

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

20271

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2009 - 21668**
(22) Přihlášeno: **10.09.2009**
(47) Zapsáno: **26.11.2009**

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:
C07D 473/34 (2006.01)
C07F 15/00 (2006.01)
A61K 31/4188 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(73) Majitel:

Univerzita Palackého, Olomouc, CZ

(72) Původce:

Dvořák Lukáš Mgr., Baška, 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:

Cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexy platiny s deriváty N6-benzyladeninu

CZ 20271 U1

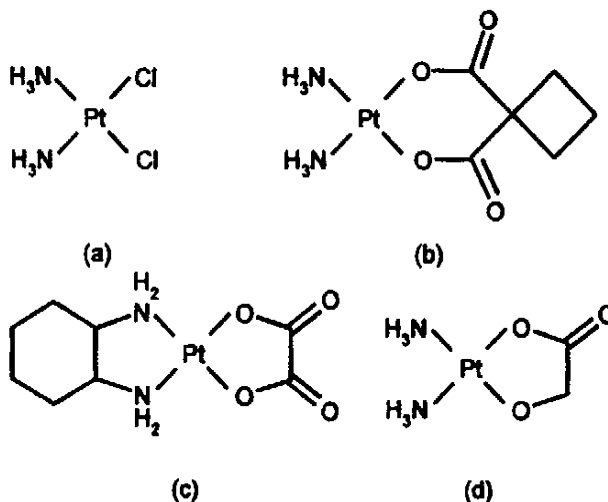
Cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexy platiny s deriváty N6-benzyladeninu

Oblast techniky

Předložené technické řešení, spadající do oblasti léčiv nádorových onemocnění na bázi platiny, se týká platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů s deriváty N6-benzyladeninu a jejich použití v lékařské praxi jako léčiv a farmaceutických kompozic, které tyto komplexy obsahují jako účinnou látku.

Dosavadní stav techniky

Cisplatin (a), $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, *cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex, je jedním z nejznámějších komplexů platiny používaných v boji proti rakovině (Rosenberg, B.; Camp, V. L.; Krigas, T. *Nature* 1965, 205, 698-699). Od roku 1978 se využívá při chemoterapii proti zhoubným nádorům varlat, vaječníků, plic, krku, hlavy, popřípadě jiným druhům nádorového onemocnění (Weiss, R. B.; Christian, M. C. *Drugs* 1993, 46, 360-365). Vlastní chemoterapie se však neobejde bez vedlejších negativních účinků na organismus, jako jsou nefrotoxicita či ototoxicita. Tato omezení vedla k přípravě nových platnatých komplexů s cílem zvýšit účinnost a selektivitu léčivých přípravků a zároveň potlačit negativní účinky na organismus (Abrams M. J.; Murrer B. A. *Science* 1993, 261, 725-730). Mezi nejvýznamnější takto objevené sloučeniny řadící se mezi tzv. léčiva druhé generace je možno zařadit například *karboplatinu* (b), $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{cbdc})]$, diammin-cyklobutan-1,1-dikarboxylátoplatnatý komplex, kde cbdc je cyklobutan-1,1-dikarboxylátový dianion. Jeho syntéza vychází z tetrachloroplatnatanu draselného, $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$, který se nechá reagovat s tetramolárním nadbytkem jodidu draselného, KI, kde v první fázi vznikne tetrajodoplatnatan draselný, $\text{K}_2[\text{PtI}_4]$. Působením NH_4OH vznikne *cis*-diammindijodoplatnatý komplex, $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{I}_2]$, který poskytne s dusičnanem stříbrným, AgNO_3 , v poměru 1:2 ve vodě dobře rozpustný komplex dusičnan *cis*-diammin-diaquaplatnatý, $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$. Ten se pak ve vodném prostředí kyseliny cyklobutan-1,1-dikarboxylové transformuje na *karboplatinu* (b) (US4273755 - Preparation of *cis*-diammindiiodoplatinum(II)). Je známa i modifikovaná možnost přípravy, která opět vychází z tetrachloroplatnatanu draselného s tetramolárním nadbytkem jodidu draselného, kde v první fázi vznikne tetrajodoplatnatan draselný. Působením NH_4OH vznikne *cis*-diammindijodoplatnatý komplex, který poskytne s dusičnanem stříbrným v poměru 1:2 ve vodě dobře rozpustný komplex dusičnan *cis*-diammin-diaquaplatnatý, $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$. Přidáním síranu stříbrného do tohoto vodného roztoku převedeme v temnu za 24 hodin kladně nabitou *cis*-diammin-diaquaplatnatou komplexní částici, $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, na žlutý *cis*-diammin-aqua-sulfátoplatnatý komplex, $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})(\text{SO}_4)]$. Ve vodném roztoku po přidání sodné soli kyseliny cyklobutan-1,1-dikarboxylové vzniká *karboplatina* (b) (Ali, M. S.; Thurston, J. H.; Whitmire, K. H.; Khokhar, A. R. *Polyhedron* 2002, 21, 2659-2665).



Další možnost přípravy tohoto komplexu je reakce cisplatiny, $\text{cis-[Pt(NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, která se po týdnu působení dusičnanem stříbrným ve vodném roztoku transformuje na dusičnan *cis*-diammin-diaquaplatnatý, $\text{cis-[Pt(NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$. Substituce dusičnanového aniontu za hydroxylový je uskutečněna pomocí chromatografie na iontoměničích a vzniklý hydroxid *cis*-diammin-diaquaplatnatý, $\text{cis-[Pt(NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{OH})_2$, vstupuje do reakce s kyselinou cyklobutan-1,1-dikarboxylovou za vzniku *karboplatiny* (**b**) (Brunner, H.; Maiterth, F.; Treitinger, B. *Chem. Ber.* 1994, 127, 2141-2148). Molekulová a krystalová struktura je známa od roku 1980 (Neidle, S.; Ismail, I. M.; Sadler, P. J. *J. Inorg. Bioch.* 1980, 13, 205-212), detailnější popis molekulové a krystalové struktury je z roku 1985 (Beagley, B.; Cruickshank, D. W. J.; McAuliffe, C. A.; Pritchard, R. G.; Zaki, A. M.; 2 Beddoes, R. L.; Cernik, R. J.; Mills, O. S. *J. Mol. Str.* 1985, 130, 97-102). *Karboplatina* (**b**) je účinná proti téměř stejným lidským nádorovým liniím jako *cisplatin* (**a**), a taktéž je podávána intravenózně (Hambley, T. W.; *Dalton Trans.* 2001, 120, 2711-2718). Na rozdíl od *cisplatiny* se *karboplatina* vyznačuje výrazným snížením nežádoucích vedlejších efektů, především nižší toxicitou na organismus (Wilkinson, A. R.; Cox, P. J.; Jones, M.; Harrap, K. R. *Biochimie* 1978, 60, 851-857). U *karboplatiny* bylo poprvé publikováno úspěšné stanovení *in vivo* cytotoxické aktivity proti rakovině varlat, plic (V79) a prsnímu tumoru (MTG-B) (vystupuje pod označením JM8) již v roce 1985 (Peckham, M. J.; Horwich, A.; Brada, M.; Drury, A.; Hendry, W. F. *Canc. Treat. Rev.* 1985, 12, 101-110, Douple, E. B.; Richmond, R. C.; O'Hara, J. A.; Coughlin, C. T. *Canc. Treat. Rev.* 1985, 12, 111-124) a v současnosti jsou publikovány výsledky druhé fáze *in vivo* testování tohoto léčiva například v kombinaci s aplidinem (WO2008 135793 - Combination of aplidine and carboplatin in anticancer treatments), paclitaxelem proti nádorům plic (WO2008 081927 - Method for treating cancer using anticancer agent in combination, EP1942884 - Methods of treating cancers with Saha, carboplatin and paclitaxel and other combination therapies) nebo nádoru vaječníků (Iura, A.; Katsumata, N.; Kouno, T.; Shimizu, C.; Ando, M.; Fujiwara, Y. *Int. J. Gynec. Obst.* 2009, 105, 261-270, EP2076259 - Methods of treating ovarian cancer).

Mezi další významná protinádorová léčiva na bázi platnatých komplexů patří *oxaliplatin* (**c**), $[\text{1R,2R-1,2-diammin-cyklohexan-N,N'}](\text{-oxalato-O,O'})$ -platnatý komplex, poprvé syntetizovaný v roce 1978 (Kidani, Y.; Inagaki, K.; Iigo, M.; Hoshi, A.; Kuretani, K. *J. Med. Chem.* 1978, 21, 1315-1318, EP2029615 - A process for the preparation of an oxaliplatin, EP1979369 - Preparation of platinum(II) complexes), jehož molekulová struktura byla vyřešena v roce 1984 (Bruck, M. A.; Bau, R.; Noji, M.; Inagaki, K.; Kidani, Y. *Inorg. Chim. Acta* 1984, 92, 279-284). Používá se při léčbě rakoviny konečníku a u nádorových liniích rezistentních na *cisplatinu* (Tashiro, T.; Kawada, Y.; Sakurai, Y.; Kidani, Y. *Biomed. Pharmacother.* 1989, 43, 251-260, Kraker, A. J.; Moore, C. W. *Cancer Res.* 1988, 48, 9 - 13). Ve výčtu léčiv je třeba taktéž zmínit *nedaplatinu*, *cis*-diammin-glykolátplatnatý komplex (**d**), poprvé syntetizovanou v roce 1986 (Totani, T.; Aono, K.; Komura, M.; Adachi, Y.; *Chem. Lett.* 1986, 3, 429-432), která se využívá např. při léčbě nádorů konečníku, plicního a srdečního karcinomu, nádorů hlavy a krku (Furuse, K.; Fukuota, M.; Ohshima, S. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 1989, 8, 238-243, Inuyama, Y.; Miyake, H.; Horiuchi, M.; Hayasaki, K.; Komiyama, S.; Ohta, K. *Jpn. J. Cancer Chemother.* 1992, 19, 863-869). Na rozdíl od *cisplatiny* byly v preklinických testech zjištěny nižší nežádoucí účinky na organismus (Kameyama, Y.; Okazaki, N.; Nakagawa, M.; Koshida, H.; Nakamura, M.; Gamba, M. *Toxicol. Lett.* 1990, 52, 15-24).

