

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Deriváty hypoxantinu jako ligandy v
komplexních sloučeninách platiny s potenciální
cytotoxickou aktivitou**

Autor práce:

Bc. Lucie Hanousková

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Radka Křikavová, PhD.

Studijní obor:

N1407 Chemie

Studijní program:

Anorganická chemie

Olomouc 2014

ABSTRAKT

Předložená diplomová práce se v teoretické části zaměřuje na komplexní sloučeniny platiny, které jsou užívány v klinické praxi jako léčiva pro léčbu nádorových onemocnění. Mezi tyto celosvětově užívané látky patří cisplatina, karboplatina a oxaliplatina. Další lokálně užívaná léčiva, především v asijských zemích, jsou nedaplatina, lobaplatina a heptaplatina. V neposlední řadě jsou zmíněny látky, které jsou v některé z fází klinického testování – lipoplatina, pikoplatina, iproplatina, tetraplatina.

V experimentální části práce jsou uvedeny postupy jak pro přípravu ligandů, tak i komplexních sloučenin. Jako ligandy byly připraveny různě O-substituované deriváty hypoxantinu, z nichž vybrané byly použity pro následné syntézy komplexních sloučenin. Podařilo se připravit celkem 19 rozličných derivátů hypoxantinu. Vybráni byli zástupci, ve kterých je substituentem na kyslíku methylová, butylová, allylová a benzylová skupina. Tyto ligandy se dále lišily substitucí na uhlíku C2, případně dusíku N9. S danými ligandy se podařilo připravit celkem 23 komplexních sloučenin strukturního typu $\text{cis-}[\text{PtX}_2(\text{L})_2]$ a $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})_2]$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$; $\text{H}_2\text{ox} = \text{kyselina šťavelová}$). Připravené komplexní sloučeniny byly podrobeny zkoumání fyzikálně-chemickými metodami (elementární analýza, termická analýza, infračervená spektroskopie, NMR spektroskopie, hmotnostní spektrometrie), pomocí kterých bylo prokázáno jejich složení.

Klíčová slova: cisplatina, karboplatina, oxaliplatina, purin, hypoxantin

This thesis, in its Theoretical chapter, reports on the platinum complexes which are used in clinical practice as pharmaceuticals for treatment of cancer. The most worldwide used complexes are represented by cisplatin, carboplatin and oxaliplatin. Other interesting compounds are used locally, especially in Asian countries – nedaplatin, lobaplatin and heptaplatin. The substances currently in undergoing some any phase of clinical trials are mentioned at the end of the chapter – lipoplatin, picoplatin, iproplatin, tetraplatin.

The experimental part of this thesis describes the preparation procedures of organic ligands and platinum coordination compounds. We managed to prepare 19 different hypoxanthine derivatives. From this wide group of ligands there were chosen the representatives in which O6-substituent is represented by a methyl, butyl, allyl or benzyl group. Further the ligands

differed by the substitutions at carbon C2 or at the N9 nitrogen atom. The prepared ligands were used for the preparation of 23 Pt(II) complexes of the *cis*-[PtX₂(L)₂] or [Pt(ox)(L)₂] (X = Cl, Br, I; H₂ox = oxalic acid) structural type. The prepared complexes were thoroughly characterized by physical-chemical methods (elemental analysis, thermal analysis, infrared spectroscopy, NMR spectroscopy, mass spectrometry). These methods helped to prove the composition of the prepared complexes.

Key words: cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, purine, hypoxanthine

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci sepsala samostatně pod odborným vedením Mgr.
Radky Křikavové, Ph.D. za použití pramenů uvedených v seznamu literatury.

V Olomouci 7.4. 2014

.....

Chtěla bych tímto upřímně poděkovat vedoucí diplomové práce Mgr. Radce Křikavové, Ph.D., která mi poskytla cenné rady a kritické připomínky při jejím řešení a také za naměření NMR spekter. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. taktéž za cenné rady a připomínky a provedení termické analýzy, Mgr. Tomáši Šilhovi za provedení elementární analýzy, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za změření MS spekter a RNDr. Janě Gálikové, Ph.D. za naměření IR spekter.

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 medicíně využitelnými a magneticky zajímavými vlastnostmi, hlavní řešitel: Prof. RNDr. Zdeněk Trávníček, Ph.D.

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

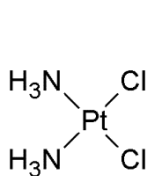
OBSAH

1. ÚVOD	1
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	4
2.1. PLATINA A JEJÍ SLOUČENINY	5
2.1.1. Cisplatina.....	6
2.1.1.1. Historie	7
2.1.1.2. Mechanismus účinku, použití.....	8
2.1.1.3. Nežádoucí účinky	11
2.1.2. Karboplatina	12
2.1.3. Oxaliplatina	13
2.1.4. Lokálně používaná léčiva.....	15
2.1.4.1. Nedaplatina.....	15
2.1.5.2. Lobaplatina.....	15
2.1.6.3. Heptaplatina	16
2.1.5. Léčiva v klinických testech	16
2.1.5.1. Lipoplatina	16
2.1.5.2. Pikoplatina.....	17
2.1.6. <i>Trans</i> -platnaté komplexy.....	17
2.1.7. Komplexy platiny v oxidačním stavu +IV	18
2.1.7.1. Komplexy Pt(IV) v klinických testech.....	18
2.2. PURIN A JEHO DERIVÁTY	20
2.2.1. Využití purinových derivátů.....	21
2.2.2. Cyklin-dependentní kinázy	23
2.2.3. Hypoxantin	24
2.2.3.1. O6-substituované deriváty hypoxantinu - inhibitory AGT a CDK.....	24
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	26
3.1. MATERIÁLY A METODY	26

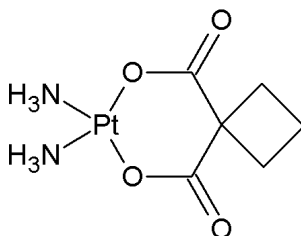
3.2. SYNTÉZA LIGANDŮ	29
3.2.1. Syntéza prekurzoru 2,6-dichlor- <i>N</i> 9-isopropylpurinu	29
3.2.2. Příprava ligandů řady A, B, C i D	30
3.3. SYNTÉZA KOMPLEXŮ	33
3.3.1. Syntéza prekurzorů.....	34
3.3.1.1. Syntéza $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2 H_2O$	34
3.3.1.2. Syntéza $Ag_2(cbbc)$	34
3.3.2. Syntéza komplexních sloučenin Pt(II)	35
3.3.2.1. Syntéza $[PtCl_2(L)_2]$	35
3.3.2.2. Syntéza $[Pt(ox)(L)_2]$	36
3.3.2.3. Syntéza $[PtI_2(L)_2]$	37
3.3.2.4. Syntéza $[PtBr_2(L)_2]$	38
3.3.2.5. Syntéza $[Pt(cbbc)(L)_2]$	38
3.3.2.5. Přehled konkrétních připravených komplexních sloučenin s vybranými ligandy	39
4. VÝSLEDKY A DISKUSE.....	51
4.1. SYNTÉZA A OBECNÉ VLASTNOSTI	51
4.2. SPEKTROSKOPICKÉ METODY	52
4.3. <i>IN VITRO</i> TESTY CYTOTOXICITY NA LIDSKÝCH NÁDOROVÝCH BUŇKÁCH	57
5. ZÁVĚR.....	59
5. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	61
6. LITERATURA.....	62

1. ÚVOD

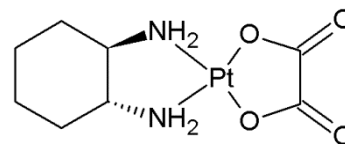
Čtvercové komplexy platiny v oxidačním stavu +II, kterými jsou cisplatina (Obr. 1), karboplatina (Obr. 2) a oxaliplatina (Obr. 3), představují v současnosti jedny



Obr. 1 Cisplatina



Obr. 2 Karboplatina



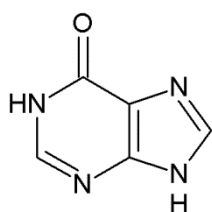
Obr. 3 Oxaliplatina

z nejpoužívanějších látek pro léčbu nádorových onemocnění. (1) Nejstarší známou sloučeninou z této skupiny látek, u které byly prokázány cytostatické účinky je cisplatina, která byla připravena už roku 1844 Peyronem, jako tzv. Peyronova sůl, nicméně o jejích protinádorových účincích v této době nebylo známo vůbec nic. Její cytostatické působení bylo objeveno až následně a to Alfredem Rosenbergem, který v roce 1960 při svém zkoumání působení elektrického pole na růst bakterie *Escherichia Coli* náhodně zjistil, že v substrátu vznikající cisplatina je schopna potlačit buněčné dělení. (2) Po řadě dalších testů a klinických studií se z cisplatiny stala komerčně nejvyužívanější látka pro léčbu rakoviny. (1), (3), (4)

Přestože se v případě cisplatiny v oblasti onkologie jedná dosud o celosvětově nejpoužívanější látku, nese tato sloučenina celou řadu nezanedbatelných negativních vedlejších účinků, mezi které patří například kumulativní nefrotoxicita či neurotoxicita. Dalším negativem, které tato látka nese je to, že je aktivní pouze v léčbě úzkého spektra lidských nádorů (rakovina vaječníků, varlat, malobuněčný nádor plic). Dalším omezením je vznik rezistence nádorových buněk na tuto látku při opakovaném použití. (1) V důsledku tohoto byla syntetizována celá řada jiných derivátů cisplatiny ve snaze potlačit nežádoucí účinky a rozšířit pole působení na rozličné nádorové linie, z nichž úspěšné a celosvětově používané látky jsou oxaliplatina a karboplatina. Samozřejmě i řada jiných komplexů platiny je ve světě používána, ovšem v menším měřítku a většinou pouze v určitých oblastech světa. (1), (5)

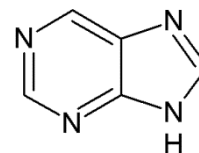
Cílem této diplomové práce bylo provést literární rešerši na téma komplexních sloučenin platiny, které jsou hojně využívány v klinické praxi, ale i takové které jsou

používány pouze lokálně, či takové, které jsou v současné době prozatím v některé ze tří fází klinického testování. Na základě provedené literární rešerše byly jako ligandy vybrány různě substituované deriváty hypoxantinu – 6-oxopurinu (Obr. 5), a to z důvodu, že jeho základ



Obr. 5 Hypoxantin

tvoří purinový skelet (Obr.4), (6) který je tělu vlastní. Je obsažen v purinových nukleových bázích DNA i RNA, a to jako adenin a guanin. Dalším z důvodů pro výběr daných ligandů bylo to, že látky podobného strukturního typu jsou již v současné době používány



Obr. 4 Purin

v klinické praxi pro léčbu různých onemocnění. Pro příklad lze jmenovat antivirotika pro potlačení projevů onemocnění HIV, kterými jsou acyklovir a gancyklovir, či například interferony používané pro léčbu chronické hepatitidy C. (7)

Dalším z cílů této práce byla snaha o přípravu některých komplexních sloučenin odvozených od cisplatiny, karboplatiny, či oxaliplatiny náhradou *N*-donorových ligandů ve struktuře původní molekuly vybranými organickými *N*-donorovými ligandy obsahujícími různě substituovaný skelet hypoxantinu. U těchto vybraných ligandů by mělo docházet k vazbě na kovový platnatý iont přes dusík N7. Dále pak také takových derivátů cisplatiny, kde nedochází k náhradě pouze *N*-donorových ligandů, ale i dvou molekul chloru některým jiným halogenem, konkrétně k náhradě chloridových ligandů ligandy bromidovými či jodidovými.

Právě tyto výše zmíněné poznatky, společně s tím, že na našem pracovišti již byly syntetizovány platnaté komplexy s *N*-donorovými ligandy v podobě různě substituovaných purinových derivátů, nás vedly k předpokladu, že deriváty platnatých protinádorově aktivních sloučenin v kombinaci právě s těmito ligandy by mohly vykazovat zajímavou biologickou aktivitu.

Připravené komplexní sloučeniny strukturních typů $cis-[PtX_2(L)_2]$ ($X = Cl, Br, I$; $L = N$ -donorový ligand) a $[Pt(ox)(L)_2]$ ($H_2ox =$ kyselina šťavelová) s ligandy obsahujícími různě substituovaný purinový skelet, byly podrobeny kompletní analýze zahrnující elementární analýzu, hmotnostní spektroskopii, infračervenou spektroskopii, termickou analýzu a NMR spektroskopii.

Pro přehlednost si dovoluji konkrétní cíle této diplomové práce specifikovat v bodech:

1. Vypracovat literární rešerši týkající se problematiky komplexů platiny používaných v lékařství a v klinických testech.

2. Vypracovat literární rešerši na téma hypoxantin a jeho deriváty s důrazem na syntetické postupy a biologickou aktivitu.
3. Na základě výsledků provedené rešerše připravit vybrané deriváty hypoxantinu.
4. Připravit komplexy platiny strukturních typů *cis*-[PtX₂(L)₂] a [Pt(ox)(L)₂] s vybranými deriváty hypoxantinu.
5. Připravené látky charakterizovat širokou šálou fyzikálně-chemických metod, například infračervená spektroskopie, NMR spektroskopie, hmotnostní spektrometrie.
6. Vybrané připravené látky podrobit biologickým testům *in vitro* na vybraných druzích lidských nádorových linií.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. PLATINA A JEJÍ SLOUČENINY

Platina je ušlechtilý přechodný kov patřící mezi těžké platinové kovy. Je odolná vůči minerálním kyselinám a rozpouští se pouze v lučavce královské. Taveniny oxidů či hydroxidů jsou však rozpustné dobře.

Jejími obvyklými oxidačními stavy jsou II a IV, přičemž nejnižším prokázaným oxidačním stavem je stav 0. Tento oxidační stav však musí být stabilizován π -akceptorovými ligandy, kterými bývají fosfany $[\text{Pt}^0(\text{PR}_3)_4]$ a arsany $[\text{Pt}^0(\text{AsR}_3)_4]$. Komplexy s fosfany jsou obecně žluté pevné nebo kapalné látky stálé na vzduchu a lze je připravit z vodných nebo vodně-ethanolických roztoků obsahující platnaté kationty. Jako redukční činidla se používají hydrazin N_2H_4 nebo tetrahydridoboritan sodný NaBH_4 . Důležitou vlastností těchto komplexů je jejich schopnost v roztoku snadno disociovat na planárně uspořádané komplexy, které mají koordinační číslo 4. Platina není v žádném ze známých případů schopna tvořit záporné oxidační stavy a ani jednoduché karbonyly, přestože nikl, který má totožnou valenční sféru tvoří tetrakarbonyl niklu $[\text{Ni}^0(\text{CO})_4]$, bezbarvou jedovatou kapalinu. Maximální oxidační stav platiny je VI, který uplatňuje výhradně ve sloučenině PtF_6 . (8), (9)

Platina se nejčastěji vyskytuje v oxidačním stavu II, tedy s elektronovou konfigurací $(_{54}\text{Xe}) 4f^{14} 5d^8 6s^0$, má koordinační číslo čtyři a tvoří výhradně diamagnetické, čtvercové komplexy.

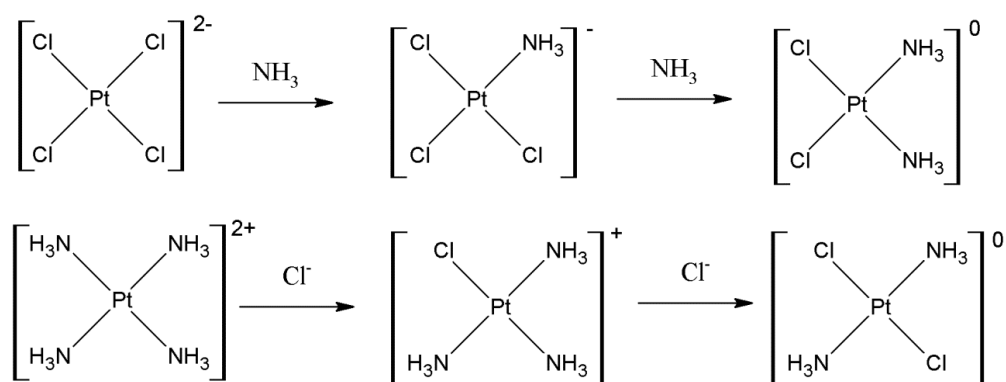
K bezpochyby velmi důležitým komplexům platiny v oxidačním stavu II patří aniontové komplexy s tetrachloridoplatnatanovým aniontem $[\text{PtCl}_4]^{2-}$. Chloridové anionty totiž velmi snadno podléhají substituci, a je proto možno je v komplexní sloučenině snadno nahradit. Toto je důvodem, proč se tato látka ve formě vodného roztoku často používá jako výchozí pro přípravu složitějších koordinačních sloučenin platiny.

Dalšími zajímavými komplexy jsou ty, které obsahují jako ligandy amoniak či aminy. Jedná se o kationtové komplexy. Hovoříme zde o úplně prvním platnatém komplexu s amoniakem, který byl připraven Magnusem. Vzorec tohoto komplexu je $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a byl získán zaváděním nadbytečného amoniaku do vodného roztoku chloridu platnatého PtCl_2 . (8), (9)

Oba tyto komplexy byly zmíněny, protože si na nich lze snadno vysvětlit *trans*-efekt, který je nejlépe prostudován právě u platnatých komplexů z důvodu, že u nich snadno probíhají substituční reakce. Obecně lze říci, že *trans* efekt vyvolávají π -akceptorové ligandy, které jsou schopny odčerpávat část elektronové hustoty z atomu kovu, čímž dochází

také k částečnému odčerpání elektronové hustoty mezi atomem kovu a ligandem stojícím v *trans* poloze vůči π -akceptorovému ligandu. Vazba je tak labilizována, ligand snadno odstupuje a může být nahrazen. Na základě studia těchto reakcí byly jednotlivé ligandy uspořádány do řady podle jejich π -akceptorové schopnosti. Vedle tohoto jevu můžeme hovořit také o *trans*-vlivu, který je založen na σ -donorové síle ligandů. Dochází k axiální polarizaci elektronového systému centrálního atomu platiny a tím k tomu, že v místě vazby takového silného σ -donorového ligandu se na centrálním atomu indukuje kladný náboj a na straně druhé náboj záporný. Takovýmto způsobem dojde k oslabení vazby v *trans* poloze a ligand snáze odstupuje. Těchto vlastností jednotlivých ligandů lze využít k přípravě stereospecifických komplexů, z nichž *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] je nyní velmi důležitou protinádorově aktivní látkou používanou v klinické praxi. Například bude-li výchozí látkou pro syntézu komplexu [Pt(NH₃)₄]²⁺ bude substituce postupně probíhat do polohy *trans*, jelikož první substituovaný chloridový atom bude labilizovat vazbu v *trans* poloze. Pokud bude výchozí látkou [PtCl₄]²⁻, bude substituce probíhat do polohy *cis*, poněvadž ammin ligand navázaný v prvním kroku neovlivní *trans*-efekt chloridového iontu (Obr. 2). (8), (9)

V oxidačním stavu IV je platina schopna tvořit dobře známý oxid platičitý PtO₂, ale také diamagnetické, nízkospinové oktaedrické komplexy s koordinačním číslem rovným šesti. Platičité komplexy jsou nejčastější s halogenidovými nebo *N*-donorovými ligandy. Jedná se o látky stabilní a kineticky inertní. (8), (10)



Obr. 6 *Trans*-efekt

2.1.1. Cisplatina

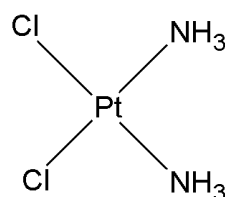
Cisplatina, *cis*-diammin-dichloridoplatnatý komplex, *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], je planární komplex obsahující jako centrální kov platinu v oxidačním stavu +II, tj. konfigurace 5d⁸. Jedná se o pevnou látku světle žluté barvy. (11), (12) Na centrální atom jsou proti sobě

vázány v *cis*- poloze dva chloridové ligandy a dva ligandy amminové. Chloridové skupiny jsou snadno nahraditelné, protože při substitučních reakcích snadno odstupují a jsou snadno nahrazovány jinými ligandy, naopak ammin ligandy jsou vázány pevnou vazbou a jejich náhrada je obtížná. (13)

Cisplatina je jedním z komerčně nejvíce užívaných protinádorových léčiv aktivních hlavně pro léčbu rakoviny varlat, kde její úspěšnost činí až 90%, pro léčbu rakoviny vaječníků a malobuněčného nádoru plic. Její použití je i značně omezené, a to hned z několika důvodů, uvedených v kapitole 2.1.1.2.. Právě omezenost použití této látky společně s nežádoucími účinky (uvedeny v kapitole 2.1.1.3.), vedly vědce ke snaze připravit jiné deriváty cisplatiny. Konkrétně byla vyvíjena snaha o syntézu derivátů, které by vykazovaly podobnou, nebo dokonce vyšší aktivitu než cisplatina samotná, a které by zároveň byly aktivní proti jiným lidským nádorovým liniím. Dalším důležitým parametrem pro syntézu nových látek bylo snížení toxicity. (13), (14) O těchto látkách je pojednáno v samostatných kapitolách předložené diplomové práce.

