

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **235341**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **418929**

(51) Int.Cl.
C07F 15/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **29.09.2016**

(54) **Nowe dikarboksyłowe kompleksy platyny(II)
z 5,7-dipodstawioną-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyną i dimetylosulfotlenkiem
oraz sposób ich wytwarzania**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
09.04.2018 BUP 08/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
29.06.2020 WUP 08/20

(73) Uprawniony z patentu:
**UNIwersytet MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU, Toruń, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:
IWONA ŁAKOMSKA, Toruń, PL
MATEUSZ JAKUBOWSKI, Krąplewice, PL

(74) Pełnomocnik:
rzec. pat. Grzegorz Ćwikliński

PL 235341 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są dikarboksyłowe kompleksy platyny(II) z 5,7-dipodstawioną-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyną i dimetylosulfotlenkiem oraz sposób ich wytwarzania. Związki ten wykazują potencjał cytotoksyczny wobec ludzkich komórek nowotworowych.

Z publikacji w literaturze naukowej znane są malonowe kompleksy platyny(II) z podstawionymi triazolopirymidynami o wzorze ogólnym $[Pt(mal)(L)2]$, gdzie: mal – malonian, a L to wybrane podstawione triazolopirymidyny. Przedstawicielem tej grupy związków jest $[Pt(mal)(dntp)2]$, gdzie dntp to 5,7-dimetylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyna. Synteza powyższego kompleksu platyny(II) polega na tym, że do acetonowo-wodnej zawiesiny $cis-[PtI_2(dntp)2]$ dodaje się acetonowo-wodną zawiesinę malonianu srebra w stosunku molowym 1 : 1. Po 2,5 godziny mieszania odsącza się powstały osad jodku srebra, a uzyskany przesącz poreakcyjny zatęża się w strumieniu zimnego powietrza i suszy w liofilizatorze. Wydajność reakcji wynosi 44%. Niedogodnością przedstawionej metody syntezy $[Pt(mal)(dntp)2]$ jest niska wydajność, która wpływa na wzrost kosztów otrzymywania malonowego kompleksu platyny(II).

Znany jest również dimetylosulfotlenkowy kompleks platyny(II), $trans-[PtCl_2(dmsO)(dntp)]$, gdzie dntp to 5,7-difenylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyna. Sposób jego wytwarzania polega na reakcji etanolowego roztworu $cis-[PtCl_2(dmsO)2]$ z etanolem w roztworze dntp w stosunku molowym 1 : 1. Powyższą reakcję prowadzi się przez 2 godziny w temperaturze 50°C, a jej wydajność wynosi 75%. Pomimo wysokiej wydajności, wadą prezentowanej metody syntezy kompleksu platyny(II) z dntp i dimetylosulfotlenkiem jest wykorzystanie wyłącznie organicznego rozpuszczalnika i tworzenie izomeru trans, wykazującego niską cytotoksyczność.

Kolejnym prezentowanym w literaturze przykładem jest mieszany, cyklobutano-1,1-dikarboksyłowy kompleks platyny(II): $[Pt(CBDC)(A9pyp)(dmsO)]$, która zawiera w sferze koordynacyjnej rozbudowany ligand N-donorowy – E-1-(9-anthryl)-3-(2-pyridyl)-2-propenon (A9pyp). Synteza rzeczzonego kompleksu platyny(II) przebiega w dwóch etapach. Pierwszy etap polega na zmieszaniu rozpuszczonych w dimetyloformamidzie $[PtCl_2(A9pyp)(dmsO)]$ i $AgNO_3$ w stosunku molowym 1 : 1. Po 24 godzinach mieszania usuwa się wytrącony $AgCl$. Do uzyskanego przesącza reakcyjnego dodaje się równoważnik moliowy cyklobutano-1,1-dikarboksyłanu sodu rozpuszczonego w dimetyloformamidzie i kontynuuje reakcję przez kolejne 46 godzin, bez dostępu światła, w temperaturze pokojowej. Wydajność reakcji wynosi 62%. Niedoskonałością przedstawionego sposobu otrzymywania $[Pt(CBDC)(A9pyp)(dmsO)]$ jest konieczność stosowania wysokowrzącego, szkodliwego dimetyloformamidu jako rozpuszczalnika.