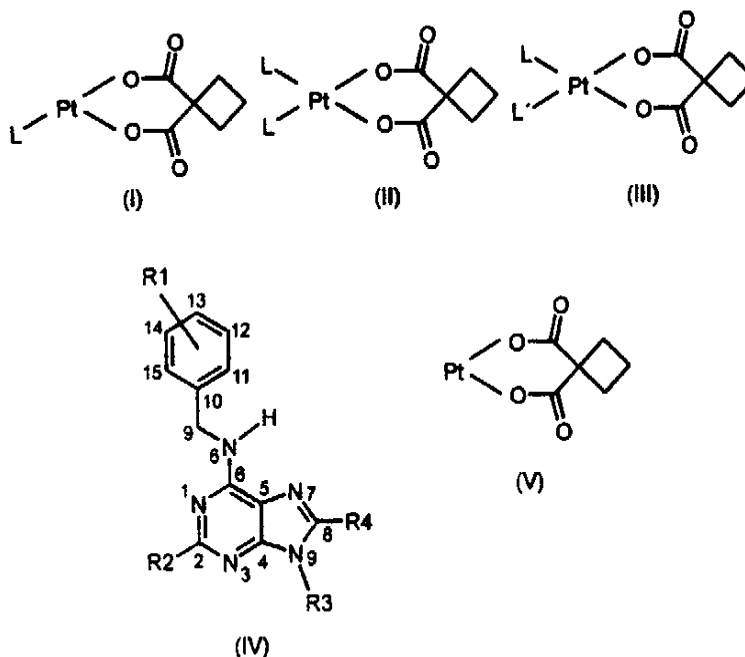
Předložené a připravené komplexy je možno řadit mezi deriváty odvozené od *karboplatiny* (**b**), $[\text{Pt(NH}_3)_2(\text{cbdc})]$, kde dva amino ligandy (NH_3) byly nahrazeny derivátem N6-benzyladeninu (**L**). Tato sloučenina (**L**) patří do skupiny přírodních rostlinných růstových regulátorů nazývaných cytokininy (Skoog, F.; Hamzi, H. Q.; Szweykowska, A. M.; Leopard, N. J.; Carraway, K. L.; Fujii, T.; Helgeson, J. P.; Loeppky, R. N. *Phytochem.* 1967, 6, 1169-1192). V obecné rovině je však možno konstatovat, že mnohé rozmanitě substituované deriváty purinu nebo adeninu mohou být připraveny i laboratorně (Mok, D. W. S.; Mok, M. C. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2001, 52, 89-118, Roelen, H.; Veldman, N.; Spek, A. L.; Von Frijtag Drabbe Kunzel, J.; Mathot, R. A. A.; Ijzerman, A. P. *J. Med. Chem.* 1996, 39, 1463-1471, Holmes, R. E.; Robins, R. K. *J. Am. Chem. Soc.* 1960, 82, 3773-3779, Moravec, J.; Kryštof, V.; Hanuš, J.; Havlíček, L.; Moravcová, D.; Fuksová, K.; Kuzma, M.; Lenobel, R.; Otyepka, M.; Strnad, M. *Bioorg. Med.*

- Chem. Lett* 2003, 13, 2993-2996). Vhodnou substitucí základního skeletu N6-benzyladeninu je možno získat velmi účinné inhibitory cyklin-dependentních kináz, tedy látek ovlivňujících buněčný cyklus (Brun, V.; Legraverend, M.; Grierson, D. S. *Tetrahedr. Lett.* 2001, 42, 8161-8164, Brun, V.; Legraverend, M.; Grierson, D. S. *Tetrahedr. Lett.* 2001, 42, 8165-8167). Syntéza, charakterizace a především biologické, farmaceutické, popřípadě jiné využití těchto látek je možno najít v následujících českých spisech pod čísly CZ 1999-273 A1 (*Substituované dusíkaté heterocyklické deriváty, způsob jejich přípravy, tyto deriváty pro použití jako léčiva, farmaceutická kompozice a kombinovaný farmaceutický přípravek tyto deriváty obsahující a použití těchto derivátů pro výrobu léčiv*), CZ 294535 (*Heterocyklické sloučeniny na bázi N6-substituovaného adeninu, způsoby jejich přípravy, jejich použití pro přípravu léčiv, kosmetických přípravků a růstových regulátorů, farmaceutické přípravky, kosmetické přípravky a růstové regulátory tyto sloučeniny obsahující*), CZ 2002-2353 A1 (*Deriváty purinu, způsob jejich přípravy a jejich použití*), CZ 294538 (*Substituční deriváty N6-benzyladenosinu, způsob jejich přípravy, jejich použití pro přípravu léčiv, kosmetických přípravků a růstových regulátorů, farmaceutické přípravky, kosmetické přípravky a růstové regulátory tyto sloučeniny obsahující*) a CZ 2007-691 A1 (*Substituované 6-(alkylbenzylamino)purinové deriváty pro použití jako antagonisté cytokininových receptorů a přípravky obsahující tyto sloučeniny*). Dosud je v Cambridžské strukturní databázi (CSD) uloženo 21 platných komplexů odvozených od karboplatiny obsahující základní motiv [Pt(La)_a(cbdc)] (a = 1 až 4), kde (cbdc) je cyklobutan-1,1-dikarboxylátový dianion a (La) reprezentuje libovolný monodentátní ligand koordinovaný na centrální atom přes atom dusíku: L1 = hexamethylenimin (Ali, M.S.; Thurston, J.H.; Whitmire, K.H.; Khokhar, A.R.; *Polyhedron* 2002, 21, 2659-2665), L2 = aminoethanol (Meelich, K.; Galanski, M.; Arion, V.B.; Keppler, B.K. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2006, 2476-2483), L3 = 2-methylpyridin (Ming-Jin, X.; Yao, Y.; Wei-Ping, L.; Shu-Qian, H.; Xizhu, C. *Acta Crystallogr., Sect.E: Struct. Rep. Online* 2007, 63, 2728), L4 = ethylamin (Rochon, F.D.; Grupa, L.M. *Inorg. Chim. Acta* 2000, 306, 193-204), a základní motiv [Pt(Lb)(cbdc)], kde b = 5-22, cbdc je cyklobutan-1,1-dikarboxylátový dianion a (L) reprezentuje libovolný bidentátní ligand koordinovaný na centrální atom přes dva atomy dusíku: L5 = ethylen-1,2-diamin (Rochon, F. D.; Massarweh, G. *Inorg. Chim. Acta* 2006, 359, 4095-4104), L6 = butan-1,4-diamin (Alvarez-Valdes, A.; Perez, J. M.; Lopez-Solera, I.; Lannegrand, R.; Continente, J.M.; Amo-Ochoa, P.; Camazon, M.J.; Solans, X.; Font-Bardia, M.; Navarro-Ranninger, C. *J. Med. Chem.* 2002, 45, 1835-1844), L7 = N,N,N',N',N'',N''-hexakis(2-pyridyl)-1,3,5-tris(aminomethyl)benzen (Tu, C.; Lin, J.; Shao, Y. Guo, Z. *Inorg. Chem.* 2003, 42, 5795-5797), L8 = 4,4-bis(aminomethyl)tetrahydrofuran (Bitha, P.; Child, R.G.; Hlavka, J.J.; Lang, S.A.; Lin, Y.-I.; Haltiwanger, R.C.; Pierpont, C.G. *Inorg. Chim. Acta* 1988, 151, 89-93), L9 = 1,3-dihydroxy-2,2-bis(aminomethyl)propan (Bitha, P.; Child, R.G.; Hlavka, J.J.; Lang, S.A.; Lin, Y.-I.; Haltiwanger, R.C.; Pierpont, C.G. *Inorg. Chim. Acta* 1988, 151, 89-93), L10 = bis(2-pyridyl)amin (Tu, C.; Wu, X.; Liu, Q.; Wang, X.; Xu, Q.; Guo, Z. *Inorg. Chim. Acta* 2004, 357, 95-102), L11 = trans(-)-cyklohexan-1,2-diamin (Bitha, P.; Morton, G.O.; Dunne, T.S.; Santos, E.F.D.; Lin, Y.; Boone, S.R.; Haltiwanger, R.C.; Pierpont, C.G. *Inorg. Chem.* 1990, 29, 645-652), L12 = bis(2-pyridyl)keton (Ferreira, A.D.Q.; Bino, A.; Gibbon, D. *Inorg. Chim. Acta* 1997, 265, 155-161), L13 = (3,6,9,12-tetraoxatetradekan-1,14-diyl-2,2'-bipyridyl-3,3'-dikarboxylát (Yoo, J.; Sohn, Y.S.; Do, Y. *J. Inorg. Biochem.* 1999, 73, 187-193), L14 = 2,3-bis(2-pyridyl)pyrazin (Ferreira, A.D.Q.; Bino, A.; Gibbon, D. *Inorg. Chim. Acta* 1997, 265, 155-161), L15 = (S)-N-(2-aminopropyl)cyklohexylamin (Lee, E.J.; Jun, M.J.; Sohn, M.S. *Bull. Korean Chem. Soc.* 1999, 20, 1469-1474), L16 = 1-methyl-2,3-diamino-2,3-dideoxy-L-xylopyranosid (Hanessian, S.; Wang, J. *Canc. J. Chem.* 1993, 71, 886-895), L17 = 2-morfolinoethylamin (Chen, X.; Xie, M.; Liu, M.; Ye, Q.; Yu, Y.; Hou, S.; Gao, W.; Liu, Y. *Inorg. Chim. Acta* 2007, 360, 2851-2856), L18 = (-)-(R)-2-(aminomethyl)pyrrolidin (Yonei, M.; Murata, H.; Itoh, M.; Watanabe, Y.; Ochi, K.; Honda, M.; Nawata, Y. *Acta Crystallogr., Sect.C: Cryst. Struct. Commun.* 1990, 46, 137-138), L19 = propan-1,2-diamin (Rochon, F.D.; Massarweh, G. *Inorg. Chim. Acta* 2006, 359, 4095-4104), L20 = 3-aminohexahydroazepin (Lee, S.S.; Jun, M.J.; Jung, O.-S.; Sohn, Y.S. *Bull. Korean Chem. Soc.* 1994, 15, 84-86), L21 = propan-1,3-diamin-2-ol (Xie, M.J.; Chen, X.Z.; Liu, W.P.; Yu, Y.; Ye, Q.S. *Acta Crystallogr., Sect.E: Struct. Rep. Online* 2007, 63, 1495-1497, Liu, W.; Chen, X.; Xie, M.; Lou, L.; Ye, Q.; Yu, Y.; Hou, S. *J. Inorg. Biochem.* 2007, 102, 1942-1946), L22 = cyklohexan-1,4-diamin (Shamsuddin, S.; Khokhar, A.R. *J. Coord. Chem.* 1994, 33, 83-91).

