

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**

**Přírodovědecká fakulta**

Katedra anorganické chemie



**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**Biologicky aktivní komplexy přechodných kovů  
používané v lékařství**

Autor práce:

Lucie Hanousková

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Radka Novotná

Studijní obor:

B1407 Chemie

Studijní program:

Chemie

**Olomouc 2012**

## ABSTRAKT

Uvedená bakalářská práce pojednává o biologicky aktivních komplexech používaných v lékařské praxi, ale i o takových, které jsou zatím pouze v klinickém testování, nebo jejich testování *in vitro* přineslo uspokojivé výsledky. Hlavní kapitolu tvoří v současné době nepoužívanější cytostatika, cis-platina a její deriváty karboplatina, oxaliplatina a nedaplatina, ale i další. Dále práce pojednává o komplexních sloučeninách palladia, titanu, ruthenia a o jejich cytostatických účincích. Ruthenium tvoří dva zajímavé komplexy, NAMI-A a KP1019. Každý z těchto komplexů působí v jiné fázi růstu rakovinných buněk. Zatímco KP1019 je aktivní pro léčbu primárních nádorů, NAMI-A vykazuje výsledky při použití na pokročilá stádia rakoviny kdy již došlo k metastázování. Zařazeny byly i sloučeniny zlata, z nichž nejznámější je Auranofin – komplex používaný na léčbu artritidy. Dalšími zajímavými sloučeninami jsou komplexy vanadu použitelné pro léčbu diabetu. Dále také nitroprusid sodný - komplex železa, používaný pro své vazodilatační účinky, nebo chloroquinové deriváty ferrocenu- Ferroquin, který je ve druhé fázi klinických testů proti malárii. V neposlední řadě stojí také technecium, jehož komplexy jsou používány jako kontrastní látky. Další zajímavou částí práce je kapitola pojednávající o některých komplexních sloučeninách, které mají potencionální aktivitu. Tyto látky byly připraveny a podrobeny analýzám z důvodu, že u nich aktivita byla předem předpokládána např. na základě izostrukturnosti nebo izoelektronových vlastností s již připravenými komplexními sloučeninami, které aktivní jsou, ba jsou třeba již v klinických testech, nebo používané.

V experimentální části této práce jsou uvedeny čtyři ligandy, které byly připraveny. Konkrétně se jedná o kinetin a jeho tři deriváty. Ligandy byly poté koordinovány na kovová jádra platiny nebo palladia. Podařilo se připravit pět komplexních sloučenin, které byly podrobeny bližší analýze a byla tak jednoznačně prokázána jejich strukturní uspořádání.

**Klíčová slova:** komplexy, platina, titan, zlato, ruthenium, vanad, technecium, železo, kinetin a jeho deriváty

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci psala zcela samostatně pod odborným vedením  
Mgr. Radky Novotné za použití pramenů uvedených v seznamu literatury.

V Olomouci 18.4. 2012

.....

Chtěla bych tímto upřímně poděkovat vedoucí bakalářské práce Mgr. Radce Novotné, která mi poskytla cenné rady a kritické připomínky při řešení bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Tomáši Šilhovi za provedení elementární analýzy, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za změření MS spekter, Ing. Ivanu Němcovi, Ph.D. za provedení rentgenostrukturní analýzy a Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za provedení termické analýzy.

## OBSAH

1. ÚVOD.....	8
2. TEORETICKÁ ČÁST .....	10
2.1. HISTORIE TEORIE KOORDINAČNÍCH SLOUČENIN.....	11
2.2. KOMPLEXNÍ SLOUČENINY .....	11
2.3. ANORGANICKÁ CHEMIE LÉČIV.....	12
2.3.1. Protinádorové studie.....	13
2.4. PLATINA.....	14
2.4.1. Protinádorová léčiva Pt(II) .....	14
2.4.1.1. Cis-platina.....	14
2.4.1.1.1. Reakce cis-platiny s organismem .....	15
2.4.1.1.2. Odolnost buněk vůči cis-platině .....	16
2.4.1.2. Trans-platina .....	16
2.4.1.3 Karboplatina.....	17
2.4.1.4. Oxaliplatina.....	18
2.4.1.5. Nedaplatina .....	19
2.4.1.6. Další deriváty cisplatiny .....	20
2.4.2. Protinádorová léčiva Pt(IV).....	21
2.5. TITAN.....	21
2.5.1. Budotitan .....	22
2.5.2. Titanocen .....	22
2.6. ZLATO.....	23
2.6.1. Komplexy Au(I) používané pro léčbu artritidy .....	23
2.6.2. Možnosti léčby HIV pomocí sloučenin Au .....	24
2.7. RUTHENIUM .....	25
2.7.1. NAMI-A .....	26

2.7.2. KP1019 .....	26
2.8. VANAD .....	27
2.9. TECHNECIUM.....	28
2.10. ŽELEZO.....	28
2.11. KOVY S POTENCIÁLNÍ LÉČEBNOU AKTIVITOU .....	29
2.11.1. Potenciální protinádorová léčiva odvozená od trans-derivátů platiny .....	30
2.11.2. Potenciální protinádorová léčiva Au(III).....	30
2.11.3. Potenciální protinádorová léčiva Rh(I), Rh(II) a Rh(III) .....	30
2.11.4. Potenciální protinádorová léčiva Pd(II) .....	31
2.11.5. Metallocepy .....	32
2.12. <i>IN VITRO</i> PROTINÁDOROVĚ AKTIVNÍ KOMPLEXY PLATINY A PALLADIA S DERIVÁTY N6-BENZYLADENINU.....	33
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.1. MATERIÁLY A METODY.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2. SYNTÉZA DERIVÁTŮ CIS-PLATINY.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2.1. Syntéza ligandů – derivátů kinetinu .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2.1.1. Příprava N6-furfuryladeninu (kinetinu) – ligand L1	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2.1.2. Příprava N6-(5-methylfurfuryl)adeninu – ligand L2	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2.1.3. Příprava N6-furfuryl-2-chlor-9-isopropyladeninu – ligand L3.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2.1.4. Příprava N6-(5-methylfurfuryl)-2-chlor-9-isopropyladeninu – ligand L4 .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2.2. Syntéza komplexů Pt a Pd .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2.2.1. Syntéza komplexů platiny.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.2.2.2. Syntéza komplexů palladia .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4. VÝSLEDKY .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

4.1. ELEMENTÁRNÍ ANALÝZA .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.2. MĚŘENÍ VODIVOSTI.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.3. INFRAČERVENÁ SPEKTRA.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.4. HMOTNOSTNÍ SPEKTRA.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.5. RENTGENOSTRUKTURNÍ ANALÝZA.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.6. TERMICKÁ ANALÝZA.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5. ZÁVĚR .....	35
6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	36
7. LITERATURA.....	38

# 1. ÚVOD

Ionty kovů jsou důležité pro mnoho funkcí lidského těla. Nedostatek nebo naopak přebytek některých kovových iontů v organismu může vést k závažným problémům.<sup>1</sup>

Mnoho z hlavních tříd léčiv je založeno na sloučeninách kovů. Různorodost koordinační chemie poskytuje dobré informace pro vývoj nových léčiv s unikátním mechanismem působení.<sup>2</sup> Současný zájem chemie se obrací také k výzkumu sloučenin jako diagnostických látek. Zásadní pro výzkum v této oblasti je biologický proces vzniku kovových sloučenin, a to hlavně v buňkách, tělních tekutinách a buněčných kulturách.<sup>3</sup>

Koordinační sloučeniny rozličné plejády přechodných kovů, představujících mnoho strukturních typů, se ukázaly být aktivní proti nádorům a jejich růstu.<sup>19</sup> Když byla objevena účinnost cis-platiny (v současné době jedno z nejpoužívanějších cytostatických léčiv), mnoho onkologů bylo nadšeno. Očekávalo se, že se znalostmi, které má věda k dispozici v oblasti onkologie, buněčné biologie, chemie a biochemie budou snadno syntetizovány látky vykazující vyšší účinnost a nižší toxicitu.<sup>4</sup> To jak v případě, kdy se mělo jednat o metaloterapeutika založená na bázi platiny, tak i v případě použití jiných přechodných kovů, které by byly schopny vykazovat srovnatelné cytostatické vlastnosti, nebo by dokonce byly aktivní pro léčbu jiných druhů nádorových buněk. Tato nová potencionální léčiva měla být založena hlavně na komplexních sloučeninách ruthenia, palladia, cínu, titanu, mědi a zlata.<sup>26</sup> Ovšem téměř po 40 letech výzkumu a testech více jak 3000 sloučenin je zjevné, že tento úkol je nelehký a nabude snadné ho řešit.<sup>4</sup>

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat literární rešerši na téma komplexních sloučenin přechodných kovů, které jsou již používány v lékařství, nebo jsou klinicky testovány. Dále byly zařazeny do práce příklady komplexních sloučenin, které v současné době zatím jako léčiva nefungují, ba dokonce nejsou ani klinicky testovány, ale z nějakých důvodů jsou potencionálně velmi slibné. To může být například z důvodu izostrukturnosti s některými nyní používanými látkami, nebo z důvodu použitých ligandů, z nichž některé mohou vykazovat slibnou aktivitu samy o sobě a jejichž působení je zesíleno navázáním na některý blíže specifikovaný přechodný kov.

Dále bylo cílem práce pokusit se připravit některé komplexní sloučeniny odvozené od cis-platiny náhradou dvou amminových ligandů některými vhodnými N-donorovými organickými ligandy, kterými byly např. kinetin (systematický název kinetinu je N6-furfuryladenin) a některé jeho deriváty.



Kinetin patří do třídy cytokininů, rostlinných hormonů podporujících buněčné dělení. Spolu s jinými N6-substituovanými adeniny má schopnost působit i na diferenciaci lidských buněk a má tedy biologické vlastnosti, které mu dovolují být použity v molekulární medicíně.<sup>47</sup> Tyto vlastnosti kinetinu byly důvodem pro jeho volbu a pro volbu jeho derivátů v syntézách, které byly prováděny v rámci této bakalářské práce.

Připravené sloučeniny byly charakterizovány dostupnými analytickými metodami a výsledky tohoto počínání posléze zhodnoceny v kapitole číslo čtyři této práce.

## **2. TEORETICKÁ ČÁST**

## 2.1. HISTORIE TEORIE KOORDINAČNÍCH SLOUČENIN

Za zakladatele klasické koordinační chemie byl německý chemik Alfred Werner, který v roce 1893 vyjádřil představu, že atomy kovu mohou mít dva typy valencí. Hlavní valencí je oxidační stav kovu, který k sobě musí mít i odpovídající hodnotu aniontu, aby byla zachována podmínka elektroneutality. Druhým typem valence je tzv. valence vedlejší, která odpovídá prostorové orientaci. Tato valence může být vyvážena jak anionty, tak i neutrálními molekulami. Tento druhý typ valence položil základ stereochemie koordinačních sloučenin. Wernerova vedlejší valence není ovšem nic jiného, než jiný výraz pro dnes používané spojení „koordinační číslo“. Koordinační číslo vyjadřuje počet donorových atomů vázaných k centrálnímu atomu nebo iontu. Přechodné kovy nabývají nejčastěji koordinačních čísel 2-9, přičemž nejběžnějšími jsou koordinační čísla 4 a 6.