2.1.1.1. Historie

Historie cisplatiny (Obr. 7) sahá až do roku 1844, kdy byla syntetizována Peyronem jako tzv. Peyronova sůl. Struktura sloučeniny byla objasněna Alfredem Wernerem v roce 1893. Pozornost se k této sloučenině poté obrátila až v roce 1960, kdy Rosenberg a jeho spolupracovníci zkoumali efekt elektrického pole na růst bakterií, konkrétně *Escherichia Coli*. Použili živnou půdu s obsahem NH_4Cl



Obr. 7 Cisplatina

(NH_4Cl 2g/l a dalších látek: Na_2HPO_4 6g/l; KH_2PO_4 3g/l; MgCl_2 0,01g/l; Na_2SO_4 0,026g/l), platinovou elektrodu a světlo ve viditelné oblasti vlnových délek. Zjistili, že *Escherichia Coli* kultury vyrostly asi na 300 násobek jejich běžné velikosti, avšak buňky nebyly dále schopny buněčného dělení. Shledali, že působení elektrického pole nebylo zodpovědné za zástavu buněčného dělení, ale že roli zde hrají malá množství sloučenin platiny, které vznikly v živné půdě během elektrolýzy. Předpokládali, že během elektrolýzy dochází ke tvorbě aniontu $[\text{PtCl}_6]^{2-}$. Konkrétně docházelo ke vzniku komplexu $(\text{NH}_4)_2[\text{PtCl}_6]$, který se projevuje jako bakteriostatický, a to tak, že inhibuje buněčné dělení již ve velmi malých koncentracích (v koncentraci 10 ppm). Hovoříme zde o čerstvých roztocích tohoto komplexu, nicméně Van Camp a jeho kolegové zkoumali roztoky po uplynutí doby 2-3 dní a zjistili, že tyto roztoky dokáží dobře produkovat vláknité buňky. V roztoku obsažený neaktivní aniont $[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_5]^-$

totiž snadno přechází na neutrální komplex $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_4]$, který je schopen silně inhibovat buněčné dělení, na druhou stranu má malý inhibiční účinek na růst samotné buňky. Komplex $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_4]$ se může vyskytovat jako izomer *cis*- i jako izomer *trans*-. Oba tyto izomery byly podrobeny biologickým testům, ze kterých jednoznačně vyplynulo, že izomery *cis*- jsou biologicky aktivní, zatímco izomery *trans*- mají aktivitu pouze zanedbatelnou. V průběhu biologických testů na komplexu $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_4]$ byly testovány také *cis*- a *trans*- izomery $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, které vznikají následnou redukcí při fotochemických a elektrolytických reakcích. Aktivita byla prokázána opět pouze u komplexu s konfigurací *cis*. (2), (3), (13), (4)

Po tomto objevu se Rosenberg začal aktivně věnovat studiu platnatých komplexů, jehož konečným výsledkem byla příprava první protinádorově aktivní komplexní sloučeniny $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ tzv. cisplatina. Jednalo se o diammin-dichloridoplatnatý komplex. Inhibiční účinek této látky byl testován na kmenech bakterií *Escherichia coli*, kdy bylo prokázáno, že tato sloučenina dokáže inhibovat buněčné dělení. Účinnost cisplatiny na lidské nádorové buňky byla objevena následně, a to kolem roku 1970. (15) Přestože se jedná o látku velmi aktivní a v současné době globálně nejpoužívanější, její použití nese celou řadu omezení v podobě rozsáhlých nežádoucích účinků a omezené aktivity. Ve snaze snížit toxické účinky této látky na lidský organismus, bylo syntetizováno a testováno několik tisíc dalších sloučenin podobného charakteru. (16)

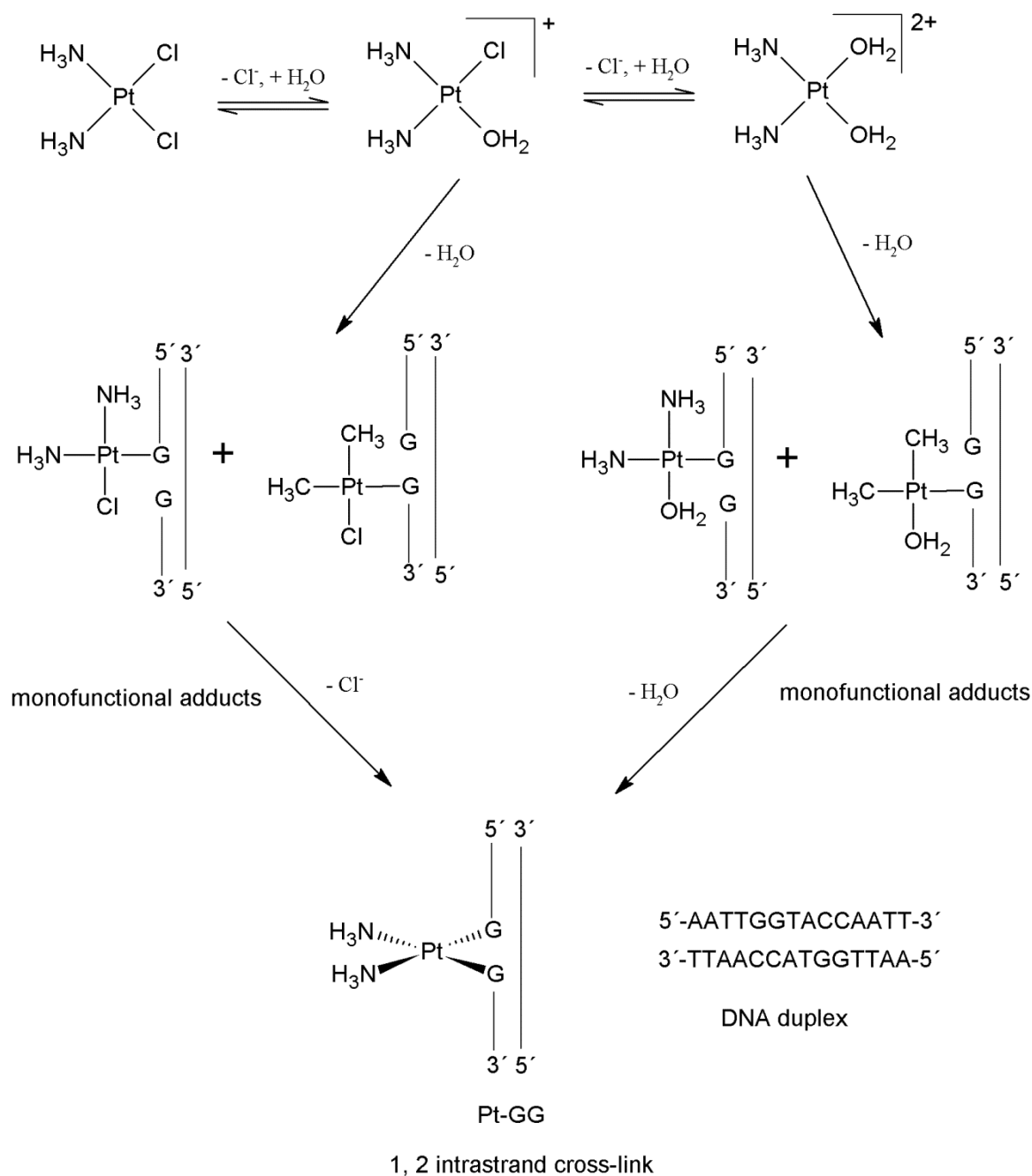
2.1.1.2. Mechanismus účinku, použití

Mechanismus účinku tohoto komplexu nebyl překvapivě doposud zcela objasněn, přestože látka je používána již řadu let. Předpokládá se, že působení cisplatiny v lidském organismu je vícekroková záležitost. Prvním krokem po podání je akumulace léčiva v organismu, druhým je jeho aktivace a třetím a zároveň posledním krokem je proces působení na buňku a její DNA. (4), (17)

Pokud se blíže podíváme na první krok následující bezprostředně po podání, pravděpodobná reakce interakce komplexu s buňkou je zahájena buď pasivní difúzí neutrální molekuly přes buněčnou membránu, nebo může docházet k aktivnímu transportu zprostředkovanému pomocí přenašečů obsahujících kovové centrum mědi. (17)

V následujícím, druhém, kroku cisplatina postupně ztrácí oba chloridové ligandy, které jsou postupně nahrazeny molekulami vody za vzniku kladně nabitého mono- nebo diaqua komplexu. Tato aquatovaná, kladně nabitá forma komplexu je, po odstoupení aqua ligandů, schopna reagovat se samotnou DNA, se kterou tvoří vazbu. Jako první s návrhem

mechanismu reakce cisplatiny s DNA přišli Rosenberg a jeho kolegové. Přišli na to, že cisplatina by se mohla bifunkčně vázat na obě vlákna DNA a tvořit tak vnitrořetězcové příčné vazby, ale protože vzdálenost mezi vlákny, která by musela být překlenuta pouze jedním Pt(II) atomem je příliš velká, byl navržen mechanismus jiný, a to sice předpoklad, že cisplatina se váže na dvě sousední purinové báze ležící na stejném vlákně DNA a tvoří tak vnitrořetězcový purinový dimer. Pozdější detailnější studie Fichtinger-Schepmana, Reedijka a jejich kolegů teorii potvrdily a specifikovaly v tom, že vazba cisplatiny s DNA je zprostředkována přes guaninový dusík N7 podél řetězce. Vytvoření vazby pak zabraňuje replikaci DNA a tím dalšímu buněčnému dělení a způsobuje apoptózu buňky – nádorové buňky jsou zničeny. Tento proces je hlavním příspěvkem protinádorové aktivity molekuly. (12), (13), (4), (18), (19) Navázání cisplatiny na DNA je uvedeno na Obr. 8, který je převzat z knihy J. C. Dobrowiak, Metals in Medicine. (12)



Obr. 8 Schéma aktivace a vazby cisplatiny na DNA (12)

Použití cisplatiny jako léčiva je samozřejmě limitováno několika faktory. Prvním z nich je limitace použití této léčebné substance ve smyslu velmi úzké skupiny nádorů, proti kterým je léčivo účinné. Druhým, neméně důležitým omezením je postupná tvorba rezistence nádorových buněk na tuto látku. Dalším negativem limitujícím použití je omezená rozpustnost cisplatiny ve vodném prostředí při intravenózním podání pacientovi a vysoká toxicita ke zdravým buňkám. (13), (5)

Cisplatina je navzdory značným vedlejším účinkům hojně užívaným léčivem, a to nejčastěji na léčbu testikulárních a ovariálních nádorů, nádorů prsou a krku. (19) Nejčastěji je podávána intravenózně s pomocným roztokem chloridu sodného, 0,5 mol/l kyseliny chlorovodíkové a vody. Podána může být buď v rychlé infuzi trvající 15 – 60 minut, kdy je v podstatě okamžitě dosaženo maximálních plazmatických koncentrací, nebo může být podána v infuzi trvající 6 – 24 hodin, kdy k nárůstu plazmatických koncentrací cisplatiny v těle dochází postupně. Podávané dávky se pohybují mezi 20 - 120 mg/m³ a to jak v monoterapii, tak i v kombinaci s jinými léčivy. Podávané množství léčiva se liší pacient od pacienta v závislosti na různých faktorech (základní onemocnění, další podávaná medikace, toxické projevy). (20)

2.1.1.3. Nežádoucí účinky

K největším faktorům ovlivňujícím podání léčiva patří kumulativní nefrotoxicita. (20) Nefrotoxicita cisplatiny byla objevena již ve velmi raném stádiu jejího klinického testování v 70. letech 20. století. Použití tohoto léčiva s dostatečnou intravenózní hydratací a současně s mannitem (mannitol je osmotické diuretikum, tzn. používá se pro zvýšení produkce moči, používá se jako prevence při nízké produkci moči spojené se selháním ledvin, v tomto případě, kdy je mannitol podáván společně s cisplatinou slouží k potlačení vedlejších účinků (21), (22)) však dovolilo trojnásobně zvednout podávanou dávku tohoto léčiva. (4), (23)

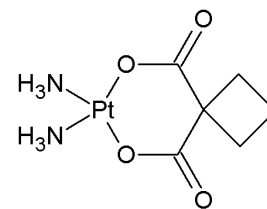
Nevolnost a zvracení jsou jedním z dalších, ale bohužel velmi běžných nežádoucích projevů při podání léčiva. Projevy nevolnosti a zvracení lze rozdělit do dvou typů v závislosti na reakci při podání antiemetik (antiemetika se používají pro potlačení nevolnosti a zvracení (24)). Prvním typem je akutní zvracení, které převládá do 24 hodin po intravenózní aplikaci cisplatiny. Zvracení a nevolnost jsou v tomto stádiu velmi intenzivní, ale vysoce citlivé na podání serotoninu, který tento mechanismus řídí. Opožděná nevolnost a zvracení, které lze očekávat více než 24 hodin po podání léčiva, je obvykle méně intenzivní, ale obtížněji kontrolovatelné dostupnými antiemetiky. (4), (23)

Neurotoxicita je jedním z nejzávažnějších vedlejších účinků podání cisplatiny. Nejčastějším projevem je periferní neuropatie poškození periférních nervů (25)). (23) Pozorována byla při dlouhodobějším užívání cisplatiny v řádu několika měsíců, ale i při jednotlivém podání vysoké dávky léčiva. (20) Periferní neuropatie (se projevuje necitlivostí, brněním v končetinách, hučením v uších, obtížemi při chůzi nebo hluchotou. (23)

Dalšími problémy mohou být například útlum tvorby kostní dřeně spojený s poruchou krve tvorby, který byl pozorován asi u 30 % pacientů. (20)

2.1.2. Karboplatina

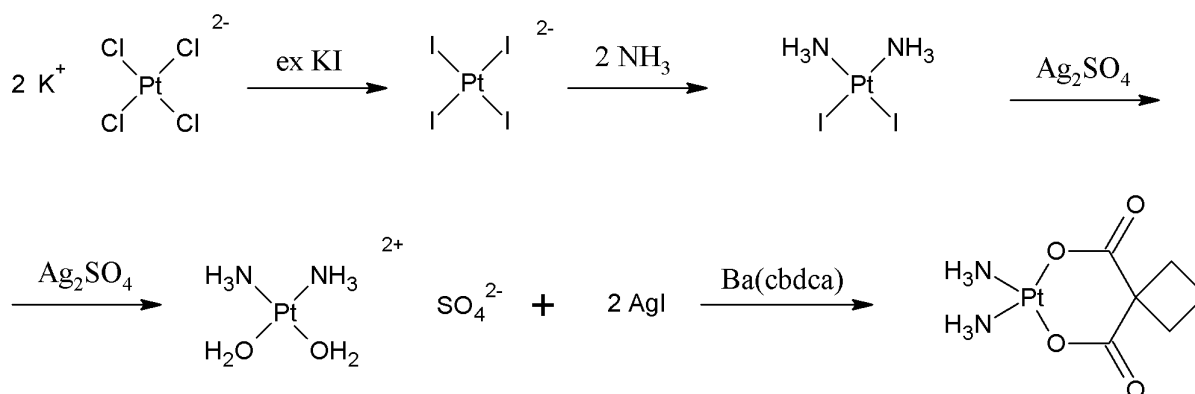
Karboplatina je léčivo schválené roku 1985 ve Spojeném Království a Kanadě, nedlouho na to i v USA. Jedná se o druhou generaci léčiv odvozených od cisplatinu a je jediné, po cisplatině následující, protinádorové léčivo, které došlo plošně celosvětového



Obr. 9 Karboplatina

užití. Podávána je buď samotná, nebo v kombinaci s jinými léčivy na posílení jejího účinku. Jedná se o komplexní sloučeninu platiny s chemickou strukturou odvozenou od původního léčiva, cisplatinu. (4), (16)

Snadno odstupující skupinou je 1,1'-cyklobutandikarboxylová kyselina, která je na platinové centrum vázána chelátově přes dva kyslíkové donorové atomy, proto její odstoupení není v porovnání s chloridovými ligandy cisplatinu tak rychlé a k aquataci komplexu dochází pomaleji. (12), (13), (23) Struktura této látky je uvedena na Obr. 9, její příprava pak na Obr. 10. Systematický název zní diammin-[1,1'-cyklobutandikarboxylato(2-)]-O,O'-platnatý komplex. (16)



Obr. 10 Příprava karboplatiny (12)

Pokud se budeme snažit porovnat karboplatinu, jako léčivo odvozené od cisplatinu, s cisplatinou samotnou, dojdeme k závěru, že karboplatina je látkou organismem lépe snášenou s mnohem nižšími vedlejšími účinky, především způsobuje mnohem nižší myelosupresi (myelosuprese = potlačení funkce krvetvorné kostní dřeně (26)) a nevykazuje nefrotoxicitu. Karboplatina a cisplatinu jsou vzájemně zkříženě rezistentní (zkřížená rezistence znamená současnou necitlivost nádorových buněk na léčiva, která mají podobnou strukturu nebo

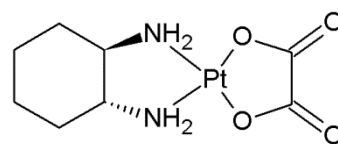
podobný mechanismus působení (27)). Aktivita proti nádorům rezistentním vůči cisplatině samotné tedy bohužel pozorována nebyla. (13), (14), (4), (16), (28)

Otevírání chelátového kruhu karboplatiny vede k tomu, že je mnohem toxičtější pro nežádoucí nádorové buňky než jiná léčiva. V roce 1996 Overbeck a jeho kolegové zjistili, že karboplatina, pokud je dána do prostředí obsahujícího chloridový ion, je mnohem více toxická ke kmenu bakterií *Escherichia coli*, než pokud je obsažena pouze v čerstvých vodných roztocích. Použitím tenkovrstevné chromatografie (TLC) prokázali přítomnost cisplatinu v daných, chloridový ion obsahujících, roztocích. Toto zjištění je vedlo k názoru, že za protinádorové účinky karboplatiny by mohla být zodpovědná částečná konverze některých molekul karboplatiny na cisplatinu samotnou. (12)

Předpokládá se, že mechanismus působení je podobný cisplatině. Karboplatina tvoří adukty s DNA, které jsou ve své podstatě podobné aduktům cisplatinu-DNA. Hlavním rozdílem mezi oběma léčivy je především v jejich rozdílné stabilitě v biologických podmínkách. Karboplatina je mnohem stabilnější, což je zapříčiněno obsahem chelátového kruhu. Tento fakt vede k nižší ochotě vázat se na proteiny a k vyloučení části nezměněného léčiva močí. (16), (23)

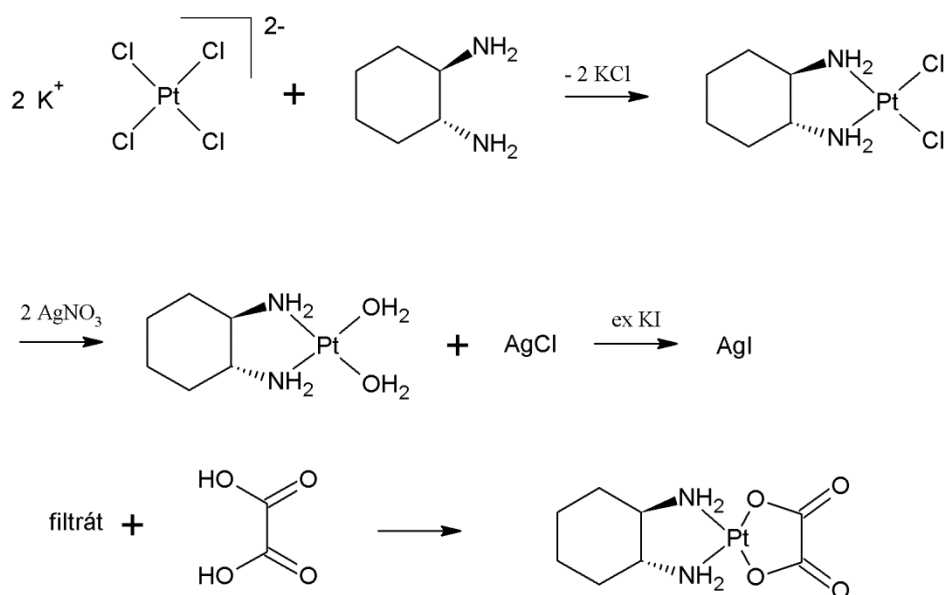
2.1.3. Oxaliplatina

Oxaliplatina (Obr. 11) je třetí generací protinádorových léčiv odvozených od cisplatinu. (29)



Obr. 11 Oxaliplatina

Jedná se o *R,R*-isomer diaminocyklohexanplatnatého komplexu obsahujícího oxalátový dianion jako odstupující skupinu. Oxaliplatina, jako protinádorové léčivo, získala schválení ve státech Evropské Unie v roce 1999 a později, v roce 2002, ve Spojených Státech. Stejně jako jiná, platinu obsahující, protinádorová léčiva mechanismus účinku zahrnuje generaci hydratovaných platinových částic v buňkách a tvorbu aduktů s DNA. (12), (23)



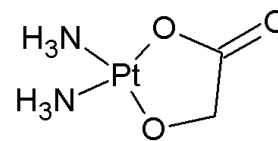
Obr. 12 Schéma přípravy oxaliplatiny (12)

Oxaliplatina je aktivní vůči širokému spektru nádorových bujení a je dokonce aktivní i vůči nádorovým buňkám, které jsou vůči cisplatině rezistentní, např. vykazuje významnou protinádorovou aktivitu u pacientů s pokročilým stádiem rakoviny tlustého střeva, a to buď podávaná sama, nebo v kombinaci s 5-fluorouracilem, kdy je její účinnost mnohonásobně zvýšena. Dále vykazuje aktivitu např. proti rakovině vaječníků. (12), (13), (28), (23) Aktivita tohoto léčiva je tedy vyšší, než aktivita samotné cisplatiny, nicméně vykazuje několikanásobně nižší nefrotoxicitu a ototoxicitu (ototoxicita = toxicita pro sluchový nerv VIII a vnitřní ucho (30)). Oxaliplatina nevykazuje zkříženou rezistenci s cisplatinou, jako například karboplatina. Může být využita pro léčbu nádorových onemocnění, které jsou proti cisplatině rezistentní a je méně myelosupresivní než karboplatina. Limitací použití léčiva je periferní neuropatie, která se projevuje ztrátou citu v končetinách a citlivostí na chlad. Příznaky jsou patrné okamžitě po podání léčiva, ale nakonec odeznívají, proces je reverzibilní. Pokud je však vystavení organismu léčivu kontinuální, odeznění neuropatie není zcela reverzibilní. (12), (14), (15), (28) Na Obr. 12 je uvedeno schéma přípravy oxaliplatiny.

2.1.4. Lokálně používaná léčiva

2.1.4.1. Nedaplatina

Nedaplatina (Obr. 13), jejíž systematický název je *cis*-diammin-glykolatoplatnatý komplex, je registrována jako protinádorové léčivo v Japonsku, kde byla vyvinuta firmou Shionogi Pharmaceutical Company of Osaka, pro léčbu nádorových onemocnění hlavy, krku,

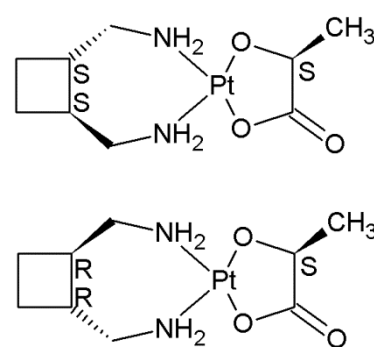


Obr. 13 Nedaplatina

varlat, plic, vaječníků a rakoviny děložního čípku. Jako neodstupující skupiny v molekule vystupují dvě molekuly amoniaku. Tyto ammin skupiny položené v *cis*- poloze jsou strukturně shodné s molekulou cisplatinou i s molekulou karboplatinou, což vede k vzájemné podobnosti. Naopak odstupující skupinou v molekule je dianionická forma glykolové kyseliny, která tvoří pětičetný kruh s atomem Pt(II). Testy ukázaly, že nedaplatina je zkříženě rezistentní s cisplatinou na nádorové linii leukemických buněk L1210/CDDP, ale toxicita, kterou látka disponuje je ve srovnání s ní nižší. Látka nese některé společné znaky s karboplatinou, například to, že je myelosupresivní, což, stejně jako u karboplatinu, limituje její dávkování. Naopak její nefrotoxicita je v porovnání s cisplatinou nižší. (12), (13), (17), (31)

2.1.5.2. Lobaplatina

Lobaplatina – (R,R/S,S)-1,2-bis(aminomethyl)cyclobutan[(2S)-2-hydroxypropanoato,*O,O'*]platnatý komplex. Jedná se o protinádorové léčivo používané v Číně pro léčbu leukemie, metastatické formy rakoviny prsu a rakoviny plic. Tato látka vykazuje méně nežádoucích účinků než cisplatina a byla vyvinuta jako třetí generace léčiv s rozdílnou aktivitou. Působí na nádorové linie, které jsou proti cisplatině a karboplatině



Obr. 14 Lobaplatina

rezistentní. Lobaplatina je směs dvou sloučenin, které jsou vzájemně diastereomerní, Obr. 14. Jako snadno odstupující skupina ve sloučenině vystupuje chirální 1,2-bis(aminomethyl)cyclobutan, který je do syntézy přidáván jako racemická směs pro přípravu obou diastereomerních forem. Jedná se o chelatuující ligand, který tvoří s kovovým centrem Pt(II) sedmičetný kruh. Ze sterického hlediska je tento sedmičetný kruh méně termodynamicky stabilní než kruhy pěti- či šestičetné. Nicméně protože vazba mezi platinou a aminovou skupinou je velmi pevná, předpokládá se, že zůstává zachována i po aplikaci do

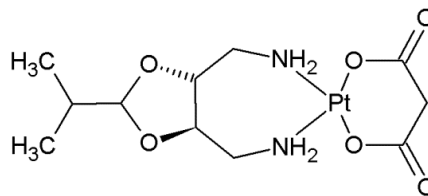
biologického prostředí. Skupinou odstupující je v případě této sloučeniny běžně se vyskytující opticky aktivní forma kyseliny mléčné, která odstupuje ve formě dianionu. (12), (17), (32)

2.1.6.3. Heptaplatina

Heptaplatina – cis-malonato-[(4*R*,5*R*)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxo]platnatý

komplex, jeho struktura je uvedena na Obr. 15.

