

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie

Studium stability *cis*-[Pt(NH₃)₂(α -pikolin)] komplexu

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Natálie Macháňová
Studijní obor:	Chemie
Typ studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
Termín odevzdání práce:	4. 5. 2018

Olomouc 2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

Natálie Macháňová

Poděkování:

Chtěla bych zde upřímně poděkovat doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za odborné vedení této bakalářské práce a kolektivu katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, jmenovitě RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení HPLC a ESI hmotnostní spektrometrie, Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za provedení NMR spektroskopie a paní Pavle Richterové za provedení elementární analýzy. Dále chci poděkovat prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D., vedoucímu katedry anorganické chemie, za možnost vypracovat předloženou práci na půdě uvedené katedry. V neposlední řadě bych ráda poděkovala prof. RNDr. Karlu Lemrovi, Ph.D., vedoucímu katedry analytické chemie, za umožnění vypracování této bakalářské práce na katedře anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Natálie Macháňová

Název práce: Studium stability *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)] komplexu

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Palackého v Olomouci

Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2018

Anotace:

Pikoplatina, *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(α -pikolin)], je dlouhodobě klinicky studovaným komplexem platiny vykazujícím výraznou protinádorovou aktivitu vůči různým typům lidských nádorových buněk; α -pikolin = 2-methylpyridin. Dijodo komplex *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)], představující syntetický prekurzor při přípravě *pikoplatiny*, však doposud nebyl biologicky charakterizován, přičemž jeho výrazná biologická perspektiva vychází jak z aktivity *pikoplatiny* tak ze zjištění publikovaných v posledních letech pro mnoho jiných, vysoce cytotoxických diiodoplatnatých komplexů. Studiu biologické aktivity obvykle předchází detailní studium stability a chování sloučenin v roztoku. U komplexu *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)] přineslo v této práci provedené studium stability a chování v roztoku některá neočekávaná zjištění, které komplex *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)] eliminují z následného testování biologické aktivity.

Klíčová slova: pikoplatina; stabilita; NMR; HPLC; elektronová spektroskopie

Počet stran: 38

Jazyk: český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Natálie Macháňová

Title: Stability studies of *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -picoline)] complex

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Czech Republic

Supervisor: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.

The year of presentation: 2018

Annotation:

Picoplatin, *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(α -picoline)] complex, is clinically studied platinum-based complex exhibiting considerable anticancer activity against various human cancer types; α -picoline (2-methylpyridine). However, diiodido complex *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -picoline)], representing the synthetic precursor of *picoplatin*, has not been studied for its anticancer activity yet, although its biological perspective could be anticipated based on activity of *picoplatin* as well as from recently reported results indicating high cytotoxicity for many other diiodidoplatin(II) complexes. Generally said, bioanalysis of new compounds is usually performed after detail studies of stability and solution behaviour. In the case of complex *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -picoline)], the stability and solution behaviour studies, as reported in this thesis, showed several results, which prevent subsequent biological activity studies of this complex.

Keywords: picoplatin; stability studies; NMR; HPLC; UV-Vis spectroscopy

Number of pages: 38

Language: Czech

OBSAH

1	ÚVOD	- 7 -
2	TEORETICKÁ ČÁST	- 8 -
2.1	Platina.....	- 9 -
2.2	Cisplatina.....	- 9 -
2.2.1	Mechanismus účinku	- 10 -
2.3	Další protinádorová léčiva na bázi platiny.....	- 12 -
2.4	Pikoplatina.....	- 14 -
2.5	Protinádorově aktivní diiodoplatnaté komplexy	- 16 -
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	- 22 -
3.1	Použité chemikálie a přístroje	- 22 -
3.2	Syntéza	- 22 -
3.3	Studium roztokové stability připravených komplexů	- 25 -
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	- 27 -
5	ZÁVĚR	- 35 -
6	POUŽITÁ LITERATURA	- 36 -

1 ÚVOD

Rakovina je jednou z nejzávažnějších chorob, která patří díky svým následkům do skupiny nejčastějších příčin úmrtí člověka. Je to nádorové onemocnění, které je doprovázeno negativními vedlejšími účinky. Rakovina se projevuje nepříjemnými příznaky a končí ne vždy účinnou léčbou.

Nejvíce používaná protinádorová léčiva jsou na bázi platiny. Prvním a nejznámějším protinádorovým léčivem je *cisplatina*, $cis-[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, jejíž užívání v onkologické praxi je doprovázeno několika negativními vedlejšími účinky. To vedlo k vývoji dalších protinádorových léčiv na bázi platiny. Hlavním důvodem byla snaha snížení vedlejších účinků a překonání rezistence (vrozené nebo získané) některých typů rakovinných buněk vůči terapeutickému účinku *cisplatiny*. Mezi taková léčiva se řadí *oxaliplatina* nebo *karboplatina*, které jsou schváleny mezinárodně. Některé typy léčiv jsou povoleny pouze v některých oblastech světa např. *lobaplatina*. Některá léčiva na bázi platiny pak jsou ve fázi klinického testování např. *pikoplatina* [1].

V oblasti farmakologicky perspektivních komplexů na bázi platiny je v posledních letech věnována velká pozornost dijdoplatnatým sloučeninám. V minulosti (až do konce 90. let 20. století) platil v bioanorganické chemii předpoklad, že jodo komplexy platiny nevykazují protinádorovou aktivitu a nejsou pro studium cytotoxicity vhodným strukturním typem. Nicméně, v posledním desetiletí byly popsány mnohé dijdoplatnaté komplexy, které vykazují větší protinádorovou aktivitu než samotná *cisplatina* nebo jiná protinádorová léčiva na bázi platiny. Za všechny zde lze uvést vysoce cytotoxický jodo derivát *cisplatiny* o složení $cis-[Pt(NH_3)_2I_2]$, nebo v Olomouci studované dijdoplatnaté komplexy s deriváty 7-azaindolu [2].

Hlavním cílem předložené bakalářské práce bylo připravit a analytickými metodami (NMR spektroskopie, HPLC chromatografie, elektronová UV-VIS spektroskopie) charakterizovat a sledovat stabilitu jodo derivátu *pikoplatiny* $cis-[Pt(NH_3)_2(\alpha\text{-pikolin})]$ a, pro srovnání, samotné *pikoplatiny*, $cis-[Pt(NH_3)Cl_2(\alpha\text{-pikolin})]$. Výsledky pak měly podat relevantní informace o tom, jestli je komplex $cis-[Pt(NH_3)_2(\alpha\text{-pikolin})]$ stabilní v použitých vodě obsahujících rozpouštědlech, a tedy vhodný pro testování *in vitro* cytotoxicity na vybraných lidských nádorových buněčných liniích.

Cílem této práce bylo:

1. Vypracování literární rešerše zaměřené na *pikoplatinu*, její deriváty a protinádorovou aktivitu těchto sloučenin.
2. Příprava jodo-derivátu *pikoplatingy* o složení $cis-[Pt(NH_3)_2I_2(\alpha\text{-pikolin})]$.
3. Ve spolupráci s vedoucím práce a dalšími zaměstnanci katedry anorganické chemie PřF UP v Olomouci provést studium stability $cis-[Pt(NH_3)_2I_2(\alpha\text{-pikolin})]$ komplexu v různých rozpouštědlech.
4. Získané výsledky ve spolupráci s vedoucím práce interpretovat.
5. Výsledky zpracujte formou bakalářské práce o rozsahu 30 – 40 stran a odevzdejte do dubna 2018.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Platina

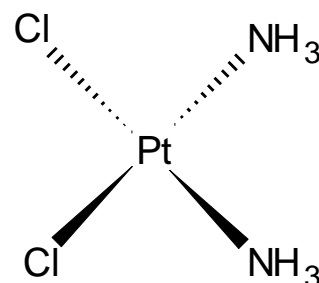
Platinové kovy jsou prvky druhé a třetí triády VIII.B. skupiny periodického systému, které se dále rozdělují na lehké (Ru, Rh, Pd) a těžké platinové kovy (Os, Ir, Pt). Prvky VIII.B. skupiny se vyznačují kovovými vlastnostmi – vodivost, kujnost a tažnost a také vysokými teplotami varu a tání.

Platina patří mezi prvky podskupiny niklu (10. skupina podle mezinárodního číslování skupin). Valenční sféra atomů platiny má elektronovou konfiguraci $[54\text{Xe}]4f^{14}5d^96s^1$. Platina je stříbřitě bílý kov, který je chemicky odolný, těžký a drahý. Je zástupcem ušlechtilých kovů a v přírodě se vyskytuje obvykle ryzí společně s ostatními platinovými kovy. Známa je i svou odolností ke kyselinám - rozpouští se pouze v lučavce královské. Patří mezi typické přechodné kovy s plošně centrovanou krychlovou mřížkou [1,2].

Ve sloučeninách se nejčastěji vyskytuje platina v oxidačním čísle +II nebo +IV. Nejnižším oxidačním stavem platiny je 0, který je stabilizován π -akceptorovými ligandy (např. fosfany, arsany). Oxidační stav +VI se vyskytuje např. u sloučeniny PtF_6 , která je jedním z nejsilnějších oxidačních činidel. Platina tvoří tři jednoduché oxidy - PtO , Pt_2O_3 a PtO_2 . Nejstabilnějším oxidem je oxid platičitý PtO_2 . K nejznámějším halogenidům platiny patří chlorid platnatý PtCl_2 a chlorid platičitý PtCl_4 . Platina je charakteristická tvorbou komplexních sloučenin. Nejčastěji se v komplexech vyskytuje v oxidačním stavu +II, který je charakteristický pro čtvercové komplexy s koordinačním číslem čtyři, jako třeba u komplexního aniontu $[\text{PtCl}_4]^{2-}$. Oxidační stav +VI je charakteristický tvorbou oktaedrických sloučenin s koordinačním číslem šest. Příkladem je částice $[\text{PtCl}_6]^{2-}$ [1,3].

2.2 Cisplatina

Cisplatina, chemicky *cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex ($\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$; obrázek 1) je široce používaným protinádorovým léčivem. Patří mezi cytostatika na bázi platiny, která v buňkách reagují s nositelkou genetické informace DNA. *Cisplatina* má čtvercovou geometrii a byla syntetizována už v roce 1844 - v té době se nazývala



Obrázek 1: Strukturní vzorec *cis*platiny

Peyronův chlorid (nebo též Peyronova sůl). Centrálním atomem *cisplatiny* je platina, na kterou jsou navázány dvě molekuly amoniaku a dva chloro ligandy, které mohou být ve fyziologickém prostředí snadno nahrazeny jinými ligandy (např. různými biomolekulami vč. výše zmíněné DNA) [4,5].

V roce 1965 popsal protinádorovou aktivitu *cisplatiny* americký fyzikální chemik Prof. Barnett Rosenberg. Jeho tým provedl řadu experimentů zaměřených na měření vlivu elektrických proudů na růstu bakteriálních buněk. Při studiu zpozoroval vliv elektrického proudu na *Escherichia coli*, a to pouze na dělení buněk nikoliv vůči jiným růstovým procesům. Tento účinek přiměl Rosenbergovou skupinu k testování *cisplatiny* proti nádorům u myši. Na základě experimentů bylo zjištěno, že *cisplatina* je velice účinná při léčbě nádorů u myši. Proto v roce 1971 vstoupila do klinických studií. Lidské studie přinesly pozitivní výsledky, které ovšem byly doprovázeny negativními vedlejšími účinky - snížení funkce ledvin, poškození nervového systému, bolesti kloubů, zvonění v uších a nevolnost. Po zmírnění nežádoucích účinků byla *cisplatina* v roce 1978 schválena pro onkologické použití Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv. *Cisplatina* se používá nejčastěji k léčbě rakoviny močového měchýře, varlat, vaječnicků, žaludku a plic. Zajímavé jistě je i to, že komplex *trans*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], tedy *trans*-izomer *cisplatiny*, je protinádorově neúčinný, což ale neplatí obecně pro všechny doposud studované *trans*-izomery platnatých komplexů [8–10].

