

UŽITNÝ VZOR

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2009 - 21140**
(22) Přihlášeno: **22.04.2009**
(47) Zapsáno: **08.06.2009**

(11) Číslo dokumentu:

19706

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

C07F 15/00 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61K 31/282 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(73) Majitel:
Univerzita Palackého, Olomouc, CZ

(72) Původce:
Štarha Pavel Mgr., Rovečné, CZ
Trávníček Zdeněk Prof. RNDr. PhD., Štěpánov, CZ
Popa Igor Mgr. CSc., Olomouc, CZ

(74) Zástupce:
Ing. Petr Soukup, Vídeňská 8, Olomouc, 77200

(54) Název užitého vzoru:
Oxalátokomplexy platiny s deriváty N6-benzyladeninu

CZ 19706 U1

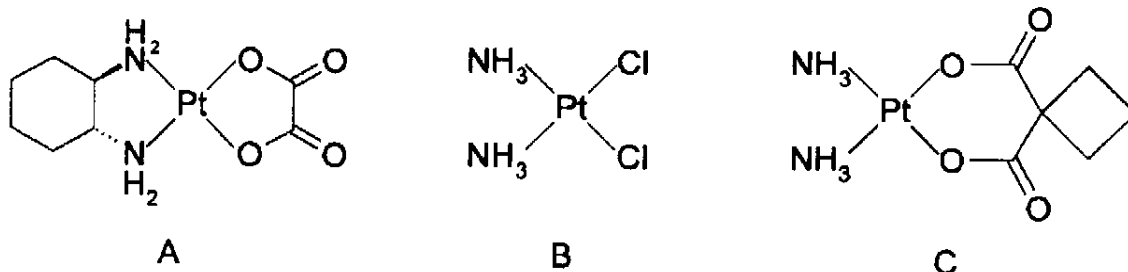
Oxalátokomplexy platiny s deriváty N6-benzyladeninu

Oblast techniky

- Předložené technické řešení, spadající do oblasti léčiv nádorových onemocnění na bázi platiny, se týká oxalátokomplexů platiny s deriváty N6-benzyladeninu s popisem způsobu jejich přípravy vycházejícího z $M_2[Pt(ox)_2] \cdot xH_2O$, kde M je atom H, K, nebo Na, a jejich použití v lékařské praxi jako léčiv a farmaceutických kompozic, které tyto komplexy obsahují jako účinnou látku.

Dosavadní stav techniky

- Oxalátokomplexy platiny představují významnou skupinu látek, jež má díky [(1R,2R)-1,2-diaminocyklohexan-N,N']-(oxaláto-O,O')-platnatému komplexu (*oxaliplatina*) obecného vzorce (A) využití v praxi. Společně s *cis*-diamindichlorido-platnatým komplexem (*cisplatin*) obecného vzorce (B) a diamin-1,1'-cyklobutandikarboxyláto-platnatým komplexem (*karboplatina*) obecného vzorce (C) patří mezi léčiva na bázi platiny užívané jako účinné složky farmaceutických kompozic v protinádorové terapii.



- Syntéza *oxaliplatiny* je popsána např. v (Kidani, Y.; Inagaki, K. *J. Med. Chem.*, 1978, 21, 1315-1318), patentu US 4 169 846 nebo patentu CZ 294 668 a zahrnuje tři základní kroky znázorněné ve schématu 1,

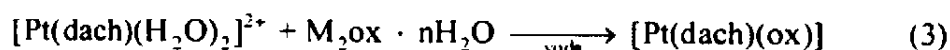
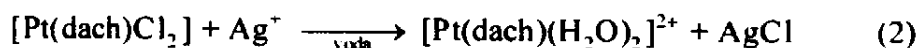
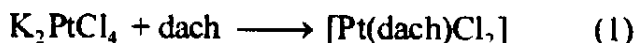


Schéma 1

- kde rovnice

- (1) je příprava *cis*-[Pt(dach)Cl₂] reakcí tetrachloroplatnatu draselného, K₂PtCl₄, s (1R,2R)-1,2-diaminocyklohexanem (dach) ve vodném prostředí,
- (2) je reakce připraveného *cis*-[Pt(dach)Cl₂] se stříbrnou solí anorganické kyseliny (např. AgNO₃) ve vodě za vzniku diaqua-komplexu typu *cis*-[Pt(dach)(H₂O)₂]²⁺,
- (3) je reakce *cis*-[Pt(dach)(H₂O)₂]²⁺ s kyselinou šťavelovou nebo alkalickým šťavelanem ve vodě, čímž je získán finální produkt o složení [Pt(dach)ox].

- Předložené platnaté oxalátokomplexy s deriváty N6-benzyladeninu (L) navazují na dříve publikované komplexy platiny obecného složení *cis*-[Pt(L)₂Cl₂], ve kterých jsou jako odstupující ligandy vázány chloridové ionty, jak je popsáno v publikacích (Trávníček, Z.; Maloň, M.; Zatloukal, M.; Doležal, K.; Strnad, M.; Marek, J. *J. Inorg. Biochem.* 2003, 94, 307-316; Maloň, M.; Trávníček, Z.; Marek, R. Strnad, M. *J. Inorg. Biochem.* 2005, 99, 2127-2138; Szüčová, L.; Trávníček, Z.; Zatloukal, M.; Popa, I. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 479-491; Szüčová, L.; Trávníček, Z.

Popa, I.; Marek, J. *Polyhedron* 2008, 27, 2710-2720). Konkrétně byly použity následující deriváty N6-benzyladeninu: 2-chlor-N6-benzyl-9-isopropyladenin (L1), 2-chlor-N6-(2-methoxybenzyl)-9-isopropyladenin (L2), 2-chlor-N6-(4-methoxybenzyl)-9-isopropyladenin (L3), 2-(R)-(1-ethyl-2-hydroxyethylamino)-N6-benzyl-9-isopropyladenin (*roskovitin*; L4), 2-(3-hydroxypropyl-amino)-N6-benzyl-9-isopropyladenin (*bohemin*; L5), 2-(2-hydroxyethylamino)-N6-benzyl-9-methyladenin (*olomoucín*; L6), 2-(2-hydroxyethylamino)-N6-benzyl-9-isopropyladenin (*isopropylolomoucín*; L7), 2-(R)-(1-ethyl-2-hydroxyethylamino)-N6-(3-hydroxybenzyl)-9-isopropyladenin (L8), 2-(R)-(1-isopropyl-2-hydroxyethylamino)-N6-(3-hydroxybenzyl)-9-isopropyladenin (L9).

