

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2009-597**
(22) Přihlášeno: **10.09.2009**
(40) Zveřejněno: **23.03.2011**
(Věstník č. 12/2011)
(47) Uděleno: **23.06.2011**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **03.08.2011**
(Věstník č. 31/2011)

(11) Číslo dokumentu:

302 618

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07D 473/16 (2006.01)
C07D 473/34 (2006.01)
C07D 473/40 (2006.01)
C07F 15/00 (2006.01)
A61K 31/282 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

CZ. 19 706 UI.

Szučová L., et al.: "Preparation and cis- to trans- transformation study of square-planar $[Pt(L_n)2Cl_2]$ complexes bearing cytokinines ..." Polyhedron 2008, vol. 27, str. 2710-2720 (abstrakt, str. 2719); Maloň M., et al.: "Synthesis, spectral study and cytotoxicity of platinum(II) complexes with 2,9-disubstituted-6-benzylaminopurines" J. Inorg. Biochem. 2005, vol. 99, str. 2127-2138 (celý dokument); Abu-Surrah A. S., et al.: "Platinum group antitumor chemistry: design and development of new anticancer drugs complementary to cisplatin" Curr. Med. Chem. 2006, vol. 13, str. 1337-1357 (celý dokument, zejména kapitola 2.2).

(73) Majitel patentu:

Univerzita Palackého, Olomouc, CZ

(72) Původce:

Dvořák Lukáš Mgr., Baška, CZ
Trávníček Zdeněk Prof. RNDr. Ph.D., Štěpánov, CZ
Popa Igor Mgr. CSc., Olomouc, CZ

(74) Zástupce:

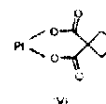
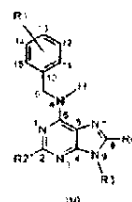
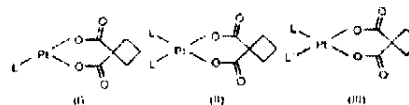
Ing. Petr Soukup, Vídeňská 8, Olomouc, 77200

(54) Název vynálezu:

Cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexy platiny s deriváty N6-benzyladeninu, způsoby jejich přípravy a použití těchto komplexů jako léčiv v protinádorové terapii

(57) Anotace:

Řešení se týká cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů platiny v oxidačním stupni +II a jejich krystalosolvátů zahrnujících strukturní motiv I nebo obecného vzorce II vyjádřeného strukturním vzorcem $[Pt(L)_2(cbdc)]$ nebo obecného vzorce III vyjádřeného strukturním vzorcem $[Pt(L)(L')(cbdc)]$, 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 substituenty R1, R2, R3 a R4 mají specifický význam. Řešení se dále týká způsobů přípravy uvedených komplexů, farmaceutických kompozic obsahujících tyto komplexy a jejich použití v léčbě nádorových onemocnění.



CZ 302618 B6

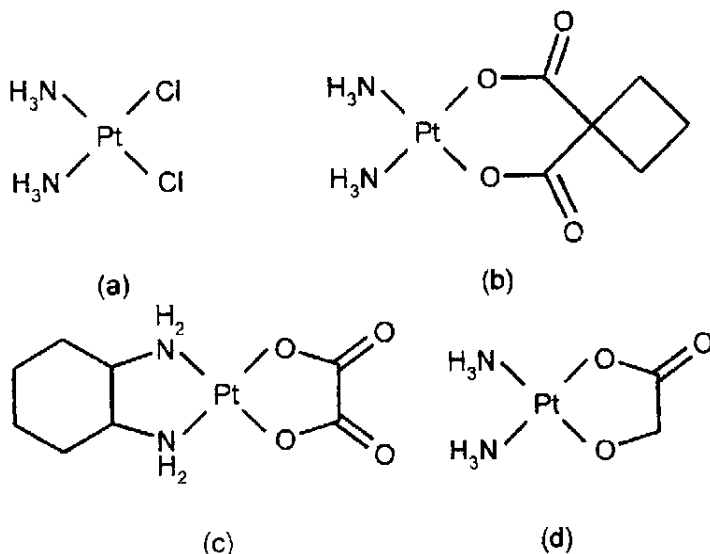
Cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexy platiny s deriváty N6-benzyladeninu, způsoby jejich přípravy a použití těchto komplexů jako léčiv v protinádorové terapii

Oblast techniky

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

Dosavadní stav techniky

Cisplatina (a), $cis-[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, *cis*-diamin-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 řadí se mezi tzv. léčiva druhé generace je možno zařadit například *karboplatinu* (b), $[Pt(NH_3)_2(cbdc)]$, diammin-cyklobutan-1,1-dikarboxylátoplatnatý komplex, kde cbdc je cyklobutan-1,1-dikarboxylátový dianion. Jeho syntéza vychází z tetrachloroplatnatanu draselného, $K_2[PtCl_4]$, který se nechá reagovat s tetramolárním nadbytkem jodidu draselného, KI, kde v první fázi vznikne tetrajodoplatnatan draselný, $K_2[PtI_4]$. Působením NH_4OH vznikne *cis*-diammin-dijodoplatnatý komplex, $cis-[Pt(NH_3)_2I_2]$, který poskytne s dusičnanem stříbrným, $AgNO_3$, v poměru 1:2 ve vodě dobře rozpustný komplex dusičnan *cis*-diammin-diaquaplatnatý, $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2](NO_3)_2$. Ten se pak ve vodném prostředí kyseliny cyklobutan-1,1-dikarboxylové transformuje na *karboplatinu* (b) (US 4 273 755 – Preparation of *cis*-diammin-diiodoplatinum(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*-diammin-dijodoplatnatý komplex, který poskytne s dusičnanem stříbrným v poměru 1:2 ve vodě dobře rozpustný komplex dusičnan *cis*-diammin-diaquaplatnatý, $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2](NO_3)_2$. Přidáním síranu stříbrného do tohoto vodného roztoku převedeme v temnu za 24 hodin kladně nabitou *cis*-diammin-diaquaplatnatou komplexní částici, $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$, na žlutý *cis*-diammin-aqua-sulfátoplatnatý komplex, $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)(SO_4)]$. 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, $cis-[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, která se po týdnu působení dusičnanem stříbrným ve vodném roztoku transformuje na dusičnan cis -diammin-diaquaplatnatý, $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2](NO_3)_2$. Substituce dusičnanového aniontu za hydroxylový je uskutečněna pomocí chromatografie na iontoměničích a vzniklý hydroxid cis -diammin-diaquaplatnatý, $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2](OH)_2$, vstupuje do reakce s kyselinou cyklobutan-1,1-dikarboxylovou za vzniku *karboplatiny* (b) (Brunner, H.; Meiterth, F.; Treittinger, 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. Biochem.* 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.; 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 *cisplatina* (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. Rew.* 1985, 12, 101–110, Douple, E. B.; Richmond, R. C.; O'Hara, J. A.; Coughlin, C. T. *Canc. Treat. Rew.* 1985, 12, 111–124) a v současnosti jsou publikovány výsledky druhé fáze *in vivo* testování tohoto léčiva například v kombinaci s aplidinem (WO 2008/135793 – Combination of aplidine and carboplatin in anticancer treatments), paclitaxelem proti nádorům plic (WO 2008/081927 – Method for treating cancer using anticancer agent in combination, EP 1 942 884 – 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, EP 2 076 259 – Methods of treating ovarian cancer).