V době vzniku této teorie nebyly k dispozici dnes známé fyzikální metody pro studium struktury sloučenin, a proto byla stereochemie komplexních sloučenin objasňována jinými, čistě chemickými metodami. Při tomto studiu se vycházelo z přípravy komplexů, jež existovaly jako různé izomery. Z počtu takto získaných izomerů se poté tvořilo možné prostorové uspořádání.<sup>5</sup>

Alfred Werner se pro svůj neocenitelný přínos vědě stal prvním nositelem Nobelovy ceny za chemii v oblasti anorganické chemie, která mu byla udělena roku 1913 za návrh oktaedrické struktury komplexů přechodných kovů.<sup>6</sup>

## 2.2. KOMPLEXNÍ SLOUČENINY

Kovy s neúplně obsazenými d-orbitaly se nazývají kovy přechodné. Tyto kovy mají díky vakantním d-orbitalům sklon ke tvorbě koordinačních sloučenin. Koordinační sloučeniny vznikají mezi donorovým atomem ligandu, který poskytuje volný elektronový pár (Lewisova báze) do donor-akceptorové interakce s vakantním orbitalem přechodného kovu-akceptoru. Vazba mezi přechodným kovem a ligandem může být považována buď za jednoduchou  $\sigma$ -vazbu, nebo za vazbu násobnou, avšak pouze pokud  $\sigma$ -donor elektronového páru vystupuje současně jako  $\pi$ -akceptor. Toto rozložení elektronů je charakteristické pro ligandy karbonylového typu a některé organokovové sloučeniny, ve kterých centrální atom má formální oxidační číslo I nebo menší.<sup>5</sup>

## 2.3. ANORGANICKÁ CHEMIE LÉČIV

Podnět pro vývoj anorganické chemie léčiv byl podán v roce 1960<sup>2</sup>, kdy Rosenberg a jeho spolupracovníci Van Camp a Krigas objevili, že některé komplexy kovů VIII. B skupiny dokáží inhibovat buněčné dělení a tím i růst nádorových buněk.<sup>7</sup> K tomuto objevu dospěli při zkoumání vlivu elektrického pole na růst bakterií, kdy zjistili, že dělení buněk je inhibováno, ovšem jejich růst ovlivněn není. Pokus byl prováděn tak, že do živné půdy (C medium:  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2g/l;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6g/l;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3g/l;  $\text{MgCl}_2$  0,01g/l;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0,026g/l) s obsahem bakterie *Escherichia coli* byly umístěny platinové elektrody, přes které procházel elektrický proud.

Docházelo ke vzniku dlouhých vláknitých bakteriálních buněk. Jejich vznik byl závislý na fyzikálních veličinách, jakými jsou UV-záření, osmotický tlak nebo změny teploty. Další série testů prokázaly, že to nebyl elektrický proud, který byl zodpovědný za vznik vláknitých buněk bakterií, ale velmi malá koncentrace platiny rozpuštěné z elektrod v živné půdě (asi 10 ppm). Částice vytvořené během elektrolýzy byly identifikovány jako anionty  $[\text{PtCl}_6]^{2-}$ . Čerstvé roztoky  $(\text{NH}_4)_2[\text{PtCl}_6]$  jsou bakteriostatické a inhibují růst buněk v koncentraci přibližně 10 ppm. Van Camp a jeho spolupracovníci zjistili, že stejné roztoky staré 2-3 dny při nízké koncentraci platiny velmi dobře produkují vláknité buňky.  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_5]^-$  není účinným inhibitorem buněčného růstu ani buněčného dělení, ale snadno přechází na neutrální formu. Tato neutrální forma  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_4]$  je silným inhibitorem buněčného dělení. Zároveň má pouze malý inhibiční účinek na růst buňky. Při testování cis a trans izomeru této sloučeniny bylo tedy prokázáno, že cis izomery jsou biologicky aktivní, zatímco trans izomer vykazuje pouze malý efekt na růstové procesy buněk. Ve stejnou dobu byly také testovány sloučeniny Pt(II), konkrétně cis a trans izomery  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ , které vznikají také v malých množstvích při elektrolytických a fotochemických reakcích díky následné redukci. U těchto látek byla aktivita zjištěna opět pouze u cis izomerů.<sup>8</sup>

Tento objev vedl Rosenberga ke studiu Pt(II) komplexů,<sup>7</sup> jehož výsledkem byl objev cytostatického efektu cis-platiny (*cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ ).<sup>9</sup> Později došlo k objevu některých dalších aktivních Pt(II) derivátů, kterými jsou např.: karboplatina, oxaliplatina<sup>2</sup>, satraplatina a pikoplatina.<sup>10</sup> V současné době cis-platina, karboplatina a oxaliplatina tvoří třídu protinádorových léčiv hojně využívaných při chemoterapiích.<sup>9</sup>

Mnoho nyní používaných léčiv je výsledkem rozvoje koordinační chemie, která poskytuje nová metaloterapeutika s unikátními mechanismy léčby. Při snaze objevit nová

léčiva je klíčem k úspěchu především porozumět kinetické i termodynamické stránce reakce metalokomplexů v biologických podmínkách.<sup>8</sup>

Pro navrhování metalokomplexů jako léčiv je třeba vzít v úvahu několik pochodů. Tím prvním je hydrolyza, která je velice důležitá, protože biologický systém poskytuje vodné prostředí, ovšem hydrofobní charakter buněčných membrán a aktivních míst enzymů vyžaduje uvážení lipofilních ligandů. Protože konečným cílem léčiva (metalokomplexu) je protein nebo DNA (např. cis-platina a její deriváty), musíme vzít také v úvahu tuto vazbu. Poslední neméně důležitou otázkou je transport komplexu přes buněčnou membránu, který určuje, zda do buňky dokáže proniknout kov i s neporušenými ligandy.<sup>7</sup>

### 2.3.1. Protinádorové studie

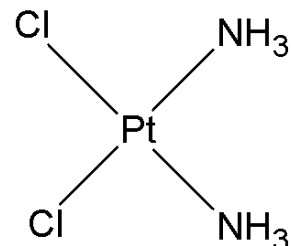
To, že výše zmíněné látky zastavují dělení buněk, nikoli však jejich růst, vedlo k závěru, že by tyto látky mohly mít protinádorové vlastnosti. Toto zjištění bylo podpořeno faktem, že látky používané pro léčbu rakoviny také způsobují elongaci (prodloužení) a léze u lyzogenních bakterií. Testovány byly zpočátku sloučeniny *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>], [Pt(en)Cl<sub>4</sub>] a [Pt(en)Cl<sub>2</sub>], a to proti Sarkomu 180 u myší. Tímto postupem bylo potvrzeno, že dokáží efektivně inhibovat růst nádoru. Jak bylo předpovídáno podle bakteriologických zkoušek, žádné trans izomery Pt(II) ani Pt(IV) nebyly shledány aktivními v oblasti tohoto působení. Dvě *cis* sloučeniny byly zapsány do U.S. National Cancer Institute a byly testovány proti L1210 leukemii na myších. Takto byla prokázána silná protinádorová aktivita a bylo provedeno několik injekčních aplikací v dávkách 8 mg/kg. Rosenberg a Van Camp poté ukázali, že *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] je schopna vyléčit Sarkom 180 u bílých švýcarských myší, kdy při dané dávce došlo ke zničení minimálně 60% nádoru.<sup>8</sup> Po zjištění těchto uspokojivých výsledků byla cis-platina roku 1971 uvedena do klinických testů.<sup>23</sup> Schválena pro léčbu rakoviny u lidí byla roku 1978 a v současné době je jedním ze tří nejpoužívanějších léčiv pro léčbu tohoto onemocnění.<sup>24</sup>

## 2.4. PLATINA

### 2.4.1. Protinádorová léčiva Pt(II)

#### 2.4.1.1. Cis-platina

Cis-platina je čtvercově planární komplex konfigurace  $6d^8$ .<sup>1</sup> Centrálním atomem je platina v oxidačním stavu +II, na kterou jsou vázány dva chloridové ligandy a dva amminové ligandy, přičemž chloridové (i amminové) ligandy stojí vůči sobě v cis poloze. Snadno odstupitelnými skupinami jsou v tomto případě ony dvě chloridové skupiny, zatímco amminové skupiny



Obr. 1 Cis-platina

jsou k platini vázány pevnou vazbou. Jedná se o látku aktivní především při léčbě rychle rostoucích nádorů<sup>11</sup>, jejichž účinků se využívá hlavně při léčbě urogenitálních nádorů.<sup>10</sup> Na Obr. 2 je demonstrován způsob přípravy této sloučeniny.

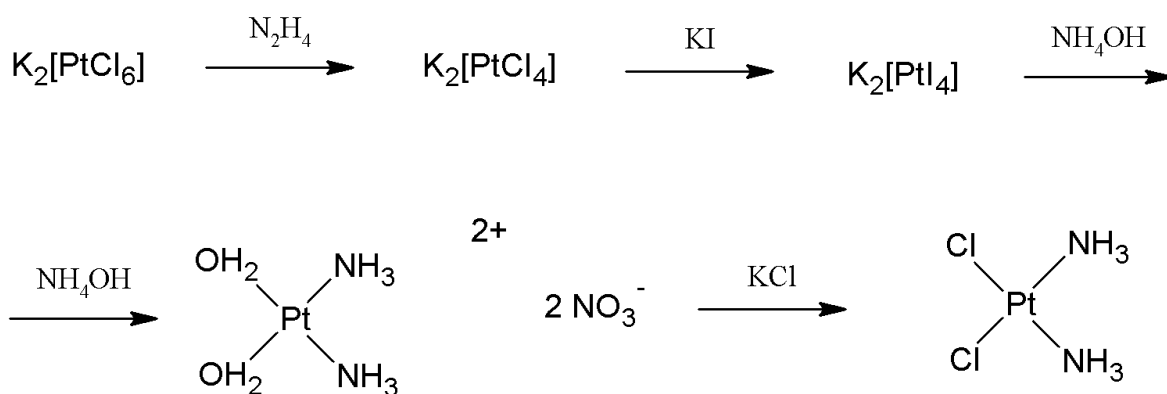
Po jejím objevu bylo syntetizováno a zkoušeno několik tisíc analogů cis-platiny ve snaze zvýšit terapeutický index a potlačit neurotoxické a nefrotoxické účinky na zdravé tkáně.<sup>12</sup> Podle výzkumu by účinná látka měla splňovat čtyři hlavní kritéria: (a) měla by být neutrální, aby byla usnadněna pasivní difúze do buňky, (b) měla by obsahovat dvě odstupitelné skupiny v cis poloze, (c) měla by obsahovat pevně vázané neodstupující skupiny s nízkou schopností přechodu na trans izomer - mezi tyto skupiny patří například NH<sub>3</sub> nebo aminy, (d) odstupujícími skupiny by měly být chloridy. Tyto závěry byly později upraveny, díky zjištění, že chelatační ligandy jako jsou například 1,1-dikarboxylatocyklobutany mohou nahradit dva odstupující chloridové ligandy, čímž vznikne kladně nabitý komplex s pouze jedním labilním ligandem, konkrétně  $\text{cis-[Pt(NH}_3)_2\text{Cl(4-X-py)]}^+$  (kde X = H, Br, CH<sub>3</sub>), který vykazuje aktivitu při screeningu některých tumorů.<sup>1</sup>

V současnosti se výzkum koncentruje především na redukcii toxicity platnatých komplexů a rozšířením působení daných komplexů na širší rozsah rakovinných bujení.<sup>13</sup>

Při léčbě cis-platinou kombinovanou chemoterapií je léčba prováděna intravenózně ve formě fyziologického roztoku. Výsledkem léčby bylo 90% vyléčených z rakoviny prostaty, a to z dlouhodobého hlediska. Typická léčba probíhala ve čtyřech návštěvách rozdělených do čtyř týdnů, kdy byla pacientovi podávána dávka 5 mg/kg tělesné hmotnosti.<sup>1</sup>

Dnes je při chemoterapii cis-platina také podávána rozpuštěná ve fyziologickém roztoku, a to z důvodu, aby bylo zabráněno hydrolyzujícím reakcím, které

by změnilu povahu sloučeniny. Dávkování cis-platiny je obvykle 100 mg denně po dobu pěti následujících dnů. Tato dávka je limitována vedlejšími účinky podávaného léčiva.<sup>24</sup> Po podání injekce s účinnou látkou je asi 70-90% platiny během 15 minut odbouráno, jelikož se více než polovina váže na plazmatické bílkoviny a je tak vylučována. Zbytek nevyložené platiny existuje v těle několik dní. Díky těmto zjištěním bylo doporučeno více dávek chemoterapie v intervalech několik týdnů.<sup>1</sup>



Obr. 2 Schéma přípravy cis-platiny<sup>21</sup>

#### 2.4.1.1.1. Reakce cis-platiny s organismem

Přestože je cis-platina úspěšně používána již značnou dobu, přesný mechanismus jejího působení v organismu není dosud zcela objasněn. Stávající teorie o reakci cis-platiny v organismu říká, že indukuje cytotoxický efekt tím, že se váže na jadernou DNA, čímž blokuje mechanismus transkripce a tím i replikaci DNA. O tom, zda po aplikaci cis-platiny dojde k buněčné apoptóze, nebo k nekróze rozhoduje dávka léku, ale i celkový stav nádorových buněk.<sup>12</sup>