Předložené platnaté komplexy odvozené od karboplatiny s deriváty N6-benzyladeninu (L) nava-
 zují na již dříve publikované komplexy platiny obecného složení $[\text{Pt}(\text{L23})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})_2]$,
 $[\text{Pt}(\text{Lc})\text{Cl}_3] \cdot \text{H}_2\text{O}$, $(\text{Ld})[\text{PtCl}_6]$, $[\text{Pt}(\text{Le})\text{Cl}_5]$, *cis*- $[\text{Pt}(\text{Ld})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}_2$, *cis*- $[\text{Pt}(\text{Lf})_2\text{Cl}_2] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ a *trans*-
 $[\text{Pt}(\text{Lg})_2\text{Cl}_2] \cdot x\text{H}_2\text{O}$, kde c = 23-24, d = 23-26, e = 23, 26-38, f = 23-26, 39-43, g = 41-43, x = 1-3,
 5 L23 = 2-[(3-(hydroxypropyl)amino)-6-(benzylamino)-9-isopropylpurin, L24 = 2-[(2-(hydroxy-
 ethyl)amino)-6-(benzylamino)-9-methylpurin, L25 = 2-(2-hydroxyethylamino)-6-benzylamino-9-
 isopropylpurin, L26 = 2-[(1-hydroxymethylpropyl)amino]-6-(benzylamino)-9-isopropylpurin,
 L27 = 6-(2-methoxybenzylamino)purin, L28 = 6-(3-methoxybenzylamino)purin, L29 = 6-(4-
 methoxybenzylamino)purin, L30 = 6-(2-hydroxybenzylamino)purin, L31 = 6-(3-hydroxybenzyl-
 amino)purin, L32 = 6-(4-hydroxybenzylamino)purin, L33 = 6-(2-fluorbenzylamino)purin, L34 =
 6-(3-fluorbenzylamino)purin, L35 = 6-(4-fluorbenzylamino)purin, L36 = 6-(2-chlorbenzyl-
 amino)purin, L37 = 6-(3-chlorbenzylamino)purin, L38 = 6-(4-chlorbenzylamino)purin, L39 = 2-
 10 [(1-hydroxymethylpropyl)amino]-6-(3-hydroxybenzylamino)-9-isopropylpurin, L40 = 2-[(1-hyd-
 roxymethylisobutyl)amino]-6-(3-hydroxybenzylamino)-9-isopropylpurin, L41 = 2-chloro-6-(ben-
 zylamino)-9-isopropylpurin, L42 = 2-chloro-6-(2-methoxybenzylamino)-9-isopropylpurin, L43 =
 2-chloro-6-(4-methoxybenzylamino)-9-isopropylpurin (Szűčová, L.; Trávníček, Z.; Zatloukal, M.;
 Popa, I. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 479-491, Szűčová, L.; Trávníček, Z.; Popa, I.; Marek, J.
Polyhedron 2008, 27, 2710-2720, Trávníček, Z.; Popa, I.; Čajan, M.; Herchel, R.; Marek, J.
Polyhedron 2007, 26, 5271-5282, Trávníček, Z.; Maloň, M.; Zatloukal, M.; Doležal, K.; Strnad,
 20 M.; Marek, J. *J. Inorg. Bioch.* 2003, 94, 307-316, Maloň, M.; Trávníček, Z.; Marek, R.; Strnad,
 M. *J. Inorg. Bioch.* 2005, 99, 2127-2138), u kterých kromě fyzikálně-chemické charakterizace
 byla studována i *in vitro* cytotoxická aktivita na některých lidských nádorových liniích (K-562 =
 lidská erytroleukemie, MCF7 = lidský prsní adenokarcinom, HOS = lidský osteosarkom, G-361 =
 lidská chronická myelogenní leukemie). Některé z výše zmíněných komplexů byly v *in vitro*
 25 testech aktivnější než zmíněná kancerostatika *cisplatina*, *oxaliplatina* nebo *karboplatina*.

Podstata technického řešení

Cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexy platiny v oxidačním stupni +II a jejich krystalosolváty
 zahrnující strukturní motiv I nebo obecného vzorce II vyjádřeného strukturním vzorcem
 $[\text{Pt}(\text{L})_2(\text{cbdc})]$ nebo obecného vzorce III vyjádřeného strukturním vzorcem $[\text{Pt}(\text{L})(\text{L}')(\text{cbdc})]$, kde
 30 symboly L a L' představují deriváty N6-benzyladeninu obecného vzorce IV vázaného na atom
 platiny základního motivu 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, R3 a
 R4 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 N- $R'R''$, 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:
- 10 - *halogen*
představuje atom fluoru, bromu, chloru, nebo jodu,
- *alkyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 1 až 18, především pak z 1 až 8 atomů uhlíku,
- 15 - *alkenyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 2 až 18, především pak ze 2 až 8 atomů uhlíku, obsahující alespoň jednu dvojnou vazbu mezi atomy uhlíku,
- *alkynyl*
20 jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 2 až 18, především pak ze 2 až 8 atomů uhlíku obsahující alespoň jednu trojnou vazbu mezi atomy uhlíku,
- *cykloalkyl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cyklický uhlovodík 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,
- 25 - *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*
30 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 heteroatomy,
- 35 - *aryl*
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje skupinu obsahující alespoň jeden aromatický kruh,
- *heteroaryl*
40 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,
- 45 - *funkční skupina*
jako taková nebo jako součást jiné skupiny představuje amino, alkylamino, dialkylamino, alkenylamino, cykloalkylamino, cykloheteroalkylamino, cykloalkenylamino, cykloheteroalkenylamino, arylamino, heteroarylamino, acylamino, hydroxy, alkylhydroxy, alkoxy, aryloxy, kyano, kar-

boxy, alkylkarboxy, karboxyalkyl, arylkarboxy, karboxyaryl, hydroxyamino, acyl, nitro, amido, nitroso, sulfonyl, sulfanyl, 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 z množiny halogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl, aryl, heteroaryl a funkční skupina.

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

Nedílnou podstatou technického řešení je farmaceutický nebo farmakologický prostředek obsahující terapeuticky účinné množství platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů nebo farmaceutickou kompozici platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů s jedním či více

20 přijatelných nosičů a pomocných látek pro použití v lékařství jako léčiva pro léčbu nádorových onemocnění.

V dalším jsou nové sloučeniny obecného vzorce **II** nebo **III** a způsob jejich přípravy a použití osvětleny na konkrétních příkladech, které mají pouze ilustrační charakter a nijak neomezuji rozsah technického řešení, který je jednoznačně určen definicí nároků na ochranu.

25 Přehled obrázků na připojených výkresech

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

- obr.1 je ^{13}C NMR spektrum bis(2-chloro-6-(3,4-dichlormethyl)benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátolatného komplexu, $[\text{Pt}(\text{L}_2)_2(\text{cbdc})]$, s interpretací jednotlivých atomů uhlíku, které byly identifikovány pomocí ^{13}C , APT, ^1H - ^{13}C gs-HMQC a ^1H - ^{13}C gs-HMBC experimentů.

30

- obr.2 je FT IR spektrum bis(2-chloro-6-(2-fluor-6-brom)benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátolatného komplexu, $[\text{Pt}(\text{L}_1)_2(\text{cbdc})]$, v oblasti $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ s přiřazením maxim charakteristických pro jednotlivé atomové skupiny.

- obr.3 je FT IR spektrum bis(2-chloro-6-(2-fluor-6-brom)benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátolatného komplexu, $[\text{Pt}(\text{L}_1)_2(\text{cbdc})]$, v oblasti $150\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ s přiřazením maxim charakteristických pro vibrace Pt-N a Pt-O.

35

- obr.4 je Ramanovo spektrum bis(2-(3-hydroxypropylamino)-6-benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátolatného komplexu, $[\text{Pt}(\text{L}_8)_2(\text{cbdc})]$ v oblasti $150\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ a přiřazení maxim charakteristických pro vybrané atomové skupiny.

40 - obr.5 představuje molekulovou strukturu hydrátu 2-chloro-6-(2-methoxy)benzylamino-9-isopropylpurino-(dimethylsulfoxid-S)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátolatného komplexu, $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{L}_7)(\text{cbdc})] \cdot \text{H}_2\text{O}$, vyřešenou pomocí monokrystalové rentgenové strukturní analýzy. Všechny nevodíkové atomy byly znázorněny formou teplotních elipsoidů s 50% pravděpodobností. Vodíkové atomy nebyly pro přehlednost zobrazeny.