Mezi další významná protinádorová léčiva na bázi platnatých komplexů patří *oxaliplatina* (c), $[1R,2R-1,2-diamin-cyklohexan-N,N]-(oxaláto-O,O)-platnatý$ komplex, poprvé syntetizovaný v roce 1978 (Kidani, Y.; Inagaki, K.; Iigo, M.; Hoshi, A.; Kuretani, K. *J. Med. Chem.* 1978, 21, 1315–1318, EP 2 029 615 – A process for the preparation of an oxaliplatin, EP 1 979 369 – 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), $[Pt(NH_3)_2(cbdc)]$, 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.

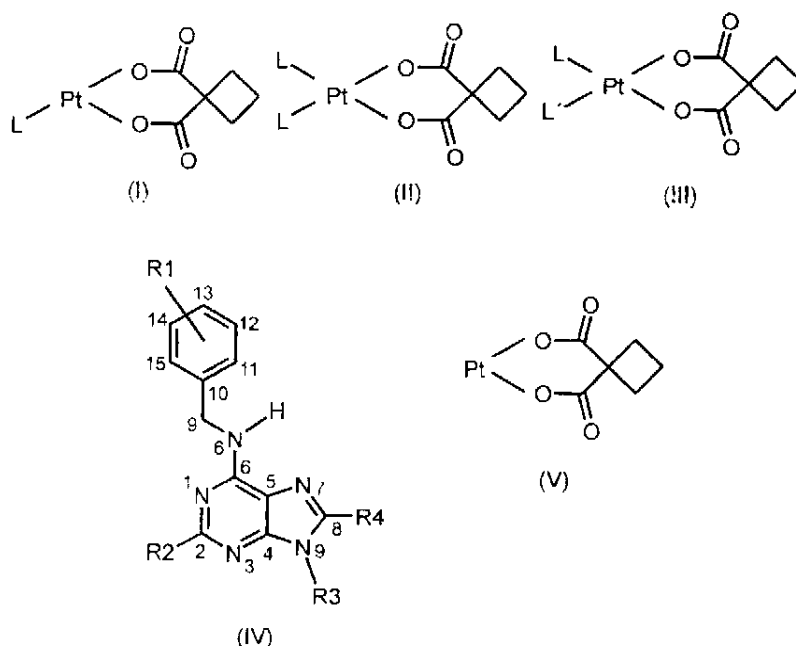
Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003, 13, 2993–2996). Vhodnou substitucí základního skeletu N6-benzyladeninu je možno získat velmi účinné inhibitory cyklin-dependentních kináz, tedy látek ovlivňujících buněčný cyklus (Brun, V.; Legraverend, M.; Grierson, D. S. *Tetrahedr. Lett.* 2001, 42, 8161–8164, Brun, V.; 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 294 535 (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 294 538 (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 Cambridgejské strukturní databázi (CSD) uloženo 21 platnatých komplexů odvozených od karboplatiny obsahující základní motiv $[Pt(La)_2(cbdc)]$ ($a = 1$ 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-amino-6-hydroazepin (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. Bioch.* 2007, 102, 1942–1946), L22 = cyklohexan-1,4-diamin (Shamsudin, 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 [Pt(L23)Cl(H₂O)₂],
5 [Pt(Lc)Cl₃]·H₂O, (I.d)[PtCl₆], [Pt(Lc)Cl₅], *cis*-[Pt(Ld)₂Cl₂]Cl₂, *cis*-[Pt(Lf)₂Cl₂]·xH₂O a *trans*-
[Pt(Lg)₂Cl₂]·xH₂O, kde c = 23–24, d = 23–26, e = 23, 26–38, f = 23–26, 39–43, g = 41–43, x = 1–
3, L23 = 2-[(3-hydroxypropyl)amino]-6-(benzylamino)-9-isopropylpurin, L24 = 2-[(2-
hydroxyethyl)amino]-6-(benzylamino)-9-methylpurin, L25 = 2-(2-hydroxyethylamino)-6-
benzylamino-9-isopropylpurin, L26 = 2-[(1-hydroxymethylpropyl)amino]-6-(benzylamino)-9-
10 isopropylpurin, L27 = 6-(2-methoxybenzylamino)purin, L28 = 6-(3-methoxybenzylamino)-
purin, L29 = 6-(4-methoxybenzylamino)purin, L30 = 6-(2-hydroxybenzylamino)purin, L31 =
6-(3-hydroxybenzylamino)purin, L32 = 6-(4-hydroxybenzylamino)purin, L33 = 6-(2-fluor-
benzylamino)purin, L34 = 6-(3-fluorbenzylamino)purin, L35 = 6-(4-fluorbenzylamino)purin,
15 L36 = 6-(2-chlorbenzylamino)purin, L37 = 6-(3-chlorbenzylamino)purin, L38 = 6-(4-chlor-
benzylamino)-9-isopropylpurin, L40 = 2-[(1-hydroxymethylisobutyl)amino]-6-(3-hydroxy-
benzylamino)-9-isopropylpurin, L41 = 2-chloro-6-(benzylamino)-9-isopropylpurin, L42 = 2-
chloro-6-(2-methoxybenzylamino)-9-isopropylpurin, L43 = 2-chloro-6-(4-methoxybenzyl-
amino)-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, M.; Maek, 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,
25 MCF7 = lidský prsní adenokarcinom, HOS = lidský osteosarkom, G-361 = lidská chronická
myelogenní leukemie). Některé z výše zmíněných komplexů byly v *in vitro* testech aktivnější,
než zmíněná kancerostatika *cisplatina*, *oxaliplatina* nebo *karboplatina*.