Przedmiotem wynalazku są nowe dikarboksyłowe kompleksy platyny(II) o wzorze 1 $[Pt(mal)(dmsO)(dntp)] \cdot dmsO$ i o wzorze 2 $[Pt(CBDC)(dmsO)(dntp)] \cdot dmsO$, gdzie: CBDC – cyklobutano-1,1-dikarboksyłan, dmsO – dimetylosulfotlenek, dntp – 5,7-dimetylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyna, dptp – 5,7-difenylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyna, mal – malonian (metanodikarboksyłan).

Sposób wytwarzania nowych dikarboksyłowych kompleksów platyny(II) o wymienionych wyżej wzorach polega na tym, że w pierwszym etapie w mieszaniu wody i alkoholu etylowego w stosunku objętościowym odpowiednio od 1 : 3 do 3 : 1 rozpuszcza się $cis-[PtCl_2(dmsO)_2]$, a następnie dodaje dikarboksyłan srebra, korzystnie metanodikarboksyłan (malonian) srebra albo cyklobutano-1,1-dikarboksyłan zachowując stosunek moliowy 1 : 1 i miesza przez okres od 36 godzin do 72 godzin w zakresie temperatur od 16°C do 28°C bez dostępu światła. Otrzymaną mieszaninę poreakcyjną rozdziela się przez odwirowanie i/lub filtrację, a przesącz poreakcyjny zatęża się aż do otrzymania suchego produktu pośredniego, który w drugim etapie po wysuszeniu ponownie rozpuszcza się w mieszaniu woda : alkohol etylowy w stosunku objętościowym odpowiednio od 1 : 3 do 3 : 1, a następnie dodaje dntp albo dptp i miesza przez okres od 60 godzin do 96 godzin w temperaturze od 35°C do 55°C i bez dostępu do światła, po czym mieszaninę reakcyjną odwirowuje się i/lub filtruje, a uzyskany klarowny roztwór pozostawia do zatężenia w strumieniu zimnego powietrza.

Korzystnie, gdy stosunek objętościowy mieszaniny wody i alkoholu etylowego wynosi odpowiednio 1 : 1,5 zarówno w pierwszym, jak i w drugim etapie prowadzenia reakcji.

Korzystnie, gdy w pierwszym etapie reakcję prowadzi się w temperaturze od 22°C do 24°C przez 48 godzin, a w drugim etapie w temperaturze od 44°C do 46°C przez 72 godziny.

Korzystnie, gdy otrzymany w wyniku odparowania rozpuszczalników w strumieniu zimnego powietrza bezpostaciowy produkt końcowy suszy się w liofilizatorze.

Zastosowanie mieszaniny dwóch rozpuszczalników w powyższym stosunku objętościowym oraz izolacja produktów pośrednich: $[Pt(mal)(dmsO)_2]$, $[Pt(CBDC)(dmsO)_2]$; prowadzi do zwiększenia całko-

witej wydajności reakcji oraz otrzymania produktów o wysokiej czystości, co potwierdzono analizą elementarną na zawartość: węgla, wodoru i azotu). Natomiast otrzymywanie wymienionych kompleksów platyny(II) na drodze jednoetapowej syntezy prowadziłyby zarówno do znacznego obniżenia wydajności reakcji, jak i do uzyskania zanieczyszczonego produktu końcowego i konieczność dodatkowego oczyszczania zwiększającego koszty jego otrzymywania.

Przedmiot wynalazku został bliżej zilustrowany w przykładach wykonania przedstawionych poniżej, nie ograniczając zakresu jego ochrony.

Przykład 1

W kolbie okrągłodennej umieszczono 0,045 g (0,11 mmola) *cis*-[PtCl₂(dms_o)₂] rozpuszczonego w 25 cm³ mieszaniny woda/alkohol etylowy, a następnie dodano 0,035 g (0,11 mmola) malonianu srebra. Po 48 godzinach mieszania w temperaturze pokojowej i bez dostępu do światła, mieszaninę reakcyjną odwirowano, przesączono, a klarowny roztwór pozostawiono do zatężenia w strumieniu zimnego powietrza, po czym wysuszono do stałej masy w liofilizatorze otrzymując 0,035 g (0,07 mmola) [Pt(mal)(dms_o)₂] (W = 72%). Uzyskany produkt pośredni ponownie rozpuszczono w mieszaninie rozpuszczalników woda/alkohol etylowy (1 : 1,5 v/v) i dodano 0,020 g (0,07 mmola) 5,7-difenylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyny (dptp). Po 72 godzinach mieszania w temperaturze 45°C i bez dostępu do światła, mieszaninę reakcyjną odwirowano, przesączono, a klarowny roztwór pozostawiono do zatężenia w strumieniu zimnego powietrza i wysuszono w liofilizatorze.

