

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

305 374

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07F 15/00 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

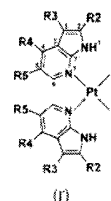
(21) Číslo přihlášky: **2014-275**
 (22) Přihlášeno: **22.04.2014**
 (40) Zveřejněno: **19.08.2015**
(Věstník č. 33/2015)
 (47) Uděleno: **08.07.2015**
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku: **19.08.2015**
(Věstník č. 33/2015)

(56) Relevantní dokumenty:
 Štarha, Pavel, et al. "How to modify 7-azaindole to form cytotoxic Pt (II) complexes: Highly in vitro anticancer effective cisplatin derivatives involving halogeno-substituted 7-azaindole." Journal of inorganic biochemistry 115 (2012): 57-63.; Štarha, Pavel, et al. "Pharmacological and Molecular Effects of Platinum (II) Complexes Involving 7-Azaindole Derivatives." PloS one 9.3 (2014): e90341.
 ; Muchova, Tereza, et al. "Insight into the toxic effects of cis-dichloridoplatinum (II) complexes containing 7-azaindole halogeno derivatives in tumor cells." JBIC, Journal of biological and inorganic chemistry 18.5 (2013): 579-589..
 CZ 20110000626 A1.

(73) Majitel patentu:
 Univerzita Palackého, Olomouc, CZ

(72) Původce:
 prof. RNDr. Zdeněk Trávníček, Ph.D., Štěpánov, CZ
 Mgr. Pavel Štarha, Ph.D., Dub nad Moravou, CZ
 prof. RNDr. Zdeněk Dvořák, Ph.D.DrSc.,
 Olomouc, CZ

(74) Zástupce:
 Ing. Petr Soukup, Vídeňská 8, 772 00 Olomouc



(54) Název vynálezu:
Dijodo-komplexy platiny a jejich použití pro přípravu léčiv k léčbě nádorových onemocnění

(57) Anotace:
 Dijodo-komplexy platiny v oxidačním stupni +II se 7-azaindolem nebo jeho deriváty obecného vzorce cis-[Pt(L)₂I₂] I, vyjádřené strukturálním vzorcem I', kde symbol L představuje 7-azaindol nebo jeho derivát vázaný na atom platiny přes atom dusíku N7, přičemž pokud L představuje derivát 7-azaindolu, tak alespoň jeden ze substituentů R2, R3, R4 a R5 je vybrán z funkčních skupin alkyl nebo halogen, kde halogen je vybrán ze skupiny F, Cl, Br, I, a alkyl představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 1 až 6, především pak z 1 až 4, atomů uhlíku. Komplexy jsou určeny jako farmakologické prostředky pro použití pro léčbu prsního karcinomu a/nebo pro léčbu osteosarkomu a/nebo pro léčbu karcinomu vaječníku a/nebo pro léčbu karcinomu vaječníku rezistentního vůči cisplatině a/nebo pro léčbu karcinomu prostaty a/nebo pro léčbu karcinomu plic a/nebo pro léčbu karcinomu děložního čípku a/nebo pro léčbu maligního melanomu.

CZ 305374 B6

Dijodo–komplexy platiny a jejich použití pro přípravu léčiv k léčbě nádorových onemocnění

5 Oblast techniky

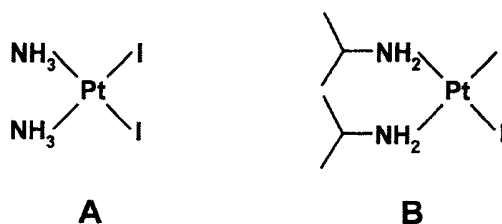
Předložený vynález se zabývá diiodoplatnatými komplexy se 7-azaindolem nebo jeho deriváty a jejich použití k přípravě léčiv pro léčbu nádorových onemocnění, konkrétně pak pro léčbu prsního karcinomu, osteosarkomu, karcinomu vaječníků, karcinomu vaječníků resistantního vůči *cis-platině*, karcinomu prostaty, karcinomu plic, karcinomu děložního čípku a/nebo maligního melanomu.

15 Dosavadní stav techniky

Původním, a do současnosti stále v onkologické praxi nepoužívanějším, chemoterapeutikem na bázi platiny, je *cis*-diamin–dichloroplatnatý komplex, *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], obecně známý pod názvem *cisplatina*. Používá se především při terapii karcinomů (např. vaječníků), ale i dalších typů nádorů (sarkomy, lymfomy). Nedostatky klinické aplikace *cisplatin*y jsou její negativní vedlejší účinky (např. nefrotoxicita, neurotoxicita, myelosuprese) a přirozená nebo získaná rezistence některých nádorů vůči *cisplatině*. Nejen z těchto důvodů je výzkum a vývoj koordinačních sloučenin platiny i po půl století od objevu protinádorových účinků *cisplatin*y stále moderní a dynamicky se rozvíjející výzkumnou oblastí bioanorganické a medicínální chemie, jejímž ideálním cílem je příprava takové látky, která by při aplikaci vyvolávala vyšší protinádorové účinky a její negativní výše zmíněné vedlejší účinky, doprovázející léčbu, by byly současně potlačeny, případně by její aplikace nebyla provázána problémy s rezistencí.

Od počátku výzkumu protinádorově aktivních komplexů platiny bylo na diiodo–komplexy nahlíženo jako na farmakologicky málo perspektivní deriváty *cisplatin*y, protože již *cis*-diamin–diiodoplatnatý komplex, *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] (vzorec A), byl prokázán jako protinádorově téměř neaktivní (Cleare and Hoeschele, Bioinorg. Chem.

1973, 2, 187). Nicméně, i přesto byly nadále vyvíjeny a zkoumány nové diiodo–komplexy platiny, přičemž zcela ojediněle bylo v případě takovýchto sloučenin zjištěno, že látky vykazují výraznou protinádorovou aktivitu, dokonce i vyšší ve srovnání s klinicky užívanými metaloterapeutiky na bázi platiny (např. Messori *et al.*, ACS Med. Chem. Lett. 2010, 1, 381; vzorec B).



