus výsledky rozsáhlých testů za přísně kontrolovaných podmínek, které potvrdily, že sloučeniny zlata mají pozitivní efekt při léčbě RA. ⁽¹⁷⁾ Další pokrok nastal v 80letech minulého století objevem auranofinu Suttonem a jeho spolupracovníky. Auranofin je ve vodě rozpustný a tedy jej lze podávat orálně ve formě pilulek. Thiolátové soli, které jsou polymerní, se podávají injekčně. Účinnost léčby není tak dobrá jako u thiolátů zlatných, velkým pozitivem však je značné potlačení nežádoucích imunologických vedlejších efektů. I tak se však 100 let od uvedení do praxe používají převážně thioláty zlatné v léčbě RA. ⁽¹⁸⁾ V polovině 80. let minulého století se objevily také první zprávy o cytotoxických účincích auranofinu *in vitro*. To vedlo k identifikaci skupiny fosfinů zlatných jako kancerostatik. Přibližně ve stejné době se začaly zkoumat první sloučeniny zlatité jako potencionální protinádorová léčiva. Stimulem byla idea, že čtvercové zlatité komplexy s konfigurací d^8 , které jsou isoelektronové s Pt^{II} mohou imitovat cytostaticky aktivní cisplatinu. Avšak kromě několika zlatitých komplexů se nejednalo o nijak převratnou skupinu komplexů. ⁽¹⁹⁾

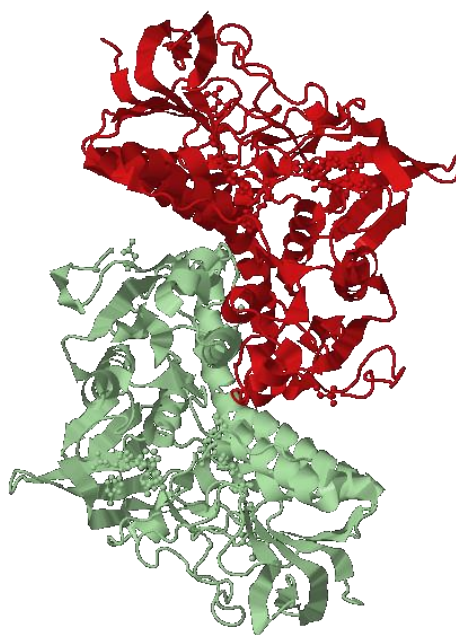
2.4.1 Revmatoidní artritida

Revmatoidní artritida je chronické zánětlivé onemocnění charakteristické přesunem aktivovaných fagocytů a leukocytů do synoviální tkáně, tedy tkáně obklopující klouby. Projevem je destrukce chrupavky a otok kloubu. Výzkum naznačuje, že sloučeniny zlata mají více způsobů účinku proti artritidě. ⁽²⁰⁾ Jedním z nich je ovlivnění transdukce (přenos genetické informace pomocí virových částic) makrofágů a indukce prozánětlivých cytokinů. Cytokiny jsou nízkomolekulární peptidy, proteiny nebo glykoproteiny mající funkci mediátorů v zánětlivých onemocněních. Hlavními cytokiny u RA jsou tumor nekrotizující faktor alfa (tumor necrosis factor, TNF- α) a interleukin-1 (IL-1). Ukázalo se, že sloučeniny zlata sehrávají svou roli ve více fázích imunitní odpovědi. V počáteční fázi je sloučenina zlata čerpána do makrofágu a inhibuje transdukci zvláště peptidových antigenů obsahujících cysteinové a methioninové jednotky. ^(21,22) Zlato se akumuluje v lysozomech synoviálních buněk a makrofázích, kde formuje ložisko známé jako aurosom. Pomocí EXAFS spektroskopie (Extended X-Ray Absorption Fine Structure) bylo zjištěno, že aurosomy jsou složeny z jednotek obsahujících vazbu S-Au^I-S. ⁽²³⁾ Studie z poslední doby se zaměřují na porozumění mechanismu inhibice cathepsinu B auranofinem a zlepšení účinku záměnou fosfinového ligandu. ^(24,25,26) Cathepsiny K a S jsou zásadní v případě zánětlivých a

devastujících projevů artritidy a jak auranofin tak thiomalát zlatný je dokázkou efektivně inhibovat. Krystalová struktura komplexu cathepsinu K s thiomalátem zlatným prokázala lineární vazbu S-Au-S. Atom zlata je koordinován na cystein v aktivním místě za zachování koordinovaného thiomalátu.⁽²⁷⁾

2.4.1.1 Thioredoxin reduktáza

Thioredoxin reduktáza (TrxR) (Obr. 11) je homodimerní protein patřící do rodiny enzymů příbuzných glutathion reduktáze. Jejím úkolem je katalyzovat NADPH-závislou redukci thioredoxin disulfidu (Trx) a mnoha dalších oxidovaných látek uvnitř buňky. Trx byla identifikována v různých živočišných druzích jako například v parazitech způsobujících malárii *Plasmodium falciparum*, *Drosophila melanogaster* a také samozřejmě u člověka. TrxR má širokou škálu substrátů, protože je začleněn ve velkém počtu metabolických drah jako například syntéza nukleotidů nebo antioxidantní ochrana buňky, ale také je součástí patofyziologických změn při nádorových onemocněních, infekcích, revmatoidní artritidě a dalších. Díky antioxidantním účinkům je TrxR považována za součást prevence proti poškození buňky oxidativním stresem, což je hlavní faktor poškození DNA. Zvýšená funkce TrxR byla pozorována v mnoha liniích nádorových buněk.⁽²⁸⁾



Obrázek 11.: Struktura lidské TrxR⁽⁷⁹⁾

Aktivní místo TrxR obsahuje selenocystein (Sec) v sekvenci Gly-Cys-Sec-Gly nezbytnou pro katalytickou funkci enzymu.⁽²⁹⁾ Mechanismem interakce sloučenin zlata s TrxR je nejspíše kovalentní interakce mezi elektrofilním atomem zlata a nukleofilní sírou případně selenem. Auranofin preferuje navázání na selenocysteinovou jednotku, což bylo potvrzeno díky velmi sníženým hodnotám inhibice enzymu glutathion reduktázy. Ta je s TrxR strukturně značně podobná, nicméně v aktivním místě obsahuje pouze cystein nikoliv cystein i selenocystein.⁽³⁰⁾