Aby mohla cis-platina působit, musí po podání pacientovi vstoupit do krevního oběhu, kterým je roznášena po celém těle. Po vstupu do oběhu je cis-platina v kontaktu s řadou látek, kterými jsou sacharidy, lipidy, proteiny, soli a voda.<sup>19</sup>

Sada experimentů ukázala, že základním cílem po podání léku je DNA. Interakce mezi cis-platinou a DNA je zodpovědná za cytotoxicitu i za protinádorové účinky.<sup>1</sup> K závěru, že dochází k navázání cis-platiny přímo na N7 purinové báze guaninu na řetězci DNA,<sup>19</sup> přispělo sledování izotopově značených prekurzorů pro syntézu DNA, RNA a proteinů pomocí [<sup>3</sup>H]tymidinu. Další nezávislé studie ukázaly, že vazba cis-platiny na DNA polymerázu nezmění její schopnost syntetizovat DNA, čímž bylo prokázáno, že se platina váže přímo na DNA a ne na enzym zodpovědný za replikaci. To, proč jsou rakovinné buňky napadány cis-platinou více než buňky zdravé tkáně, zatím však objasněno nebylo.<sup>1</sup>

Použití cis-platiny je nicméně limitováno několika faktory: (a) úzký rozsah působení proti rakovinným buňkám – vůči některým typům rakoviny není dostatečně aktivní, (b) při dlouhodobé nebo opakované léčbě platinou dochází ke vzniku rezistence buněk, (c) cis-platina je vysoce toxická i vůči zdravým buňkám.<sup>13</sup> Jak již bylo zmíněno mezi nežádoucí účinky patří: kumulativní nefrotoxicita, kterou lze částečně snížit podáním látky v 6-8 hodinové infuzi spolu s dostatečnou hydratací a osmotickou diuresou vyvolanou mannitolem (mannitol je látka, která zvyšuje množství tekutiny vylučované v ledvinách<sup>48</sup>); dále je zhruba u 30% pacientů pozorován útlum tvorby krve; neurotoxicita projevující se po dlouhodobém užívání (4-7 měsíců) neuropatií (poničením nervů); ztráta sluchu ve vyšších frekvencích, popř. úplná hluchota; u pacientů se dále objevuje zvracení. Byly popsány i další vzácné negativní projevy léčby cis-platinou, a to například vaskulární toxicita, která může zahrnovat infarkt myokardu, cerebrovaskulární příhody, trombotickou mikroangiopatii a cerebrální arteritidu. Mezi další vzácné reakce organismu pacientů může patřit hypokalcemie, hyponatremie, hypokalemie (jedná se o snížené hodnoty  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$  iontů v těle).<sup>33</sup>

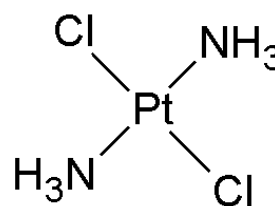
#### 2.4.1.1.2. Odolnost buněk vůči cis-platině

Pokud se budeme blíže zabývat vznikem odolnosti buněk na léčbu cis-platinou a jejími analogy, můžeme říci, že známe tři její samotné typy. Prvním z nich je (a) snížení propustnosti přes buněčnou membránu, (b) inaktivace thiolátových skupin způsobená utvořením pevné vazby na tyto skupiny uvnitř buňky a (c) oprava platnatých lézí na DNA příslušnými enzymy.<sup>13</sup>

Pokud budeme pozorovat reakci nádorových i zdravých buněk na aplikaci cis-platiny, zjistíme, že nádorové buňky reagují expresí genu (mění genetickou informaci - mutace buňky) na ochranu jejich chromozómů. Hlavní roli v tomto procesu opravy hraje komplex c-fos/AP-1, který je hlavním spínačem ostatních genů v reakci na poničení DNA. Toto hraje významnou roli při vzniku rezistence proti léčbě cis-platinou.<sup>12</sup>

#### 2.4.1.2. Trans-platina

Cis-platina ve vodném prostředí pomalu přechází na trans izomer (Obr. 3), který je více termodynamicky stabilní.<sup>7</sup> Tento izomer je kineticky více reaktivní a mnohem náchylnější k deaktivaci než cis-platina.<sup>24</sup> Je také schopný prostupovat do jádra buněk, vázat se na DNA a inhibovat jeho replikaci, ovšem



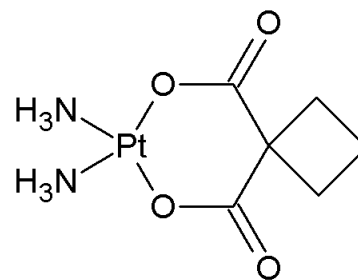
Obr. 3 Transplatina



v mnohem vyšších dávkách.<sup>1</sup> Aduktů, které tvoří trans-platina, jsou rozdílné od aduktů cis-platiny s DNA, proto se ze začátku doufalo, že právě trans-platina by mohla překonat rezistenci cis-platiny k některým nádorům.<sup>24</sup> Později se však zjistilo, že trans-platina není aktivní pro léčbu rakoviny, a tudíž se nepoužívá.<sup>1</sup>

### 2.4.1.3 Karboplatina

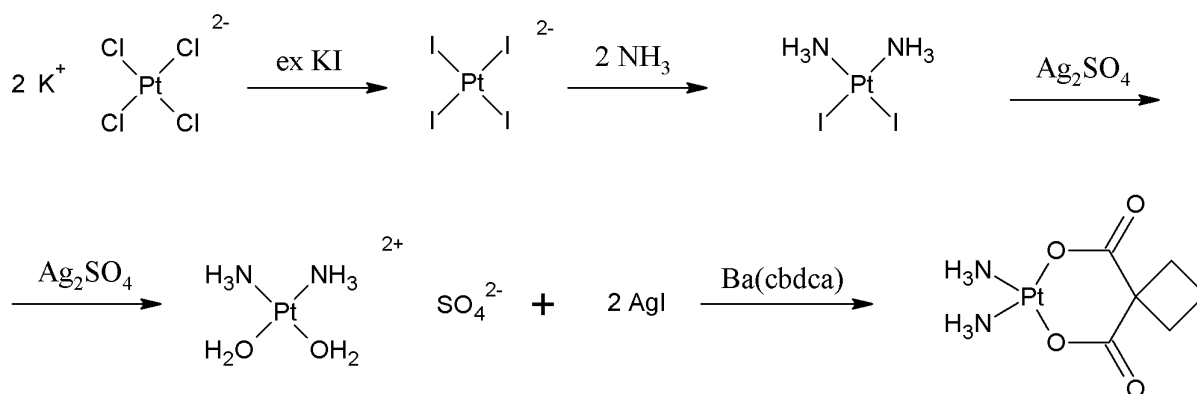
Karboplatina (Obr. 4) je biologicky aktivním derivátem cis-platiny. Byla odvozena náhradou dvou snadno odstupujících chloridových skupin chelatujiící 1,1-cyklobutandikarboxylovou kyselinou a její systematický název je diammin[1,1-cyklobutandikarboxylato(2-)]-O,O'-platnatý komplex. Jako léčivo byla schválena v roce 1985 ve Spojeném Království a Kanadě, nedlouho poté i v USA. Na Obr. 5 je naznačeno schéma přípravy této látky.



Obr. 4 Karboplatina

Porovnáním účinků cis-platiny a karboplatiny bylo dosaženo závěru, že karboplatina je lépe tolerovanou látkou<sup>12</sup>, která má mnohem menší vedlejší účinky na lidský organismus. Může tak být nemocnému podávána v mnohem vyšších dávkách než cis-platina (až 2000 mg denně),<sup>25</sup> ale má nižší účinnost na zárodečné nádorové buňky<sup>12</sup> a je účinná na stejné druhy nádorových buněk jako cis-platina.<sup>24</sup> Používá se především pro léčbu rakoviny hlavy, krku a jícnu.<sup>12</sup>

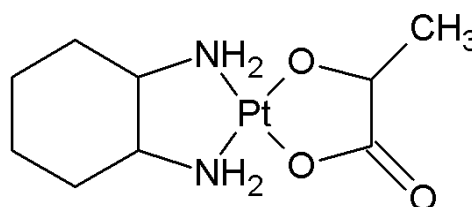
Karboplatina je také mnohem stabilnější sloučeninou než cis-platina, a to především proto, že jsou ligandy uspořádány v chelátovém kruhu. Díky chelátově vázanému ligandu se méně váže na bílkoviny a tím se vylučuje v moči převážně v nezměněném stavu. Karboplatina prokazuje výrazně menší toxicitu pro ledviny a nervovou soustavu, čímž způsobuje menší nevolnost a zvracení než cis-platina. Pokud je karboplatina podávána v kombinaci s cis-platinou, může způsobovat trombocytopenii<sup>12</sup> (snížení počtu krevních destiček v krvi; krevní destičky jsou bezjaderné krevní buňky zodpovědné za srážlivost krve<sup>14</sup>).



Obr. 5 Schéma přípravy karboplatiny<sup>20</sup>

#### 2.4.1.4. Oxaliplatina

Oxaliplatina (Obr. 6) je dalším analogem cis-platiny, který vznikl náhradou chloridových skupin.<sup>20</sup> Její systematický název je [SP-4-2-(1R-trans)](cyklohexan-1,2-diamin-N,N')[ethandiolato(2-O,O')]platnatý komplex.<sup>21</sup> V roce 1990 byla oxaliplatina schválena pro klinické použití na území Evropské unie a na území Spojených Států byla schválena v roce 2002.<sup>20</sup> Oxaliplatina je jako léčivo schválena i na území Asie.<sup>11</sup> Schéma přípravy je naznačeno na Obr. 7.



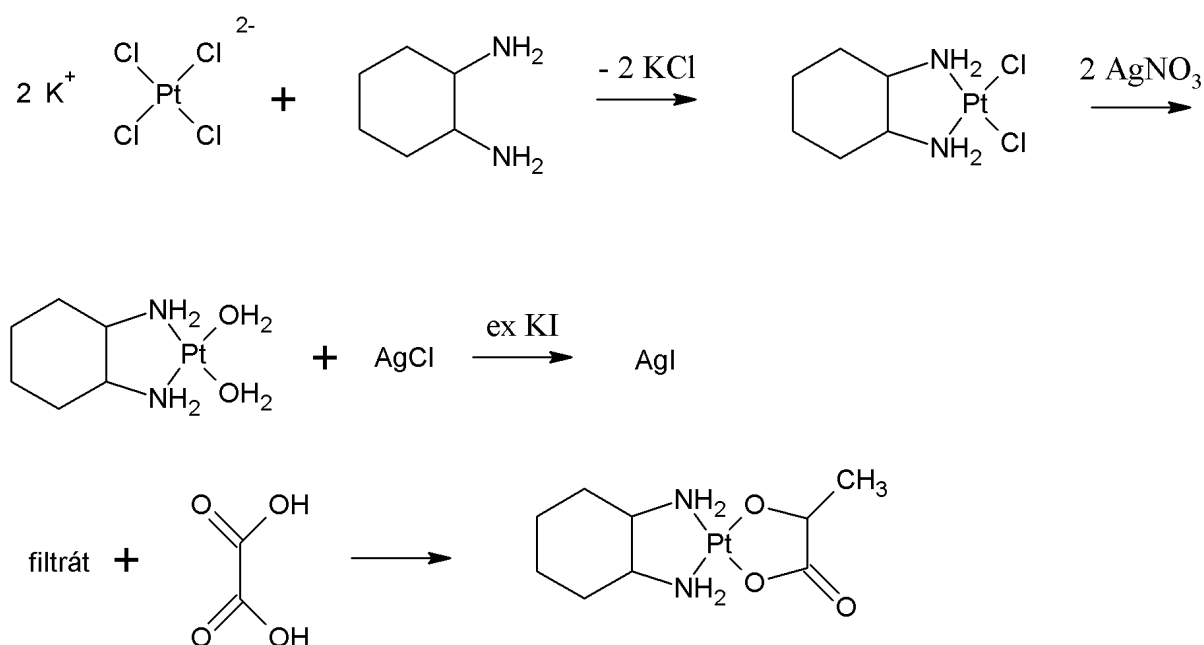
Obr. 6 Oxaliplatina

Tato látka byla syntetizována Kidaniem na univerzitě v Nagoyi v Japonsku a její vývoj probíhal ve Francii s podporou Debiopharm Laboratories a Roger Bellon Laboratories. Poprvé byla použita na pacientech v letech 1985-1986.<sup>4</sup> Je první sloučeninou platiny, která vykazuje účinnost proti kolorektálnímu karcinomu, a to v kombinaci s 5-fluorouracilem a kyselinou listovou.<sup>12</sup> Její účinnost oproti cis-platině je vyšší, ovšem toxicita vůči ledvinám je nižší, což bylo dokázáno v preklinických studiích prováděných *in vivo*. Bylo také potvrzeno, že nevykazuje zkříženou rezistenci s cis-platinou.<sup>4</sup> Optimální protinádorová aktivita je evidována v kombinaci oxaliplatiny s jinými protirakovinnými léčivy, jako jsou například cis-platina, gemcitabin (analog pyrimidinového nukleosidu deoxycytidinu, v němž jsou vodíkové atomy na druhém uhlíku nahrazeny atomy fluoru, používaný v chemoterapii pro léčbu malobuněčného nádoru plic<sup>32</sup>), nebo karboplatina.<sup>12</sup> Oxaliplatina bývá užívána pro léčbu nádorů, které jsou rezistentní k působení cis-platiny.<sup>20</sup>