Podstata vynálezu

Cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexy platiny v oxidačním stupni +II a jejich krystalosolváty
30 zahrnující strukturní motiv I nebo obecného vzorce II vyjádřeného strukturním vzorcem
[Pt(L)₂(cbdc)] nebo obecného vzorce III vyjádřeného strukturním vzorcem [Pt(L)(L')(cbdc)], 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, 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, 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, kde termín:
- 10
- halogen
představuje atom fluoru, bromu, chloru, nebo jodu,
- 15
- alkyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 1 až 18 atomů uhlíku,
- 20
- alkenyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 2 až 18 atomů uhlíku, obsahující alespoň jednu dvojnou vazbu mezi atomy uhlíku,
- 25
- alkynyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 2 až 18 atomů uhlíku obsahující alespoň jednu trojnou vazbu mezi atomy uhlíku,
- 30
- cykloalkyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cyklický uhlovodík ze 3 až 12 atomů uhlíku, a to včetně kondenzovaných cyklů nezávisle vybraných ze skupiny cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl,
- 35
- cykloheteroalkyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cykloalkyl s alespoň jedním atomem uhlíku zaměněným za heteroatom ze skupiny dusík, kyslík, nebo síra,
- 40
- cykloalkenyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje cykloalkyl obsahující alespoň jednu dvojnou vazbu mezi atomy uhlíku,
- 45
- 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,
- 50
- funkční skupina
jako taková nebo jako součást jiné skupiny představuje amino, alkylamino, dialkylamino, alkenylamino, cykloalkylamino, cykloheteroalkylamino, cykloalkenylamino, cykloheteroalkenylamino, hydroxy, alkylhydroxy, alkoxy, kyano, karboxy, alkylkarboxy, karboxyalkyl, hydroxyamino, nitro, amido, nitroso, sulfonyl, sulfinyl, sulfamido, thio, alkylthio, merkaptó, karbamoyl,

- substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl, substituovaný cykloalkyl, substituovaný cykloheteroalkyl, substituovaný cykloalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl,
- 5 jako takové nebo jako součásti jiných skupin představují alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl substituované substituenty z množiny halogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl a funkční skupina.
- 10 Další podstatou vynálezu 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 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 (DMF), dimethyl sulfoxid (DMSO), chloroform,
- 15 dichlormethan, acetonitril nebo diethylether, a to buď samostatně, nebo v kombinaci uvedených solvátových molekul.

Ve výhodném provedení se pak sloučenina obecného vzorce II nebo III připraví tak, že nejdříve spolu reagují dva molární ekvivalenty derivátu N6-benzyladeninu rozpuštěného při teplotě 40 až 80 °C v minimálním množství rozpouštědla ze skupiny primárních nebo sekundárních alkoholů nebo acetonu, s jedním molárním ekvivalentem sloučeniny $\text{M}_2[\text{DMSO}]_2(\text{cbcd})$, rozpuštěné v minimálním množství studené vody. Poté se reakční směs míchá po dobu dvou až čtyř dnů při teplotě 50 až 95 °C, a následně je vzniklý produkt odfiltrován, promyt použitými rozpouštědly a vysušen (Schéma 1).

25 Rovněž je podstatou vynálezu použití platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů jako výchozích sloučenin pro přípravu analogicky substituovaných komplexů platiny v oxidačním stupni +IV.

30 Nedílnou podstatou vynálezu je farmakologický prostředek obsahující terapeuticky účinné množství platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů a nebo farmaceutickou kompozici platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů s jedním či více přijatelných nosičů a pomocných látek pro použití v lékařství pro výrobu léčiv pro léčbu nádorových onemocnění.

35 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 neomezují rozsah vynálezu, který je jednoznačně určen definicí patentových nároků.

40 Přehled obrázků na připojených výkresech

Konkrétní příklady provedení vynálezu jsou doloženy připojenými výkresy, kde

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

50 - 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.

55 - 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.

– obr. 4 je Ramanovo spektrum bis(2-(3-hydroxypropylamino)-6-benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátplatnatého 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.

5

– obr. 5 představuje molekulovou strukturu hydrátu 2-chloro-6-(2-methoxy)benzylamino-9-isopropylpurino-(dimethylsulfoxid-S)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátplatnatého 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.

10

Příklady provedení vynálezu

15

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

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

20

a) chemicky a strukturně totožný jako je L , vázaný na atom platiny základního motivu V přes totožný atom dusíku $\text{N}(6)$ -benzyladeninu, jako je tomu u L ;

25

b) chemicky a strukturně totožný jako je L , vázaný na atom platiny základního motivu V přes odlišný atom dusíku $\text{N}(6)$ -benzyladeninu, jako je tomu u L ;

c) chemicky a strukturně odlišný derivát $\text{N}(6)$ -benzyladeninu, než je L , vázaný na atom platiny základního motivu V přes jakýkoliv z atomů dusíku derivátu $\text{N}(6)$ -benzyladeninu.

30

Vynález dále využívá sloučenin $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$ a $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$, kde cbdc je dianion kyseliny cyklobutan-1,1-dikarboxylové, jako meziproductů pro přípravu cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů platiny obecného vzorce II nebo III, které se připraví reakcí chloridu platnatého, PtCl_2 , v prostředí dimethylsulfoxidu (DMSO), kdy vzniká při zvýšené teplotě komplex o složení $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$ (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 meziproduct 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 $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$ (viz Schéma 1). Podrobný popis přípravy uvedeného meziproductu 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).