Na základě literárního průzkumu je tedy zřejmé, že protinádorovou aktivitu diiodoplatnatých komplexů nelze předem predikovat. Lze ale také současně nepřímou vyvodit, že případná protinádorová aktivita u takovýchto systémů může být odvislá od použitého nosného *N*-donorového ligandu, což ale nic nemění na výše uvedené skutečnosti, že v obecné rovině nelze protinádorový účinek předem očekávat. Tento zobecněný závěr pak může být podpořený faktem, že dosud žádný z připravených diiodo–komplexů platiny nevstoupil jako léčivo do klinické praxe.

S předmětnými látkami předloženého spisu, kterými jsou diiodoplatnaté komplexy s deriváty 7-azaindolu (L) obecného vzorce *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] (I), souvisí v literatuře popsání diiodo komplexy platiny v oxidačním stupni +II obsahující ve své struktuře jednu nebo dvě monodentátní hetero-

cyklické molekuly (L') koordinované na centrální Pt(II) atom přes endocyklický atom dusíku, jejichž obecný vzorec lze vyjádřit jako *cisItrans*-[Pt₂(L')₂] nebo *cisItrans*-[Pt₂(L')L''] (L'' = ligand odlišný od L'), a u kterých byla studována a popsána jejich cytotoxická, především pak protinádorová aktivita. Ve spisu WO2012/085 475 jsou popsány platnaté komplexy obsahující karbenové ligandy a pyridin a jejich terapeutické využití k léčbě různých nádorových onemocnění. V práci Huq *et al.* Int. J. Cancer Res. 2006, 2, 367 byl popsán komplex s 2,3-pyridindiaminem, u kterého sice nebyla stanovena jeho *in vitro* cytotoxicita, jako u v práci popsaných dichloro-komplexů, ale bylo prokázáno, že tento komplex ve srovnání s dichloro analogem méně proniká do nádorových buněk a méně se váže na jejich DNA. Komplexy *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] a *cis*-[Pt(NH₃)(dptp)I₂] s 5,7-difenyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidinem (dptp) byly testovány vůči A549 plicnímu a T47D prsnímu karcinomu, avšak vykazovaly nižší cytotoxickou aktivitu ve srovnání s dichloro analogy i s *cisplatinou* (Lakomska *et al.*, Spectrochim. Acta A, 91, 2012, 126). Dalšími v literatuře popsanými diiodoplatnatými komplexy jsou tři látky obecného složení *cis*-[Pt(*n*Im)₂I₂], kde *n*Im symbolizuje imidazol a jeho deriváty di(1*H*-imidazol-2-yl)methan a dimethyl-2-(di(1*H*-imidazol-2-yl)methyl)malonát, přičemž pouze poslední z těchto látek byla testována vůči lidským nádorovým liniím karcinomu vaječníku A2780, *cisplatin*-resistentní karcinomu vaječníku A2780Cp8 a kolorektálního karcinomu HCT116, na kterých byly signifikantně méně aktivní ve srovnání s *cisplatinou*, *karboplatinou* i *oxaliplatinou* (Ravera *et al.*, J. Inorg. Biochem. 2011, 105, 400). Ve struktuře diiodoplatnatého komplexu s L-histidinem je zmíněn ligand koordinovaný na centrální atom přes jeden endocyklický a jeden exocyklický atom dusíku, komplex však byl, na rozdíl od analogického dichloro komplexu, *cisplatin*y a *karboplatin*y, inaktivní vůči lidským nádorovým buněčným liniím prsního karcinomu A549/ATCC, kolorektálního karcinomu HT-29 a karcinomu prostaty LNCaP (Ye *et al.*, Chem. Pharm. Bull. 2009, 57, 424).

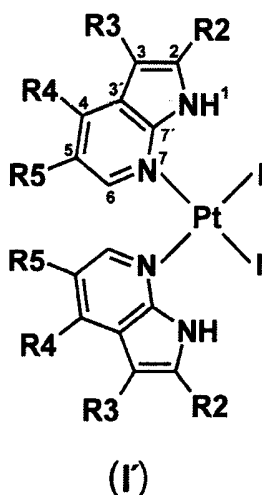
Pokud se zaměříme na druhou část molekuly předložených diiodoplatnatých komplexů s deriváty 7-azaindolu (L) obecného vzorce *cis*-[Pt(L)₂I₂] (I), která je tvořena dvěma deriváty 7-azaindolu (L), které se na centrální atom koordinují přes N7 endocyklický atom dusíku, je třeba zmínit, že bylo v literatuře popsáno několik dihalogeno komplexů platiny v oxidačním stupni +II se 7-azaindolem nebo jeho deriváty koordinujícími se na centrální atom přes endocyklický dusík, přičemž tyto komplexy byly podrobeny studiu cytotoxické aktivity. V konkrétním přiblížení se jedná o *cis*-[Pt(L)₂X₂] komplexy (X = Cl nebo I) se 7-azaindolem (L), jež byly popsány (Harrison *et al.*, Inorg. Chim. Acta 1984, 92, 43) jako *in vivo* protinádorově neefektivní (Yoshida-sarkom, osteosarkom, ADJ/PC6A tumor, P388 myši lymfocytická leukémie). U komplexu *cis*-[Pt(L)₂Cl₂] se 7-azaindolem (L) byla navíc studována *in vitro* cytotoxická aktivita vůči lidským nádorovým buněčným liniím osteosarkomu HOS a prsního karcinomu MCF7, avšak vzhledem k jeho omezené rozpustnosti u nich nebyla žádná výrazná aktivita (IC₅₀ > 1,0 μM) zjištěna (Štarha *et al.*, Polyhedron 2012, 33, 404). New *et al.* (J. Inorg. Biochem. 2009, 103, 1120) studovali komplexy *cis*-[Pt(NH₃)(L)Cl₂] a *trans*-[Pt(NH₃)(L)Cl₂] (L = 7-azaindol), jež vykazovaly nižší protinádorovou aktivitu *in vitro* na linii A2780 ve srovnání s *cisplatinou*. U komplexů výše zmíněného typu *cis*-[Pt(L)₂Cl₂], které ve své struktuře obsahují halogen-deriváty 7-azaindolu (L), byla v nedávné době prokázána výrazně vyšší *in vitro* protinádorová aktivita vůči sérii lidských nádorových linií (HOS, MCF7, LNCaP, A549, A2780, *cisplatin*-resistentní karcinomu vaječníku A2780R, karcinom děložního čípku HeLa, maligní melanom G361) ve srovnání s *cisplatinou* (Štarha *et al.*, J. Inorg. Biochem. 2012, 115, 57; Trávníček *et al.*, CZ303417 (2012), Trávníček *et al.*, CZ303560 (2012); Muchová *et al.*, J. Biol. Inorg. Chem. 2013, 18, 579) a výrazná protinádorová aktivita *in vivo* na myším modelu lymfocytární leukémie (Štarha *et al.*, PLOS One 2014, 9, e90341). Stran *in vitro* protinádorové aktivity zmíněných dichloroplatnatých komplexů s halogen-deriváty 7-azaindolu je na tomto místě vhodné zmínit, že předložené diiodoplatnaté komplexy s analogickými ligandy na bázi 7-azaindolu vykazují vyšší účinek *in vitro* vůči zmíněnému širokému spektru lidských nádorových linií a z tohoto hlediska je lze pokládat za farmakologicky vysoce perspektivní substance pro klinické využití při léčbě nádorových onemocnění.