45 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 příkladech 1, 2 a 3 pak může být derivát L' z chemického a strukturního hlediska vzhledem k derivátu L:

- a) chemicky a strukturně totožný, jako je L, vázaný na atom platiny základního motivu V přes totožný atom dusíku N(6)-benzyladeninu, jako je tomu u L;
- 5 b) chemicky a strukturně totožný, jako je L, vázaný na atom platiny základního motivu V přes odlišný atom dusíku N(6)-benzyladeninu, jako je tomu u L;
- c) chemicky a strukturně odlišný derivát N(6)-benzyladeninu, než je L, vázaný na atom platiny základního motivu V přes jakýkoliv z atomů dusíku derivátu N(6)-benzyladeninu.

Technické řešení dále využívá sloučenin *cis*-[Pt(DMSO)₂Cl₂] a [Pt(DMSO)₂(cbdc)], kde cbdc je dianion kyseliny cyklobutan-1,1-dikarboxylové, jako meziproduktů pro přípravu cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů platiny obecného vzorce II nebo III, které se připraví reakcí chloridu platnatého, PtCl₂, v prostředí dimethylsulfoxidu (DMSO), kdy vzniká při zvýšené teplotě komplex o složení *cis*-[Pt(DMSO)₂Cl₂] (Rochon, F. D.; Massarweh, G. *Inorg. Chim. Acta* 2006, 359, 4095-4104, Price, J. H.; Williamson, A. N.; Schramm, R. F.; Wayland, B. B. *Inorg. Chem.* 1972, 11, 1280-1284). Po nutné purifikaci je meziprodukt rozpuštěn a je k němu přidáno ekvimolární množství kyseliny cyklobutan-1,1-dikarboxylové, respektive její sodné, draselné nebo stříbrné soli. Reakční směs je poté míchána v temnu a za snížené teploty po několik dnů. Poté se vyloučí komplex o složení [Pt(DMSO)₂(cbdc)] (viz Schéma 1). Podrobný popis přípravy uvedeného meziproduktu je uveden v následující literatuře (Bitha, P.; Morton, G. O.; Dunne, T. S.; Santos, E. F. D.; Lin, Y.; Boone, S. R.; Haltiwanger, R. C.; Pierpoint, C. G. *Inorg. Chem.* 1990, 29, 645-652).

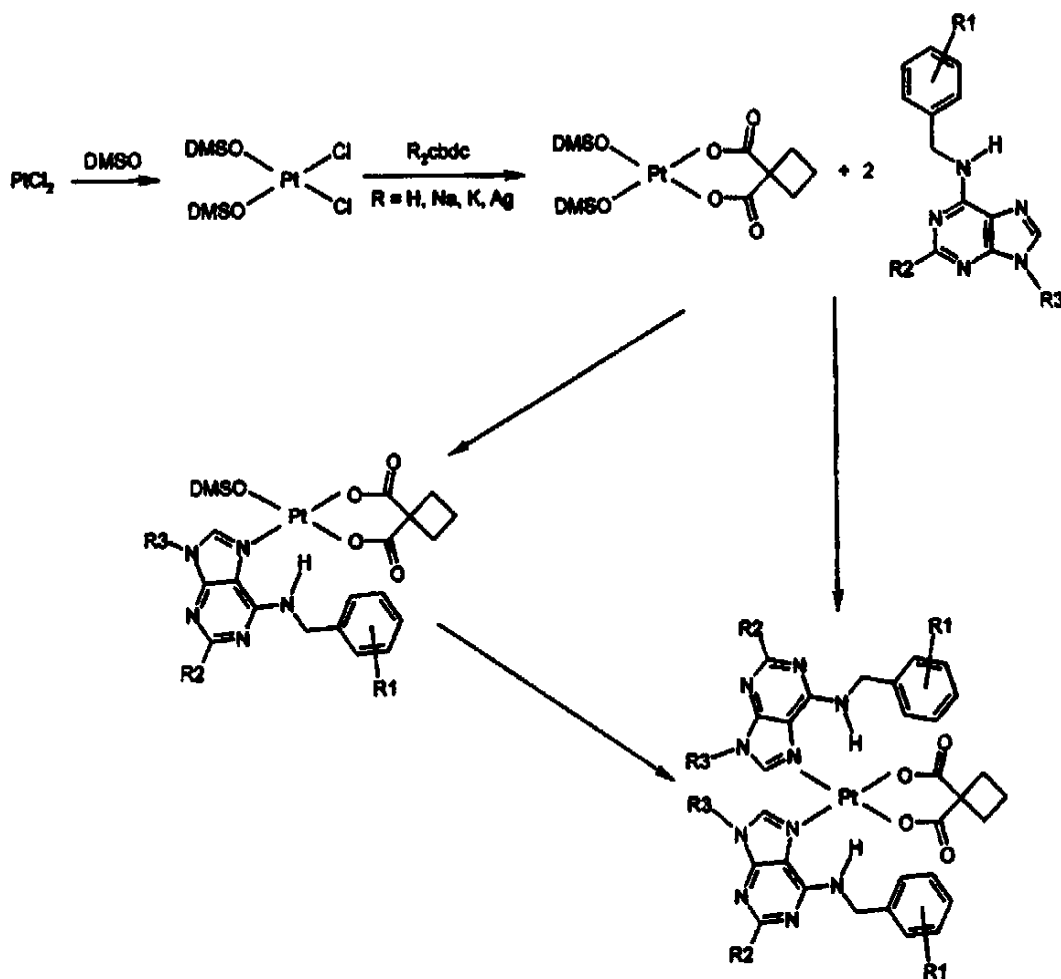


Schéma 1

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,
 - 5 - infračervená spektroskopie (FT IR), kde oblast 400 až 4000 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,
 - monokrystalová rentgenová strukturní analýza.
- 10 Technické řešení využívá bis(dimethylsulfoxid-S,S')-cyklobutan-1,1-dikarboxyláto-O,O' - platnatý komplex, $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$, jako výchozí platnatou sloučeninu. Uvedená sůl není komerčně dostupná, lze ji však připravit postupem uvedeným v dostupné literatuře (Bitha, P.; Morton, G. O.; Dunne, T. S.; Santos, E. F. D.; Lin, Y.; Boone, S. R.; Haltiwanger, R. C.; Pierpoint, C. G. *Inorg. Chem.* 1990, 29, 645-652, Schéma 2). Procentové zastoupení prvků C, H,
- 15 N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $\text{PtS}_2\text{O}_6\text{C}_{10}\text{H}_{18}$: C, 24,3 (23,9); H, 3,7 (3,9) %. IR ($\nu_{\text{Nujol}}/\text{cm}^{-1}$): 326, 378, 471. IR ($\nu_{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$): 2924, 1663, 1613, 1353, 1160, 1130.

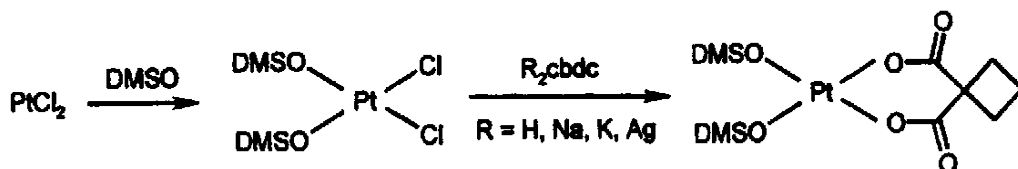


Schéma 2

- 20 **Příklad 1:** Příprava bis(2-chlor-6-(3,4-dichlormethyl)benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátplatnatého komplexu, $[\text{Pt}(\text{L}_2)_2(\text{cbdc})]$

- V 15 ml destilované vody bylo za laboratorní teploty rozpuštěno 0,1 g (0,2 mmol) $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$, připraveného dle (Bitha, P.; Morton, G. O.; Dunne, T. S.; Santos, E. F. D.; Lin, Y.; Boone, S. R.; Haltiwanger, R. C.; Pierpoint, C. G. *Inorg. Chem.* 1990, 29, 645-652.). Do
- 25 vzniklého roztoku byl přidán roztok 0,148 g (0,4 mmol) 2-chloro-6-(3,4-dichlormethyl)benzylamino-9-isopropylpurinu (L_2) ve 20 ml isopropanolu. Směs byla míchána po dobu dvou dnů při teplotě 90 °C, až vznikl světle šedý produkt, který byl odfiltrován, promyt studenou destilovanou vodou a vysušen v exsikátoru nad silikagelem (Schéma 3)

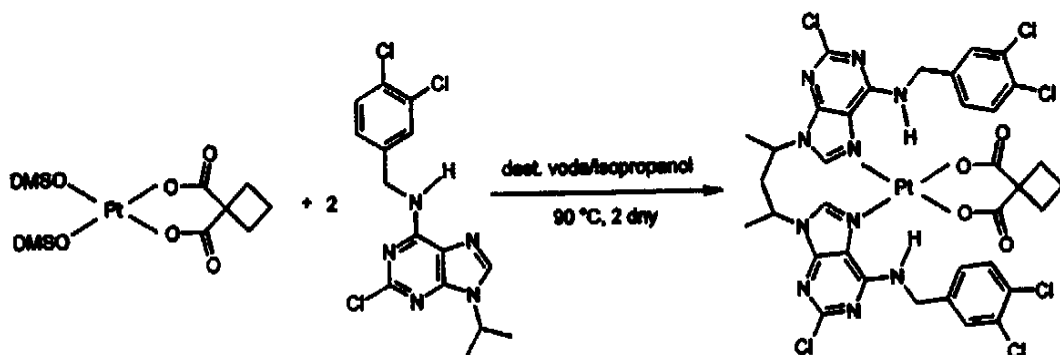


Schéma 3

30

Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $\text{PtC}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_{10}\text{O}_4\text{Cl}_6$: C, 40,1 (39,8); H, 3,1 (3,1); N, 13,0 (13,2) %. IR ($\nu_{\text{Nujol}}/\text{cm}^{-1}$): 421 (m, Pt-O), 563 (vs, Pt-N). IR ($\nu_{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$): 1169 (m, C-Cl), 1323 (vs, COO), 1586 (m, COO), 1633 (vs, C=N), 2980 (m, C-H), 3424 (w, N-H). Raman ($\nu_{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$): 261 (w, Pt-N), 479 (w, Pt-O),