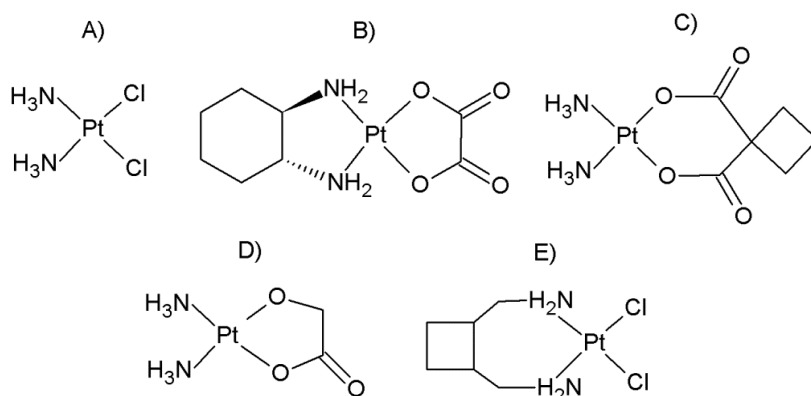
Zajímavého zjištění bylo dosaženo při testech na enzymu glutathion reduktáze. Zlatný komplex ztratí při navázání v aktivním místě oba své ligandy a naváže se na dvě cysteinové jednotky, čímž dojde k inhibici. Mohlo by se tedy jednat o univerzální mód interakce sloučenin zlata s enzymy obsahující cystein nebo selenocystein. Důležitost proteinů obsahujících cystein je pro auranofin a jeho analoga důležitá i z hlediska, že metalothioneiny (proteiny vázající kovy pomocí cysteinových jednotek) jsou zodpovědné za rezistenci buněk na sloučeniny zlata. ⁽²⁹⁾

Inhibice mitochondriální formy TrxR (značené jako TrxR2) auranofinem je v dobré shodě s prvotními studiemi, které naznačovaly anti-mitochondriální efekt sloučenin zlata v *in vitro* testech.

Analog auranofinu triethylfosfinchlorid zlatý $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)]$ obsahuje triethylfosfinovou skupinu jako auranofin, místo thiocukerné jednotky však má pouze chlor. Způsobuje však stejně jako auranofin mitochondriální otok nebo zvýšenou propustnost vnitřní membrány. Testy byly prováděny na izolovaných krysích jaterních mitochondriích. ^(31,32) U čerstvě izolovaných krysích hepatocytů vystavených $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)]$ se také ukázalo, že mitochondrie je nejspíše cílovou buněčnou organelou. Samotný auranofin vyvolá zvýšenou mitochondriální permeabilitu, což je pozorováno jako otok a ztráta membránového potenciálu. Tomu může být kompletně zabráněno cyklosporinem A, což je specifický inhibitor mitochondriální permeability. ⁽³³⁾

2.4.2 Rakovina

Od dob objevu a úspěšného použití cisplatiny $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ v minulém století se začaly intenzivně studovat koordinační sloučeniny Pt^{2+} za účelem objevu nových protinádorových léků. V současnosti je v klinické praxi používáno 5 komplexů platnatých. Cisplatina, karboplatina a oxaliplatina jsou již schváleny americkým úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA), nedaplatina je používána v Japonsku a lobaplatina v Číně. (obr. 12) Jejich efektivita je nicméně snižována vznikající rezistencí, která ztěžuje použití v léčbě. Zároveň i poměrně vysoká toxicita k zdravým buňkám a vedlejší účinky limitují maximální dávku, která může být při léčbě podána. Během posledních třiceti let se zintenzivnila snaha o přípravu nových platnatých komplexů s cytotoxickou aktivitou, jejichž výsledkem bylo objevení taktiky pro zlepšení akumulace v buňkách, orální biodostupnosti, stability ve fyziologickém prostředí a také specifity pro danou nádorovou linii. Mezitím se však začal



Obrázek 12.: Léčiva na bázi komplexů platiny

A) Cisplatin B) Oxaliplatin C) Karboplatin D) Nedaplatin E) Lobaplatin

rozvít výzkum nových komplexů s jinými přechodnými kovy a ligandy, které by měly srovnatelnou nebo i lepší protinádorovou aktivitu. Jednou skupinou těchto nových komplexů byly i komplexní sloučeniny obsahující zlato.⁽³⁴⁾ Tyto komplexy způsobují smrt buňky jiným mechanismem než integrací do DNA jako v případě platnatých komplexů, což je žádané kvůli rezistenci některých nádorových linií na platnaté komplexy. Hlavním cílem pro komplexy zlata je mitochondrie, která je hlavní regulátor apoptózy a regulace vnitřně buněčné redoxní rovnováhy. U mitochondriální thioredoxin reduktázy (TrxR₂) Bindoli se spolupracovníky poprvé ukázal, že její inhibice je spojená s permeabilitou mitochondriální membrány a zahájením apoptózy.⁽³⁵⁾

Do nynější doby připravené zlatné sloučeniny účinné proti rakovině lze rozdělit do dvou skupin na základě koordinace. Zprvce to jsou neutrální, lineárně koordinované komplexy kam patří například auranofin. Druhou skupinou jsou lipofilní kationové komplexy jako [Au(dppe)₂]⁺ a dvoujaderné zlatné komplexy obsahující N-heterocyklický ligand. Pro obě skupiny je terapeutickým cílem převážně mitochondrie, kde způsobí apoptózu narušením redoxní rovnováhy thiolů.⁽²⁾