Závěrem je nutné opět konstatovat, že ačkoli předložené diiodoplatnaté komplexy se 7-azaindolem nebo jeho deriváty mohou být považovány za analogy nedávno popsaných dichloroplatnatých komplexů s halogenderiváty 7-azaindolu, obdobná záměna chloro ligandů za jodo ve

struktura platnatých komplexů není automatickou garancí výrazných cytotoxických účinků (viz výše zmíněná inaktivita *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] vs klinické onkologické využití *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂], Cleare and Hoeschele, Bioinorg. Chem. 1973, 2, 187). Naopak, velmi často jsou diiodoplatnaté komplexy těmi méně aktivními ve srovnání s dichloroplatnatými komplexy (např. de Mier-Vinué *et al.*, J. Inorg. Biochem. 2008, 102, 973; Berger *et al.*, Chem Med Chem 2007, 2, 505–514). Z výše uvedených a literárně doložitelných faktů je i proto nezbytné nahlížet na předložené diiodoplatnaté komplexy obecného složení *cis*-[Pt(L)₂I₂] se 7-azaindolem nebo jeho deriváty (L) jako na unikátní látky s vysokou perspektivou uplatnění jako možných léčiv nádorových onemocnění.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu jsou diiodo-komplexy platiny v oxidačním stupni +II s 7-azaindolem nebo jeho deriváty obecného vzorce *cis*-[Pt(L)₂I₂] I, vyjádřené strukturním vzorcem I'



kde

- symbol L představuje 7-azaindol nebo jeho derivát vázaný na atom platiny přes atom dusíku N7, přičemž pokud L představuje derivát 7-azaindolu, tak alespoň jeden ze substituentů R2, R3, R4 a R5 je vybrán z funkčních skupin alkyl nebo halogen, kde halogen je vybrán ze skupiny F, Cl, Br, I, a
- alkyl představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 1 až 6, především pak z 1 až 4, atomů uhlíku.

Také jsou podstatou vynálezu krystalosolváty komplexů platiny vzorce I a I', kde u sloučenin obecného složení *cis*-[Pt(L)₂I₂].*nSolv* jsou

- L 7– je azaindol nebo jeho derivát vázaný na atom platiny přes atom dusíku N7
- *n* udává počet krystalově vázaných molekul, především 1 až 6, a
- *Solv* je konkrétní molekula použitého rozpouštědla a/nebo některá z reakčních komponent 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.

Rovněž je podstatou vynálezu farmakologický prostředek obsahující terapeuticky účinné množství platnatých komplexů vzorce I a I' nebo jejich krystalosolvátů s jedním či více přijatelnými nosiči a pomocnými látkami pro použití pro léčbu prsního karcinomu a/nebo pro léčbu osteosar-

komu a/nebo pro léčbu karcinomu vaječníku a/nebo pro léčbu karcinomu vaječníku rezistentního vůči *cisplatině* a/nebo pro léčbu karcinomu prostaty a/nebo pro léčbu karcinomu plic a/nebo pro léčbu karcinomu děložního čípku a/nebo pro léčbu maligního melanomu.

5

Objasnění výkresů

Konkrétní příklady provedení vynálezu jsou doloženy připojenými výkresy, kde:

- 10 – obr. 1 je ^1H NMR spektrum komplexu $\text{cis}[\text{Pt}(\text{L}_1)_2\text{I}_2]$ (1; $\text{L}_1 = 7\text{-azaindol}$) rozpuštěného v DMF- d_7 měřené při teplotě 25 °C a prezentované společně s přiřazením jednotlivých vodíkových atomů číslovaných podle strukturního vzorce studovaného komplexu (I)
- obr. 2 je ^1H NMR spektrum komplexu $\text{cis}[\text{Pt}(\text{L}_1)_2\text{I}_2]$ (1; $\text{L}_1 = 7\text{-azaindol}$) rozpuštěného v DMF- d_7 měřené při teplotě 65 °C a prezentované společně s přiřazením jednotlivých vodíkových atomů číslovaných podle strukturního vzorce studovaného komplexu (I)
- 15 – obr. 3 je ^{13}C NMR spektrum komplexu $\text{cis}[\text{Pt}(\text{L}_1)_2\text{I}_2]$ (1; $\text{L}_1 = 7\text{-azaindol}$) rozpuštěného v DMF- d_7 měřené při teplotě 25 °C a prezentované společně s přiřazením jednotlivých uhlíkových atomů číslovaných podle strukturního vzorce studovaného komplexu (I)
- obr. 4 je ^{13}C NMR spektrum komplexu $\text{cis}[\text{Pt}(\text{L}_1)_2\text{I}_2]$ (1; $\text{L}_1 = 7\text{-azaindol}$) rozpuštěného v DMF- d_7 měřené při teplotě 65 °C a prezentované společně s přiřazením jednotlivých uhlíkových atomů číslovaných podle strukturního vzorce studovaného komplexu (I)
- 20 – obr. 5 ^1H - ^{13}C gs-HMQC spektrum komplexu $\text{cis}[\text{Pt}(\text{L}_4)_2\text{I}_2]$ (4; $\text{L}_4 = 3\text{-jod-7-azaindol}$) rozpuštěného v DMF- d_7 měřené při teplotě 25 °C, včetně přiřazení signálů.
- obr. 6 je znázorněním molekulové struktury komplexu $\text{cis}[\text{Pt}(\text{L}_8)_2\text{I}_2] \cdot \text{DMF}$ (8; $\text{L}_8 = 2\text{-methyl-4-chlor-7-azaindol}$) s DMF jako krystalově vázanou molekulou rozpouštědla.

25

Příklady uskutečnění vynálezu

30 V následující části je vynález doložen, nikoli však limitován, konkrétními příklady jeho uskutečnění. Rozsah vynálezu je pak jednoznačně limitován patentovými nároky.

V níže uvedených příkladech byly připravené látky charakterizovány fyzikálně-chemickými metodami elementární analýza (stanovení procentového zastoupení uhlíku, vodíku a dusíku, (CHN(O)S analyzátor Flash 2000, Thermo Scientific), nukleární magnetická rezonance (NMR; ^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H gs-COSY, ^1H - ^{13}C gs-HMQC, ^1H - ^{13}C gs-HMBC experimenty, 400 MHz NMR, Varian) a monokrystalová rentgenová strukturní analýza (Xcalibur2, Oxford Diffraction).

Pro stanovení *in vitro* protinádorové aktivity připravených komplexů, jak je uvedeno v příkladu 2 byla použita mikrotitrační metoda využívající 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenylnitrazolium bromid (MTT) jako indikátor viability buněk. Testem jsou detekovány životaschopné buňky, přičemž jejich počtu odpovídá množství zredukovaného MTT. *In vitro* testy protinádorové aktivity byly provedeny na následujících lidských nádorových buněčných liniích: prsní karcinom MCF7, osteosarkom HOS, karcinom plic A549, maligní melanom G361, karcinom děložního čípku HeLa, karcinom vaječníku A2780, *cisplatin*-rezistentní karcinom vaječníku A2780R a karcinom prostaty 22Rv1. Linie byly udržovány v plastických lahvích v DMEM médiu (5 g/l glukózy, 2 mM glutaminu, 100 U/ml penicilinu, 100 µg/ml streptomycinu, 10% fetálního telecího séra a hydrogenuhličitan sodný) pro buněčné kultury. Suspenze buněk (*ca* 1,25 x 10⁵ buněk ml⁻¹) byly rozpipetovány po 80 µl na devadesát šestí jamkové mikrotitrační destičky. Tyto byly preinkubovány při 37 °C v CO₂ atmosféře po dobu 24 hodin. Testované platnaté dichlorido komplexy a *cisplatin*a byly předrozpuštěny v *N,N'*-dimethylformamidu, naředěny do koncentrace 50,0 mM a tyto sloužily jako zásobní roztoky. Pro vlastní experiment byly zásobní roztoky ředěny 1000x v kultivačním médiu do maximální koncentrace 50,0 µM. Po odsátí kultivačního média byla směs jednotlivých testovaných látek přidána k preinkubované suspenzi nádorových buněk.

50

Směsi byly následně inkubovány po dobu 24 h při teplotě 37 °C, 100% vlhkosti a v atmosféře CO₂. Poté byl přidán roztok MTT a následovala inkubace po dobu 1 hodiny. MTT analýza byla provedena spektrofotometricky (TECAN, Schoeller Instruments LLC) při 540 nm. Inhibiční koncentrace testovaných komplexů IC₅₀ (μM), odpovídající koncentraci testovaných látek potřebné k inhibici růstu 50 % vložených nádorových buněk, byly vypočteny z dávkových křivek.

Příklad 1: Příprava a charakterizace platnatých diiodo-komplexů se 7-azaindolem a jeho deriváty