890 (m, C-H), 1339 (vs, N-H), 1586 (s, C=N), 2942 (s, C-H₂), 3064 (s, C-H). ¹H NMR (DMF-*d*₇, tetramethylsilan-SiMe₄, ppm): δ 9,44 (t, 1H, 6,4, N6H), 9,32 (s, 1H, C8H), 7,68 (d, 1H, 1,8, C11H), 7,58 (dd, 1H, 8,4, 1,8, C14H), 7,53 (d, 1H, 8,4, C15H), 4,96 (d, 2H, 6,2, C9H), 4,84 (sep, 1H, 6,8, C16H), 2,90 (m, 2H, C22Ha, C23Ha), 2,80 (q, 1H, 7,7, C24Ha), 1,67 (m, 2H, C22Hb, C23Hb), 1,47 (m, 1H, C24Hb). ¹³C NMR (DMF-*d*₇, SiMe₄, ppm): δ 177,61 (C19, C20), 155,17 (C6), 153,9 (C2), 150,3 (C4), 143,86 (C8), 140,94 (C10), 132,08 (C12), 131,14 (C15), 130,60 (C13), 130,04 (C11), 128,54 (C14), 116,71 (C5), 56,79 (C21), 49,84 (C16), 44,15 (C9), 31,41 (C22, C23), 22,10 (C17, C18), 15,83 (C24). ¹⁵N NMR (DMF-*d*₇, ppm): δ 232,7 (N1), 225,3 (N3), 185,2 (N9), 129,3 (N7), 96,3 (N6). ¹⁹⁵Pt NMR (DMF-*d*₇, K₂PtCl₄, ppm): δ -1622,45.

10 **Příklad 2:** Příprava bis(2-chlor-6-(2-fluoro-6-bromo)benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátolpatnatého komplexu, [Pt(L₁)₂(cbdc)]

V 15 ml destilované vody bylo za laboratorní teploty rozpuštěno 0,1 g (0,2 mmol) [Pt(DMSO)₂(cbdc)] a do vzniklého roztoku přidán roztok 0,16 g (0,4 mmol) 2-chloro-6-(2-fluoro-6-brom)benzylamino-9-isopropylpurinu (L₁) ve 20 ml isopropanolu. Směs byla míchána po dobu dvou dnů při teplotě 90 °C, až vznikl světle šedý produkt, který byl odfiltrován, promyt studenou destilovanou vodou a vysušen v exsikátoru nad silikagelem (Schéma 4). Na základě CHN chemické analýzy, infračervené (střední a vzdálená oblast), Ramanovy a ¹H, ¹³C a ¹⁹⁵Pt NMR spektroskopie bylo potvrzeno složení komplexu.

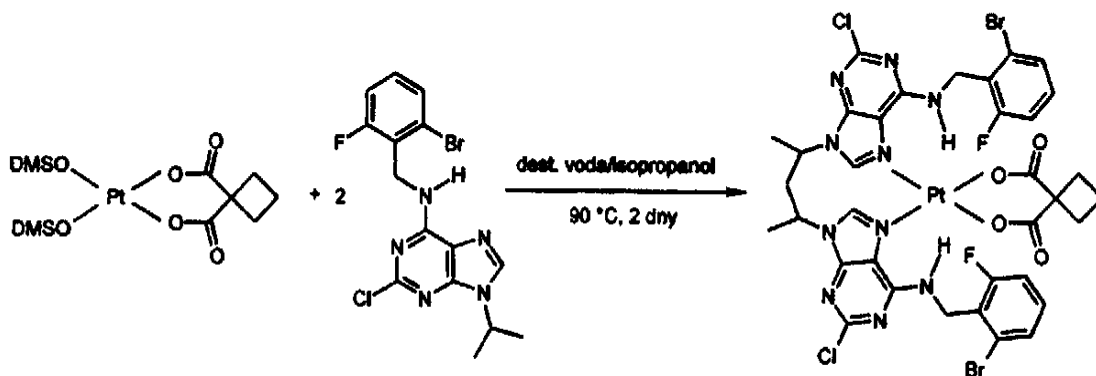


Schéma 4

Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro PtC₃₆H₃₄N₁₀O₄Cl₂F₂Br₂: C, 38,1 (37,7); H, 3,0 (2,8); N, 12,3 (12,6) %. IR (νNujol/cm⁻¹): 432 (w, Pt-O), 554 (m, Pt-N). IR (νKBr/cm⁻¹): 1171 (m, C-Cl), 1322 (s, COO), 1586 (m, COO), 1621 (s, C=N), 2980 (w, C-H), 3427 (s, N-H). Raman (νKBr/cm⁻¹): 262 (w, Pt-N), 478 (w, Pt-O), 887 (m, C-H), 1339 (vs, C-O), 1586 (s, C=N), 2942 (s, C-H₂), 3064 (s, C-H). ¹H NMR (DMF-*d*₇, tetramethylsilan-SiMe₄, ppm): δ 9,38 (t, 1H, 6,4, N6H), 9,08 (s, 1H, C8H), 7,59 (s, 1H, C15H), 7,49 (d, 1H, 8,4, C13H), 7,32 (d, 1H, 7,7, C12H), 4,96 (d, 2H, 6,0, C9H), 4,87 (sep, 1H, 6,7, C16H), 2,86 (m, 2H, C22Ha, C23Ha), 1,80 (m, 1H, C24Ha), 1,67 (m, 2H, C22Hb, C23Hb), 1,63 (d, 6H, 6,8, C17H, C18H), 1,57 (m, 1H, C24Hb). ¹³C NMR (DMF-*d*₇, SiMe₄, ppm): δ 177,41 (C19, C20), 155,27 (C6), 153,75 (C2), 150,07 (C4), 143,98 (C8), 141,94 (C10), 132,28 (C11), 130,84 (C14), 130,60 (C12), 129,74 (C13), 128,84 (C15), 116,51 (C5), 56,82 (C21), 49,86 (C16), 44,35 (C9), 31,41 (C22, C23), 22,14 (C17, C18), 15,86 (C24). ¹⁹⁵Pt NMR (DMF-*d*₇, K₂PtCl₄, ppm): δ -1626,23.

35 **Příklad 3:** Příprava bis(2-(3-hydroxypropylamino)-6-benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátolpatnatého komplexu, [Pt(L₈)₂(cbdc)]

V 15 ml destilované vody bylo za laboratorní teploty rozpuštěno 0,1 g (0,2 mmol) [Pt(DMSO)₂(cbdc)] a do vzniklého roztoku přidán roztok 0,136 g (0,4 mmol) 2-(3-hydroxypropylamino)-6-benzylamino-9-isopropylpurinu (L₈) ve 20 ml ethylacetátu. Směs byla míchána po dobu dvou dnů při teplotě 90 °C, až vznikl světle šedý produkt, který byl odfiltrován, promyt studenou destilovanou vodou a vysušen v exsikátoru nad silikagelem (Schéma 5). Na základě

CHN chemické analýzy, infračervené (střední a vzdálená oblast), Ramanovy a ^1H , ^{13}C a ^{195}Pt NMR spektroskopie bylo potvrzeno složení komplexu.