2.4.2.1 Auranofin a jeho analoga

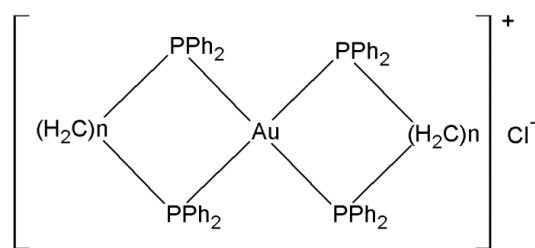
Lineární zlatné komplexy obsahující fosfinový ligand, kam spadá i auranofin, jsou schopny inhibovat nádorové bujení *in vitro*.⁽²⁾ Cytotoxické účinky auranofinu proti nádorovým buňkám HeLa (rakovina děložního čípku) byly poprvé zjištěny v roce 1979 Lorberem a jeho spolupracovníky⁽³⁶⁾ a zároveň u myši s leukemií P388 prodloužil dobu

života. Mirabelli dále upřesnil Lorberovy poznatky, že auranofin je proti leukemickým buňkám P388 aktivní pouze při podání IP, tedy injekčně do pobřišnice. Mirabelli pokračoval ve výzkumu zlatných komplexů a spolu se svým týmem provedl rozsáhlý výzkum 63 lineárních zlatných komplexů a sledoval u nich strukturní spojitost mezi cytotoxicitou *in vitro* a *in vivo*. Výsledkem bylo zjištění, že u leukemické linie P388 je optimální, aby na zlatě byl navázán fosfin a thiocukerná jednotka. Změny na fosfinovém ligandu poté jen způsobí modulaci účinku.⁽³⁷⁾

Díky tomuto výzkumu se poté začaly objevovat zlatné komplexy s S-ligandy jako jsou thionukleobáze, dithiokarbamáty, sulfanylpropeonáty a v posledních době také s vitamínem K3, azokumarinem nebo naftalimidovými deriváty.⁽²⁾ Předběžné výsledky studií mechanismu účinku naznačují, že jak pro auranofin tak pro [AuCl(PEt₃)] je cílem mitochondrie.⁽³⁸⁾ Bindoli se svým týmem upřesnil, že apoptóza je způsobená narušením thiolové redox rovnováhy v buňce prostřednictvím inhibice TrxR.⁽³⁹⁾ Nejprve se myslelo, že aby zlatné komplexy měly cytotoxickou aktivitu, je nutné, aby měly fosfinový ligand,⁽⁴⁰⁾ ale v současné době jsou již známy cytotoxické zlatné komplexy mající místo fosfinu například N-heterocyklický karben, cyklodifosfazan nebo fosfazol. Ligand má vliv spíše na to, jak bude komplex pronikat do buňky⁽²⁾

2.4.2.2 Lipofilní iontové zlatné fosfiny

Studie cytotoxicity auranofinu ukázaly na fakt, že ač je při *in vitro* testech poměrně aktivní, za podmínek *in vivo* se jeho aktivita snižuje. Reaktivita vůči thiolovým skupinám bílkovin, která je pro auranofin a jeho analoga typická, se ukáže nevýhodou, pokud se dostane do fyziologických podmínek obsahující sérové bílkoviny.⁽⁴¹⁾ Hledal se tedy způsob jak snížit reaktivitu zlatných komplexů vůči thiolům a výsledkem byl objev skupiny komplexů majících chelatující, bidentátní fosfin. Příkladem může být komplex [Au(dppe)₂]Cl vykazující značnou cytotoxickou aktivitu proti širokému spektru nádorových linií při *in vivo* testech na myších.⁽⁶⁾ Z testů vztahu mezi strukturou a aktivitou vyplynulo, že ideální je, aby v komplexu [Au(R₂P(CH₂)_nPR₂)₂]Cl (obr.13) byl jako R přítomen fenylový substituent a počet CH₂ skupin můstku n= 2-3. Pokud je fenylový substituent fosfinu zaměněn za jiný, aktivita je snížena

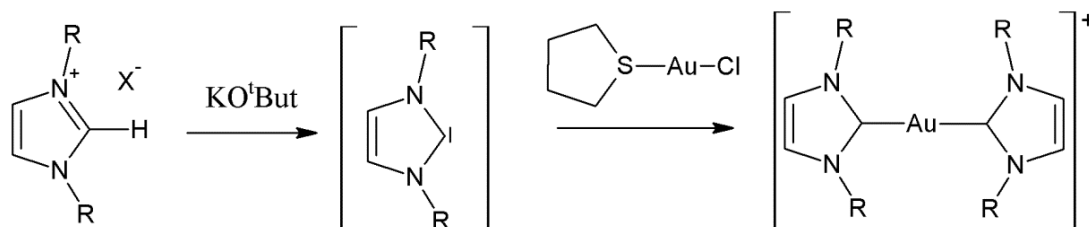


Obrázek 13: komplex [Au(Ph₂P(CH₂)_nPPh₂)₂]Cl

nebo dokonce ztracena. Na rozdíl od auranofinu, $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$ si ponechává svou strukturu i v přítomnosti thiolů ve fyziologických podmínkách.⁽⁶⁾ U dvoujaderných zlatných komplexů o složení $[\text{XAu}(\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_n\text{PPh}_2)\text{AuX}]$ ($n = 1-6$, $\text{X}=\text{Cl}$) a $[\text{XAu}(\text{dppe})\text{AuX}]$ ($\text{X}=\text{Cl}, \text{Br}, \text{OAc}\dots$) se ukázalo, že cytotoxická aktivita je spojena se schopností komplexu odštěpením ligandu X uzavřít kruh za tvorby bis-chelátu $[\text{Au}(\text{P-P})_2]$ ve fyziologickém prostředí reakcí s thioley.^(40,42) Uplatnění $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$ v klinické praxi však selhalo v preklinických testech na králících a psech, kdy se ukázala vysoká toxicita vůči srdečním, jaterním a plicním buňkám. V *in vitro* testech se ale komplex $[\text{Au}(\text{P}(\text{CH}_2\text{OH})_3)_4]\text{Cl}$ ukázal být účinný proti několika lidským nádorovým liniím a *in vivo* u myši. Zároveň není toxický pro organismus jako $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$ při studiích na psech.⁽²⁾