Platnaté diiodo-komplexy se 7-azaindolem a jeho deriváty *cis*-[Pt(L₁)₂I₂] (1), *cis*-[Pt(L₂)₂I₂] (2), *cis*-[Pt(L₃)₂I₂] (3), *cis*-[Pt(L₄)₂I₂] (4), *cis*-[Pt(L₅)₂I₂] (5), *cis*-[Pt(L₆)₂I₂] (6), *cis*-[Pt(L₇)₂I₂] (7) a *cis*-[Pt(L₈)₂I₂] (8), kde L₁ = 7-azaindol, L₂ = 3-chlor-7-azaindol, L₃ = 3-brom-7-azaindol, L₄ = 3-jod-7-azaindol, L₅ = 4-chlor-7-azaindol, L₆ = 4-brom-7-azaindol, L₇ = 5-brom-7-azaindol a L₈ = 2-methyl-4-chlor-7-azaindol, byly připraveny syntetickým postupem, na jehož počátku byl výchozí tetrachloroplatnatý draselný (K₂PtCl₄; 0,5 mmol, 207,5 mg) rozpuštěn za laboratorní teploty v 10 ml destilované vody. Do roztoku byl v nadbytku přisypán jodid draselný (KI; 2,5 mmol, 415,0 mg) a směs se za laboratorní teploty míchala po dobu 60 až 90 min, během které vznikl tetrajodoplatnatý draselný (K₂PtI₄), což se projevilo výraznou změnou zbarvení reakční směsi až do temně červenočerného. Do tohoto roztoku byl přilít roztok 1,0 mmol příslušného derivátu 7-azaindolu (118,1 mg L₁, 152,6 mg L₂ a L₅, 197,0 mg L₃, L₆ a L₇, 244,0 mg L₄ a 166,6 mg L₈) v 10 ml etanolu nebo metanolu. Reakční směs byla za laboratorní teploty míchána 24 h, poté byl vzniklý žlutý produkt odfiltrován a promyt destilovanou vodou (2 x 5 ml), etanolem nebo metanolem (2 x 5 ml) a diethyletherem (2 x 5 ml). Produkt byl vysušen a uchován v exsíkátoru nad silikagelem. Připravené komplexy 1–8 byly studovány elementární analýzou (C, H, N), ¹H a ¹³C NMR (obr. 1, 2, 3 a 4) a 2D NMR (obr. 5) spektroskopii a v případě DMF-solvátu komplexu 8 také monokrystalovou rentgenovou strukturní analýzou (obr. 6).

cis-[Pt(L₁)₂I₂] (1): Prvkové složení pro C₁₄H₁₂N₄I₂Pt (*M_r* = 685,17) vypočteno: C, 24,54; H, 1,77; N, 8,18%; nalezeno: 24,40; H, 1,63; N, 8,02%. ¹H NMR (DMF-*d*₇, 25 °C, SiMe₄, ppm): δ 13,33 a 12,78 (br, N1H, 1H), 8,97 (d, 4,7, C6H, 1H), 8,03 (br, C4H, 1H), 7,80 (s, C2H, 1H), 7,20 (br, C5H, 1H), 6,60 (s, C3H, 1H). ¹³C NMR (DMF-*d*₇, SiMe₄, ppm): δ 148,57 (C7'), 145,93 (C6), 132,16 (C4), 128,58 (C2), 124,31 (C3'), 117,68 (C5), 102,82 (C3).

cis-[Pt(L₂)₂I₂] (2): Prvkové složení pro C₁₄H₁₀N₄Cl₂I₂Pt (*M_r* = 754,05) vypočteno: C, 22,30; H, 1,34; N, 7,43%; nalezeno: 22,60; H, 1,27; N, 7,57%. ¹H NMR (DMF-*d*₇, 25 °C, SiMe₄, ppm): δ 13,76 a 13,07 (br, N1H, 1H), 9,10 (d, 5,3, C6H, 1H), 8,08 (br, C4H, 1H), 8,03 (s, C2H, 1H), 7,37 (m, C5H, 1H). ¹³C NMR (DMF-*d*₇, SiMe₄, ppm): δ 147,46 (C6), 146,19 (C7'), 129,99 (C4), 126,25 (C2), 125,85 (C3'), 118,40 (C5), 105,05 (C3).

cis-[Pt(L₃)₂I₂] (3): Prvkové složení pro C₁₄H₁₀N₄Br₂I₂Pt (*M_r* = 842,96) vypočteno: C, 19,95; H, 1,20; N, 6,65%; nalezeno: 19,53; H, 1,02; N, 6,49%. ¹H NMR (DMF-*d*₇, 25 °C, SiMe₄, ppm): δ 13,85 a 13,19 (br, N1H, 1H), 9,06 (br, C6H, 1H), 8,09 (br, C2H, 1H), 7,79 (s, C4H, 1H), 7,33 (br, C5H, 1H). ¹³C NMR (DMF-*d*₇, SiMe₄, ppm): δ 147,15 (C7'), 145,84 (C6), 133,59 (C2), 132,43 (C4), 126,73 (C3'), 118,81 (C5), 56,45 (C3).

cis-[Pt(L₄)₂I₂] (4): Prvkové složení pro C₁₄H₁₀N₄I₄Pt (*M_r* = 936,96) vypočteno: C, 17,95; H, 1,08; N, 5,98%; nalezeno: 17,53; H, 1,02; N, 5,49%. ¹H NMR (DMF-*d*₇, 25 °C, SiMe₄, ppm): δ 13,85 a 13,19 (br, N1H, 1H), 9,06 (br, C6H, 1H), 8,09 (br, C2H, 1H), 7,79 (s, C4H, 1H), 7,33 (br, C5H, 1H). ¹³C NMR (DMF-*d*₇, SiMe₄, ppm): δ 147,15 (C7'), 145,84 (C6), 133,59 (C2), 132,43 (C4), 126,73 (C3'), 118,81 (C5), 56,45 (C3).

cis-[Pt(L₅)₂I₂] (5): *Anal.* Vypočteno pro C₁₄H₁₀N₄Cl₂I₂Pt (*M_r* = 754,05) vypočteno: C, 22,30; H, 1,34; N, 7,43%; nalezeno: 22,07; H, 1,46; N, 6,85%. ¹H NMR (DMF-*d*₇, 25 °C, SiMe₄, ppm): δ 13,77 a 13,12 (br, N1H, 1H), 8,98 (br, C6H, 1H), 7,95 (br, C2H, 1H), 7,37 (br, C5H, 1H), 6,67

(br, C3H, 1H). ^{13}C NMR (DMF- d_7 , SiMe $_4$, ppm): δ 147,96 (C7'), 146,35 (C6), 138,45 (C4), 129,63 (C2), 123,28 (C3'), 118,04 (C5), 101,07 (C3).