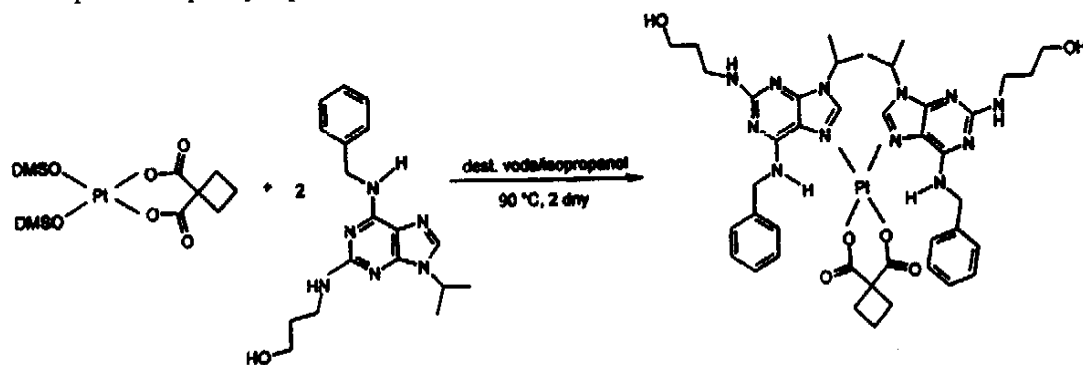


Schéma 5

- 5 Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $\text{PtC}_{42}\text{H}_{54}\text{N}_{12}\text{O}_6$: C, 49,6 (49,9); H, 5,3 (5,3); N, 16,5 (16,1) %. IR ($\nu_{\text{Nujol}}/\text{cm}^{-1}$): 449 (w, Pt-O), 557 (m, Pt-N). IR ($\nu_{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$): 1346 (s, COO), 1551 (m, COO), 1621 (s, C=N), 2970 (w, C-H). Raman ($\nu_{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$): 253 (w, Pt-N), 477 (w, Pt-O), 814 (m, C-H), 1328 (vs, C-O), 1611 (s, C=N), 2938 (s, C-H₂), 3057 (s, C-H). ^1H NMR (DMF-*d*₇, tetramethylsilan-SiMe₄, ppm): δ 8,74 (s, 1H, C8H), 8,66 (bs, 1H, N6H), 7,51 (dd, 2H, 7,3, 1,5, C11H, C15H), 7,27 (tt, 2H, 7,3, 1,5, C12H, C14H), 7,20 (dd, 1H, 7,3, 1,5 C13H), 6,72 (t, 1H, 6,2, N2H), 4,74 (d, 2H, 6,0, C9H), 4,72 (sep, 1H, 6,8, C16H), 4,49 (bs, 1H, O21H), 3,59 (t, 2H, 6,2, C21H), 3,42 (q, 2H, 6,2, C19H), 2,89 (t, 2H, 8,2, C24H), 1,77 (t, 2H, 8,2, C25H), 1,75 (t, 2H, 6,4, C20H), 1,54 (d, 6H, 6,8, C17H, C18H). ^{13}C NMR (DMF-*d*₇, SiMe₄, ppm): δ 177,70 (C19, C20), 160,58 (C2), 153,53 (C6), 151,01 (C4), 140,62 (C10), 139,17 (C8), 128,82 (C12,14), 128,30 (C11,15), 127,21 (C13), 111,45 (C5), 60,17 (C21), 56,73 (C23), 48,30 (C16), 44,62 (C9), 39,45 (C19), 33,45 (C20), 31,38 (C24,25), 22,06 (C17, C18), 15,85 (C26). ^{195}Pt NMR (DMF-*d*₇, K₂PtCl₄, ppm): -1611.

Příklad 4: Příprava dimethylsulfoxido-(2-chlor-6-(2-methoxy)benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátplatnatého komplexu, [Pt(DMSO)(L₇)(cbdc)]

- 20 V 15 ml destilované vody bylo za laboratorní teploty rozpuštěno 0,1 g (0,2 mmol) [Pt(DMSO)₂(cbdc)] a do vzniklého roztoku přidán roztok 0,08 g (0,2 mmol) 2-chloro-6-(2-methoxy)benzylamino-9-isopropylpurinu ve 20 ml isopropanolu. Směs byla míchána po dobu dvou dnů při laboratorní teplotě (Schéma 6). Vzniklý šedý produkt byl odfiltrován, promyt studenou destilovanou vodou a vysušen v exsikátoru nad silikagelem. Z filtrátu byly stáním a volným odpařováním získány bezbarvé krystaly a pomocí monokrystalové rentgenostrukturní analýzy byla vyřešena molekulová a krystalová struktura komplexu [Pt(DMSO)(L₇)(cbdc)] · H₂O. Molekulová struktura byla určena na přístroji Oxford Xcalibur diffractometer s detektorem CrysAlis CCD (Oxford Diffraction, 2002), redukce dat a určení mřížkových parametrů bylo provedeno pomocí CrysAlis RED (Oxford Diffraction, 2002), molekulová struktura byla řešena přímou metodou programem SHELXS97 (Sheldrick, G.M. SHELXS 97, Acta Cryst. A 1990, 46, 467), a další výpočty byly provedeny programem SHELXL97 (Sheldrick, G.M. SHELXL 97, Program for Crystal Structure Refinement, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997). Jako software pro zobrazení molekulové struktury byl použit program Diamond (Brandenburg, K. DIAMOND, Release 3.1f, Crystal Impact GbR, Bonn, Germany, 2006).

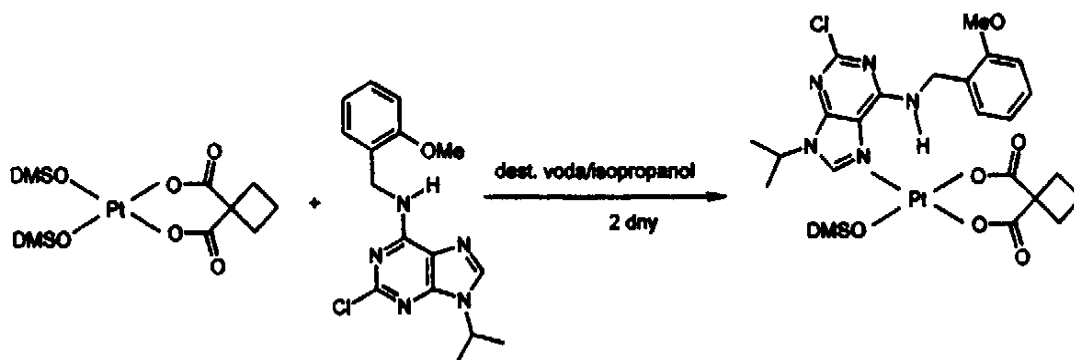


Schéma 6

Příklad 5: *In vitro* cytotoxická aktivita nových derivátů karboplatiny $[Pt(L_{1-6})_2(cbdc)]$ (1-6) s ligandy odvozenými od 2-chloro-6-*R*-benzylamino-9-isopropylpurinu (*R* = 2-fluor-6-brom L_1 , 3,4-dichlor L_2 , 3-brom L_3 , 2-trifluormethyl L_4 , 3-trifluormethyl L_5 , 4-trifluormethyl L_6).

Jedním z parametrů používaných jako základ pro stanovení *in vitro* cytotoxicity je metabolická aktivita životaschopných buněk. Například mikrotitrační analýza, kde se používá Calcein AM, je dnes rozšířena jako metoda kvantifikace buněčné proliferace a cytotoxicity. Tento test je využíván v programech pro screening léků a pro testy chemosensitivity. Testem se rozpoznávají pouze životaschopné buňky. Množství zredukovaného Calceinu AM odpovídá počtu životaschopných buněk v kultuře.

Pro rutinní screening sloučenin a stanovení *in vitro* cytotoxické aktivity byly vybrány buněčné linie prsního karcinomu MCF-7 a buňky lidské erythroleukemie K562. Buňky byly udržovány v Nunc/Corning 80 cm² plastických lahvích a pěstovány v mediu pro buněčné kultury (DMEM obsahující 5 g/l glukózy, 2 mM glutaminu, 100 U/ml penicilinu, 100 µg/ml streptomycinu, 10 % fetálního telecího séra a hydrogenuhličitan sodný), komplexy byly připraveny podle postupu popsáno v této žádosti.

Buněčné suspenze byly připraveny a naředěny podle typu buněk a podle očekávané konečné hustoty buněk (10000 buněk na jamku na základě charakteristik buněčného růstu), pipetovalo se 80 µl buněčné suspenze na 96-jamkové mikrotitrační destičky. Inokuláty byly stabilizovány 24 hodinovou preinkubací při 37 °C v atmosféře CO₂.

Jednotlivé koncentrace testovaných látek byly přidány v čase nula jako 20 µl alikvotní podíl do jamek mikrotitračních destiček. Obvykle se sloučeniny ředily do šesti koncentrací v čtyřnásobné ředící řadě. Při rutinním testování byla nejvyšší koncentrace v jamce 25 µM, změny této koncentrace závisí na dané látce. Všechny koncentrace byly testovány v dubletu. Inkubace buněk s testovanými deriváty trvala 72 hodin při 37 °C, 100% vlhkosti a v atmosféře CO₂. Na konci inkubační periody byly buňky analyzovány po přidání roztoku Calceinu AM (Molecular Probes) a inkubace probíhala další 1 hodinu. Fluorescence (FD) byla měřena pomocí Labsystem FIA readeru Fluoroskan Ascent (Microsystems). Přežití nádorových buněk (The tumor cell survival-TCS) bylo spočítáno podle následujícího vztahu: $IC_{50} = (FD_{\text{jamka s derivátem}} / FD_{\text{kontrolní jamka}}) \times 100 \%$. Získaná hodnota IC_{50} odpovídá koncentraci látky, kdy je usmrceno 50 % nádorových buněk.

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-difenyltetrazolium 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 neroz-

pustné a je následně kvantifikováno po rozpuštění v DMSO s amoniakem za použití klasického spektrofotometru (ELISA reader).

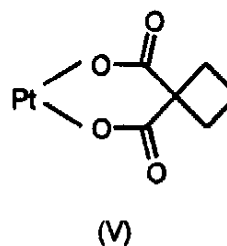
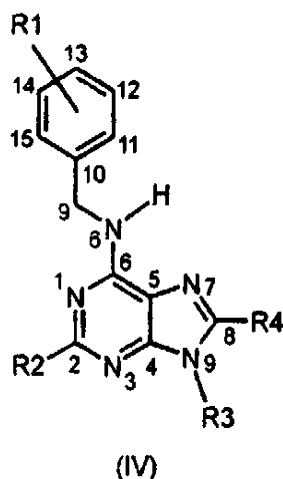
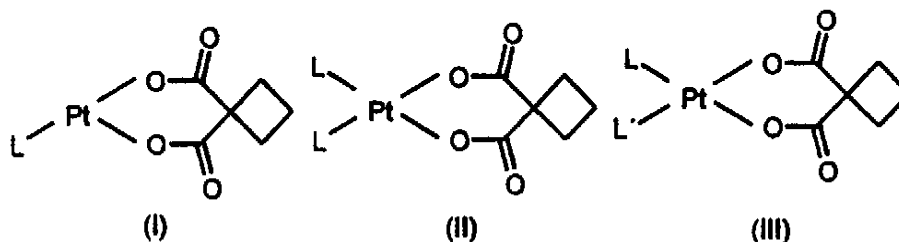
Výsledky stanovení *in vitro* cytotoxicity za využití AM a MTT testů vyjádřené pomocí hodnoty IC_{50} pro komplexy o složení $[Pt(L_{1-6})_2(cbdc)]$ (1-6) s ligandy odvozenými od 2-chloro-6-*R*-benzylamino-9-isopropylpurinu (R = 2-fluoro-6-bromo L_1 , 3,4-dichloro L_2 , 3-bromo L_3 , 2-trifluoromethyl L_4 , 3-trifluoromethyl L_5 , 4-trifluoromethyl L_6) jsou uvedeny v tabulce 1, když látky byly testovány *in vitro* na 3 lidských nádorových liniích, a to MCF-7 prsní karcinom, K562 erythro-
leukemie, HOS osteosarkom. Hodnoty IC_{50} byly pro karboplatinu nalezeny v (Carland, M.; Tan, K. J.; White, J. M.; Stephenson, J.; Murray, V.; Denny, W. A.; McFadyen, W. D. J. *Inorg. Bioch.* 2005, 99, 1738-1743)(1) a (Ghezzi, A. R.; Aceto, M.; Cassino, C.; Gabano, E.; Osella, D. J. *Inorg. Bioch.* 2004, 98, 73-78)(2).