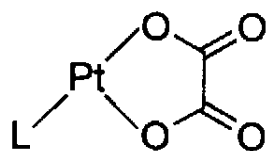
Uvedené organické sloučeniny jsou odvozeny od rostlinného hormonu 6-benzylaminopurinu (N6-benzyladeninu) popsaného v patentu CZ 294 535. Deriváty s rozličnými aminoalkoholy v poloze C2 purinového cyklu a s alkylovými substituenty v poloze N9 purinového skeletu patří do skupiny inhibitorů cyklin dependentních kináz (CDK-inhibitory), u kterých byla zjištěna výrazná *in vitro* i *in vivo* cytotoxická aktivita, což je popsáno v (Meijer, L.; Borgne, A.; Mulner, O.; Chong, J.P.J.; Blow, J.J.; Inagaki, N.; Inagaki, M.; Delcros, J.G.; Moulinoux, J.P. *Eur. J. Biochem.* 1997, 243, 527-536) nebo patentu US 6 703 395. Zástupce této skupiny organických látek - *roskovitin* - je v současné době v 2b fázi klinických testů na pacientech trpících plicním karcinomem, viz publikace (Benson, C.; Kaye, S.; Workman, P.; Garret, M.; Walton, M.; de Bono, J. *Br. J. Cancer* 2005, 92, 7-12). Na druhou stranu uvedené deriváty N6-benzyladeninu s atomem chloru v poloze C2 purinového cyklu do skupiny CDK-inhibitorů většinou nepatří, a jejich *in vitro* cytotoxická aktivita je obecně výrazně nižší. Analogicky, platnaté komplexy obecného složení *cis*-[Pt(L)₂Cl₂] s CDK-inhibitory na bázi N6-benzyladeninu koordinovanými na centrální Pt(II) ion, vykazují vysokou *in vitro* cytotoxickou aktivitu. Naopak, pokud je v těchto komplexech na centrální Pt(II) ion koordinován cytotoxicky inaktivní N-donorový ligand na bázi N6-benzyladeninu substituovaný atomem chloru v poloze C2 purinového cyklu, byly i dosud připravené komplexy typu *cis*-[Pt(L)₂Cl₂] cytotoxicky inaktivní. Nejaktivnějším doposud připraveným platnatým komplexem s derivátem N6-benzyladeninu je *cis*-[Pt(L₄)₂Cl₂], L₄ = *roskovitin*, s hodnotami IC₅₀ rovnajících se 1 μM na lidských nádorových buněčných liniích maligního melanomu (G-361), osteogenního sarkomu (HOS) a chronické myelogenní leukemie (K562). *Roskovitin* má v obdobném testu na uvedených nádorových liniích hodnoty IC₅₀ = 19, 20, resp. 50 μM, *cisplatin* 3, 3, resp. 5 μM, a *oxaliplatin* 7, 7, resp. 8 μM, viz publikace (Maloň, M.; Trávníček, Z.; Marek, R. *Strnad, M. J. Inorg. Biochem.* 2005, 99, 2127-2138).

Dosud byly připravené platnaté oxalátokomplexy s různými N-donorovými ligandy, např. se substituovaným 1,2-diaminocyklohexanem, jak je popsáno ve spise WO 03/106469 nebo stati (Habala, L.; Galanski, M.; Yasemi, A.; Nazarov, A.A.; von Keyserlingk, N.G.; Keppler, B.K. *Eur. J. Med. Chem.* 2005, 40, 1149-1155), s amoniakem, viz (Rochon, F.D.; Melanson, R.; Macquet, J.P.; Belanger-Gariepy, F.; Beauchamp, A.L. *Inorg. Chim. Acta*, 1985, 108, 1-6), se substituovanou akridin oranží, viz (Bowler, B.E.; Ahmed, K.J.; Sundquist, W.I.; Hollis, L.S.; Whang, E.E.; Lippard, S.J. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 1299-1306), s ethylen-1,2-diaminem (Battle, A.R.; Deacon, G.B.; Dolman, R.C.; Hambley, T.W. *Aust. J. Chem.*, 2002, 55, 699), s bis(hydroxyethyl)ethylen-1,2-diaminem (Xu, Q.; Khokhar A.R.; Bear, J.L. *Inorg. Chim. Acta*, 1990, 178, 107-111), 1,4-diaminocyklohexanem (Shamsuddin, S.; Takahashi, I.; Siddik, Z.H.; Khokhar, K.H. *J. Inorg. Biochem.* 1996, 61, 291-301), se substituovaným 2-methylthioalkylimidazolem a 2-methylthioalkylpyridinem (patent WO 2007/085957 A1), hexamethyleniminem (Ali, M.S.; Thurston, J.H.; Whitmire, K.H.; Khokhar, K.H. *Polyhedron* 2002, 21, 2659-2666), s piperidinem a jeho deriváty (Mukhopadhyay, U.; Thurston, J.H.; Whitmire, K.H.; Siddik, Z.H.; Khokhar, K.H. *J. Inorg. Biochem.* 2003, 94, 179-185, Ali Khan, S.R.; Guzman-Jimenez, I.; Whitmire, K.H.; Khokhar, K.H. *Polyhedron* 2000, 19, 975-981, Ali Khan, S.R.; Guzman-Jimenez, I.; Whitmire, K.H.; Khokhar, K.H. *Polyhedron* 2000, 19, 983-989, Sen, V.D.; Golubev, V.A.; Volkova, L.M.; Konovalova, N.P. *J. Inorg. Biochem.* 1996, 64, 69-77), s morfolinoethylaminem (Chen, X.; Xie, M.; Liu, W.; Ye, Q.; Yu, Y.; Hou, S.; Gao, W.; Liu, G. *Inorg. Chim. Acta* 2007, 360, 2851-2856), s histaminem (Chen, X.Z.; Ye, O.S.; Lou, L.G.; Xie, M.J.; Liu, W.P.; Yu, Y.; Hou, S.Q. *Arch. Pharm.*, 2008, 341, 132-136), s homopiperazinem (Ali, M.S.; Powers, C.A.; Whitmire, K.H.; Guzman-Jimenez, I.; Khokhar, A.R. *J. Coord. Chem.*, 2001, 52, 273-287), nebo s 2-aminoalkoholy (Meelich, M.; Galanski, M.; Arion, V.B.; Keppler, B.K. *Eur. J.*

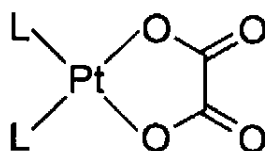
Inorg. Chem. 2006, 2476-2483). Přípravy veškerých výše uvedených platnatých oxalátokomplexů vychází z přípravy *oxaliplatinu* popsané výše. Některé z těchto komplexů pak byly podrobeny *in vitro* testům cytotoxické aktivity na různých nádorových liniích a např. některé z komplexů se substituovaným 1,2-diaminocyklohexanem předčily svoji cytotoxicitou *oxaliplatinu*. Oxalátokomplexy s ethylen-1,2-diaminem, *trans*-3,4-diamino-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxylem, nebo 1-methyl-4-(methylamino)piperidinem pak byly v *in vitro* testech aktivnější, než analogické platnaté komplexy s jinou odstupující skupinou, než je oxalát.

Podstata technického řešení

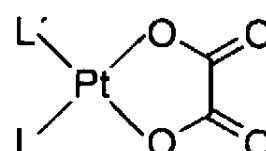
Oxalátokomplexy platiny v oxidačním stupni +II a jejich krystalosolváty zahrnující strukturní motiv (I) nebo obecného vzorce (II) vyjádřeného strukturním vzorcem $[Pt(L)_2(ox)]$ nebo obecného vzorce (III) vyjádřeného strukturním vzorcem $[Pt(L)(L')(ox)]$, kde symboly L a L' představují deriváty N6-benzyladeninu obecného vzorce (IV) vázaného na atom platiny základního motivu (V)



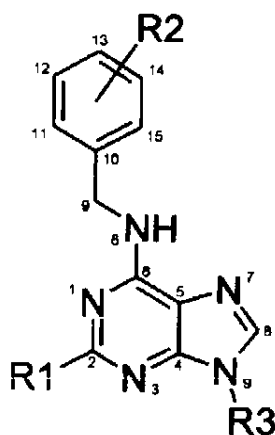
(I)



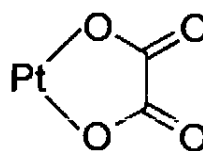
(II)



(III)



(IV)



(V)

přes libovolný atom dusíku adeninu nezávisle vybraný z atomů N1, N3, N6, N7 nebo N9, v závislosti na míře substituce molekul, kde jsou substituenty R1, R2 a R3 nezávisle vybrány ze skupiny:

atom vodíku, halogen, alkyl, substituovaný alkyl, alkenyl, substituovaný alkenyl, alkynyl, substituovaný alkynyl, cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, cykloheteroalkyl, substituovaný cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, substituovaný cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl, aryl, substituovaný aryl, heteroaryl, substituovaný heteroaryl, funkční skupina a N-R'R'' skupina, v níž R' a R'' nezávisle na sobě symbolizují atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, alkenyl, substituovaný alkenyl, alkynyl, substituovaný alkynyl, cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, cykloheteroalkyl, substituovaný cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, substituovaný cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl, aryl, substituovaný aryl, heteroaryl, substituovaný heteroaryl a funkční skupinu, kde termín:

- *halogen*
představuje atom fluoru, bromu, chloru, nebo jodu,
- *alkyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlo-
5 díkový řetězec z až 18, především pak z 1 až 8 atomů uhlíku,
- *alkenyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovo-
díkový řetězec z až 18, především pak ze 2 až 8 atomů uhlíku obsahující alespoň jednu dvojnou
vazbu mezi atomy uhlíku,
- 10 - *alkynyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovo-
díkový řetězec z až 18, především pak ze 2 až 8 atomů uhlíku obsahující alespoň jednu trojnou
vazbu mezi atomy uhlíku,
- *cykloalkyl*
15 jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cyklický uhlovodík ze 3 až 12, přede-
vším pak ze 3 až 8 atomů uhlíku, a to včetně kondenzovaných cyklů nezávisle vybraných ze
skupiny cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, aryl a heteroaryl,
- *cykloheteroalkyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cykloalkyl s alespoň jedním atomem
20 uhlíku zaměněným za heteroatom ze skupiny dusík, kyslík, nebo síra,
- *cykloalkenyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cykloalkyl obsahující alespoň jednu
dvojnou vazbu mezi atomy uhlíku,
- *cykloheteroalkenyl*
25 jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cykloheteroalkyl obsahující alespoň
jednu dvojnou vazbu mezi dvěma atomy uhlíku, atomem uhlíku a heteroatomem, nebo dvěma
heteroatomy,
- *aryl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje skupinu obsahující alespoň jeden aro-
30 matický kruh,
- *heteroaryl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje pěti- až dvanáctičlenný, především pak
pěti- až šestičlenný aromatický kruh s alespoň jedním atomem uhlíku zaměněným za hetero-
atom ze skupiny dusík, kyslík, nebo síra, a to heteroarylu kondenzovaného s jedním nebo více
35 cykly nezávisle vybranými ze skupiny cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cyklohetero-
alkenyl, aryl a heteroaryl,
- *funkční skupina*
jako taková nebo jako součást jiné skupiny představuje amino, alkylamino, dialkylamino, alke-
nylamino, cykloalkylamino, cykloheteroalkylamino, cykloalkenylamino, cykloheteroalkenyl-
40 amino, arylamino, heteroarylamino, acylamino, hydroxy, alkylhydroxy, alkoxy, aryloxy, kyano,
karboxy, alkylkarboxy, karboxyalkyl, arylkarboxy, karboxyaryl, hydroxyamino, acyl, nitro,
amido, nitroso, sulfonyl, sulfinyl, sulfamido, thio, alkylthio, arylthio, merkapto, karbamoyl,
- *substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl, substituovaný cykloalkyl, sub-*
stituovaný cykloheteroalkyl, substituovaný cykloalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl, sub-
45 *stituovaný aryl a substituovaný heteroaryl*
jako takové nebo jako součásti jiných skupin představují alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl,
cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, aryl a heteroaryl substituované substituenty
z množiny halogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cyklo-
heteroalkenyl, aryl, heteroaryl a funkční skupina.

Další podstatou technického řešení jsou krystalosolváty platnatých oxalátokomplexů, kde u sloučenin obecného složení $[\text{Pt}(\text{L})_2(\text{ox})] \cdot x\text{Solv}$ nebo $[\text{Pt}(\text{L})(\text{L}')(\text{ox})] \cdot x\text{Solv}$ udává (x) počet krystalových molekul, především 1 až 6, a (Solv) je konkrétní molekula použitého rozpouštědla a/nebo některá z reakčních komponent, obvykle vybraná ze skupiny voda, primární alkohol, sekundární alkohol, aceton, N,N'-dimethylformamid, dimethyl sulfoxid, chloroform, dichlormethan, acetonitril nebo diethylether, a to buď samostatně nebo v kombinaci uvedených solvátových molekul.

Nedílnou podstatou technického řešení je farmaceutický nebo farmakologický prostředek obsahující terapeuticky účinné množství platnatých oxalátokomplexů a nebo farmaceutickou kompozici těchto platnatých oxalátokomplexů s jedním či více přijatelnými nosiči a pomocnými látkami pro použití v lékařství jako léčiva pro léčbu nádorových onemocnění.

Přehled obrázků na připojených výkresech

Konkrétní příklady provedení technického řešení jsou doloženy připojenými výkresy, kde:

- obr. 1 je IR spektrum (oblast 400 až 4 000 cm^{-1} provedena technikou KBr tablet) bis(oxaláto)-platnatanu draselného dihydrátu, $\text{K}_2[\text{Pt}(\text{ox})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - viz obr. 1A a bis[2-(R)-(1-ethyl-2-hydroxyethyl)amino-N6-benzyl-9-isopropyladenin]-(oxaláto-O,O')-platnatého komplexu, $[\text{Pt}(\text{L}_4)_2(\text{ox})]$ - viz obr. 1B,
- obr. 2 je molekulová struktura komplexu $[\text{Pt}(\text{L}_2)_2(\text{ox})]$ vyřešená užitím monokrystalové rentgenové strukturní analýzy, a
- obr. 3 je znázornění průběhu termického rozkladu komplexu $[\text{Pt}(\text{L}_{12})_2(\text{ox})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ metodami termogravimetrie (TG) a diferenční termické analýzy (DTA).

Příklady provedení technického řešení

V následující části je technické řešení doloženo, nikoli však limitováno, konkrétními příklady jeho uskutečnění. Rozsah technického řešení je pak jednoznačně limitován nároky na ochranu.

V níže uvedených příkladech byly připravené látky charakterizovány následujícími fyzikálně-chemickými metodami:

- elementární analýza s procentovým zastoupením prvků C, H a N,
- měření molární vodivosti roztoků komplexů v DMF,
- infračervená spektroskopie (IR), kde oblast 400 až 4 000 cm^{-1} provedena technikou KBr tablet a oblast 150 až 600 cm^{-1} provedena Nujolovou technikou,
- nukleární magnetická rezonance (NMR) - ^1H , ^{13}C , ^{195}Pt , ^1H - ^1H gs-COSY, ^1H - ^{13}C gs-HMQC, ^1H - ^{13}C gs-HMBC a ^1H - ^{15}N gs-HMBC experimenty,
- termická analýza s metodami termogravimetrie (TG) a diferenční termické analýzy (DTA), a
- monokrystalová rentgenová strukturní analýza.

Technické řešení využívá bis(oxaláto)platnatán draselný dihydrát, $\text{K}_2[\text{Pt}(\text{ox})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, jako výchozí platnatou sloučeninu. Uvedená sůl je komerčně dostupná (Aldrich), nebo ji lze jednoduše připravit upraveným postupem (Krogmann, K.; Dodel, P., Chem. Ber. Recl., 1966, 99, 3402) reakcí tetrachloroplatnatanu draselného s pěti molárními ekvivalenty šťavelanu draselného monohydrátu podle schématu 2.

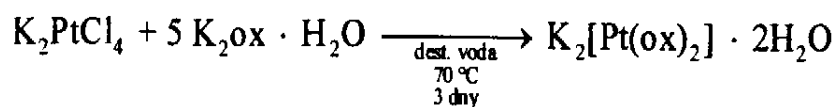


Schéma 2

Tato reakce probíhá v destilované vodě při teplotě 70 °C po dobu tří dnů. Během této doby se vytvoří světlezelený produkt, který je po odsátí a promytí 70 °C horkou destilovanou vodou rekrystalizován. Rekrystalizace poskytuje světle zelené jehlicovité krystalky $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2H_2O$.

- Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $C_4O_8K_2Pt \cdot 2H_2O$: C, 9.9 (10.1); H, 0.8 (0.9)%. IR (ν_{Nujol}/cm^{-1}): 568, 457, 375, 330, 166. IR (ν_{KBr}/cm^{-1}): 3563, 3479, 3338, 3236, 2774, 2477, 1709, 1673, 1386, 1235, 901, 826, 570, 465. ^{13}C NMR (D_2O , $SiMe_4$, ppm): δ 167.87 (C19, C20).

Příklad 1: Syntéza bis(2-chlor-N6-benzyl-9-isopropyladenin)-(oxaláto-O,O')-platnatého komplexu, $[Pt(L_1)_2(ox)]$

- Dva molární ekvivalenty (2 mmol) 2-chlor-N6-benzyl-9-isopropyladeninu (L_1) rozpuštěného v minimálním množství horkého isopropanolu byly smíchány s jedním molárním ekvivalentem (1 mmol) $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2H_2O$ rozpuštěného v minimálním množství horké destilované vody teploty 70 °C podle schématu 3.

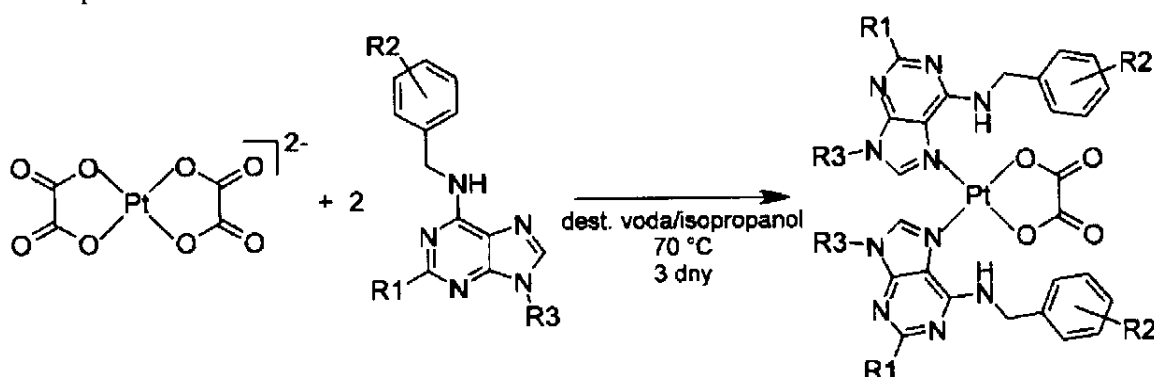


Schéma 3

Reakční směs byla míchána pod zpětným chladičem po dobu tří dnů při teplotě 70 °C. Světle šedý produkt, $[Pt(L_1)_2(ox)]$ se znázorněním včetně číslování atomů v jednotlivých molekulách podle schématu 4, který se v průběhu reakce vytvořil, byl odfiltrován, vícenásobně promyt isopropanolem a horkou destilovanou vodou a následně vysušen při teplotě 40 °C.

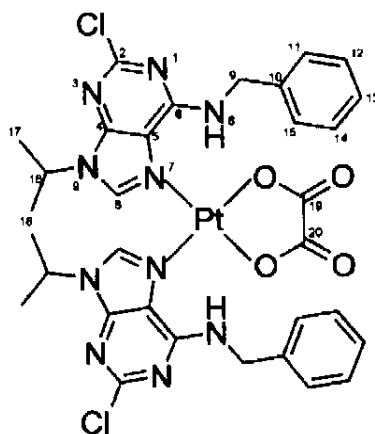


Schéma 4

- Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $C_{32}H_{32}N_{10}O_4Cl_2Pt$: C, 43.4 (42.9); H, 3.6 (3.5); N, 15.8 (15.3)%. Λ_m (DMF roztok, $S\ cm^2\ mol^{-1}$): 0.4. IR (ν_{Nujol}/cm^{-1}): 570, 541, 524, 499, 467, 453, 432, 398, 362, 335, 309, 280, 270, 227, 213. IR (ν_{KBr}/cm^{-1}): 3330, 3102, 3063, 3030, 2981, 2937, 2881, 1713, 1672, 1618, 1582, 1540, 1488, 1456, 1409, 1377, 1347, 1321, 1227, 1164, 1136, 1107, 1071, 1029, 977, 936, 889, 811, 784, 752, 721,

700, 668, 638, 600, 572, 542, 523, 490, 467, 405. ^1H NMR (DMF- d_7 , SiMe $_4$, ppm): δ 9.14 (t, 6.2, N6H, 1H), 9.00 (s, C8H, 1H), 7.48 (dd, 8.1, 1.6, C11H, C15H, 2H), 7.29 (m, C12H, C13H, C14H, 3H), 4.89 (d, 6.4, C9H, 2H), 4.84 (sep, 6.8, C16H, 1H), 1.57 (d, 6.8, C17H, C18H, 6H). ^{13}C NMR (DMF- d_7 , SiMe $_4$, ppm): δ 165.94 (C19, C20), 155.23 (C6), 153.96 (C2), 149.94 (C4), 144.31 (C8), 139.27 (C10), 129.00 (C12, C14), 128.16 (C11, C15), 127.62 (C13), 116.87 (C5), 49.84 (C16), 45.07 (C9), 21.99 (C17, C18). ^{15}N NMR (DMF- d_7 , ppm): δ 232.2 (N1), 224.3 (N3), 185.5 (N9), 128.2 (N7), 99.1 (N6). ^{195}Pt NMR (DMF- d_7 , K $_2$ PtCl $_4$, ppm): δ -1685.

Příklad 2: Syntéza bis[2-chlor-N6-(2-methoxybenzyl)-9-isopropyladenin]-(oxaláto-O,O')-platnatého komplexu, [Pt(L $_2$) $_2$ (ox)]

- 10 Dva molární ekvivalenty 2-chlor-N6-(2-methoxybenzyl)-9-isopropyladeninu (L $_2$) rozpuštěného v minimálním množství horkého isopropanolu byly smíchány s jedním molárním ekvivalentem K $_2$ [Pt(ox) $_2$] · 2H $_2$ O rozpuštěného v minimálním množství 70 °C horké destilované vody podle schématu 2. Reakční směs byla míchána pod zpětným chladičem po dobu tří dnů při teplotě 70 °C. Světle šedý produkt, [Pt(L $_2$) $_2$ (ox)] podle schématu 5,

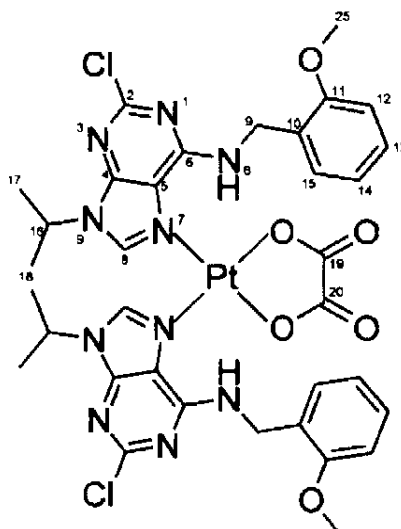


Schéma 5

- který se v průběhu reakce vytvořil, byl odfiltrován, vícenásobně promyt isopropanolem a horkou destilovanou vodou a následně vysušen při teplotě 40 °C. Rekrytalizací komplexu [Pt(L $_2$) $_2$ (ox)] v *N,N'*-dimethylformamidu byly získány krystaly vhodné pro monokrystalovou rentgenovou strukturní analýzu. Molekulová struktura komplexu [Pt(L $_2$) $_2$ (ox)] je znázorněna na obrázku 2.

- Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro C $_{34}$ H $_{36}$ N $_{10}$ O $_6$ Cl $_2$ Pt: C, 43.1 (42.8); H, 3.8 (3.9); N, 14.8 (14.4)%. Λ_M (DMF roztok, S cm 2 mol $^{-1}$): 0.0. IR (ν_{Nujol} /cm $^{-1}$): 565, 542, 531, 491, 465, 440, 410, 368, 354, 342, 295, 286, 220. IR (ν_{KBr} /cm $^{-1}$): 3345, 3109, 3057, 2980, 2939, 2885, 2832, 1723, 1670, 1621, 1583, 1540, 1492, 1463, 1439, 1407, 1348, 1320, 1243, 1165, 1118, 1074, 1027, 977, 940, 891, 811, 785, 755, 666, 636, 613, 575, 532, 494, 463. ^{195}Pt NMR (DMF- d_7 , K $_2$ PtCl $_4$, ppm): δ -1686.

Příklad 3: Syntéza bis[2-chlor-N6-(2,4-dimethoxybenzyl)-9-isopropyladenin]-(oxaláto-O,O')-platnatého komplexu, [Pt(L $_{10}$) $_2$ (ox)]

- 30 Dva molární ekvivalenty 2-chlor-N6-(2,4-dimethoxybenzyl)-9-isopropyladeninu (L $_{10}$) rozpuštěného v minimálním množství horkého isopropanolu byly smíchány s jedním molárním ekvivalentem K $_2$ [Pt(ox) $_2$] · 2H $_2$ O rozpuštěného v minimálním množství 70 °C horké destilované vody podle schématu 2. Reakční směs byla míchána pod zpětným chladičem po dobu tří dnů při teplotě 70 °C. Po odpaření části rozpouštědel se vytvořil světle šedý produkt, [Pt(L $_{10}$) $_2$ (ox)] dle schématu 6.

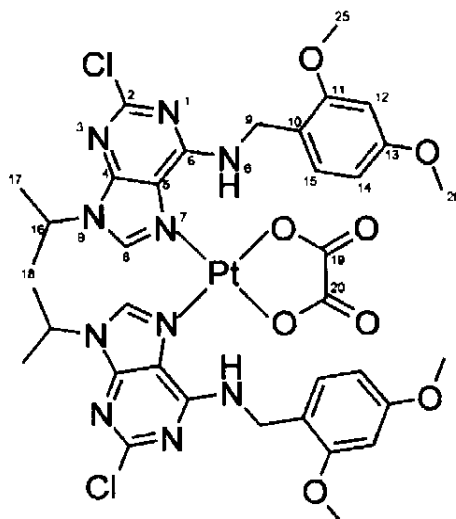


Schéma 6

Tento byl odfiltrován, vícenásobně promyt isopropanolem a horkou destilovanou vodou a vysušen při teplotě 40 °C.

- 5 Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $C_{36}H_{40}N_{10}O_8Cl_2Pt$: C, 43.0 (42.9); H, 4.0 (3.8); N, 13.9 (13.8)%. Λ_M (DMF roztok, $S\text{ cm}^2\text{ mol}^{-1}$): 2.1. IR ($\nu_{\text{Nujol}}/\text{cm}^{-1}$): 571, 540, 461, 429, 395, 360, 306, 285, 262, 224. IR ($\nu_{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$): 3434, 3127, 3064, 2978, 2933, 2852, 2838, 1720, 1670, 1619, 1587, 1539, 1508, 1486, 1463, 1439, 1417, 1408, 1347, 1319, 1290, 1233, 1209, 1158, 1129, 1115, 1072, 1036, 978, 937, 891, 812, 785, 667, 636, 573, 521, 466.

Příklad 4: Syntéza bis[2-chlor-N6-(3,4-dimethoxybenzyl)-9-isopropyladenin]-(oxalato-O,O')-platnatého komplexu, $[Pt(L_{11})_2(ox)]$

- 15 Dva molární ekvivalenty 2-chlor-N6-(3,4-dimethoxybenzyl)-9-isopropyladeninu (L_{11}) rozpuštěného v minimálním množství horkého isopropanolu byly smíchány s jedním molárním ekvivalentem $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2H_2O$ rozpuštěného v minimálním množství 70 °C horké destilované vody podle schématu 2. Reakční směs byla míchána pod zpětným chladičem po dobu tří dnů při teplotě 70 °C. Po odpaření části rozpouštědel se vytvořil světle šedý produkt, $[Pt(L_{11})_2(ox)]$ podle schématu 7.

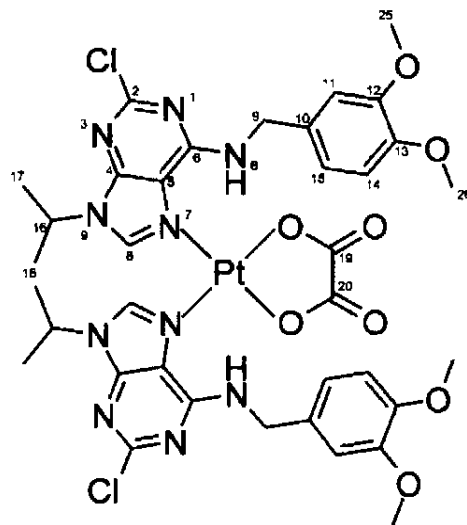


Schéma 7

Tento byl odfiltrován, vícenásobně promyt isopropanolem a horkou destilovanou vodou a vysušen při teplotě 40 °C.

Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $C_{36}H_{40}N_{10}O_8Cl_2Pt$: C, 43.0 (43.0); H, 4.0 (4.3); N, 13.9 (13.9)%. Λ_m (DMF roztok, $S\ cm^{-2}\ mol^{-1}$): 1.6. IR (ν_{Nujol}/cm^{-1}): 584, 568, 543, 525, 452, 430, 398, 357, 302, 273, 215. IR (ν_{KBr}/cm^{-1}): 3433, 3123, 3062, 2979, 2937, 2836, 1724, 1669, 1620, 1583, 1538, 1516, 1485, 1464, 1419, 1347, 1320, 1267, 1236, 1158, 1140, 1072, 1027, 941, 891, 811, 785, 766, 669, 639, 572, 552, 522, 467.

Příklad 5: Syntéza bis[2-chlor-N6-(3,5-dimethoxybenzyl)-9-isopropyladenin]-(oxalato-O,O')-platnatého komplexu tetrahydrátu, $[Pt(L_{12})_2(ox)] \cdot 4H_2O$

Dva molární ekvivalenty 2-chlor-N6-(3,5-dimethoxybenzyl)-9-isopropyladeninu (L_{12}) rozpuštěného v minimálním množství horkého isopropanolu byly smíchány s jedním molárním ekvivalentem $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2H_2O$ rozpuštěného v minimálním množství 70 °C horké destilované vody podle schématu 2. Reakční směs byla míchána pod zpětným chladičem po dobu tří dnů při teplotě 70 °C. Po odpaření části rozpouštědel se vytvořil světle šedý produkt, $[Pt(L_{12})_2(ox)] \cdot 4H_2O$ podle schématu 8.

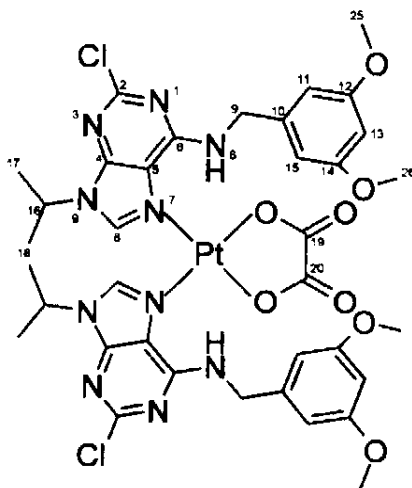


Schéma 8

Tento byl odfiltrován, vícenásobně promyt isopropanolem a horkou destilovanou vodou a vysušen při teplotě 40 °C. Termogram znázorňující průběh termické analýzy (metody termogravimetrie, TG, a diferenční termické analýzy, DTA) komplexu $[Pt(L_{12})_2(ox)] \cdot 4H_2O$ je předložen na obrázku 3.

Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $C_{36}H_{40}N_{10}O_8Cl_2Pt \cdot 4H_2O$: C, 40.1 (40.0); H, 4.5 (4.4); N, 13.0 (13.5)%. Λ_m (DMF roztok, $S\ cm^{-2}\ mol^{-1}$): 1.9. IR (ν_{Nujol}/cm^{-1}): 595, 568, 540, 523, 501, 469, 438, 409, 397, 351, 321, 310, 293, 272, 241. IR (ν_{KBr}/cm^{-1}): 3334, 3272, 3144, 3097, 2978, 2937, 2839, 1712, 1677, 1620, 1539, 1461, 1426, 1411, 1385, 1368, 1341, 1322, 1284, 1229, 1199, 1156, 1095, 1060, 1022, 988, 939, 893, 868, 839, 812, 785, 681, 668, 635, 615, 568, 540, 523, 469, 436.

Příklad 6: Syntéza bis[2-(R)-(1-ethyl-2-hydroxyethyl)amino]-N6-benzyl-9-isopropyladenin]-(oxalato-O,O')-platnatého komplexu, $[Pt(L_4)_2(ox)]$

Dva molární ekvivalenty 2-(R)-(1-ethyl-2-hydroxyethyl)amino-N6-benzyl-9-isopropyladeninu (L_4) rozpuštěného v minimálním množství horkého isopropanolu byly smíchány s jedním molárním ekvivalentem $K_2[Pt(ox)_2] \cdot 2H_2O$ rozpuštěného v minimálním množství 70 °C horké destilované vody podle schématu 2. Reakční směs byla míchána pod zpětným chladičem po dobu tří

dnů při teplotě 70 °C. Po odpaření části rozpouštědel se vytvořil světle šedý produkt, [Pt(L₄)₂(ox)] podle schématu 9.

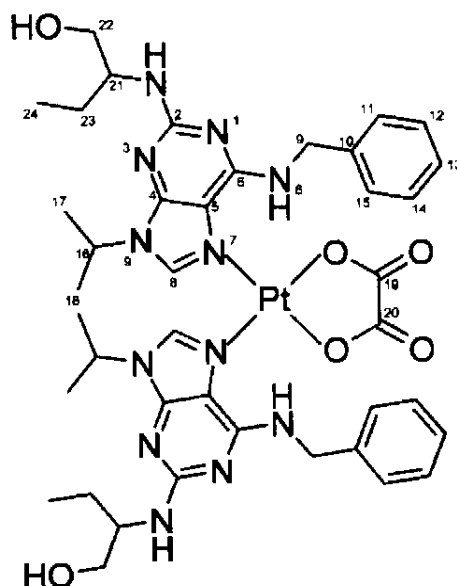


Schéma 9

- 5 Tento byl odfiltrován, vícenásobně promyt isopropanolem a horkou destilovanou vodou a vysušen při teplotě 40 °C.

Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro C₄₀H₅₂N₁₂O₆Pt: C, 48.4 (48.3); H, 5.3 (5.7); N, 16.9 (16.9)%. IR (ν_{Nujol}/cm⁻¹): 570, 544, 526, 507, 491, 484, 465, 403, 355, 332, 306, 263. IR (ν_{KBr}/cm⁻¹): 3365, 3120, 3064, 3030, 2965, 2932, 2875, 1718, 1681, 1611, 1544, 1519, 1494, 1419, 1356, 1268, 1212, 1134, 1084, 1059, 810, 785, 754, 737, 700, 668, 635, 600, 571, 526, 471, 417, 404.

Příklad 7: *In vitro* cytotoxická aktivita nových látek na lidských nádorových liniích

Pro stanovení cytotoxické aktivity připravených komplexů byla použita mikrotitrační analýza využívající Calcein acetoxymetyl (AM). Testem jsou detekovány životaschopné buňky, přičemž jejich počtu odpovídá množství zredukovaného Calceinu AM. *In vitro* testy cytotoxické aktivity byly provedeny na následujících lidských nádorových buněčných liniích: prsního adenokarcinomu (MCF-7), chronická myelogenní leukemie (K562). Linie byly udržovány v plastických lahvičkách v DMEM médiu (5 g/l glukózy, 2 mM glutaminu, 100 U/ml penicilinu, 100 mg/ml streptomycinu, 10 % fetálního telecího séra a hydrogenuhličitanu sodného) pro buněčné kultury.

Suspenze buněk (ca 1.25 × 10⁵ buněk ml⁻¹) byly rozpipetovány po 80 μl na devadesátišesti jamkové mikrotitrační destičky. Tyto byly preinkubovány při 37 °C v CO₂ atmosféře po dobu 24 hodin. Testované platnaté oxalátokomplexy byly předrozpuštěny v *N,N'*-dimethylformamidu, naředěny na koncentrace 0,2 až 25,0 μM a přidány k preinkubované suspenzi nádorových buněk. Směsi byly následně inkubovány po dobu 72 h při teplotě 37 °C, 100% vlhkosti a v atmosféře CO₂. Poté byl přidán roztok Calceinu AM a následovala inkubace po dobu 1 hodiny. Fluorescence (F) živých nádorových buněk byla měřena při 485/538 nm (excitace/emise) pomocí přístroje Lab-system FIA Fluoroscen Ascent (Microsystems). Procento živých nádorových buněk (A) bylo vypočteno dle vztahu:

$$A = \frac{F}{F_{\text{kontrola}}} 100 \text{ [%]}$$

Koncentrace testovaných komplexů (μM) letální pro 50 % vložených nádorových buněk (inhibiční konstanta IC_{50}) byly vypočteny z dávkových křivek a jsou uvedeny v Tabulce 1.

Ke stanovení *in vitro* cytotoxicity připravených sloučenin vůči lidské nádorové linii HOS (osteosarkom) byl také použit MTT test. Metoda je založena na schopnosti metabolicky aktivních buněk redukovat žlutou sůl 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (MTT) za vzniku modrého formazanového barviva. Jelikož k této přeměně dochází pouze v živých buňkách, lze tímto způsobem stanovit cytotoxicitu různých chemických látek. V rámci buňky jsou za redukci zodpovědné mitochondriální dehydrogenasy. Vznikající formazanové barvivo je nerozpustné a je následně kvantifikováno po rozpuštění v DMSO s amoniakem za použití klasického spektrofotometru (ELISA reader).

Tabulka 1 Koncentrace testovaných komplexů (IC_{50} , μM) letální pro 50 % vložených nádorových buněk

	MCF-7 ^a	K562 ^a	HOS ^b
[Pt(L ₁) ₂ (ox)]	>25	19	6.3
[Pt(L ₂) ₂ (ox)]	15	9	4.5
[Pt(L ₁₀) ₂ (ox)]	nt	nt	3.8
[Pt(L ₁₁) ₂ (ox)]	nt	nt	7.6
[Pt(L ₄) ₂ (ox)]	nt	nt	30.4
L ₁	>50 ^c	>50 ^c	nt
L ₂	>50 ^c	>50 ^c	nt
L ₁₀	nt	nt	nt
L ₁₁	nt	nt	nt
L ₄	15 ^d	50 ^d	nt
cisplatin	11 ^c	5 ^c	37.2
oxaliplatin	18 ^c	9 ^c	nt

nt dosud netestováno

L₁) 2-chlor-N6-benzyl-9-isopropyladenin

L₂) 2-chlor-N6-(2-methoxybenzyl)-9-isopropyladenin

L₁₀) 2-chlor-N6-(2,4-dimethoxybenzyl)-9-isopropyladenin

L₁₁) 2-chlor-N6-(3,4-dimethoxybenzyl)-9-isopropyladenin

L₄) 2-(R)-(1-ethyl-2-hydroxyethyl)amino-N6-(4-methoxybenzyl)-9-isopropyladenin

a) AM test

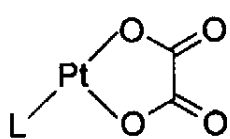
b) MTT test

c) Trávníček, Z.; Szűčová, L.; Popa, I. *J. Inorg. Biochem.* 2007, 101, 477-492

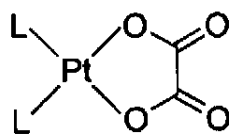
d) Trávníček, Z.; Maloň, M.; Zatloukal, M.; Doležal, K.; Strnad, M.; Marek, J. *J. Inorg. Biochem.* 2003, 94, 307-316.