5 *cis*-[Pt(L $_6$) $_2$ I $_2$] (6): Prvkové složení pro C $_{14}$ H $_{10}$ N $_4$ Br $_2$ I $_2$ Pt (M_r = 842,96) vypočteno: C, 19,95; H, 1,20; N, 6,65%; nalezeno: 19,60; H, 1,22; N, 6,25%. ^1H NMR (DMF- d_7 , 25 °C, SiMe $_4$, ppm): δ 13,78 a 13,12 (br, N1H, 1H), 8,88 (br, C6H, 1H), 7,96 (br, C2H, 1H), 7,51 (br, C5H, 1H), 6,59 (br, C3H, 1H). ^{13}C NMR (DMF- d_7 , SiMe $_4$, ppm): δ 147,04 (C7'), 146,02 (C6), 129,64 (C2), 128,02 (C3'), 125,68 (C4), 121,11 (C5), 102,66 (C3).

10 *cis*-[Pt(L $_7$) $_2$ I $_2$] (7): Prvkové složení pro C $_{14}$ H $_{10}$ N $_4$ Br $_2$ I $_2$ Pt (M_r = 842,96) vypočteno: C, 19,95; H, 1,20; N, 6,65%; nalezeno: 19,55; H, 1,03; N, 6,23%. ^1H NMR (DMF- d_7 , 25 °C, SiMe $_4$, ppm): δ 13,66 a 12,97 (br, N1H, 1H), 9,26 (br, C6H, 1H), 8,27 (br, C4H, 1H), 7,90 (br, C2H, 1H), 6,60 (br, C3H, 1H). ^{13}C NMR (DMF- d_7 , SiMe $_4$, ppm): δ 146,85 (C7'), 145,82 (C6), 134,36 (C4), 130,83 (C2), 126,01 (C3'), 110,86 (C5), 102,70 (C3).

15 *cis*-[Pt(L $_8$) $_2$ I $_2$] (8): Prvkové složení pro C $_{16}$ H $_{14}$ N $_4$ Cl $_2$ I $_2$ Pt (M_r = 782,10) vypočteno: C, 24,57; H, 1,80; N, 7,16%; nalezeno: 24,35; H, 1,93; N, 7,04%. Základní krystalografická data pro *cis*-[Pt(L $_8$) $_2$ I $_2$]:DMF: Prostorová grupa P-1, a = 11,0784(2), b = 11,0789(2), c = 11,6320(2) Å, α = 76,6972(17), β = 65,0446(18), γ = 71,7722(16)°, V = 1221,42(4) Å 3 , T = 120 K, Z = 2, R_1 [$I > 2\sigma(I)$] = 2,48%. Pt1-I1 = 2,5833(4), Pt1-I2 = 2,5836(4), Pt1-N7 = 2,044(4), Pt1-N7a = 2,055(4) Å, I1-Pt1-I2 = 92,237(13)°, N7-Pt1-N7a = 88,87(16)°, 1 Å = 0,1 nm.

25 **Příklad 2: *In vitro* protinádorová aktivita studovaných komplexů vůči zvoleným lidským nádorovým liniím a jejich srovnání s *cisplatinou***

30 Pro stanovení *in vitro* protinádorové aktivity studovaných komplexů *cis*-[Pt(L $_5$) $_2$ I $_2$] (5), *cis*-[Pt(L $_6$) $_2$ I $_2$] (6), *cis*-[Pt(L $_7$) $_2$ I $_2$] (7), *cis*-[Pt(L $_8$) $_2$ I $_2$] (8) a *cisplatinu* vůči lidským nádorovým liniím (prsni karcinom MCF7, osteosarkom HOS, karcinom plic A549, maligní melanom G361, karcinom děložního čípku HeLa, karcinom vaječníku A2780, *cisplatin*-rezistentní karcinom vaječníku A2780R a karcinom prostaty 22Rv1) byl použit výše popsáný MTT test (L_1 = 7-azaindol, L_2 = 3-chlor-7-azaindol, L_3 = 3-brom-7-azaindol, L_4 = 3-jod-7-azaindol, L_5 = 4-chlor-7-azaindol, L_6 = 4-brom-7-azaindol, L_7 = 5-brom-7-azaindol a L_8 = 2-methyl-4-chlor-7-azaindol).

35 Protinádorová aktivita studovaných komplexů a *cisplatinu*, jako zvoleného standardu, vyjádřená hodnotami inhibiční koncentrace IC $_{50}$ (μM) je uvedena v Tabulce 1.

40 **Tabulka 1: *In vitro* protinádorová aktivita studovaných komplexů vůči lidským nádorovým buňčným liniím prsního karcinomu MCF7, osteosarkomu HOS, karcinomu plic A549, maligního melanomu G361, karcinomu děložního čípku HeLa, karcinomu vaječníku A2780, *cisplatin*-rezistentního karcinomu vaječníku A2780R a karcinomu prostaty 22Rv1 a jejich srovnání s *cisplatinou* (CDDP) vyjádřené v hodnotách inhibiční koncentrace IC $_{50}$ (μM)**

	MCF7	HOS	A549	G361	HeLa	A2780	A2780R	22Rv1
1	1,7±0,8	0,8±0,4	12,3±1,1	2,9±0,6	7,0±0,6	3,5±0,7	3,3±0,3	4,6±1,2
2	1,5±0,4	1,3±0,8	6,4±1,4	2,3±1,0	4,8±0,4	4,1±0,8	3,3±0,5	4,8±2,4

