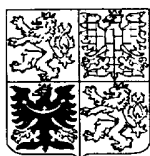


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

286 404

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1996 - 2849

(22) Přihlášeno: 22.03.1995

(30) Právo přednosti:

31.03.1994 IT 1994/MI610

(40) Zveřejněno: 16.04.1997

(Věstník č. 4/1997)

(47) Uděleno: 03.02.2000

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 12.04.2000

(Věstník č. 4/2000)

(86) PCT číslo: PCT/EP95/01074

(87) PCT číslo zveřejnění: WO 95/26968

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 F 15/00

A 61 K 31/282

A 61 P 35/00

A 61 P 33/00

(73) Majitel patentu:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG,
Basel, CH;

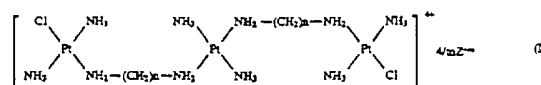
(72) Původce vynálezu:

Valsecchi Mariella, Monza, IT;
Conti Marco, Monza, IT;
Del Greco Luisa, Monza, IT;
Bugatti Carlo, Monza, IT;
Menta Ernesto, Monza, IT;
Giuliani Ferdinando, Monza, IT;
Manzotti Carla, Monza, IT;
Spinelli Silvano, Monza, IT;
Farrell Nicholas, Richmond, VA, US;

(74) Zástupce:

Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1,
110 00;

meziproduktu s trans-diammin-dichloroplatnatým komplexem předem aktivovaným substitucí dvou atomů chloru dvěma molekulami dimethylformamidu a uskuteční se výměnná reakce NO₃⁻ aniontu a jiného aniontu Z^m.



(54) Název vynálezu:

Komplexní sloučeniny platiny, způsob jejich výroby a farmaceutický prostředek s jejich obsahem

(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce I, v němž n znamená celé číslo 2 až 7, Z^m znamená chloridový, bromidový, jodidový nebo dusičnanový anion, m znamená číslo 1 nebo 2, mají protinádorový účinek při velmi malém množství nežádoucích účinků a je možno je použít pro výrobu farmaceutických prostředků, určených k léčení nádorových onemocnění a tvořících rovněž součást řešení. Způsob výroby sloučenin I spočívá v tom, že se aktivuje trans-diammin-dichloroplatnatý komplex substitucí atomu chloru dimethylformamidem v přítomnosti dusičnanu stříbrného a aktivovaný meziprodukt se nechá reagovat s diaminem obecného vzorce H₂N-(CH₂)_n-NH₂-P kde n znamená celé číslo 2 až 7 a P znamená běžnou ochrannou skupinu. Meziprodukt se po odštěpení ochranné skupiny P podrobí výměnné reakci mezi aniontem Q^m a aniontem NO₃⁻. Následně se uskuteční reakce takto získaného

CZ 286404 B6

Komplexní sloučeniny platiny, způsob jejich výroby a farmaceutický prostředek s jejich obsahem

5 Oblast techniky

Vynález se týká komplexních sloučenin platiny s protinádorovým účinkem, způsobu výroby těchto látek a farmaceutického prostředku s jejich obsahem.

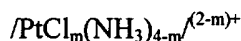
10

Dosavadní stav techniky

Použití komplexů platiny, například *cis*-platiny a carboplatiny při léčení zhoubných nádorů je známé. Řada komplexních sloučenin, například *cis*-platina se užívá k léčení karcinomů varlat, vaječníků, hlavové a šíjové oblasti a plicního karcinomu z malých buněk. Avšak *cis*-platina může mít toxické účinky na ledviny. Dalším nežádoucím klinickým účinkem může být skutečnost, že postupem doby nádor ztrácí citlivost na tuto látku.

Obvykle se předpokládá, že komplexní sloučeniny platiny, například *cis*-platina projevují svou biologickou účinnost kovalentní interakcí s DNA. Zejména vyvolává *cis*-platina tvorbu celé řady adičních produktů DNA s jedním nebo dvěma postranními řetězci a také tvorbu příčných můstků uvnitř sekvence, například GG nebo AG a GNG, jak bylo popsáno v publikaci Redijk a další, Structure and Bonding, 1987, 67, 53-89. V menším měřítku vyvolává *cis*-platina kromě můstků v kódované bílkovině podle publikace Rahmouni a další, biochemistry, 1987, 26, 7229-7234. Tyto poruchy ve svém důsledku vedou ke změnám tvaru, zejména k ohybu a k rozrušení smyček DNA. Tím současně může dojít k inhibici účinnosti různých DNA-polymeráz podle publikací Vallan a další, Nucl. Acids Res., 1988, 16, 4407-4418, Pinto a další, Proc. Natl. Acad. Sci., 1985, 82, 4616-4619, a Gralla a další, Cancer Res., 1987, 47, 5092-5096. Bylo pozorováno, že příčná vazba mezi dvěma sousedními guaninovými bázemi v současných řetězcích rovněž způsobuje inhibici funkce RNA-polymerázy, jak bylo popsáno v publikaci Lemaire a další, Proc. Natl. Acad. Sci., 1991, 88, 1982-1985. Na základě těchto pozorování je zřejmé, že cytotoxické účinky *cis*-platiny je pravděpodobně možno připsat kombinovanému vlivu těchto poškození DNA, spíše než jakémukoliv jinému specifickému vlivu na nádor.

Komplexy, které obsahují jeden nebo dva atomy platiny jsou již v oboru známé a byly popsány například v US patentových spisech č. 4 225 529, 4 250 189, 4 533 502, 4 565 884, 4 571 335 a 4 797 393. Například komplexy, které obsahují jeden atom platiny, zahrnují monomerní chloraminované platnaté sloučeniny se čtyřmi koordinačními vazbami. Relativní počet chloridových a amonných skupin v těchto látkách se může měnit, tyto sloučeniny je možno vyjádřit obecným vzorcem



Struktura těchto látek se tedy může měnit od vzorce $/Pt(NH_3)_4/^{2+}$, v němž $m = 0$ až k $PtCl_4^{2-}$, kde $m = 4$. Vzhledem k tomu, že chlor je daleko labilnější, pokud jde o substituci, ve srovnání s amoniakem, je možno komplexy $/PtCl_2(NH_3)_2/$ a $/PtCl(NH_3)_3/Cl$ považovat za bifunkční a monofunkční, přičemž předpony se týkají počtu odštěpitelných částí. Náboj komplexu je možno zjistit tak, že se bere v úvahu, že kation dvojmocné platiny má formální náboj +2 a proto je zapotřebí negativního náboje -2 pro jeho neutralizaci. Například v případě, že $m = 0$, dosahuje se neutralizace přítomností dvou chloridových aniontů, které se nacházejí vně koordinační oblasti.

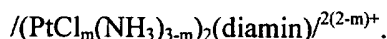
Tvorbu vazby mezi platinou a amoniakem, který je neutrální vaznou částí, je možno popsat jako předání párů elektronů z NH_3 do prázdných orbitů na atomu dvojmocné platiny. Nedochází tedy

ke sdílení elektronů mezi platinou a skupinou NH_3 . Vzhledem k této nepřítomnosti sdílení elektronů neovlivní počet neurálních vazných částí celkový náboj koordinační oblasti platiny. Z tohoto důvodu je útvar $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ formálně $2+$ kation, který nevyžaduje nekoordinační anion nebo anionty s negativním nábojem velikosti 2- pro neutralizaci celého komplexu. Neutralizaci je například možno uskutečnit dvěma anionty, z nichž každý nese jeden negativní náboj, například NO_3^- , Cl^- , PF_6^- , BF_4^- a monokarboxylátový anion obecného vzorce RCOO^- nebo může jít o jediný anion se dvěma negativními náboji, například anion SO_4^{2-} nebo dikarboxylátový anion, který je možno vyjádřit obecným vzorcem $[\text{R}(\text{COO})_2]^{2-}$. Na základě téhož principu je $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ neutrální komplex.

Tyto úvahy je možno aplikovat nejen na amoniak, avšak na různé neutrální vazné prvky, například na primární nebo sekundární aminy.