35

40

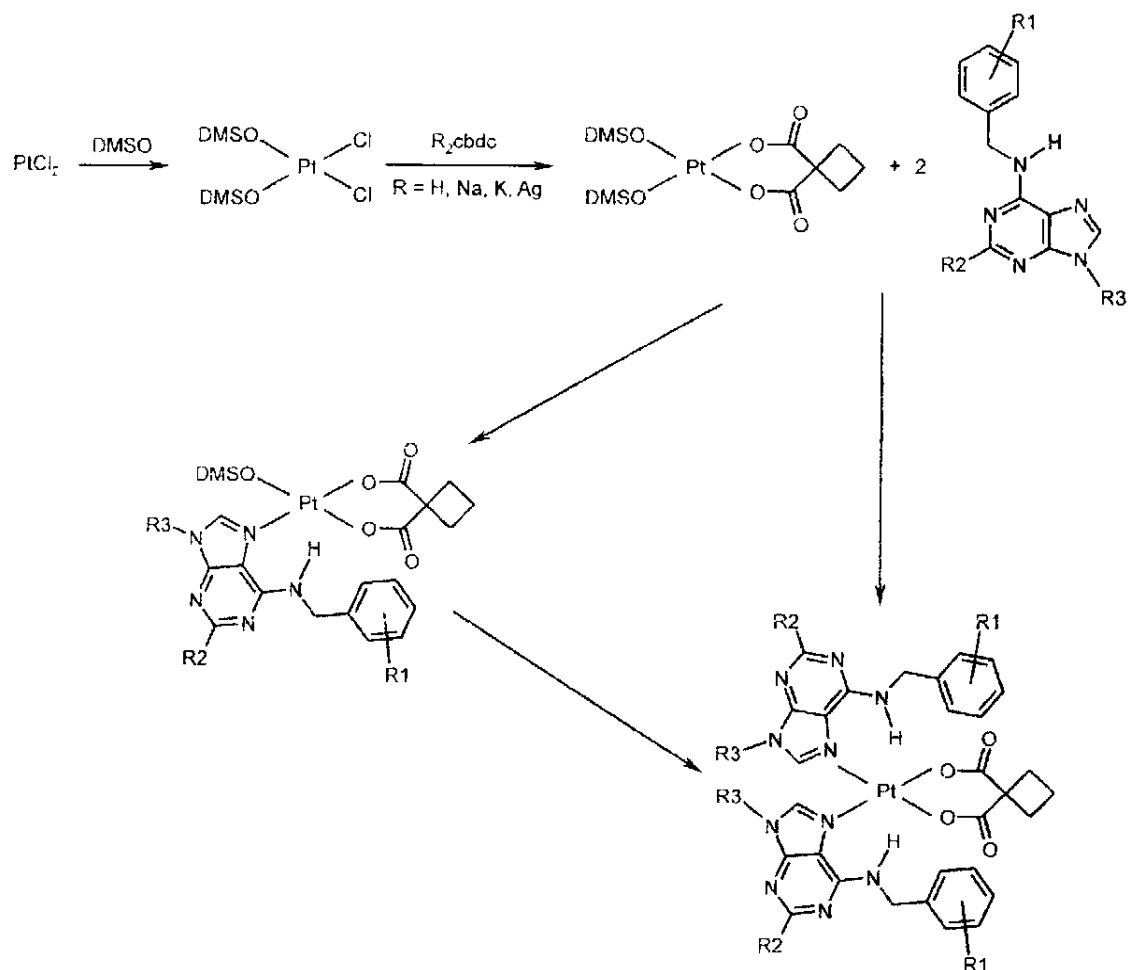


Schéma 1.

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

- elementární analýza s procentovým zastoupením prvků C, H a N,
- 5 – měření molární vodivosti roztoků komplexů v DMF,
- 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,
- 10 – monokrystalová rentgenová strukturní analýza.

Vynález 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.; Halthiwanger, R. C.; Pierpoint, C. G. *Inorg. Chem.* 1990, 29, 645–652, Schéma 2). Procentové zastoupení prvků C, H, 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 (vNujol/ cm^{-1}): 326, 378, 471. IR (vKBr/ cm^{-1}): 2924, 1663, 1613, 1353, 1160, 1130.

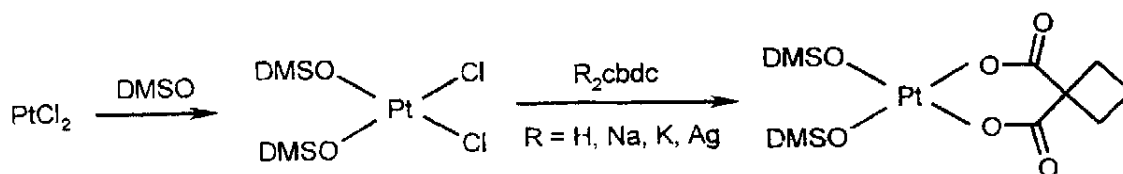


Schéma 2

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

5 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 vzniklého roztoku byl přidán roztok 0,148 (0,4 mmol) 2-chloro-6-(3,4-dichlorbenzylamino-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).

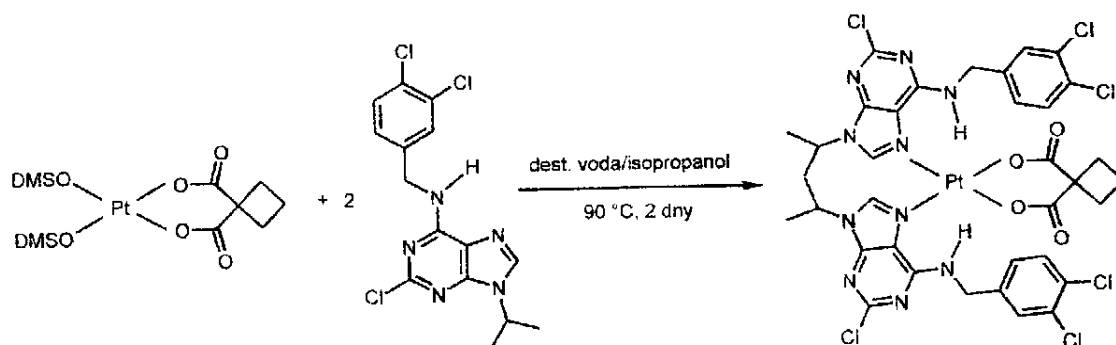
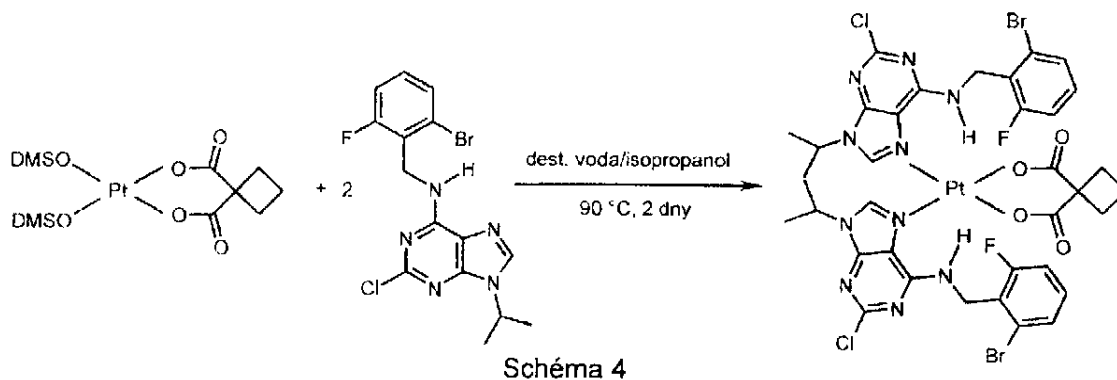


Schéma 3

15 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), 34,24 (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, C22H^a, C23H^a), 2,80 (q, 1H, 7,7, C24H^a), 1,67 (m, 2H, C22H^b, C23H^b), 1,47 (m, 1H, C24H^b). ^{13}C NMR (DMF-*d*7, SiMe₄, ppm): δ 177,61 (C19, C20), 155,17 (C6), 153,9 (C2), 150,3 (CE4), 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). ^{15}N NMR (DMF-*d*7, ppm): δ 232,7 (N1), 225,3 (N3), 185,2 (N9), 129,3 (N7), 96,3 (N6). ^{195}Pt NMR (DMF-*d*7, K₂PtCl₄, ppm): δ –1622,45.

30 Příklad 2: Příprava bis[2-chlor-6-(2-fluoro-6-bromo)benzylamino-9-isopropylpurino]-cyklobutan-1,1-dikarboxylátplatnatého komplexu, $[\text{Pt}(\text{L}_1)_2(\text{cbdc})]$.