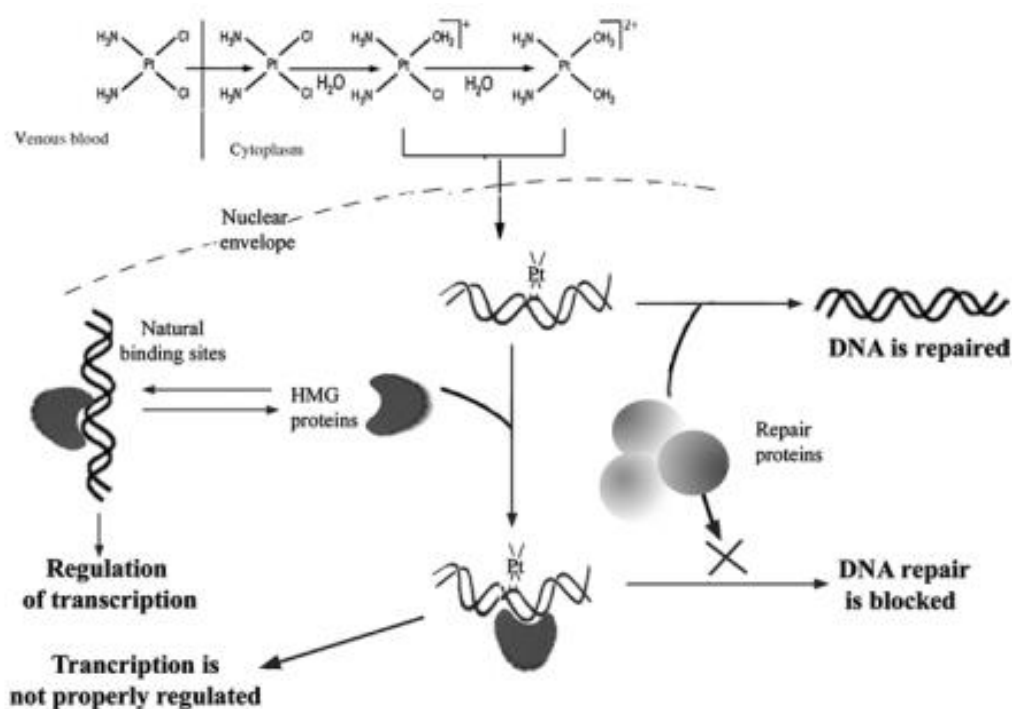
2.2.1 Mechanismus účinku

Při studiu mechanismu chemoterapeutik je v prvním kroku určení působení jejich cílového místa v buňkách. Cílové místo je místo v buňce, které je pozměněno vlivem působení léčiva. Hlavním cílovým místem protinádorového účinku *cisplatiny* je molekula deoxyribonukleové kyseliny DNA, která se nachází v buněčném jádře. *Cisplatina* s DNA vytváří kovalentní adukty, nejčastěji se dvěma sousedními guaniny (resp. jejich N7 atomy) [7,9].

Cisplatina je do těla pacienta podávána zpravidla intravenózně. Po podání v krevním oběhu pacienta *cisplatina* narazí na relativně vysoké koncentrace chloridových iontů v krevní plazmě, která omezuje nahrazení chloridových ligandů (jak je zmíněno výše). Léčivo je tedy transportováno v neaktivní podobě. *Cisplatina* je transportována do nádorových buněk pasivní difúzí přes buněčnou membránu nebo je transportována aktivně pomocí měďného transportéru ze skupiny CTR1. Po vstupu *cisplatiny* do buňky dochází vlivem nízké koncentrace intracelulárních chloridů k substituci chloro ligandů za molekuly

vody, čímž vznikají pozitivně nabitě mono- a diaqua-komplexy. Tyto v porovnání s výchozí *cisplatinou* mnohonásobně reaktivnější částice se nukleofilně váží na cílovou molekulu DNA, příp. RNA, proteiny nebo menší biomolekuly. Při interakci s DNA se *cisplatina* naváže na atom N7 guaninu a z malé části na atom N7 adeninu, v obou případech pomocí koordinačně kovalentní vazby s volným elektronovým párem na atomu dusíku. Touto vazbou vznikají vnitřetězcové a meziřetězcové adukty *cisplatiny* a molekuly DNA. Tím dochází k narušení struktury DNA, které zabraňuje následné replikaci a transkripci, což vede k buněčné smrti (obrázek 2) [11–13].

Použití *cisplatiny* v klinické praxi omezují její vedlejší účinky, kterými jsou nefrotoxicita (snížení funkce ledvin), neurotoxicita (poškození nervového systému), ototoxicita (ztráta sluchu) aj. K dalším vedlejším účinkům patří například nevolnost nebo alergické reakce. Snižovat riziko nefrotoxicity *cisplatinou* lze podáváním nadměrného množství vody tzv. prehydratací před samotnou léčbou. *Cisplatina* jako jediné léčivo na bázi platiny nezpůsobuje výraznou alopecii (vypadávání vlasů) [9,11].



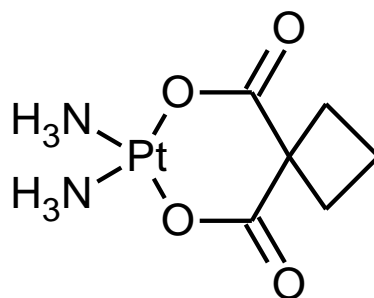
Obrázek 2: Molekulární mechanismus protinádorové aktivity *cisplatiny* (převzato z [9])

2.3 Další protinádorová léčiva na bázi platiny

Uběhlo více než 30 let od schválení *cisplatin*y a za tu dobu vstoupilo do klinických studií dalších 23 léčiv na bázi platiny. Pouze dvě léčiva (*oxaliplatina* a *karboplatina*) získaly globální schválení [13].

Karboplatina

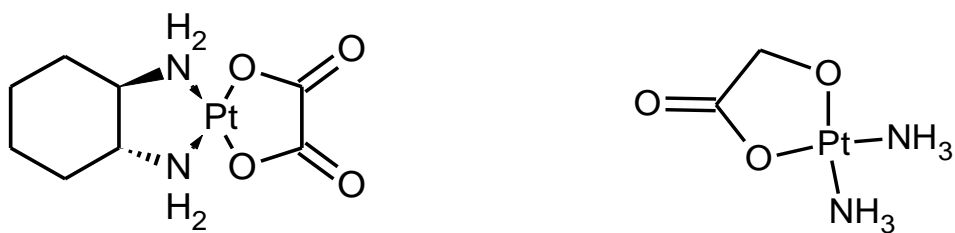
Karboplatina, diammin-(1,1'-cyklobutandikarboxylato)platnatý komplex (obrázek 3), je protinádorové léčivo na bázi platiny, které je schváleno mezinárodně. Bylo zjištěno, že *karboplatina* je sloučenina s nižší toxicitou než *cisplatin*a. Bidentátní 1,1-cyklobutandikarboxylato ligand je odcházející skupina *karboplatiny*, která je hydrolyticky stabilnější než chloro ligandy *cisplatin*y. Tento důsledek vede k pomalejší reakci v těle a je částečně zodpovědný za sníženou systémovou toxicitu *karboplatiny* v porovnání s *cisplatinou*. Vzhledem k nižší reaktivitě může být *karboplatina* podávána ve vyšších dávkách než *cisplatin*a. Mezi nežádoucí účinky *karboplatiny* patří leukopenie, neutropenie a trombocytopenie. *Karboplatina* tvoří z hlediska mechanismu účinku stejné DNA adukty jako *cisplatin*a. *Karboplatina* je přímým analogem *cisplatin*y, se kterou vykazuje tzv. křížovou resistenci, proto se klinicky využívá pro léčbu stejných typů rakoviny. V současné době je *karboplatina* více využívána na rakovinu varlat než *cisplatin*a [10,11].



Obrázek 3: Strukturální vzorec *karboplatiny*

Oxaliplatina

Dalším analogem *cisplatin*y je *oxaliplatina*, (1*R*,2*R*)-cyklohexan-1,2-diaminethandioatoplatnatý komplex (obrázek 4). Důležitým faktorem je, že *oxaliplatina* nemá žádnou křížovou resistenci s *cisplatinou*, což znamená, že lze *oxaliplatinu* používat k léčbě *cisplatinou* neléčitelných nádorů. Podávání *oxaliplatin*y jako jediného léku na bázi platiny není spojeno s nefrotoxicitou, ototoxicitou a myelosupresí. Toxicitou limitující dávkou *oxaliplatin*y je v tomto případě neurotoxicita. *Oxaliplatina* je podávána v kombinaci s 5-fluorouracilem a leukovorinem (kyselina folinová) na léčbu kolorektálního karcinomu. Při podání *oxaliplatin*y s irinotekanem a kapecitabinem se zvyšuje účinnost léčby rakoviny tlustého střeva. Nedávné klinické studie se pokusily rozšířit spektrum aktivity o léčbu metastazujícího adenokarcinomu žaludku a jícnu [7,10,11].



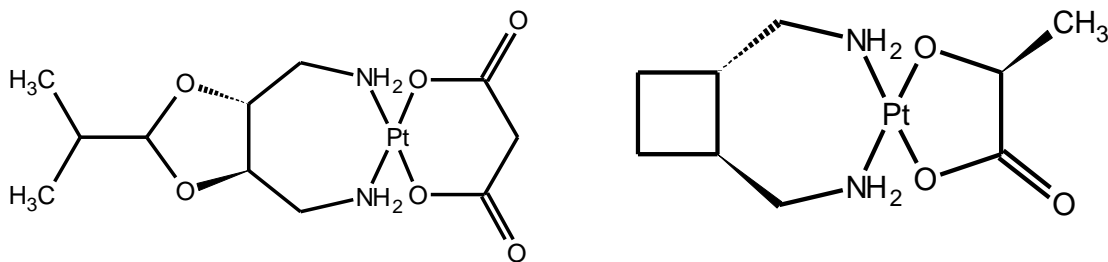
Obrázek 4: Strukturní vzorec *oxaliplatiny* (vlevo) a *nedaplatiny* (vpravo)

Nedaplatina

Nedaplatina, *cis*-diammin-glykolatoplatnatý komplex (obrázek 4), je ve vodě desetkrát rozpustnější než *cisplatin*. Klinické studie ukázaly, že *nedaplatina* má vyšší protirakovinnou aktivitu než *karboplatina* a porovnatelnou aktivitu s *cisplatinou*. *Nedaplatina* je registrována od roku 1995 pro použití při léčbě rakoviny v oblasti hlavy a krku, varlat, plic, jícnu, vaječníku a děložního čípku v Japonsku. Nedávné klinické studie ukázaly slibné výsledky, pokud se *nedaplatina* podává v kombinaci s docetaxelem při léčbě karcinomu ústní dutiny nebo s paklitaxelem při léčbě metastazujícího karcinomu jícnu. *Nedaplatina* výrazně snižuje vedlejší nefrotické účinky. Proto při léčbě pacientů s nádorovým onemocněním, kteří trpí poruchou funkce ledvin je *cisplatin* nahrazena *nedaplatinou* [7,11].

Heptaplatina

Dalším analogem *cisplatin* je *heptaplatina*, propandioato-[2-(1-methylethyl)-1,3-dioxolan-4,5-dimethanamin-*N,N'*]platnatý komplex (obrázek 5). *Heptaplatina* byla zařazena mezi klinické studie, protože její *in vitro* a *in vivo* cytotoxicita byla na různých buněčných liniích vyšší než u *cisplatin*. Klinické studie II. a III. fáze ukázaly, že *heptaplatina* v kombinaci s 5-fluorouracilem vykazuje podobné účinky jako *cisplatin*. Výhodou léčby *heptaplatinou* jsou mnohem nižší vedlejší účinky. V současné době je *heptaplatina* schválena v Jižní Koreji k léčbě rakoviny žaludku [13–15].



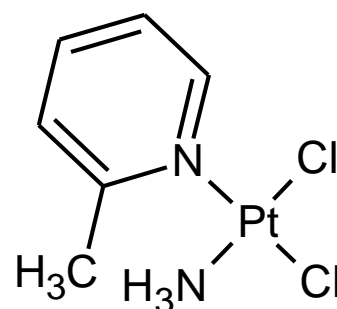
Obrázek 5: Strukturní vzorec *heptaplatiny* (vlevo) a *lobaplatiny* (vpravo)

Lobaplatina

Lobaplatina, 2-hydroxypropanoato-(1,2-cyklobutandimethanamin-*N,N'*)-platnatý komplex (obrázek 5), je v současnosti schválená ke klinickému využití v Číně. Je podávána jako diastereomerní směs *S,S'* a *R,R'* konfigurací nosného *N,N*-donorového ligandu. Při jejím užívání nebyla zjištěna alopecie, neurotoxicita ani ototoxicita, nicméně byly pozorovány například anemie, leukopenie, nevolnost a zvracení. *Lobaplatina* je v současnosti schválena pro léčbu chronické myeloidní leukémie a neoperovatelné metastatické rakoviny prsu. Nedávno byla *lobaplatina* testována v kombinaci s vinorelbinem k léčbě pozdní fáze nemalobuněčného karcinomu plic. Testování neprokázalo žádné významné zlepšení oproti kombinaci vinorelbínu s *cisplatinou*. V současné době probíhá III. fáze klinických studií, která je zaměřena na kombinaci *lobaplatiny* s 5-fluorouracilem a leukovorinem k léčbě metastazujícího karcinomu jícnu [11,14,15].

2.4 Pikoplatina

Pikoplatina je triviální název *cis*-ammin-dichloro-(2-methylpyridin)-platnatého komplexu (*cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)]; obrázek 6), který byl dříve známý pod zkratkou AMD473 nebo JM473; pic = 2-methylpyridin neboli α -pikolin. *Pikoplatina* je protinádorový komplex s profilem chemické a biologické aktivity, který se výrazně liší od *cisplatiny*. Jedná se o platnatý komplex, který se svou strukturou podobá *cisplatině* - dochází k náhradě pouze jedné molekuly amoniaku za 2-methylpyridin. Pyridinový kruh je téměř kolmý na rovinu centrálního atomu platiny, čímž methylová skupina způsobuje sterickou překážku. Vlivem sterického bránění platiny nedochází k útokům nukleofilu zejména sloučenin obsahující thiol (např. redukovaný glutathion), což je často používáno jako vysvětlení schopnosti *pikoplatiny* překonávat jak vrozenou tak i získanou rezistenci mnohých nádorových buněk vůči *cisplatině*. *Pikoplatina* byla podávána u více než 500 pacientů s nádorovým onemocněním v I. a II. fázi klinických studií, v němž prokázala účinek vůči širokému spektru nádorů. Důležité také je, že *pikoplatina* má potenciál být podávána v perorální formě [11,16].