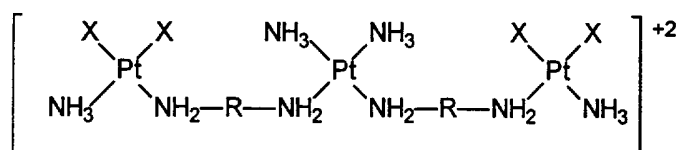
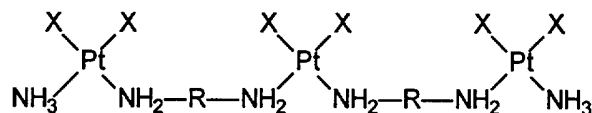
Je nutno uvést, že aniontové vazné části, například Cl^- mohou být vázány koordinačně za vzniku vazby $\text{Pt}-\text{Cl}$ nebo mohou být vázány iontovou vazbou bez tvorby kovalentní vazby. Skutečná forma, v níž se nacházejí různé anionty, například chloridové anionty v dané komplexní sloučenině platiny závisí jak na teoretických úvahách (kinetické nebo termodynamické vlivy), tak na způsobu výroby, který byl použit pro tvorbu daného komplexu, jde například o koncentraci určitého aniontu, například chloridového aniontu v reakční směsi a také na pH prostředí. Tyto úvahy je možno přenést také na další anionty i na neutrální vazné části.

Skutečnost, že celkový náboj komplexů, které obsahují jeden atom platiny, závisí na relativním počtu neutrálních a aniontových vazných částí, vázaných na dvojmocnou platinu, je možno přenést také na polynukleární komplexy, které obsahují více než jednu koordinační oblast s obsahem atomu dvojmocné platiny a také na komplexy, které obsahují čtyřmocný atom platiny, v nichž oxidační stav platinového atomu je $4+$. Například komplexy, které obsahují dvě jádra se dvěma ekvivalentními koordinačními oblastmi, obsahujícími vždy jeden atom dvojmocné platiny a v nichž tyto oblasti jsou spojeny diaminovým můstkem je možno vyjádřit obecným vzorcem



V případě, že $m = 2$ a jsou přítomny dvě bifunkční koordinační oblasti, je komplex neutrální. Naproti tomu v případě, že $m = 1$, jsou přítomny pouze monofunkční koordinační oblasti, platina má formální náboj $2+$, který musí být vyvážen jedním nebo větším počtem aniontů s nábojem 2-.

Příklady trinukleárních komplexů platiny byly v poslední době popsány v literatuře, například v publikaci Yun Qu a další, Inorg. Chem. 32, 2591-2593, 1993. Tyto látky, v nichž vazné části mají konfiguraci *cis*, jsou neutrální komplexy nebo komplexy s celkovým nábojem $+2$ a je možno je vyjádřit následujícími obecnými vzorci



kde X znamená labilní vaznou část, například atom chloru a R znamená alkylenový řetězec. Z toho, co bylo uvedeno svrchu, je zřejmé, že v případě komplexů s celkovým nábojem $+2$ se

tento náboj nachází na centrálním atomu platiny, který nese čtyři neutrální vazné části, zatímco dva periferní atomy platiny jsou formálně neutrální a tedy bifunkční. Uvedené komplexy byly popsány jako potenciální protinádorové látky, nebyla však popsána žádná skutečná účinnost těchto látek, podložena biologickými pokusy.

5

Podstata vynálezu

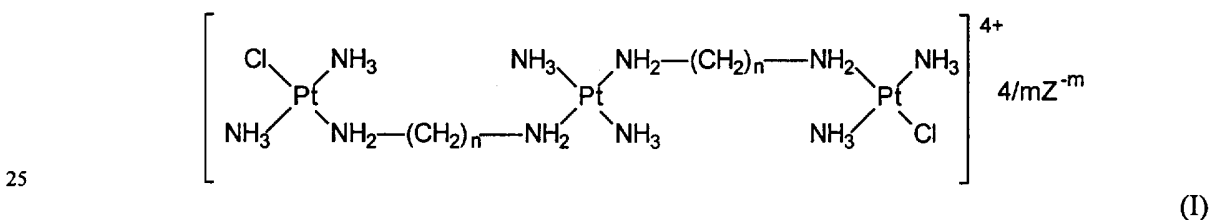
Podstatu vynálezu tvoří komplexní sloučeniny platiny, které obsahují tři atomy platiny, vázané diaminovými řetězci, přičemž středový atom platiny má čtyři koordinační vazby pro čtyři neutrální vazné části, zatímco oba periferní atomy platiny mají tři koordinační vazby pro tři neutrální vazné části a jedna vazná část má náboj -1.

Komplexní sloučeniny podle vynálezu se tedy liší od známých látek svým celkovým nábojem +4 a zvláště centrálním atomem platiny s formálním nábojem +2 a dvěma periferními atomy platiny, z nichž každý má formální náboj +1.

Mimoto, jak již bylo uvedeno, oba periferní atomy platiny jsou monofunkční.

Další rozdíl mezi novými komplexními sloučeninami a známými látkami spočívá v tom, že ve sloučeninách podle vynálezu jsou vazné části v konfiguraci trans.

Podstatu vynálezu tedy tvoří komplexní sloučeniny platiny obecného vzorce I



25

kde

n znamená celé číslo 2 až 7 včetně,

30

Z^m je anion ze skupiny chloridový, bromidový, jodidový, dusičnanový nebo síranový anion,

m znamená celé číslo 1 nebo 2.

35

Výhodnými sloučeninami obecného vzorce I jsou ty látky, v nichž $n = 6$.

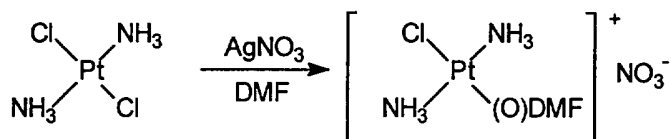
Zvláště výhodné jsou ty sloučeniny obecného vzorce I, v nichž $n = 6$, Z^m znamená chloridový nebo dusičnanový anion a $m = 1$.

40

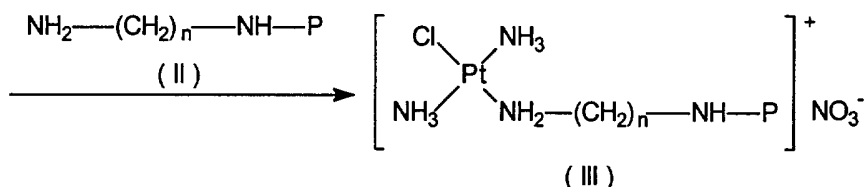
Vynález se týká také způsobu výroby komplexních sloučenin platiny obecného vzorce I.

Způsob výroby komplexních sloučenin platiny obecného vzorce I spočívá v tom, že se syntetizuje meziprodukt vzorce III z *trans*-diammin-dichloroplatnatého komplexu, předem aktivovaného substitucí atomu chloru dimethylformamidem reakcí s aminem vzorce II podle následujícího schématu:

45



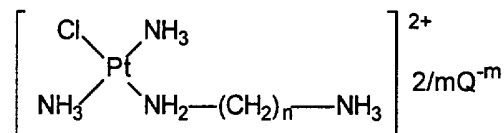
trans—platina



kde n má svrchu uvedený význam a P je vhodná ochranná skupina běžného typu, jako terc.butoxykarbonyl nebo p -methoxybenzyloxykarbonyl.

5

Z meziproductů vzorce III se po odštěpení ochranné skupiny P získá meziproduct vzorce IV



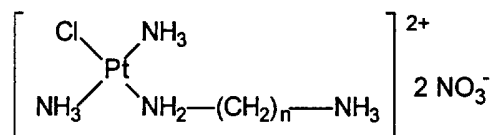
(IV)

10

kde n má svrchu uvedený význam, Q^{-m} je ion opačného náboje, který závisí na podmínkách odštěpení skupiny P . Například v případě, že P je terc.butoxykarbonyl, Q^{-m} může být chloridový nebo trifluoracetátový anion.