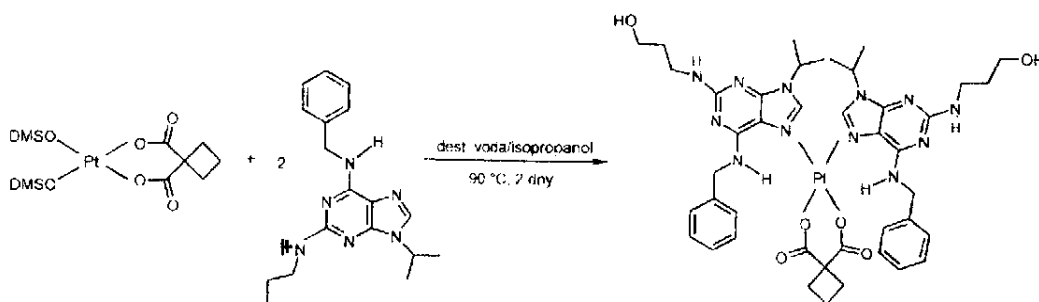
V 15 ml destilované vody bylo za laboratorní teploty rozpuštěno 0,1 g (0,2 mmol) $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$ a do vzniklého roztoku byl přidán roztok 0,16 g (0,4 mmol) 2-chloro-6-(2-fluor-6-brom)benzylamino-9-isopropylpurinu (L_1) ve 20 ml isopropanolu. Směs byla míchána po dobu dvou dnů 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 , ^{13}C a ^{195}Pt NMR spektroskopie bylo potvrzeno složení komplexu.



- Procentové zastoupení prvků C, H, N ve formě: vypočtená hodnota (v závorce nalezená hodnota) pro $\text{PtC}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_{10}\text{O}_4\text{Cl}_2\text{F}_2\text{Br}_2$: C, 38,1 (37,7); H, 3,0 (2,8); N, 12,3 (12,6)%. IR ($\nu_{\text{Nujol}}/\text{cm}^{-1}$): 432 (w, Pt-O), 554 (m, Pt-N). IR ($\nu_{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$): 1171 (m, C-Cl), 1322 (s, COO), 1586 (m, COO), 1621 (s, C=N), 2980 (w, C-H), 3427 (s, N-H). Raman ($\nu_{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$): 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, C22H^a, C23H^a), 1,80 (m, 1H, C24H^a), 1,67 (m, 2H, C22H^b, C23H^b), 1,63 (d, 6H, 6,8, C17H, C18H), 1,57 (m, 1H, C24H^b). ^{13}C 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). ^{195}Pt NMR (DMF-*d*7, K₂PtCl₄, ppm): δ -1626,23.

Příklad 3: Příprava bis(2-(3-hydroxypropylamino)-6-benzylamino-9-isopropylpurino)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátplatnatého komplexu, $[\text{Pt}(\text{L}_8)_2(\text{cbdc})]$.

- V 15 ml destilované vody bylo za laboratorní teploty rozpuštěno 0,1 g (0,2 mmol) $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$ a do vzniklého roztoku byl přidán roztok 0,136 g (0,4 mmol) 2-(3-hydroxypropylamino)-6-benzylamino-9-isopropylpurinu (L_8) 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.



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-dikarboxylátolataného komplexu, $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{L}_7)(\text{cbdc})]$.

V 15 ml destilované vody bylo za laboratorní teploty rozpuštěno 0,1 g (0,2 mmol) $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$ a do vzniklého roztoku byl 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 exsíkátoru nad silikagelem. Z filtrátu byly stáním a volným odpařováním získány bezbarvé krystaly a pomocí monokrystalové rentgenostrukturní analýzy byla vyřešena molekulová a krystalová struktura komplexu $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{L}_7)(\text{cbdc})] \cdot \text{H}_2\text{O}$. 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).

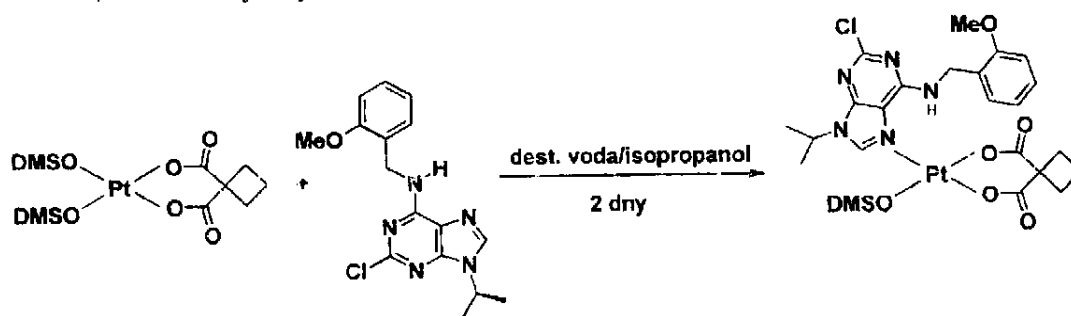


Schéma 6

Příklad 5: *In vitro* cytotoxická aktivita nových derivátů karboplatiny $[\text{Pt}(\text{L}_{1-6})_2(\text{cbdc})]$ (1–6) s ligandy odvozenými od 2-chloro-6-*R*-benzylamino-9-isopropylpurinu (*R* = 2-fluor-6-brom L₁, 3,4-dichlor L₂, 3-brom L₃, 2-trifluormethyl L₄, 3-trifluormethyl L₅, 4-trifluormethyl L₆).

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 rozpoznají 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, 2mM glutaminu, 100 U/ml penicilinu, 100 µg/ml streptomycinu, 10% fetálního telecího séra a hydrogenuhličitan sodný), komplexy byly připraveny podle postupu popsaného v této patentové přihlášce.

Buněčné suspenze byly připraveny a naředěny podle typu buněk a podle očekávané konečné hustoty buněk (1000 buněk na jamku na základě charakteristik buněčného růstu), pipetovalo se 80 µl na buněčné suspenze na 96-jamkové mikrotitrační destičky. Inokuláty byly stabilizovány 24hodinovou preinkubací při 37 °C v atmosféře CO₂.

Jednotlivé koncentrace testovaných látek byly přidány v čase nula jako 20µl 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). Prežití 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 IC₅₀ 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 dehydrogenázy. Vznikající formazanové barvivo je nerozpustné a je následně kvantifikováno po rozpuštění v DMSO s amoniakem za použití klasického spektrofotometru (ELISA reader).

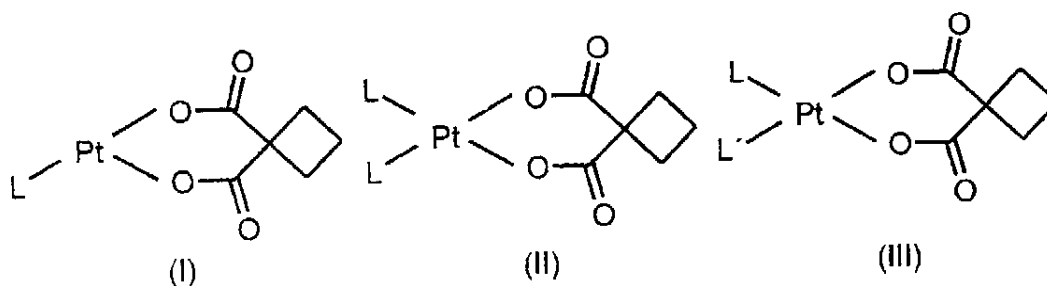
Výsledky stanovení *in vitro* cytotoxicity za využití AM a MTT testů vyjádřené pomocí hodnoty IC₅₀ pro komplexy o složení [Pt(L₁₋₆)₂(cbdc)] (1-6) s ligandy odvozenými od 2-chloro-6-R-benzylamino-9-isopropylpurinu (R = 2-fluoro-6-bromo L₁, 3,4-dichloro L₂, 3-bromo L₃, 2-trifluormethyl, L₄, 3-trifluoromethyl L₅, 4-trifluoromethyl L₆) jsou uvedeny v tabulce 1, když látky byly testovány *in vitro* na 3 lidských nádorových liniích, a to MCF-7 prsní karcinom, K562 erythroleukemie, HOS osteosarkom. Hodnoty IC₅₀ 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⁾.