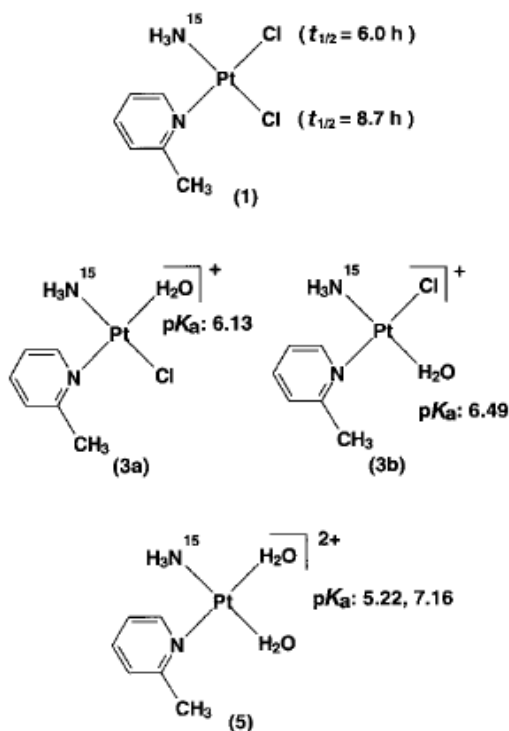


Obrázek 6: Strukturální vzorec *pikoplatiny*

Zavedením stericky objemného ligandu α -pikolinu v *pikoplatině* může vést, v porovnání s *cisplatinou*, k novým typům reakcí s DNA. Zajímavé také je, že na rozdíl od

neaktivního *trans*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] komplexu (viz výše) je komplex *trans*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)], tedy *trans*-izomer odvozený od *pikoplatingy*, výrazně cytotoxický v různých nádorových buňkách, a to mnohdy dokonce ve vyšší míře než *cisplatinu* [16,17].

Hydrolyza *pikoplatingy* probíhá přibližně čtyřikrát pomaleji než u *cisplatingy*. Hydrolyza *pikoplatingy* je, podobně jak je popsáno výše pro *cisplatinu*, důležitým krokem intracelulární aktivace a následné interakce s DNA. Hydrolyza se studovala pomocí ¹H/¹⁵N NMR spektroskopie (obrázek 7). Počáteční jediný pík byl pozorován při chemickém posunu 4,15/-66,5 ppm, který odpovídal výchozímu dichloro komplexu *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)] (*pikoplatinga*). Po 1 hodině přibyly další dva signály ($\delta = 4,40/-64,4$ ppm a $\delta = 4,32/-87,3$ ppm), které byly přiřazeny monoaqua komplexům [Pt(NH₃)(H₂O)Cl(pic)]⁺ s odlišnou vzájemnou pozicí pic a aqua ligandu (viz obrázek 7). Ze zjištěných hodnot p*K*_a lze předpokládat, že hydrolyza je rychlejší pro chloro ligand v *trans*-poloze vůči pic ligandu (p*K*_a = 6,13). Po 2,5 hodinách se objevil čtvrtý vrchol při $\delta = 4,41/-82,9$ ppm, který byl přiřazen diaqua komplexu [Pt(NH₃)(H₂O)₂(pic)]²⁺ (obrázek 7). Chloro ligand v *cis*-poloze vůči α -pikolinu hydrolyzuje přibližně 4-krát pomaleji než v *cisplatině*. Toto je vysvětlováno sterickou zábranou methylové skupiny pic ligandu, která brání ligandové výměně jak je popsána výše pro *cisplatinu*, čímž dochází k pomalejší hydrolyze. Tento fakt může jednak vést k nižší aktivitě *pikoplatingy* ve srovnání s *cisplatinou*, na druhé straně může přispívat k vyšší účinnosti proti liniím rezistentním vůči *cisplatině* [17,18].

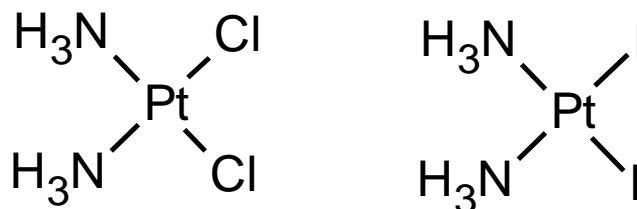


Obrázek 7: Hydrolyza *pikoplatingy* a hodnoty p*K*_a (převzato z [20])

2.5 Protinádorově aktivní dijodoplatnaté komplexy

Cisplatina byla nejvíce aktivním lékem pro léčbu rakoviny vaječníku za posledních 40 let. Vyskytují se však také nádory odolné vůči *cisplatině* s velmi špatnou prognózou. Proto došlo již od prvních let po objevu *cisplatiny* k navrhování inovativních sloučenin platiny, které mohou mít významné chemické a biologické vlastnosti odlišné od *cisplatiny*. Především se jedná o širší spektrum protinádorové aktivity a překonání odolnosti vůči *cisplatině*. Pozornost byla věnována i struktuře sloučenin platiny. Aktivní protinádorový platnatý komplex by měl mít čtvercovou geometrii a měl by obsahovat v *cis*-polohách dvě labilní odstupující skupiny a dva inertní aminové ligandy. Ve skutečnosti je hodně platinových komplexů s *trans*-geometrií, které byly vyvinuty a prokázaly slibné biologické účinky.

Vedle nejprostudovanějších chloro komplexů byly připraveny platnaté komplexy, kde chloro ligandy byly nahrazeny objemnějšími jodo ligandy. Dlouho se předpokládalo, že jodoplatnaté komplexy jsou protinádorově neaktivní. Vazba mezi platinou a jódem je ve vodném roztoku méně reaktivní ve srovnání s vazbou mezi platinou a chlorem. Navíc některé studie komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] (obrázek 8) uvádějí, že tento komplex je protinádorově neaktivní, což vedlo na dlouhou dobu k upozadění výzkumu platnatých jodo komplexů jako perspektivních cytotoxických sloučenin [19,20].



Obrázek 8: Strukturální vzorec *cisplatiny* (vlevo) a komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] (vpravo)

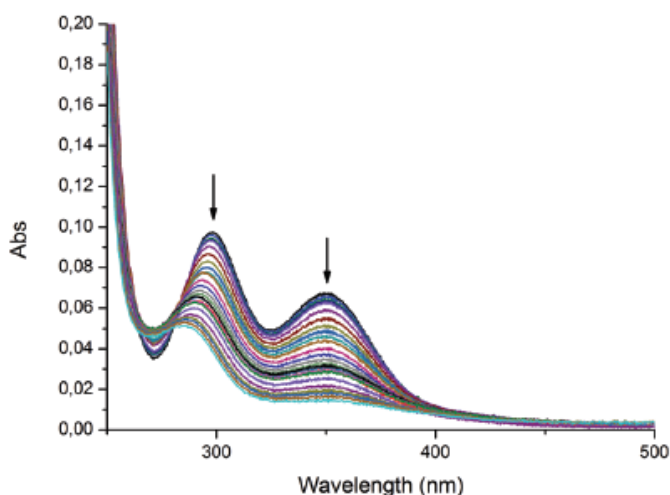
Teprve nedávno byla biologická perspektiva jodoplatnatých komplexů přehodnocena, protože mnoho jodoplatnatých komplexů (*trans*- i *cis*- konfigurovaných) nesoucích dva aminové ligandy mělo v některých případech vyšší cytotoxickou aktivitu než *cisplatina*. Ukázalo se, že už komplex *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] odvozený od *cisplatiny*, je biologicky zajímavá sloučenina, která je jednak vysoce cytotoxická vůči různým lidským nádorovým liniím (tabulka 1), ale také hydrolyzuje a reaguje s biomolekulami odlišným způsobem než *cisplatina*. Konkrétně bylo pozorováno, že u komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] dochází při interakci s různými biomolekulami k uvolnění jak jodo ligandu tak molekuly

amoniaku, což u *cisplatiny* pozorováno nebylo. Komplex *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] také pravděpodobně působí na nádorové buňky odlišným mechanismem účinku od *cisplatiny* [21–23].

Tabulka 1: *In vitro* cytotoxicita *cisplatiny* a komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] vůči lidským buněčným liniím karcinomů slinivky (PANC-1), vaječníku (IGROV-1), plic (A549) a tlustého střeva (HT29, HCT116-S a HCT116-R) (převzato z [22])

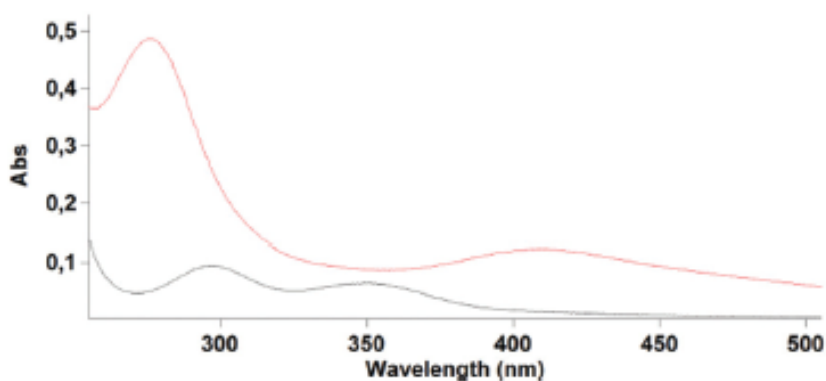
Cell line	Cisplatin	<i>cis</i> -PtI ₂ (NH ₃) ₂
PANC-1	2.48 ± 0.11	0.91 ± 0.10
IGROV-1	25.30 ± 0.40	7.36 ± 0.31
A549	5.77 ± 0.60	3.54 ± 0.49
HT29	16.39 ± 1.10	11.69 ± 1.40
HCT116-S	7.65 ± 0.63	13.42 ± 0.49
HCT116-R	21.96 ± 1.11	4.15 ± 0.23

Pomocí spektrofotometrické studie komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] rozpuštěného ve fyziologickém roztoku a měřeného při pH = 7,4 (fosfátový pufr) bylo zjištěno, že vykazuje dva intenzivní pásy s maximy při 290 a 350 nm (obrázek 9). Důležité spektrální změny se projevovaly postupným a pravidelným snižováním dvou hlavních signálů a vznikem nového pásu s nižší intenzitou kolem 280 nm. Pozorované spektrální změny odpovídají uvolňování dvou jodo ligandů a jejich nahrazení molekulami vody. Z toho vyplývá, že hydrolyza komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] je totožná s *cisplatinou*, když se liší pouze rychlostí hydrolyzy [24].



Obrázek 9: UV-VIS spektrum komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] rozpuštěného ve fosfátovém pufru (pH = 7.4) zaznamenaného v průběhu 72 hodin (převzato z [24])

Pro získání dalších informací aktivačních procesů byla provedena analýza v mírně kyselém prostředí. Předpokládalo se, že dojde k destabilizaci amoniakálních ligandů a uvolní se amoniak namísto jodo ligandů. Komplex *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] byl rozpuštěn v acetátovém pufru při pH = 4,5 (obrázek 10). Ze získaných UV-Vis spekter bylo zřejmé, že se od sebe výrazně liší oproti spektru při pH = 7,4. Zvláště je detekován nový intenzivní viditelný pás s vlnovou délkou 410 nm (po 72 hodinách stání). Tyto výsledky potvrdily, že v kyselém prostředí se v komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] uvolňují přednostně jeho NH₃ ligandy, což je v rozporu s *cisplatinou*. Je velmi pravděpodobné, že tyto rozdíly v reaktivitě můžou vést k odlišným způsobům interakce s biomolekulami [24].



Obrázek 10: UV-VIS spektrum komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂I₂] rozpuštěného v acetátovém pufru (pH = 4.5) zaznamenaného v čase 0 hodin (šedá čára) a 72 hodin (červená čára) (převzato z [24])

V posledních letech bylo publikováno velké množství cytotoxicky aktivních platnatých jodo komplexů. V následujícím textu budou uvedeny pouze vybrané příklady, nikoli tedy kvůli postihnoutí celé této rozsáhlé problematiky, ale pouze pro demonstraci biologické perspektivy těchto látek. Obecně řečeno, mezi výhody platnatých jodo komplexů patří jednak v mnoha případech vyšší cytotoxicita než u *cisplatiny* případně jiných léčiv na bázi platiny, dále je to jiný cytotoxický profil (tzn. aktivita vůči nádorovým buňkám rezistentním vůči *cisplatině*) a v neposlední řadě odlišný mechanismus účinku publikovaných platnatých jodo komplexů a *cisplatiny*.