2.4.2.3 Zlatné komplexy s N-heterocyklickými karbeny

N-heterocyklické karbeny (NHK) jsou ligandy, které se zlatem interagují podobně jako fosfíny. Zlatné komplexy mající jako ligand NHK lze poměrně snadno připravit z výchozí imidazolové soli. Substituenty na dusících lze lehce modulovat lipofilitu. Právě díky modulaci lipofility substituentů se podařilo připravit karbenové komplexy (obr. 14), které jsou selektivní vůči dvěma nejvíce nádorotvorným liniím rakoviny prsu.⁽²⁾



Obrázek 14.: Schéma přípravy N-heterocyklických karbenů, $R=\text{Et}, n\text{-Pr}, i\text{-Pr}$

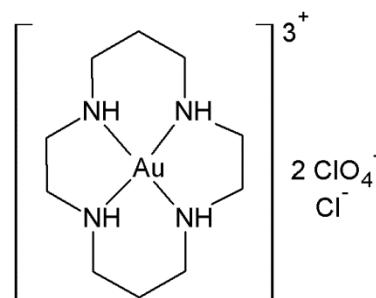
2.4.3 Aktivita proti HIV a AIDS

Široké spektrum sloučenin zlata bylo testováno *in vitro* proti viru lidské imunitní nedostatečnosti neboli HIV. Zájem chrysotherapie pro léčbu AIDS byl stimulován klinickou zprávou, že pacienti s AIDS, jimž byl podáván auranofin kvůli léčbě psoriatické artritidy, ale žádné jiné proti-HIV účinné látky, zaznamenali zvýšení hodnot CD4⁺ T buněk.⁽⁴³⁾ Hodnoty

těchto buněk však klesají u nemocných HIV a zjištění naznačila, že komplexy zlata by měly být systematicky testovány proti HIV. Aurokyanid ($[\text{Au}(\text{CN})_2]$) inhibuje rozvoj HIV již při koncentracích 20nM a může mít využití při léčbě AIDS v kombinaci s dalšími léčivy.⁽⁴⁴⁾ Solganol inhibuje reversní transkriptázu (RTasa) v bezbuněčném extraktu (extrakt připravený rozrušením buněčných stěn a odstraněním jejich zbytků).⁽⁴⁵⁾ Avšak Solganol samotný ani jeho metabolity nevstupují do buňky, což je nezbytné pro efektivní inhibici RTasy, a je tedy neúčinný proti HIV při testech na buněčných kulturách⁽⁴⁶⁾ Byly testovány i mnohé komplexy $[\text{AuX}(\text{PR}_3)]$ ($X =$ různý ligand, $R =$ alkyl, aryl) bohužel byly natolik toxické, že usmrtily buňky MT-4 již při koncentracích nižších než je potřeba k zahájení protivirové aktivity. Buňky MT-4 se za normálních podmínek agregují do shluků, ale v přítomnosti viru HIV dochází k rozpadu shluků, čehož se využívá k detekci HIV.⁽⁴⁷⁾

2.4.4 Komplexy zlata jako antiparazitika

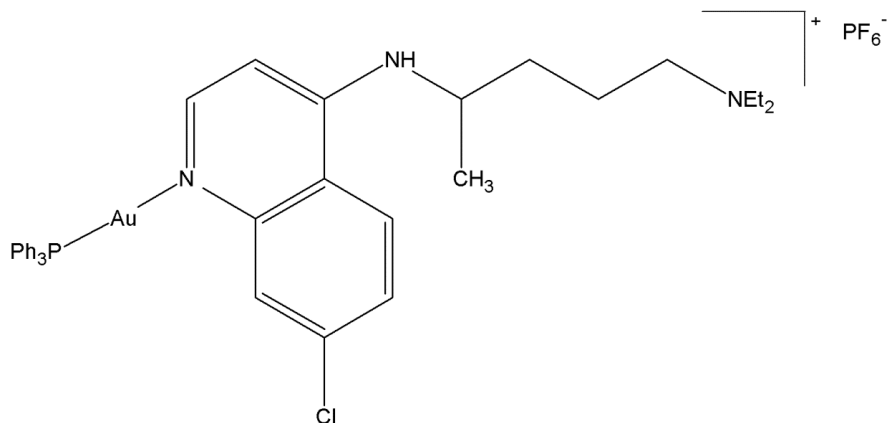
Spavá nemoc, Chagasova choroba, schistosmóza nebo malárie jsou všechno nemoci způsobené parazity, kterými je postiženo velké množství obyvatel v zemích tzv. třetího světa. Je tedy nutné vyvinout účinné a hlavně cenově dostupné léky na tyto nemoci.⁽⁴⁸⁾ Terapeutickým cílem u výše jmenovaných nemocí, ale i u některých dalších způsobených parazity, jsou thiolové a selenolové proteiny. Tyto proteiny jsou součástí systému, kterým se patogeny parazita brání proti oxidativnímu stresu způsobeného imunitním systémem infikovaného člověka. Jejich inhibice (podobně jako inhibice TrxR) pomocí zlatých sloučenin by mohla být účinná při léčbě těchto nemocí.⁽²⁾ Z nedávných výzkumů je zřejmé, že léky obsahující zlato mají velký potenciál při léčbě nemocí způsobených parazity. Auranofin, který vyvolává silný oxidativní stres uvnitř buňky, by mohl být i potencionálním léčivem jako antimalarikum. Provedené studie tuto domněnku potvrdily. Auranofin, Myocrysin, $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)]$ a AuCyclam (Obr. 15) vykazují účinnou inhibici růstu *P. falciparum in vitro* což je nejdůležitější průvodce malárie.⁽²⁾ Schistosmóza je tropická nemoc, jíž je celosvětově nakaženo kolem 200 miliónů lidí. V roce 2002 publikovali Alger a Williams⁽⁴⁹⁾, že u *Schistosoma mansoni* jsou TrxR a GR (glutathion reduktáza) nahrazeny jediným, selen obsahujícím enzymem TGR (thioredoxin glutathion reduktáza). Výsledky inhibice tohoto enzymu auranofinem, solganolem a myocrysinem



Obrázek 15.: AuCyclam

naznačily, že nejlepším je auranofin s nanomolárními hodnotami. V dalším výzkumu se ukázalo, že auranofin dokáže efektivně zabíjet parazity *Schistosoma mansoni* při *in vitro* testech a také *in vivo* (počet parazitů redukován o 60%).⁽⁵⁰⁾