Neodstupující skupinou v této molekule je chirální forma cyklického diaminu fixovaného pomocí dietheru



Obr. 15 Heptaplatina

uspořádaného do pětičetného kruhu. Na opačné straně molekuly je navázán dianion malonové kyseliny, který naopak v molekule slouží jako skupina snadno odstupující a to ve formě dianionu. Heptaplatina je používána lokálně, a to v Severní Koreji pro léčbu rakoviny žaludku a v kombinaci s další látkou – paclitaxel (= chemoterapeutikum zabraňující dalšímu buněčnému dělení a tím nádorovému růstu (33)) pro léčbu rakoviny hlavy a krku. Toto léčivo, zdá se, je efektivní v léčbě nádorových onemocnění, která jsou rezistentní proti cisplatině. Navíc vykazuje nižší hodnoty hepatotoxicity a myelosuprese. Jediným limitujícím faktorem v dávkování této látky je nefrotoxicita. (12), (17)

2.1.5. Léčiva v klinických testech

2.1.5.1. Lipoplatina

Lipoplatina byla vyvinuta jako léčivo s potlačením systematické toxicity cisplatinu a pro lepší zacílení primárního nádoru i metastáz. Dalším požadavkem bylo překonat rezistenci nádoru vůči cisplatině. (34)

Lipoplatina je lipozomální suspenzí cisplatinu. Jedná se o nanočástice vytvořené tvorbou reverzních micel s DPPG (dipalmitoyl fosfatidyl glycerol) a následným převodem do liposomů s neutrálními lipidy. Takto upravená léková forma cisplatinu vykazuje zvýšený poločas života jak v tělních tekutinách, tak v tkáních. Látka má schopnost zacílit nádorové buňky i jejich metastázy na základě narušení jejich endotelia ve vaskulatuře (žilkách) naklíčené během patologické angiogeneze (angiogeneze = novotvorba cév (35)) a zde potom zvýšit svoji koncentraci až 200krát v porovnání se zdravou tkání. (34), (36)

Během klinických testů probíhajících s touto látkou bylo prokázáno, že vykazuje podobné pole působnosti jako cisplatina (rakovina krku, tlustého střeva, rakovina hlavy),

ovšem oproti ní má skutečně nižší toxicitu. Ve druhé fázi klinického testování bylo přistoupeno ke kombinaci lipoplatiny s vinorelbinem (vinorelbin je látka patřící do třídy rostlinných alkaloidů). Jedná se o látku používanou jako chemoterapeutikum pro léčbu pokročilého nádorového onemocnění prsu a nemalobuněčného nádoru plic (37)). Tato kombinace vykazala podstatné snížení toxicity a podobnou nebo dokonce zvýšenou účinnost na nádorové linii HER-2/neu-Negative (metastatická nádorová linie nádoru prsu). Prozatím ovšem nejsou žádná data pro rakovinu děložního čípku. (34)

2.1.5.2. Pikoplatina

Pikoplatina, *cis*-ammin-(2-methylpyridin)-dichloridoplatnatý komplex, je analogem cisplatinu a byla připravena speciálně se snahou o působení na nádory rezistentní vůči cisplatině. Tato látka je ve III. fázi klinického testování proti malobuněčnému nádoru plic v podání jako monoterapeutikum. Během klinického testování, konkrétně během I. a II. fáze bylo zjištěno, že látka, na rozdíl od jiných běžně používaných platnatých léčiv, vykazuje nižší hodnoty neurotoxicity, nefrotoxicity i ototoxicity. Během II. fáze klinického testování byla prokázána aktivita také proti nádorovým liniím rakoviny prsu, vaječníků, nemalobuněčného nádoru plic a rakoviny prostaty. (38), (39)

2.1.6. *Trans*-platnaté komplexy

Platnaté komplexy *trans*- geometrie byly považovány za protinádorově neaktivní. Tento závěr byl učiněn z důvodu, že nejsou schopny tvořit 1,2-vnitrořetězcové příčné vazby ve struktuře DNA a tím pádem nejsou schopny efektivně inhibovat replikaci a transkripci DNA. (17)

Trans-platina je tedy inaktivním izomerem cisplatinu, která v tuto formu pozvolna přechází ve vodném prostředí. *Trans*- izomer je termodynamicky mnohem stabilnější nicméně kineticky mnohem reaktivnější, což může vést k deaktivaci molekuly reakcí se sírou na molekule methioninu. *Trans*-platina je, stejně jako její *cis*- izomer, schopna prostupovat do jádra buněk, nicméně její nízká schopnost interakce s DNA nádorových buněk je připisována tomu, že je schopna tvořit s DNA pouze jednovazebné adukty, jak bylo uvedeno výše. (11), (4), (17)

Pozdější výzkumy však odhalily, že tvorba aduktů, které jsou odlišné od aduktů tvořených *cis*- deriváty, konkrétně tvorba 1,3-vnitrořetězcových příčných vazeb může vést

k cytotoxicitě *trans*-platiny. Tento výsledek vedl vědce k syntézám dalších derivátů *trans*-geometrie na platinovém centru, z nichž nemálo z nich vykazovalo opravdu významnou protinádorovou aktivitu v preklinických studiích. (17)

2.1.7. Komplexy platiny v oxidačním stavu +IV

Komplexní sloučeniny platiny v oxidačním stavu +IV jsou také schopny vykazovat protinádorovou aktivitu. U těchto komplexních sloučenin je pozorována takzvaná fotocytotoxicita, kdy komplex, který v temném prostředí nevykazuje žádnou znatelnou aktivitu, ovšem po ozáření UVA nebo světlem z viditelné oblasti získává zajímavé protinádorové vlastnosti. Jedná se o oktaedrické komplexy v *trans*-konfiguraci, které po fotoaktivaci zářením vykazují *cis-trans* izomerizaci za současné redukce platiny z oxidačního stavu +IV na +II. Tento jev byl pozorován na *trans*-dihydroxido-diazidoplatičitých komplexech (obsahujících mimo uvedených ještě dvě molekuly ligandu). Tyto látky se zdají být pro budoucnost velmi zajímavé, jelikož jejich distribuce i dávkování může být kontrolována právě světlem, kdy k vytvoření aktivní částice pro léčbu nádoru dojde až přímo na určeném místě uvnitř postižené tkáně, kdy po ozáření světelným paprskem dojde k vytvoření reaktivní částice. Zdravá tkáň tak zůstává nepoškozena a léčba nádorového onemocnění není tolik invazivní. (40), (41), (42)

Problém nastává v tom, že prostředí uvnitř nádoru je relativně hypoxické a fotoaktivní komplexy jsou méně efektivní v prostředí s menším obsahem kyslíku. Lepších účinků v protinádorové aktivitě by bylo dosaženo v prostředí, kde by byl obsah kyslíku dostatečný. (40)

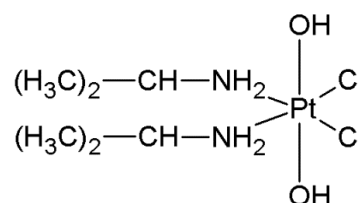
Je obecně známo, že mechanismus působení komplexu s centrálním atomem Pt(IV) spočívá v redukcí na Pt(II), ke které dochází uvnitř buněčného prostředí. Tyto Pt(II) metabolity jsou potom schopny reagovat s cílovými biomolekulami uvnitř buňky. Na základě pozorování snížení koncentrace redukčních činidel uvnitř buňky je předpokládáno, že na této redukční reakci se podílí glutathion. Dalším předpokladem v účinku Pt(IV) komplexů je, že po redukcí dochází ke vzniku analogů cisplatiny. (43)

2.1.7.1. Komplexy Pt(IV) v klinických testech

Satraplatina - bis(acetato)amino-dichlorido-(cyklohexylamin)platičitý komplex, je komplex, který nyní podstupuje klinické testování ve Spojených Státech. Satraplatina samotná, nebo v kombinaci s jinými látkami, by mohla být používána pro léčbu nádorových

onemocnění plic a rakoviny prostaty. Velkou výhodou této látky, pokud by byla uvedena do klinického použití, je to, že by se jednalo doposud o jediné a první léčivo tohoto druhu, které by umožňovalo léčbu perorálním podáním tablet, nikoli intravenózně. Oproti výše zmíněným látkám, v této sloučenině vystupuje platina v oxidačním stavu + IV, nikoli +II. Její elektronová konfigurace je $5d^6$, a tedy uspořádání kolem centrálního atomu je nikoli čtvercové, ale oktaedrické a jedná se o nízkospinový diamagnetický komplex. (12), (17)

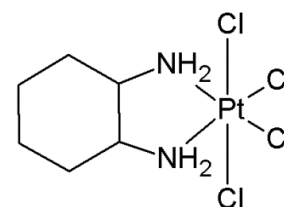
Iproplatina (Obr. 16), neboli *cis*-dichlorido-*trans*-dihydroxy-bis[isopropylamin]platičitý komplex, byla vyvinuta pro zvýšení terapeutického indexu (terapeutický index je poměr mezi toxickou a terapeutickou dávkou léku, používá se jako měřítko relativní bezpečnosti léčiva (44)) již používaných léčiv



Obr. 16 Iproplatina

a pro snížení nefrotoxicity při léčbě pacientů. Bohužel klinické studie v pokročilých stadiích karcinomu vaječníků, děložního čípku a nádorového onemocnění plic, prokázaly, že aktivita tohoto léčiva v porovnání s karboplatinou je zanedbatelná, zatímco indukuje vyšší vedlejší účinky, především gastrointerstinální a hematologické. (4) Tato látka se dostala až do III. fáze klinického testování, kde bylo jednoznačně prokázáno snížení vedlejších účinků oproti komerčně užívané cisplatině. Nicméně pro snížení její aktivity při léčbě pokročilých nádorových onemocnění byla tato fáze klinických testů přerušena. U iproplatiny bylo podrobnějším zkoumáním prokázáno, že obecný mechanismus působení, kdy komplex obsahující Pt(IV) je v buňce redukován na aktivní derivát cisplatiny pomocí glutathionu, zde neplatí. Produkt reakce mezi iproplatinou a glutathionem nebyl sice plně charakterizován, ale bylo jednoznačně prokázáno, že hlavním produktem této redukční reakce je chlorido-bis(isopropylamin)glutathionatoplatnatý komplex a ne obecně předpokládaný *cis*-dichloridoplatnatý komplex (derivát cisplatiny). Toto zjištění jednoznačně prokázalo tvorbu odlišných vazeb na biomolekuly i na DNA samotnou ve srovnání s cisplatinou. (43)

Tetraplatina (Obr. 17) je racemická směs dvou sloučenin, podobně jako v případě lobaplatiny. V racemické směsi jsou obsaženy dva izomery, a to *L-trans* a *D-trans* enantiomery tetrachlorido-(1,2-diaminocyklohexan)platičitého komplexu. Rozsah působení této látky je velmi podobný nejrozšířenějšímu v současné době používanému léčivu, cisplatině. Látka vykazuje nízkou



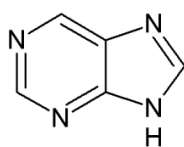
Obr. 17 Tetraplatina

zkříženou rezistenci při aplikaci na nádorové linie leukémie L1210 a P388, které jsou proti cisplatině rezistentní. Při testování na laboratorních krysách bylo prokázáno,

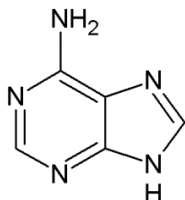
že tetraplatina vykazuje nižší nefrotoxicitu než cisplatina. Při působení komplexu po jeho aplikaci do organismu dochází k redukci Pt(IV) na odpovídající dichlorido komplex, tj. dichlorido-(1,2-diaminocyklohexan)platnatý komplex a očekává se, že tento produkt biotransformace *in vivo* původní sloučeniny je hlavní biologicky působící částicí. Klinické testy s tetraplatinou započaly již v roce 1990. (4)

2.2. PURIN A JEHO DERIVÁTY

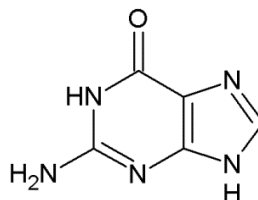
Purin je organická heterocyklická dusíkatá sloučenina. Látka je tvořena kondenzovanými kruhy pyrimidinu a imidazolu a její struktura je uvedena na Obr. 18. Mezi bezesporu pro život nejdůležitější purinové deriváty patří nukleové báze adenin, systematicky 6-aminopurin, jehož strukturu můžete vidět na Obr. 19, a guanin, systematicky 2-amino-6-oxopurin se strukturou uvedenou na Obr. 20. Obě tyto molekuly jsou hlavní součástí DNA, kde adenin tvoří vodíkovou vazbu s pyrimidinovou bází thyminem a guanin s pyrimidinovou bází cytosinem, a součástí RNA, kde adenin tvoří vazbu s uracilem a párování guaninu zůstává vázáno na cytosin. (6)



Obr. 18 Purin

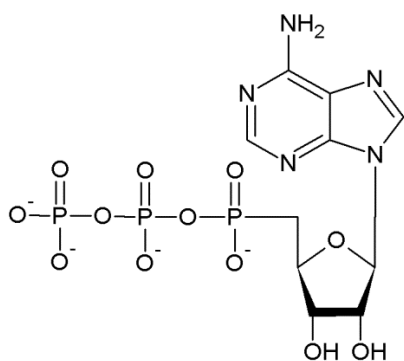


Obr. 19 Adenin

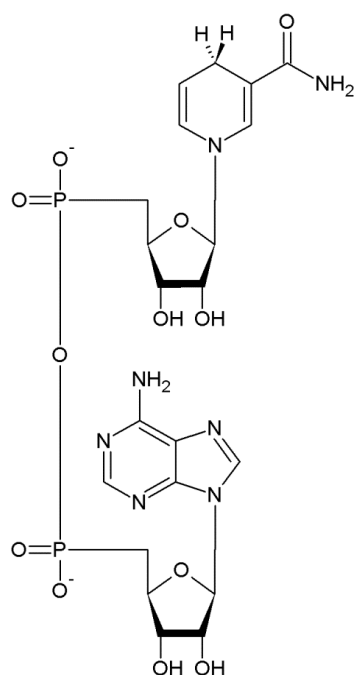


Obr. 20 Guanin

Purin byl poprvé syntetizován roku 1898 Emilem Fisherem. Prekurzorem pro přípravu této molekuly byla kyselina močová. Mimo to, že deriváty purinu, adenin a guanin, jsou hlavní součástí DNA a RNA, jak bylo zmíněno výše, jsou také součástí jiných v přírodě se vyskytujících molekul. Zmíním zde některé, kterými jsou například kofein, xantin nebo kyselina močová. Dalšími jistě neméně důležitými molekulami pro život obsahujícími purinový skelet jsou například ATP (adenosintrifosfát - Obr. 21), nebo koenzym NADH (nikotinamid adenin dinukleotid – Obr. 22). Molekula purinu obsahuje celkem sedm míst, na které mohou být navázány různé funkční skupiny. O dalších látkách obsahujících purinový skelet a o takových, které jsou biologicky nějakým způsobem zajímavé, bude pojednáno v následujících odstavcích. (45), (46), (7)



Obr. 21 ATP



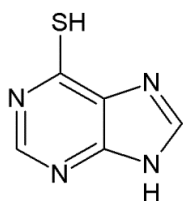
Obr. 22 NADH

2.2.1. Využití purinových derivátů

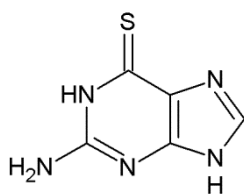
Díky přítomnosti sedmi funkčních míst na molekule purinu existuje mnoho možností jeho substituce. Tato výhoda otevírá možnosti syntézy biologicky aktivních molekul, které mohou být použity jako nová terapeutika.

Některé purinové deriváty jsou již v klinické praxi úspěšně používány, a to jak na léčbu nádorových onemocnění – např. 6-merkaptopurin (Obr. 23), nebo 6-thioguanin (Obr. 24); pro léčbu systémové mastocytózy (onemocnění projevující se nahromaděním mastocytů v určité tkáni, nejčastěji v kůži; projevy jsou kopřivka a úbytek kostní hmoty (47)).

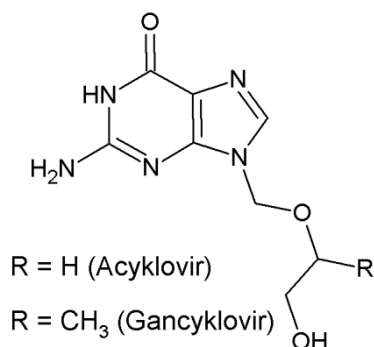
2-chlor-2'-deoxy adenosin je používán pro léčbu virových onemocnění, jako jsou Herpes. Pro léčbu AIDS se používá acyklovir, gancyklovir (Obr. 25) i jiné, a v neposlední řadě při transplantaci orgánů, kdy tělo pacienta odmítá přijmout nově transplantovaný orgán. (7)



Obr. 23 6-merkaptopurin



Obr. 24 6-thioguanin



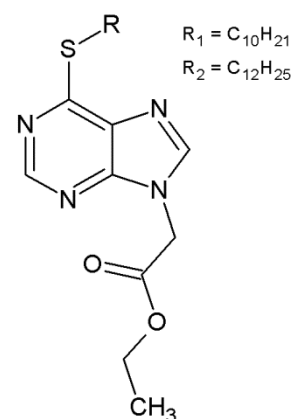
Obr. 25 Antivirotika

Puriny jsou pro vědce zajímavé mimo jiné i z hlediska studia lidského genomu, odhaduje se totiž, že 4-7% lidského genomu je kódováno proteiny purinových nukleotidů, které fungují jako kofaktory či kosubstráty pro jejich funkci. Toto zjištění dělá z purinu a jeho derivátů velmi zajímavá potenciální farmaceutika. (7)

Dalšími látkami obsahujícími purinový skelet jsou interferony. Interferony patří mezi přirozeně se vyskytující proteiny, které jsou vylučovány buňkami imunitního systému. Jedná se o látky hrající důležitou roli v oblasti přirozené imunity proti virovým onemocněním. Vznik interferonu v buňce může být zapříčiněn reakcí na přítomnost viru v organismu a může vyvolat přímou transkripci v různém rozsahu interferonem stimulovaných genů. Interferony, konkrétně interferon- α , a to buď samotný, nebo v kombinaci s ribavirinem (ribavirin je antivirální léčivo, je to prekurzor, který se při metabolismu podobá purinovým nukleotidům RNA (48)), je používán na léčbu chronické žloutenky typu C. Při léčbě dochází k neutralizaci protilátek tak, že do buněk je uměle vpraven interferon, který je protilátkami napadán. (7), (49), (50)

Další možností využití interferonu jako léčiva spočívá ve vyvolání zvýšené produkce interferonu v samotné buňce podáním nějaké biologicky dostupné nízkomolekulární sloučeniny. Pro vyvolání zvýšené produkce interferonu byl zkoumán např. imiquimod – není přímo purinovým derivátem, jedná se o tricyklický heterocyklus; použití imiquimodu ale selhalo v klinických testech. Proto byla připravena druhá generace podobných, purin obsahujících, látek (C2 substituované 8-hydroxyadeniny), které jsou v indukování interferonů o mnoho účinnější než imiquimod (konkrétně 30x – 100x) a zdá se, že tyto nové látky vykazují výbornou biodostupnost. Mechanismus působení této nové řady látek je zkoumán. (7), (49)

Sloučeniny obsahující purinový skelet mohou nést také antimykobakteriální účinky. Těchto látek by se mohlo v budoucnu využít pro léčbu tuberkulózy, na kterou sice v současné době léky existují, nicméně problémem je, že dochází k rychlému vývoji rezistence na podávané léky a léčba tak není efektivní. Po zkoumání účinků řady 6-thio-*N*9-substitovaných purinů byly vybrány slibné sloučeniny. Jsou jimi konkrétně (6-decylsulfanyl-purin-9-yl)-ethyl acetát (Obr. 26, R1) a dodecyl derivát (Obr. 26, R2). Účinnost těchto vybraných látek je vyjádřena na základě MIC (minimum inhibitor concentration) – MIC je definována jako nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která dokáže inhibovat viditelný růst mikroorganismu (51). Mechanismus účinku těchto látek nebyl dosud objasněn. (7)



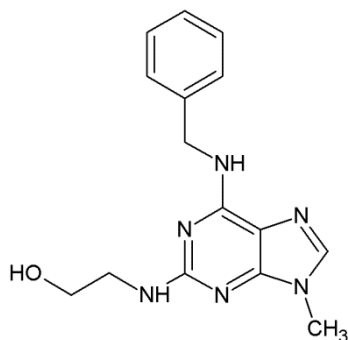
Obr. 26 (6-decylsulfanyl-purin-9-yl)-ethyl acetát - R1 a dodecyl derivát - R2

2.2.2. Cyklin-dependentní kinázy

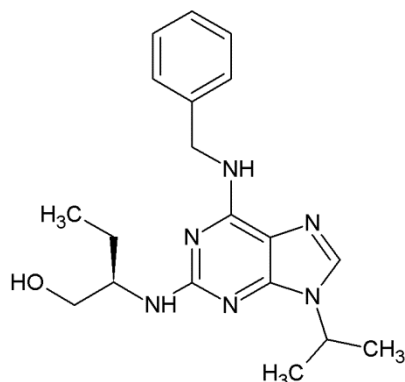
Purinové deriváty jsou schopny vystupovat jako inhibitory cyklin-dependentních kináz (CDK). CDK jsou Ser/Thr kinázy (Ser = serotonin, Thr = threonin), které hrají klíčovou roli jako regulátory buněčného dělení v různých fázích buněčného cyklu. (7), (52), (53) Dosud bylo objeveno 13 CDK. Buněčná aktivita CDK je regulována nespočtem mechanismů zahrnujících fosforylaci jinými kinázami, defosforylaci za pomoci fosfátů a vazbu na inhibované peptidy. (7), (54)

Běžnou vadou v lidských nádorových buňkách je odlišné chování CDK než v buňkách zdravých. Pozornost je momentálně upírána k buněčnému cyklu jako potenciálnímu cíli proliferativních onemocnění, mezi které rakovina patří. (55) Sloučeniny – CDK inhibitory, jejichž základ tvoří purinový skelet, vykazují selektivitu pro CDK 1, 2 a 5, ale nevykazují ani pramalou inhibiční aktivitu vůči CDK 4 a 6. Některé tyto látky byly shledány jako potenciálně protinádorově aktivní, jednalo se o Olomoucín (2-(hydroxyethylamino)-6-benzylamino-9-methylpurin) - (Obr. 27) a Roscovitin (2-(*R*)-(1-ethyl-2-hydroxyethylamino)-6-benzylamino-9-isopropylpurin) - (Obr. 28). (56) Po objevu těchto sloučenin došlo ke zvýšení zájmu o výzkum C2, C6, N9 substituovaných purinových derivátů jako selektivních CDK 1, 2 a 5 inhibitorů. Výsledkem byl objev látky nesoucí název Purvalanol A (2-(1*R*-isopropyl-2-hydroxyethylamino)-6-(3-chloranilino)-9-isopropylpurin) – (Obr. 29). Purvalanol A byl shledán nejúčinnějším CDK inhibitorem, ale jeho farmakologické využití je díky Roscovitinu, který je lépe vstřebáván při orálním podání, v pozadí. Roscovitin se v současné

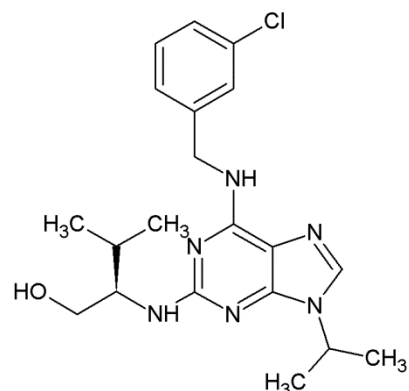
době nachází v druhé fázi klinického testování v kombinaci s gemcitabinem a cisplatinou pro léčbu karcinomu plic a samostatně pro léčbu malignitidy zahrnující mnohačetný myelom. (7)



Obr. 27 Olomoucine



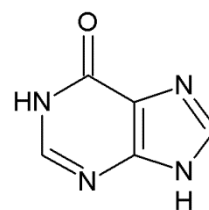
Obr. 28 Roscovitine



Obr. 29 Purvalanol A

2.2.3. Hypoxantin

Hypoxantin (Obr.30) je přírodně se vyskytující purinový derivát. Je znám také pod názvem 6-oxopurin. Hypoxantin lze nalézt jako složku nukleové kyseliny v tRNA, kde je přítomen jako antikodon. Je také součástí některých buněk, bakterií a parazitů. (61) Xantin i hypoxantin jsou prekurzory v tvorbě kyseliny močové, která je konečným produktem purinového metabolismu. (62) Deaminací purinové báze DNA, adeninu



Obr. 30 Hypoxantin

vzniká purinový derivát hypoxantin. Tato deaminace způsobuje v organismu různé mutace, protože hypoxantin se přednostně páruje s pyrimidinovou bází cytosinem, namísto běžné tvorby páru adenin – thymin. (62)

2.2.3.1. O6-substituované deriváty hypoxantinu - inhibitory AGT a CDK

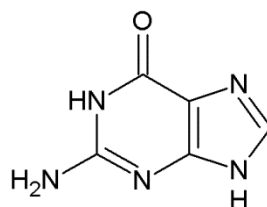
O6-substituované deriváty hypoxantinu jsou používány pro jejich účinnou inhibici CDK, ale i pro jejich schopnost inhibovat O6-guanin-DNA alkyltransferázy (AGT). Tyto látky jsou schopny inhibicí daných enzymů způsobit to, že při podání s jinými léky zvyšují jejich účinnost. (57)

AGT je tzv. DNA opravný protein, který je zodpovědný za biologickou odolnost buněk vůči napadení DNA alkylačními léky. (58) AGT v opravném procesu DNA odštěpuje alkyllovou skupinu z použitého léčiva navázanou na guanin. (59) Alkylační léky jsou jedny z nejstarších protinádorových léčiv, která zůstávají stále důležitou skupinou pro léčbu nádorů mozku, melanomu a lymfomu. Do této skupiny patří methylační (např. temozolamid (TMZ),

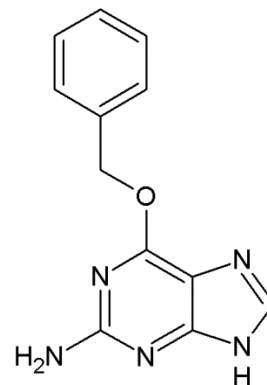
dakarbazin (DTIC)) a chlorethylační látky (karmustin (BCNU), lomustin (CCNU)). Tyto zmíněné látky se cíleně zaměřují na O6-pozici 2-aminohypoxanthinu, tedy guaninu, zodpovídající za tvorbu cytotoxických a mutagenních aduktů s DNA. AGT opravný protein potom opravuje léze na DNA a tím způsobuje expresi nádorových buněk vedoucí k tvorbě rezistence na použité léčivo. (58)

O6-benzylguanin (O6-BG) (guanin Obr. 30, O6-benzylguanin Obr. 31) byl připraven za účelem inaktivace AGT proteinu, čímž dochází k jednoznačnému

zvýšení protinádorové aktivity chemoterapeutik ve formě alkylačních látek. (58) Byly připraveny různé analogy



Obr. 31 Guanin



Obr. 32 O⁶-benzylguanin

O6-BG, které se jevíly buď stejně nebo aktivní méně než samotný O6-BG. (60)

Další derivát guaninu, O6-cyklohexylmethylguanin (NU2058) je hojně studován jako silný inhibitor CDK2. Při *in vitro* testech bylo prokázáno, že v kombinaci s cisplatinou dokáže zvýšit její cytotoxicitu. NU2058 dokázalo intracelulární koncentraci cisplatinu zvýšit až 1,5. Studie také prokázaly, že NU2058 ovlivňuje transport cisplatinu a právě tím množství vytvořených aduktů cisplatinu-DNA. Množství vytvořených aduktů je pak dokonce až 2krát vyšší než bez přítomnosti tohoto CDK2 inhibitoru. Vytvořené adukty byly navíc více toxické než adukty tvořené cisplatinou bez přítomnosti NU2058. (63)

Motivací kombinace derivátů platnatých léčiv, jako jsou cisplatina, oxaliplatina či karboplatina, s látkami strukturně podobnými výše popsáním, byl možný synergický efekt, tedy příprava komplexních sloučenin vykazujících výraznou cytotoxickou aktivitu.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. MATERIÁLY A METODY

Chemikálie:

- 6-chlorpurin, 2,6-dichlorpurin, 2-amino-6-chlorpurin
- methanol, ethanol, isopropanol, butanol, allylalkohol, fenylalkohol, benzylalkohol
- tetrachloridoplatnatý draselný
- diethylether, *N,N'*-dimethylformamid, dimethylsulfoxid, aceton, ethylacetát, chloroform
- hydrid sodný, sodík, jodid draselný, bromid draselný, uhličitan draselný, dusičnan stříbrný
- cyklobutan-1,1'-dikarboxylová kyselina, šťavelan draselný, isopropylbromid, karborafin
- amoniak, kyselina chlorovodíková
- orthoaminofenol

Chemikálie byly získány od komerčních dodavatelů:

Penta

Acros Organics

Fisher Scientific

Sigma Aldrich

Olchemim

Přístroje:

- Analytické váhy KERN ABT 220-4M
- Automatický elementární analyzátor - ThermoScientific Flash 2000 Analyzátor
- LCQ Fleet Ion Mass Trap hmotnostní spektrometr -Thermo Scientific
- FT-IR spektrometr ThermoNicolet Nexus 670 FT-IR
- Termický analyzátor TG/DTA Exstar 6200
- Konduktometr Cond 340i/SET (WTW)
- 400 MHz NMR spektrometr, Varian

Látky připravené v rámci této diplomové práce byly nejprve podrobeny elementární analýze na automatickém elementárním analyzátoru ThermoScientific Flash 2000. Na základě výsledků bylo možno předpokládat, zda se podařilo připravit kýženou sloučeninu, či nikoli, a výsledek mohl napovědět, zda je připravená látka třeba přechistit. Po získání uspokojivých výsledků elementární analýzy byly připravené látky (jak organické ligandy, tak komplexní sloučeniny) podrobeny dalším analýzám, které vedly k jednoznačnému prokázání jejich složení a čistoty.