Prvním příkladem jsou diiodoplatnaté komplexy obsahující alifatické aminy, které lze vzhledem k rozsáhlosti studií jak cytotoxicity, tak i mechanismu účinku, považovat za průlomové látky v rámci uvedené skupiny platnatých komplexů. Byla studována

cytotoxická aktivita série komplexů *cis*-[PtI₂(*nam*)₂] a *trans*-[PtI₂(*nam*)₂] (*nam* = methylamin, dimethylamin nebo isopropylamin (ipam)). Tyto komplexy vykazují výraznou protinádorovou aktivitu vůči nádorovým buňkám karcinomu vaječníku, prsou, plic nebo tlustého střeva, která je ve většině případů vyšší pro *trans*-izomery, které byly navíc aktivnější v porovnání s *cisplatinou* (tabulka 2). U těchto komplexů byla dále studována schopnost interakce s různými biomolekulami, jako je plazmidová DNA a protein cytochrom C. Nejúčinnější je komplex *trans*-[PtI₂(ipam)₂], který je asi třikrát účinnější než *cisplatin* v buněčných liniích rakoviny prsu nebo děložního čípku. Mechanismus působení těchto sloučenin (např. modifikace buněčného cyklu nebo interakce s biomolekulami) se výrazně liší od *cisplatin*y [21–23].

Tabulka 2: *In vitro* cytotoxicita *cisplatin*y a komplexů *cis/trans*-[PtI₂(*nam*)₂] vůči lidským buněčným liniím karcinomů prsu (HBL-100 a T-47D), děložního čípku (HeLa), plic (SW1573) a tlustého střeva (WiDr) (převzato z [22])

compound	TGI (μM)				
	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
1	20 ± 5.6	58 ± 16	29 ± 12	46 ± 9.3	48 ± 12
2	41 ± 7.2	27 ± 8.2	61 ± 6.0	>100	>100
3	45 ± 2.1	33 ± 4.2	>100	>100	>100
4	3.3 ± 0.6	5.8 ± 2.1	4.3 ± 1.5	8.5 ± 2.1	8.0 ± 2.5
5	4.5 ± 0.1	2.5 ± 0.7	8.3 ± 0.9	54 ± 3.2	64 ± 7.3
6	48 ± 6.3	33 ± 7.2	>100	>100	>100
<i>cisplatin</i>	14 ± 2.1	15 ± 6.1	12 ± 2.6	>100	>100

^aValues are given in mean ± standard deviation and are means of three to eight experiments.

Katedra anorganické chemie Univerzity Palackého v Olomouci se dlouhodobě zabývá vývojem nových protinádorových látek na bázi platiny a studiem jejich biologické aktivity. Byly připraveny dijodo platnaté komplexy obecného vzorce *cis*-[PtI₂(Ln)₂], kde Ln znamená *O*-substituované deriváty 9-deazahypoxanthinu, a to konkrétně 6-ethoxy-9-deazapurin (L1), 6-isopropoxy-9-deazapurin (L2), 6-tetrahydrofuran-2-ylmethoxy-9-deazapurin (L3), 6-benzyloxy-9-deazapurin (L4) a 6-fenethoxy-9-deazapurin (L5), které byly nedávno uvedeny jako ligandy vhodné k přípravě biologicky aktivních koordinačních sloučenin. Předložené sloučeniny byly charakterizovány spektrálními metody, testovány na jejich *in vitro* cytotoxicitu (tabulka 3) proti panelu deseti lidských rakovinných buněčných linií (např. karcinom plic, děložního hrdla, vaječníku a prostaty). Byla vyhodnocena *in vitro* cytotoxicita komplexů s cílem objasnit jejich potenciál jako protirakovinných činidel.

Pro srovnávací účely byla testována i cytotoxicita *cisplatin*y. Bylo zjištěno, že všechny připravené komplexy jsou účinné v širokém spektru nádorových buněčných linií, kde ve většině případů vykazují vyšší aktivitu než samotná *cisplatin*a [25].

Tabulka 3: *In vitro* cytotoxicita připravených komplexů 1-5 a *cisplatin*y vůči lidským buněčným liniím karcinomu prsu (MCF7), osteosarkomu (HOS), karcinomu plic (A549), děložního čípku (HeLa), maligního melanomu (G-361), karcinomu prostaty (22Rv1, PC-3), hepatocelulárního karcinomu (HepG2), karcinomu vaječníku (A2780) a karcinomu vaječníku rezistentnímu vůči *cisplatin*ě (A2780R) (převzato z [25])

Complex	IC ₅₀ (μM)									
	MCF7	HOS	A549	HeLa	G-361	PC-3	22Rv1	HepG2	A2780	A2780R
1	12.1 ± 0.2	15.9 ± 1.0	24.0 ± 2.4	7.9 ± 1.3*	3.7 ± 0.2*	15.5 ± 1.6	15.0 ± 1.0*	10.1 ± 1.0	2.2 ± 1.2*	15.2 ± 1.3
2	2.7 ± 0.9	6.7 ± 0.1	11.6 ± 0.9	4.0 ± 0.4*	3.1 ± 0.2*	8.3 ± 1.5	8.3 ± 0.1*	4.2 ± 0.5	0.8 ± 0.2*	1.7 ± 1.1*
3	15.0 ± 3.3	17.2 ± 0.9	17.6 ± 0.6	14.2 ± 0.7*	4.2 ± 0.2*	21.9 ± 2.1	14.6 ± 1.1	15.1 ± 2.2	1.8 ± 0.5*	20.7 ± 8.8
4	2.5 ± 1.5	5.8 ± 0.6	7.1 ± 0.1	3.3 ± 0.3*	2.7 ± 0.6*	8.4 ± 1.1	6.0 ± 0.5*	3.7 ± 0.2	0.6 ± 0.3*	0.7 ± 0.5*
5	2.9 ± 0.8	4.8 ± 0.2	7.5 ± 0.8	3.2 ± 0.6*	1.9 ± 0.9*	5.1 ± 1.1	5.3 ± 0.7*	2.7 ± 0.1	0.5 ± 0.1*	0.7 ± 0.6*
<i>Cisplatin</i>	> 50	> 50	> 50	27.0 ± 5.3	7.5 ± 0.1	> 50	18.2 ± 0.8	> 50	10.0 ± 1.6	21.0 ± 2.1

Byla také studována série platnatých dijdodových komplexů obsahujících 7-azaindolové deriváty mající obecný vzorec *cis*-[PtI₂(naza)₂]. U těchto komplexů byla studována *in vitro* protinádorová aktivita vůči devíti lidským nádorovým buněčným liniím. Týkalo se to nádorových buněčných linií děložního čípku HeLa, vaječníku A2780, plic A549, maligního melanomu G361, adenokarcinomu prsu MCF7, prostaty 22Rv1, osteosarkomu HOE, karcinomu tlustého střeva Caco-2 a rezistentní vůči *cisplatin*ě nádorové buněčné linie karcinomů vaječníku A2780R (tabulka 4).

Tabulka 4: *In vitro* cytotoxicita připravených komplexů a *cisplatin*y vůči lidským buněčným liniím osteosarkomu (HOS), maligního melanomu (G-361), karcinomu prsu (MCF7), karcinomu plic (A549), karcinomu děložního čípku (HeLa), karcinomu prostaty (22Rv1), karcinomu vaječníku (A2780) a karcinomu vaječníku rezistentnímu vůči *cisplatin*ě (A2780R) (převzato z [25])

	HOS	G361	MCF7	A549	HeLa	22Rv1	A2780	A2780R	Caco-2	Hep
1	0.8±0.4***	2.9±0.6***	1.7±0.8***	12.3±1.1	7.0±0.6*	4.6±1.2***	3.5±0.7***	3.3±0.3	3.3±0.2	3.9
2	1.3±0.8***	2.3±1.0**	1.5±0.4***	6.4±1.4	4.8±0.4*	4.8±2.4***	3.7±0.4***	3.3±0.5	3.1±0.2	5.9
3	2.2±1.2***	3.1±0.2**	1.9±0.5***	8.8±2.2	4.7±0.8*	4.2±1.2***	2.8±0.3***	3.2±0.2	3.0±0.1	3.9
4	2.8±1.0***	1.6±0.7***	1.8±0.3***	9.8±1.3	6.2±0.7*	4.5±1.6***	2.3±1.1***	2.6±0.8	3.3±0.1	11.8
5	0.5±0.2***	3.2±0.2***	1.5±0.5***	4.7±0.3	3.8±0.3*	4.2±0.1***	3.1±0.1***	3.4±0.2	2.4±0.7	4.2
6	0.4±0.1***	3.2±0.2***	1.0±0.4***	4.3±0.9	3.8±0.2*	3.8±0.1***	3.2±0.2***	3.3±0.4	0.4±0.3	4.1
7	1.4±1.1***	3.4±0.3***	1.6±0.8***	7.3±1.6	5.4±1.2*	5.1±0.8***	3.4±0.2***	3.5±0.5	3.6±0.2	3.8
8	0.7±0.2***	1.7±1.3**	2.1±1.0***	3.5±0.2	3.8±0.1*	3.5±0.2***	1.7±0.3***	1.0±0.4	0.4±0.2	9.5
<i>Cisplatin</i>	18.9±1.7	5.3±0.7	17.9±3.5	>50.0	30.4±11.0	26.9±3.5	28.1±0.9	>50.0	>90.0	>75.0

Komplexy s deriváty 7-azaindolu vykazovaly vysoké *in vitro* cytotoxické účinky proti devíti lidským nádorovým buněčným liniím. Pro srovnávací účely byla pro všechny komplexy použita *cisplatina*, pouze u buněčné linie Caco-2 byla použita *oxaliplatina*. Všechny komplexy vykazovaly značně vyšší aktivitu než obě srovnávací léčiva (*cisplatina* a *oxaliplatina*) [26].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie a přístroje

Chemikálie:

Použité chemikálie a rozpouštědla, jmenovitě *cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex (*cisplatin*, *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]; ≥99,9%), kyselina chlorovodíková (HCl; 35% vodný roztok, p.a.), methanol (CH₃OH; ≥99,5%), hydroxid draselný (KOH; ≥99%), diethylether (Et₂O; ≥99%), jodid draselný (KI; ≥99%), 2-methylpyridin (α -pikolin, pic; ≥98%), dusičnan stříbrný (AgNO₃; ≥99%), chlorid draselný (KCl; ≥99%), ethanol (EtOH; ≥96%), dimethylformamid-*d*₇ (DMF-*d*₇; ≥99,5%), deuterovaná voda (D₂O; ≥99,9%), acetonitril (p.a.), acetonitril (pro HPLC) a voda (pro HPLC), byly zakoupeny od Sigma-Aldrich, Litolab, Lach-Ner a Fischer Scientific.

Přístroje:

- elementární analýza - elementární analyzátor Flash 2000 CHNS (Thermo Scientific)
- NMR spektroskopie - spektrometr JEOL JNM-ECA600II při teplotě 300 K (kalibrace spekter vůči residuálnímu *-CHO* signálu dimethylformamidu (8,03 ppm))
- HPLC/ESI-MS experimenty byly provedeny na přístroji UHPLC-MS (Dionex/Thermo Fisher Scientific) za použití chromatografické kolony ReproSil-Pur Basic C18 (5 μ m velikost částic, 200 \times 4,6 mm); detekční vlnová délka byla 254 nm; hmotnostní spektra za použití ionizace elektrosprejem (ESI) byla zaznamenána v pozitivním ionizačním módu (ESI+) na přístroji LCQ Fleet (Thermo Scientific)
- elektronová (UV-Vis) spektroskopie - elektronová absorpční spektra byla zaznamenána elektronovým spektrometrem Lambda 40 (Perkin-Elmer) v rozsahu vlnových délek 250–1000 nm

3.2 Syntéza

Syntéza komplexu K[Pt(NH₃)Cl₃]

Do varné baňky bylo vloženo 200 mg *cisplatin*y (*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], M = 300,04 g·mol⁻¹, n = 0,67 mmol) a ta byla rozpuštěna v 9 ml roztoku H₂O/HCl v poměru 2 : 1 (v/v). Po 24 hodinách míchání při 110 °C roztok změnil barvu ze žluté na oranžovou. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla odfiltrována nezreagovaná *cisplatin*a, která se vyloučila během ochlazení. Následně byl filtrát vložen na rotační vakuovou odparku, kde byl odpařen do sucha. Po odpaření ve varné baňce zůstala červená látka, která byla rozpuštěna v 10 ml methanolu a zfiltrována. Filtrát byl opět vložen na rotační vakuovou

odparku a odpařen do sucha. Tento proces se opakoval třikrát. Při posledním přečištění byla látka, $\text{NH}_4[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_3]$, opět rozpuštěna v 5 ml methanolu pomocí ultrazvuku a zchlazena na teplotu $0\text{ }^\circ\text{C}$. Za intenzivního míchání bylo do připraveného roztoku přidáno 86 mg hydroxidu draselného KOH ($M = 56,11\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $n = 1,53\text{ mmol}$). Intenzivním mícháním se za dobu 10 minut vytvořila žlutá sraženina, $\text{K}[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_3]$, která byla odfiltrována, promytá methanolem a diethyletherem. Poté byl produkt vysušen v exikátoru za sníženého tlaku. Výtěžek reakce byl 37 %.