Několik léků původně podávaných proti revmatoidní artritidě se ukázalo účinných také jako antimalarika. Naznačuje to tedy, že mechanismus účinku antiartritik a antimalarik



Obrázek 16: Komplex $[Au(PPh_3)(CQ)]PF_6$

by mohl být podobný. Zkoumalo se tedy, zda zlato působí jako zesilující prvek u používaných antimalarik. Konkrétně byl efekt komplexace studován u již více než 50let známého antimalarika chloroquinu (CQ). V případě komplexu $[Au(PPh_3)(CQ)]PF_6$, došlo u dvou rodů zimničků (*Plasmodium*) rezistentních vůči CQ (*Plasmodium falciparum* FcB1 a *Plasmodium berghei* FcB2) ke 4-9 násobnému zesílení účinku oproti chloroquindifosfátu a komplexům s jinými kovy. Hodnoty IC_{50} pro komplex $[Au(PPh_3)(CQ)]PF_6$ jsou 5,1nM (FcB1) a 23nM (FcB2)⁽⁵¹⁾

2.5 Farmakologie sloučenin zlata

2.5.1 Reakce ligandové výměny

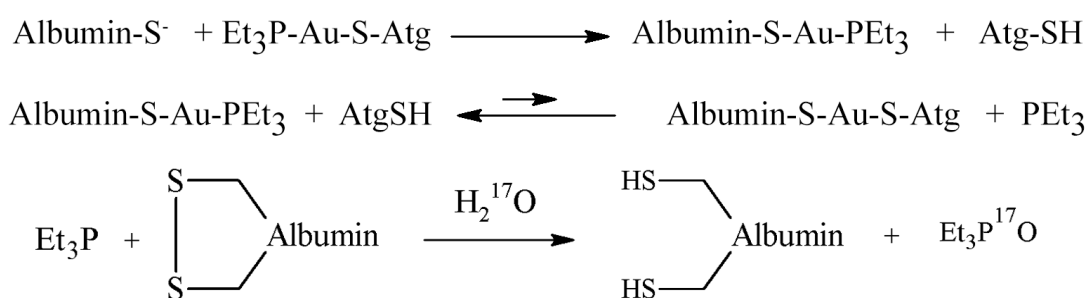
Při biologických testech na lidech a laboratorních zvířatech se ukázalo, že klinicky používané sloučeniny zlata se v organismu velmi rychle metabolizují. Z tohoto důvodu lze tedy podávané léky považovat za „proléčiva“. Proléčivo je sloučenina, která se *in vivo* změní na aktivní formu. Pomocí radioaktivně značených ligandů vyšlo najevo, že zlato a ligandy mají odlišnou distribuci v organismu a také dobu exkrece. V případě testů Solganolu ($^{198}Au^{35}STg$) a Myocrisinu ($^{198}Au^{35}STm$) na myších a krysách se ukázalo, že zlato je v různých orgánech zadržováno účinněji než ^{35}S značené thiolátové ligandy. Rovněž u

trojnásobně značeného auranofinu ($\text{Et}_3^{32}\text{P} - ^{195}\text{Au} - ^{35}\text{SATg}$) je *in vivo* každá komponenta metabolizována jinak. Značený triethylfosfin má poločas vyloučení jako triethylfosfinoxid osm hodin, síra v acetylthioglukóze má poločas šestnáct hodin. Avšak poločas vyloučení zlata je dvacet dní. Studie s auranofinem přidaným do plné krve (chemicky nepozměněná krev) ukázaly, že ligandová výměna je mnohem rychlejší než vylučovací doba uvedená výše a potvrdily, že fosfin, thiocukerná jednotka a zlatný atom mají rozdílný metabolismus. Již během dvaceti minut je zlato vázáno především na proteiny a triethylfosfin je distribuován mezi sérové proteiny, červené krvinky a nízkomolekulární $\text{Et}_3\text{P}=\text{O}$ v poměru 1:2:2. ^(52,53,54)

Při podávání Myochrysinu, což je sodná sůl thiomalátu zlatného, byly v krvi u lidí detekovány nízké koncentrace samotného thiomalátu a také $\text{Au}(\text{CN})_2^-$. Kyanid zlatný je společným metabolitem pro všechny schválené léky používané při chrysoterapii v USA, tedy auranofin, Myochrysin a Solganol. ^(55,56)

2.5.2 Auranofin a jeho analoga

Metabolické přeměny auranofinu jsou prostudovány nejvíce ze všech sloučenin zlata. Bohužel zlato nemá vhodný izotop pro použití v NMR, ale i tak studie prováděné za biomimických podmínek, tedy co nejvěrnější napodobení podmínek v živém organismu, pomocí ^{31}P , ^1H a ^{13}C NMR poskytly dostatek informací o chemické transformaci chrysotherapeutik. ⁽⁵⁷⁾ Auranofin reaguje s cysteinovou jednotkou cys-34 sérového albuminu prostřednictvím ligandové výměny sulfhydrylové skupiny. (obr 17). ^(58,59,60,61)



Obrázek 17: Biotransformace auranofinu (značen $\text{Et}_3\text{P-Au-S-Atg}$)

Jak deacetylovaný auranofin (mající místo tetracetylované thioglukózy pouze thiogluózu) tak $[\text{AuCl}(\text{PEt}_3)]$ poskytují při reakci se sérovým albuminem (Alb) stejný produkt, a to Alb-S-Au-PEt_3 . Kinetickými studiemi při podmínkách co nejbližším *in vivo* se

zjistilo, že tvorba komplexu Alb-S-Au-PEt₃ z auranofinu probíhá reakcí prvního řádu s rychlostní konstantou $2,9 \pm 0,2 \text{ s}^{-1}$. Z rychlostní konstanty lze usoudit, že po vstupu auranofinu do krevního řečiště dojde ve velmi krátkém čase k jeho navázání na sérový albumin, kterého je v krvi značný přebytek (~400μM albumin a 10-25μM auranofinu).⁽⁴⁾ Sadler se svými kolegy potvrdil konformační změny albuminu odpovídající navázání zlata na cystein cys-34.⁽⁶²⁾