Tabulka 1

komplex	MCF-7	MCF-7	K562	HOS
	AM-test	MTT test	AM test	MTT test
1	9,5	15,1±6,8	9,0	17,4±2,0
2	4,8	13,6±5,2	4,3	14,8±2,1
3	5,0	22,1±14,0	6,8	>50
4	9,2	25,1±9,3	9,0	>50
5	14,1	38,9±3,0	21,0	>50
6	7,5	19,0±6,6	19,2	>50
cisplatina	11	19,6±4,3	5	34,2±6,4
karboplatina	60 ⁽¹⁾	>1	250 ⁽²⁾	>1

NÁROKY NA OCHRANU

1. Cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexy platiny v oxidačním stupni +II a jejich krystalosolváty zahrnující strukturní motiv I nebo obecného vzorce II vyjádřeného strukturním vzorcem $[\text{Pt}(\text{L})_2(\text{cbdc})]$ nebo obecného vzorce III vyjádřeného strukturním vzorcem $[\text{Pt}(\text{L})(\text{L}')(\text{cbdc})]$, kde (cbdc) je cyklobutan-1,1-dikarboxylátový dianion, kde symboly L a L' představují deriváty N6-benzyladeninu obecného vzorce IV vázaného na atom platiny základního motivu V



- přes libovolný atom dusíku adeninu nezávisle vybraný z atomů N1, N3, N6, N7 nebo N9, v závislosti na míře substituce molekul, a kde jsou
- 10 - substituenty **R1**, **R2**, **R3** a **R4** 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 N-**R'-R''**, 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,
- 15 kde termín:
- *halogen*
představuje atom fluoru, bromu, chloru, nebo jodu,
- 20 - *alkyl*

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

- *alkenyl*

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

- *alkynyl*

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

- *cykloalkyl*

jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cyklický uhlovodík 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,

15 - *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*

20 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 heteroatomy,

25 - *aryl*

jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje skupinu obsahující alespoň jeden aromatický kruh,

- *heteroaryl*

30 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*

35 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, amido, nitroso, sulfonyl, sulfinyl, sulfamido, thio, alkylthio, arylthio, merkaptó, karbamoyl,

40 - *substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl, substituovaný cykloalkyl, substituovaný cykloheteroalkyl, substituovaný cykloalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl*

45 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, cykloheteroalkenyl, aryl, heteroaryl a funkční skupina.

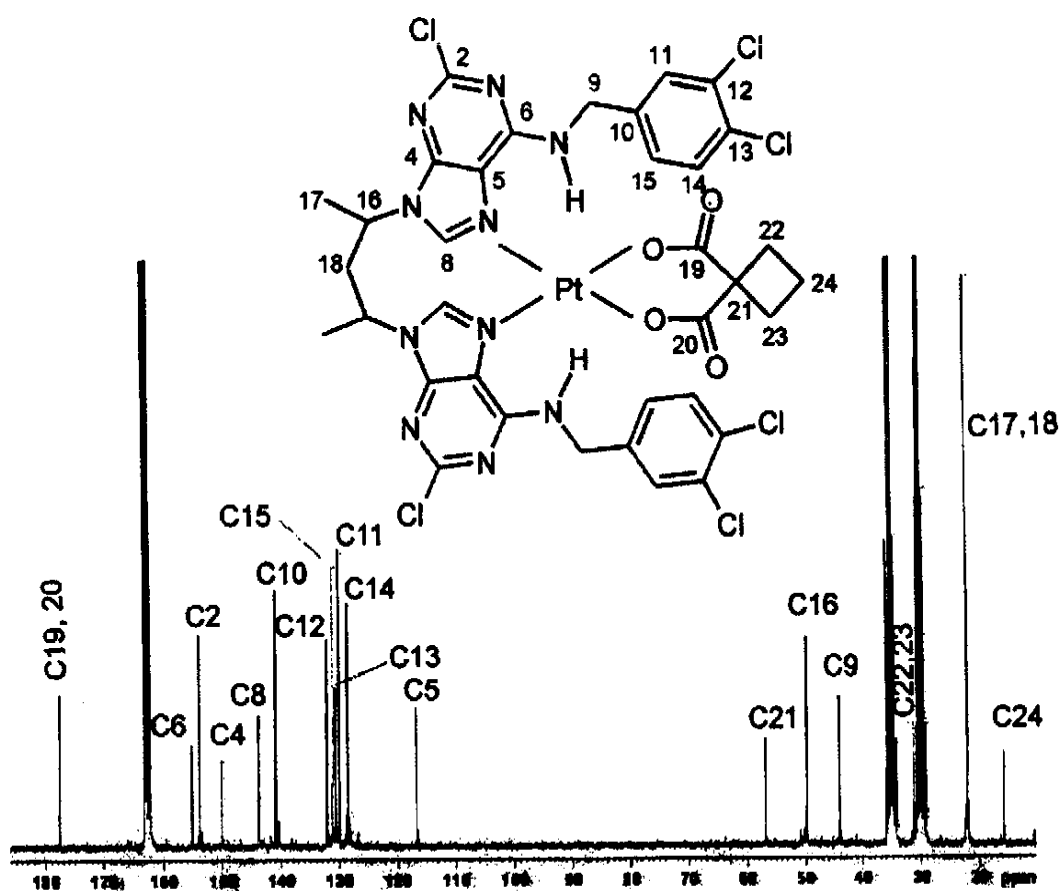
2. Krystalosolváty platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů podle nároku 1, kde u sloučenin obecného složení $[\text{Pt}(\text{L})_2(\text{cbdc})] \cdot x\text{Solv}$ nebo $[\text{Pt}(\text{L})(\text{L}')(\text{cbdc})] \cdot x\text{Solv}$ udává x počet krystalových molekul, především 1 až 6, a Solv je konkrétní molekula použitého rozpouštědla

a/nebo některá z reakčních komponent, obvykle vybrána ze skupiny voda, primární alkohol, sekundární alkohol, aceton, *N,N*-dimethylformamid, dimethylsulfoxid, chloroform, dichlormethan, acetonitril nebo diethylether, a to buď samostatně, nebo v kombinaci uvedených solvátových molekul.

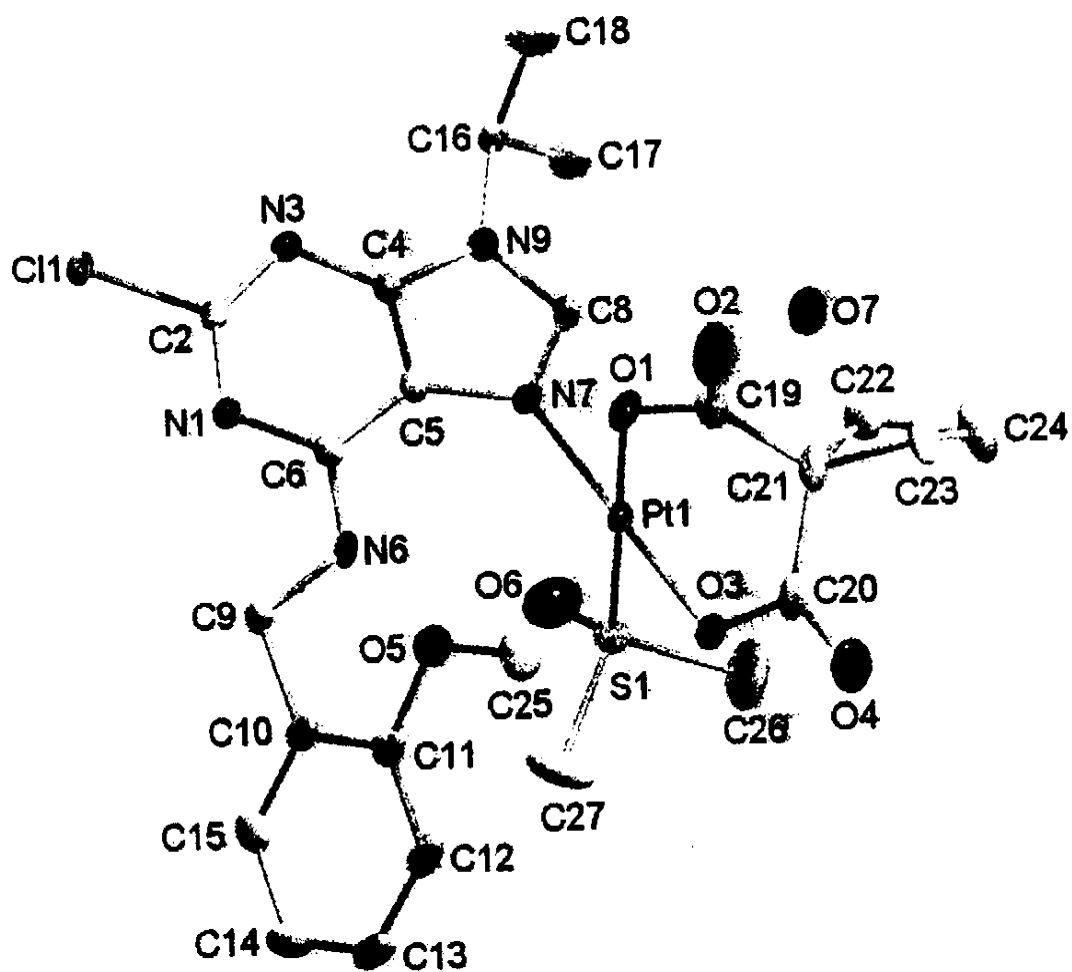
- 5 3. Farmaceutický nebo farmakologický prostředek, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje terapeuticky účinné množství platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů podle nároku 1 nebo farmaceutickou kompozici platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů s jedním či více přijatelných nosičů a pomocných látek.
4. Farmaceutický nebo farmakologický prostředek podle nároku 3 pro použití v lékařství.