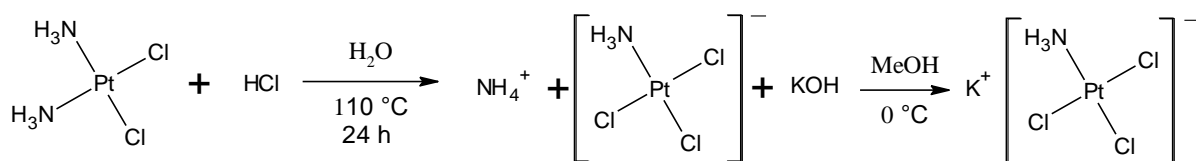


Schéma 1: Schéma přípravy komplexu $\text{K}[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_3]$

$\text{K}[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_3]$: Vypočteno pro $\text{H}_3\text{NCl}_3\text{KPt}$: H, 0,85; N, 3,92 %. Naměřeno: H, 0,78; N, 3,96 %.

Syntéza komplexu *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}_2(\text{pic})]$

Působením ultrazvuku bylo rozpuštěno 50 mg $\text{K}[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_3]$ ($M = 357,57\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $n = 0,14\text{ mmol}$) v minimálním objemu destilované vody (2 ml). Za stálého míchání byl do roztoku v molárním poměru 1 : 3,1 přidán jodid draselný ($M = 166\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $n = 0,43\text{ mmol}$, $m = 72\text{ mg}$). Tato reakce probíhala pod alobalem (za tmy) po dobu 10 minut za laboratorní teploty, kdy došlo ke změně barvy produktu ze žluté na tmavě hnědou. Do takto připraveného roztoku $\text{K}[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}_3]$ se přidalo 0,9 molárního ekvivalentu α -pikolinu ($M = 93,16\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $n = 0,13\text{ mmol}$, $m = 12\text{ mg}$, $V = 13\text{ }\mu\text{l}$). Za dobu 30 minut při laboratorní teplotě a intenzivním míchání vznikla světle hnědá sraženina komplexu *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}_2(\text{pic})]$, která byla odfiltrována a promytá vodou. Následně byl produkt vysušen v exikátoru za sníženého tlaku. Výtěžek reakce byl 83 %.

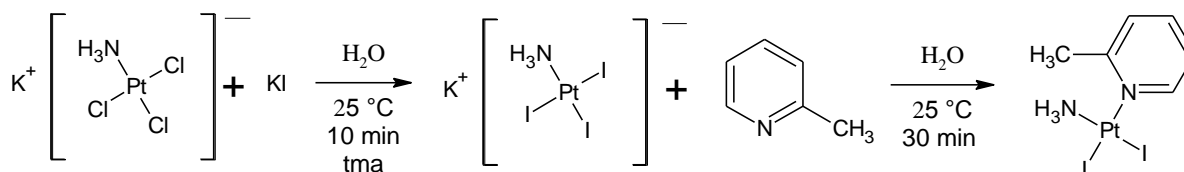


Schéma 2: Příprava komplexu *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}_2(\text{pic})]$; pic = 2-methylpyridin

***cis*-[Pt(NH₃)I₂(pic)]:** Vypočteno: C, 12,89; H, 1,80; N, 5,01 %. Naměřeno: C, 12,87; H, 1,44; N, 5,43 %.

Syntéza komplexu *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)] (*pikoplatina*)

Syntéza komplexu *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)] probíhala v minimálním objemu methanolu, ve kterém bylo rozpuštěno pomocí ultrazvuku 90 mg komplexu *cis*-[Pt(NH₃)I₂(pic)] ($M = 559,04 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $n = 0,16 \text{ mmol}$). Do roztoku byl přidán v molárním poměru 1 : 2 AgNO₃ ($M = 169,87 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $n = 0,32 \text{ mmol}$, $m = 55 \text{ mg}$). Reakční směs byla míchána ve tmě pod alobalem po dobu 24 hodin za laboratorní teploty. Vzniklá sraženina AgI byla odfiltrována. K filtrátu byl přidán v molárním poměru 1 : 3,5 KCl ($M = 74,55 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, $n = 0,56 \text{ mmol}$, $m = 42 \text{ mg}$). Intenzivním mícháním po dobu 3 hodin za laboratorní teploty vznikla světle žlutá sraženina komplexu *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)] (*pikoplatina*). Produkt byl odfiltrován, promyt vodou, ethanolem a diethyletherem a vysušen v exikátoru za sníženého tlaku. Výtěžek reakce byl 38 %.

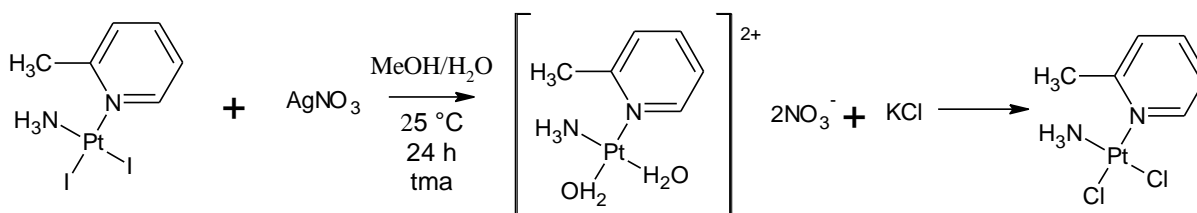


Schéma 3: Příprava komplexu o složení *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)] (*pikoplatina*; pic = 2-methylpyridin)

***cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)]:** Vypočteno: C, 19,16; H, 2,68; N, 7,45 %. Naměřeno: C, 18,93; H, 2,42; N, 7,22 %.

Syntéza komplexu *trans*-[Pt(NH₃)I₂(pic)]

Syntéza komplexu *trans*-[Pt(NH₃)I₂(pic)] probíhala v objemu 600 μl dimethylformamidu-*d*₇, ve kterém bylo rozpuštěno 0,67 mg komplexu *cis*-[Pt(NH₃)I₂(pic)] ($M = 559,04 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Roztok byl v mikrozkuhavce po dobu 24 hodin zahříván v termomixéru na teplotu 80 °C.

Syntéza *cis*-[Pt(NH₃)(H₂O)(OH)(pic)]⁺

Komplex *cis*-[Pt(NH₃)(H₂O)(OH)(pic)]⁺ byl připraven rozpuštěním 0,67 mg komplexu *cis*-[Pt(NH₃)₂(pic)] (M = 559,04, n = 0,0012 mmol) ve směsi 300 μl dimethylformamidu-*d*₇ a 300 μl deuterované vody. Do roztoku byl přidán v molárním poměru 1 : 2 AgNO₃ (M = 169,87 g·mol⁻¹, n = 0,0024 mmol, m = 0,41 mg.) Reakční směs byla míchána ve tmě pod alobalem po dobu 24 hodin za laboratorní teploty (termomixér). Vzniklá sraženina AgI byla odcentrifugována.

Analogicky se připravil komplex pro HPLC experiment, ve kterém směs obsahovala 1,5 ml 50% ACN/50% H₂O (v/v).

3.3 Studium roztokové stability připravených komplexů

¹H NMR studium roztokové stability

Navážky 0,67 mg komplexu *cis*-[(Pt(NH₃)₂(pic)] (M = 559,04 g·mol⁻¹) nebo 0,45 mg komplexu *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)] (M = 376,13 g·mol⁻¹) pro přípravu 600 μl roztoků o koncentraci 2 mM, byly rozpuštěny v 300 μl DMF-*d*₇ a následně bylo k těmto roztokům pomalu přidáno 300 μl D₂O. Analogicky byly připraveny roztoky komplexů *cis*-[(Pt(NH₃)₂(pic)] a *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)] v 600 μl DMF-*d*₇ (bez přídavku D₂O).

¹H NMR spektra byla zaznamenávána při teplotě 22 °C, a to ihned po přípravě výše uvedených roztoků a následně po 6, 24, 48, 72 a 96 hodinách temperování při teplotě 37 °C. Pro srovnávací účely byla zaznamenána také ¹H NMR spektra volného α-pikolinu a komplexů *trans*-[Pt(NH₃)₂(pic)] a *cis*-[Pt(NH₃)(H₂O)(OH)(pic)]⁺.

HPLC studie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází spojená s hmotnostní spektrometrií (RP-HPLC/ESI+ MS) byla provedena pro vzorky připravené z 0,67 mg komplexu *cis*-[(Pt(NH₃)₂(pic)] resp. 0,45 mg komplexu *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)], které byly rozpuštěny v 1,5 ml směsi 50% ACN/50% H₂O (v/v). Jako mobilní fáze byla použita směs 0,1% mravenčanu amonného ve vodě (A) a ACN (B), a to s gradienty 10 % B (*t* = 0 min), 80 % B (*t* = 30 min), 80 % B (*t* = 40 min), 10 % B (*t* = 41 min) a 10 % B (*t* = 55 min) při 1 ml/min průtoku.

HPLC spektra byla zaznamenávána ihned po přípravě výše uvedených roztoků a následně po 24, 48, 72 a 96 hodinách stání při teplotě 37 °C. Pro srovnávací účely byl stejný experiment proveden také pro dehalogenovaný komplex *cis*-

$[\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})(\text{pic})]^+$ a pro volný α -pikolin, které byly taktéž rozpuštěny ve směsi 50% ACN/50% H_2O (v/v).

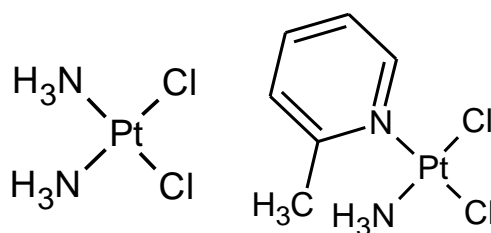
UV-VIS spektrometrie

Bylo rozpuštěno 2,79 mg komplexu *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic})]$ ($M = 559,04 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) v 2,5 ml DMF. Vzniklý roztok byl následně naředěn 2,5 ml H_2O , čímž bylo získáno 5 ml 1 mM roztoku ve směsi 50% DMF/50% H_2O (v/v). Jako blank byla použita směs 50% DMF/50% H_2O (v/v).

UV-VIS spektra byla zaznamenávána ihned po přípravě roztoku a následně pak po 6, 24, 48, 72 a 96 hodinách stání při teplotě 37 °C. Pro srovnávací účely bylo zaznamenáno také spektrum komplexu *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})(\text{pic})]^+$ ve směsi 50% DMF/50% H_2O (v/v).

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Podle výše uvedených syntéz byly připraveny komplexy *cis*-[Pt(NH₃)Cl₂(pic)] (komplex známý pod názvem *pikoplatina*) a jeho jodo-analog o složení *cis*-[(Pt(NH₃)I₂(pic)]. *Pikoplatina* je jedním z mála klinicky studovaných platnatých komplexů, který vykazuje mnohé farmakologické výhody v porovnání s *cisplatinou* používanou jako protinádorové chemoterapeutikum v klinické praxi. *Pikoplatina* se svou strukturou podobá *cisplatině* – liší se náhradou jedné molekuly amoniaku za α -pikolin (obrázek 11). Jodo-analog *pikoplatiny* je intermediát přípravy *pikoplatiny*, u kterého nikdy protinádorová aktivita nebyla studována.