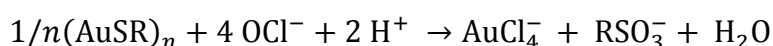
2.5.3 Kyanidové metabolity

K dobře známým metabolitům při chrysotherapii patří [Au(CN)₂]⁻, který zároveň vykazuje aktivitu proti HIV. První zmínka o [Au(CN)₂]⁻ jako metabolitu pochází ze studie, kde u pacientů kouřících tabák docházelo ke zvýšené schopnosti červených krvinek akumulovat metabolity Myocrysinu a Solganolu.^(63,64) Zvířecí červené krvinky to však nedovedou. Inhalovaný kouř obsahuje až 1700ppm HCN, který je absorbován skrz plíce. Protože kyanid má silnou afinitu ke zlatu v oxidačním stavu +I ($\log \beta_2=36,6$), může reagovat se zlatem za tvorby [Au(CN)₂]⁻ a v této formě je usnadněn vstup do červených krvinek i jiných buněk.⁽⁶⁵⁾ Výzkum interakcí mezi sloučeninami zlata a imunitním systémem vedl k zjištění, že [Au(CN)₂]⁻ je vytvářen stimulací polymorfonukleárních leukocytů (typ bílých krvinek). Substrátem je SCN⁻ a z něj se za účinku myeloperoxidázy tvoří CN⁻. Tento mechanismus tvorby [Au(CN)₂]⁻ může být kritický metabolický proces pro léčbu revmatoidní artritidy, jelikož se předpokládá, že [Au(CN)₂]⁻ uvnitř buňky snižuje dopad oxidativního stresu.^(66,67) Kyanid zlatný je přítomný v moči (5-500nM) a krvi (5-25nM) pacientů léčených na RA. Rozdíl koncentrace u kuřáků a nekuřáků je nepatrný a jedná se tedy o společný metabolit auranofinu, Myocrysinu a Solganolu. [Au(CN)₂]⁻ který se vytvoří v místě zánětu, musí být transportován do ledvin, aby se mohl vyloučit močí. V krevním řečišti se [Au(CN)₂]⁻ naváže na jedno ze čtyř míst na albuminu. Jedno je vysoce afinitní ($K_1 = 5,5 \times 10^4$) a tři méně afinitní ($K_2 = 7 \times 10^3$). Pouze však první zmíněné, vysoce afinitní místo je fyziologicky významné, protože vzniklá vazba je silná natolik, aby minimalizovala volný [Au(CN)₂]⁻ v krevním řečišti.⁽⁴⁾

2.5.4 Oxidační stavy zlata *in vivo*

Ze značného množství studií vyplývá fakt, že zlato se *in vivo* vyskytuje převážně v oxidačním stavu +I. Léčiva obsahující zlato po vstupu do těla podléhají hlavně ligandové výměně za zachování oxidačního stavu. ^(68,69) Thioly, thioethery a proteiny obsahující cystein nebo methionin jsou schopny redukovat Au^{III} na Au^I. Tuto schopnost mají i disulfidy. ^(70,71,72)

Zároveň je však již dlouho známá i *in vivo* oxidace Au^I na Au^{III}. Gleichman se svými spolupracovníky pozoroval, že sloučeniny zlata mohou být *in vivo* metabolizovány na Au^{III} metabolit, který je odpovědný za některé imunologické vedlejší účinky při chrysoterapii. ⁽⁷³⁾ Zjištění jsou založena na pozorování, kdy byly myši tři týdny vystaveny působení Myocrisinu. Au^{III} vyvolalo odezvu v testu v podkolenní mízní uzlině (popliteal lymph node assay - PLNA), ale samotný Myocrisin nikoliv. PLNA je velmi důležitý test, protože rozlišuje efekt jak léčiv samotných, tak jejich metabolitů na imunitní systém a určuje, který je imunogenní, tedy alergen. Oxidačním činidlem může být například kyselina chlorná HOCl, která je produkována myeloperoxidásou v důsledku oxidativního stresu v místech infekce. Jako první se tato skutečnost prokázala *in vitro* u Myocrisinu, ale platí i pro ostatní sloučeniny zlata. Například thioláty Au^I, kam patří i Auranofin, jsou oxidovány na Au^{III} a zároveň i ligandy jsou částečně oxidovány.



Jak je vidět, oxidace auranofinu na konečné oxidační produkty zahrnují více intermediátů a není úplně jednoduchá. [Au(CN)₂]⁻ se oxiduje na kyanid zlatitý, který je v rovnováze s hydroxo a chloro komplexy Au^{III}. ^(74,75,76)

3.EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Nezveřejněno

4.VÝSLEDKY A DISKUSE

Nezveřejněno

5.ZÁVĚR

Nezveřejněno

6. SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

A2780	Rakovina vaječníků
A549	Plicní adenokarcinom
AGT	O ⁶ -alkylguanin-DNA alkyltransferáza
AIDS	Syndrom získaného selhání imunity
ATP	Adenosintrifosfát
CDK	Cyklin-dependentní kinázy
DMEM	Výživné médium pro buňky (Dulbecco Modified Eagle's Medium)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DTA	Diferenční termická analýza
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EXAFS	Extended X-ray Absorption fine structure
FAD	Flavinadenindinukleotid
FDA	Americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
GR	Glutathion reduktáza
GTP	Guanosintrifosfát
HeLa	Rakovina děložního hrdla
HIV	Human imunodeficiency virus
HOS	Human osteosarkom (rakovina kostní tkáň)
IC ₅₀	Koncentrace při které je zabito 50% buněk
IL-1 β	Interleukin- 1 beta (prozánětlivý cytokin)
<i>in vitro</i>	Model testu probíhající na buňkách ve zkumavce/petriho misce
<i>in vivo</i>	Model testu probíhající v živém organismu (myš, člověk...)
IP	IntraPeritoneální (podbřišní) injekce
IR	Infračervená spektroskopie
MCF-7	Adenokarcinom prsu
MS	Hmotnostní spektrometrie
MT-4	Buňky reagující na přítomnost viru HIV
MTT	(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromid)
Myocrisin	Aurothiomalát sodný
NAD	Nikotinamid adenin dinukleotid