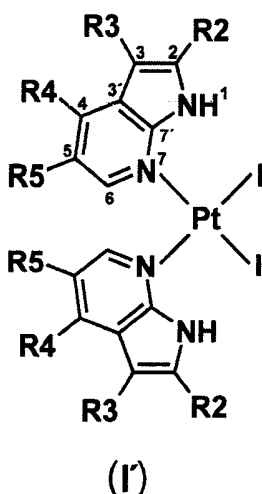
45

3	1,9±0,5	2,2±1,2	8,8±2,2	3,1±0,2	4,7±0,8	2,8±0,3	3,2±0,2	4,2±1,2
4	1,8±0,3	2,8±1,0	9,8±1,3	1,6±0,7	6,2±0,7	2,3±1,1	2,6±0,8	4,5±1,6
5	1,5±0,5	0,5±0,2	4,7±0,3	3,2±0,2	3,8±0,3	3,7±1,1	3,4±0,2	4,2±0,1
6	1,0±0,4	0,4±0,1	4,3±0,9	3,2±0,2	3,8±0,2	3,7±1,1	3,3±0,4	3,8±0,1
7	1,6±0,8	1,4±1,1	7,3±1,6	3,4±0,3	5,4±1,2	3,4±0,2	3,5±0,5	5,1±0,8
8	2,1±1,0	0,7±0,2	3,5±0,2	1,7±1,3	3,8±0,1	1,7±1,1	1,0±0,4	3,5±0,2
CDDP	17,9±3,5	18,9±1,7	>50,0	5,3±0,7	30,4±11,0	21,6±0,6	20,2±4,7	26,9±3,5

5

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Dijodo-komplexy platiny v oxidačním stupni +II se 7-azaindolem nebo jeho deriváty obecného vzorce $cis-[Pt(L)_2I_2]$ I, vyjádřené strukturním vzorcem I'



kde

15

symbol L představuje 7-azaindol nebo jeho derivát vázaný na atom platiny přes atom dusíku N7, přičemž pokud L představuje derivát 7-azaindolu, tak

alespoň jeden ze substituentů R2, R3, R4 a R5 je vybrán z funkčních skupin alkyl nebo halogen, kde

20

halogen je vybrán ze skupiny F, Cl, Br, I, a

alkyl představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 1 až 6, především pak z 1 až 4, atomů uhlíku.

25

2. Krystalosolváty komplexů platiny vzorce I a I' podle nároku 1, kde u sloučenin obecného složení $cis-[Pt(L)_2I_2] \cdot nSolv$ jsou

– L je 7-azaindol nebo jeho derivát podle nároku 1, vázaný na atom platiny přes atom dusíku N7

– n udává počet krystalově vázaných molekul, především 1 až 6, a

– Solv je konkrétní molekula použitého rozpouštědla a/nebo některá z reakčních komponent vybraná ze skupiny voda, primární alkohol, sekundární alkohol, aceton, N,N'-dimethylformamid,

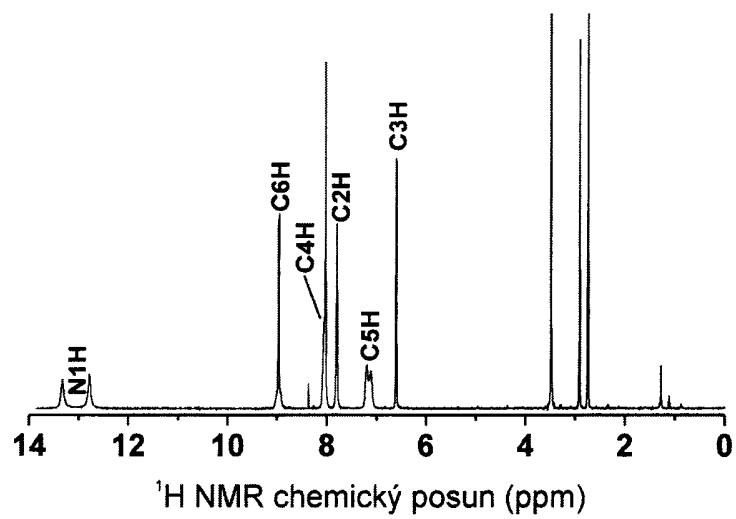
dimethyl sulfoxid, chloroform, dichlormethan, acetonitril nebo diethylether, a to buď samostatně, nebo v kombinaci uvedených solvátových molekul.

5 **3.** Farmakologický prostředek, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že obsahuje terapeutický účinné množství platnatých komplexů vzorce I a I' podle nároku 1 nebo jejich krystalosolvátů podle nároku 2 s jedním či více přijatelnými nosiči a pomocnými látkami.

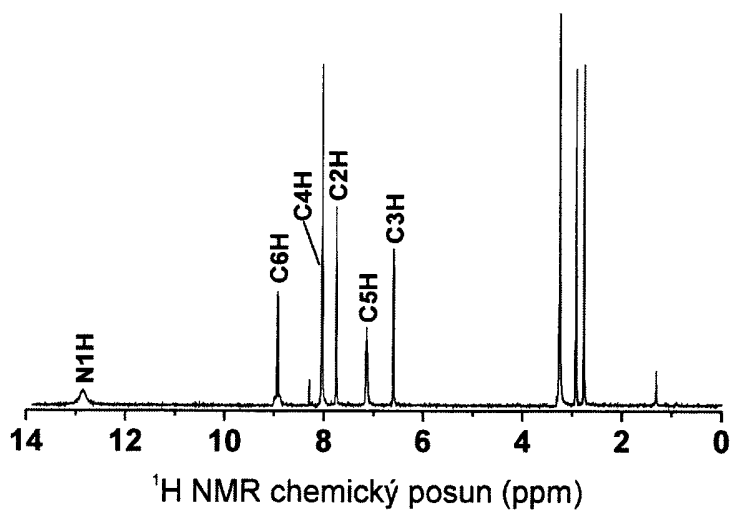
10 **4.** Farmakologický prostředek podle nároku 3 pro použití pro léčbu prsního karcinomu a/nebo pro léčbu osteosarkomu a/nebo pro léčbu karcinomu vaječníku a/nebo pro léčbu karcinomu vaječníku rezistentního vůči *cisplatině* a/nebo pro léčbu karcinomu prostaty a/nebo pro léčbu karcinomu plic a/nebo pro léčbu karcinomu děložního čípku a/nebo pro léčbu maligního melanomu.