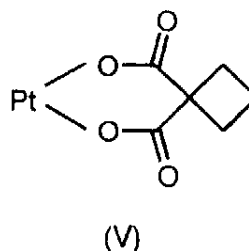
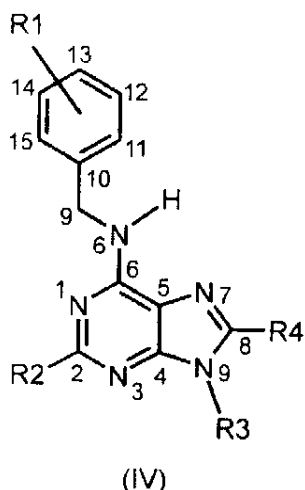
komplex	MCF-7	MCF-7	K562	HOS
	AM-test	MTT test	AM test	MTT test
1	9,5	15,1±6,8	9,0	17,4±2,0
2	4,8	13,6±5,2	4,3	14,8±2,1
3	5,0	22,1±14,0	6,8	>50
4	9,2	25,1±9,3	9,0	>50
5	14,1	38,9±3,0	21,0	>50
6	7,5	19,0±6,6	19,2	>50
<i>cisplatina</i>	11	19,6±4,3	5	34,2±6,4
<i>karboplatina</i>	60 ⁽¹⁾	>1	250 ⁽²⁾	>1

Tab.1

PATENTOVÉ NÁROKY

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, 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, 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 a funkční skupinu,

kde termín:

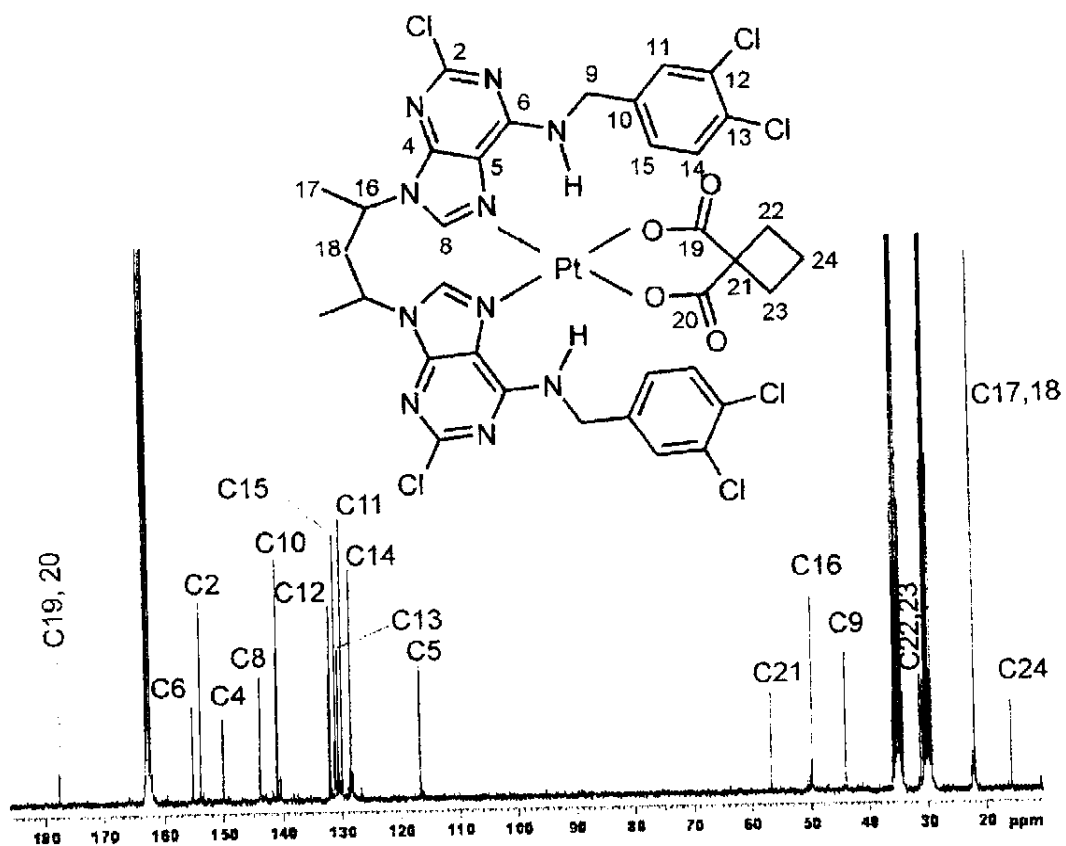
- halogen
představuje atom fluoru, bromu, chloru, nebo jodu,
- alkyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 1 až 18 atomů uhlíku,
- alkenyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 2 až 18 atomů uhlíku obsahující alespoň jednu dvojnou vazbu mezi atomy uhlíku,
- alkynyl
jako takový nebo jako součást jiné skupiny představuje rozvětvený nebo nerozvětvený uhlovodíkový řetězec z 2 až 18 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 atomů uhlíku, a to včetně kondenzovaných cyklů nezávisle vybraných ze skupiny cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl,

- 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
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,
- funkční skupina
jako taková nebo jako součást jiné skupiny představuje amino, alkylamino, dialkylamino, alkenylamino, cykloalkylamino, cykloheteroalkylamino, cykloalkenylamino, cykloheteroalkenylamino, hydroxy, alkylhydroxy, alkoxy, kyano, karboxy, alkylkarboxy, karboxyalkyl, hydroxyamino, nitro, amido, nitroso, sulfonyl, sulfinyl, sulfamido, thio, alkylthio, merkaptó, karbamoyl,
- substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl, substituovaný cykloalkyl, substituovaný cykloheteroalkyl, substituovaný cykloalkenyl, substituovaný cykloheteroalkenyl,
jako takové nebo jako součásti jiných skupin představují alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl substituované substituenty z množiny halogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, cykloheteroalkyl, cykloalkenyl, cykloheteroalkenyl 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 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, dimethylsulfoxid, chloroform, dichlormethan, acetonitril nebo diethylether, a to buď samostatně nebo v kombinaci uvedených solvátových molekul.
3. Způsob přípravy platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že sloučenina obecného vzorce II nebo III se připraví reakcí bis(dimethylsulfoxid)-cyklobutan-1,1-dikarboxylátolatného komplexu o vzorci $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$ s derivátem N6-benzyladeninu.
- 4 Způsob přípravy platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů podle nároku 3, **vyznačující se tím**, že sloučenina obecného vzorce II nebo III se připraví tak, že nejdříve spolu reagují dva molární ekvivalenty derivátu N6-benzyladeninu rozpuštěného při teplotě 40 až 80 °C v minimálním množství rozpouštědla ze skupiny primárních nebo sekundárních alkoholů nebo acetonu, s jedním molárním ekvivalentem sloučeniny $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2(\text{cbdc})]$, rozpuštěné v minimálním množství studené vody, poté se reakční směs míchá po dobu dvou až čtyř dnů při teplotě 50 až 95 °C, a následně je vzniklý produkt odfiltrován, promyt horkými použitými rozpouštědly a vysušen.
5. Použití platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů podle nároku 1 jako výchozích sloučenin pro přípravu analogicky substituovaných komplexů platiny v oxidačním stupni +IV.