15

Meziproduct IV se pak převádí na meziproduct V



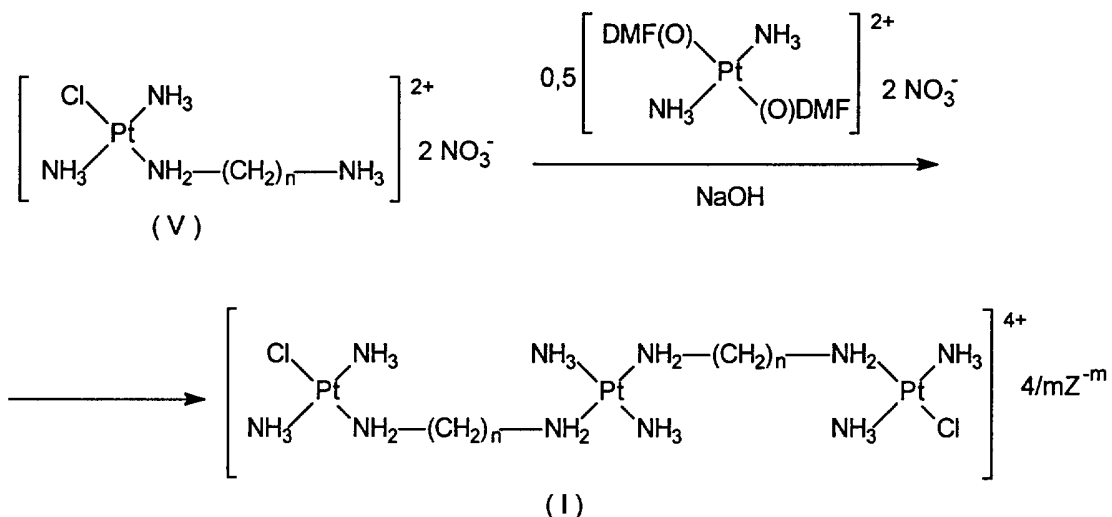
(V)

20

kde n má svrchu uvedený význam, výměnnou reakcí mezi iontem Q^{-m} a dusičnanovým iontem. V případě, že Q^{-m} znamená chloridový anion, může být tato výměna uskutečněna v přítomnosti dusičnanu stříbrného v rozpouštědle, například ve vodě nebo alkoholu, jako methanolu nebo ethanolu.

25

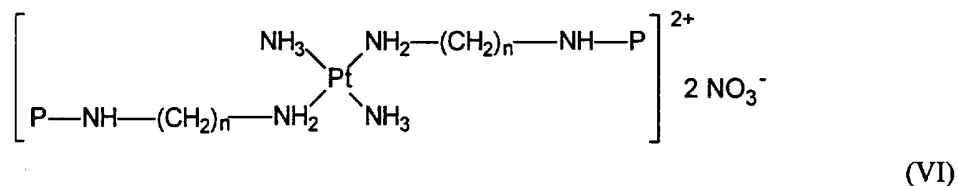
Meziproduct vzorce V se pak nechá reagovat s polovinou molu *trans*-diammin-dichloro-platnatého komplexu, předem aktivovaného substitucí obou atomů chloru dvěma molekulami dimethylformamidu za vzniku sloučeniny obecného vzorce I:



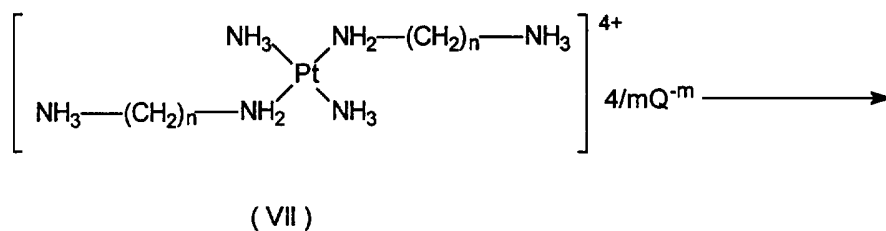
kde Z^m znamená dusičnanový anion. Tyto látky je pak možno převést na sloučeniny obecného vzorce I, v nichž Z^m znamená halogenidový nebo sulfátový anion běžnou výměnnou reakcí, podrobně popsanou v literatuře, například působením halogenidu nebo sulfátu alkalického kovu nebo kovu alkalických zemin. Sloučeniny obecného vzorce I, v němž Z^m znamená sulfátový anion, je možno připravit také z odpovídajících sloučenin obecného vzorce I, v nichž Z^m znamená halogenid, působícím sulfátu stříbrného.

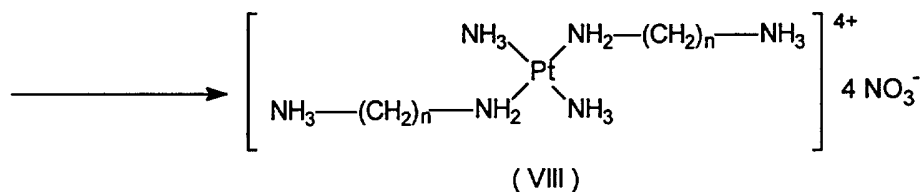
- 10 Výhodným způsobem pro výrobu sloučenin vzorce I v nichž Z^m znamená chlorid ze sloučenin vzorce I, v nichž Z^m znamená dusičnan je reakce s molárním přebytkem kyseliny chlorovodíkové při teplotě 0 až 50 °C.

- 15 Dalším způsob výroby sloučenin obecného vzorce I spočívá v tom, že se nejprve nechají reagovat dva moly aminu obecného vzorce II, s *trans*-diammin-dichloroplatinatým komplexem, předem aktivovaným substitucí obou atomů chloru dvěma molekulami dimethylformamidu za vzniku meziproduktu obecného vzorce VI



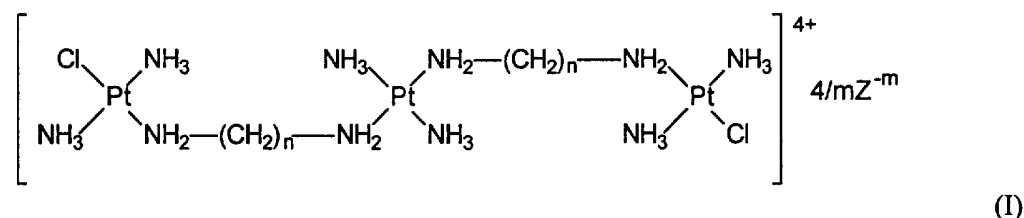
kde P má svrchu uvedený význam. Odštěpením skupiny P se získají meziprodukty obecného vzorce VII, v nichž Q^m má svrchu uvedený význam a které se pak převedou na mezi produkt obecného vzorce VIII





Tuto přeměnu je možno uskutečnit výměnnou reakcí mezi iontem Q^m a dusičnanovým iontem. V případě, že Q^m znamená chloridový anion, je možno tuto výměnnou reakci uskutečnit v přítomnosti dusičnanu stříbrného v rozpouštědle, například ve vodě nebo v alkoholu, jako methanolu nebo ethanolu.

Získaný meziprodukt obecného vzorce VIII se pak nechá reagovat se dvěma moly *trans*-diammin-dichloroplatinatého komplexu, předem aktivovaného substitucí atomu chloru dimethylformamidem, čímž se získají sloučeniny obecného vzorce I:



v nichž Z^m znamená dusičnanový anion. Tyto sloučeniny je pak možno převést na sloučeniny obecného vzorce I, v nichž Z^m znamená halogenidový nebo sulfátový anion některou z běžných výměnných reakcí, které byly podrobně popsány v literatuře, například působením halogenidu nebo sulfátu alkalického kovu nebo kovu alkalických zemin. Odlišným způsobem je možno sloučeninu obecného vzorce I, v níž Z^m znamená sulfátový anion získat tak, že se na odpovídající sloučeniny obecného vzorce I, v nichž Z^m znamená halogenidový anion působí síranem stříbrným.

Výhodný způsob pro výrobu sloučenin obecného vzorce I, v nichž Z^m znamená chloridový anion ze sloučenin obecného vzorce I, v nichž Z^m znamená dusičnanový anion spočívá v tom, že se působí molárním přebytkem kyseliny chlorovodíkové při teplotě v rozmezí 0 až 50 °C.

Možné postupy pro odstranění ochranné skupiny P zahrnují působení anorganickou kyselinou, například kyselinou chlorovodíkovou ve vodě, v alkoholu nebo v etherovém roztoku, nebo působení organickou kyselinou, například kyselinou trifluoroctovou. V případě, že P znamená terc.butoxykarbonylovou skupinu, jsou výhodnými podmínkami pro odštěpení této skupiny takové podmínky, které zahrnují použití chlorovodíku v alkoholovém roztoku. V takovém případě, jak již bylo svrchu uvedeno, bude iontem s opačným nábojem ve významu Q^m chloridový ion.

Sloučeniny podle vynálezu mají obecně dobrou rozpustnost ve vodě a ve fyziologickém roztoku a mimoto jsou rozpustná také v rozpouštědlech, mísitelných s vodou.