15

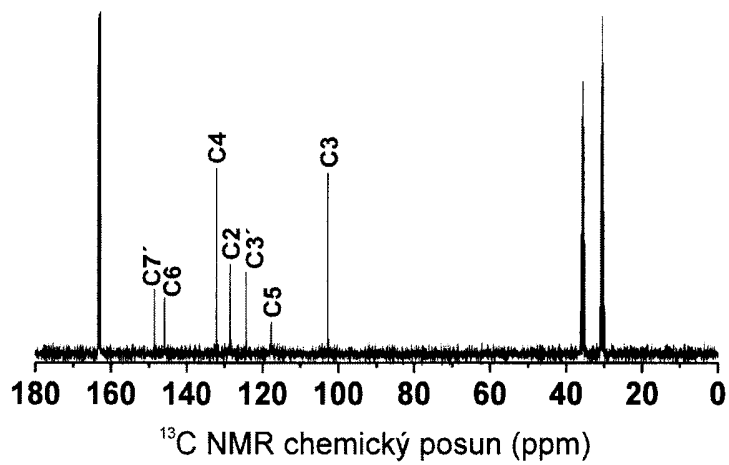
3 výkresy



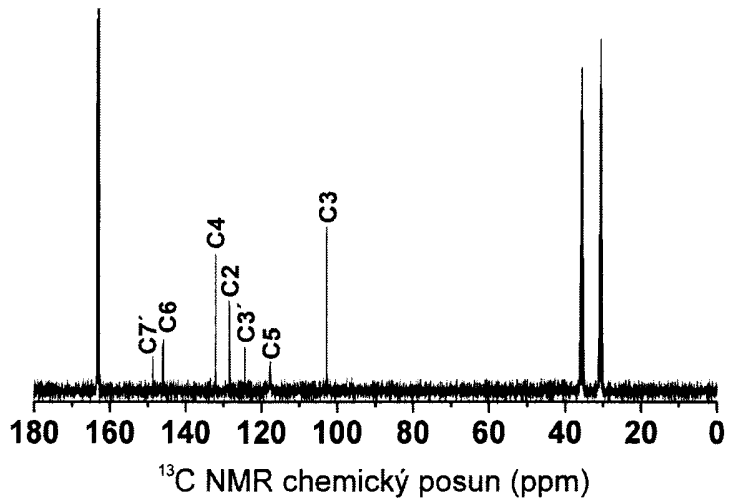
OBR. 1



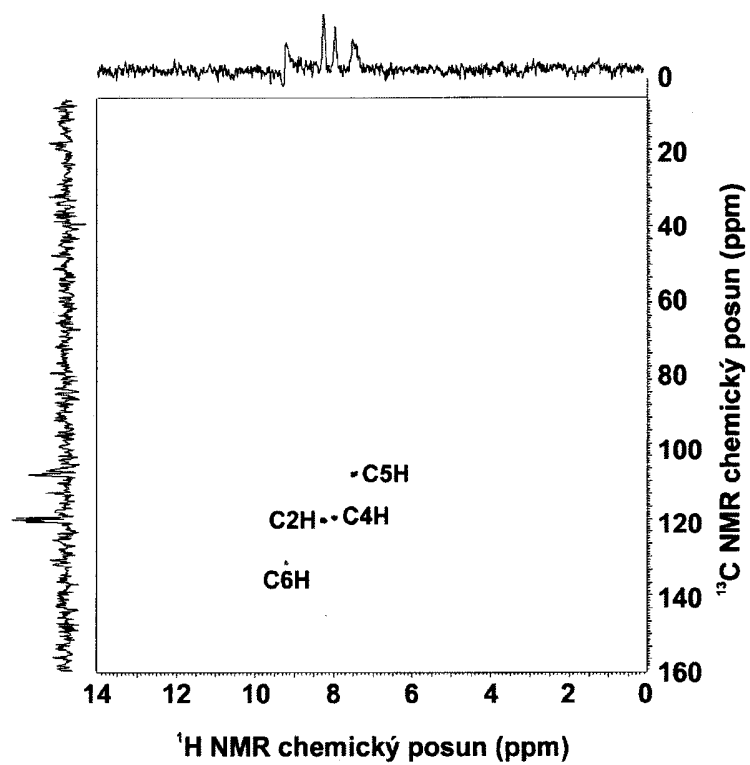
OBR. 2



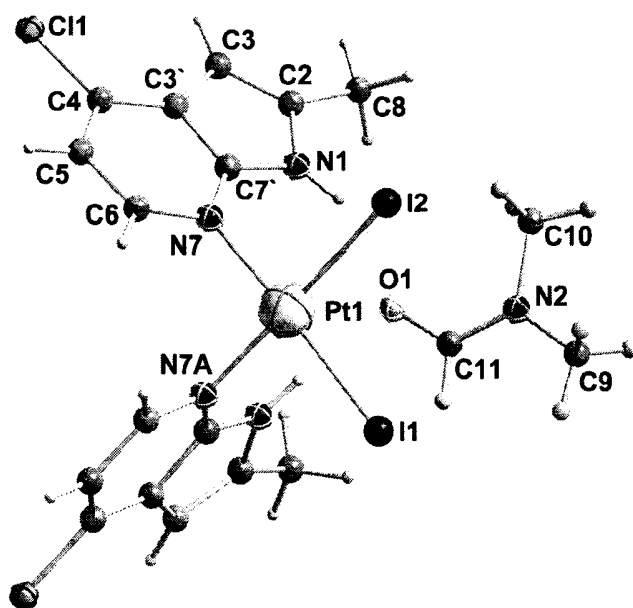
OBR. 3



OBR. 4



OBR. 5



OBR. 6

Konec dokumentu