Mechanismus působení oxaliplatiny je velmi podobný působení jiných derivátů platiny. Při působení opět dochází ke vzniku vazby s DNA, čímž je zabráněno replikaci

a transkripci, což vede k následné smrti buňky. Bylo dokázáno, že adukty (cyklohexan-1,2-diamin)platnatý komplex tvořené z oxaliplatiny ztrátou oxalátového řetězce jsou účinnější v inhibici syntézy DNA než adukty DNA vznikající z cisplatinou. Vznikající aktivní metabolity rychle, ale různým způsobem reagují s malými proteiny obsahujícími sulfhydrylové skupiny (cystein, metionin, glutation) a poté s vysokomolekulárními proteiny (albumin,  $\gamma$ -globuliny). Při použití oxaliplatiny nebyla u pacientů zaznamenána žádná akumulace platiny v plazmě, zatímco při použití cis-platiny postupně k jejímu hromadění v plazmě dochází. Rozdíl interakce obou aktivních metabolitů může hrát roli ve velmi malé nefrotoxicitě oxaliplatiny a opožděné neurotoxicitě.<sup>12</sup>

Omezení v použití oxaliplatiny tkví v tom, že způsobuje neuropatii, která vede k pocitu chladu. Po odstranění jejího působení tyto nežádoucí účinky odeznívají.<sup>20</sup>

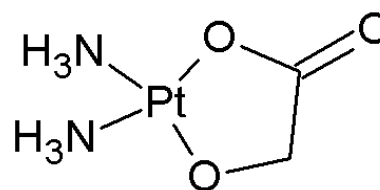


Obr. 7 Schéma přípravy oxaliplatiny<sup>20</sup>

#### 2.4.1.5. Nedaplatina

Tento derivát cis-platiny byl poprvé vyvinut japonskou farmaceutickou společností Shionogi roku 1983, jejímž cílem bylo vyrobit derivát podobných vlastností, ovšem s menšími vedlejšími účinky.<sup>22</sup>

Nedaplatina (Obr. 8), jejíž systematický název je *cis*-diammin-glykolatoplatnatý komplex, byla poprvé

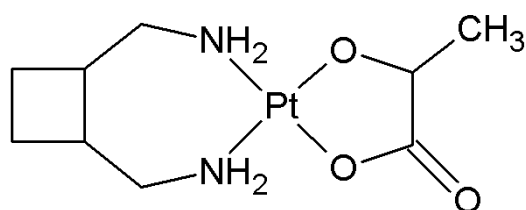


Obr. 8 Nedaplatina

použita pro léčbu pacientů v letech 1987-1988.<sup>4</sup> Jedná se o léčivo registrované pro léčbu rakoviny krku, hlavy, prostaty, plic, jícnu a vaječníku v Japonsku. Klinické testy ukázaly, že nedaplatina je zkříženě rezistentní s cis-platinou, ale je méně toxická. Doposud nebyly prokázány žádné výrazné výhody oproti cis-platině. Byla pozorována větší trombocytopenie (snížení počtu krevních destiček v krvi<sup>15</sup>), ale menší leukopenie (chorobné snížení počtu bílých krvinek<sup>15</sup>). Data o molekulovém mechanismu reakce nedaplatiny v organismu udávají, že reaguje v těle s rezidui guaninu. Jedná se o léčivo strukturně podobné karboplatině, proto by se dalo očekávat, že bude s DNA tvořit podobné adukty jako cis-platina nebo karboplatina.<sup>11</sup>

#### 2.4.1.6. Další deriváty cisplatiny

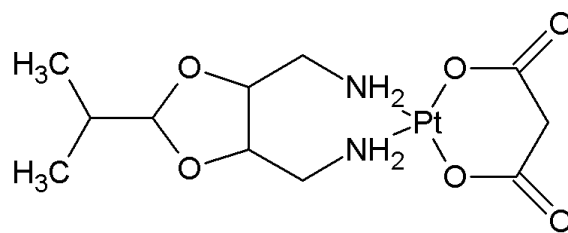
Lobaplatina (Obr.9), jejíž systematický název je [SP-4-2-(1R-*trans*)](1,2-bisaminomethylcyklobutan-N,N')[hydroxypropanoato(2-)-O,O']platnatý komplex, je analogem oxaliplatiny. Jedná se tedy již o třetí generaci cytostatik odvozených



Obr. 9 Lobaplatina

od platiny.<sup>21</sup> Lobaplatina vykazuje nízkou hodnotu vedlejších účinků oproti cis-platině. Je schválena pro použití k léčbě rakoviny v Číně. Zdá se, že lobaplatina není na rozdíl od cis-platiny ani neurotoxická, ani nefrotoxická.

Heptaplatina (Obr.10), *cis*-malonato [(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolan]platnatý komplex, je léčivem používaným v Jižní Koreji. Jedná se o látku efektivní při léčbě rakovinných buněk, které jsou rezistentní vůči cis-platině. Využití našla

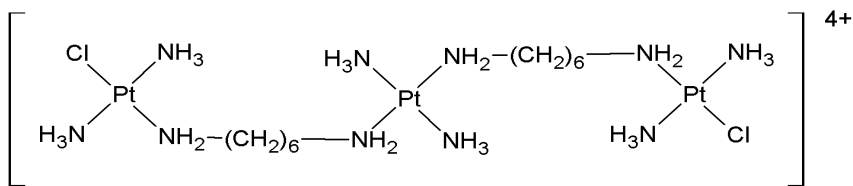


Obr. 10 Heptaplatina

při léčbě žaludku a v kombinaci s Paclitaxelem (jedná se o rostlinný alkaloid cytostatických účinků<sup>34</sup>) při léčbě rakoviny v epitelech buněk na krku a hlavě. Tato látka vykazuje pouze nízké toxické působení na ledviny, což je její významnou výhodou.<sup>20</sup>

Velmi zajímavými látkami z hlediska protinádorové aktivity jsou také polynukleární komplexy platiny, z nichž některé procházejí již druhou fází klinických testů. Jedná se o Farrellovy di- a tri- nukleární komplexy, ve kterých jsou kovová centra propojena flexibilními diaminovými řetězci. Tyto sloučeniny neobsahují ve svých *cis* polohách snadno odstupitelné

skupiny, kterými obvykle bývají Cl skupiny. Polynukleární komplexy platiny vykazují



působnost proti velmi **Obr. 11 BBR3464**

širokému spektru rakovinných bujení, včetně takových, která jsou proti cis-platině rezistentní. Vše, co bylo výše uvedeno, je řadí na místo potencionálně lepších léčiv než samotná cis-platina. Hlavní sloučeninou tohoto typu, která nyní podstupuje druhou fázi klinického testování, je trinukleární komplex BR3464 (Obr. 11).<sup>38</sup>

### 2.4.2. Protinádorová léčiva Pt(IV)

Bylo potvrzeno, že i komplexy s koordinačním číslem šest, s oktaedrální strukturou dokáží efektivně potlačit buněčné dělení a vykazují tedy protinádorovou aktivitu.<sup>19</sup> Pt(IV) je speciální příklad biologického přenašeče, u kterého může být očekávána redukce na Pt(II), hlavně u aktivních komplexů cis-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>] a [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], a to tak, že dojde k odtržení dvou axiálních ligandů.<sup>8</sup> Pt(IV) představují skupinu látek, která jsou bezprostředně po aplikaci neaktivní a jsou aktivovány pouze pokud je dopravena ke svému cíli, kterým je v tomto případě nádorová buňka.<sup>11</sup>

Satraplatina, bis-acetatoammindichlorido(cyklohexylamin)platičitý komplex JM216 je jedním z protinádorových Pt(IV) analogů cis-platiny<sup>11</sup>, který je zatím pouze v klinickém testování. Satraplatina jako taková, nebo v kombinaci s jinými látkami, by mohla být používána pro léčbu rakoviny plic nebo prostaty. Výhodou je možnost podávat satraplatinu orálně.<sup>20</sup> Její interakce s DNA uvnitř buněk je velmi podobná jako u cis-platiny (přestože jsou zde nějaké rozdíly).<sup>11</sup>

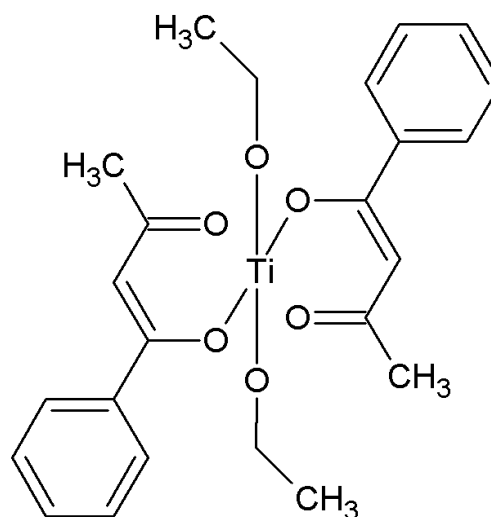
## 2.5. TITAN

Kopf-Maier a Kopf, Keppler, Harding a Mokdsi, Caruso, Rossi a Pettunari a Meléndez poprvé přišli s hodnocením, že komplexní sloučeniny titanu vykazují protinádorovou aktivitu při léčbě rakoviny. Mechanismus reakce těchto látek s DNA je obdobný reakci cis-platiny s DNA. Byly tedy navrženy látky budotitan a dichlorid titanocenu, u nichž byla popsána reakce s DNA. Tyto komplexy titanu mají, stejně jako

cis-platina, dvě dobře odstupitelné skupiny v cis poloze (chlorido skupina, ethoxy skupina). Studium umístění titanu v implementovaném lidském adenokarcinomu tlustého střeva bylo studováno u myši. Po aplikaci jednotné dávky 80 mg/m<sup>2</sup> dichloridu titanocenu byl titan po 12 hodinách detekován v jaderném chromatinu. Titan byl pozorován v blízkosti oblastí bohatých na fosfor, což naznačuje jeho interakci s DNA. Jelikož mají budotitan a dichlorid titanocenu v cis poloze snadno odstupitelné skupiny, jak již bylo zmíněno, měl by mechanismus jejich působení být velmi podobný, což ovšem není úplnou pravdou, jelikož tyto látky mají zcela jiné spektrum působení.<sup>11</sup>

### 2.5.1. Budotitan

Budotitan (Obr.12), jehož systematický název je diethoxybis(1-fenylbutan-1,3-dionato)titaničitý komplex, byl prvním neplatným komplexem, který byl klinicky testován pro léčbu rakoviny, ovšem jeho použití bylo limitováno nízkým stupněm rozpustnosti a vysokou toxicitou pro játra.<sup>19</sup> Budotitan a související bis-(β-diketonato) komplexy byly syntetizovány z odpovídajících tetrahalogenidů a diketonátu v bezvodém organickém prostředí.<sup>11</sup> Tato látka je komplexní sloučeninou potencionálního použití především