Sloučeniny podle vynálezu mají nejen výraznou protinádorovou účinnost, avšak také nízkou toxicitu, takže mají zvláště výhodný terapeutický index.

Mimoto skutečnost, že komplexní sloučeniny platiny podle vynálezu s obsahem tří atomů platiny jsou ve vodě vysoce rozpustné, může usnadnit výrobu lékových forem pro perorální i pro parenterální podání.

Komplexní sloučeniny platiny podle vynálezu byly podrobeny zkouškám na svůj cytotoxický účinek in vitro na různých buněčných liniích nádorových buněk, byly použity například buněčné linie myších leukemických buněk L-1210, buněčná linie karcinomu lidského vaječníku A2780 a odpovídající odvozené linie, které jsou odolné proti působení *cis*-platiny, L-1210/CDDP a S2780/CDDP. Zkouška, prováděná na buněčné linii A2780 je standardní běžně prováděnou zkouškou pro vyhodnocení protinádorového účinku komplexních sloučenin platiny. Mimoto byly komplexní sloučeniny platiny podle vynálezu podrobeny také zkouškám in vivo, při nichž byly buňky nádorové buněčné linie L-1210 naočkovány intraperitoneálně myším a pak byly podávány zkoumané účinné látky rovněž intraperitoneálně 24, 120 a 216 hodin po naočkování nádorových buněk. Při této zkoušce bylo možno pro komplexní sloučeniny platiny podle vynálezu prokázat na uvedeném pokusném modelu vysokou protinádorovou účinnost.

Komplexní sloučeniny platiny obecného vzorce I mohou způsobit regresi nádorů v případě, že jsou podány člověku nebo jiným živočichům, které je možno léčit pomocí komplexních sloučenin platiny v dávce 0,1 mg až 1,2 g na m² tělesné plochy.

Komplexní sloučeniny platiny obecného vzorce I je tedy možno použít pro výrobu farmaceutického prostředku, určeného pro léčení nádorů.

Účinná dávka komplexních sloučenin platiny podle vynálezu může být stanovena příslušným odborníkem na základě běžně uznávaných postupů. Vztah mezi dávkami, které je možno použít pro živočichy různých čeledí a různých velikostí a mezi dávkami, které je možno použít u člověka (na bázi mg/m² tělesné plochy) je podrobně uveden v publikaci Freirech E.J. a další, Quantitative Comparison of Toxicity of Anticancer Agents in Mouse, Rat, Hamster, Dog, Monkey and Man, Cancer Chemother. Rep., 50, č. 4, 219-244, 1966.

Obvykle se budou nemocným podávat dávky komplexní sloučeniny v rozmezí 0,1 až 1200 mg/kg tělesné hmotnosti, přičemž dávky budou záviset na různých faktorech, které se obvykle berou do úvahy.

V některých případech může být výhodné podávat komplexní sloučeninu platiny podle vynálezu spolu s jednou nebo větším počtem dalších účinných látek, které mohou zvýšit protinádorovou účinnost nebo mohou snížit výskyt nežádoucích vedlejších účinků těchto komplexních sloučenin.

Komplexní sloučeniny platiny podle vynálezu mohou být například podávány společně s redukováným glutathionem, tak jak bylo navrhováno například v patentových spisech GB 2 174 905 a US 4 871 528.

Mimoto může být výhodné podávat komplexní sloučeniny podle platiny vynálezu také v kombinaci s dalšími komplexními sloučeninami platiny, které jsou rovněž používány pro svou protinádorovou účinnost.

Podstatu vynálezu tvoří také farmaceutický prostředek s protinádorovým účinkem, který jako svou účinnou složku obsahuje nejméně jednu komplexní sloučeninu platiny obecného vzorce I, popřípadě s dalším komplexem platiny, který má rovněž protinádorovou účinnost.

Typy nádorů, které je u nemocných možno léčit při použití komplexních sloučenin platiny podle vynálezu, jsou takové nádory, o nichž je známo, že reagují na léčení s použitím *cis*-platiny. Komplexní sloučeniny platiny podle vynálezu jsou však účinné také proti některým nádorům, odolným proti komplexům typu *cis*-platiny.

Obecněji je možno uvést, že komplexní sloučeniny platiny podle vynálezu je možno použít pro léčení stejných patologických nádorových forem, které je možno léčit také s použitím *cis*-platiny. Jde zejména o léčení nádorů a o jejich sensitizaci k léčení zářením, jak bylo uvedeno

- 5 v publikacích Douple a další, Cisplatin Current Status and Developments, Ed. A. W. Prestayk a další, Academic Press, 125, 1980, Douple a další, Platinum Metals Res., 29, 118, 1985. Mimoto je tyto látky možno použít také pro léčení některých parazitárních onemocnění, například africké spavé nemoci, jak bylo popsáno v publikaci Farrell a další, Biochem. Pharmacol., 33, 961, 1984.

10 Rozložení jednotlivých dávek a celkové denní dávky je možno příslušným způsobem měnit tak, jak je to obvyklé v případě ostatních účinných látek, zejména v závislosti na typu léčeného nádoru a na stavu nemocného.

10 Podstatu vynálezu tvoří také farmaceutické prostředky s protinádorovým nebo antiparazitálním účinkem, které jako svou účinnou složku obsahují nejméně jednu komplexní sloučeninu platiny obecného vzorce I spolu s běžnými farmaceutickými nosiči a pomocnými látkami.

- 15 Sloučeniny podle vynálezu se s výhodou podávají ve formě sterilních vodných roztoků, které popřípadě obsahují chlorid sodný ve vhodné koncentraci, která je obvykle v rozmezí 0,1 až 0,9 mg/ml. Tyto roztoky jsou obvykle podávány nitrožilně nebo také intraarteriálně, přesto že v určitých případech je možno použít i jiné formy podávání.

- 20 Farmaceutické prostředky, které jsou určeny pro parenterální podání zahrnují sterilní roztoky ve fyziologickém roztoku chloridu sodného, tak jak bylo uvedeno svrchu, nebo běží o sterilní prášky, které jsou určeny pro přípravu takových roztoků těsně před podáním, nebo může jít o olejové prostředky, které jsou určeny pro nitrosvalové nebo pro intraperitoneální podání.

- 25 Dalšími použitelnými lékovými formami farmaceutických prostředků jsou například sirupy nebo podobné kapalně lékové formy a také pevné lékové formy, například tablety, kapsle a podobně.

30 Farmaceutický prostředek podle vynálezu je možno připravit podle známých běžných postupů pro výrobu obdobných lékových forem, tak jak byly popsány například v publikaci Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook, XVII Ed., Mack Pub., N. Y., USA.

Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady, které však nemají sloužit k omezení rozsahu vynálezu. Zkratka BOC znamená terc.-butoxykarbonyl.

35

Příklady provedení vynálezu

Příprava 1

- 40 N-BOC-hexandiamin se připraví tak, že se vychází z jeho hydrochloridu, který se běžně podává.

2,1 g N-BOC-Hexandiaminhydrochloridu se rozpustí ve 20 ml diethyletheru a pak se za stálého míchání přidává 16 ml 1N vodného roztoku hydroxidu sodného.

- 45 Organická fáze se pak promyje nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem sodným a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku, čímž se v teoretickém výtěžku získá N-BOC-hexandiamin ve formě volné báze.

Příklad 1

Příprava $t\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}-\text{BOC}/^+\text{NO}_3^-$

5 2 g *trans*-diammin-dichloroplatinatého komplexu, se rozpustí ve 133 ml bezvodého dimethylformamidu, DMF, a pak se najednou přidá 1,13 g dusičnanu stříbrného. Pak se reakční směs míchá za nepřístupu světla celkem 18 hodin. Po této době se vzniklá sraženina chloridu stříbrného odstraní filtrací reakční směsi a čirý filtrát se zchladí na teplotu -20°C . Pak se k filtrátu přidá roztok 1,36 g N-BOC-1,6-hexandiaminu ve 40 ml bezvodého DMF. Přidávání
10 trvá přibližně 30 minut. Pak se roztok udržuje za stálého míchání ještě 3 hodiny na teplotě -20°C a pak ještě další 1 hodinu při teplotě místnosti. Pak se rozpouštědlo odpaří za sníženého tlaku, přičemž teplota roztoku se současně udržuje na hodnotě, nepřevyšující 40°C a odparek se rozpustí ve 200 ml ethyletheru, vzniklý roztok se ještě 20 minut míchá a pak se zfiltruje. Takto získaná pevná látka se rozpustí ve 200 ml methanolu a roztok se míchá dalších 15 hodin
15 k vysrážení jakýchkoliv zbývajících stop *trans*-platiny. Vysrážená *trans*-platina se odfiltruje a k roztoku se přidá 1 g aktivního uhlí, pak se roztok znovu zfiltruje, načež se odpaří za sníženého tlaku. Odparek se čistí tak, že se uvede do suspenze ve 100 ml acetonu a suspenze se míchá po dobu 30 minut. Pak se suspenze zfiltruje, čímž se získá 2,3 g výsledného produktu.

