

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**

**Přírodovědecká fakulta**

Katedra anorganické chemie



**Příprava a charakterizace tetrakarboxylato  
Pt(IV) komplexů**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Autor:	Bc. David Bogdanovič
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Učitelství chemie pro víceoborové studium Učitelství biologie pro víceoborové studium Společný základ učitelských oborů
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
Termín odevzdání:	5. 5. 2017

**Olomouc 2017**

## Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Bc. David Bogdanovič  
Název práce: **Příprava a charakterizace tetrakarboxylato Pt(IV) komplexů**  
Typ práce: Diplomová  
Pracoviště: Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta,  
Univerzita Palackého v Olomouci  
Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.  
Rok obhajoby práce: 2017

**Abstrakt:** Byla provedena literární rešerše na téma protinádorově aktivních platnatých a platičitých komplexů, se zaměřením na platičité komplexy obsahující biologicky aktivní *O*-donorové karboxylato ligandy. Pozornost byla věnována také vybraným biologicky aktivním karboxylovým kyselinám a jejich derivátům (např. kyselina valproová nebo 4-fenylbutyrát sodný).

Experimentální část předložené práce byla zaměřena na pokusy o přípravu a následnou fyzikálně-chemickou charakterizaci inovativních tetrakarboxylatoplatičitých komplexů obecného složení *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>4</sub>], *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>], [Pt(DACH)(L)<sub>4</sub>] nebo *cis,trans*-[Pt(DACH)(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>], kde L a L' symbolizují monodentátní *O*-donorové karboxylato ligandy dichloracetato, 4-fenylbutyrato a valproato, jež nesou svoji vlastní biologickou aktivitu. Komplexy byly charakterizovány metodami elementární analýzy, hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem, infračervenou spektroskopií a <sup>1</sup>H NMR spektroskopií.

Klíčová slova: Platičité komplexy, karboxylato ligandy, syntéza, charakterizace  
Počet stran: 67  
Počet příloh: 1 x CD  
Jazyk: Čeština

**Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Bc. David Bogdanovič  
**Title:** **Synthesis and characterization of tetracarboxylato Pt(IV) complexes**  
Type of thesis: Diploma  
Department: Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Czech Republic  
Supervisor: Assoc. Prof. Pavel Štarha, Ph.D.  
The year of presentation: 2017

**Abstract:** The diploma thesis consists of the results of the literature research focused on the anticancer active platinum(II) and platinum(IV) complexes, and especially platinum(IV) complexes containing the biologically active *O*-donor carboxylato ligands. The used carboxylic acids or their derivatives (e.g. valproic acid or sodium 4-phenylbutyrate) bearing their own biological activity are described as well.

The experimental part of this work deals with the synthesis and characterization of inovative tetracarboxylatoplatinum(IV) complexes of the general compositions *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>4</sub>], *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>], [Pt(DACH)(L)<sub>4</sub>] or *cis,trans*-[Pt(DACH)(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>], where L and L' symbolize monodentate *O*-donor carboxylato ligands dichloracetato, 4-fenylbutyrato and valproato, known to bear their own anticancer activity. The obtained products were characterized by elemental analysis, electrospray-ionization mass spectrometry, infrared spectroscopy and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy.

Keywords: Platinum(IV) complexes, carboxylato ligands, synthesis, characterization  
Number of pages: 67  
Number of appendices: 1x CD  
Language: Czech

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci napsal samostatně pod odborným vedením doc. Mgr. Pavla Štarhy, Ph.D., a to výhradně s použitím citovaných literárních pramenů a zdrojů, které jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Souhlasím, aby tato diplomová práce byla prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry anorganické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne .....

.....

Bc. David Bogdanovič

## **Poděkování**

Chtěl bych na tomto místě poděkovat doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za vedení této diplomové práce, cenné rady a připomínky při jejím vypracování, a také za pomoc při interpretaci získaných analytických výsledků. Dále děkuji zaměstnancům Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, jmenovitě Pavle Richterové za provedení elementárních analýz, Mgr. Aleně Klanicové, Ph.D. za provedení infračervené spektroskopie, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení hmotnostní spektrometrie a Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za provedení NMR spektroskopie. V neposlední řadě bych rád poděkoval Prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D. za umožnění vypracování této diplomové práce na Katedře anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

# Obsah

<b>1</b>	<b>ÚVOD A CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE .....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>8</b>
	2.1 Platina .....	8
	2.2 Protinádorově aktivní platnaté komplexy .....	9
	2.2.1 Cisplatina .....	10
	2.2.1.1 Mechanismus účinku .....	11
	2.2.2 Další klinicky používané platnaté komplexy .....	15
	2.3 Protinádorově aktivní platičité komplexy .....	18
	2.3.1 Klinicky testované komplexy .....	19
	2.3.2 Platičité komplexy s biologicky aktivními <i>O</i> -donorovými ligandy .....	22
	2.4 Vybrané biologicky aktivní karboxylové kyseliny a jejich deriváty .....	31
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>31</b>
	3.1 Chemikálie a přístroje .....	34
	3.2 Syntéza prekurzorů .....	34
	3.3 Syntéza Pt(IV) komplexů .....	38
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>POUŽITÁ LITERATURA A ZDROJE .....</b>	<b>60</b>
<b>7</b>	<b>SEZNAM ZKRATEK .....</b>	<b>67</b>