Otrzymano 0,033 g [Pt(mal)(dms_o)(dptp)] · dms_o w postaci żółtego proszku, co stanowi 70% wydajności teoretycznej. Kompleks ten poddano analizie elementarnej na zawartość węgla, wodoru i azotu. Oznaczone zawartości pierwiastków wynoszą: C 39,7%, H 3,6%, N 7,7% i nie przekraczają granicy błędów 0,5% wartości teoretycznej dla (5,7-dimetylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyna)(dimetylosulfotlenek)(maloniano)platyny(II). Charakterystyczne sygnały rezonansowe w widmie ¹H NMR występują przy 9,2 ppm (H2) i 8,5 ppm (H6), podczas gdy dla wolnego liganda heterocyklicznego sygnały te położone są odpowiednio przy 8,4 ppm (H2), 7,6 ppm (H6). Natomiast w widmie ¹⁵N NMR sygnał rezonansowy pochodzący od atomu azotu uczestniczącego w koordynacji z atomem centralnym platyny(II) występuje przy -251,6 ppm, co jednoznacznie potwierdza monodonorową koordynację dptp z Pt(II) poprzez atom azotu N(3) i pozostaje w zgodzie z wcześniej prowadzonymi badaniami. Dodatkowo wykazano obecność intensywnego sygnału rezonansowego przy 3,5 ppm pochodzącego od skoordynowanej cząsteczki dms_o. Zaobserwowano również analogiczny sygnał przy 2,6 ppm, co wskazuje na obecność wolnego dimetylosulfotlenku poza sferą koordynacyjną. Natomiast na podstawie analizy widm w zakresie podczerwieni stwierdzono obecność charakterystycznych pasm asymetrycznych i symetrycznych drgań walencyjnych grupy karboksylowej odpowiednio przy 1649 cm⁻¹ i 1345 cm⁻¹. Różnica pomiędzy częstotliwościami, przy których występują wspomniane pasma wynosi 304 cm⁻¹ i jest większa od analogicznej wartości dla malonianu sodu (197 cm⁻¹), co pozwoliło na zaproponowanie monodonorowej koordynacji każdej grupy karboksylowej.

Przykład 2

W kolbie okrągłodennej umieszczono 0,050 g (0,12 mmola) *cis*-[PtCl₂(dms_o)₂] rozpuszczonego w 25 cm³ mieszaniny woda/alkohol etylowy, a następnie dodano 0,043 g (0,12 mmola) cyklobutano-1,1-dikarboksylanu srebra. Po 48 godzinach mieszania w temperaturze pokojowej i bez dostępu do światła, mieszaninę reakcyjną odwirowano, przesączono, a klarowny roztwór pozostawiono do zatężenia w strumieniu zimnego powietrza, po czym wysuszono do stałej masy w liofilizatorze otrzymując 0,039 g (0,08 mmola) [Pt(CBDC)(dms_o)₂] (W = 67%). Uzyskany produkt pośredni ponownie rozpuszczono w mieszaninie rozpuszczalników woda/alkohol etylowy (1 : 1,5 v/v) i dodano 0,011 g (0,08 mmola) 5,7-dimetylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyny (dmtp). Po 72 godzinach mieszania w temperaturze 45°C i bez dostępu do światła, mieszaninę reakcyjną odwirowano, przesączono, a klarowny roztwór pozostawiono do zatężenia w strumieniu zimnego powietrza i wysuszono w liofilizatorze.