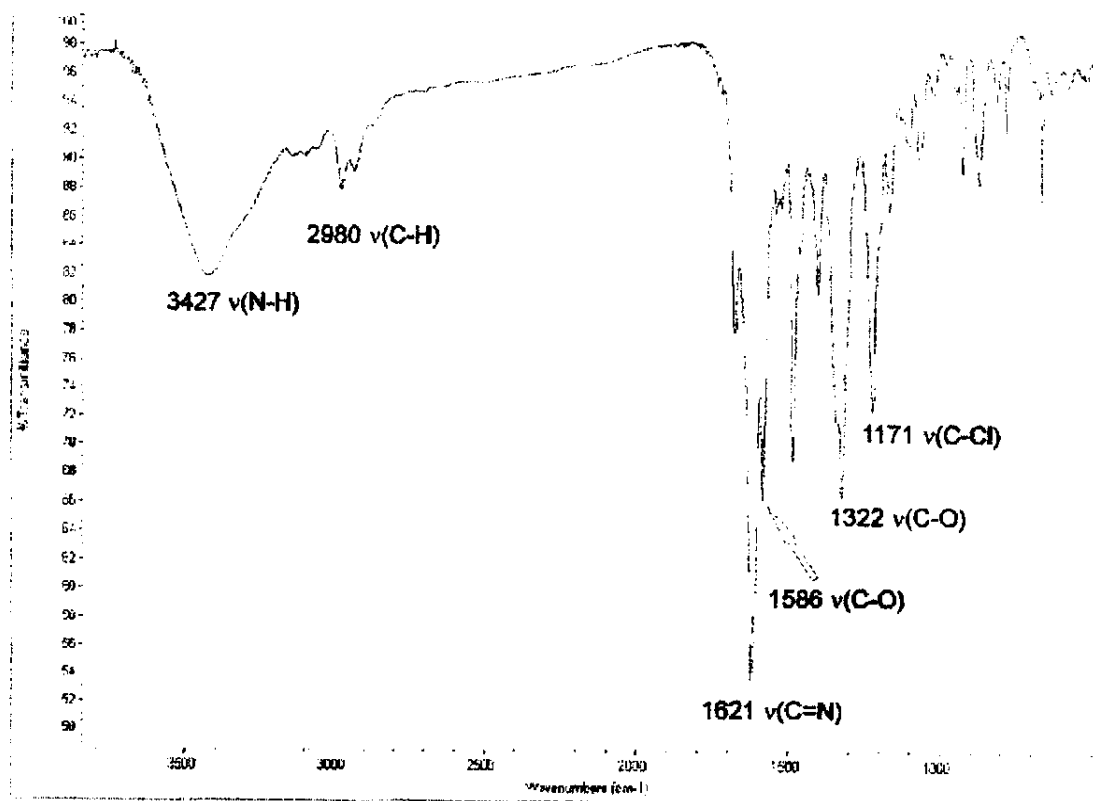
- 5 6. Farmakologický prostředek, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že obsahuje terapeuticky účinné množství platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů podle nároku 1 nebo farmaceutickou kompozici platnatých cyklobutan-1,1-dikarboxylátokomplexů podle nároku 1 s jedním či více přijatelných nosičů a pomocných látek.
7. Farmakologický prostředek podle nároku 6 pro použití v lékařství.
- 10 8. Použití farmaceutického nebo farmakologického prostředku podle nároku 6 pro výrobu léčiv pro léčbu nádorových onemocnění.