20 Elementární analýza:

vypočteno C 24,33, H 5,57, N 12,90, Cl 6,53, Pt 35,93 %

nalezeno C 24,05, H 5,64, N 12,84, Cl 6,40, Pt 36,06 %.

 ^{195}Pt -NMR v DMF/ d_7 -DMF: -2433 ppm.

25

Příklad 2

Příprava $t\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_3/^{2+}2\text{NO}_3^-$

30

Roztok 1,5 g $t\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}-\text{BOC}/^+\text{NO}_3^-$ ve 150 ml methanolu se smísí s 21 ml 6,5M roztoku chlorovodíku v ethanolu. Reakční směs se udržuje za stálého míchání na teplotě místnosti celkem 24 hodin. Pak se pevný podíl odfiltruje, na filtru se promyje nejprve methanolem a pak ethyletherem a pak se usuší.

35

Výsledný pevný podíl se rozpustí v 180 ml methanolu a roztok se přidá k roztoku 0,825 g dusičnanu stříbrného ve 45 ml methanolu. Pak se reakční směs udržuje ještě 30 minut na teplotě místnosti za stálého míchání. Pak se vysrážený chlorid stříbrný odfiltruje a čirý filtrát se odpaří do sucha. Odparek se rozpustí a čirý filtrát se odpaří do sucha. Odparek se rozpustí v acetonu,
40 roztok se 15 minut míchá, pak se zfiltruje a odpaří a produkt se usuší, čímž se získá 0,925 g produktu.

Elementární analýza:

vypočteno C 14,65, H 4,71, N 14,24, Cl 7,21, Pt 39,67 %

45

nalezeno C 14,19, H 4,66, N 16,62, Cl 6,91, Pt 36,10 %.

 ^{195}Pt -NMR v DMF/ d_7 -DMF: -2433 ppm.

Příklad 3

Příprava $t,t,t\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6\text{-NH}_2\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6\text{-NH}_2\text{PtCl}(\text{NH}_3)_2^{4+}4\text{NO}_3^-$

- 5 61 mg *trans*-diammin-dichloroplatnatého komplexu se uvede do suspenze ve 2 ml bezvodého dimethylformamidu a pak se přidá ještě 69,1 mg dusičnanu stříbrného. Reakční směs se míchá celkem 6 hodin při teplotě 65 °C, načež se zchladí na teplotu místnosti a vytvořená sraženina chloridu stříbrného se odfiltruje. K filtrátu se přidá roztok 200 mg $t\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6\text{-NH}_3^{2+}-2\text{NO}_3^-$ ve 2 ml dimethylformamidu a 0,4 ml 1N roztoku hydroxidu sodného v methanolu.
- 10 Takto získaná reakční směs se udržuje přes noc na teplotě místnosti a pak se zředí ethyletherem. Vyloučí se pevný podíl, který se oddělí filtrací, promyje se ethyletherem a pak ještě acetone

15 Tento produkt se uvede do suspenze v 5 ml DMF a suspenze se ještě 10 minut míchá, pak se pevný podíl oddělí filtrací a uvede se znovu do suspenze v 10 ml acetonu a pak se suspenze míchá dalších 30 minut. Pak se pevný podíl odfiltruje a suší, čímž se získá 150 mg produktu.

Elementární analýza:

- vypočteno C 11,63, H 4,07, N 15,83, Cl 5,72, Pt 47,24 %
- 20 nalezeno C 11,70, H 3,95, N 15,20, Cl 4,60, Pt 47,10 %.

^{195}Pt -NMR v NaCl 0,3% ve vodě: -2416 ppm, -2667 ppm.

- ^1H -NMR (200 MHz) v D_2O : 1,35 ppm (m, 8H), 1,68 ppm (m, 8H), 2,65 ppm (br m, 8H).
- 25

Příklad 4

Příprava $t\text{-BOC-NH}-(\text{CH}_2)_6\text{-NH}_2\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6\text{-NH-BOC}^{2+}2\text{NO}_3^-$

- 30 Suspenze 1,028 g *trans*-diammin-dichloroplatnatého komplexu ve 35 ml bezvodého dimethylformamidu se smísí s 1,16 g dusičnanu stříbrného. Reakční směs se zahřívá na 60 °C za nepřístupu světla po dobu celkem 5 hodin a pak se vytvořená sraženina chloridu stříbrného odfiltruje. Pak se přidá ještě roztok 1,48 g N-BOC-1,6-hexandiaminu v 5 ml dimethyl-
- 35 formamidu a výsledná reakční směs se udržuje přes noc na teplotě místnosti. Pak se směs zředí 300 ml ethyletheru, čímž dojde k vysrážení bílé pevné látky, která se odfiltruje, znovu se rozpustí v methanolu a roztok se zfiltruje přes filtr s průměrem otvorů 0,2 mikrometru (Millex), čímž se odstraní jakékoliv skoky stříbrných solí. Pak se methanolvý roztok zředí diethyletherem. Vytvoří se pevná krystalická látka, která se odfiltruje a pak se suší, čímž se získá 1,94 g
- 40 produktu.

Elementární analýza:

- vypočteno C 33,63, H 6,93, N 14,26, Pt 24,83 %
- 45 nalezeno C 33,44, H 6,93, N 14,30, Pt 25,06 %.

^{195}Pt -NMR v DMF/ d_7 -DMF: -2687 ppm.

Příklad 5

- 50 Příprava $t\text{-NH}_3-(\text{CH}_2)_6\text{-NH}_2\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6\text{-NH}_3^{4+}4\text{Cl}^-$

500 mg $t\text{-BOC-NH}-(\text{CH}_2)_6\text{-NH}_2\text{-Pt}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6\text{-NH-BOC}^{2+}2\text{NO}_3^-$ se rozpustí v 50 ml methanolu a k roztoku se přidá 5 ml 6,5 M roztoku chlorovodíku v ethanolu. Reakční směs se

udržuje za stálého míchání na teplotě místnosti celkem 42 hodin, pak se pevný podíl odfiltruje a promyje se ethyletherem, čímž se získá 340 mg produktu.

Elementární analýza:

- 5 vypočteno C 23,81, H 6,66, N 13,88, Cl 23,42, Pt 32,23 %
nalezeno C 23,14, H 6,73, N 13,51, Cl 22,03, Pt 31,68 %.

^{195}Pt -NMR ve vodě: -2674 ppm.

10

Příklad 6

Příprava t,t,t -PtCl(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂PtCl(MH₃)₂/⁴⁺4NO₃⁻

- 15 200 mg t -NH₃-(CH₂)₆-NH₂-Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₃/⁴⁺4Cl⁻ se rozpustí v 10 ml destilované vody a přidá se 224 mg dusičnanu stříbrného. Výsledná suspenze se udržuje za stálého míchání celkem 10 minut na teplotě místnosti a pak se vytvořená sraženina chloridu stříbrného odfiltruje. Filtrát se odpaří téměř do sucha a pak se zředí acetonem. Vysráží se bílá pevná látka, která se odfiltruje, promyje se acetonem a pak se usuší, čímž se získá 204 mg výsledného produktu,
20 t -NH₃-(CH₂)₆-NH₂-Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₃/⁴⁺4NO₃⁻.