Jednou z použitých metod pro analýzu látek byla infračervená spektroskopie. Infračervená spektra byla měřena na infračerveném spektrometru NEXUS 670 FT-IR (ThermoNicolet) na nástavci SmartOrbit s diamantovým nástavcem. Rozmezí použitých vlnových délek činilo $200\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, což zahrnuje střední a vzdálenou infračervenou oblast. Vzorky byly měřeny v práškové formě. Infračervená spektra byla interpretována s pomocí tabulek uvedených ve vysokoškolských skriptech VŠCHT (64) a s pomocí knihy Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds* (65).

Další použitou metodou byla hmotnostní spektrometrie provedená na hmotnostním spektrometru LCQ Fleet Ion Mass Trap od společnosti Thermo Scientific ve spojení s kapalinovou chromatografií (Dionex). Hmotnostní spektra byla naměřena v pozitivním módu.

Byla měřena ^1H , ^{13}C a ^{195}Pt NMR spektra a 2D experimenty (^1H - ^{13}C gs-HMQC a ^1H - ^{13}C gs-HMBC; gs = gradient selected, HMQC = heteronuclear multiple quantum coherence, HMBC = heteronuclear multiple bond coherence) v DMF- d_7 jako rozpouštědle na NMR spektrometru Varian 400 MHz. ^1H a ^{13}C spektra byla kalibrována proti signálům standardu tetramethylsilanu (Me_4Si), ^{195}Pt spektra byla kalibrována proti standardu hexachloridoplatnatanu draselnému ($\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$). Štěpení vodíkových signálů v interpretovaných vodíkových spektrech jsou definovány následovně: s = singlet, d = dublet, dd = dublet dubletů, t = triplet, q = kvintet, sp = septet, m = multiplet.

V neposlední řadě byl použit i termický analyzátor Exstar (Seiko Instruments). Látky byly studovány pomocí simultánní termogravimetrie (TG)/ diferenční termické analýzy (DTA). Analýza probíhala v dynamické atmosféře vzduchu o průtoku 50 ml/min v platinovém kelímku a teplotní nárůst činil $5\text{ }^\circ\text{C/min}$. Analýza byla prováděna pro stanovení krystalově vázaných molekul solventu, především vody, a touto metodou lze také nepřímou určit procentuální zastoupení kovu v dané komplexní sloučenině.

Monokrystalová rentgenostrukturní analýza připravených látek bohužel neproběhla, a to z důvodu, že přes veškeré snahy se bohužel nepodařilo připravit monokrystal od daných komplexních sloučenin. Pro přípravu monokrystalu byla snaha o přípravu z roztoku DMF, volnou krystalizací, poté byla použita i difúzní metoda, kde jako difundující rozpouštědlo byl použit diethylether a hexan. V poslední řadě pokusů bylo přistoupeno ke kokrystalizaci připravených komplexních sloučenin s orthoaminofenolem, který měl pomocí vodíkových vazeb stabilizovat krystalovou strukturu, ale ani touto metodou se nepodařilo připravit monokrystal vhodný pro rentgenostrukturní analýzu.

U vybraných připravených komplexů byla stanovována *in vitro* cytotoxická aktivita za pomoci testu MTT. MTT test je mikrotitrační metoda využívající toho, že živé buňky jsou schopny redukovat žlutou sůl MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromid) a vzniká modré formazanové barvivo. Počet živých buněk pak odpovídá množství zredukovaného MTT, z jehož obsahu je lze stanovit. Redukci v buňkách způsobují mitochondriální dehydrogenázy a celý proces tedy probíhá v mitochondrii buňky. Formazanové barvivo, které v buňce vzniká, je v jejím prostředí nerozpustné. Kvantifikováno je následně spektrofotometricky po jeho rozpuštění v DMSO. *In vitro* testy cytotoxicity vybraných komplexů byly provedeny na lidských nádorových liniích MCF7 (adenokarcinom prsu) a HOS (osteosarkom). Nádorové linie byly udržovány v plastických lahvích v médiu DMEM (složení DMEM = 5 g/l glukózy, 2 mM glutaminu, 100 U/ml penicilinu, 100 µg/ml streptomycinu, 10% fetálního telecího séra a hydrogenuhličitan sodný). Suspenze buněk (cca 1.25×10^5 buněk ml⁻¹) byly vždy rozpipetovány na mikrotitrační destičky (devadesát šest jamek) a to v množství 80 µl. Preinkubace buněk probíhala 24 hodin při 37 °C v atmosféře oxidu uhličitého. Testované komplexy byly rozpuštěny v DMF v koncentraci 50 mmol.dm⁻³ a tyto roztoky byly použity jako zásobní. Pro testy na nádorových liniích byly připravené zásobní roztoky rozředěny v kultivačním médiu do maximální koncentrace 50 µmol.dm⁻³. Poté bylo odsáto kultivační médium a jednotlivé roztoky komplexů dané koncentrace byly přidány k preinkubované suspenzi zkoumaných nádorových buněk. Takto připravené směsi byly následně podrobeny inkubaci po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C, 100% vlhkosti a v atmosféře oxidu uhličitého. Po průběhu inkubace byl přidán roztok MTT a následovala další inkubace buněk trvající 1 hodinu. Následná MTT analýza vzniklého modrého barviva, formazanu, byla provedena spektrofotometricky při vlnové délce 540nm na přístroji TECAN Infinite M200 Pro, Schoeller Instruments LLC.

3.2. SYNTÉZA LIGANDŮ

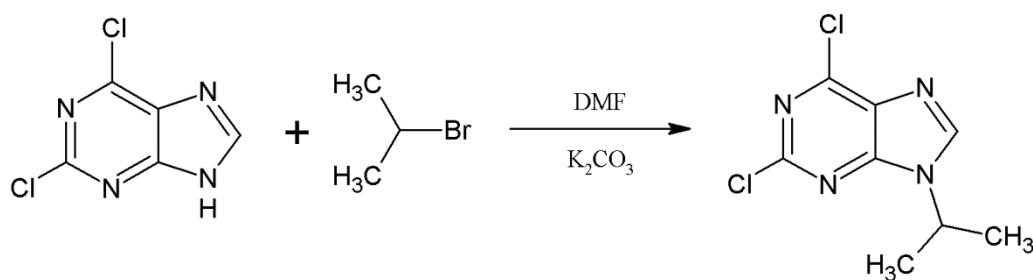
Jako organické ligandy pro syntézu zvolených komplexních sloučenin platiny byly vybrány deriváty hypoxantinu. Byly syntetizovány ligandy, které byly rozděleny do čtyř ligandových řad lišících se substitucí na kyslíkovém atomu. Prvním typem, ligandy řady A, byly ligandy připravené z výchozí látky, kterou byl 6-chlorpurin (6-ClP). Výchozí látkou pro ligandy řady B byl 2,6-dichlorpurin (2,6-dClP). Ligandová řada C byla syntetizována z 2-amino-6-chlorpurinu (2-A-6ClP) a poslední řada ligandů, typu D, vycházela z 2,6-dichlor-*N*9-isopropylpurinu (DCIP). Výchozí látky 6-chlorpurin, 2,6-dichlorpurin a 2-amino-6-chlorpurin byly látky komerčně dostupné. 2,6-dichlor-*N*9-isopropylpurin byl jako výchozí látka syntetizován podle syntézy popsané v kapitole 3.2.1.. Ligandy zvolené pro syntézu komplexů platiny byly vybrány na základě toho, že podobné molekuly jsou schopny vykazovat zajímavou biologickou aktivitu samy o sobě (viz. kapitola 2.2.2.). Bylo tedy předpokládáno, že by mohlo náhradou těmito ligandy v komplexu odvozeného od jednoho z biologicky aktivních a v současné době používaných derivátů platiny, kterými jsou cisplatina, oxaliplatina, či karboplatina, dojít k synergickému efektu.

3.2.1. Syntéza prekursoru 2,6-dichlor-*N*9-isopropylpurinu

Výchozí látkou pro syntézu 2,6-dichlor-*N*9-isopropylpurinu je 2,6-dichlorpurin. 2,6-dichlorpurin je látka lehce nažloutlé barvy. Její molekulová hmotnost činí 189 g/mol.

Molární poměr použitých výchozích látek v pořadí 2,6-dichlorpurin : isopropylbromid : uhličitan draselný činil 1 : 11 : 5,75. V bezvodém DMF (1000 ml) bylo rozpuštěn 2,6-dichlorpurin. Do reakční směsi byl přidán uhličitan draselný a reakční směs byla ponechána míchat za laboratorní teploty pod chlorkalciovým uzávěrem po dobu 4 dní. Po 4 dnech byl odfiltrován nezreagovaný uhličitan, který byl na fritě promyt DMF. Do filtrátu byla poté přilita voda v takovém množství, dokud se nevytloučil DCIP, který byl poté postupně po částech vyextrahován do ethylacetátu. Ethylacetát byl postupně odpařen, a jeho zbytek obsahující produkt byl ponechán do druhého dne, kdy vykrystalizoval první podíl produktu. Zbytek vodné vrstvy po vyextrahování do ethylacetátu, který obsahoval dClIP s DMF byl smíchán s 800 ml destilované vody a ponechán hodinu míchat na magnetické míchačce. Poté byla reakční směs zahuštěna. V chladničce pak vykrystalizoval další podíl produktu. Oranžový produkt byl rozpuštěn v 200 ml chloroformu. Do roztoku byl přidán

karborafin. Roztok byl dvakrát zfiltrován přes filtrační papír a ponechán volné krystalizaci. Produkt vykryštalizoval ve formě oranžových jehlicovitých krystalů, které byly promyty metanolem. Po promytí a odstranění přebytných nečistot získal produkt velmi světle žlutou, až bělavou barvu, pak byl vysušen a uschován v exsikátoru pro další použití. Schéma přípravy dClIP je uvedeno na Obr. 33. (76)



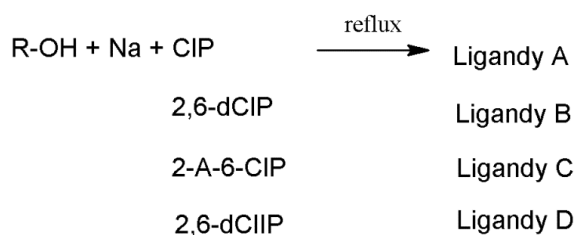
Obr. 33 Schéma přípravy 2,6-dichlor-N9-isopropylpurinu

3.2.2. Příprava ligandů řady A, B, C i D

Pro přípravu jednotlivých konkrétních ligandů jednoduchých alifatických alkoholů byly jako reakční prostředí použity alkoholy samotné (podle konkrétního ligandu methanol, ethanol, isopropanol, butanol). Postup byl následující. Zvolený alkohol byl převeden do Erlenmeyerovy baňky a zbaven přebytné vlhkosti probubláním dusíkem. Poté byl přidán sodík očištěný od minerálního oleje, ve kterém je uschován při skladování. Po rozpuštění sodíku a vzniku daného alkoholátu byl do reakční směsi přisypán purinový derivát, a to právě podle toho, jaký konkrétní ligand dané ligandové řady byl připravován. Reakční směs byla ponechána reagovat pod refluxem na olejové lázni po dobu jednoho až čtyř dní podle povahy použitého alkoholu. Aby bylo určeno, že již požadovaná reakce zcela proběhla, byla provedena TLC analýza na tenké silufolové vrstvě. Složení mobilní fáze obsahovalo methanol : chloroform : amoniak v poměru 4 : 16 : 1. Poměr použitých výchozích látek syntézy činil, v pořadí alkohol : sodík : purinový derivát, vždy 5 : 2 : 1.

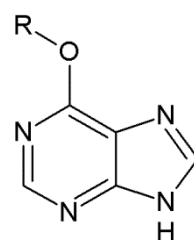
Po ukončení reakce bylo přebytné rozpouštědlo odpařeno na vakuové odparce. Odparek byl rozpuštěn v destilované vodě a byl několikrát vytřepán s diethyletherem pro odstranění nečistot. Vodná, silně bazická, vrstva byla zneutralizována 2 molární kyselinou chlorovodíkovou. Po neutralizaci se postupně z reakční směsi začal vylučovat produkt, který byl odsát na fritě a vysušen diethyletherem. Pro zvýšení čistoty produktu byl daný ligand rekrystalizován z vody. Poté byl znovu odsát na fritě a opět vysušen diethyletherem. (66)

Pro přípravu ligandů s aromatickými a složitějšími alkoholy byl reakčním prostředím nikoli samotný alkohol v nadbytečném množství, ale bezvodý DMSO probubláný dusíkem. Poté byl do reakční směsi přidán alkohol (použity byly allylalkohol, fenylalkohol nebo benzylalkohol) a přisypán hydrid sodný pro vytvoření daného alkoholátu. Do reakční směsi byl nakonec přidán daný derivát purinu, opět podle konkrétního zvoleného ligandu dané ligandové řady. Reakční směs byla nakonec ponechána reagovat na olejové lázni pod zpětným chladičem při teplotě 80 °C cca 4 dny. Po ukončení reakce byla reakční směs odstavena a naředěna 100 ml destilované vody. Na řadu přišlo vytřepání roztoku s diethyletherem pro odstranění přebytečných nečistot a opět bylo pokračováno neutralizací vodné vrstvy pomocí kyseliny chlorovodíkové koncentrace 2 mol.dm⁻³. Produkt se vyloučil v průběhu následujícího dne až dvou po odstavení směsi do chladničky, byl odsát na fritě a opět promyt diethyletherem pro jeho snazší vysušení. Pro přečištění bylo přistoupeno k rekrystalizaci z vody. Následovalo opět odsátí produktu a jeho promytí diethyletherem. (66)



Obr. 34 Obecné schéma přípravy ligandů alifatických jednoduchých alkoholů

Jak již bylo zmíněno, ligandy řady A vycházejí z prekursoru, který je komerčně dostupný, a to konkrétně z 6-chlorpurinu. Tato výchozí látka reagovala při syntézách nejlépe, a proto bylo s tímto purinovým derivátem syntetizováno nejvíce ligandů. Produkty reakcí byly obvykle lehce nažloutlé mikrokryalické látky. Obecný vzorec ligandů řady A

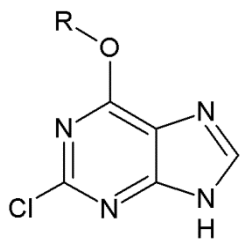


Obr. 35 Obecný vzorec ligandů řady A

můžete vidět na Obr. 35.

Prekurzorem ligandové řady B byl 2,6-dCIP.

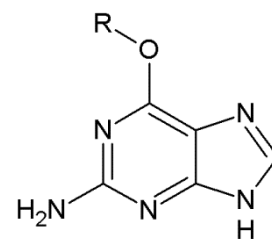
Opět se jedná o látku komerčně dostupnou. Reakce s tímto purinovým derivátem taktéž probíhaly předpokládaným způsobem a velmi dobře. Produkty reakce byli bílé velmi jemné, obtížně filtrovatelné prášky, nebo látky konzistence vaty. Obecný vzorec na Obr. 36.



Obr. 36 Obecný vzorec ligandů řady B

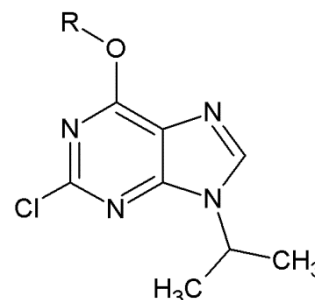
Příprava látek ligandové řady C vycházela z prekursoru 2-A-6-

ClP. Opět se jedná o látku komerčně dostupnou. Syntéza ligandů z této řady neprobíhala tak dobře jako u ligandů řady A a B. Výtěžky byly nižší a čistota produktů nebyla před rekrystalizací tak vysoká jako u předchozích ligandových řad, což bylo předběžně stanoveno pomocí výsledků TLC . Rekrystalizace produktů byla nutná. Produkty byly okrově zbarvené, dobře filtrovatelné prášky. Obecný vzorec ligandů řady C na Obr. 37.



Obr. 37 Obecný vzorec ligandů řady C

Ligandy řady D byly syntetizovány z prekursoru DCIP, jehož syntéza je popsána v kapitole 3.2.1.. Ligandy této řady jsou díky isopropylu vázanému na dusíku N9 velmi dobře rozpustné ve vodě, proto pro izolaci těchto látek z roztoku bylo nutné jeho zahuštění na minimální objem. Po uložení do lednice byl do druhého dne vykrystalizován produkt ve formě světlých krystalků.



Obr. 38 Obecný vzorec ligandů řady D

Pro omezené množství výchozí látky byla syntéza ligandů řady D soustředěna pouze na takové konkrétní ligandy, které byly vybrány pro další syntézu komplexů. Pokus o syntézu jiných ligandů této řady proveden nebyl. Obecný vzorec ligandů řady D ukazuje Obr. 38.

Konkrétní syntetizované ligandy jednotlivých řad i s molekulovými hmotnostmi jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1: Přehled připravených ligandů

	Alkohol	Derivát purinu	Mr	Sumární vzorec
L1A	MeOH	6-ClP	150,14	C ₆ H ₆ N ₄ O
L2A	EtOH	6-ClP	164,16	C ₇ H ₈ N ₄ O
L3A	iPrOH	6-ClP	178,19	C ₈ H ₁₀ N ₄ O
L4A	ButOH	6-ClP	192,22	C ₉ H ₁₂ N ₄ O
L5A	AllylOH	6-ClP	176,17	C ₈ H ₈ N ₄ O
L6A	BenzylOH	6-ClP	226,32	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O
L7A	PhenethylOH	6-ClP	240,26	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O
L1B	MeOH	2,6-dClP	184,6	C ₆ H ₅ N ₄ OCl
L2B	EtOH	2,6-dClP	198,61	C ₇ H ₇ N ₄ OCl
L3B	iPrOH	2,6-dClP	212,64	C ₈ H ₉ N ₄ OCl
L4B	ButOH	2,6-dClP	226,66	C ₉ H ₁₁ N ₄ OCl
L5B	AllylOH	2,6-dClP	210,62	C ₈ H ₇ N ₄ OCl
L6B	BenzylOH	2,6-dClP	260,68	C ₁₂ H ₉ N ₄ OCl
L1C	MeOH	2-A-6-ClP	165,15	C ₆ H ₇ N ₅ O
L4C	ButOH	2-A-6-ClP	207,23	C ₉ H ₁₃ N ₅ O
L1D	MeOH	2,6-dClIP	226,66	C ₉ H ₁₁ N ₄ OCl
L4D	ButOH	2,6-dClIP	268,74	C ₁₂ H ₁₇ N ₄ OCl

Čistota a složení připravených ligandů byla prokázána použitím jednotlivých fyzikálně-chemických metod, které zahrnovaly nejprve elementární analýzu, infračervenou spektroskopii, hmotnostní spektrometrii a nukleární magnetickou rezonanci.

3.3. SYNTÉZA KOMPLEXŮ

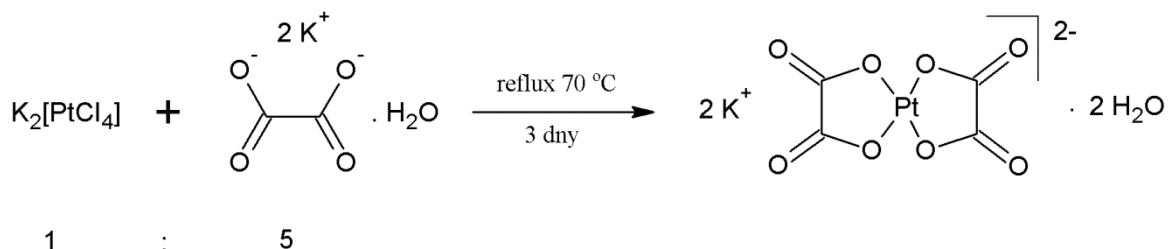
Základní výchozí látkou pro syntézu komplexů platiny byl tetrachloridoplatnatan draselný K₂[PtCl₄]. Tetrachloridoplatnatan draselný je stálá krystalická látka červené barvy s molekulovou hmotností 415,08 g/mol. Látka je komerčně dostupná u firmy Sigma-Aldrich a je dobře rozpustná ve vodě.

V této práci jsme se zaměřili na syntézu dichlorido, diiodido, dibromido a oxaláto komplexů platiny a na deriváty karboplatiny. Přehled veškerých připravených komplexů uvádí Tabulka 2 na konci této kapitoly.

3.3.1. Syntéza prekurzorů

3.3.1.1. Syntéza $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2 H_2O$

Pro syntézu dihydrátu bis(oxalato)platnatanu draselného $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2H_2O$ byl výchozí látkou $K_2[PtCl_4]$. Množství 1 mmol, tj. 0,415 g, tetrachloridoplatnatanu draselného byl rozpuštěn v minimu destilované vody a přečištěn přes fritu S4, a to z důvodu, že výchozí komerčně dodávaná sůl nebyla zcela čistá a byla znečištěna černou, vyredukovanou platinou. Pro toto zjištění činily navážky pro syntézu komplexů vždy o 5 mg více. Do vodného roztoku tetrachloridoplatnatanu draselného bylo přisypáno 5 mmol šťavelanu draselného (poměr reagujících složek byl tedy 1 : 5). Reakční směs byla poté ponechána reagovat na olejové lázni pod zpětným chladičem při teplotě 70 °C. Barva reakční směsi se postupně měnila z vínově červené na tmavě zelenou a na konec se začal vylučovat světle zelený prášek. Reakční doba činila 3 – 4 dny. Produkt reakce byl odsát na fritě, promyt ledovou vodou a ethanolem. Pro přečištění produktu byla provedena rekrystalizace z vody, kdy se nakonec z roztoku vyloučily žluto-zelené jehlicovité krystaly. Rozpustnost produktu ve vodě je o nižší, než rozpustnost výchozí látky, nicméně při zahřátí zhruba na 70 °C se produkt ve vodě rozpouští dobře. Postup převzat z článku (67), reakční schéma uvádí Obr. 39.