NÁROKY NA OCHRANU

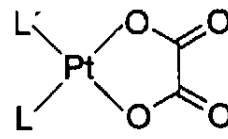
1. Oxalátokomplexy platiny v oxidačním stupni +II a jejich krystalosolváty zahrnující strukturní motiv (I) nebo obecného vzorce (II) vyjádřeného strukturním vzorcem [Pt(L)₂(ox)] nebo obecného vzorce (III) vyjádřeného strukturním vzorcem [Pt(L)(L')(ox)], kde symboly L a L' představují deriváty N6-benzyladeninu obecného vzorce (IV) vázaného na atom platiny základního motivu (V)



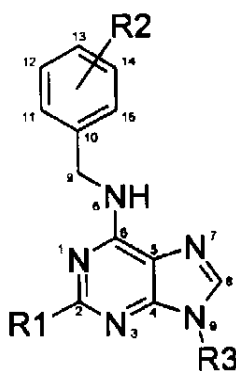
(I)



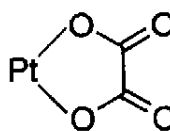
(II)



(III)



(IV)



(V)

přes libovolný atom dusíku adeninu nezávisle vybraný z atomů N1, N3, N6, N7 nebo N9, v závislosti na míře substituce molekul, kde jsou substituenty R1, R2 a R3 nezávisle vybrány ze skupiny:

- 5 atom vodíku, halogen, alkyl, substituovaný alkyl, alkenyl, substituovaný alkenyl, alkynyl, substituovaný alkynyl, cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, cykloheteroalkyl, substituovaný cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, substituovaný cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl, aryl, substituovaný aryl, heteroaryl, substituovaný heteroaryl, funkční skupina a N-RR' skupina, v níž R' a R'' nezávisle na sobě symbolizují atom vodíku, alkyl, substituovaný
- 10 alkyl, alkenyl, substituovaný alkenyl, alkynyl, substituovaný alkynyl, cykloalkyl, substituovaný cykloalkyl, cykloheteroalkyl, substituovaný cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, substituovaný cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl, aryl, substituovaný aryl, heteroaryl, substituovaný heteroaryl a funkční skupinu, kde termín:

- *halogen*

- 15 představuje atom fluoru, bromu, chloru, nebo jodu,

- *alkyl*

jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovdíkový řetězec z až 18, především pak z 1 až 8 atomů uhlíku,

- *alkenyl*

- 20 jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovdíkový řetězec z až 18, především pak ze 2 až 8 atomů uhlíku obsahující alespoň jednu dvojnou vazbu mezi atomy uhlíku,

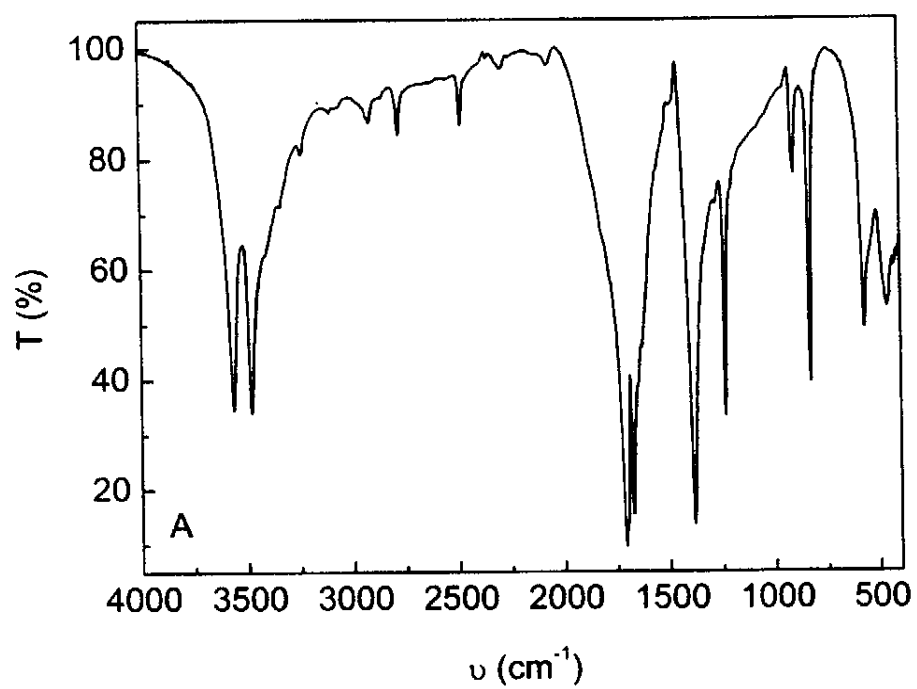
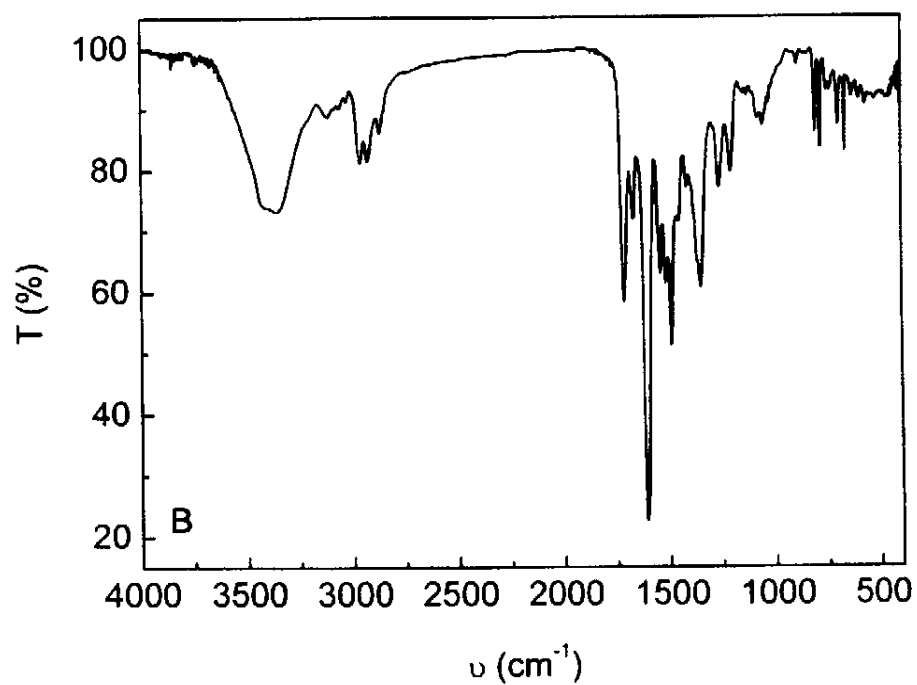
- *alkynyl*