Obr. 12 Budotitan

pro léčbu pomalu rostoucích nádorů v gastrointestinální oblasti (tj. žaludek, střeva).<sup>11</sup> Maximální tolerovaná dávka pro organismus je 230 mg/m<sup>2</sup>, a to v intervalech dvakrát týdně. Dávku limitující toxicita se projevuje srdeční arytmii. Klinické testování této sloučeniny bylo pozastaveno z důvodu její nízké stability.<sup>11,36</sup>

### 2.5.2. Titanocen

Jak již bylo zmíněno, zajímavou, nicméně dosud nepoužívanou látkou cytostatických účinků obsahující centrální atom titanu je první jednoduchý metallocen publikovaný v roce 1979 Kopfem a Kopf-Maierem. Jedná se o bis(η<sup>5</sup>-cyclopentadienyl)titaničitý dichlorid – dichlorid titanocenu [TiCp<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (Cp – cyklopentadienyl), který vykazoval potenciální protinádorové vlastnosti proti Ehrlichově ascitu (ascites = nahromadění tekutin v pobřišnici)

dutině), ale i proti jiným nádorům. Důvodem pro studium této látky bylo, že je stejně jako cisplatina neutrální a obsahuje dvě dobře odstupitelné chloridové skupiny v cis poloze.<sup>20</sup> Titanocen je červená krystalická látka, která byla prvně připravena Wilkinsonem a Birminghamem v roce 1954.<sup>11</sup> Dichlorid titanocenu vykazuje také protinádorovou aktivitu v oblasti lidského adenokarcinomu žaludku a tlustého střeva, které jsou necitlivé vůči běžným cytostatickým léčivům.<sup>11</sup>

Jedná se o dva cyklopentadienylové kruhy s delokalizovaným záporným nábojem, které jsou koordinovány na kovové centrum – titan, a takto tvoří tzv. sendvičovou strukturu. Rentgenostrukturní analýza prokázala, že koordinace kolem centrálního atomu titanu je navíc tvořena ještě dvěma chloridovými atomy.

Aktivita této struktury byla testována na Ehrlichově ascitu u myší. Byly testovány i další deriváty této sloučeniny. Studovány byly konkrétně deriváty se substituovanými cyklopentadienylovými kruhy například nějakým alkylem, nebo sloučeniny obsahující pouze jeden kruh. Tyto sloučeniny bohužel vykazovaly mnohonásobně sníženou protinádorovou aktivitu oproti původní sloučenině – dichloridu titanocenu. Při dalších pokusech bylo zkoušeno modifikovat samotný cyklopentadienylový ligand nahrazením H za nějakou jinou skupinu, např. skupinami CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> a N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Tyto pokusy vedly také jen k velkému snížení původní aktivity sloučeniny [Cp<sub>2</sub>Ti<sup>IV</sup>Cl<sub>2</sub>].<sup>11</sup>

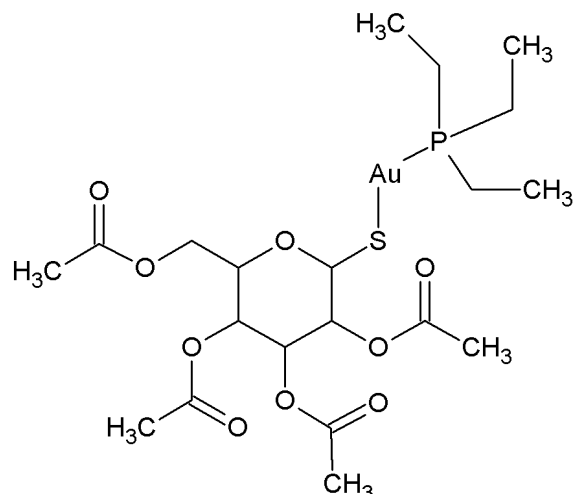
## 2.6. ZLATO

### 2.6.1. Komplexy Au(I) používané pro léčbu artritidy

Komplexy Au(I) se od roku 1940 používaly pro léčbu artritidy. V současné době jsou tyto látky jedinou třídou léčiv používaných pro léčbu těchto problémů. Dikyanidozlatitan draselný K[Au(CN)<sub>2</sub>] byl představen na přelomu minulého století pro léčbu rakoviny. Původní komplex byl nakonec nahrazen zlatnými thioláty, které byly později použity pro léčbu artritidy.<sup>3</sup>

Artritida je porucha způsobující, že imunitní systém napadá klouby v těle nemocného, což vede k ztrátě chrupavky a k následné ztrátě pohyblivosti.<sup>20</sup> Donedávna léčba artritidy probíhala bolestivou aplikací zlatných sloučenin injekcí přímo do svalů. Do této léčby bylo zahrnuto koloidní zlato, jeho sulfidy, Na<sub>3</sub>[Au(S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] známý pod názvem Sanocrysin a další látky.<sup>11</sup>

Relativně novou sloučeninou zlata, která našla široké využití v léčbě artritidy je látka známa pod názvem Auranofin (Obr. 13). Jedná se o (2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glukopyranosyl)(triethylfosfin) zlatný komplex. Tato látka má efektivní lineární linii vazby P-Au-S. Jedná se o léčivo, které je podáváno pacientovi orálně v dávkách asi



Obr. 13 Auranofin

3-6 mg denně. Pravděpodobná role fosfinu ve sloučenině Auranofinu je pro zvýšení její

rozpuštnosti v lipidech a usnadnění její absorpce ve střevech. To, že se jedná o léčivo rozpustné v tucích je výhodou v porovnání s látkami rozpustnými ve vodě. Výhoda spočívá ve zcela jiné biodistribuci sloučeniny, která nemusí být aplikována injekčně přímo do krevního řečiště. Možná výhoda je také v tom, že nedochází k tak velké akumulaci zlata v ledvinách a při léčbě artritidy se na pacientovi tolik neprojevují vedlejší účinky, kterými jsou např. chuť kovu v ústech, bledá kůže, dermatitidy a zvracení.<sup>11</sup>

Rozpuštné komplexy fosfinů zlata byly také zkoumány jako potencionální léčiva s protinádorovou aktivitou. Bylo zjištěno, že Auranofin je aktivní pouze proti nepatrné části na myších testovaných rakovinných nádorů. Biologická aktivita blíží se aktivitě cis-platiny byla zjištěna u více analogů, především u difosfinového můstkového komplexu  $[\text{ClAu}(\text{PPh}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{PPh}_2)\text{AuCl}]$ . Při pokusech nahradit fosfinové ligandy nějakými As nebo S-donorovými ligandy, nebo při snaze nahradit fenylový ligand nějakým alkylem, bylo zjištěno, že všechny tyto snahy vedly pouze ke snížení aktivity komplexu. Zajímavé je, že difosfinové ligandy, jako takové, mají velmi podobné účinky jako jejich zlatné komplexy a jejich měďné analogy jsou také aktivní. Toto zjištění naznačuje, že za protirakovinnou aktivitou těchto látek stojí samotné fosfinové ligandy obsažené v těchto sloučeninách.<sup>1</sup>

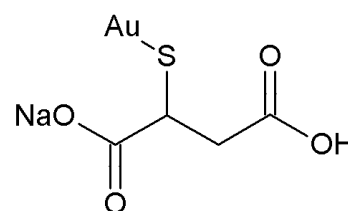
### 2.6.2. Možnosti léčby HIV pomocí sloučenin Au

První zmínky o aktivitě sloučenin zlata proti viru HIV pochází z 80. let od Blougha a jeho kolektivu. Léčiva pro léčbu viru HIV založená na bázi zlata většinou obsahují zlato v oxidačním stavu +I, které má ve srovnání se zlatem v oxidačním stavu +III minimální toxické účinky (Au(I) je více termodynamicky stabilní než Au(III)).<sup>16</sup>



Při použití Auranofinu (Obr. 13) při léčbě psoriatické artritidy u pacientů nakažených virem HIV, kteří neužívali žádné jiné medikamenty působící proti tomuto viru, bylo při klinických testech v roce 1996 zjištěno, že u nich došlo ke zvýšení počtu CD4+ lymfocytů. Virus HIV však způsobuje naopak snížení počtu lymfocytů CD4+, dalo se proto předpokládat, že Auranofin působí pozitivně na stav pacienta. Shapiro a Masci prokázali nárůst CD4+ lymfocytů ze 160/mm<sup>3</sup> na 390-400/mm<sup>3</sup> po pěti měsíční léčbě Auranofinem, zatímco došlo k poklesu aduktů HIV-RNA. Z klinických testů jasně plyne kladný efekt Auranofinu na léčbu viru HIV.<sup>16</sup>

Další klinicky testovanou látkou tohoto druhu je Aurothiomalát (Obr. 14). Jedná se o léčivo taktéž používané pro léčbu artritidy, u kterého bylo Okadou a jeho spolupracovníky prokázáno, že vykazuje účinky i proti viru HIV.<sup>16</sup>



Obr. 14 Aurothiomalát

## 2.7. RUTHENIUM

Ruthenium je schopno existovat v několika oxidačních stavech, avšak pouze v oxidačních stavech +II a +III bylo zakomponováno do nových potenciálních protinádorových léčiv. Reakce Ru(III) s biologickými cíli je příliš pomalá, ale Ru(II) je pro tyto reakce mnohem lepší. Jeho reaktivita samozřejmě značně závisí také na charakteru navázaných ligandů.<sup>20</sup>

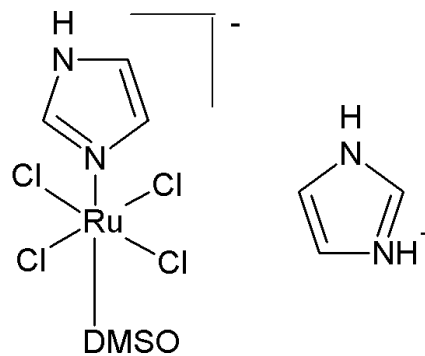
Některé komplexní sloučeniny ruthenia mají schopnost přímo napadnout a zničit nádor, zatímco další sloučeniny naopak dokáží zabránit rozšíření nádoru do dalších částí těla.<sup>20</sup> V minulosti, na počátku bádání o aktivitě ruthenia, bylo dokázáno, že určité druhy Ru(II) komplexů způsobují vláknitý růst bakterií *E. coli*. Komplex [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl<sub>3</sub>] je částečně aktivní, ale při testování protinádorové aktivity u Sarkomu 180, byly jeho účinky neprůkazné.<sup>8</sup> V současné době patří mezi nejslibnější ruthenité komplexní sloučeniny, které by mohly být alternativními léčivy k platným komplexům a které jsou klinicky testovány, dvě sloučeniny, jsou jimi NAMI-A a KP1019.<sup>29</sup> Předpokládá se, že tyto komplexy jsou v těle převedeny na více aktivní formu obsahující ruthenium v oxidačním stavu +II. Tato redukce je pravděpodobně podporována reduktivním prostředím uvnitř nádoru.<sup>31</sup> Nedávnými studiemi bylo zjištěno, že u NAMI-A není bezpodmínečně dokázáno, že při působení musí docházet

k aktivaci redukcí. NAMI-A je relativně labilní ve fyziologických podmínkách a k jeho aktivaci může dojít také záměnou jeho chloridových ligandů za molekuly vody.<sup>49</sup>

Zajímavé látky tvoří nová skupina široce použitelných látek s protinádorovou aktivitou, které jsou odvozené od Ru(II). Jedná se o tzv. arenové sloučeniny, mezi které patří  $[(\eta^6\text{-biphe})\text{Ru}(\text{en})\text{Cl}]\text{PF}_6$  a  $[(\eta^6\text{-benzen})\text{Ru}(\text{pta})\text{Cl}_2]$ . Biologické působení těchto látek se zdá být podobné jako u komplexních sloučenin platiny. Probíhá tak, že dochází k odloučení jednoho nebo více navázaných ligandů a poté reaguje s cílem v molekule buňky. Výjimkou jsou komplexy ruthenia vykazující protinádorovou aktivitu, které jsou relativně kineticky inertní a jejich působení může být odlišné od výše popsaného.<sup>20</sup>