Obr. 39 Schéma přípravy dihydrátu bis(oxalato)platnatanu draselného

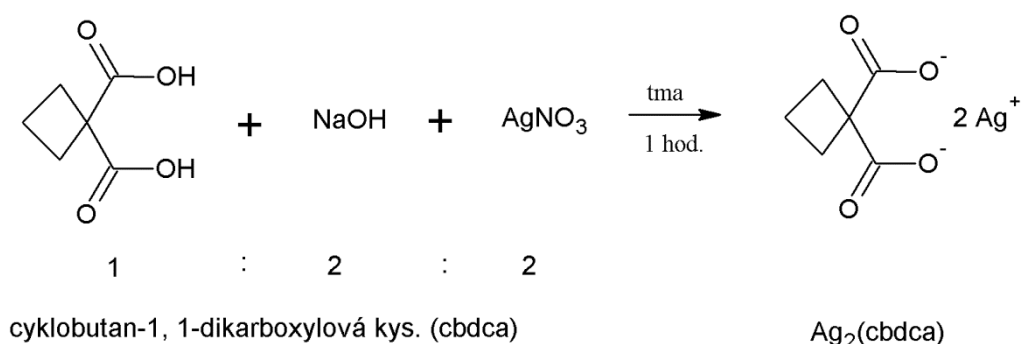
3.3.1.2. Syntéza $Ag_2(cbdca)$

Pro syntézu derivátů karboplatiny s vybranými ligandy bylo nutné připravit prekurzor z cyklobutan-1,1'-dikarboxylové kyseliny (cbdca). Prekurzorem dále použitým v syntézách daných komplexů je v tomto případě stříbrná sůl této kyseliny $Ag_2(cbdca)$.

Na syntézu byly použity následující látky v daném poměru – cbdca : NaOH : $AgNO_3$, poměr reakčních složek činil 5 : 10 : 10. Abychom předešli opakované syntéze tohoto prekurzoru, protože by jinak navážky pro syntézu byly velmi malé a NaOH je komerčně dostupný ve formě peletek, které je obtížné dělit, byla látka syntetizována v nadbytečném

množství. Konkrétní poměr látek vstupujících do reakce činil 5 : 10 : 10, a produkt reakce byl uložen v tmavé vialce v chladničce, protože látka je za těchto podmínek stabilní.

První krok syntézy zahrnoval rozpuštění 5 mmol cbdca v minimálním objemu destilované vody. Roztok byl poté zneutralizován 10 mmol vodného roztoku NaOH. Po chvíli bylo do reakce přidáno stechiometrické množství AgNO_3 reakční směs byla ponechána míchat za tmy a laboratorní teploty po dobu 1 hodiny. Z reakční směsi se postupně vyloučila bílá sraženina $\text{Ag}_2(\text{cbdc})$. Produkt byl odsát na fritě, promyt destilovanou vodou a methanolem a jak již bylo zmíněno uložen v chladu a ve tmě. Schéma přípravy $\text{Ag}_2(\text{cbdc})$ je ukázáno na Obr. 40. (68)



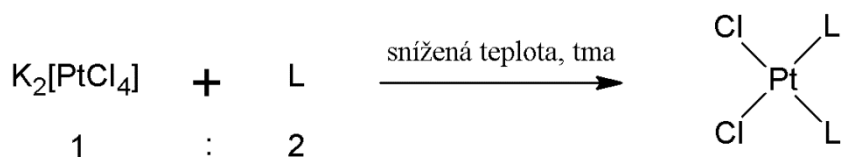
Obr. 40 Schéma přípravy $\text{Ag}_2(\text{cbdc})$

3.3.2. Syntéza komplexních sloučenin Pt(II)

3.3.2.1. Syntéza $[\text{PtCl}_2(\text{L})_2]$

Výchozí látkou pro tuto syntézu byl tetrachloridoplatnatan draselný. Do reakce s daným ligandem vstupoval vždy v poměru 1 : 2. Postup byl následující: 0,25 mmol tetrachloridoplatnatanu draselného bylo rozpuštěno v 10 ml destilované vody; 0,5 mmol ligandu byl rozpuštěn v acetonu. Množství použitého acetonu se lišilo v závislosti na zvoleném ligandu konkrétní ligandové řady, jelikož každá z nich měla svou specifickou rozpustnost látek. Roztok ligandu byl pak smíchán s roztokem soli a ponechán reagovat, a to za dvojích různých reakčních podmínek. První sada reakcí byla ponechána reagovat několik dní za laboratorní teploty (postup A), druhá sada reakcí byla ponechána reagovat 2 – 3 týdny za snížené teploty ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) (postup B, schématicky uveden na Obr. 41). Reakce za laboratorní teploty by měly dávat vzniknout *trans*- izomerům, reakce za snížené teploty by měly dávat vzniknout žádaným *cis*- izomerům. První sada pokusů byla však provedena za laboratorní teploty, a to z důvodu, že při práci na mé bakalářské práci, se podařilo právě za laboratorní

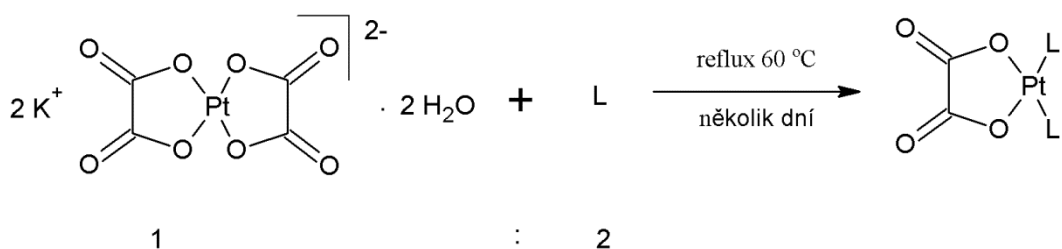
teploty připravit kýžený *cis*- izomer, který byl jednoznačně prokázán rentgenostrukturní analýzou. Průběh reakce se jevil vždy stejně. Z počátku měl roztok červenou barvu, která postupně přecházela přes oranžovou až do sytě žluté, kdy se z reakční směsi začal vylučovat produkt světle žluté nebo okrové barvy. Ten byl odsát na fritě a důkladně promyt destilovanou vodou (pro odstranění případných zbytků nezreagovaného tetrachloridoplatnatanu draselného) a acetonem (pro odstranění případných zbytků nezreagovaného ligandu). Poté byl promyt a vysušen etherem a podle způsobu přípravy uložen do exsikátoru v laboratoři nebo v chladničce. (69) Celkový přehled připravených komplexů je uveden v Tabulce 2.



Obr. 41 Schéma přípravy dichloridoplatnatého komplexu podle postupu A

3.3.2.2. Syntéza $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})_2]$

Výchozí látkou pro syntézu $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})_2]$ komplexů byl $\text{K}_2[\text{Pt}(\text{ox})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, jehož syntéza je popsána v kapitole 3.3.1.1.. Poměr reakčních složek činil v pořadí výchozí látka : ligand vždy poměr 1 : 2. Vždy bylo použito 0,25 mmol dihydrátu bis(oxalato)platnatanu draselného, který byl rozpuštěn za zvýšené teploty v 15 ml destilované vody, a 0,5 mmol ligandu, který byl rozpuštěn v potřebném množství acetonu (množství použitého acetonu se lišilo v závislosti od použitého ligandu a pohybovalo se v rozmezí 10 – 30 ml). Reakční složky byly smíchány a ponechány reagovat po dobu tří dnů pod zpětným chladičem na olejové lázni při teplotě 60 °C. Postupně se vyloučil bílý prášek, který byl poté odsát na fritě, promyt horkou vodou, acetonem a vysušen diethyletherem. Postup byl bez úprav reakčních podmínek převzat z článku (67). Pro zjednodušení přehlednosti Tabulky 2, postup C. Schéma přípravy komplexu je uvedeno na Obr. 42.



Obr. 42 Schéma přípravy (oxalato)platnatého komplexu

3.3.2.3. Syntéza $[PtI_2(L)_2]$

Výchozí látkou pro přípravu diiodido komplexů $[PtI_2(L)_2]$ byl opět $K_2[PtCl_4]$. Opět bylo použito 0,25 mmol výchozí soli, která byla rozpuštěna v 10 ml destilované vody. Do roztoku bylo poté přisypáno 5 molárních ekvivalentů (tj. 1,25 mmol) KI. Reakční směs byla ponechána reagovat do druhého dne za tmy a chladu. Původně červený roztok postupně měnil barvu na hnědo-žlutou. Po této barevné změně byl do reakční směsi přidán acetonový roztok ligandu (ligand v dvojnásobném stechiometrickém množství vůči výchozí soli) a reakční směs byla ponechána dále reagovat za tmy a snížené teploty po dobu 2-3 týdnů. Původně tmavě hnědo-žlutý roztok buď změnil barvu na světlejší odstín, nebo se začal vylučovat produkt ve formě žlutého, okrového nebo hnědého prášku. Po ukončení reakce byl z reakční směsi dusíkem vyfoukán přebytečný aceton pro zvýšení výtěžku, protože produkt je ve vodě nerozpustný. Poté byl produkt odsát na fritě a promyt destilovanou vodou. Nebyl promyt acetonem, protože v acetonu je velmi dobře rozpustný, dokonce lépe než v DMF. Právě pro toto zjištění byla do reakční směsi přidávána vždy o 10 % menší navážka ligandu, aby nedocházelo k znečištění produktu jeho nezreagovanými přebytky, které by pro rozpustnost komplexu v acetonu bylo velmi obtížné odstranit. Naopak odstranění přebytečné nezreagované soli promytím vodou nebylo problémem. Použitý poměr látkových množství reaktantů byl tedy 1:5:1,9 ($K_2[PtCl_4]$:KI:L) Po promytí byl produkt vysušen diethyletherem a uložen za tmy v exsikátoru v chladničce. Postup modifikován podle článku (70) v Tabulce 2 uveden jako postup D.

Poznámka:

Podle návodu uvedeného v článku (70) by uvedená reakce měla probíhat za laboratorní teploty a bez světelného omezení, nicméně při zachování těchto reakčních podmínek docházelo ke změně barvy reakční směsi na tmavě zelenou. Proto byly reakční podmínky postupně optimalizovány a nakonec byla reakce prováděna za tmy a snížené teploty ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Tímto upravením reakčních podmínek došlo k přípravě požadovaných komplexů, tudíž optimalizace reakčních podmínek byla úspěšná. Zajímavé ovšem zůstává, že při rozpuštění komplexů jak v acetonu, tak v DMF, došlo po určité krátké době, přestože byly roztoky uchovány ve tmě v chladničce, k barevné změně na tmavě zelenou či modrou. K tomuto jevu docházelo i u látek, u kterých bylo pomocí NMR analýzy prokázáno, že jsou čisté bez obsahu znečištění. Při následném použití těchto látek jako výchozích pro syntézu derivátů karboplatiny, však reakce i přes zvláštní zbarvení výchozího roztoku probíhala podle

předpovězeného schématu, barva se okamžitě po přidání $\text{Ag}_2(\text{cbdc})$ změnila na oranžovou, přesně tak, jak bylo předpokládáno.

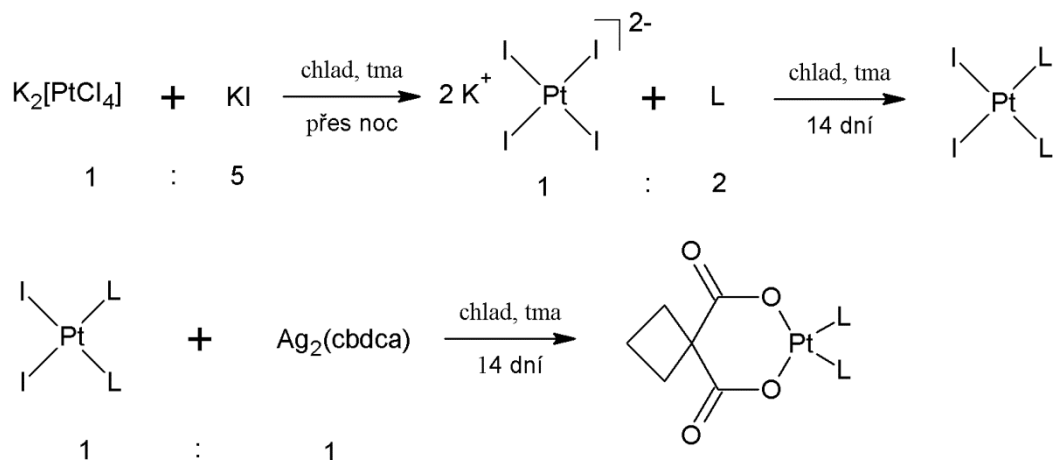
3.3.2.4. *Syntéza $[\text{PtBr}_2(\text{L})_2]$*

Výchozí látkou pro přípravu dibromido komplexů $[\text{PtBr}_2(\text{L})_2]$ byl opět $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$. Opět bylo použito 0,25 mmol výchozí soli, která byla rozpuštěna v 10 ml destilované vody a do tohoto reakčního prostředí bylo přisypáno 5 molárních ekvivalentů (tj. 1,25 mmol) KBr. Postup přípravy těchto komplexů byl shodný s postupem přípravy diiodido komplexů, který je uveden v kapitole 3.3.2.3.. Obměnou bylo pouze to, že syntéza tetrabromidoplatnatanu draselného probíhala za laboratorní teploty a tedy došlo ke zkrácení reakční doby. Také reakce s acetonovým roztokem ligandu za snížené teploty probíhala rychleji, a to 1-2 týdny. Separace produktu byla shodná s postupem v kapitole 3.3.2.3.. Postup byl opět převzat a upraven podle článku (70) a v Tabulce 2 uveden jako postup E.

3.3.2.5. *Syntéza $[\text{Pt}(\text{cbdc})(\text{L})_2]$*

Výchozí látkou použitou při těchto syntézách je jednak diiodidokomplex $[\text{PtI}_2(\text{L})_2]$, jehož příprava byla podrobně popsána v kapitole 3.3.2.3. a jednak stříbrná sůl cyklobutan-1,1'-dikarboxylové kyseliny $\text{Ag}_2(\text{cbdc})$, jejíž syntéza byla popsána v kapitole 3.3.1.3.. Vybraný konkrétní $[\text{PtI}_2(\text{L})_2]$ (použité množství se odvíjelo podle množství připraveného diiodido komplexu v předchozí syntéze, pro zjednodušení bude syntéza popsána pro 1 mmol výchozího komplexu) byl rozpuštěn v DMF (syntéza byla prováděna i za použití acetonu jako rozpouštědla, nicméně se ani jednou nepodařilo izolovat odpovídající požadovaný komplex, proto bylo přistoupeno k použití DMF, přestože izolace produktu je obtížnější). K roztoku $[\text{PtI}_2(\text{L})_2]$ byla v molárním poměru 1 : 1 přisypána $\text{Ag}_2(\text{cbdc})$. Reakční směs poté byla ponechána míchat za tmy a snížené teploty ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) po dobu 1 – 2 týdnů. Reakční podmínky byly opět upraveny z důvodu barevné změny reakční směsi, která je popsána v kapitole 3.3.2.3. v odstavci Poznámka. Reakce dále probíhala předpokládaným způsobem. Produkt byl izolován a to tak, že z oranžové reakční směsi byl odfiltrován vysrážený bílý prášek AgI, který byl důkladně promyt studenou destilovanou vodou a poté velmi malým množstvím DMF. (68) Souhrnné schéma ukazující přípravu diiodidoplatnatého komplexu a z něj následnou přípravu derivátu karboplatiny je uvedeno na Obr. 43. Bohužel se nám během naší práce v laboratoři nepodařilo připravit kýžený produkt, který by svým elementárním složením

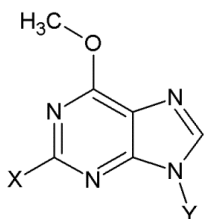
odpovídal kalkulovaným výsledkům, proto bylo po několika neúspěšných pokusech od této oblasti syntézy upuštěno.



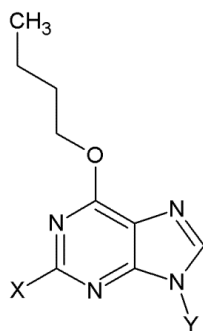
Obr. 43 Schéma přípravy diiodidoplatnatého komplexu a derivátu karboplatiny

3.3.2.5. Přehled konkrétních připravených komplexních sloučenin s vybranými ligandy

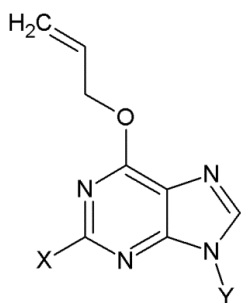
Podařilo se nám syntetizovat celkem 23 komplexů platiny s konkrétními vybranými ligandy. Ligandy byly vybrány na základě odlišnosti R-zbytku vázaného na kyslík. Vybrali jsme deriváty obsahující přes kyslík vázanou methylovou (L1X), butylovou (L4X), allylovou (L5X) a benzylovou (L6X) skupinu. Obecné vzorce těchto vybraných ligandů najdete na Obr. 44.



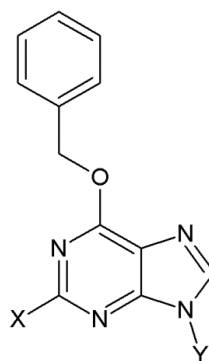
X = H, Y = H (ligand L1A)
 X = Cl, Y = H (ligand L1B)
 X = NH₂, Y = H (ligand L1C)
 X = Cl, Y = isopropyl (ligand L1D)



X = H, Y = H (ligand L4A)
 X = Cl, Y = H (ligand L4B)
 X = Cl, Y = isopropyl (ligand L4D)



X = H, Y = H (ligand L5A)
 X = Cl, Y = H (ligand L5B)



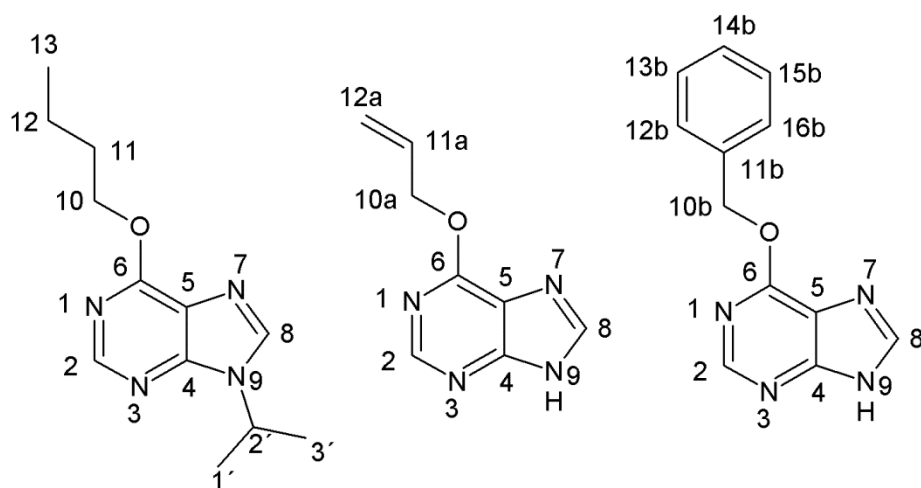
X = H, Y = H (ligand L6A)
 X = Cl, Y = H (ligand L6B)

Obr. 44 Přehled konkrétních použitých ligandů

Z celkového počtu připravených komplexů bylo 15 z nich deriváty cisplatiny a jejích analogů s jinými halogeny (Br, I), 8 deriváty oxaliplatiny. Jejich celkový přehled uvádí Tabulka 2.

Tabulka 2. Přehled připravených komplexů

Typ ligandu	Komplex	Obecný vzorec	Postup	Mr	Sumární vzorec
L1X	1	[PtCl ₂ (L1A) ₂]	A	566,28	C ₁₂ H ₁₂ Cl ₂ N ₈ O ₂ Pt
	2	[PtCl ₂ (L1B) ₂]	B	635,17	C ₁₂ H ₁₀ Cl ₄ N ₈ O ₂ Pt
	3	[PtI ₂ (L1B) ₂]	D	818,01	C ₁₂ H ₁₀ Cl ₂ I ₂ N ₈ O ₂ Pt
	4	[Pt(ox)(L1A) ₂].H ₂ O	C	583,38	C ₁₄ H ₁₄ N ₈ O ₇ Pt. H ₂ O
	5	[Pt(ox)(L1B) ₂]	C	652,28	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ N ₈ O ₆ Pt
	6	[Pt(ox)(L1C) ₂]	C	613,43	C ₁₄ H ₁₄ N ₁₀ O ₆ Pt
L4X	7	[PtCl ₂ (L4A) ₂]	B	650,44	C ₁₈ H ₂₄ Cl ₂ N ₈ O ₂ Pt
	8	[PtCl ₂ (L4B) ₂]	A	719,33	C ₁₈ H ₂₂ Cl ₄ N ₈ O ₂ Pt
	9	[PtI ₂ (L4A) ₂]	D	833,35	C ₁₈ H ₂₄ I ₂ N ₈ O ₂ Pt
	10	[PtI ₂ (L4B) ₂]	D	902,22	C ₁₈ H ₂₂ Cl ₂ I ₂ N ₈ O ₂ Pt
	11	[PtI ₂ (L4D) ₂]	D	986,40	C ₂₄ H ₃₄ Cl ₂ I ₂ N ₈ O ₂ Pt
	12	[PtBr ₂ (L4A) ₂]	E	739,33	C ₁₈ H ₂₄ Br ₂ N ₈ O ₂ Pt
	13	[PtBr ₂ (L4B) ₂]	E	808,24	C ₁₈ H ₂₂ Cl ₂ Br ₂ N ₈ O ₂ Pt
	14	[Pt(ox)(L4A) ₂]	C	667,56	C ₂₀ H ₂₄ N ₈ O ₆ Pt
	15	[Pt(ox)(L4B) ₂]	C	736,43	C ₂₀ H ₂₂ Cl ₂ N ₈ O ₆ Pt
L5X	16	[PtCl ₂ (L5B) ₂]	A	687,25	C ₁₆ H ₁₄ Cl ₄ N ₈ O ₂ Pt
	17	[PtI ₂ (L5A) ₂]	D	801,26	C ₁₆ H ₁₄ I ₂ N ₈ O ₂ Pt
	18	[PtI ₂ (L5B) ₂]	D	870,15	C ₁₆ H ₁₄ Cl ₂ I ₂ N ₈ O ₂ Pt
	19	[PtBr ₂ (L5A) ₂]	E	707,26	C ₁₆ H ₁₄ Br ₂ N ₈ O ₂ Pt
	20	[PtBr ₂ (L5B) ₂]	E	776,15	C ₁₆ H ₁₄ Cl ₂ Br ₂ N ₈ O ₂ Pt
	21	[Pt(ox)(L5B) ₂].3/4 H ₂ O	C	704,36	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₈ O ₆ Pt.3/4 H ₂ O
L6X	22	[Pt(ox)(L6A) ₂].1/4 (CH ₃) ₂ CO	C	735,59	C ₂₆ H ₂₀ N ₈ O ₆ Pt.1/4 (CH ₃) ₂ CO
	23	[Pt(ox)(L6B) ₂]	C	804,50	C ₂₆ H ₁₈ Cl ₂ N ₈ O ₆ Pt



Obr. 45 Číslování purinového skeletu a vázaných R-zbytků pro interpretaci NMR spekter

cis/trans-PtCl₂(L1A)₂] (**1**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₂H₁₂Cl₂N₈O₂Pt: C 25,45; N 19,79; H 2,14%. Naměřeno: C 24,96; N 19,32; H 1,92%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 6,9. ESI+ MS (methanol): m/z 136,1 (calc. 136,1) [(L-CH₃)+H]⁺; 151,1 (151,1) [L+H]⁺; 567,3 (567,3) [M+H]⁺; 589,1 (589,2) [L+Na]⁺; 682,3 (682,0) [PtCl(L)₃+H]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(CH_{ar})$ 3094m; $\nu(CH_{ar})$ 2824m; $\nu(C=N)$ 1602s; $\nu(C_{ar}=C_{ar})$ 1471m; $\nu(C6-O)$ 1397s; $\nu(O-C10)$ 1105m; $\nu(PtN)$ 576m; $\nu(PtCl)$ 337s. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 14,39 (bs, N9H, 1H); 9,01 (bs, C8H, 1H); 8,69 (bs, C2H, 1H); 4,14 *cis*/4,09 *trans* (s, C10H, 3H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 165,30 *cis*/162,39 *trans* (C6); 154,01 *cis*/153,53 *trans* (C2); 152,58 *cis*/151,71 *trans* (C4); 147,82 *cis*/147,55 *trans* (C8); 117,03 (C5); 55,25 *cis*/54,49 *trans* (C10).

cis-[PtCl₂(L1B)₂] (**2**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₂H₁₀Cl₄N₈O₂Pt: C 22,69; N 17,64; H 1,59%. Naměřeno: C 22,21; N 17,38; H 1,68%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 7,4. ESI+ MS (methanol): m/z 185,3 (calc. 185,5) [L+H]⁺; 658,1 (658,1) [M+Na]⁺; 674,5 (674,3) [M+K]⁺; 785,1 (785,3) [PtClL₃+H]⁺; 1293,6 (1293,3) [2M+Na]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(CH_{ar})$ 3123m; $\nu(CH_{alif})$ 2831m; $\nu(C=N)$ 1623m, 1593s; $\nu(C_{ar}=C_{ar})$ 1473m; $\nu(C6-O)$ 1381s; $\nu(CCl)$ 1246m; $\nu(O-C10)$ 1116m; $\nu(PtN)$ 537w; $\nu(PtCl)$ 337s. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 8,45 *cis*/8,28 *trans* (s, C8H, 1H); 4,17 *cis*/4,12 *trans* (s, C10H, 3H), ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 160,56 *cis*/160,29 *trans* (C6); 153,25 *cis*/153,22 *trans* (C2); 157,00 *cis*/156,98 *trans* (C4); 148,49 *cis*/147,95 *trans* (C8); 116,83 *cis*/116,28 *trans* (C5); 55,55 *cis*/55,53 *trans* (C10). ¹⁹⁵Pt NMR (86.00 MHz, DMF-d₇, ppm): δ (K₂PtCl₆) -2006.

cis-[PtI₂(L1B)₂] (**3**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₂H₁₀Cl₂I₂N₈O₂Pt: C 17,62; N 13,70; H 1,23%. Naměřeno: C 17,11; N 13,20; H 1,12%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 8,1. ESI+ MS (methanol): m/z 185,2 (calc. 185,4) [L+H]⁺; 207,3 (207,5) [L+Na]⁺; 818,9 (819,0) [M+H]⁺; 841,0 (841,0) [M+Na]⁺; 856,9 (857,1) [M+K]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(CH_{ar})$ 3111m, 3004m; $\nu(CH_{ar})$ 3094m; $\nu(CH_{alif})$ 2840m; $\nu(C=N)$ 1621s, 1594s; $\nu(C_{ar}=C_{ar})$ 1469m; $\nu(C6-O)$ 1389s; $\nu(CCl)$ 1243m; $\nu(O-C10)$ 1119m; $\nu(PtN)$ 537s; $\nu(PtI)$ 213m, 204m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 8,38 (s, C8H, 1H); 4,19 (s, C10H, 2H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 161,88 (C6); 157,09 (C4); 153,10 (C2); 145,98 (C8); 116,48 (C5); 55,54 (C10); ¹⁹⁵Pt NMR (86.00 MHz, DMF-d₇, ppm): δ (K₂PtCl₆) -3365.