- Roztok 172 mg *trans*-diammin-dichloroplatinatého komplexu ve 21,5 ml bezvodého dimethylformamidu se smísí s 98 mg dusičnanu stříbrného. Výsledná suspenze se udržuje za stálého míchání přes noc na teplotě místnosti za nepřístupu světla, pak se vytvořená sraženina chloridu stříbrného odfiltruje.
25

- K roztoku 204 mg t -NH₃-(CH₂)₆-NH₂-Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₃/⁴⁺4NO₃⁻ v 7 ml dimethylformamidu se přidá 0,57 ml 1N roztoku hydroxidu sodného v methanolu a tento roztok se pak přidá při teplotě místnosti k filtrátu z předchozího stupně, který obsahuje *trans*-platinu, aktivovanou dimethylformamidem. Po 6 hodinách se roztok zfiltruje přes filtr s průměrem otvorů 0,2 mikrometru (Millex) k odstranění jakýchkoliv stup stříbrných solí, pak se filtrát zředí ethyletherem. Vysrážený pevný podíl se odfiltruje, čímž se získá 326 mg produktu.
30

^{195}Pt -NMR v NaCl 0,3% ve vodě: -2416 ppm, -2667 ppm.

35

^1H -NMR (200 MHz v D₂O): 1,35 (m, 8H), 1,68 (m, 8H), 2,65 ppm (br m, 8H).

Příklad 7

40

Příprava t,t,t -PtCl(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂-Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂PtCl(NH₃)₂/⁴⁺4Cl⁻

- 326 mg t,t,t -PtCl(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂-Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂PtCl(NH₃)₂/⁴⁺4NO₃⁻ se rozpustí ve fyziologickém roztoku chloridu sodného (0,9 %) a roztok se zfiltruje přes filtr s průměrem otvorů 0,2 mikrometru (Millex) a pak se odpařuje až do vytvoření bílého pevného podílu, který se odfiltruje, čímž se získá 187 mg produktu.
45

Elementární analýza:

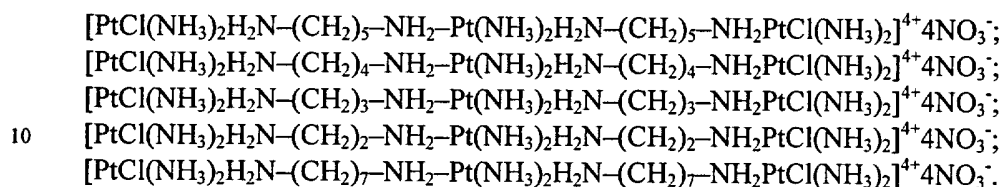
- 50 vypočteno C 12,73, H 4,45, N 12,37, Cl 18,78, Pt 51,68 %
nalezeno C 12,60, H 4,45, N 12,85, Cl 14,77, Pt 48,33 %.

^{195}Pt -NMR v NaCl 0,3% ve vodě: -2416 ppm, -2671 ppm.

^1H -NMR (200 MHz, v D₂O): 1,40 (m, 8H), 1,70 (m, 8H), 2,70 (br m, 8H) ppm.

Příklad 8

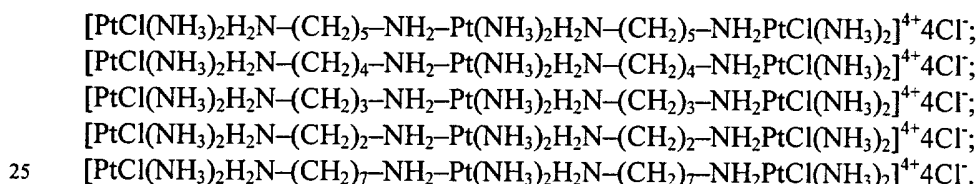
Postupuje se způsobem podle příkladů 1, 2 a 3 nebo podle příkladů 4, 5 a 6, vychází se z diaminů, chráněných vhodnou ochrannou skupinou, čímž se získají následující komplexní sloučeniny platiny.



^{195}Pt -NMR v NaCl 0,3% ve vodě: -2422 ppm, -2670 ppm.

Příklad 9

Postupuje se způsobem podle příkladu 7, vychází se z komplexů z příkladu 8, získají se následující produkty:



^1H -NMR (200 MHz v D_2O): 1,39 (s, 12H), 1,68 (br m, 8H), 2,67 (br m, 8H) ppm.

Příklad 10

Příprava $\text{t,t,t-PtCl}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_2-\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_2-\text{PtCl}(\text{NH}_3)_2]^{4+} 4\text{Cl}^-$

Suspenze 1,3 g $\text{t,t,t-PtCl}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_2-\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_2-\text{PtCl}(\text{NH}_3)_2]^{4+} 4\text{NO}_3^-$ v 65 ml 0,1N vodném roztoku kyseliny chlorovodíkové se připraví pod dusíkem a pak se zahřeje na 54 °C k úplnému rozpuštění složek. Po jedné hodině při této teplotě se roztok zchladí na 20 °C a filtruje přes filtr ze skelných vláken k odstranění mechanických nečistot. K čirému roztoku se přidá 7,8 ml 4N vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové, za několik minut se počne tvořit sraženina. Suspenze se míchá 30 minut při 20 °C a pak ještě 30 minut při 10 °C. Pak se sraženina odfiltruje na nálevce (Buckner) a promyje se 0,5 ml 0,4N vodné kyseliny chlorovodíkové a acetonem. Bílý pevný podíl se suší přes noc ve vakuu při 40 °C, čímž se získá 1,03 g produktu.

Elementární analýza: (x 2 H_2O):

vypočteno C 12,33, H 4,65, N 11,98, Cl 18,21, Pt 50,07 %
nalezeno C 12,34, H 4,73, N 12,05, Cl 17,55, Pt 49,97 %.

Výsledky biologický zkoušek

Výsledky zkoušek in vitro

Vyhodnocení cytotoxické účinnosti komplexů platiny in vitro se provádí na různých lidských a myších nádorových buněčných liniích s různou úrovní citlivosti na cisplatinu (CDDP), při

použití zkoušky MTT. MTT je kolorimetrická zkouška, založená na redukci methylnitrotetrazoliové soli mitochondriemi živých buněk. Počet životaschopných buněk je přímo úměrný množství vytvořených formazanových solí, které je možno odečíst spektrofotometricky. Exponenciálně rostoucí nádorové buňky se nejprve vyhodnotí na svou životaschopnost a pak se uvedou do styku na různou dobu se zkoumanými látkami v závislosti na specifické buněčné linii.

Parametry vyhodnocení

IC_{50} = koncentrace, při níž dochází k inhibici buněčného růstu na 50% ve srovnání s kontrolními buňkami. Tato hodnota představuje parametr cytotoxické účinnosti zkoumaných látek.

RI = index rezistence. V některých případech vzniká možnost $RI = IC_{50}$, např. u nádorových linií, odolných proti CDDP. Jde o parametr schopnosti zkoumaných látek nereagovat zkříženě s referenční látkou CDDP. Hodnoty RI v blízkosti 1 znamenají schopnost zkoumané látky překonat rezistenci buněčné linie proti CDDP.

Vyhodnocení in vivo

Vyhodnocení protinádorové účinnosti in vivo se provádí na myších s implantovanými myšími nebo lidskými nádory nitrosvalově i.m., podkožně s.c. nebo intraperitoneálně i.p. V případě lidských nádorů se užívá myši bez brzlíku, bezsrstých myši. Účinné látky se podávají nitrožilně i.v. v časném stupni růstu nádoru v případě myších nádorů, v zatímco případě lidských nádorů se účinná látka podává až v pokročilejším stupni nádorového růstu. V obou případech se podávání účinných látek opakuje. Protinádorová účinnost zkoumaných látek se vyhodnocuje ke zjištění optimální dávky, která spojuje nejvyšší účinek s nejnižší toxicitou, obvykle do dávky DL_{10} , což znamená dávku, při níž dochází k uhynutí 10 % zvířat s nádorem.

Parametry vyhodnocení:

T/C % = procentuální poměr střední doby přežívání MST u ošetřených a neošetřených kontrolních zvířat. T/C % 125 nebo vyšší se považuje za prahovou hodnotu protinádorového účinku podle norem National Cancer Institute (NCI). Reprodukovatelné hodnoty, rovné nebo vyšší než 150 % znamenají slabý protinádorový účinek. Reprodukovatelné hodnoty, rovné nebo vyšší než 175 % znamenají významný protinádorový účinek.

LTS = přežívání po delší dobu a udává počet zvířat „vyléčených“, tzn. prostých nádoru na konci pokusu.