### 2.7.1. NAMI-A

NAMI-A (Obr. 15), jehož systematický název je  $(\text{imH})[\text{RuCl}_4(\text{DMSO})(\text{im})]$ . Jedná se o anionický komplex obsahující oktaedrální ruthenium v oxidačním stavu +III, které je centrálně vázané na jeden imidazolový ligand a S-koordinovaný DMSO ligand, který je vůči imidazolovému ligandu v poloze trans. Dalšími čtyřmi ligandy jsou ligandy chloridové. Tato látka není velmi aktivní pro léčbu nádorů jako takových<sup>38</sup>, ale je potencionálně velmi slibným léčivem pro léčbu



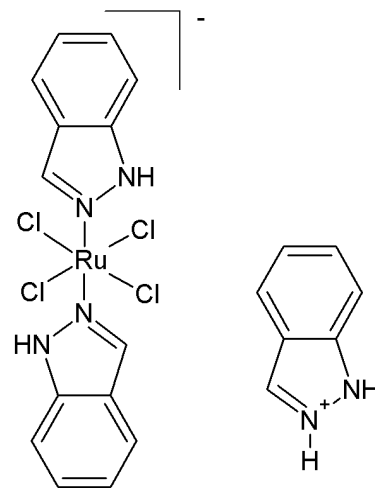
Obr. 15 NAMI-A

pokročilých stádií rakoviny, kdy již došlo k metastazování nádoru do jiných částí organismu. (NAMI-A je vhodné pro léčbu metastází). Vykazuje poměrně nízkou toxicitu pro organismus, nicméně při léčbě má výborné účinky. Tato látka úspěšně prošla prvními klinickými testy a nyní je od roku 2008 ve druhé fázi testování.<sup>27</sup>

### 2.7.2. KP1019

KP1019 (Obr. 16), jehož systematický název je  $(\text{ibdH})[\text{RuCl}_4(\text{ind})]$ , byl poprvé syntetizován Prof. B. K. Kepplerem a jeho spolupracovníky na univerzitě Heidelberg v Německu.<sup>30</sup> Jedná se o látku výborných protinádorových účinků, která působí proti primárním nádorům a zároveň nese minimální toxicitu pro organismus.<sup>27</sup> Je to druhý komplex ruthenia, který byl testován na lidském organismu.<sup>37</sup>

Při testování inhibičního efektu KP1019 proti primárním nádorům, a to i proti takovým, které jsou odolné vůči klasické chemoterapii, bylo dosaženo účinnosti u 80% sledovaných vzorků. Pro objasnění protinádorových účinků bylo KP1019 testováno na buněčných kulturách, kde u kolorektálního karcinomu došlo jeho působením k apoptóze buněk. *In vivo* testy účinnosti této sloučeniny byly provedeny u myši, které měly, proti např. cis-platině rezistentní, karcinom tlustého střeva MAC15A, který je svou histologickou stavbou a maligním chováním velmi podobný lidskému karcinomu tlustého střeva. Při těchto testech byla odhalena silná aktivita KP1019, která měla za následek zmenšení nádoru asi o 8% . KP1019 podstoupila první fázi klinických testů a nyní jsou plánovány klinické testy druhé fáze.<sup>29,37</sup>



Obr. 16 KP 1019

## 2.8. VANAD

Vanad hraje pravděpodobně esenciální roli v metabolismu savců, ale nyní je na něj upírána pozornost z farmakologického hlediska, a to v léčbě diabetu.<sup>41</sup> Zmínky o použití vanadu jako léčiva pro léčbu diabetu pochází již z roku 1899. Formou vanadu, která byla v této době používána, byla sůl vanadičnan sodný  $\text{NaVO}_3$ . V pozdější době se vědci snažili připravit komplexní sloučeniny vanadu v oxidačních stavech +IV a +V.<sup>42</sup> V současné době je kladen důraz na tři hlavní třídy sloučenin obsahujících vanad: (a) ve formě vanadičnanů  $[\text{VO}_4]^{3-}$  – aniontové soli vanadu a vanadylyů  $\text{VO}^{2+}$  – kationové soli vanadu, (b) komplexy vyplývající z kombinace vanadu a peroxidu vodíku a nakonec (c) komplexy vanadu s chelatujícími ligandy.<sup>41</sup>

Výhoda komplexních sloučenin vanadu používaných při léčbě diabetu tkví hlavně v tom, že na rozdíl od inzulínu mohou být tato léčiva užívána orálně. Další výhodou je aktivita léčiv obsahujících vanad proti oběma typům diabetu. Diabetes I. typu je způsoben nedostatkem inzulínu a diabetes II. typu je způsoben inzulínovou rezistencí.<sup>42</sup>

Na zvířecích modelech diabetu I. typu bylo prokázáno, že některé komplexy vanadu s organickými ligandy, kterými jsou například bis-(maltolato)oxovanadičitý komplex

(BMOV), bis-(pikolinato)oxovanadičitý komplex a bis-(6-methylpikolinato)oxovanadičitý komplex), jsou použitelné pro léčbu tohoto onemocnění bez závažných gastrointestinálních vedlejších účinků.<sup>43</sup>

## 2.9. TECHNECIUM

Komplexní sloučeniny kovů, které obsahují tzv. radioaktivní jádro se v lékařství často používají k zobrazování tkání, orgánů nebo nádorů při radiologických vyšetřeních. Radioizotopy používané pro diagnostické účely by měly emitovat nízkoenergetické  $\gamma$ -fotony, bez toho aniž by docházelo k vyzařování  $\alpha$  nebo  $\beta$  částic. Nejvíce používaným je  $^{99m}\text{Tc}$ , protože produkuje jasné  $\gamma$ -záření, které je dobře detekovatelné a poskytuje tak velmi dobré snímky.<sup>1</sup>

Bylo prokázáno, že kationtové komplexy  $^{99m}\text{Tc}$  hexakis(t-butylisonitril)technecný komplex, tzv. (TBI), jsou schopny soustředit se ve tkáních myokardu. Tento důkaz byl prováděn nejprve u zvířat a později i u pacientů s ischemickou chorobou srdeční. TBI dosáhlo uspokojivých výsledků a proto začalo být používáno jako zobrazovací prostředek pro tomografické zobrazování myokardialní ischemie a infarktu. Jeho rutinní použití je však omezeno zvýšenou absorpcí v plicích a játrech. Tato absorpce vede k zakrytí vad srdeční stěny sousedící s jaterním parenchymem, což je poněkud zavádějící. Z důvodu těchto problémů bylo  $^{99m}\text{Tc(I)}$  navázáno na karboxyisopropylisonitril CPI. Problémem CPI je jeho poměrně rychlé vymývání ze srdce a také jeho akumulace v játrech.<sup>39,50</sup>

Dalším zobrazovacím činidlem na bázi technecia jsou komplexy  $^{99m}\text{Tc}$  s ligandy obsahujícími donorové atomy síry a dusíku se stavbou  $\text{R-CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH})_2$ ;  $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5\text{S}, (\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{N}$ . Tyto ligandy vystupují jako tridentální chelatující ligandy vázané přes SNS atomy na  $\text{TcO}^{3+}$ , na něž je dále vázána jedna snadno dostupující oxo-skupina. Tyto látky jsou látkami s potenciálním použitím pro zobrazování mozkové tkáně.<sup>40</sup>

## 2.10. ŽELEZO

Zajímavou sloučeninou železa je ferrocen. Jedná se o metallocen sendvičové struktury, který je tvořen železem vázaným na dva cyklopentadienylové kruhy.<sup>18</sup> Tato sloučenina byla

původně vyvinuta pro léčbu chudokrevnosti způsobené nedostatkem železa. Molekula ferrocenu nese lipofilní charakter, a proto bez problémů proniká buněčnými membránami. Navíc je stabilní ve vodném prostředí i aerobních podmínkách.<sup>46</sup>

Chloroquinové deriváty ferrocenu jsou látky, které byly syntetizovány z důvodu vytvoření rezistence buněčného kmenu *Plasmodium falciparum* na chloroquin<sup>44</sup>, který byl do té doby běžně používán pro léčbu a prevenci malárie.<sup>45</sup> Výhodou těchto látek, obsahujících ferrocenylové jednotky je jejich netoxičnost a kompatibilita téměř s jakoukoli jinou léčbou. Jedná se o deriváty sloučeniny 7-chlor-4-[[[2-[(*N,N*-amino)methyl]ferrocenyl]methyl]amino]chinolin. Komplex se železem 7-chlor-4-[[[2[(*N,N*-dimethylamino)methyl]ferrocenyl]methyl]amino]chinolin, známý pod názvem Ferroquin, byl testován na myších infikovaných buněčnými kmeny *Plasmodium berghei N.* a *Plasmodium yoelii NS* a bylo prokázáno, že je schopen vykazovat silné účinky proti malárii. Tato látka nyní prochází druhou fází klinických testů.<sup>44</sup>

Další zajímavou sloučeninou železa, která našla využití v lékařství, je nitroprusid sodný  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]$ . Nitroprusid sodný se používá k regulaci krevního tlaku.<sup>3</sup> Jedná se o sloučeninu používanou ve dvou případech. Prvním z nich je akutní snížení krevního tlaku při hypertenzi a druhým je použití při akutním srdečním selhání. Komplex nitroprusidu sodného se ve vodném prostředí rozkládá. V metabolismu se metabolizuje přes kyanid na rhodanid.<sup>53</sup>

## 2.11. KOVY S POTENCIÁLNÍ LÉČEBNOU AKTIVITOU

Existuje mnoho komplexních sloučenin přechodných kovů, u kterých existuje slibná možnost, že by mohly vykazovat protinádorovou, nebo jinou aktivitu. Byla vybrána některá potencionální protinádorová léčiva přechodných kovů, která jsou popsána níže. Tyto sloučeniny by mohly mít podobné vlastnosti například z důvodu izostrukturálních nebo izoelektronových podobností se strukturou cis-platiny, která je v současnosti asi nejvíce používaným cytostatikem. Byť se jedná o látky se slibnými vlastnostmi, některé z nich zatím nebyly klinicky testovány, a dokonce nebyly testovány ani *in vivo*. Ke komplexním sloučeninám těchto vlastností bych zařadila například některé komplexy Au nebo některé trans izomery platiny. Další potencionální třídou těchto látek, které sice nejsou v ničem podobné cis-platině, mohou být komplexy ruthenia a nebo metalloceny.

### 2.11.1. Potenciální protinádorová léčiva odvozená od trans-derivátů platiny

Po prokázání faktu, že trans-platina je vůči nádorovým bujením neaktivní, byl tento fakt zapsán do povědomí vědců jako jakési dogma. Ovšem v průběhu dalších výzkumů se ukázalo toto tvrzení jako ne úplně pravdivé. Byly definovány tři skupiny platnatých komplexů, které vlastní jistou protinádorovou aktivitu. Mezi tyto tři skupiny trans sloučenin patří sloučeniny obsahující pyridinové ligandy, trans sloučeniny obsahující alkylamin a isopropylamin a nakonec i trans sloučeniny obsahující jako ligand iminoether. Tyto tři skupiny látek vykazují potencionálně podobnou aktivitu jako cis-platina a co víc, působí i proti některým nádorovým buňkám, které jsou vůči cis-platině rezistentní. I přes slibné vyhlídky však tyto sloučeniny prozatím nebyly podrobeny klinickému testování.<sup>38</sup>

### 2.11.2. Potenciální protinádorová léčiva Au(III)

Zlatité sloučeniny představují novou potencionální třídu léčiv s centrálním atomem přechodného kovu, o které je zájem z hlediska jejich protinádorové aktivity.

Čtvercově planární komplexy Au(III), které jsou izoelektrické a izostrukturální s komplexy Pt(II) se zdály být vhodnými kandidáty na biologické testování. V porovnání s Pt(II) analogy, jsou ovšem sloučeniny Au(III) relativně nestabilní a citlivé na světlo. Navíc ve fyziologických podmínkách dochází k jejich snadné redukci na kovové zlato.