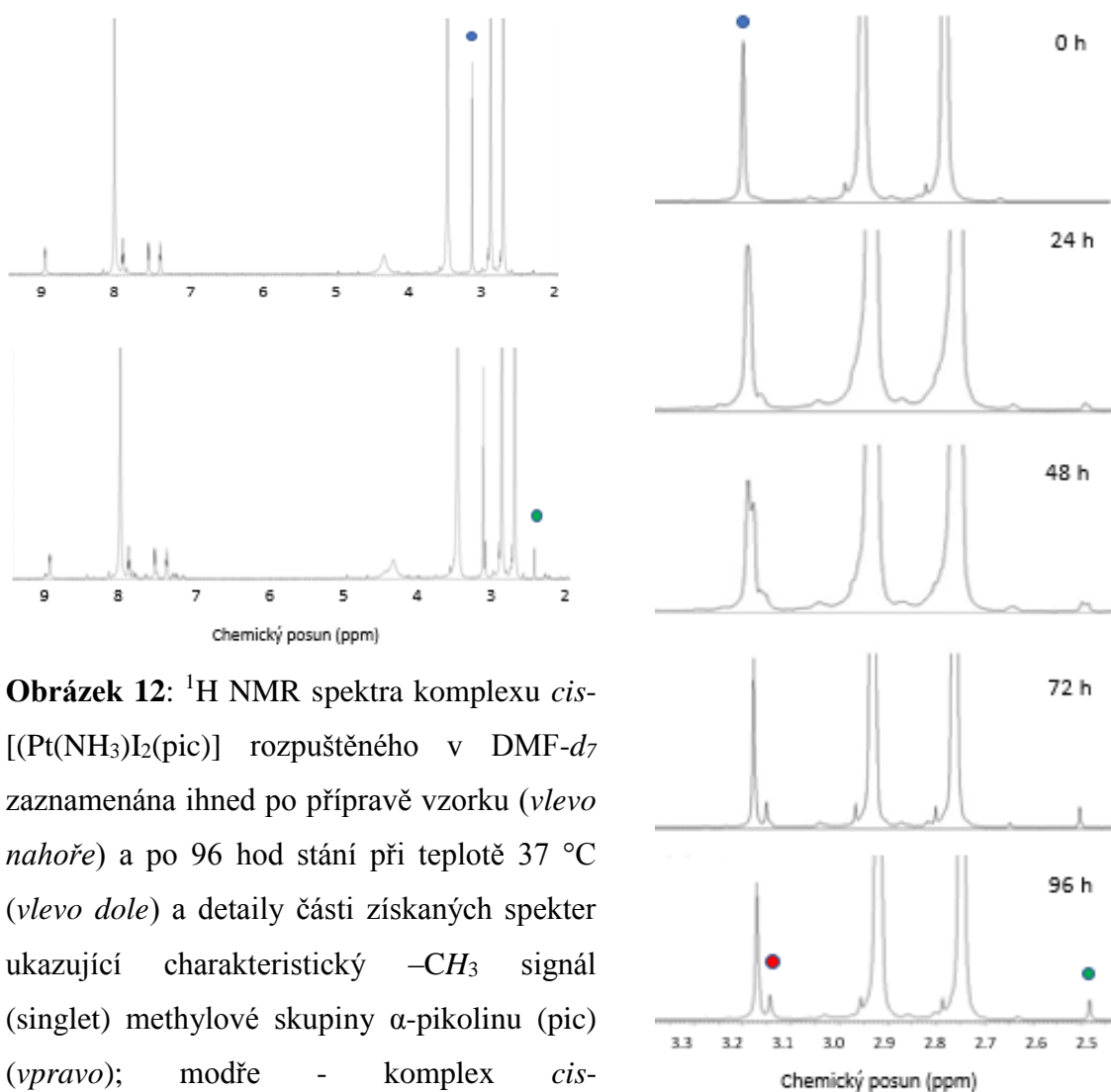
Obrázek 11: Porovnání složení *cisplatin*y (vlevo) a *pikoplatiny* (vpravo)

Studium roztokové chemie platnatých komplexů je důležité pro pochopení mechanismu účinku. Obecně platí, že po rozpuštění ve vodě se labilní chloridové ionty *cisplatin*y pomalu nahrazují molekulami vody. Tento proces probíhá postupně. Nejdříve vzniká monoaqua komplex a další hydrolyzou vzniká diaqua komplex. O tom, zda je komplex monoaqua nebo diaqua po hydrolyze rozhoduje závislost pH a koncentrace chloridu. Hydrolyza je krokem omezujícím rychlost reakce *cisplatin*y a jiných léčiv na bázi platiny s DNA. Vzhledem k tomu, že voda je lépe odstupující skupina než chlorid a hydroxid je důležité určit hodnoty pK_a sloučeniny, aby bylo objasněno složení vzniklých platnatých částic při fyziologických hodnotách pH [19].

S ohledem na výše uvedenou důležitost znalosti chování a stability cytotoxicky perspektivních sloučenin, byly tyto vlastnosti u komplexu *cis*-[(Pt(NH₃)I₂(pic)] (pro srovnání byly analogické experimenty provedeny i pro *pikoplatinu*) studovány vybranými analytickými technikami. ¹H NMR spektroskopií byla nejprve studována roztoková stabilita v DMF. V ¹H NMR spektru čerstvě připraveného ($t = 0$ hod) roztoku komplexu *cis*-[(Pt(NH₃)I₂(pic)] byly pozorovány signály vodíkových atomů C6–H ($\delta = 8,98$ ppm, dublet), C4–H ($\delta = 7,92$ ppm, multiplet), C3–H ($\delta = 7,57$ ppm, dublet), C5–H ($\delta = 7,41$ ppm, triplet), N10–H₃ ($\delta = 4,36$ ppm, široký singlet) a C7–H₃ ($\delta = 3,17$ ppm, singlet)

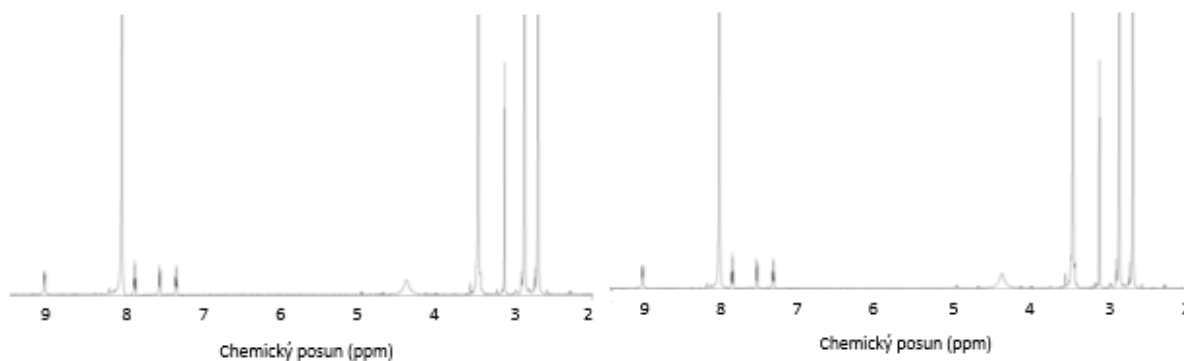
(obrázek 12), v souladu s předchozí prací, kde byla popsána syntéza a charakterizace uvedeného dijodo komplexu [27].

V ^1H NMR spektru komplexu cis - $[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))_2]$ rozpuštěného v $\text{DMF-}d_7$ byly pozorovány změny, které pravděpodobně souvisejí s izomerací tohoto komplexu (obrázek 12). Pro příklad lze uvést nový signál C7-H₃ vodíkových atomů methylové skupiny α -pikolinu, který byl v čerstvém roztoku pro výchozí komplex detekován při 3,17 ppm (viz výše), avšak postupně se ve spektrech objevoval signál s chemickým posunem 3,14 ppm, který lze přiřadit $trans$ -izomeru. Navíc byl po 96 hodinách stání komplexu cis - $[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))_2]$ v $\text{DMF-}d_7$ detekován i signál při 2,48 ppm. Tento signál odpovídá $-\text{CH}_3$ signálu uvolněného α -pikolinu.



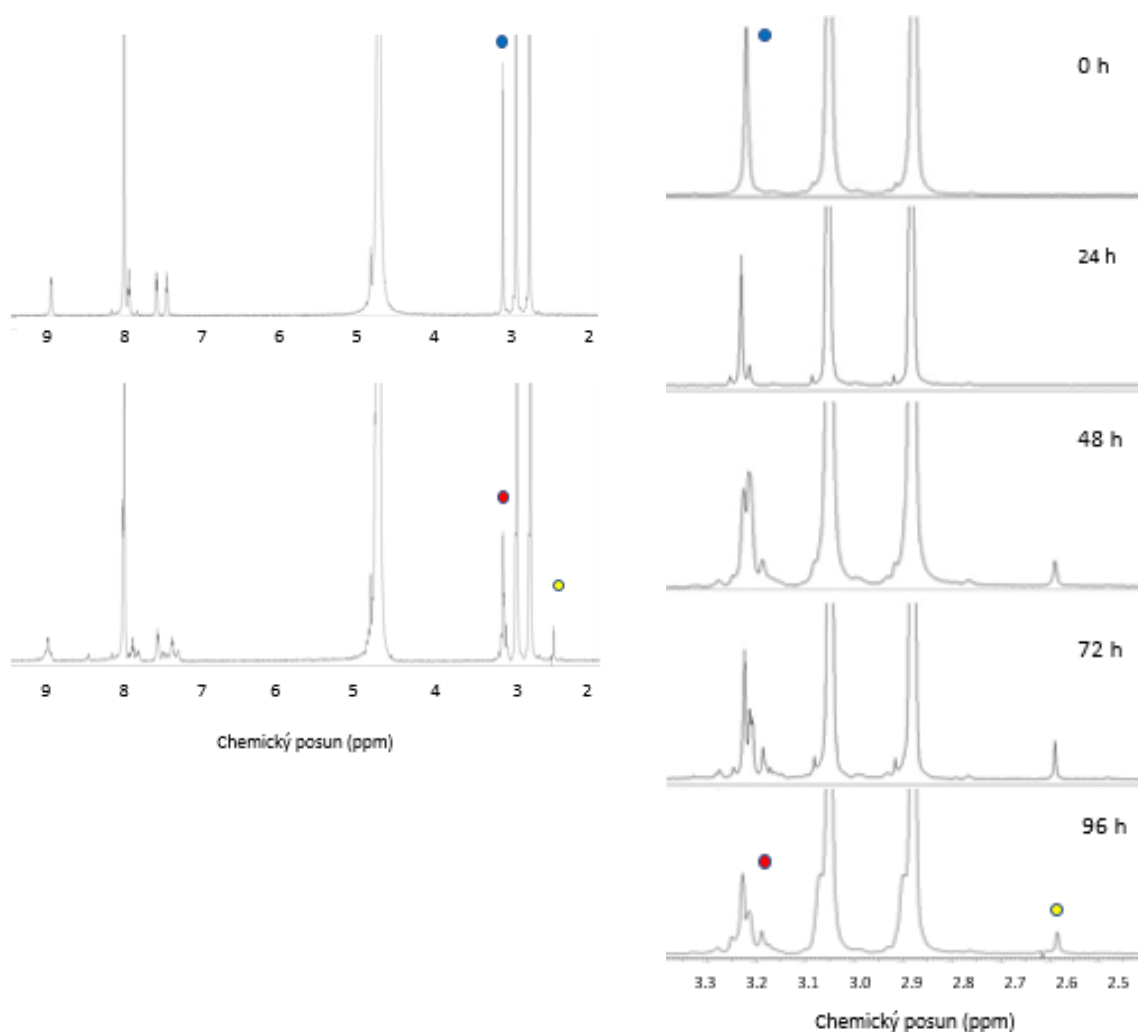
Obrázek 12: ^1H NMR spektra komplexu cis - $[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))_2]$ rozpuštěného v $\text{DMF-}d_7$ zaznamenaná ihned po přípravě vzorku (vlevo nahoře) a po 96 hod stání při teplotě $37\text{ }^\circ\text{C}$ (vlevo dole) a detaily části získaných spekter ukazující charakteristický $-\text{CH}_3$ signál (singlet) methylové skupiny α -pikolinu (pic) (vpravo); modře - komplex cis - $[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))_2]$; červeně - komplex $trans$ - $[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))_2]$; zeleně - volný pic

Komplex *cis*-[(Pt(NH₃)₂(pic)] tedy není v použitém čistém organickém rozpouštědle stabilní a podléhá pravděpodobně izomerizaci a částečně též rozkladu za uvolnění pic ligandu. V případě *pikoplatiny* rozpuštěné v organickém rozpouštědle DMF-*d*₇ nebyly v ¹H NMR spektru zaznamenány žádné změny (obrázek 13). To odpovídá tomu, že *pikoplatina* je stabilní a nepodléhá v použitém rozpouštědle žádné izomeraci ani rozkladu.