Otrzymano 0,032 g [Pt(CBDC)(dms_o)(dmtp)] · dms_o w postaci słomkowego proszku, co stanowi 77% wydajności teoretycznej. Kompleks ten poddano analizie elementarnej na zawartość węgla, wodoru i azotu. Oznaczone zawartości pierwiastków wynoszą: C 31,8%, H 4,1%, N 8,7% i nie przekraczają granicy błędów 0,5% wartości teoretycznej dla (dimetylosulfotlenek)(5,7-dimetylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyna)(cyklobutano-1,1-dikarboksylano)platyny(II). W widmie ¹H NMR zaobserwowano charakterystyczne sygnały rezonansowe przy 9,2 ppm (H2) i 7,6 ppm (H6), podczas gdy dla wolnego liganda heterocyklicznego sygnały te położone są odpowiednio przy 8,6 ppm (H2), 7,2 ppm (H6). Natomiast analiza ¹⁵N NMR wykazała, że charakterystyczny sygnał, pochodzący od atomu azotu uczestniczącego w koordynacji z atomem centralnym platyny(II) występuje przy -251,7 ppm, co jednoznacznie potwierdza

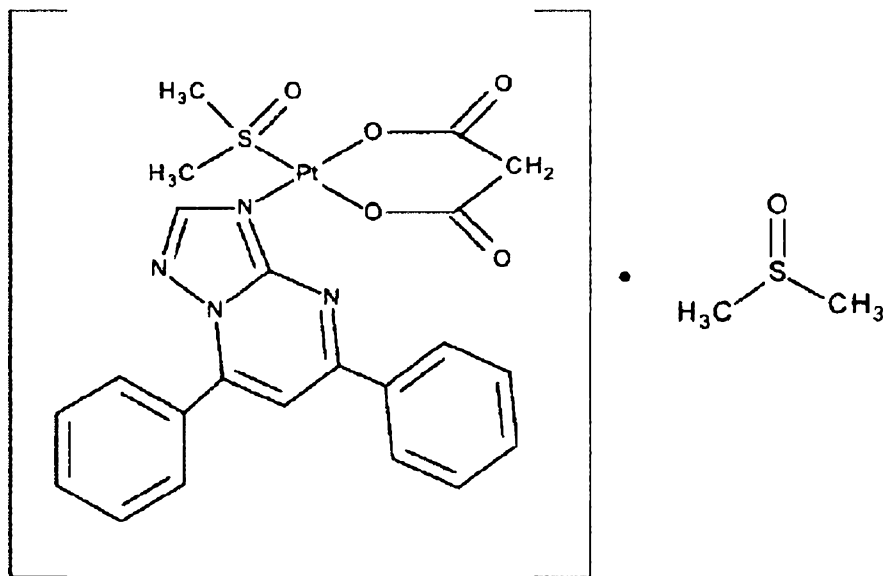
monodonorową koordynację dmtp z Pt(II) poprzez atom azotu N(3) i pozostaje w zgodzie z wcześniej prowadzonymi badaniami. Dodatkowo wykazano obecności intensywnego sygnału rezonansowego przy 3,5 ppm pochodzącego od skoordynowanej cząsteczki dmsu. Analogiczny sygnał obserwowano przy 2,6 ppm, co wskazuje na obecność wolnego dimetylosulfotlenku poza sferą koordynacyjną, z kolei analiza widm IR wykazała obecność charakterystycznych pasm asymetrycznych i symetrycznych drgań walencyjnych grupy karboksylowej odpowiednio przy 1664 cm^{-1} i 1330 cm^{-1} . Ponieważ różnica pomiędzy częstotliwościami tych dwóch charakterystycznych pasm wynosi 334 cm^{-1} i jest większa od analogicznej wartości dla cyklobutano-1,1-dikarboksylanu sodu (268 cm^{-1}) zaproponowano monodonorową koordynację każdej grupy karboksylowej.

Testy cytotoksyczne wykonane in vitro w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu wykazały, że Pt(mal)(dmsu)(dptp) · dmsu posiada ponad 10-krotnie mniejszą niż cisplatylna toksyczność wobec prawidłowych mysich fibroblastów (BALB/3T3), przy jednoczesnym zachowaniu porównywalnej cytotoksyczności in vitro wobec komórek niedrobnokomórkowego raka płuc (A549) z powszechnie stosowanym lekiem onkologicznym (CDDP).