V 90. letech se znovu vrátil zájem k protirakovinným sloučeninám Au(III) ve snaze zlepšit jejich stabilitu a farmakologické vlastnosti. Měření nově syntetizovaných sloučenin, mezi něž patří například  $[\text{Au}(\text{en})_2]\text{Cl}_3$ ,  $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]\text{Cl}_2$ ,  $[\text{Au}(\text{cyclam})](\text{ClO}_4)_2$ ,  $[\text{Au}(\text{terpy})\text{Cl}]\text{Cl}_2$  a  $[\text{Au}(\text{phen})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ , přinesla částečně uspokojivé výsledky, které vedly k farmaceutickému testování *in vitro*.<sup>17</sup>

### 2.11.3. Potenciální protinádorová léčiva Rh(I), Rh(II) a Rh(III)

Některé komplexy rhodia v oxidačních stavech I, II a III vykazují protinádorovou aktivitu a představují tak velmi slibné vyhlídky. Protinádorová aktivita u komplexních sloučenin rhodia byla očekávána na základě jeho elektronové konfigurace  $d^6-d^7$ , a také na základě toho, že je izoelektrický s platinou, jejíž komplexy představují výborná cytostatika.

Čtvercově planární komplexy Rh(I)  $[\text{Rh}(\text{COD})(\text{NH}_3)]$ ,  $[\text{Rh}(\text{COD})(\text{piperidin})]$ ,  $[\text{Rh}(\text{acac})(\text{COD})]$  (COD = 1,5 – cyklooktadien) jsou potencionálními prostředky k léčbě leukemie L1210, Ehrlichova ascitu, sarkomu 180 nebo Lewisova karcinomu plic. Tyto látky také inhibují proces metastazování nádoru do jiných částí lidského těla.

Dvojjaderné komplexy Rh(II) prozatím patří nyní k těm látkám, které jsou studovány a do budoucna je zde velká naděje, že by mohly vykazovat protinádorovou aktivitu a být tak použity jako protirakovinná léčiva.

Oktaedrální komplexy Rh(III) s elektronovou konfigurací  $5d^6$  jsou izoelektrické s komplexy Pt(IV) a Ru(II), které jsou výbornými cytostatiky používanými v léčbě rakoviny. Při testování komplexů Rh(III), které jsou sice inertní, byla odhalena silná protirakovinná a antimikrobiální aktivita. Konkrétně např. komplex (OC-6-21)-[RhCl<sub>3</sub>(Me<sub>2</sub>SO-S)<sub>2</sub>(L)] (L = NH<sub>3</sub>, imidazol) vykazuje *in vitro* cytostatické účinky při aplikaci na A2780, A2780/cp8 a LoVO podobně jako cis-platina.<sup>11</sup>

#### 2.11.4. Potenciální protinádorová léčiva Pd(II)

Chemická podobnost mezi platinou a palladiem, kterými jsou například elektronová konfigurace  $(n-1)d^8$  a to, že oba kovy preferují čtvercové planární uspořádání komplexů, vedla vědce k domněnce, že palladnaté komplexy by mohly také vykazovat biologickou aktivitu.<sup>19</sup> Palladnaté komplexy obsahující různé ligandy s různými donorovými atomy mohou mít mnoho užitečných vlastností, kterými jsou například vlastnosti anti-virové, anti-fungicidní a anti-mikrobiální.<sup>28</sup>

Některé palladnaté komplexy byly pro podobnost s komplexy platiny testovány proti Sarkomu 180, ale žádná významná biologická aktivita pozorována bohužel nebyla. Tyto látky byly testovány také na bakteriích *Escherichia coli* B, a přestože již v malých koncentracích byl prokázán bakteriostatický účinek, nedošlo ke vzniku vláknitých bakteriálních buněk. Při zkoumání vlastností komplexních sloučenin palladia bylo dosaženo závěru, že [Pd(dtp)<sub>2</sub>] (dtp = O,O'-dimethyldithiofosfát) je aktivní proti karcinomu Walker 256 (karcinom mléčné žlázy způsobující osteoporózu – řídnutí kostní tkáně<sup>35</sup>). Jeho účinnost byla vyzkoušena u myši a došlo k redukci nádoru o 6%.<sup>8</sup> U palladia v porovnání s platinou, která se vyskytuje i v oxidačním stavu + IV, přestože se ve fyziologických podmínkách dá očekávat její redukce na platinu v oxidačním stavu + II, nemá oxidační stav + IV žádný význam.<sup>19</sup>

Thiosemikarbazony používané při tvorbě palladnatých komplexů vykazují protinádorovou aktivitu sami o sobě.<sup>11</sup> Jedná se o tridentátní ligandy, které jsou k centrálnímu atomu vázány přes pyridinový dusík, iminový dusík a přes atom síry.<sup>28</sup> Bylo zjištěno, že v kombinaci právě s palladnatým centrálním atomem dochází ke zvýšení této aktivity.<sup>11</sup> U těchto komplexů byla později prokázána protinádorová aktivita proti některým druhům

rakovinných buněk, které jsou vůči cis-platině rezistentní.<sup>11</sup> Účinnost byla testována *in vitro* proti nádorovým liniím MCF-7, TK-10 a UACC-62.<sup>28</sup>

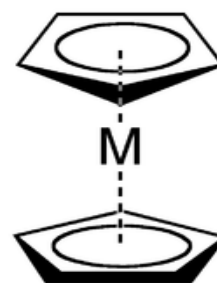
Palladnaté komplexy s aniontovou formou Schiffovy báze S-dithiokarbazonu (asme) ve formě  $[\text{Pd}(\text{asme})_2]$  byly shledány aktivními proti rakovině nosohltanu a rakovině kůže. Dále komplexy obsahující na místě ligandů Schiffovy báze S-benzylidithiokarbazát o složení  $[\text{Pd}(\text{asbz})_2]$  i výše zmíněné komplexy  $[\text{Pd}(\text{asme})_2]$  jsou aktivní při léčbě T-lymfoblastové leukemie. Jejich aktivita je bohužel pouze velmi slabá. Komplexní sloučeniny Pt(II) se stejnými ligandy jsou pro léčbu výše zmíněných nádorů naprosto neaktivní.<sup>11,28</sup> Jedinými sloučeninami palladia, které vykázaly částečnou protinádorovou aktivitu proti leukemii P388, byly sloučeniny palladia obsahující v ligandu maltosové jednotky. Tyto sloučeniny byly testovány *in vivo* na myších.<sup>28</sup>

Budeme-li studovat chelatující ligand ethylendiaminu (nebo obecně diamino ligandy), zjistíme, že vykazuje menší labilitu než nechelatuující ligandy vázané přes dusík, jako je například amino ligand. Výhodou je, že při použití etylendiaminu jako ligandu nemůže dojít k izomeračnímu přesmyku z cis na trans geometrickou formu komplexu. Komplexní sloučeniny obsahující dva amino ligandy byly z hlediska biologické aktivity shledány neaktivními, zatímco při použití ethylendiaminu jako ligandu byla *in vivo* prokázána podobná aktivita jako u cis-platiny.<sup>19</sup> Výše zmíněné komplexní sloučeniny palladia však ovšem zatím nejsou ani v klinických testech, ani v reálné léčbě.

### 2.11.5. Metalloceny

Metalloceny jsou látky obsahující dva cyklopentadienylové kruhy vázané k atomu kovu. Spojení kovu s cyklopentadienem je zprostředkováno přes (n-1)d nebo np orbital přechodného kovu s molekulovým orbitalem cyklopentadienu. Vznikající výsledné komplexní sloučeniny mají často sendvičovou strukturu. Obecný vzorec těchto sloučenin je  $(\text{C}_5\text{H}_5)_2\text{X}$ , kde (X = kov). Jedná se o velmi stabilní sloučeniny.<sup>18</sup>

Některé sloučeniny metallocenů, kterými jsou například  $[(\text{C}_5\text{H}_5)_2\text{TiX}_2]$  (kde X = Cl, Br,  $\text{O}_2\text{CCl}_3$ ),  $[(\text{C}_5\text{H}_5)_2\text{VCl}_2]$  a  $[(\text{C}_5\text{H}_5)\text{Fe}]^+$  soli vykazují aktivitu proti některým rakovinným bujením u zvířat, jak bylo výše zmíněno. Bylo prokázáno, že u těchto látek jsou vyšší limity tolerance než u cis-platiny (200 mg/kg), a to s nižším výskytem vedlejších účinků. Klinické testy těchto látek byly však zpožděny tím, že látky při zkouškách léčby u myši trpících leukémií několikrát



Obr. 17 Obecná struktura metallocenů (převzato z wikipedie)



selhaly. Pozdější zkoušky na nádorových buňkách Ehrlichova ascitu léčených  $[(C_5H_5)_2VCl_2]$  *in vitro* prokázaly, že tato látka je schopna blokovat replikaci DNA. Přestože o metallocenech a jejich halogenidech známe jen omezené množství informací, dá se předpokládat, že jejich chování je podstatně jiné než chování protinádorových léčiv platiny. Dá se tedy říci, že metalloceny z pohledu do budoucnosti poskytují slibnou příležitost k rozšíření komplexů kovů používaných pro léčbu rakoviny.<sup>1</sup>

## **2.12. IN VITRO PROTINÁDOROVĚ AKTIVNÍ KOMPLEXY PLATINY A PALLADIA S DERIVÁTY N6-BENZYLADENINU**

Další cestou bioanorganické chemie, jak připravit potenciálně biologicky aktivní sloučeniny jako možná léčiva na bázi komplexních sloučenin přechodných kovů, je na vhodný kov koordinovat organický ligand, který sám o sobě vykazuje nějakou biologickou aktivitu. Koordinací takovéto sloučeniny na kov totiž může dojít k navýšení této biologické aktivity. Příkladem můžou být i výše zmíněné komplexy s thiosemikarbazony. Tento předpoklad byl prokázán i na sloučeninách připravených v naší laboratoři. Nejzajímavější výsledky byly získány pro připravené komplexy platiny, případně palladia, s deriváty N6-benzyladeninu. N6-benzyladenin je v přírodě se vyskytující rostlinný hormon patřící do řady cytokininů. Cytokiny jsou důležité látky, které hrají klíčovou roli při růstu rostlin a buněčného dělení. 2,6,9-substituované deriváty purinu inhibují cyklin dependentní kinasy, což je skupina enzymů zodpovědných za regulaci buněčného cyklu. Látky připravené v olomouckých laboratořích, konkrétně 2-[2-(hydroxyl-ethyl)amino]-6-benzylamino-9-methylpurin (Olomoucín), 2-[3-(hydroxypropyl)amino]-6-benzylamino-9-isopropylpurin (Bohemín) a 2-[[1-(hydroxylmethyl)-propyl]-amino]-6-benzylamino-9-isopropylpurin (Roscovitin), jsou aktivní proti některým liniím nádorových buněk testovaných *in vitro* i *in vivo*. Byly připraveny čtvercově planární komplexní sloučeniny o složení  $[M(L)_2Cl_2]$ , kde  $M = Pt(II), Pd(II)$  a  $L =$  derivát N6-benzyladeninu. Tyto komplexy byly připraveny ve snaze zvýšit protinádorovou aktivitu samotných derivátů N6-benzyladeninu, které byly zmíněny výše. Podařilo se připravit jak *trans*, tak i *cis* izomery těchto látek. Jejich aktivita byla testována *in vitro* na kmenech lidských nádorových buněk, kterými byly například melanom G361, adenokarcinom prsu MCF7 nebo třída nádorových buněk K562 zodpovědných za leukemii.<sup>9</sup>

V návaznosti na tyto úspěchy byly syntézy v rámci této bakalářské práce prováděny se strukturně podobnými ligandy, a to s deriváty kinetinu. Kinetin je rostlinný hormon podporující buněčné dělení, patřící do třídy cytokininů. Je schopen ovlivňovat diferenciaci lidských buněk, proto je vhodný pro použití v medicíně.<sup>47</sup> Pro tyto vlastnosti bylo naší snahou kinetin a jeho deriváty zakomponovat do čtvercově planárních komplexů jak s platinou, tak i s palladiem.