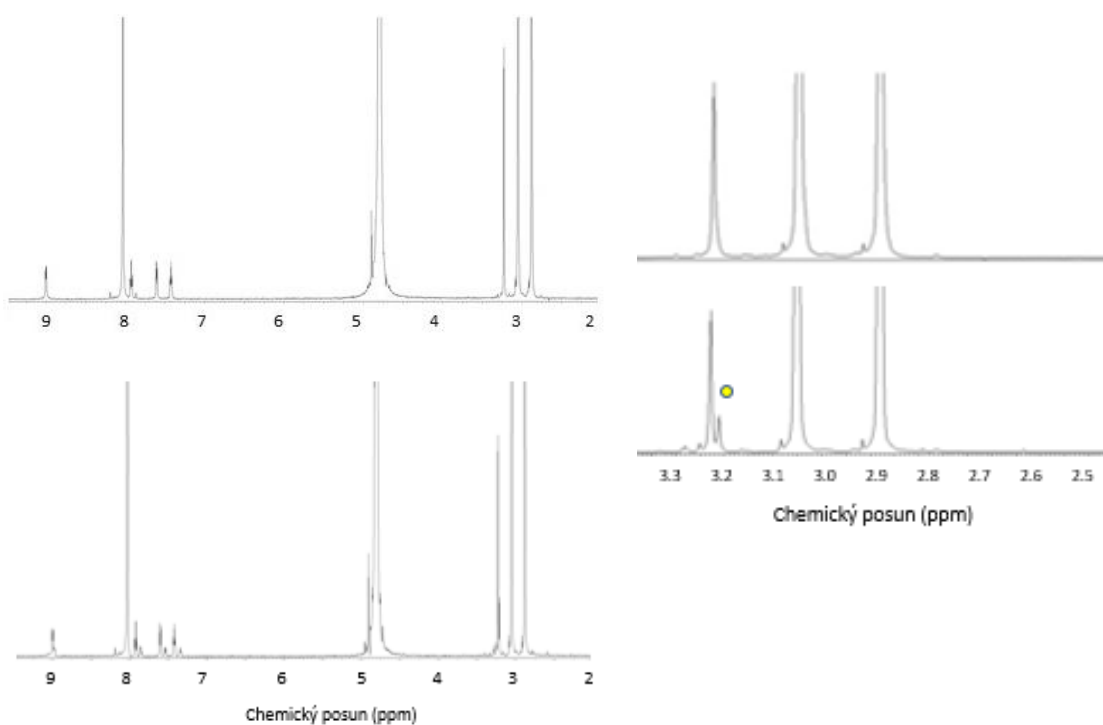
Obrázek 13: ¹H NMR spektra komplexu *cis*-[(Pt(NH₃)Cl₂(pic)] (*pikoplatina*) rozpuštěného v DMF-*d*₇ zaznamenána ihned po přípravě vzorku (*vlevo*) a po 96 hod stání při teplotě 37 °C (*vpravo*)

Studium chování komplexu *cis*-[(Pt(NH₃)₂(pic)] (opět byla pro srovnání studována také *pikoplatina*) ve vodu obsahujícím rozpouštědle (50% DMF-*d*₇/50% D₂O, v/v) ¹H NMR spektroskopii prokázalo výraznější změny, které souvisí s přítomností vody v použité směsi rozpouštědel (obrázek 14). Tyto změny lze demonstrovat změnou polohy signálu C7–H₃ vodíkových atomů, který byl v původním roztoku (*t* = 0 hod) detekován při 3,23 ppm (pro komplex *cis*-[(Pt(NH₃)₂(pic)]), s postupem času byl navíc detekován signál při 2,58 ppm, který odpovídá uvolněnému α-pikolinu. Dále byly zaznamenány signály 3,25 ppm, 3,21 ppm a 3,19 ppm, které nejsou identifikovatelné, ale lze předpokládat, že náleží komplexu *trans*-[(Pt(NH₃)₂(pic)] a hydrolyzovaným komplexům obou izomerních forem. Z výsledků je také patrné, že množství uvolněného α-pikolinu je ve směsi 50% DMF-*d*₇/50% D₂O (v/v) výraznější v porovnání s výsledky diskutovanými výše pro roztok komplexu *cis*-[(Pt(NH₃)₂(pic)] v DMF-*d*₇ (tedy bez přídavku vody).



Obrázek 14: ^1H NMR spektra komplexu $\text{cis}-[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))]$ rozpuštěného v $\text{DMF-}d_7/\text{D}_2\text{O}$ (1:1, v/v) zaznamenaná ihned po přípravě vzorku (*vlevo nahoře*) a po 96 hod stání při teplotě $37\text{ }^\circ\text{C}$ (*vlevo dole*) a detaily části získaných spekter ukazující charakteristický – CH_3 signál (singlet) α -pikolinu (pic) (*vpravo*); modře - komplex $\text{cis}-[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))]$; červeně - komplex $\text{trans}-[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))]$ a hydrolyzované formy obou izomerů; žlutě - volný pic

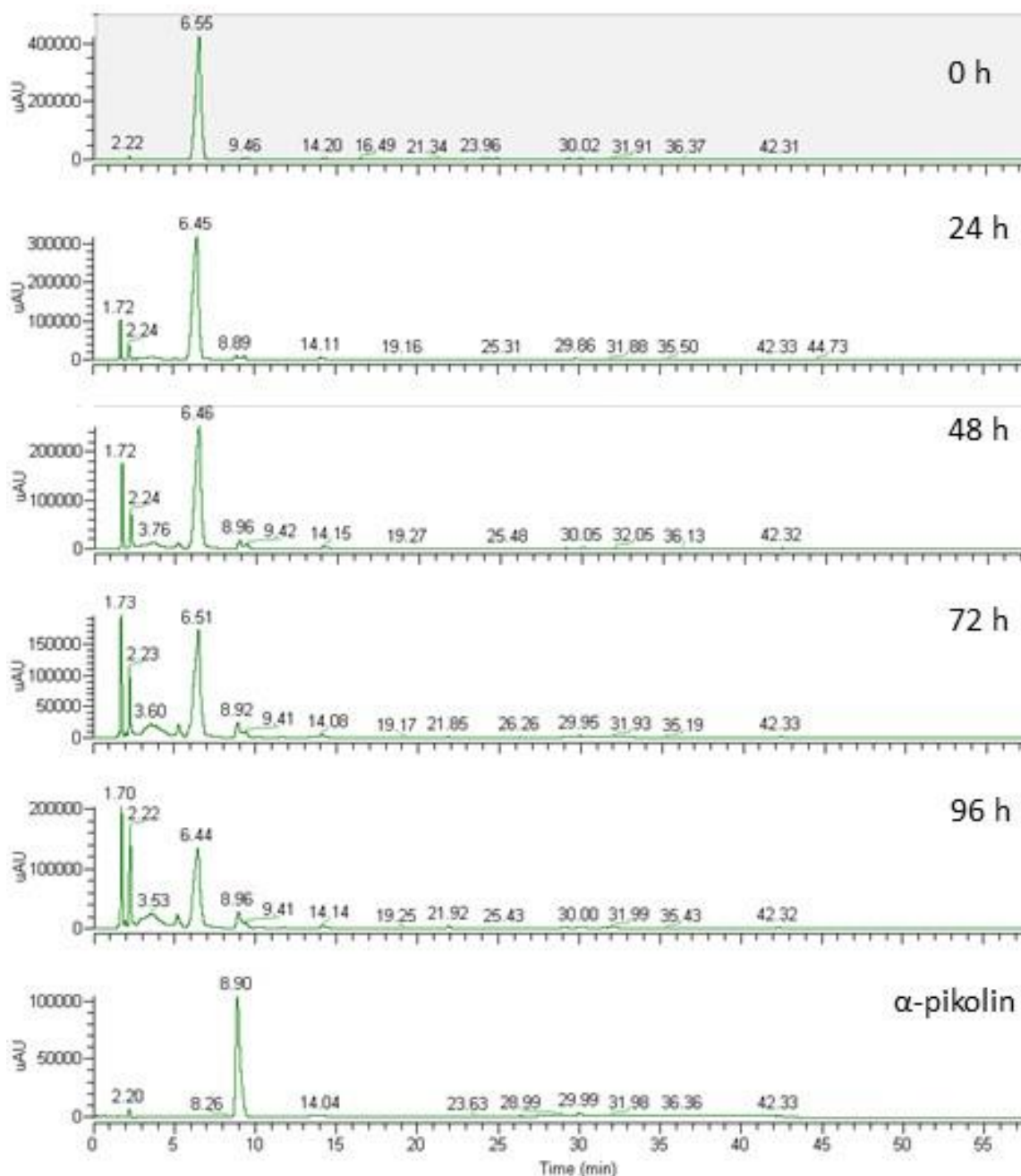
V případě *pikoplatingy* (obrázek 15) se v ^1H NMR spektru objevily po 24 hod stání nové signály, jejichž intenzita postupně narůstala. Jelikož poloha nově vzniklých signálů neodpovídá volnému α -pikolinu, lze předpokládat, že uvedené změny souvisí s hydrolyzou *pikoplatingy* v komplex $\text{cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})(\text{pic})]^+$, jak bylo prokázáno dřívější studií tohoto komplexu [27].



Obrázek 15: ^1H NMR spektra komplexu $\text{cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_2(\text{pic})]$ (*pikoplatiny*) rozpuštěného v $\text{DMF}-d_7/\text{D}_2\text{O}$ (1:1, v/v) zaznamenaná ihned po přípravě vzorku (*vlevo nahoře*) a po 96 hod stání při teplotě $37\text{ }^\circ\text{C}$ (*vlevo dole*) a detaily části získaných spekter ukazující charakteristický $-\text{CH}_3$ signál (singlet) α -pikolinu (*pic*) (*vpravo*)

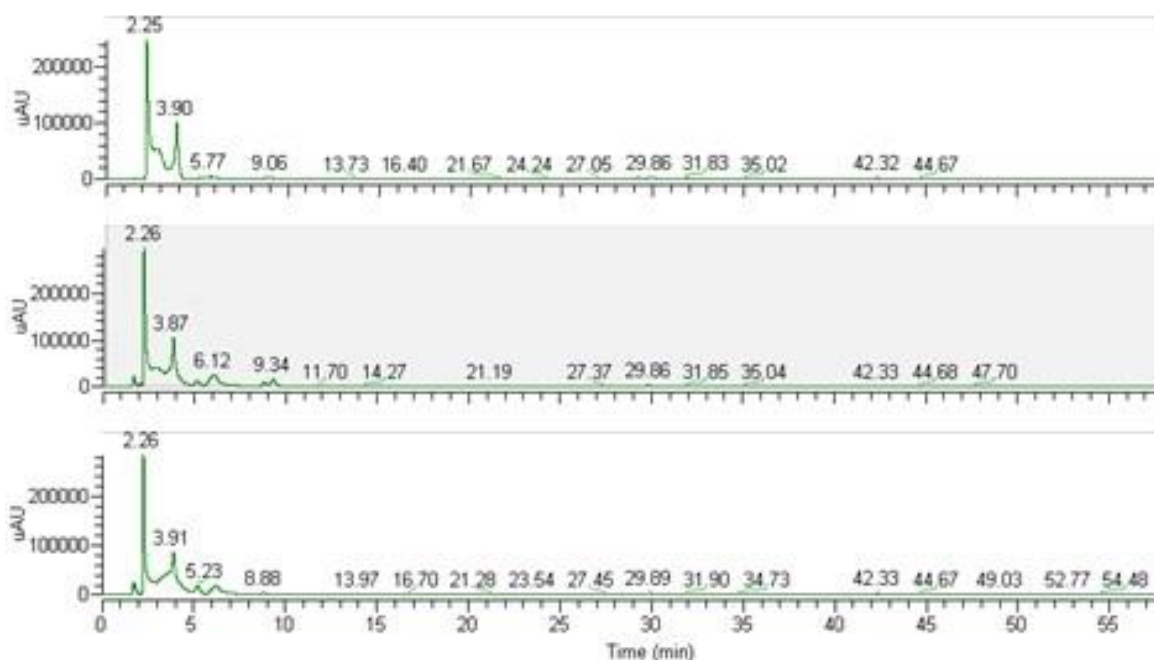
Další metodou pro studium stability byla vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s hmotnostní spektrometrií za použití ionizace elektrosprejem v pozitivním ionizačním módu (ESI+). Chování komplexu $\text{cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}_2(\text{pic})]$ (opět byla pro srovnání studována také *pikoplatina*) ve směsi 50% ACN/50% H_2O (v/v) bylo opět zaznamenáno v čase (obrázek 16). V čerstvě připraveném roztoku byl detekován pík s největší intenzitou s retenčním časem 6,55 minut, který byl na základě analýzy ESI+ hmotnostního spektra přiřazen původnímu komplexu, protože byly detekovány částice $[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}(\text{pic})]^+$ (vyp./nal.: 432,0/431,8 m/z) a $\{[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}(\text{pic})]+\text{OCH}_3+\text{Na}\}^+$ (vyp./nal.: 486,0/485,8 m/z). V průběhu analýzy byla zpozorována změna v chromatogramu, kdy byl detekován HPLC pík s retenčním časem 8,89 minut. Tato změna odpovídá, v souladu s výsledky ^1H NMR studie, uvolnění samotného α -pikolinu z komplexu $\text{cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}_2(\text{pic})]$. Pro kontrolu bylo provedeno měření čistého α -pikolinu ve stejném roztoku, který byl detekován v retenčním

čase 8,90 min (v ESI+ hmotnostním spektru jako částice $\{(\text{pic})+\text{H}\}^+$ (vyp./nal.: 94.1/94.2 m/z). Touto studií bylo opět dokázáno, že komplex $\text{cis}-[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))]$ ve vodě obsahujícím rozpouštědlo podléhá nejen hydrolyze, ale také rozkladu za uvolnění jednoho z nosných ligandů α -pikolinu.