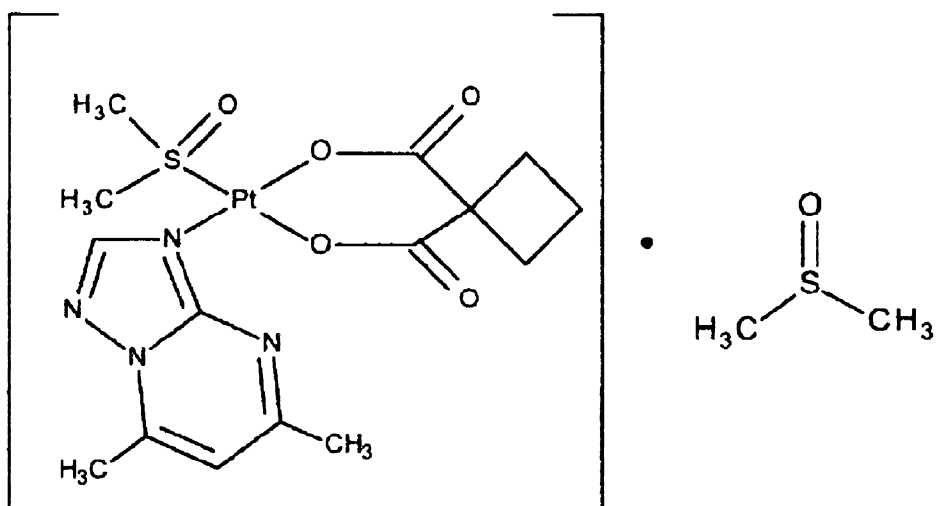
Zastrzeżenia patentowe

1. Nowe dikarboksylowe kompleksy platyny(II) o wzorach [Pt(mal)(dmsu)(dptp)] · dmsu o wzorze 1 i [Pt(CBDC)(dmsu)(dmtp)] · dmsu, o wzorze 2, gdzie: CBDC – cyklobutano-1,1-dikarboksylan, dmsu – dimetylosulfotlenek, dmtp – 5,7-dimetylo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyna, dptp – 5,7-difenilo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirymidyna, mal – malonian (metanodikarboksylan).
2. Sposób wytwarzania nowych dikarboksylowych kompleksów platyny(II) o wymienionych wyżej wzorach, **znamienny tym**, że w pierwszym etapie w mieszaninie wody i alkoholu etylowego w stosunku objętościowym odpowiednio od 1 : 3 do 3 : 1 rozpuszcza się *cis*-[PtCl₂(dmsu)₂], a następnie dodaje dikarboksylan srebra, korzystnie metanodikarboksylan (malonian) srebra albo cyklobutano-1,1-dikarboksylan srebra, zachowując stosunek molowy 1 : 1 i miesza przez okres od 36 godzin do 72 godzin w zakresie temperatur od 16°C do 28°C bez dostępu światła, a otrzymaną mieszaninę poreakcyjną rozdziela się przez odwirowanie i/lub filtrację, a przesącz poreakcyjny zatęża się aż do otrzymania suchego produktu pośredniego, który w drugim etapie po wysuszeniu ponownie rozpuszcza się w mieszaninie woda : alkohol etylowy w stosunku objętościowym odpowiednio od 1 : 3 do 3 : 1, a następnie dodaje dmtp albo dptp i miesza przez okres od 60 godzin do 96 godzin w temperaturze od 35°C do 55°C i bez dostępu do światła, po czym mieszaninę reakcyjną odwirowuje się i/lub filtruje, a uzyskany klarowny roztwór pozostawia do zatężenia w strumieniu zimnego powietrza.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że stosunek objętościowy mieszaniny wody i alkoholu etylowego wynosi odpowiednio 1 : 1,5 zarówno w pierwszym, jak i w drugim etapie prowadzenia reakcji.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że w pierwszym etapie reakcje prowadzi się w temperaturze od 22°C do 24°C przez 48 godzin, a w drugim etapie w temperaturze od 44°C do 46°C przez 72 godziny.
5. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że otrzymany w wyniku odparowania rozpuszczalników w strumieniu zimnego powietrza bezpostaciowy produkt końcowy suszy się w liofilizatorze.

Rysunki



Wzór 1



Wzór 2