## 5. ZÁVĚR

V předložené bakalářské práci byly zadány dva základní cíle. Prvním z nich bylo vypracovat literární rešerši na téma biologicky aktivních komplexů přechodných kovů používaných v lékařství. Do teoretické části této práce byly zařazeny i komplexní sloučeniny s potencionální aktivitou, které ještě používány nejsou a samostatná kapitola o látkách připravených na našem pracovišti. Druhým cílem této práce bylo připravit deriváty cis-platiny a analogy těchto derivátů s palladiem. Použity byly N-donorové ligandy – kinetin a jeho deriváty. Vždy byly prováděny analogické reakce s centrálním atomem platiny a s centrálním atomem palladia.

Byly připraveny čtyři ligandy, konkrétně N6-furfuryladenin, N6-(5-methylfurfuryl)adenin, N6-furfuryl-2-chlor-9-isopropyladenin a N6-(5-methylfurfuryl)-2-chlor-9-isopropyladenin, které byly příslušnými reakcemi koordinovány na kovové jádro platiny nebo palladia. Podařilo se syntetizovat celkem pět slibných komplexů, z nichž tři obsahovaly centrální atom platiny a dva centrální atom palladia. Připravené sloučeniny byly charakterizovány dostupnými metodami, kterými byly elementární analýza, hmotnostní spektrometrie, infračervená spektrometrie a monokrystalovou rentgenostrukturní analýzou.

Reakcemi tetrachloridoplatnatanu draselného a tetrachloridopalladnatanu draselného s připravenými deriváty kinetinu bylo získáno pět komplexů předpokládaného složení  $[\text{Pt}(\text{L}4)_2\text{Cl}_2]$ ,  $[\text{Pt}(\text{L}3)_2\text{Cl}_2]$ ,  $[\text{Pd}(\text{L}4)_2\text{Cl}_2]$ ,  $[\text{Pd}(\text{L}3)_2\text{Cl}_2]$ . Nepodařilo se připravit čisté cis izomery, ale ve výsledku se vždy jednalo o směs cis a trans izomeru. Složení produktů reakcí je předpokládáno na základě výsledků výše zmíněných fyzikálně-chemických metod, kterými byly produkty zkoumány. Jednoznačné určení struktury připravených komplexních sloučenin nebylo možné určit z důvodu dlouhodobé odstávky přístroje pro měření NMR - 400 MHz NMR spektrometr firmy Varian.

Jako výhled do budoucna se pokusíme upravit reakční podmínky a připravit čisté cis izomery výše zmíněných komplexů. Pokud se toto podaří, byla by výhledově zkoušena *in vitro* aktivita těchto sloučenin.

## 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

asme	S-dithiokarbazát
acac	acetylacetonát
asbz	S-benzylidithiokarbazát
A2780	linie buněk rakoviny vaječníků
BBR3464	trinukleární komplex platiny
biphe	bifenyl
BMVO	bis(maltolato)oxovanadičný komplex
but	butanol
CD4+	povrchové glykoproteiny cytoplazmatické membrány T-lymfocytů
COD	1,5 – cyklooktadien
Cp	cyklopentadienyl
CPI	karboxyisopropylisonitriltechnečný komplex
DCIP	2,6-dichlor-9-isopropylpurin
dien	diethylentriamin
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
dtp	O,O'-dimethyldithio fosfát
EA	elementární analýza
en	ethylendiamin
Et <sub>3</sub> N	triethylamin
FAR	daleká oblast IR
G361	linie buněk lidského maligního melanomu
HIV	Human immunodeficiency virus
hrs	hodina
im	imidazol
ind	indazol
IR	infračervená spektrometrie
JM216	bis-acetoammindichlorido(cyklohexylamin)platičitý komplex
KP1019	indazolium <i>trans</i> -[tetrachloridobis(1H-indazol)ruthenitý komplex]
K562	linie buněk myeloidní leukémie

L1210	linie buněk lymfocytární leukemie u myši
MCF-7	linie buněk adenokarcinomu prsu
me	methyl
MID	střední oblast IR
Mr	molární hmotnost
MS	hmotnostní spektrometrie
LoVO	linie buněk karcinomu tlustého střeva
NAMI-A	<i>trans</i> -[tetrachlorid(1H-imidazol)(S-dimethylsulfoxid)ruthenitý komplex]
Ph	fenyl
phen	fenantrolin
pta	fosfatriazaadamantan
py	pyridin
RNA	ribonukleová kyselina
TBI	hexakis(t-butylisonitril)techneciný komplex
terpy	terpyridin
TK-10	linie buněk karcinomu ledvin
T <sub>v</sub>	teplota varu
UACC-62	linie nádorových buněk melanomu

## 7. LITERATURA

- [1] Lippard S. J.: *Metals in Medicine In Bioinorganic Chemistry*. Bertini, I., Gray, H. B., Lippard, S. J., Valentine, J., Eds.; University Science Books, Sausalito, 1994; pp 505-583.
- [2] Ronconi L., Sadler P. J.: *Coordin. Chem. Rev.* **251**, 1633-1648 (2007).
- [3] Berners-Price S. J., Sadler P. J.: *Coordin. Chem. Rev.* **151**, 1-40 (1996).
- [4] Desozie B., Madoulet C.: *Crit. Rev. Oncol. Hem.* **42**, 317-325 (2002).
- [5] Greenwood N. N., Ernschaw A.: *Chemie prvku II*, Informatorium, Praha 1993. ISBN: 80-85427-38-9
- [6] [http://wwwchem.uwimona.edu.jm/lab\\_manuals/Werner.html](http://wwwchem.uwimona.edu.jm/lab_manuals/Werner.html) (01-10-11)
- [7] Schwietert C. W., McCue J. P.: *Coordin. Chem. Rev.* **184**, 67-89 (1999).
- [8] Cleare M. J. et al.: *Coordin. Chem. Rev.* **12**, 349-405 (1974).
- [9] Szučová L. et al.: *Polyhedron* **27**, 2710-2720 (2008).
- [10] Wang Y., Chiu J.: *Metal Based Drugs*, 1-9 (2008).
- [11] Gielen M., Tiekink E. R. T.: *Metallotherapeutic Drugs and Metal-based Diagnostic Agents*, Eley, 2005. ISBN: 0-470-86403-6
- [12] Pasetto L. M. et al.: *Crit. Rev. Oncol. Hem.* **60**, 59-75 (2006).
- [13] Sadler P. J., Guo Z.: *Pure Appl. Chem.* **70**, 863-871 (1998).
- [14] <http://www.trombocytopenie.cz/clanek.php?id=2&tab=pacient> (12-10-11)
- [16] Povýšil C., Šteiner I., Dušek P.: *Speciální Patologie*. Galén, 2007. ISBN-13- 978-80-7262-494-2
- [16] Fonteh P. N., Keter F. K., Meyer D.: *Biometals* **23**, 185-196 (2010).
- [17] Gabbani C., Casini A., Messori L., *Gold Bull.* **40**, 73-81 (2007).
- [18] <http://accessscience.com/content/Metallocenes/49000> (15-10-11)
- [19] Jones Ch. J., Thornback J. R.: *Medicinal Applications of Coordination Chemistry*. RSC Publishing, 2007. ISBN: 978-0-85404-596-9
- [20] Dabrowiak J.C.: *Metals in Medicine*. Wiley, 2009. ISBN: 978-0-470-68196-1
- [21] Hampl F., Paleček J.: *Farmakochemie*. 1. vyd., VŠCHT, Praha 2002. ISBN: 80-7080-495-5

- [22] <http://www.hindawi.com/journals/chrp/2011/963159/> (17-2-2012)
- [23] Higby D. J., Wallace H. J., Albert D. J., Holland J. F.: *Cancer* **33**, 1219 (1974).
- [24] Wong E., Giandomenico Ch. M.: *Chem. Rev.* **99**, 2415-2466 (1999).
- [25] Reedijk J.: *Chem. Commun.*, 801 (1996). (z clanku 24)
- [26] Caini A., Kelter G., Gabbiani Ch., Cinellu M. A., Minghetti G., Fregona D., Fiebig H. H., Messori L.: *J. Biol. Inorg. Chem.* **14**, 1139-1149 (2009).
- [27] Groessl M., Tsybin Y. O., Hartinger Ch. G., Keppler B. K., Dyson P.J.: *J. Biol. Inorg. Chem.* **15**, 677-688 (2010).
- [28] Garoufis A., Hadjikakou S. K., Hadjiliadis N.: *Coordin. Chem. Rev.* **253**, 1384-1397 (2009).
- [29] Hartinger Ch. G., Michael A. Jakupec M. A., Zorbas-Seifried s., Groessl M., Egger A., Berger W., Zorbas H., Dyson P. J., Keppler B. K.: *Chemistry & Biodiversity* **5**, 2140-2155 (2008).
- [30] Depenbrock H., Schmelcher S., Peter R., Keppler B. K., Weirich B., Block T, Rastetter J., Hanauske A. R.: *Eur. J. Cancer* **33**,2404-2410 (1997).
- [31] Groessl M., Reisner E., Hartinger Ch. G., Eichinger R., Semenova O., Timerbaev A. R., Jakupec M. A., Arion V. B., Keppler B. K.: *J. Med. Chem.* **50**, 2185-2193 (2007).
- [32] <http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/gemcitabin-v-lecbe-nemalobuncneho-ca-plic-131152> (16-3-2012)
- [33] Příbalová informace, CISPLATIN HOSPIRA 0,5 mg/ml infuzní roztok, TEVA Pharmaceuticals CZ
- [34] <http://www.chemocare.com/bio/paclitaxel.asp> (16-3-2012)
- [35] <http://cancerres.aacrjournals.org/content/59/6/1219.abstract> (16-3-2012)
- [36] <http://resources.metapress.com/pdf-preview.axd?code=l0433w345j320jv2&size=largest> (17-3-2012)
- [37] Antonarakis E.S., Emadi A.: *Cancer Chemother Pharmacol* **66**, 1–9 (2010).
- [38] Hannon M. J.: *Pure and Appl. Chem.* **79**, 2243–2261 (2007).
- [39] Holman B.L., Jones A.G., Lister-James J., Davison A., Abrams M.J., Kirshenbaum J.M., Tumeh S.S., English R.J.: *J. Nucl. Med.* **25**, 1350-1355 (1984).

- [40] Mastrostamatis S. G., Papadopoulos M. S., Pirmettis I. C., Paschali E., Varvarigou A. D., Stassinopoulou Ch. I., Raptopoulou C. P., Terzis A., Chiotellis E.: *J. Med. Chem.* **37**, 3212-3218 (1994).
- [41] Thompson K. T., McNeill J. H., Orvig Ch.: *Chem. Rev.* **99**, 2561-2571 (1999).
- [42] Gatjens J., Meier B., Kiss T., Nagy E. M., Buglyó P., H., Kawabe K., Rehder D.: *Chem. Eur. J.* **9**, 4924 – 4935 (2003).
- [43] Srivastava A. K., Mehdi M. Z.: *Diabetic Med.* **22**, 2–13 (2004).
- [44] Biot Ch., Glorian G., Maciejewski L. A.: Brocard J. S.: *J. Med. Chem.* **40**, 3715-3718 (1997).
- [45] <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/meds/a682318.html> (21-3-2012)
- [46] Dive D., Biot Ch.: *Chem. Med. Chem.* **3**, 383 – 391 (2008).
- [47] Barciszewski J., Massino F., Clark B. F. C.: *Int. J. Biol. Macromol.* **40**, 182–192 (2007).
- [48] <http://www.drugs.com/cdi/mannitol.html> (28-3-2012)
- [49] Trávníček Z., Matiková-Mařarová M., Novotná R., Vančo J., Štěpánková K., Suchý P.: *J. Inorg. Biochem.* **105**, 937–948 (2011).
- [50] Iskandrian A. E., Garcia E. V.: *Nuclear Cardiac Imaging*. 4. edition, Oxford University Press, 2008.
- [51] K. Vokolka, M. Tkadlecová, K. Záruba: *Příklady z analytické chemie pro bakaláře*. 1. vyd., VŠCHT, Praha 2006. ISBN: 80-7080-610-9
- [52] K. Nakamoto: *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Part B: Applications in Coordination, Organometallic and Bioinorganic Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd., New York, England, 1991.
- [53] Lüllmann H., Mohr K., Wehling M.: *Farmakologie a toxikologie*, 1. část, Garda Publishing, 2004. ISBN: 80-247-0836-1