15

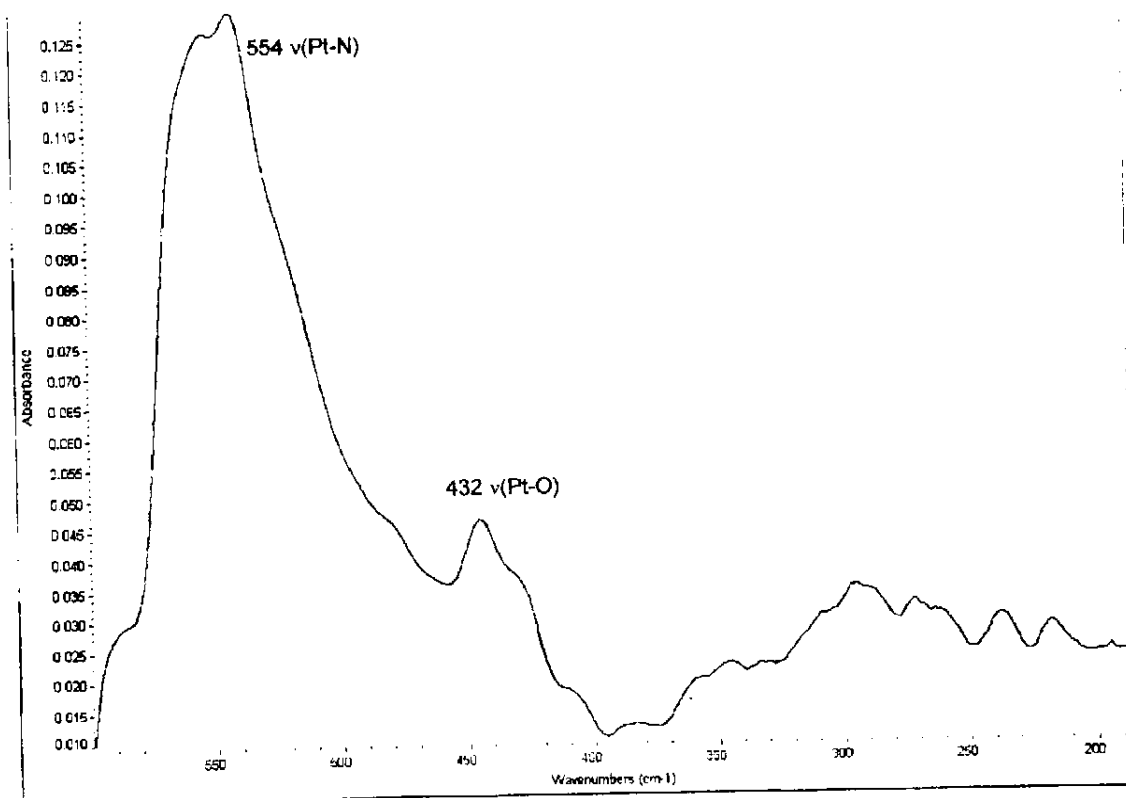
5 výkresů



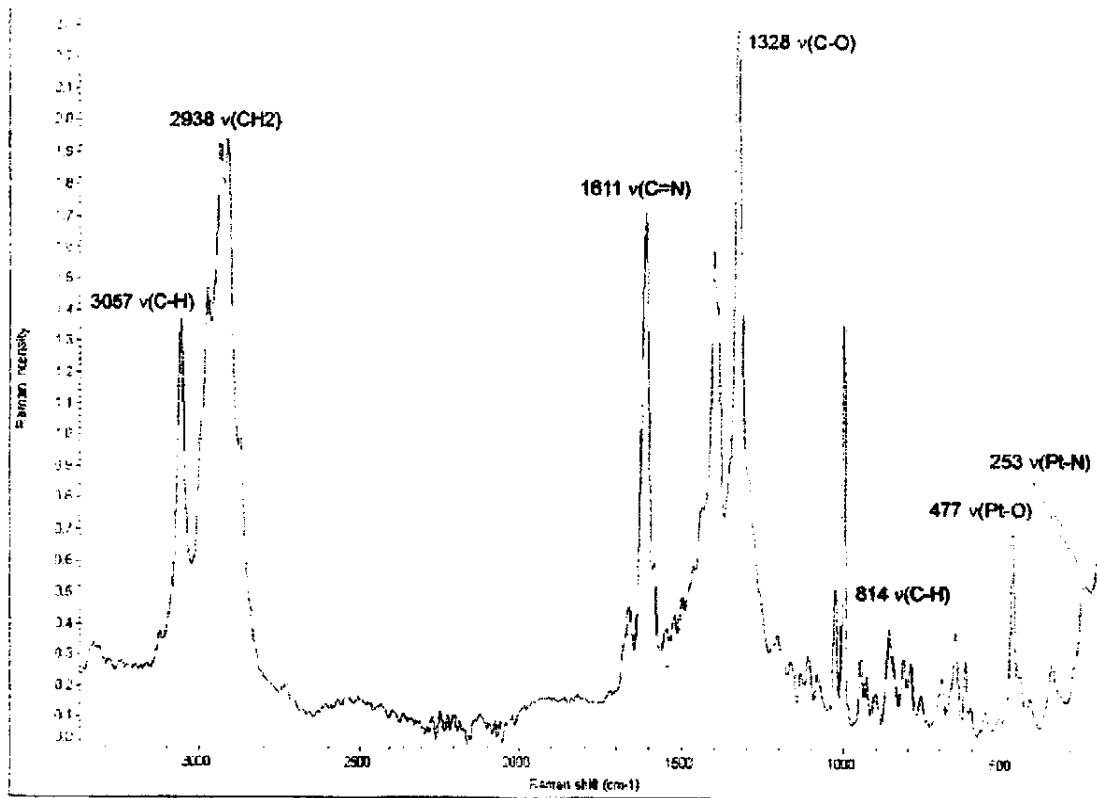
Obr.1



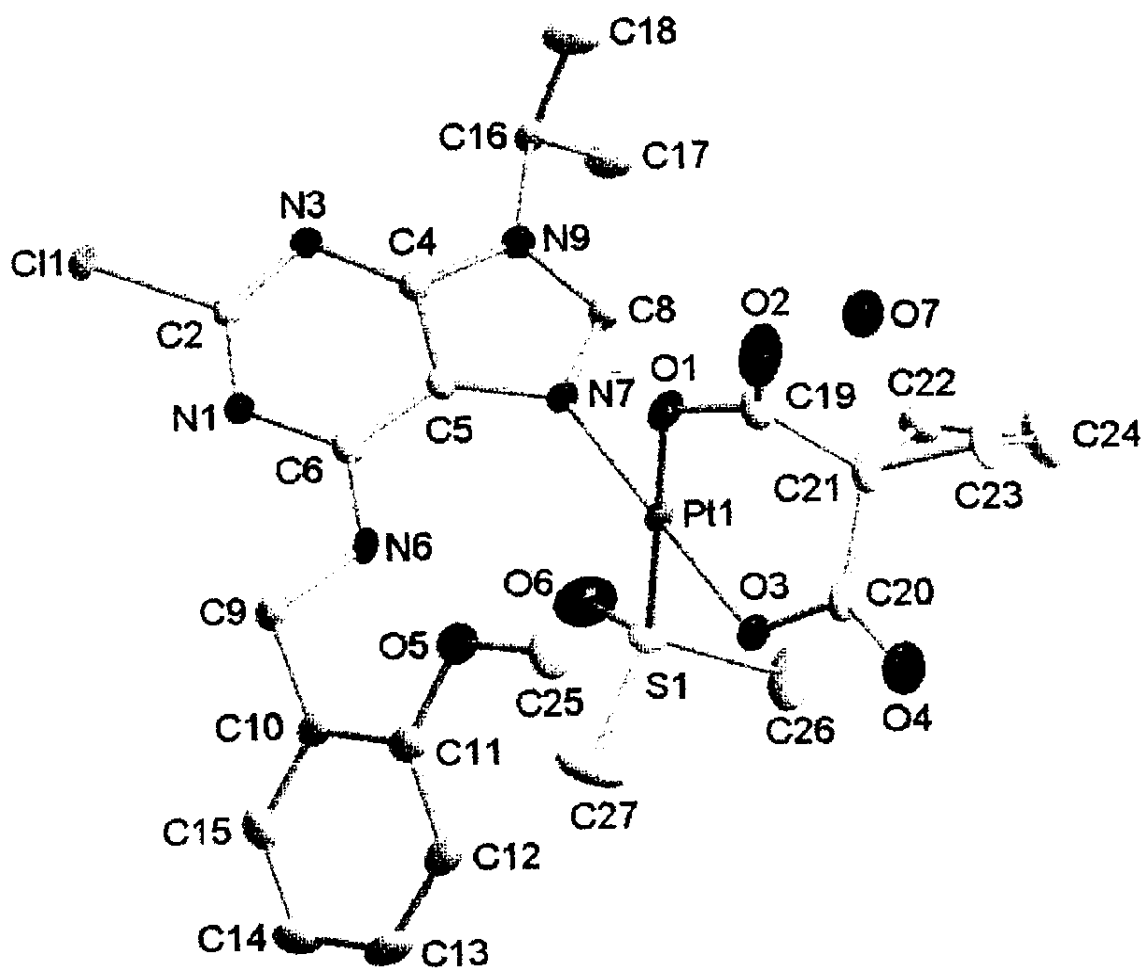
Obr.2



Obr.3



Obr.4



Obr.5

Konec dokumentu