TWI % = inhibice hmotnosti nádoru. Vypočítá se jako $100 - ((\text{průměr relativní nebo absolutní hmotnosti nádoru léčených myši}) : (\text{průměrná relativní nebo absolutní hmotnost nádoru u neošetřených myši})) \times 100$. Hodnoty nižší nebo rovné 50 % znamenají odolnost proti účinné látce. Hodnoty 50 - 80 % znamenají mírnou protinádorovou účinnost. Reprodukovatelné hodnoty rovné nebo vyšší než 80 % znamenají dobrý účinek.

SGD = opoždění růstu nádoru. Jde o čas ve dnech, jehož je zapotřebí ke zdvojnásobení (dT) nebo čtyřnásobné zvýšení (2dT) hmotnosti nádoru po zahájení léčby. Hodnota $SGD = (dT \text{ léčených myši} - dT \text{ kontrolních myši}) : (dT \text{ kontrolních myši})$. Pro neúčinné látky je tato hodnota nižší než 1, pro účinné látky je tato hodnota 1 - 2 a pro velmi účinné látky je vyšší než 2.

TOX = toxicita, vyhodnocená na bázi vyšetření tkáně uhynulých myši a podle ztráty hmotnosti. Podle běžného názoru uhynou myši na toxicitu použité látky v případě, že uhynou dříve než kontrolní zvířata nebo v případě, že dojde ke ztrátě jejich hmotnosti vyšší než 20 % a/nebo ke zmenšení sleziny a jater.

Pro řadové vyšetření účinných látek se provádí vyhodnocení cytotoxického účinku komplexů platiny in vitro 1) při použití buněčné linie myši leukemie L 1210 a jejich podlinie se získanou odolností proti CDDP, tzn. L 1210/CDDP. Tyto linie se již dlouho užívají k vyhodnocení analogů platiny 2) při použití linie lidského karcinomu vaječníků A 2780 a její podlinie, odolné proti CDDP, tzn. A 2780/CDDP.

L 1210 je myší lymfocytární leukemie, vyvolávaná u myši chemicky a přizpůsobená růstu in vitro. Hodnoty IC_{50} pro tuto buněčnou linii jsou $1,0 \pm 0,3$ mikrogramu/ml po 48 hodinách působení účinné látky.

L 1210/CDDP je podlinie L 1210 se získanou odolností in vivo proti CDDP. Mechanismus odolnosti této podlinie je pravděpodobně založen na porušeném příjmu CDDP. Hodnota IC_{50} pro tuto linii v kultuře in vitro je $8,6 \pm 2,2$ mikrogramu/ml po 48 hodinách působení účinné látky.

A 2780 je linie lidského karcinomu vaječníků, získaná z primárního nádoru nemocného. Hodnota IC_{50} pro CDDP u této buněčné linie je $2,4 \pm 1,2$ mikrogramu/ml po působení účinné látky 1 hodinu.

A 2780/CDDP je podlinie A 2780, která má získanou odolnost proti CDDP na základě kontinuálního vystavení působení CDDP in vitro. Mechanismus odolnosti této linie je pravděpodobně spojen s narušeným mechanismem úpravy DNA. Hodnota IC_{50} pro tuto buněčnou linii v případě CDDP je $16,1 \pm 5,7$ mikrogramu/ml po 1 hodině působení účinné látky.

V následující tabulce budou shrnuty farmakologické údaje in vivo, týkající se protinádorového účinku komplexů platiny podle vynálezu, a to 20'120 ve srovnání s cisplatinou CDDP v případě myši leukemie se získanou odolností proti CDDP, tzn. L 1210/CDDP.

Vysvětlivky k tabulce:

a) 10^5 buněk L 1210/CDDP bylo podáno i.p. myším samcům kmene CD2F1. Účinné látky byly podány rovněž i.p. ve dnech 1,5 a 9 po transplantaci nádoru ve dni 0. Všechny látky byly rozpuštěny ve fyziologickém roztoku.

b) T/C střední doba přežití léčených myši: střední doba přežití kontrolních myši x 100

c) TOX: počet uhynutí na toxicitu/celkový počet myši

d) LTS: počet zvířat, prostých nádoru po ukončení pokusu

x = hodnoty byly vypočítány u mrtvých myši

Př.	n	m	Z	BBR kod	dávka mg/kg	L 1210/CDDP (ip/ip+1,5,9) (a)			
						T/C% (b)	TOX (c)	LTS (d)	
						den			
3	6	1	NO ₃	3464	0,25	239	389	2/16	5/16
					0,38	188	233	0/24	2/24
						228			
8	7	1	NO ₃	3559	0,25	250		1/8	2/8
					0,38	412		2/8	2/8
8	4	1	NO ₃	3561	1,5	150		1/8	0/8
					3	175		2/8	0/8
					6	200		4/8	0/8
9	7	1	Cl	3560	0,25	145x		0/8	4/8
					0,38	200x		1/8	5/8
					0,50	205x		1/8	4/8
				CDDP	6	114		10/207	0/207
						(110-131)			

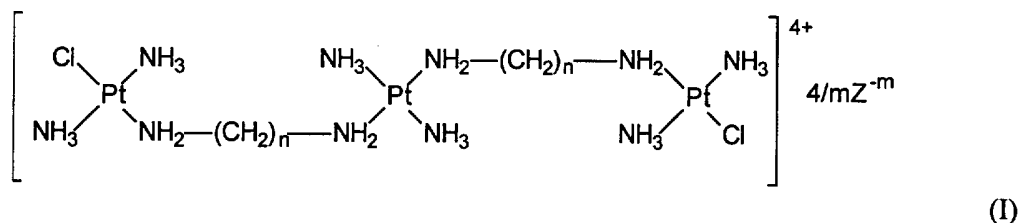
V následující tabulce jsou uvedeny hodnoty pro cytotoxicitu komplexů platiny podle vynálezu v případě 20'120 proti liniím myší leukemie, citlivým (L 1210) k cisplatině nebo odolným (L 1210/CDDP) proti cisplatině a v případě lidské buněčné linie karcinomu vaječníků, citlivé (A 2780) k cisplatině nebo odolné (A 2780/CDDP) proti cisplatině ve srovnání s působením cisplatin CDDP. Výsledky jsou vyjádřeny jako hodnoty IC_{50} , tzn. jako koncentrace, vyvolávající 50% inhibici buněčného růstu po 48 hodinách působení v případě myší linie a po 1 hodině působení v případě lidské linie. V závorce jsou uvedeny standardní odchylky.

Příklad	n	m	Z	BBR kod	$IC_{50}\mu\text{g/ml(S.D.)}$		$RI^{(a)}$	$IC_{50}\mu\text{g/ml(S.D.)}$		$RI^{(a)}$
					L 1210	L 1210/CDDP		A 2780	A 2780/CDDP	
3	6	1	NO_3	3464	0,116 (0,15)	0,093 (0,092)	0,8	0,048(0,032)	0,355 (0,23)	7,4
8	7	1	NO_3	3559	0,09 (0,03)	0,108 (0,03)	1,1	0,107 (0,07)	0,27 (0,02)	2,5
9	7	1	Cl	3560	0,08 (0,07)	0,08 (0,08)	1	0,106 (0,06)	0,31 (0,06)	2,9
8	4	1	NO_3	3561	1,8 (0,7)	0,9 (0,5)	0,5	1,2 (0,9)	12,6 (2,7)	10,5
				CDDP	0,9 (0,3)	8,3 (2,2)	9,2	2,4 (1,2)	16,4 (6,5)	6,7

(a) RI = index rezistence, tzn. IC_{50} pro odolnou buněčnou linii/ IC_{50} pro citlivou linii

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Komplexní sloučeniny platiny obecného vzorce I



kde

n znamená celé číslo 2 až 7,

Z^{-m} znamená chloridový, bromidový, jodidový nebo dusičnanový anion,

m znamená celé číslo 1 nebo 2.

2. Komplexní sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1, v nichž $n = 6$.

3. Komplexní sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1 nebo 2, v nichž Z znamená chloridový nebo dusičnanový anion a m znamená 1.

4. Komplexní sloučeniny obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 3, ze skupiny:

/PtCl(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂-Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂PtCl(NH₃)₂/⁴⁺4NO₃⁻;
/PtCl(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂-Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂PtCl(NH₃)₂/⁴⁺4Cl⁻;
/PtCl(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂-Pt(NH₃)₂H₂N-(CH₂)₆-NH₂PtCl(NH₃)₂/⁴⁺4SO₄²⁻.