NHK	<i>N</i> -heterocyklický karben
NMR	Nukleární magnetická rezonance
P388	Linie leukemických buněk P388
PLNA	Test v podkolenní mízní uzlině
RA	Revmatoidní artritida
Ridura	Obchodní název auranofinu
RMPI	Výživné médium pro buňky (Roswell Park Memorial Institute medium)
Rtasa	Reverzní transkriptáza
Sanocrysin	Aurothiosulfát sodný
Solganol	Aurothioglukóza
TA	Termická analýza
TGR	Thioredoxin glutathion reductáza
THP-1	Linie leukemických buněk THP-1
TLR-4	Peptid, který je součástí imunitního systému
TNF- α	Tumor nekrotizující faktor alfa
TrxR	Thioredoxin reductáza
WST-1	(4-[3-(4-jodofenyl)-2-(4-nitrfenyl-2H-5-tetrazolio)]-1,3-benzen sulfonát

7.CITOVANÁ LITERATURA

- (1) Shaw, C. F. III, *In Metal Compounds in Cancer Therapy*, London, Chapman and Hall, 1994
- (2) Berners-Price, S. J., *Gold-Based Therapeutic Agents: A New Perspective, in Bioinorganic Medicinal Chemistry*, Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011
- (3) Sutton B.M.: *Gold Bull* **19**, 15 (1986)
- (4) Shaw III F.C.: *Chem Rev* **99**, 2589 (1999)
- (5) Ott I., Qian X., Xu Y., Vlecken D.H., Marques I.J., Kubat D., Will J., Sheldrick W.S., Jesse P., Prokop A., Bagowski C.P.,: *Angew. Chem. Int. Ed.* **48**, 1160 (2009)
- (6) Berners-Price S.J., Mirabelli C.J., Johnson R.K., Mattern M.R., McCabe L.F., Faucette L., et al: *Cancer Res* **46**, 5486 (1986)
- (7) Trávníček Z., Štarha P., Vančo J., Šilha T., Hošek J., Suchý P. Jr., Pražanová G.: *J. Med. Chem.* **55**, 4568 (2012)
- (8) Greenwood N.N., Earnshaw A.: *Chemie Prvků*, Praha, Informatorium, 1993
- (9) Legravend M., Grierson D.S.: *Bioorg. Med. Chem.* **14**, 3987 (2006)
- (10) Davies G.T., Pratt J.D., Edicott A.J., Johnson N.L., Noble M.E.M.: *Pharmacol. Ther.* **93**, 125 (2002)
- (11) Hardcastle I. R., Arris C. E., Bentley J., Boyle F. T., et al.: *J Med Chem* **47**, 3710 (2004)
- (12) Rabik A. C., Njoku M. Ch., Dolan M. E.: *Cancer Treat Rev* **32**, 261 (2006)
- (13) Higby G.J. *Gold Bull* 1982,**15**, 130-140
- (14) Russel M., Langley M., Truett A.P. et al: *J.Am.Acad.Dermatol* 1997,**36**, 841-844.
- (15) Russel M.A., King L.E. jr., Boyd A.S., *N.Engl.J.Med* 1996,**334**, p603
- (16) Bendek T.G.: *J. Hist. Med. All. Sci.*, **59**, 50 (2004)
- (17) Empire Rheumatism Council: *Ann. Rheum. Dis.* **19**, 95 (1960)
- (18) Pope J.E., Hong P., Koehler B.E.: *J. Rheumatol.* **29**, 255 (2002)

- (19) Messori L., Marcon G.: *Met. Ions. Biol. Syst.* **42**, 385 (2004)
- (20) Farrell Nicholas, *Uses of Inorganic Chemistry in Medicine*, London, Royal Society of Chemistry, 1999
- (21) Takahashi K., Griem P., Goebel C., Gonzalez J., Gleichmann E.: *Metal-Based Drugs* ,**1**, 483 (1994)
- (22) Burmester G.R.: *Z. Rheumatol.*, **60**, 127 (2001)
- (23) Elder R.C., Eidsness M.K., Heeg M.J., Tepperman K.G., Shaw C.F. III., Schaeffer N.: *ACS Symp. Ser.* **209**, 385 (1983)
- (24) Gunatilleke S.S., Barrios A.M., *J. Med. Chem.* **49**, 3933 (2006)
- (25) Gunatilleke S.S., de Olivera C.A.F., McCammon J.A., Barrion A.M.: *J. Inorg. Biochem.*, **13**, 555 (2008)
- (26) Gunatilleke S.S., Barrion A.M.: *J. Inorg. Biochem.* **102**, 555 (2008)
- (27) Weidauer E., Yasuda Y., Biswal B.K., Cherny M., James M.N.G., Bromme D.: *Biol. Chem.* **388**, 331 (2007)
- (28) K. Becker, S. Gromer, R.H. Schirmer, S.Müller, *Eur. J. Biochem.* **267**, 6118 (2000)
- (29) Ingo O.: *Coordination Chemistry Review* **253**, 1670 (2009)
- (30) S. Gromer, L.D. Arscott, C.H. Williams, R.H. Schirmer, K. Becker, *J. Biol. Chem.* **338**, 20096 (1998)
- (31) Hoke G.D, Rush G.F., Mirabelli C.K.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **99**, 50 (1989)
- (32) G.F. Rush, P.F. Smith, G.D. Hoke, D.W. Alberts, R.M. Snyder, C.K. Mirabelli, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **90**, 391 (1987)
- (33) Rigobello M.P., Messori L., Giordano M., Cinellu M.A., Bragadin M., Folda A., Scutari G., Bindoli A.: *J. Inorg. Biochem.* **98**, 1634, (2004)
- (34) Zhen-Feng Ch., Yan-Cheng L., Yan P., Yue H., Hong-Hong W., Min-MinZ., Hong L.: *J Biol Inorg Chem* **17**, 247 (2012)