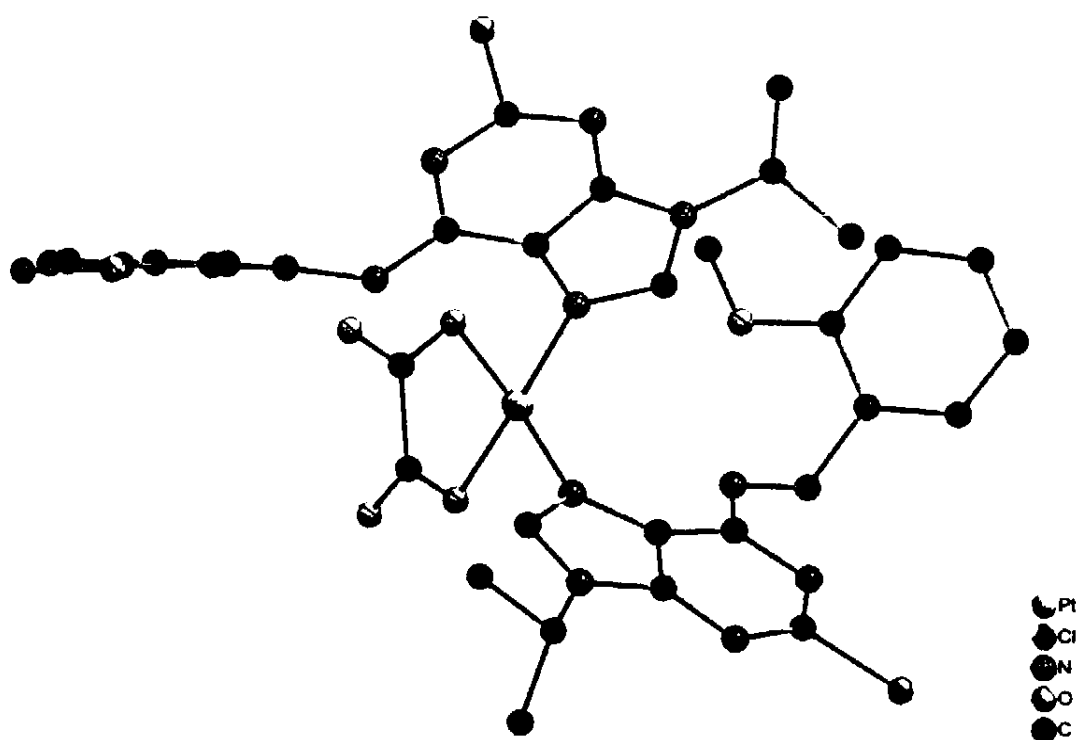
- 25 jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovdíkový řetězec z až 18, především pak ze 2 až 8 atomů uhlíku obsahující alespoň jednu trojnou vazbu mezi atomy uhlíku,

- *cykloalkyl*

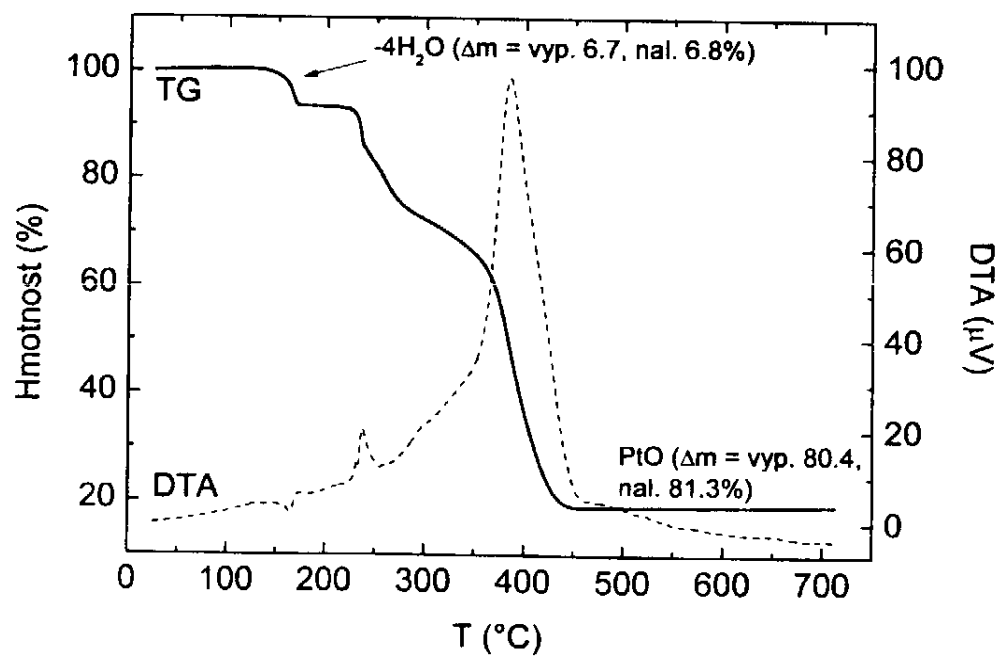
- 30 jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cyklický uhlovdík ze 3 až 12, především pak ze 3 až 8 atomů uhlíku, a to včetně kondenzovaných cyklů nezávisle vybraných ze skupiny cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, aryl a heteroaryl,

- *cykloheteroalkyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cykloalkyl s alespoň jedním atomem uhlíku zaměněným za heteroatom ze skupiny dusík, kyslík, nebo síra,
 - *cykloalkenyl*
5 jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cykloalkyl obsahující alespoň jednu dvojnou vazbu mezi atomy uhlíku,
 - *cykloheteroalkenyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cykloheteroalkyl obsahující alespoň jednu dvojnou vazbu mezi dvěma atomy uhlíku, atomem uhlíku a heteroatomem, nebo dvěma
10 heteroatomy,
 - *aryl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje skupinu obsahující alespoň jeden aromatický kruh,
 - *heteroaryl*
15 jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje pěti- až dvanáctičlenný, především pak pěti- až šestičlenný aromatický kruh s alespoň jedním atomem uhlíku zaměněným za heteroatom ze skupiny dusík, kyslík, nebo síra, a to heteroarylu kondenzovaného s jedním nebo více cykly nezávisle vybranými ze skupiny cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, aryl a heteroaryl,
 - *funkční skupina*
20 jako taková nebo jako součást jiné skupiny představuje amino, alkylamino, dialkylamino, alkenylamino, cykloalkylamino, cykloheteroalkylamino, cykloalkenylamino, cykloheteroalkenylamino, arylamino, heteroarylamino, acylamino, hydroxy, alkylhydroxy, alkoxy, aryloxy, kyano, karboxy, alkylkarboxy, karboxyalkyl, arylkarboxy, karboxyaryl, hydroxyamino, acyl, nitro,
25 amido, nitroso, sulfonyl, sulfinyl, sulfamido, thio, alkylthio, arylthio, merkpto, karbamoyl,
 - *substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl, substituovaný cykloalkyl, substituovaný cykloheteroalkyl, substituovaný cykloalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl*
jako takové nebo jako součásti jiných skupin představují alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, aryl a heteroaryl substituované substituenty
30 z množiny halogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, aryl, heteroaryl a funkční skupina.
2. Krystalosolváty platnatých oxalátokomplexů podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že u sloučenin obecného složení $[Pt(L)_2(ox)] \cdot xSolv$ nebo $[Pt(L)(L')(ox)] \cdot xSolv$ udává
35 (x) počet krystalových molekul, především 1 až 6, a (Solv) je konkrétní molekula použitého rozpouštědla a/nebo některá z reakčních komponent, obvykle vybrána ze skupiny voda, primární alkohol, sekundární alkohol, aceton, N,N'-dimethylformamid, dimethyl sulfoxid, chloroform, dichlormethan, acetonitril nebo diethylether, a to buď samostatně nebo v kombinaci uvedených solvátových molekul.
- 40 3. Farmaceutický nebo farmakologický prostředek, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje terapeuticky účinné množství platnatých oxalátokomplexů podle nároku 1 a nebo farmaceutickou kompozici těchto platnatých oxalátokomplexů s jedním či více přijatelnými nosiči a pomocnými látkami.
- 45 4. Farmaceutický nebo farmakologický prostředek podle nároku 3 pro použití v lékařství jako léčivo pro léčbu nádorových onemocnění.

**OBR. 1A****OBR. 1B**



OBR. 2



OBR. 3

Konec dokumentu