5. Způsob výroby komplexních sloučenin platiny obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že se

a) aktivuje *trans*-diammin-dichloroplatnatý komplex substitucí atomu chloru dimethylformamidem v přítomnosti dusičnanu stříbrného,

b) aktivovaný meziprodukt se nechá reagovat s diaminem obecného vzorce II

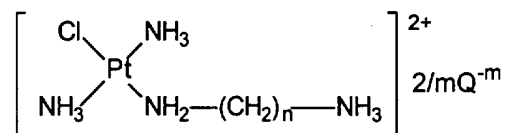


kde

n znamená celé číslo 2 až 7, a

P znamená běžnou ochrannou skupinu,

čímž se po odštěpení ochranné skupiny P získá meziprodukt obecného vzorce IV



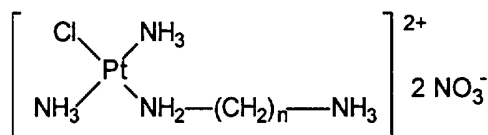
kde

n má svrchu uvedený význam,

m znamená celé číslo 1 nebo 2 a

Q^{-m} znamená ion opačného náboje, odvozený z podmínek odštěpení ochranné skupiny P ,

c) uskuteční se výměnná reakce mezi aniontem Q^{-m} a aniontem NO_3^- v rozpouštědle, například ve vodě nebo alkoholu, za vzniku meziproduktu obecného vzorce V



kde n má svrchu uvedený význam,

d) uskuteční se reakce meziproduktu obecného vzorce V s *trans*-diammin-dichloroplatnatým komplexem, předem aktivovaným substitucí dvou atomů chloru dvěma molekulami dimethylformamidu v přítomnosti dusičnanu stříbrného v molárním poměru 1 : 0,5 mol za vzniku komplexní sloučeniny obecného vzorce I, v níž n má svrchu uvedený význam, $m = 1$ a Z^{-m} znamená dusičnanový anion, načež se popřípadě

e) uskuteční výměnná reakce dusičnanového aniontu a jiného aniontu Z^{-m} , kde Z^{-m} má svrchu uvedený význam.

6. Způsob podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že se ochranná skupina P volí z terc.butoxykarbonylové a p-methoxybenzyloxykarbonylové skupiny.

7. Způsob podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že se jako ochranná skupina P užije terc.butoxykarbonylová skupina a odštěpení této skupiny se uskuteční působením kyseliny chlorovodíkové.

8. Způsob podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že se ve stupni e) dusičnanový anion nejprve zamění za chloridový anion ve významu symbolu Z^m , chloridový anion se pak zamění za sulfátový anion, přičemž výměna mezi chloridovým aniontem a sulfátovým aniontem se uskuteční působením sulfátu stříbrného.

9. Způsob podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že se ve stupni e) dusičnanový anion vymění za chloridový anion reakcí s vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové, která se užije v molárním přebytku při teplotě v rozmezí 0 až 50 °C.

10. Způsob výroby komplexních sloučenin platiny podle některého z nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že se

a) nechá reagovat amin obecného vzorce II

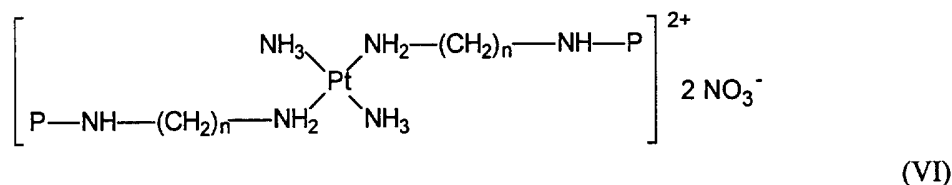


kde

n znamená celé číslo 2 až 7 a

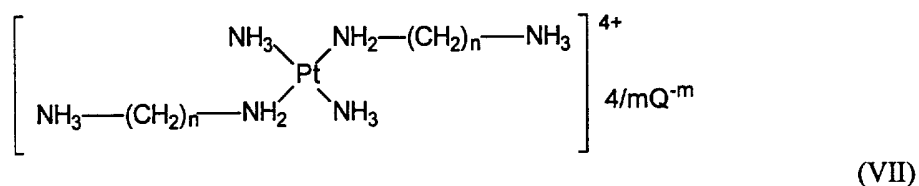
P znamená běžnou ochrannou skupinu,

s *trans*-diammin-dichloroplatnatým komplexem, předem aktivovaným substitucí dvou atomů chloru dvěma molekulami dimethylformamidu v přítomnosti dusičnanu stříbrného, v molárním poměru 2 : 1, za vzniku meziprojektu obecného vzorce VI



kde n a P mají svrchu uvedený význam,

b) odštěpí se ochranná skupina P za vzniku meziprojektu obecného vzorce VII



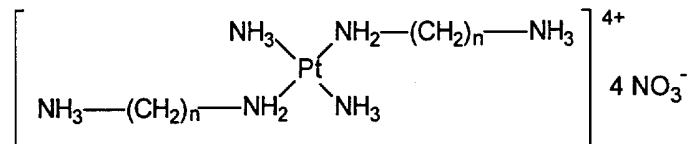
kde

n má svrchu uvedený význam a

Q^m znamená anion, odvozený od reakce, při níž došlo k odštěpení ochranné skupiny P,

c) uskuteční se výměnná reakce mezi aniontem Q^m a aniontem NO_3^- , čímž se získá odpovídající dusičnan obecného vzorce VIII

5



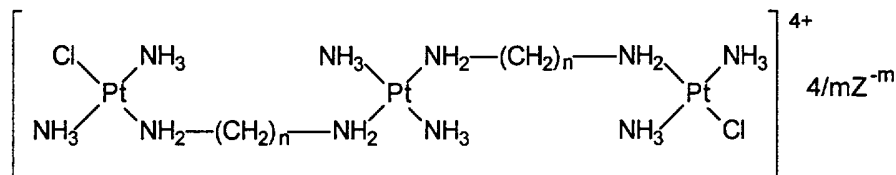
(VIII)

kde n má svrchu uvedený význam,

10

d) uskuteční se reakce meziproductu obecného vzorce VIII s *trans*-diammin-dichloroplatnatým komplexem, předem aktivovaným substitucí atomu chloru molekulou dimethylformamidu v přítomnosti dusičnanu stříbrného, v molárním poměru 1 : 2 za vzniku sloučeniny obecného vzorce I,

15



(I)

kde

20

n má svrchu uvedený význam,

m znamená 1, a

25

Z^m znamená dusičnanový anion,

načež se popřípadě

30

e) uskuteční výměnná reakce mezi dusičnanovým aniontem a dalším aniontem ve významu Z^m , kde Z^m má význam, uvedený v nároku 1.

11. Způsob podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že se ochranná skupina P volí z terc.butoxykarbonylové a p-methoxybenzyloxykarbonylové skupiny.

35

12. Způsob podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že se jako ochranná skupina ve významu P užije terc.butoxykarbonylová skupina a odštěpení této skupiny se uskuteční kyselinou chlorovodíkovou.

40

13. Způsob podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že se ve stupni e) nejprve uskuteční výměna dusičnanového aniontu s chloridovým aniontem ve významu Z^m , načež se uskuteční výměna chloridového aniontu za sulfátový anion, přičemž výměna chloridového aniontu za sulfátový anion se provádí působením sulfátu stříbrného.

14. Způsob podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že se ve stupni e) uskuteční výměna dusičnanového aniontu za chloridový anion reakcí s vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové, která se užije v molárním přebytku, reakce se provádí při teplotě 0 až 50 °C.

5 15. Použití komplexních sloučenin platiny podle některého z nároků 1 až 4 pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčení nádorových onemocnění.

10 16. Farmaceutický prostředek s protinádorovým účinkem, **vyznačující se tím**, že jako svou účinnou složku obsahuje terapeuticky účinné množství alespoň jedné komplexní sloučeniny platiny obecného vzorce I podle některého z nároků 1 až 4 ve směsi s běžným farmaceutickým nosičem nebo pomocnými látkami.

15 17. Farmaceutický prostředek podle nároku 16, **vyznačující se tím**, že je upraven pro parenterální podání.

20 18. Farmaceutický prostředek podle některého z nároků 16 a 17, **vyznačující se tím**, že obsahuje alespoň jednu komplexní sloučeninu podle některého z nároků 1 až 4 v kombinaci s další komplexní sloučeninou platiny s protinádorovým účinkem.

Konec dokumentu