- (35) Rigobello M.P., Callegaro M.T., Barzon E., Benetti M., Bindoli A.: *Free Radical Biol. Med.* **24**, 370 (1998)
- (36) Simon T.M., Kunishima D.H., Vubert G.J., Lober A.: *Cancer*, **44**, 1965 (1979)
- (37) Mirabelli C.K., Johnson R.K., Hill D.T., Faucette L.F., Girard G.R., Kuo G.Y., Sung C.M., Crooke S.T.: *J. Med. Chem.*, **29**, 218 (1986)
- (38) McKeage M.J., Maharaj L., Berners-Price S.J.: *Coord. Chem. Rev.*, **232**, 127 (2002)
- (39) Bindoli A., Rigobello M.P., Scutari G., Gabbiani C., Casini A., Messori L.: *Coord. Chem. Rev.*, **253**, 1692 (2009)
- (40) Berners-Price S. J., Sadler P. J.: *Struct. Bonding* **70**, 27, (1988)
- (41) Mirabelli C.K., Johnson R.K., Sung C.M., Faucette L., Muirhead K., Crooke C.T. : *Cancer Res.* **45**, 32 (1985)
- (42) Berners-Price S. J., Jarrett P. S., Sadler P.J.: *Inorg. Chem.* **26**, 3074 (1987)
- (43) Shapiro D. L., Masci J. R.: *J. Rheumatol.* **23**, 1818 (1996)
- (44) Tepperman K., Shinju Y., Roy P.W., Floyd R., Zhao Z., Dorsey J.: Elder, R. C. *Met. -Based Drugs* **1**, 433 (1994)
- (45) Blough H.; Ricchetti M., Montagnier L., Buc H. *International Conference on AIDS*, Montreal, Canada **5**, 559 (1989)
- (46) Okada T., Patterson B. K., Ye S.-Q., Gurney M. E.: *Virology* **192**, 631 (1993)
- (47) Navarro M.: *Coord. Chem. Rev.* **253**, 1619 (2009)
- (48) Alger H.M., Williams D.L.: *Mol. Biochem. Parasitol.* **121**, 129 (2002)
- (49) Kuntz A.N., Davioud-Charvet E., Sayed A.A, et al.: *PLoS Med* **4**, 1071 (2007)
- (50) Navarro M.; Perez H.; Sanchez-Delgado R. A.: *J. Med Chem.* **40**, 1937 (1997)
- (51) Schwartz H. A.: *Am. J. Physiol.* **199**,76 (1960)

- (52) Intoccia A. P., Flanagan T. L., et al.: *In Bioinorganic Chemistry of Gold Coordination Compounds*, Philadelphia,SK&F, 1983
- (53) Cottrill S. M., Sharma H. L., Dyson D. B., Parish R. V., McCauliffe C. A.: *J. Chem Soc. Perkin Trans. 2*, 53 (1989)
- (54) Rudge S. R. et al.: *J. Rheumatol.* **11**, 150 (1984)
- (55) Elder R. C., Zhao Z., Zhang Y., Dorsey J. G., Hess E. V., Tepperman K.: *J. Rheumatol.* 1993, **20**, 268
- (56) Shaw, C. F. III, *In The Chemistry of Organic Derivatives of Gold and Silver*, Chichester, J. Wiley & Sons, 1999
- (57) Coffey M. T., Shaw C. F. III, Eidsness M. K., Watkins J. W. II, Elder R. C.: *Inorg. Chem.* **25**, 333 (1986)
- (58) Razi A. T., Otiko G., Sadler P.: *J. Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **209**, 371 (1983)
- (59) Malik N. A., Otiko G., Sadler P. J.: *J. Inorg. Biochem.* **12**, 317 (1980)
- (60) Ecker D. J., Hempel J. C., Sutton B. M., Kirsch R., Crooke S. T.: *Inorg. Chem.* **26**, 3139 (1987)
- (61) Christodoulou J., Sadler P.J., Trucker A.: *Eur. J. Biochem.* **225**, 363 (1994)
- (62) James D. W., Ludvigsen N. W., Cleland L. G., Milazzo S. G.: *J. Rheumatol.* **9**, 532 (1982)
- (63) Graham G. G., Haavisto T. M., Jones H. M., Champion C. D.: *Biochem. Pharmacol.* **33**, 1257 (1984)
- (64) Skibsted L. H., Bjerrum J.: *Acta Chem. Scand.* **A31**, 155 (1977)
- (65) Rudkowski R., Graham G. G., Champion G. D., Ziegler, J.B.: *Biochem. Pharmacol.* **11**, 1687 (1990)
- (66) Graham G. G., Dale M. M.: *Biochem. Pharmacol.* **11**,1697 (1990)
- (67) Snyder R. M., Mirabelli C., Crooke S.J.: *Biochem. Pharmacol.* **35**, 923 (1986)

- (68) Shaw C. F. III, Isab A. A., Coffey M. T., Mirabelli C. K.: *Biochem. Pharmacol.* **40**, 1227 (1990)
- (69) Isab A. A., Sadler P.: *J. Biochim. Biophys. Acta* **492**, 322 (1977)
- (70) Shaw C. F. III, Cancro M. P., Witkiewicz P. L., Eldridge J.: *Inorg. Chem.* **19**, 3198 (1980)
- (71) Saito S., Kurasaki M.: *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **1**, 101 (1996)
- (72) Schuhmann D., Kubicka-Muranyi M., Mirtcheva J., Gunther J., Kind P., Gleichmann E.: *J. Immunol.* **145**, 2132 (1990)
- (73) Shaw C. F. III, Schraa S., Gleichmann E., Grover Y. P., Dunemann L., Jagarlamudi A.: *Met.-Based Drugs* **1**, 351 (1994)
- (74) Verwilghen J., Kingsley G. H., Gambling J., Panayi G. S.: *Arthritis Rheum.* **35**, 1413 (1992)
- (75) Beverly B., Couri B.: *Fed. Proc.* **46**, 854 (1987)
- (76) Gibson A. E., Arris C. E., Bentley J., Boyle F. T., et al.: *J Med Chem* **45**, 3381 (2002)
- (77) Sheldrick G.M.: *Acta Cryst. A* **64**, 112 (2008)
- (78) <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2zbw> (Navštíveno 15.3.2014)