[Pt(ox)(L1A)₂].H₂O (**4**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₄H₁₄N₈O₇Pt.H₂O: C 27,96; N 18,63; H 2,35%. Naměřeno: C 27,47; N 19,00; H 2,39%. TG/DTA data: desolvatace odpovídala ztrátě jedné molekuly H₂O, dekompozice začala při 127 °C a skončila při 517 °C s hmotnostním úbytkem 58,4% (vypočteno pro PtO 60,0%), endoeffekt při 62 °C, exoeffekty při 378 a 394 °C. ESI+ MS (methanol): m/z 151,2 (calc. 151,1) [L+H]⁺; 173,2 (173,1) [L+Na]⁺; 472,6 (472,3) [Pt(ox)(L)+H]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(H_2O)$ 3373m; $\nu(CH_{ar})$ 3113m; $\nu(CH_{alif})$ 2949m; $\nu(CO_{ox})$ 1703m, 1676w; $\nu(C=N)$ 1597s; $\nu(C_{ar}=C_{ar})$ 1475m; $\nu(C6-O)$ 1389m; $\nu(O-C10)$ 1126m; $\nu(PtO)$ 559s; $\nu(PtN)$ 527m; $\nu(O-C=O)$ 456m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 13,49 (bs, N9H, 1H); 8,38 (s, C8H, 1H); 8,51 (s, C2H, 1H); 4,15 (s, C10H, 3H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 160,67 (C6); 154,82 (C4); 152,57 (C2); 142,46 (C8); 120,43 (C5); 54,73 (C10).

[Pt(ox)(L1B)₂] (**5**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₄H₁₀Cl₂N₈O₆Pt: C 25,78; N 17,18; H 1,55%. Naměřeno: C 25,28; N 16,87; H 1,54%. TG/DTA data: dekompozice začala při 140 °C a skončila při 511 °C s hmotnostním úbytkem 67,6% (vypočteno pro PtO 66,4 %), exoeffekty při 193, 426 a 435 °C. ESI+ MS (methanol): m/z 185,2 (calc. 185,5) [L+H]⁺; 207,3 (207,5) [L+Na]⁺; 223,5 (223,7) [L+K]⁺; 796,3 (796,5) [Pt(L)₄+H]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(CH_{ar})$ 3117m, 3004m; $\nu(CH_{alif})$ 2952m; $\nu(CO_{ox})$ 1701m, 1672w; $\nu(C=N)$ 1592s; $\nu(C_{ar}=C_{ar})$ 1469m; $\nu(C6-O)$ 1384s; $\nu(CCl)$ 1247m, 1212m; $\nu(O-C10)$ 1126m; $\nu(PtO)$ 562s; $\nu(PtN)$ 537m; $\nu(O-C=O)$ 402s. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 8,38 (s, C8H, 1H); 4,17 (s, C10H, 3H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (C6); 157,02 (C4); 153,24 (C2); 146,99 (C8); 116,45 (C5); 55,57 (C10).

[Pt(ox)(L1C)₂] (**6**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₄H₁₄N₁₀O₆Pt: C 27,41; N 22,83; H 2,30%. Naměřeno: C 27,89; N 23,38; H 2,66%. ESI⁺ MS (methanol): m/z 166,1 (calc. 166,2) [L+H]⁺; 188,1 (188,1) [L+Na]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(\text{CH}_{ar})$ 3119m; $\nu(\text{CH}_{alif})$ 2945m; $\nu(\text{CO}_{ox})$ 1699m, 1675w; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1592s; $\nu(\text{C}_{ar}=\text{C}_{ar})$ 1471m; $\nu(\text{C6-O})$ 1386s; $\nu(\text{O-C10})$ 1125m; $\nu(\text{PtO})$ 560s; $\nu(\text{PtN})$ 533m; $\nu(\text{O-C=O})$ 459m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 8,87 (s, C8H, 1H); 4,15 (s, C10H, 3H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (C6); 157,02 (C4); 157,13 (C2); 146,76 (C8); 117,76 (C5); 55,55 (C10).

cis/trans-[PtCl₂(L4A)₂] (**7**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₈H₂₄Cl₂N₈O₂Pt: C 33,24; N 17,23; H 3,72%. Naměřeno: C 32,77; N 16,79; H 3,70%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 8,1. ESI⁺ MS (methanol): m/z 193,1 (calc. 193,1) [L+H]⁺; 215,1 (215,1) [L+Na]⁺; 650,0 (650,1) [M+H]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(\text{CH}_{ar})$ 3083m; $\nu(\text{CH}_{alifat})$ 2950m, 2934m; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1600s; $\nu(\text{C}_{ar}=\text{C}_{ar})$ 1458m; $\nu(\text{C6-O})$ 1316s; $\nu(\text{O-C10})$ 1110m; $\nu(\text{PtN})$ 553s; $\nu(\text{PtCl})$ 342s, 335s. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 14,99 *cis*/14,46 *trans* (s, N9H, 1H); 9,23 *cis*/8,62 *trans* (s, C2H, 1H); 9,15 *cis*/8,57 *trans* (s, C8H, 1H); 4,60 *cis*/4,55 *trans* (m, C10H, 2H); 1,80 *cis*/1,75 *trans* (m, C11H, 2H); 1,49 *cis*/1,43 *trans* (m, C10H, 2H); 1,03 *cis*/0,94 *trans* (m, C10H, 2H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 159,04 *cis*/158,85 *trans* (C6); 154,98 *cis*, *trans* (C4); 152,21 *cis*/151,32 *trans* (C2); 146,51 *cis*/145,98 *trans* (C8); 68,29 *cis*/67,63 *trans* (C10); 31,13 *cis*/30,84 *trans* (C11); 19,25 *cis*/19,06 *trans* (C12); 13,76 *cis*/13,52 *trans* (C13); ¹⁹⁵Pt NMR (86.00 MHz, DMF-d₇, ppm): δ (K₂PtCl₆) -1978 *cis*/ - 2023 *trans*.

cis/trans-[PtCl₂(L4B)₂] (**8**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₈H₂₂Cl₄N₈O₂Pt: C 30,06; N 15,58; H 3,08%. Naměřeno: C 30,12; N 14,90; H 3,05%. TG/DTA data: dekompozice začala při 134 °C a skončila při 664 °C s hmotnostním úbytkem 69,1% (vypočteno pro PtO 70,4), endoeфекt při 266 °C, exoeфекty při 363 a 527 °C. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 9,3. ESI⁺ MS (methanol): m/z 227,5 (calc. 227,6) [L+H]⁺; 742,0 (742,0) [M+Na]⁺; 911,7 (911,5) [PtCl(L)₂(L-Cl)+H]⁺; 947,0 (947,0) [PtClL₃+H]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(\text{CH}_{ar})$ 3104m; $\nu(\text{CH}_{alifat})$ 2959m, 2933m; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1590s; $\nu(\text{C}_{ar}=\text{C}_{ar})$ 1428m; $\nu(\text{C6-O})$ 1321m; $\nu(\text{CCl})$ 1240m; $\nu(\text{O-C10})$ 1114m; $\nu(\text{PtN})$ 581s; $\nu(\text{PtCl})$ 334m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 9,15 *cis*/8,54 *trans* (s, C8H, 1H); 4,52 *cis*/4,47 *trans* (m, C10H, 2H); 1,83 *cis*/1,76 *trans* (m, C11H, 2H); 1,47 *cis*/1,42 *trans* (m, C12H, 2H); 0,97 *cis*/0,91 *trans* (m, C13H, 3H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 160,48 *cis*/160,10 *trans* (C6); 153,77 *cis*/

153,42 *trans* (C4); 154,77 *cis*/154,42 *trans* (C2); 144,78 *cis*/144,75 *trans* (C8); 119,01 *cis*/118,33 *trans* (C5); 69,05 *cis*/68,95 *trans* (C10); 30,88 *cis*/30,68 *trans* (C11); 19,71 *cis*/19,60 *trans* (C12); 14,30 *cis*/14,14 *trans* (C13); ^{195}Pt NMR (86.00 MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (K_2PtCl_6) -1988.

cis-[PtI₂(L4A)₂] (**9**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₈H₂₄I₂N₈O₂Pt: C 25,94; N 13,45; H 2,90%. Naměřeno: C 26,04; N 13,90; H 2,84%. TG/DTA data: dekompozice začala při 216 °C a skončila při 673 °C s hmotnostním úbytkem 66,7% (vypočteno pro PtO 67,2 %), exoeфекty při 174 a 603 °C. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 8,5. ESI+ MS (methanol): *m/z* 193,2 (calc. 193,2) [L+H]⁺; 215,2 (215,2) [L+Na]⁺; 834,0 (834,3) [M+H]⁺; 856,2 (856,3) [M+Na]⁺; 899,3 (899,5) [PtI(L)₃+H]⁺. IR(ν_{ATR} /cm⁻¹): $\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$ 3086m; $\nu(\text{CH}_{\text{alifat}})$ 2957m, 2932m; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1603s; $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ 1450m, 1497m; $\nu(\text{C6-O})$ 1316s; $\nu(\text{O-C10})$ 1109s; $\nu(\text{PtN})$ 551s, 539s; $\nu(\text{PtI})$ 218s, 209s. ^1H NMR (400.00MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe₄) 13,45 (bs, N9H, 1H); 8,48 (s, C2H, 1H); 8,37 (s, C8H, 1H); 4,60 (m, C10H, 2H); 1,84 (m, C11H, 2H); 1,51 (m, C12H, 2H); 0,97 (m, C13H, 3H); ^{13}C NMR (100.58MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe₄) 160,38 (C6); 155,44 (C4); 152,79 (C2); 143,69 (C8); 118,87 (C5); 67,54 (C10); 35,49 (C11); 19,92 (C12); 14,34 (C13).

cis-[PtI₂(L4B)₂] (**10**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₈H₂₂Cl₂I₂N₈O₂Pt: C 23,96; N 12,42; H 2,46%. Naměřeno: C 24,37; N 12,05; H 2,49%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 8,9. ESI+ MS (methanol): *m/z* 227,6 (calc. 227,7) [L+H]⁺; 249,3 (249,5) [L+Na]⁺; 265,4 (265,6) [L+K]⁺; 925,0 (925,2) [M+Na]⁺; 1003,0 (1003,0) [PtI(L)₃+H]⁺. IR(ν_{ATR} /cm⁻¹): $\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$ 3093m; $\nu(\text{CH}_{\text{alifat}})$ 2957m, 2931m; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1618s; $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ 1574s; $\nu(\text{C6-O})$ 1342s; $\nu(\text{CCl})$ 1241m; $\nu(\text{O-C10})$ 1109s; $\nu(\text{PtN})$ 550m; $\nu(\text{PtI})$ 212m, 207m. ^1H NMR (400.00MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe₄) 14,71 (bs, N9H, 1H); 8,46 (s, C8H, 1H); 4,54 (t, C10H, 2H); 1,79 (m, C11H, 2H); 1,49 (m, C12H, 2H); 0,95 (m, C13H, 3H); ^{13}C NMR (100.58MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe₄) 158,99 (C6); 154,64 (C4); 149,90 (C2); 144,84 (C8); 118,71 (C5); 69,25 (C10); 31,41 (C11); 19,71 (C12); 14,25 (C13); ^{195}Pt NMR (86.00 MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (K_2PtCl_6) -3160.

cis-[PtI₂(L4D)₂] (**11**): Procentuální zastoupení prvků pro C₂₄H₃₄Cl₂I₂N₈O₂Pt: C 29,22; N 11,36; H 3,47%. Naměřeno: C 28,76; N 10,87; H 3,42%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 7,8. ESI+ MS (methanol): *m/z* 273,3 (calc. 273,4) [(L-Cl)+K]⁺; 975,2 (975,0) [PtI₂(L-Cl)₂+Na]⁺; 987,2 (987,4) [M+H]⁺; 1009,1 (1009,4) [M+Na]⁺; 1202,0 (1202,2) [Pt(L)₂(L-Cl)₂+H]⁺.

IR($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$ 3113m; $\nu(\text{CH}_{\text{alifat}})$ 2957m, 2932m, 2870m; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1686s; $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ 1588s; $\nu(>\text{CH}(\text{CH}_3)_2)$ 1460m; $\nu(\text{C6-O})$ 1321m; $\nu(\text{CCl})$ 1282m; $\nu(\text{O-C10})$ 1134m; $\nu(\text{PtN})$ 523s; $\nu(\text{PtI})$ 220s, 209s. ^1H NMR (400.00MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) 8,68 (s, C8H, 1H); 4,78 (sp, C2'H, 1H); 4,35 (t, C10H, 2H); 1,69 (p, C11H, 2H); 1,57 (dd, C1'H, C3'H, 6H); 1,39 (p, C12H, 2H); 0,91 (t, C13H, 3H); ^{13}C NMR (100.58MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) 157,02 (C6); 155,65 (C4); 148,19 (C2); 143,14 (C8); 117,88 (C5); 69,26 (C10); 49,64 (C2'); 31,32 (C11); 22, 50 (C1', C3'); 19,75 (C12); 14,25 (C13). ^{195}Pt NMR (86.00 MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (K_2PtCl_6) -3069.

cis-[PtBr₂(L4A)₂] (**12**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₈H₂₄Br₂N₈O₂Pt: C 29,24; N 15,16; H 3,27%. Naměřeno: C 29,14; N 14,69; H 3,21%. TG/DTA data: dekompozice začala při 110 °C a skončila při 600 °C s hmotnostním úbytkem 70,8% (vypočteno pro PtO 70,7 %), exoeфекty při 345, 395, 520 a 555 °C. Λ_{M} (DMF, S.cm².mol⁻¹): 8,3. ESI+ MS (methanol): m/z 762,2 (calc. 762,3) [M+Na]⁺; 852,3 (852,5) [PtBr(L)₃+H]⁺. IR($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$ 3095m; $\nu(\text{CH}_{\text{alifat}})$ 2958s, 2933m; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1598s; $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ 1451m; $\nu(\text{C6-O})$ 1407m; $\nu(\text{O-C10})$ 1112s; $\nu(\text{PtN})$ 537w; $\nu(\text{PtBr})$ 326s, 315s. ^1H NMR (400.00MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) n.d. (N9H, 1H); 8,53 (s, C2H, 1H); 8,49 (s, C8H, 1H); 4,63 (t, C10H, 2H); 1,82 (p, C11H, 2H); 1,47 (p, C12H, 2H); 0,96 (t, C13H, 3H); ^{13}C NMR (100.58MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) 159,78 (C6); 153,90 (C4); 152,62 (C2); 143,59 (C8); 118,88 (C5); 67,34 (C10); 31,60 (C11); 19,83 (C12); 14,29 (C13); ^{195}Pt NMR (86.00 MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (K_2PtCl_6) -2285.

cis-[PtBr₂(L4B)₂] (**13**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₈H₂₂Cl₂Br₂N₈O₂Pt: C 26,75; N 13,86; H 2,74%. Naměřeno: C 26,71; N 13,35; H 2,64%. Λ_{M} (DMF, S.cm².mol⁻¹): 8,2. ESI+ MS (methanol): m/z 265,4 (calc. 265,7) [L+K]⁺; 762,2 (792,3) [PtBr₂(L-Cl)₂+Na]⁺; 778,3 (778,4) [PtBr₂(L-Cl)₂+K]⁺; 809,2 (809,2) [M+H]⁺; 831,0 (831,2) [M+Na]⁺; 956,1 (956,0) [PtBrL₃+H]⁺. IR($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$ 3100m; $\nu(\text{CH}_{\text{alifat}})$ 2959m, 2932m; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1591s; $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ 1428s; $\nu(\text{C6-O})$ 1368m; $\nu(\text{CCl})$ 1342m, 1327m; $\nu(\text{O-C10})$ 1109m; $\nu(\text{PtN})$ 540s; $\nu(\text{PtBr})$ 320m, 310m. ^1H NMR (400.00MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) n.d. (N9H, 1H); 8,54 (s, C8H, 1H); 4,51 (t, C10H, 2H); 1,77 (m, C11H, 2H); 1,45 (m, C12H, 2H); 0,94 (t, C13H, 3H); ^{13}C NMR (100.58MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) 158,99 (C6); 153,41 (C4); 148,94 (C2); 146,64 (C8); 119,02 (C5); 69,28 (C10); 31,45 (C11); 19,75 (C12); 14,27 (C13).

[Pt(ox)(L4A)₂] (**14**): Procentuální zastoupení prvků pro C₂₀H₂₄N₈O₆Pt: C 35,98; N 16,79; H 3,62%. Naměřeno: C 36,50; N 17,29; H 3,32%. TG/DTA data: dekompozice začala při 146 °C a skončila při 442 °C s hmotnostním úbytkem 69,2% (vypočteno pro PtO 67,5 %), exoeфекt při 395 °C. ESI+ MS (methanol): m/z 193,2 (calc. 193,2) [L+H]⁺; 690,5 (690,5) [M+Na]⁺; 965,3 (965,0) [Pt(L)₄+H]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(\text{CH}_{ar})$ 3096w; $\nu(\text{CH}_{alifat})$ 2957m, 2926m; $\nu(\text{CO}_{ox})$ 1701w, 1672w; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1596s; $\nu(\text{C}_{ar}=\text{C}_{ar})$ 1449m; $\nu(\text{C6-O})$ 1402m; $\nu(\text{O-C10})$ 1122s; $\nu(\text{PtO})$ 574s; $\nu(\text{PtN})$ 536m; $\nu(\text{O-C=O})$ 400m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 13,45 (s, N9H, 1H); 8,34 (s, C2H, 1H); 8,28 (s, C8H, 1H); 4,59 (t, C10H, 2H); 1,72 (m, C11H, 2H); 1,42 (m, C12H, 2H); 0,98 (t, C13H, 3H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 158,91 (C6); n.d. (C4); 152,60 (C2); 143,67 (C8); n.d. (C5); 67,30 (C10); n.d. (C11); 19,82 (C12); 14,22 (C13).