Obrázek 16: Výsledky HPLC analýzy komplexu $\text{cis}-[(\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{pic}))]$ rozpuštěného v ACN/H₂O (1:1, v/v) zaznamenané v čase; pro porovnání je uveden také výsledek pro volný α -pikolin ve stejné směsi rozpouštědel

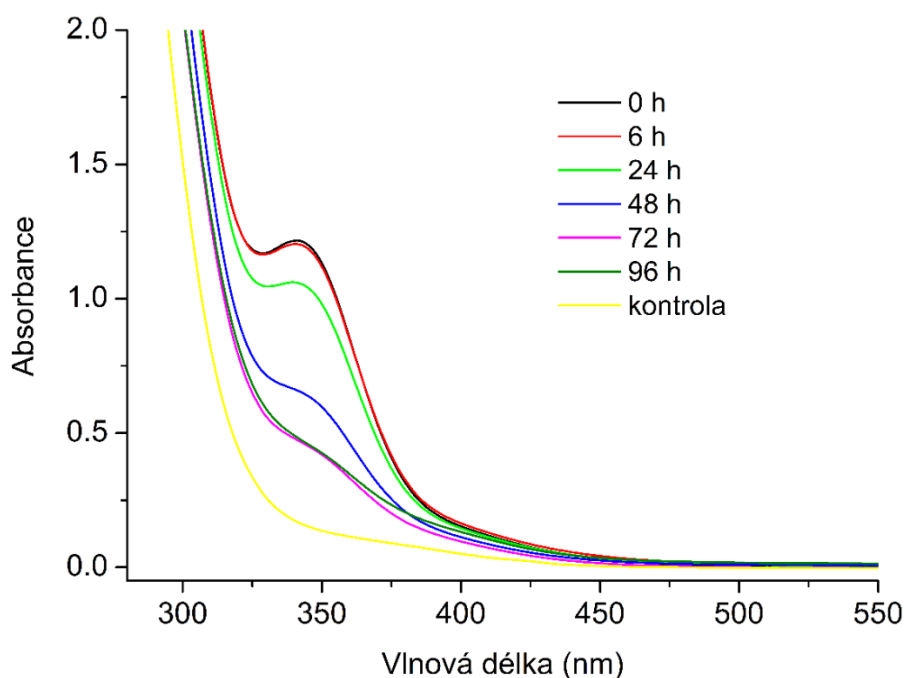
V čerstvě připraveném roztoku komplexu $cis\text{-}[(\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_2)(\text{pic})]$ ve směsi 50% ACN/50% H_2O (v/v) byly detekovány píky s retenčními časy 2,25 min a 3,90 min (obrázek 17). Po 96 hodinách stání *pikoplatingy* v roztoku byly detekovány píky s retenčními časy 2,26 min a 3,87 min a nové píky s retenčními časy 5,23 min a 6,12 min. Tyto píky se shodovaly se synteticky připraveným komplexem $cis\text{-}[(\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})(\text{pic}))]^+$, které byly detekovány s retenčními časy 2,26 min; 3,91 min, 5,23 min a 6,12 min. Touto studií bylo dokázáno, že komplex $cis\text{-}[(\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_2)(\text{pic})]$ v rozpouštědle obsahující vodu podléhá hydrolyze za vzniku komplexu $cis\text{-}[(\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})(\text{pic}))]^+$.



Obrázek 17: Výsledky HPLC analýzy komplexu $cis\text{-}[(\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_2)(\text{pic})]$ rozpuštěného v ACN/ H_2O (1:1, v/v) zaznamenaného v čerstvě připraveném roztoku (nahore) a po 96 hodinách stání (uprostřed); pro porovnání je uveden také výsledek pro komplex $cis\text{-}[(\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})(\text{pic}))]^+$ (dole)

Studium chování komplexu $cis\text{-}[(\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{I}_2)(\text{pic})]$ bylo provedeno také metodou UV-VIS spektrometrie, která je známá a hojně používaná ke studium stability podobných sloučenin na bázi platiny v různých typech rozpouštědel (viz také kapitola 2.5). Komplex byl rozpuštěn v DMF/ H_2O (1:1, v/v). UV-VIS spektra byla zaznamenávána v časech 0, 6, 24, 48, 72 a 96 hodin (obrázek 18). V získaných spektrech byla zpozorována změna

v oblasti vlnových délek 300–400 nm. Touto změnou spektrálních vlastností komplexu *cis*- $[(Pt(NH_3)_2(pic))]$ jsme prokázali, že daný komplex podléhá v použité směsi rozpouštědel změnám svého složení. Pro kontrolu bylo zaznamenáno spektrum komplexu *cis*- $[Pt(NH_3)(H_2O)(OH)(pic)]^+$. Porovnání tvaru obou křivek poukazuje, opět v souladu s výše uvedenými výsledky NMR a HPLC analýz, na odlišné složení komplexu *cis*- $[(Pt(NH_3)_2(pic))]$ po 96 hodinách stání ve směsi DMF/H₂O (1:1, v/v) a komplexu *cis*- $[Pt(NH_3)(H_2O)(OH)(pic)]^+$.



Obrázek 18: UV-VIS spektrum komplexu *cis*- $[(Pt(NH_3)_2(pic))]$ rozpuštěného v DMF/H₂O (1:1, v/v) zaznamenaného v čase; pro kontrolu vloženo spektrum pro komplex *cis*- $[Pt(NH_3)(H_2O)(OH)(pic)]^+$

5 ZÁVĚR

Byla vypracována literární rešerše na téma protinádorově aktivních komplexů na bázi platiny, se zaměřením především na komplex *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)] (*pikoplatinu*) a na platnaté jodo komplexy. Z rešerše vyplývá, že jodoplatnaté komplexy jsou perspektivní skupinou nových cytotoxických látek na bázi platiny, a také, že jodo analog klinicky studované *pikoplatiny*, tedy komplex o složení *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)], doposud nebyl studován pro svoji *in vitro* cytotoxicitu. Na základě vypracované rešerše byly připraveny dva komplexy, a to *pikoplatina* a její jodo analog *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)]. Připravené komplexy byly charakterizovány elementární analýzou, hmotnostní spektrometrií a NMR spektroskopií. Jako nutný krok studia nových biologicky perspektivních sloučenin byla u komplexu *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)] studována jeho roztoková a hydrolytická stabilita komplexu, k čemuž byly použity analytické metody ¹H NMR spektroskopie, HPLC chromatografie a UV-Vis spektroskopie; pro srovnání byla do studie použita také *pikoplatina*. Z dosažených výsledků vyplývá, že na rozdíl od *pikoplatiny* je komplex *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)] nestabilní už v čistém organickém rozpouštědle (byl použit DMF). Dále komplex *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)] podléhá (stejně jako *pikoplatina*) ve směsi DMF/voda hydrolyze, navíc však u něj bylo pozorováno uvolnění nosného *N*-donorového ligandu α -pikolinu. Popsaná nestabilita zamezuje použití komplexu *cis*-[Pt(NH₃)I₂(α -pikolin)] pro studium jeho biologických vlastností, jako je např. *in vitro* cytotoxicita.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Dasari S., Tchounwou P.B. *Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action*. Eur J Pharmacol. 2015.
- [2] Savić A., Filipović L., Arancrossed S., Dojčinović B., Radulović S., Sabo T.J., Šipka S.G. *Synthesis, characterization and cytotoxic activity of novel platinum(II) iodido complexes*. European Journal of Medicinal Chemistry. 2014.
- [3] Kameníček J., Šindelář Z. *Anorganická chemie*. Olomouc, 2006. ISBN 80-244-1290-V.
- [4] Klikorka J., Hájek B., Votinský J. *Obecná a anorganická chemie*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1989.
- [5] Gažo J., Kohout J., Serátor M., Šramko T., Zikmund M. *Všeobecná a anorganická chémia*. Bratislava: ALFA - Vydavateľstvo technickej a ekonomickej literatúry, 1972.
- [6] Prestayko A.W., Crooke S.T., Carter S.K. *CISPLATIN current status and new developments*. New York: Academic Press, 1980.
- [7] Chen Y., Guo Z., Parkinson J. A., Sadler P. J. *Kinetic control of reactions of a sterically hindered platinum picoline anticancer complex with guanosine 5'-monophosphate and glutathione*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions. 1998, str. 3577-3586.
- [8] <http://pubs.acs.org/cen/coverstory/83/8325/8325cisplatin.html>. (dostupné od 20.6.2005).
- [9] Gielen M., Tiekink E.R.T. *Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents*. Eley, 2005. ISBN 0-470-86403-6.
- [10] Parro T., Medrano M.A., Cubo L., Galván S.M., Carnero A., Ranninger C.N., Quiroga A.G. *The second generation of iodido complexes: Trans-[PtI2(amine)(amine')] bearing different aliphatic amines*. Journal of Inorganic Biochemistry. 2013.
- [11] <http://www.scienceworld.cz/neziva-priroda/platinove-komplexy-od-poskozeni-dna-k-lecbe-rakoviny-4262>. (dostupné od 1.10.2001).
- [12] Rebecca A. A., Matthew D. H., Trevor W. H. *The Discovery and Development of Cisplatin*. Journal of Chemical Education. 2006, Vol. 83.

- [13] Nial J. W., Shonagh W., Gemma E., Craig E. G., Oun R. *The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials*. Dalton Transactions. 2010, 39, 8113–8127.
- [14] Choi Ch. H., Cha Y. J., An Ch. S., Kim K. J., Moon S. P., Min YD, Lee Z. H., Min Y. D. *Molecular mechanisms of heptaplatin effective against cisplatin-resistant cancer cell lines: less involvement of metallothionein*. Cancer cell international. 2004.
- [15] Lee K. H., Hyun M. S., Kim H. K., Jin H. M., Yang J., Song H. S., Do Y. R., Ryoo H. M., Chung J. S., Zang D. Y., Lim H. Y., Jin J. Y., Yim Ch. Y., Park H. S., Kim J.S., Sohn Ch.H., Lee S. N. *Randomized, Multicenter, Phase III Trial of Heptaplatin 1-hour Infusion and 5-Fluorouracil Combination Chemotherapy Comparing with Cisplatin and 5-Fluorouracil Combination Chemotherapy in Patients with Advanced Gastric Cancer*. Cancer Research and Treatment. 2009.
- [16] Rietbroek R.C., van de Vaart P.J., Haveman J. Blommaert F.A., Geerdink A., Bakker P.J., Veenhof C.H. *Hyperthermia enhances the cytotoxicity and platinum-DNA adduct formation of lobaplatin and oxaliplatin in cultured SW 1573 cells*. Journal of cancer research and clinical oncology. 1997.
- [17] Gietema J. A., Veldhuis G. J., Guchelaar H. J., Willemse P. H.B., Uges D. R.A., Cats A., Boonstra H., van der Graaf W. T.A., Sleijfer D. Th, de Vries E. G.E., Mulder N. H. *Phase II and pharmacokinetic study of lobaplatin in patients with relapsed ovarian cancer*. British Journal of Cancer. 1995.
- [18] McGowan G., Parsons S., Sadler P. J. *G-G base-pairing in nucleobase adducts of the anticancer drug cis-[PtCl₂(NH₃)(2-picoline)] and its trans isomer*. Chemistry - A European Journal. 2005.
- [19] McGowan G., Parsons S., Sadler P.J. *Contrasting chemistry of cis- and trans-platinum(II) diamine anticancer compounds: Hydrolysis studies of picoline complexes*. Inorganic Chemistry. 2005.
- [20] Chen Y., Guo Z., Parsons S., Sadler P. J. *Stereospecific and kinetic control over the hydrolysis of a sterically hindered platinum picoline anticancer complex*. Chemistry - A European Journal. 1998.
- [21] Messori L., Casini A., Gabbiani Ch., Michelucci E., Cubo L., Luci C. R., Padrón J. M., Ranninger C. N., Quiroga A.G. *Cytotoxic profile and peculiar reactivity with biomolecules of a novel „rule-breaker“ iodidoplatinum(II) complex*. ACS Medicinal Chemistry Letters. 2010.

- [22] Messori L., Cubo L., Gabbiani Ch., Valdés A. Á., Michelucci E., Pieraccini G., Luci C. R., León L. G., Padrón J. M., Ranninger C. N., Casini A., Quiroga A. G. *Reactivity and biological properties of a series of cytotoxic PtI₂(amine)₂ complexes, either cis or trans configured*. Inorganic Chemistry. 2012.
- [23] Musumeci D., Platella Ch., Riccardi C., Merlino A., Marzo T., Massai L., Messori L., Montesarchio D. *A first-in-class and a fished out anticancer platinum compound: cis-[PtCl₂(NH₃)₂] and cis-[PtI₂(NH₃)₂] compared for their reactivity towards DNA model systems*. Dalton Transactions. 2016. ISSN 1477-9226.
- [24] Marzo T., Pillozzi S., Hrabina O., Kasparkova J., Brabec V., Arcangeli A., Bartoli G., Severi M., Lunghi A., Totti F., Gabbiani Ch., Quiroga A. G., Messori L. *cis-PtI₂(NH₃)₂: a reappraisal*. Dalton Trans. 2015.
- [25] Vančo J., Trávníček Z., Křikavová R., Gálíková J., Dvořák Z., Chalupová M. *Molecular, cellular and pharmacological effects of platinum(II) diiodido complexes containing 9-deazahypoxanthine derivatives: A group of broad-spectrum anticancer active agents*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2017. ISSN 18732682.
- [26] Štarha P., Vančo J., Hošek J., Trávníček Z., Dvořák Z., Klusáková J. *Platinum(II) iodido complexes of 7-azaindoles with significant antiproliferative effects: An old story revisited with unexpected outcomes*. PLoS ONE. 2016.
- [27] Uhrová M. *Příprava a charakterizace mixed - ligand komplexů platiny*. Bakalářská práce. 2016. PřF UP, Olomouc.