10

5 výkresů

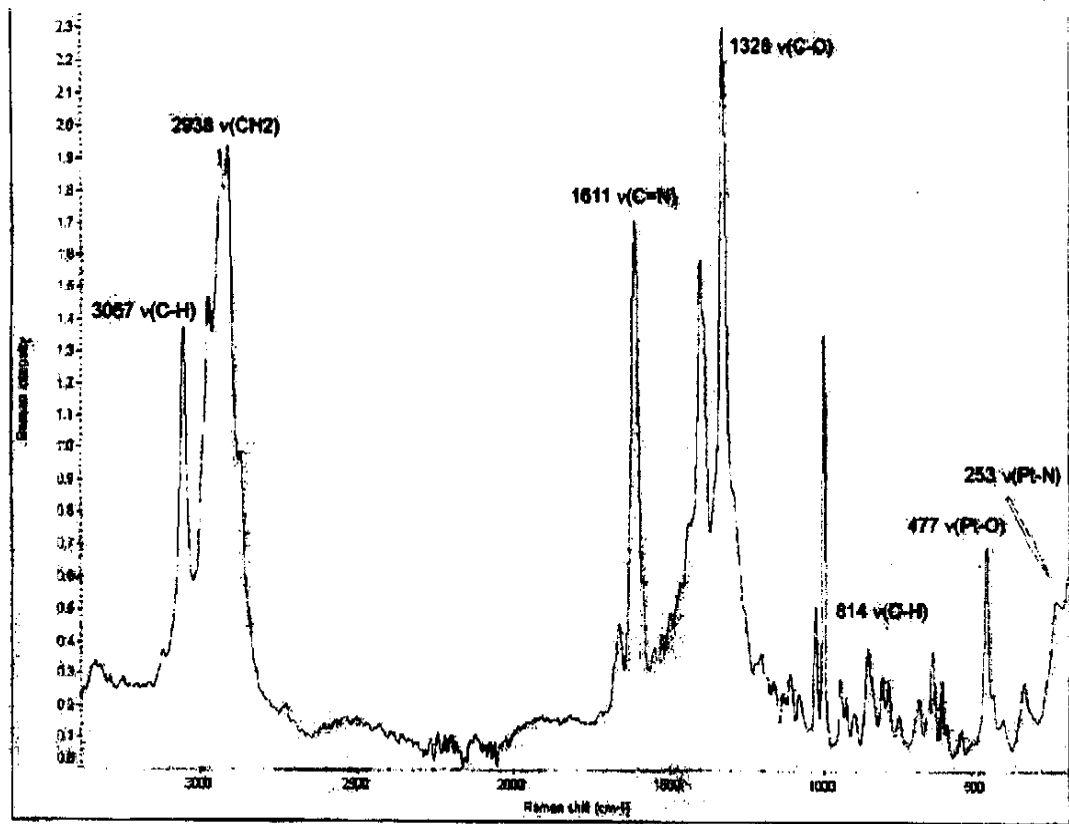


Obr.1

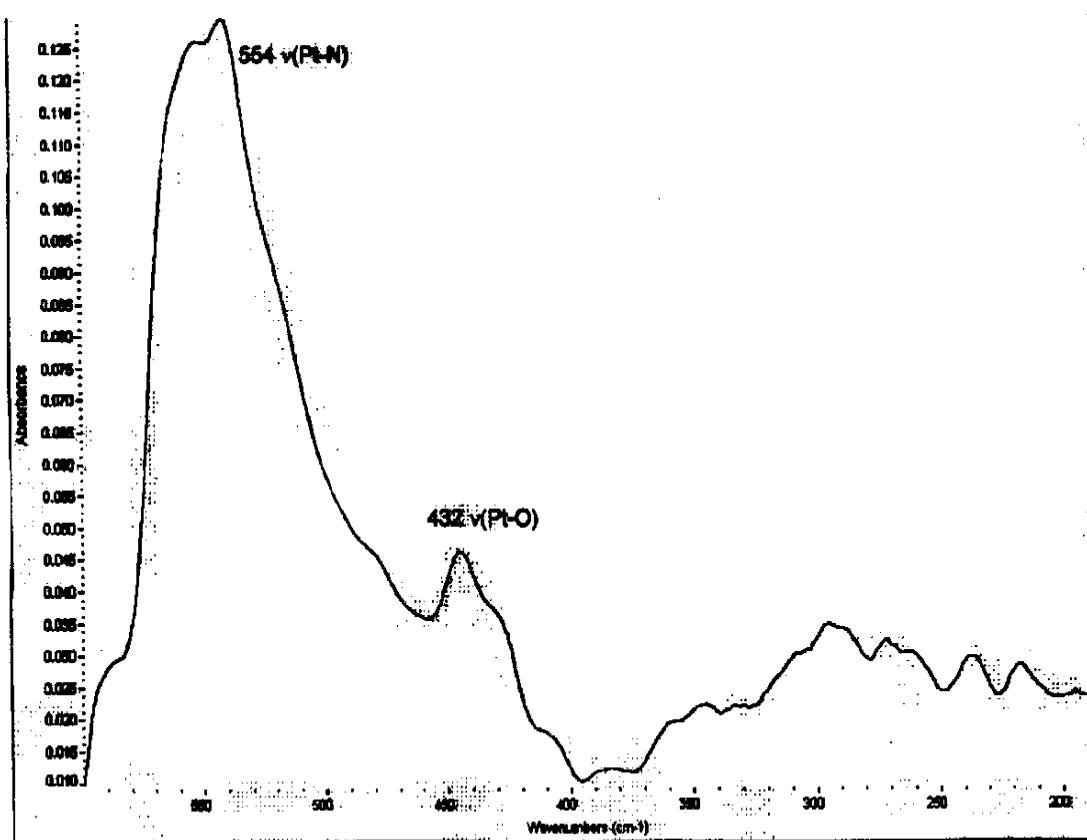


Obr.5

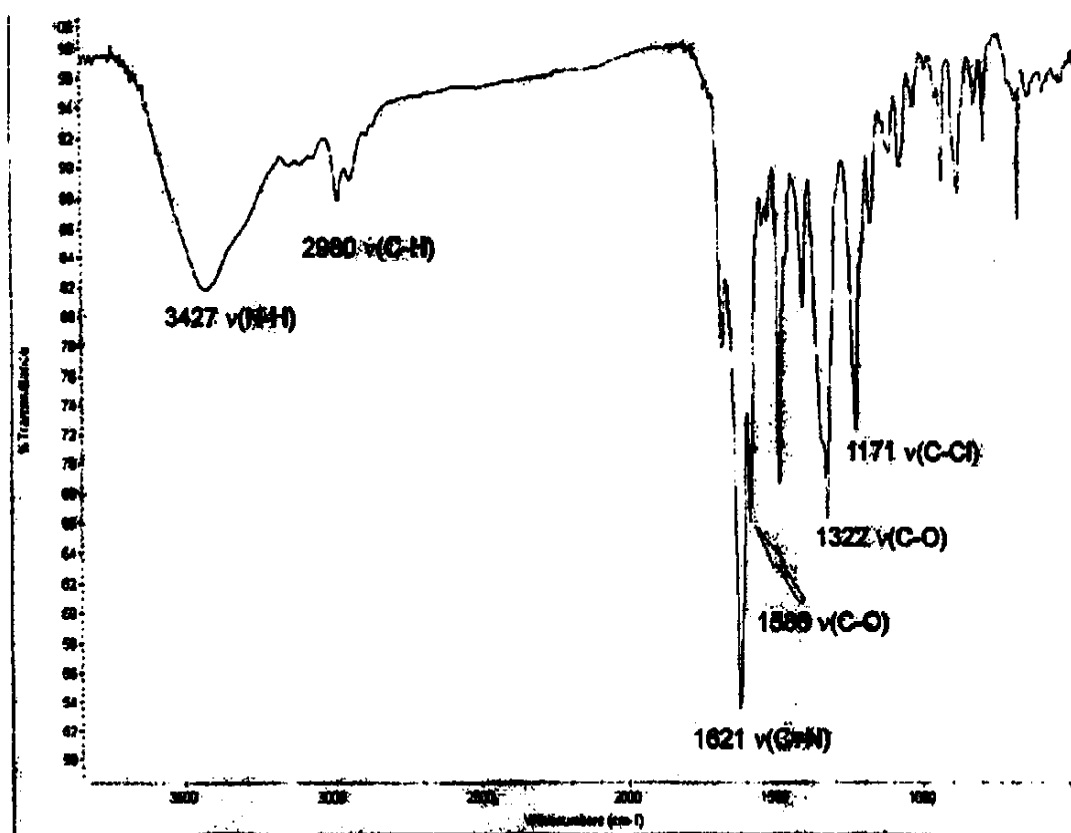
Konec dokumentu



Obr.4



Obr.3



Obr.2