[Pt(ox)(L4B)₂] (**15**): Procentuální zastoupení prvků pro C₂₀H₂₂Cl₂N₈O₆Pt: C 32,62; N 15,22; H 3,01%. Naměřeno: C 32,31; N 15,53; H 3,06%. TG/DTA data: dekompozice začala při 158 °C a skončila při 423 °C s hmotnostním úbytkem 72,9% (vypočteno pro PtO 71,2%), exoeфекty při 375 a 413 °C. ESI+ MS (methanol): m/z 227,6 (calc. 227,7) [L+H]⁺; 249,3 (249,6) [L+Na]⁺; 265,4 (265,7) [L+K]⁺; 668,5 (668,5) [Pt(ox)(L-Cl)₂+H]⁺; 737,5 (737,4) [M+H]⁺; 759,4 (759,4) [M+Na]⁺; 965,1 (965,1) [Pt(ox)(L)₃+Na]⁺; 1102,4 (1102,7) [Pt(L)₄+H]⁺; 1141,1 (1140,8) [PtL₄+K]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(\text{CH}_{ar})$ 3126m; $\nu(\text{CH}_{alifat})$ 2959m, 2933m; $\nu(\text{CO}_{ox})$ 1702m, 1677w; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1589s; $\nu(\text{C}_{ar}=\text{C}_{ar})$ 1425s; $\nu(\text{C6-O})$ 1370m; $\nu(\text{CCl})$ 1316s; $\nu(\text{O-C10})$ 1138m $\nu(\text{PtO})$ 581s; $\nu(\text{PtN})$ 536m; $\nu(\text{O-C=O})$ 402s. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 8,67 (s, C8H, 1H); 4,53 (t, C10H, 2H); 1,75 (m, C11H, 2H); 1,48 (m, C12H, 2H); 0,94 (m, C13H, 3H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (C6); 154,59 (C4); 149,94 (C2); 145,01 (C8); n.d. (C5); 69,32 (C10); 31,58 (C11); 19,67 (C12); 14,31 (C13).

cis/trans-[PtCl₂(L5B)₂] (**16**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₆H₁₄Cl₄N₈O₂Pt: C 27,69; N 16,31; H 2,05%. Naměřeno: C 27,19; 15,76; H 2,00%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 7,6. ESI+ MS (methanol): m/z 211,1 (calc. 211,0) [L+H]⁺; 233,1 (233,0) [L+Na]⁺; 710,0 (710,0) [M+Na]⁺; 725,9 (725,8); 663,0 (663,0) [PtCl(L)₃+Na]⁺. IR(ν_{ATR}/cm^{-1}): $\nu(\text{CH}_{ar})$ 3089m; $\nu(\text{CH}_{alifat})$ 2973m, 2853m; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1701s; $\nu(\text{C}_{ar}=\text{C}_{ar})$ 1579m, 1551m; $\nu(\text{CH}_{nenasyc})$ 1386m; $\nu(\text{C6-O})$ 1386m; $\nu(\text{CCl})$ 1193m; $\nu(\text{O-C10})$ 1123m; $\nu(\text{PtN})$ 533s; $\nu(\text{PtCl})$ 338s, 330s. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 13,37 (bs, N9H, 1H); 8,53 *cis*/8,27 *trans* (s, C8H,

1H); 6,18 *cis*/6,03 *trans* (m, C10aH, 2H); 5,28 *cis*/5,23 *trans* (dd, C11aH, 1H); 5,19 *cis*/5,14 *trans* (d, C12aH, 2H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 160,70 *cis*/160,25 *trans* (C6); 158,02 *cis*/157,71 *trans* (C4); 154,47 *cis*/153,88 *trans* (C2); 145,74 *cis*/145,17 *trans* (C8); 133,88 (C11a); 119,02 *cis*/118,80 *trans* (C5); 117,34 (C12a); 65,57 *cis*/65,10 *trans* (C10a).

cis-[PtI₂(L5A)₂] (**17**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₆H₁₄I₂N₈O₂Pt: C 22,87; N 13,33; H 1,92%. Naměřeno: C 22,77; N 13,74; H 1,95%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 8,2. ESI+ MS (methanol): m/z 177,2 (calc. 177,1) [L+H]⁺; 199,2 (199,1) [L+Na]⁺; 799,8 (799,9) [M+H]⁺. IR(v_{ATR}/cm⁻¹): ν(CH_{ar}) 3095m; ν(CH_{alifat}) 2971m, 2938m; ν(C=N) 1686s; ν(C_{ar}=C_{ar}) 1599m, 1552m; ν(CH_{nenasyc}) 1399m; ν(C6-O) 1327m; ν(O-C10) 1127m ν(PtN) 556s, 545s; ν(PtI) 220m, 208s. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 13,93 (bs, N9H, 1H); 8,36 (s, C8H, 1H); 8,29 (s, C2H, 1H); 6,08 (m, C10aH, 2H); 5,18 (d, C11aH, 1H); 5,02 (m, C12aH, 2H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 160,49 (C6); 156,35 (C4); 153,56 (C2); 143,48 (C8); 118,19 (C5); 70,84 (C10a); 133,61 (C11a); 117, 23 (C12a).

cis-[PtI₂(L5B)₂] (**18**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₆H₁₄Cl₂I₂N₈O₂Pt: C 22,09; N 13,33; H 1,62%. Naměřeno: C 22,32; N 12,87; H 1,51%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 8,1. ESI+ MS (methanol): m/z 211,2 (calc. 211,1) [L+H]⁺; 551,2 (551,0) [L+K]⁺; 869,8 (869,8) [M+H]⁺; 907,8 (907,8) [M+K]⁺. IR(v_{ATR}/cm⁻¹): ν(CH_{ar}) 3112m, 3078m; ν(CH_{alifat}) 2967m; ν(C=N) 1694s; ν(C_{ar}=C_{ar}) 1550m, 1517m; ν(CH_{nenasyc}) 1432m; ν(C6-O) 1390m; ν(CCl) 1192m; ν(O-C10) 1124m; ν(PtN) 536vs; ν(PtI) 212m, 204m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 13,38 (bs, N9H, 1H); 8,36 (s, C8H, 1H); 6,16 (m, C10aH, 2H); 5,45 (m, C11aH, 1H); 5,19 (d, C12aH, 2H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 161,34 (C6); 158,05 (C4); 154,54 (C2); 147,60 (C8); 133,96 (C11a); 119,57 (C5); 117,28 (C12a); 65,41 (C10a).

cis-[PtBr₂(L5A)₂] (**19**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₆H₁₄Br₂N₈O₂Pt: C 22,87; N 12,88; H 1,92%. Naměřeno: C 22,77; N 13,74; H 1,95%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 7,8. ESI+ MS (methanol): m/z 177,2 (calc. 177,1) [L+H]⁺; 727,9 (727,9) [M+Na]⁺. IR(v_{ATR}/cm⁻¹): ν(CH_{ar}) 3105m; ν(CH_{alifat}) 2971m, 2938m; ν(C=N) 1692s; ν(C_{ar}=C_{ar}) 1551m, 1515m; ν(CH_{nenasyc}) 1405m; ν(C6-O) 1399m; (O-C10) 1137m; ν(PtN) 555s, 543s; ν(PtBr) 339m, 327m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 8,35 (s, C8H, 1H);

8,28 (s, C2H, 1H); 6,19 (m, C11aH, 1H); 5,20 (dd, C10aH, 2H); 5,11 (d, C12aH, 2H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 160,05 (C6); 156,21 (C4); 152,78 (C2); 143,51 (C8); 133,78 (C11a); 118,12 (C5); 117,36 (C12a); 69,99 (C10a).

cis-[PtBr₂(L5B)₂] (**20**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₆H₁₄I₂N₈O₂Pt: C 24,76; N 14,44; H 1,82%. Naměřeno: C 24,93; N 14,12; H 2,09%. Λ_M (DMF, S.cm².mol⁻¹): 6,7. ESI+ MS (methanol): m/z 177,2 (calc. 177,1) [L+H]⁺; 727,9 (727,9) [M+Na]⁺. IR(v_{ATR}/cm⁻¹): ν(CH_{ar}) 3098m; ν(CH_{alifat}) 2914m; ν(C=N) 1696s; ν(C_{ar}=C_{ar}) 1600m, 1555m; ν(CH_{nenasyc}) 1401m; ν(C6-O) 1360m; ν(CCl) 1193m; ν(O-C10) 1140m; ν(PtN) 557s, 547s; ν(PtBr) 337m, 330m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 8,35 (s, C8H, 1H); 6,07 (m, C11aH, 1H); 5,20 (dd, C10aH, 2H); 5,11 (d, C12aH, 2H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) 160,74 (C6); 158,07 (C4); 153,96 (C2); 146,00 (C8); 133,82 (C11a); 118,48 (C5); 117,35 (C12a); 65,35 (C10a).

[Pt(ox)(L5B)₂].3/4 H₂O (**21**): Procentuální zastoupení prvků pro C₁₈H₁₄Cl₂N₈O₆Pt.3/4 H₂O: C 30,12; N 15,61; H 2,18%. Naměřeno: C 30,57; N 15,34; H 2,17%. TG/DTA data: desolvatace odpovídala ztrátě 3/4 H₂O, dekompozice začala při 133 °C a skončila při 482 °C s hmotnostním úbytkem 67,6% (vypočteno pro PtO 66,7 %), endoeffekt při 69 °C, exoeffekty při 346 a 429 °C. ESI+ MS (methanol): m/z 211,4 (calc. 211,6) [L+H]⁺; 233,3 (233,6) [L+Na]⁺; 705,5 (704,4) [M+H]⁺; 727,4 (727,3) [M+Na]⁺. IR(v_{ATR}/cm⁻¹): ν(H₂O) 3402m; ν(CH_{ar}) 3117m; ν(CH_{alifat}) 2819m; ν(CO_{ox}) 1698s, 1671m; ν(C=N) 1670s; ν(C_{ar}=C_{ar}) 1575m, 1548m; ν(CH_{nenasyc}) 1432m; ν(C6-O) 1385m; ν(CCl) 1192m; ν(O-C10) 1130m; ν(PtO) 536s; ν(PtN) 500m; ν(O-C=O) 418m. ¹H NMR (400.00MHz, DMF d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (N9H, 1H); 8,32 (s, C8H, 1H); 6,16 (dd, C11aH, 1H); 5,25 (t, C10aH, 2H); 5,08 (d, C12aH, 2H); ¹³C NMR (100.58MHz, DMF-d₇, ppm): δ (SiMe₄) n.d. (C6); 158,37 (C4); 153,90 (C2); 147,30 (C8); n.d. (C11a); 118,80 (C5); n.d. (C12a); 67,34 (C10a).

[Pt(ox)(L6A)₂].1/4 (CH₃)₂CO (**22**): Procentuální zastoupení prvků pro C₂₆H₂₀N₈O₆Pt.1/4 (CH₃)₂CO: C 42,83; N 14,94; H 2,89%. Naměřeno: C 43,26; N 15,18; H 2,90%. TG/DTA data: desolvatace odpovídala ztrátě 1/4 (CH₃)₂CO, dekompozice začala při 157 °C a skončila při 464 °C s hmotnostním úbytkem 71,4% (vypočteno pro PtO 70,0 %), endoeffekt při 199 °C, exoeffekty při 418 °C. ESI+ MS (methanol): m/z 227,3 (calc. 227,2) [L+H]⁺; 249,2 (249,2) [L+Na]⁺; 736,6 (736,6) [K+H]⁺. IR(v_{ATR}/cm⁻¹): ν(CH_{ar}) 3062m, 3032m; ν(CH_{alifat}) 2824m;

$\nu(\text{CO}_{\text{ox}})$ 1698s, 1673w; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1673m; $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ 1597vs; $\nu(\text{C6-O})$ 1339s; $\nu(\text{O-C10})$ 1105m; $\nu(\text{PtO})$ 536s; $\nu(\text{PtN})$ 500m; $\nu(\text{O-C=O})$ 418m. ^1H NMR (400.00MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) n.d. (N9H, 1H); C 8,59 (s, C8H, 1H); 8,41 (s, C2H, 1H); 7,61-7,35 (m, C11b-16bH, 1H); 5,70 (s, C10bH, 2H); ^{13}C NMR (100.58MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) n.d. (C6); 156,61 (C4); 152,79 (C2); 144,83 (C8); 128,21 – 129,81 (C11b – C16b); 118,99 (C5); 67,55 (C10).

[Pt(ox)(L6B) $_2$] (23): Procentuální zastoupení prvků pro $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_8\text{O}_6\text{Pt}$: C 38,72; N 13,89; H 2,50%. Naměřeno: C 38,48; N 14,40; H 2,67%. TG/DTA data: desolvatace odpovídala ztrátě molekuly H_2O , dekompozice začala při 131 °C a skončila při 461 °C s hmotnostním úbytkem 73,4% (vypočteno pro PtO 72,1 %), endoeфекty při 69, 162 °C, exoeфекty při 320 a 382 °C. ESI+ MS (methanol): m/z 265,2 (calc. 265,3) $[(\text{L-Cl})+\text{K}]^+$; 792,7 (793,0) $[\text{Pt(ox)L(L-Cl)+Na}]^+$; 1041,6 (1041,7) $[2(\text{Pt(ox)(L-Cl)})+\text{Na}]^+$. IR($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$ 3096m; $\nu(\text{CH}_{\text{alifat}})$ 2976m; $\nu(\text{CO}_{\text{ox}})$ 1674s; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1597m; $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ 1553m; $\nu(\text{C6-O})$ 1399m; $\nu(\text{CCl})$ 1298s; $\nu(\text{O-C10})$ 1125m; $\nu(\text{PtO})$ 547s; $\nu(\text{PtN})$ 494s; $\nu(\text{O-C=O})$ 458m. ^1H NMR (400.00MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) 12,12 (bs, N9H, 1H); C 8,58 (bs, C8H, 1H); 7,56-7,37 (m, C11b-16bH, 1H); 5,46 (s, C10bH, 2H); ^{13}C NMR (100.58MHz, DMF- d_7 , ppm): δ (SiMe_4) 162,00 (C6); 156,09 (C4); 151,46 (C2); 144,86 (C8); 129,58 – 127,54 (C11b – C16b); 118,51 (C5); 70,02 (C10).

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1. SYNTÉZA A OBECNÉ VLASTNOSTI

Připravené platnaté komplexy strukturních typů $[\text{PtX}_2(\text{L})_2]$ a $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})_2]$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$; H_2ox = kyselina šťavelová) zahrnující jako ligandy různě O6-substituované deriváty hypoxantinu byly syntetizovány ze základního výchozího reaktantu, kterým byl $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$. Syntéza probíhala podle jednoduchých reakčních schémat popsanych v kapitolách 3.3.1. a 3.3.2..

Připravené komplexy **1 – 3**, **7 – 13** a **16 – 20** byly dobře rozpustné v DMF. Měření vodivosti bylo prováděno pro koncentraci komplexů 10^{-3} mol/l při teplotě 25°C . Měření prokázalo, že roztoky komplexů jsou neelektrolyty. Hodnoty naměřených hodnot vodivosti se pohybovaly mezi $6,9 - 9,3 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$, kdy hraniční hodnota pro neelektrolyty v daném solventu činí $65 \text{ S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$. (77) Komplexy **4 – 6**, **14 – 15** a **21 – 23** jsou téměř nerozpustné látky, proto u nich nebyly hodnoty vodivosti měřeny.

TG/DTA termická analýza byla provedena na komplexech **4 – 6**, **8 – 9**, **12**, **14 – 15** a **21 – 23**. U komplexu **4** bylo prokázáno, že se jedná o monohydrát, u komplexu **21** byly nalezeny $\frac{3}{4}$ molekuly vody a u komplexu **22** byla nalezena $\frac{1}{4}$ molekuly acetonu, jak bylo předpokládáno na základě výsledků elementární analýzy. Termická analýza byla provedena jen u vybraných komplexů, a to z důvodu malého množství ostatních připravených látek.

U hmotnostních spekter ESI⁺ byly u komplexů **1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 18, 21** a **22** nalezeny molekulové píky odpovídající obecnému složení $[\text{PtX}_2(\text{L})_2+\text{H}]^+$ pro **1, 3, 9, 11, 13, 18** a $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})_2+\text{H}]^+$ pro komplexy **15, 21** a **22**, což naznačuje jejich složení. V případech komplexů **2, 8, 10, 12, 14, 16, 19, 20** byly v hmotnostních spektrech nalezeny adukty daných komplexů se sodíkovým iontem Na^+ obecného složení $[\text{PtX}_2(\text{L})_2+\text{Na}]^+$ pro **2, 8, 10, 12** a $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})_2+\text{Na}]^+$ pro komplex **14**. Ve spektrech komplexu **4** byl pozorován fragment odpovídající složení komplexu bez jednoho navázaného ligandu, tj. $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})+\text{H}]^+$, u komplexu **5** byl pozorován fragment obecného složení $[\text{Pt}(\text{L})_4 + \text{H}]^+$, kdy nalezená hodnota m/z odpovídá takovému složení komplexu, kdy jsou na kovové jádro platiny navázány čtyři molekuly ligandu. Ve spektrech komplexu **23** byl pozorován adukt se sodíkovým iontem odpovídající složení $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})(\text{L}-\text{Cl})+\text{Na}]^+$, kdy podle naměřených hodnot pravděpodobně

oxalato komplex obsahoval dva vázané ligandy, kdy na jednom z nich došlo k odštěpení chloridového iontu.

4.2. SPEKTROSKOPICKÉ METODY

Připravené komplexy byly charakterizovány IR spektroskopií v rozsahu $200 - 4000\text{ cm}^{-1}$. Komplexy obecného složení $[\text{PtX}_2(\text{L})_2]$ obsahující vazbu Pt-I vykazovaly charakteristické vibrace $\nu(\text{PtI})$ v rozmezí $204 - 220\text{ cm}^{-1}$ z rozštěpení těchto píků se dá předpokládat, že připravené sloučeniny **3**, **9**, **10**, **11**, **17** a **18** mají konfiguraci *cis*-. Komplexy obsahující vazbu Pt-Br charakteristické vibrace $\nu(\text{PtBr})$ v rozmezí $310 - 339\text{ cm}^{-1}$. Opět podle dvojitého štěpení lze předpokládat, že v případě sloučenin **13**, **19** a **20** se nám podařilo připravit *cis*- izomery. U komplexů s vazbou Pt-Cl byly pozorovatelné vibrace $\nu(\text{PtCl})$ v oblasti $330 - 342\text{ cm}^{-1}$. Oxalátový dianiont vázaný na centrální atom platiny vykazoval charakteristické vibrace $\nu(\text{PtO})$ v rozsahu $536 - 562\text{ cm}^{-1}$ a dva pásy asymetrické vibrace $\nu(\text{CO}_{\text{ox}})$ mezi $1671 - 1677\text{ cm}^{-1}$ a $1698 - 1703\text{ cm}^{-1}$. Komplexy obsahují jako ligand *O*-alkyl nebo *O*-aryl substituovaný hypoxantin. Charakteristické vibrace použitých ligandů se obecně pohybují v následujících rozmezích: $\nu(\text{O-C}_{10})$ $1105 - 1140\text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{C}_6\text{-O})$ $1247 - 1407\text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{CH}_{\text{nenasyc}})$ $1385 - 1432\text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{O-CH}_3)$ $1469 - 1478\text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$ $1425 - 1579\text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{C}=\text{N})$ $1590 - 1701\text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{CH}_{\text{alifat}})$ $2853 - 2973\text{ cm}^{-1}$; $\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$ $3126 - 3032\text{ cm}^{-1}$. V případě komplexů **2**, **3**, **5**, **8**, **10**, **13**, **15**, **16**, **18**, **10**, **21** a **23** obsahují ligandy navíc substituci na uhlíku C2, kde je atom vodíku nahrazen chlorem (*O*-alkyl/aryl-2-chlorhypoxantin), u komplexu **11** je navíc v ligandech substituován vodík na dusíku N9, použitým ligandem je zde *O*6-butyl-2-chlor-*N*9-isopropylhypoxantin. Ve spektru tohoto komplexu byla navíc zřetelně pozorovatelná vibrace $\nu(>\text{CH}(\text{CH}_3)_2)$ o hodnotě 1460 cm^{-1} . U všech zmíněných komplexů je ve spektrech zřetelně pozorovatelná vibrace $\nu(\text{CCl})$ v rozsahu $1192 - 1342\text{ cm}^{-1}$. Vibrace charakteristické pro jednotlivé vazby obsažené v připravených komplexních sloučeninách jsou přehledně uvedeny v tabulkách 3 – 6.

Tabulka 3. Hodnoty vlnočtů (cm^{-1}) IR spekter připravených dichlorido komplexů

K	$\nu(\text{PtCl})$	$\nu(\text{PtN})$	$\nu(\text{O-C10})$	$\nu(\text{C-Cl})$	$\nu(\text{C6-O})$	$\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$	$\nu(\text{C}\equiv\text{N})$	$\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$	$\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$
1	337s	576m	1105m	-	1397s	1471m	1602s	2824m	3094m
2	337s	537w	1116m	1246m	1381s	1473m	1623m	2831m	3123m
7	342s, 335s	553s	1110m	-	1316s	1458m	1600s	2950m, 2934m	3083m
8	334m	581s	1114m	1240m	1321m	1428m	1590s	2959m, 2933m	3104m
16	338s, 330s	533s	1123m	1193m	1386m	1579m, 1551m	1701s	2973m, 2853m	3089m

Tabulka 4. Hodnoty vlnočtů (cm^{-1}) IR spekter přitavených diiodido komplexů

	$\nu(\text{PtI})$	$\nu(\text{PtN})$	$\nu(\text{O-C10})$	$\nu(\text{C-Cl})$	$\nu(\text{C6-O})$	$\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$	$\nu(\text{C}\equiv\text{N})$	$\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$	$\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$
3	204m, 213m	537s	1119m	1243m	1381s	1469m	1621s, 1594s	2840m	3111m
9	209s, 218m	551s, 539s	1109m	-	1316s	1450m, 1497m	1603s	2957m, 2932m	3086m
10	207m, 212m	550m	1119s	1241m	1342s	1544s	1618s	2957m, 2931m	3093m
11	209s, 220s	523s	1134m	1282m	1321m	1588s	1686s	2957m, 2932m	3113m
17	208s, 220s	556s, 545s	1127m	-	1327m	1599m, 1555m	1686s	2971m, 2938m	3095m
18	204s, 212s	536vs	1124m	1192m	1390m	1550m, 1517m	1694s	2967m	3112m, 3098m

Tabulka 5. Hodnoty vlnočtů (cm^{-1}) IR spekter přiřtavených dibromido komplexů

K	$\nu(\text{PtBr})$	$\nu(\text{PtN})$	$\nu(\text{O-C10})$	$\nu(\text{C1})$	$\nu(\text{C6-O})$	$\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{CH}_{\text{alif}})$	$\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$
12	326s 315s	537w	1112s	-	1407m	1451m	1598s	2958s, 2933m	3095m
13	320m, 310m	540s	1109m	1342m, 1327m	1368m	1428s	1592s	2959m, 2933m	3100m
19	339m, 327m	555s, 543s	1137m	1194m	1399m	1551m, 1515m	1692s	2974m, 2908m	3105m
20	337m, 330m	557s, 545s	1140m	1193m	1360m	1600m, 1555m	1696s	2914m	3098m

Tabulka 6. Hodnoty vlnočtů (cm^{-1}) IR spekter připravených oxaláto komplexů

	$\nu(\text{O-C=O})$	$\nu(\text{PtN})$	$\nu(\text{PtO})$	$\nu(\text{O-C10})$	$\nu(\text{C1})$	$\nu(\text{C6-O})$	$\nu(\text{C}_{\text{ar}}=\text{C}_{\text{ar}})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{CO}_{\text{ox}})$	$\nu(\text{CH}_{\text{alif}})$	$\nu(\text{CH}_{\text{ar}})$
4	456m	527m	559s	1126m	-	1389m	1475m	1597s	1703m, 1673w	2949m	3111m
5	402s	537m	562s	1126m	1247m	1384s	1469m	1597s	1703m, 1672w	2952m	3113m
6	459m	533m	560s	1125m	-	1386s	1458m	1592s	1699m, 1675w	2945m	3119m
14	400m	536m	574s	1125s	-	1402m	1449m	1596s	1701w, 1672w	2957m, 2926m	3096w
15	402s	536m	581s	1138m	1316s	1370m	1425s	1589s	1702m, 1677w	2959m, 2933m	3126m
21	418m	500m	536s	1130m	1192m	1385m	1575m, 1548m	1670s	1698s, 1675w	-	3117m
22	418m	500m	536s	1105m	-	1339s	1597vs	1673m	1698s, 1671m	2824m	3062m, 3032m
23	458m	494s	547s	1125m	1298s	1399m	-	1597m	1674s	2976m	3096m

Všechny ^1H a ^{13}C NMR signály volných derivátů O6-substituovaných hypoxantinu byly nalezeny v odpovídajících spektrech. NMR spektra komplexů byla srovnána se spektry odpovídajících organických ligandů. Nejvýraznější změny chemického posunu (δ) v ^1H NMR spektrech byly po koordinaci ligandu na platinu (tzv. koordinační posuny ($\Delta\delta = \delta_{\text{komplex}} - \delta_{\text{ligand}}$) pozorovány u C8H. V případě ^{13}C uhlíkových spekter došlo po koordinaci k největšímu koordinačnímu posunu signálů uhlíků C5 a C8. Jednotlivé koordinační posuny přehledně uvádí tabulky 7 – 11. Posuny pozorované pro C5 byly větší než posuny pozorované pro C4, což napovídá koordinaci na platinu přes dusík N7. V ^{13}C spektrech nebyly některé signály pozorovatelné a u některých sloučenin se spektra z důvodu nízké koncentrace látek v DMF roztoku naměřit nepodařilo. ^{195}Pt platinová spektra byla měřena pro vybrané komplexy obecného vzorce $[\text{PtX}_2(\text{L})_2]$ ($\text{X} = \text{Cl}, \text{I}, \text{Br}$; $\text{L} = \text{ligand}$). V případě připravených oxalato derivátů $[\text{Pt}(\text{ox})(\text{L})_2]$ se z důvodu velmi špatné rozpustnosti nepodařilo naměřit žádná ^{195}Pt spektra. Rozdílný chemický posun signálu platiny jednoznačně ukázal na různé strukturní typy připravených komplexů – dichlorido, dibromido a diiodido. Navíc přítomnost dvou signálů v případě dichlorido komplexů ukázala na směs izomerů *cis* a *trans*. Žádný komplex $[\text{PtCl}_2(\text{L})_2]$ se bohužel nepodařilo připravit izomericky čistý. Naopak připravené dibromido a diiodido komplexy se podařilo připravit jako *cis*-izomery. Tyto předpoklady potvrzuje i přítomnost jen signálů *cis*-izomeru i v ^1H a ^{13}C spektrech v případě komplexů $[\text{PtX}_2(\text{L})_2]$, kde $\text{X} = \text{Br}, \text{I}$.

Tabulka 7: ^{195}Pt chemické posuny (ppm) dichlorido, diiodido a dibromido komplexů

^{195}Pt NMR

$[\text{PtCl}_2(\text{L})_2]$	δ (ppm)	$[\text{PtI}_2(\text{L})_2]$	δ (ppm)	$[\text{PtBr}_2(\text{L})_2]$	δ (ppm)
2	- 2006 (trans)	3	- 3365 (cis)	12	- 2285 (cis)
7	-1978 (cis)	10	- 3160 (cis)		
	- 2025 (trans)				
8	- 1988 (cis)	11	- 3069 (cis)		

Tabulka 8: ^1H a ^{13}C koordinační posuny ($\Delta\delta = \delta_{\text{komplex}} - \delta_{\text{ligand}}$; ppm) pro komplexy s ligandy typu L1X

¹ H NMR				¹³ C NMR				
K	N9H	C2H	C8H	C2	C4	C5	C6	C8
1 cis	0,00	0,16	0,55	0,98	-2,00	-4,38	4,30	4,42
1 trans	-	-	-	1,46	-2,87	-4,38	1,39	4,15
2 cis	n.d.	-	0,65	0,55	-1,13	-1,25	-0,38	3,65
2 trans	n.d.	-	0,11	0,52	-1,33	-1,88	-0,65	3,11
3	n.d.	-	0,09	0,40	-1,04	-1,68	0,94	1,14
4	0,00	-0,02	-0,08	0,02	0,24	-0,98	-0,33	-0,94
5	n.d.	-	0,14	0,54	-1,11	-1,71	n.d.	2,15
6	n.d.	-	0,36	0,23	-1,16	-2,03	n.d.	1,85

Tabulka 8: ^1H a ^{13}C koordinační posuny ($\Delta\delta = \delta_{\text{komplex}} - \delta_{\text{ligand}}$; ppm) pro komplexy s ligandy typu L4X

¹ H NMR				¹³ C NMR				
K	N9H	C2H	C8H	C2	C4	C5	C6	C8
7 cis	1,50	0,72	0,68	0,63	0,93	-2,77	-1,17	4,17
7 trans	0,97	0,11	0,10	-0,26	0,93	-2,77	-1,36	3,64
8 cis	n.d.	-	0,02	-2,27	-1,02	-1,37	0,47	1,05
8 trans	n.d.	-	0,02	-2,51	-1,24	-1,92	0,09	1,02
9	-0,04	-0,03	-0,10	1,21	-1,39	-1,86	0,17	1,35
10	0,91	-	-0,06	-1,38	-1,15	-1,54	-1,02	1,11
11	-	0,41	-	-1,30	-0,28	-3,41	-2,55	0,85
12	0,77	0,02	0,02	1,04	-0,15	-1,85	-0,43	1,25
13	n.d.	-	0,02	-2,79	-1,38	-1,93	-1,02	2,91
14	-0,04	-0,17	-0,19	1,02	n.d.	n.d.	-1,30	1,33
15	n.d.	0,15	-0,04	-1,79	-1,2	n.d.	n.d.	1,28

Tabulka 8: ^1H a ^{13}C koordinační posuny ($\Delta\delta = \delta_{\text{komplex}} - \delta_{\text{ligand}}$; ppm) pro komplexy s ligandy typu L5X

^1H NMR							
K	N9H	C2H	C8H	C2	C4	C5	C6
16 cis	-0,36	-	-0,02	1,87	0,14	-0,31	0,59
16 trans	-0,36	-	-0,28	1,87	0,26	-0,67	0,14
17	-	-0,16	-0,20	1,10	0,26	-0,67	0,43
18	-0,35	-	-0,19	1,96	0,17	0,24	1,23
19	n.d.	-0,24	-0,14	1,09	0,12	-0,74	0,44
20	n.d.	-	-0,20	1,38	0,19	-0,85	0,63
21	n.d.	-	-0,23	1,32	0,49	-0,53	n.d.

Tabulka 8: ^1H a ^{13}C koordinační posuny ($\Delta\delta = \delta_{\text{komplex}} - \delta_{\text{ligand}}$; ppm) pro komplexy s ligandy typu L6X

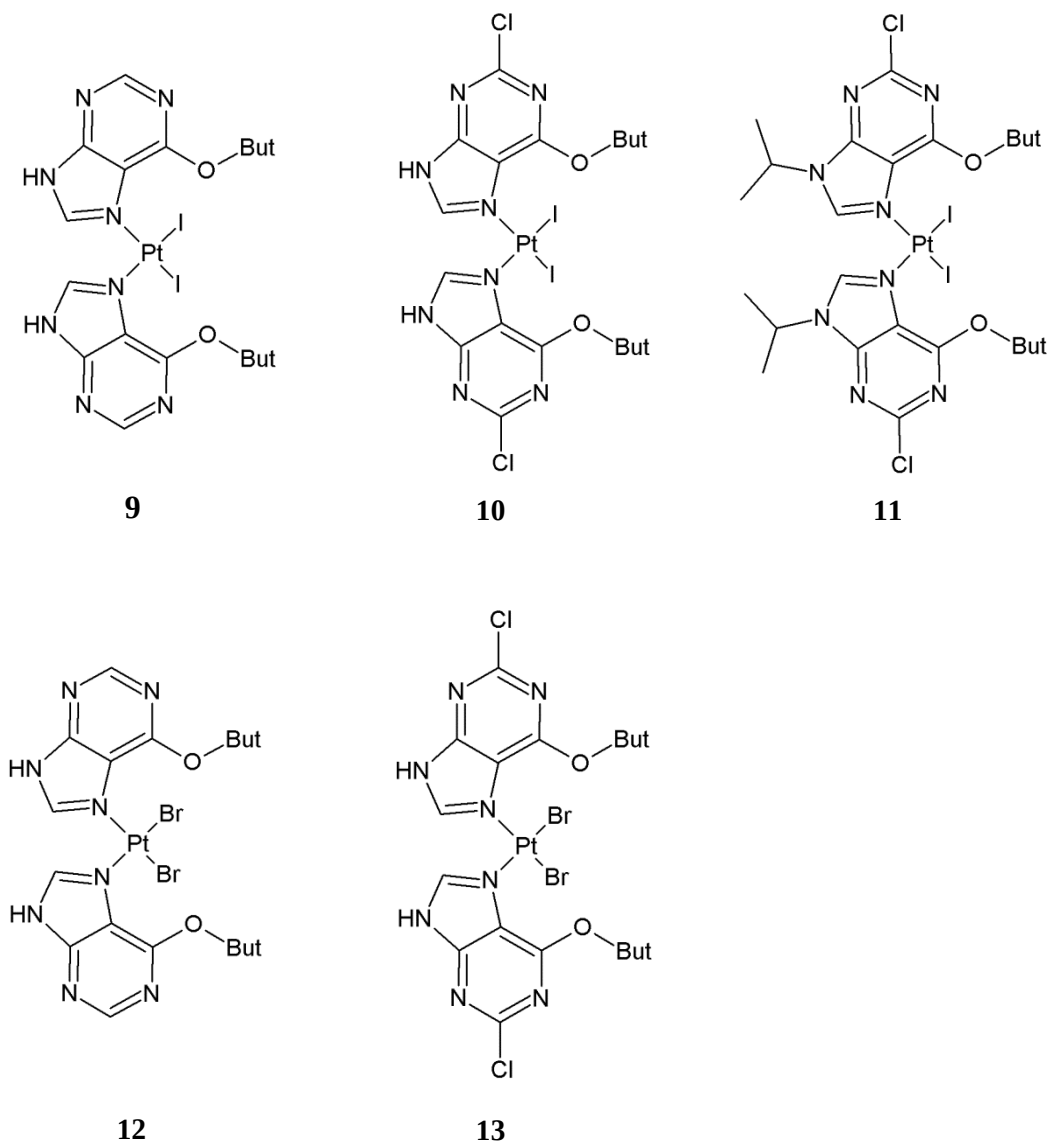
^{13}C NMR							
K	N9H	C2H	C8H	C2	C4	C5	C6
22	n.d.	0,04	-0,08	0,33	-0,34	-0,58	n.d.
23	n.d.	-	0,11	0,46	-0,82	-1,46	n.d.

4.3. IN VITRO TESTY CYTOTOXICITY NA LIDSKÝCH NÁDOROVÝCH BUŇKÁCH

Pro *in vitro* testování cytotoxicity na MCF7 a HOS nádorových liniích byly vybrány připravené komplexy **9** – **13** zobrazené na Obr. 46. Konkrétně se jednalo o skupinu látek

obecného složení cis -[PtI₂(L)₂] a cis -[PtBr₂(L)₂] obsahující na platinové centrum vázaný ligand L4X. Spektrum vybraných látek mělo demonstrovat, jaký vliv může mít různá substituce konkrétního použitého derivátu hypoxantinu jako ligandu a dále, jaké je případné možné ovlivnění cytotoxicity komplexu v závislosti na použité odstupující skupině ve formě jiného halogenu než chloru (*in vitro* testovány 3 deriváty diiodido a 2 deriváty dibromido). Připravené dichlorido komplexy nebyly pro testování vybrány, protože se nepodařilo připravit látky izomericky čisté, a oxalato komplexy vykazovaly velmi nízkou rozpustnost v běžných organických rozpouštědlech.

Výsledky testování bohužel prokázaly, že vybrané látky jsou vůči nádorovým liniím neaktivní do koncentrace 50 μ mol ($IC_{50} > 50mM$).

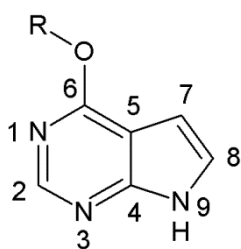


Obr. 46 Komplexní sloučeniny vybrané pro *in vitro* testování na vybraných nádorových liniích

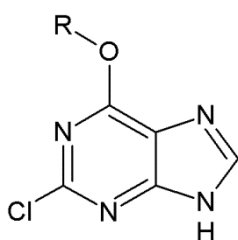
5. ZÁVĚR

Byla vypracována literární rešerše na téma komplexních sloučenin platiny se zaměřením na celosvětově rozšířená léčiva, léčiva užívaná lokálně i látky, které vykazují zajímavé vlastnosti a v současné době jsou v některé z fází klinického testování. Dále byla vypracována literární rešerše na téma hypoxantin a jeho deriváty s důrazem na syntetické postupy.

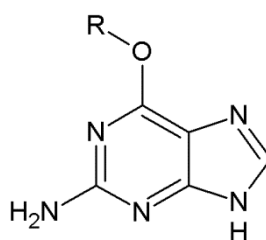
Na základě provedené rešerše byly připraveny deriváty hypoxantinu, ve formě 4 řad ligandů, lišících se substitucí na uhlíku C2 a dusíku N9 (Obr. 43 - 46). Jednotlivé ligandy v příslušných ligandových řadách se lišily také typem uhlovodíkového zbytku navázaného na atom kyslíku O6. Celkem bylo připraveno devatenáct ligandů, z nichž byly na základě rozdílné substituce na kyslíku vybrány ligandy obsahující vázanou skupinu methylovou, butylovou, allylovou a benzylovou.



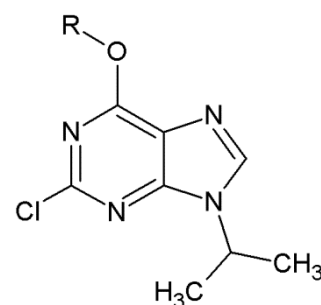
Obr. 47 Ligandy řady A



Obr. 48 Ligandy řady B

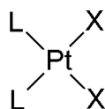


Obr. 49 Ligandy řady C

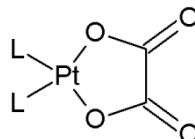


Obr. 50 Ligandy řady D

Vybrané ligandy byly následně použity pro syntézu planárních komplexů platiny strukturních typů $cis-[PtX_2(L)_2]$ (Obr. 48) a $[Pt(ox)(L)_2]$ (Obr. 49) ($X = Cl, Br, I$; H_2ox = kyselina šťavelová). Jako výchozí látky pro přípravu komplexních sloučenin byly použity $K_2[PtCl_4]$ a $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2H_2O$



Obr. 48 $cis-[PtX_2(L)_2]$

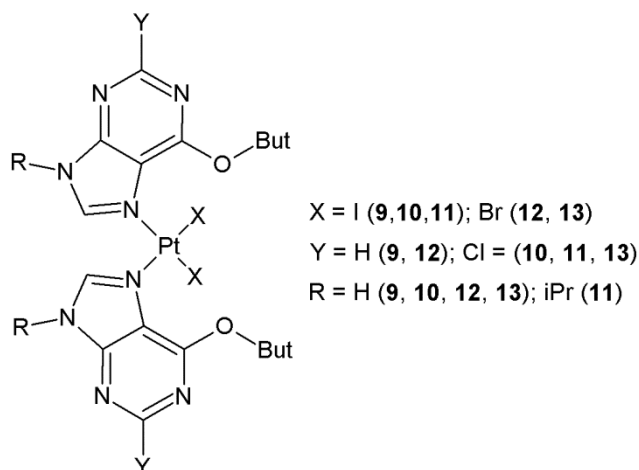


Obr. 49 $[Pt(ox)(L)_2]$

Celkem se podařilo připravit 23 komplexů. Z toho pět komplexů bylo strukturního typu $[PtCl_2(L)_2]$, dále pak šest komplexů strukturního typu $[PtI_2(L)_2]$, čtyři komplexy strukturního typu $[PtBr_2(L)_2]$ a v neposlední řadě osm komplexů typu $[Pt(ox)(L)_2]$. Složení produktů

syntéz bylo předpokládáno na základě výsledků fyzikálně-chemických analýz (EA, MS, IR, NMR, TA).

Pro *in vitro* testy cytotoxicity na vybraných nádorových liniích (konkrétně MCF7, HOS) bylo vybráno pět komplexů (**9** – **13**) obecného strukturního typu *cis*-[PtI₂(L)₂] a *cis*-[PtBr₂(L)₂]; komplex **9**: X = I, L = L4A; **10**: X = I, L = L4B; **11**: X = I, L = L4D; **12**: X = Br, L = L4A; **13**: X = Br, L = L4B.



Obr. 50 Obecné schéma struktur zvolených pro *in vitro* testování cytotoxicity

Výsledky *in vitro* testování na nádorových liniích MCF7 a HOS bohužel ukázaly, že testované vybrané komplexy jsou neaktivní ve měřeném koncentračním intervalu. Hodnoty IC₅₀ všech testovaných látek přesahovaly 50 μmol. Přesto jsou komplexy zajímavé, jelikož látky tohoto typu (kombinace derivátů hypoxantinu s deriváty ciplatiny a oxaliplatiny) ještě nebyly připraveny.

5. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AGT	O6-guanin-DNA alkyltransferázy
BCNU	karmustin
cbdca	cyklobutan-1, 1'-dikarboxylová kyselina
cbdc	cyklobutan-1,1'-dikarboxylátová skupina
CCNU	lomustin
CDK	cyklin-dependentní kinázy
DCIP	2,6-dichlor-N9-isopropylpurin
DMF	N, N'- dimethylformamid
DMSO	N, N'- dimethylsulfoxid
DNA	2-deoxyribonukleová kyselina
DTIC	dakarbazin
EA	elementární analýza
HER-2/neu-	metastatická nádorová linie nádoru prsu.
HOS	nádorové linie osteosarkomu
IC ₅₀	koncentrace, kdy dochází k 50% inhibici dané biologické aktivity
IR	infračervená spektroskopie
L	ligand
MCF7	nádorové linie rakoviny prsu
MIC	minimum inhibitor concentration
MS	hmotnostní spektrometrie
NMR	nukleární magnetická rezonance
NU2085	O ⁶ -cyklohexylmethylguanin
ox	oxalát, H ₂ ox = kyselina šťavelová
O ⁶ -BG	O ⁶ -benzylguanin
RNA	ribonukleová kyselina
TA	termická analýza
TMZ	temozolamid
2-A-6-ClP	2-amino-6-chlorpurin
2-ClP	2-chlorpurin
2,6-dClP	2,6-dichlorpurin

6. LITERATURA

1. Gielen M., Tiekink E. R. T.: *Metallotherapeutic Drugs and Metal-based Diagnostic Agents*, Eley, 2005. ISBN: 0-470-86403-6
2. Crichton R. R.: *Biological Inorganic Chemistry*, Elsevier, 2012. ISBN: 987-0-444-53782-9
3. Cleare M. J., et. al.: *Coord. Chem. Rev.* 12, (1974) 349 – 405.
4. Kelland L. R.: *Critical Rev. in Oncology/Hematology* 15, (1993) 191 – 219.
5. Gielen M., Tiekink E. R. T.: *Metallotherapeutic Drugs and Metal-based Diagnostic Agents*, Eley, 2005. ISBN: 0-470-86403-6
6. Sadler P. J., Guo Z.: *Pure and Appl. Chem.* 70, 1998.
7. McMurry J.: *Organická Chemie*, VUTIUM, 2007. ISBN: 978-80-7080-637-1
8. Lagraverend D. S., Grierson D. S.: *Bioorg. Med. Chem.* 14, (2006) 3987 – 4006.
9. Greenwood N. N., Ernschaw A.: *Chemie prvků II*, Informatorium, Praha 1993. ISBN: 80-85427-38-9
10. Boča R.: *Chémia koordinačných zlúčenin*, STU, 2009. ISBN: 978-0-470-68196-1
11. Kameníček J., Šindelář Z., Pastorek R., Kašpárek F.: *Anorganická chemie*, Olomouc UPOL 2006. ISBN: 80-244-1290-X
12. Lippard S. J.: *Metals in Medicine In Bioinorganic Chemistry*. Bertini, I., Gray, H. B., Lippard, S. J., Valentine, J., Eds.; University Science Books, Sausalito, 1994; pp 505-583.
13. Dabrowiak J.C.: *Metals in Medicine*. Wiley, 2009. ISBN: 978-0-470-68196-1
14. Waxelbatt E., Gibson D.: *Journal of Inorganic Biochemistry* 117, (2012) 220-229.
15. Desozie B., Madoulet C.: *Critical Rev. in Oncology/Hematology* (2002).
16. Passeto L. M., D'Andrea M. R., Brandes A. A., Rossi E., Monfardini S.: *Critical Rev. in Oncology/Hematology* 60, (2006).
17. E., Alessio: *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH, 2011. ISBN: 978-3-527-32631-0.
18. Schwietert C. W., McCue J.P.: *Coord. Chem. Rev.* 184, (1999).

19. Wang Y., Chiu J. *Metal Based Drugs*. 2008.
20. TEVA, Příbalová informace
21. <http://www.netdoctor.co.uk/liver-and-kidney-problems/medicines/mannitol-intravenous-infusion-bp.html>. (7.12.2013)
22. <http://www.drugs.com/cdi/mannitol.html>. (7.12.2013)
23. Kelland L. R., Farrell N. P.: *Platinum-Based Drugs in Cancer Therapy*. Humana Press, 2000. ISBN: 978-1-59259-012-4.
24. <http://www.healthline.com/galecontent/antiemetics>. (7.12.2013)
25. <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/periferni-neuropatie-387155>. (28.10.2013)
26. <http://lekarske.slovniky.cz/lexikon-pojem/myelosuprese>. (28.10.2013)
27. <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Antibiotika>. (7.12.2013)
28. Riccardi A., Ferlini C., Meco D., Mastraneglo R., Scambia G., Riccardi R.: *European Journal of Cancer*. 36, (1999).
29. Timerbaev A. R., Hartinger Ch. G. Aleksenko S. S., Keppler B. K.: *Chem. Rev.*106, (2006).
30. <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/ototoxicky>. (28.10.2013)
31. Lebwohl D., Canetta R. *European Journal of Cancer* 34, (1998), 1522-1534.
32. Kavanagh J. J. et. al.: *Gynecologic Oncology* 58, (1995). 106-109.
33. <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-help/about-cancer/treatment/cancer-drugs/paclitaxel>. (30.10.2013)
34. Casagrande N., De Paoli M., Celegato M., Borghese C., Mongiat M., Colombatti A., Aldinucci D.: *Gynecologic Oncology* 131, (2013). 744-752.
35. <http://lekarske.slovniky.cz/lexikon-pojem/angiogeneze>. (17.2.2014)
36. <http://lipoplatin.com/encapsulation.html>. (17.2.2014)
37. <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-help/about-cancer/treatment/cancer-drugs/vinorelbine>. (17.2.2014)

38. Heffeter P., Jungwirth U., Jakupec M., Hartinger Ch., Galanski M., Elbing L, Micksche M., Keppler B., Berger W.: *Drug Resistance Updates*, 11 (2008). 1-16.
39. Eckard J. R., Bentsion D. L., Lipatov O. N., Polyakov I., S., MacKintosh F. R., Karlin D. A., Baker G. S., Breitz H. B.: *Journal of Clinical Oncology*, 27, (2009). 2046-2051
40. Farrer N. J., Woods J. A., Salassa L., Zhao Y., RObinson K. S., Clarkson G., Mackay F. S., Sadler P. J. *Angew. Chem. Ind. Ed.* 49, (2010). 8905 – 8908
41. Farrer N. J., Woods J. A., Munk P. V., Mackay F. S., Sadler P. J.: *Chem. Res. Toxicol.*, 23, (2010). 413-421
42. Pracharova J., Zerzankova L., Stepankova J., Novakova O., Farrer N. J., Sadler P. J., Brabec V., Kasparkova J.: *Chem. Res. Toxicol.*, 25,(2012). 1099-1111
43. Volckova E., Weaver E., Bose N. R. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43, (2008). 1081-1084
44. <http://www.thefreedictionary.com/therapeutic+index>. (7.12.2013)
45. <http://nobelprize.org/chemistry/laureates/1902/fischer-bio>. (7.12.2013)
46. Lister, J. H. a Fenn, M. D.: *The Purines*, Supplementary 1. John-Wiley & Sons, 54, (1996).
47. <http://lekarske.slovníky.cz/lexikon-pojem/mastocytoza-1> (19.11.2013).
48. <http://www.news-medical.net/health/Ribavirin-What-is-Ribavirin.aspx>. (7.12.2013)
49. Liu Ke, Liao X., Zhou B., Yao H., FAn S., Chen P., Miao D.: *Research in Veterinary Science*, 95, (2013). 950-956
50. <http://www.medicinenet.com/interferon/article.htm>. (17.2.2014)
51. http://jac.oxfordjournals.org/content/48/suppl_1/5.short. (7.12.2013)
52. Furet P.: *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agent* 3, (2003).
53. Knockaer M., Greengard P., Meijer L.: *Trends Pharmacol. Sci.* 23, (2002). 417
54. Arris Ch. E., et. al.: *J. Med. Chem.*, 43, (2000). 2797 - 2804
55. Davies G., Pratt D. J., Endicott J. A., Johnson L. N., Noble M. E. M.: *Pharmacology and Therapeutics*, 93, (2002). 125-133
56. Dia Y., Grant S.: *Current Oppinion in Pharmacology*, 3, (2003). 362-370

57. Harrison L. R. E., Ottley Ch. J., Roche C., et al.: *Biochem Pharmacol*, 77, (2009). 1586
58. Rabik C. A., Njoku M. Ch., Dolan M. E.: *Cancer Treatment Reviews*, 32, (2006). 261-276
59. McElhinney R. S., et. al. *J. Med. Chem.*, 41, (1998). 5265-5271.
60. Chae M. J., Swenn K., Kanugula S., Dolan M. E., Pegg A. E., Moschel R. C.: *J. Med. Chem.*, 38, (1995). 359-365.
61. <http://www.princeton.edu/~achaney/tmve/wiki100k/docs/Hypoxanthine.html>. (27.2.2014)
62. <http://www.mayomedicallaboratories.com/testcatalog/Clinical+and+Interpretive/80313>. (27.2.2014)
63. Harrison R. E., Ottley Ch. J., Pearson D. G., Roche C., Wedge S. R., Dolan M. E., Newell D. R., Tilby M. J.: *Biochemical Pharmacology*, 77, (2009). 1586-1592
64. Vokolka K., Tkadlecová M., Záruba K.: *Příklady z analytické chemie pro bakaláře, 1. vyd.* Praha : VŠCHT , 2006. ISBN: 80-7080-610-9.
65. Nakamoto, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Part B: Applications in Coordination, Organometallic and Bioinorganic Chemistry.* New York : John Wiley & Sons Ltd., 1991.
66. Gibson A. E., Arris Ch. E., Bentley J., Boyle F. T., Curtin N. J., Davies T. G., Endicott J. A., Golding B. T., Grant S., Griffin R. J., Jewsbury P., Johnson L. N., Mesguiche V., Newell D. R., Noble M. E. M., Tucker J. A., Whitfield H. J.: *J. Med. Chem*, 45, (2002). 3381 - 3393
67. Štarha P., et al.: *Journal of Inorganic Biochemistry*, 104, (210). 639-647)
68. Rochon F. D., Massarweh G.: *Inorganica Chimica Acta*, 359, (2006). 4095-4104
69. Szučová L. et. al.: *Polyhedron*, 27, (2008). 2710-2720
70. Dhara S. C.: *Indian J. Chem.*, 8, (1970). 193
71. Lippard S. J.: *Metals in Medicine In Bioinorganic Chemistry.* Bertini, I., Gray, H. B., Lippard, S. J., Valentine, J., Eds.; University Science Books, Sausalito, 1994; pp 505-583.
72. Szučová L., Trávníček Z., Popa I., Marek J.: *Polyhedron*, 27, (2008). 2070-20720

73. Zheng Q. H., Liu X., Fei X., Wang J. Q., Ohannesian D. W., Erickson L. C., Stone K. L., Hutchins G. D. *Nuclear Medicine and Biology*, 30, (2003). 405-415.
74. Vesely J., Havlicek L.: Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues. *European Journal of Biochemistry*. (1994). Sv. 224, 771-786.
75. Gibson, Ashleigh E., Whitfield E., Hayley J.: *Journal of Medicinal Chemistry*, 45, (2002). 3381-3393
76. Oh C.H., Lee S. C., Lee K. S., Woo E. R., Hong C. Y., Yang B. S., Baek D. J., Cho J. H., *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 332, (1999). 187
77. Geary W. J.: *Coord. Chem. Rev.* (1970). 82-122