# 1 ÚVOD A CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Rakovina je jedním z nejzávažnějších civilizačních onemocnění člověka a jednou z nejčastějších příčin jeho úmrtí. Jedním z nejčastěji používaných protinádorových léčiv jsou metaloterapeutika na bázi platiny. Prvním, nejznámějším a i v dnešní době nejpoužívanějším chemoterapeutikem na bázi platiny je cisplatina, která se v onkologické praxi používá od konce 70. let minulého století. Ačkoli klinický úspěch této látky je neoddiskutovatelný, je již od dob vývoje tohoto léčiva známým faktem, že její aplikace je spojena s mnoha negativními vedlejšími účinky. To je důvodem neutuchající snahy bioanorganických a medicínálních chemiků o vylepšení terapeutických účinků cisplatiny. Z mnoha strategií je jednou z nejaktuálnějších modifikace složení cisplatiny (a dalších léčiv na bázi platiny) navázáním biologicky aktivních *O*-donorových ligandů, což je spojeno se změnou oxidačního čísla z +II na +IV. Úspěšnost a perspektiva této strategie byla v nedávné době popsána v několika publikacích. Příkladem takových látek je vysoce protinádorově účinný komplex *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(PB)<sub>2</sub>], který ve své struktuře obsahuje dva 4-fenylbutanové anionty (PB) ze skupiny inhibitorů histonových deacetyláz (HDAC). Tato látka svojí *in vitro* protinádorovou aktivitou výrazně převyšuje samotnou cisplatinu, čímž podtrhuje farmakologickou perspektivu biskarboxylatoplatičitých komplexů tohoto typu. Výzvou v této oblasti bioanorganické a medicínální chemie, která doposud nebyla v literatuře popsána, nicméně zůstává příprava a biologická charakterizace tetrakarboxylatoplatičitých komplexů, které by ve své struktuře obsahovaly čtyři *O*-donorové ligandy nesoucí vlastní biologickou aktivitu, perspektivně navyšující protinádorovou aktivitu samotné částice na bázi platiny.

Hlavním cílem předložené diplomové práce bylo pokusit se připravit a relevantními analytickými metodami (např. elementární analýza, NMR spektroskopie nebo hmotnostní spektrometrie) charakterizovat inovativní tetrakarboxylatoplatičité komplexy obsahující ve své struktuře celkem čtyři biologicky aktivní *O*-donorové ligandy navázané na základní motiv *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (odvozený od cisplatiny) nebo [Pt(DACH)] (odvozený od oxaliplatiny); DACH = 1,2-diaminocyklohexan. S tímto cílem bylo spojeno vypracování literární rešerše na téma protinádorově aktivní platičité komplexy, se zaměřením na komplexy obsahující axiální biologicky aktivní *O*-donorové ligandy.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Platina

Prvky nikl, palladium a platina řadíme v rámci periodické soustavy prvků (PSP) do VIII. B skupiny mezi prvky podskupiny niklu (podle mezinárodního doporučení organizace IUPAC se jedná o 10. Skupiny PSP). Nikl, železo a kobalt vykazují v rámci VIII. B skupiny PSP, jak v kovové podobě, tak i ve sloučeninách, řadu shodných chemických a fyzikálních vlastností (obvyklý oxidační stav +II v anorganických sloučeninách, vysoké teploty tání a varu, feromagnetismus aj.), a proto jsou tyto kovy společně řazeny do tzv. triády železa. Triáda lehkých platinových kovů je tvořena rutheniem, rhodiem a palladiem. Prvky platina, osmium a iridium se pak řadí do triády těžkých platinových kovů. U prvků platinových kovů neexistují jednoduché vztahy mezi elektronovou konfigurací atomů a vlastnostmi sloučenin, v jejich chemii je ale možno pozorovat vertikální podobnost [1].

Atomy platiny mají v základním stavu elektronovou konfiguraci  $[_{54}\text{Xe}]4f^{14}5d^96s^1$ . Platina a její sloučeniny, včetně sloučenin koordinačních, vystupují v kladných oxidačních stavech od 0 po +VI [1,2]. Výjimku tvoří dříve neznámé sloučeniny platiny v oxidačním stavu -II (např.  $\text{Cs}_2\text{Pt}$  a  $\text{BaPt}$ ), které lze připravit za vysokých teplot [3]. Platina ve sloučeninách nejběžněji vystupuje v oxidačních stavech +II a +IV. V podskupině niklu roste stálost vyšších oxidačních stavů s rostoucím protonovým číslem. Platina tak může nabývat maximálního oxidačního stavu až +VI, příkladem ve sloučenině  $\text{PtF}_6$ . Nikl i palladium, na rozdíl od platiny, dosahují ve sloučeninách pouze maximálního oxidačního stavu +IV [1,2].

Prvky podskupiny niklu ve svých sloučeninách běžně neuplatňují vysoká koordinační čísla. V běžných koordinačních sloučeninách tak nalézáme nejvyšší koordinační číslo 6, které prvky ve vzácných případech přestupují. Na rozdíl od Ni(II) komplexů, známých svou rozmanitostí koordinačních čísel a geometrií, je stereochemie Pt(II) komplexů téměř výlučně čtvercová [2]. Mezi důležité Pt(II) komplexy patří  $[\text{MX}_4]^{2-}$  ( $\text{X} = \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{I}^-, \text{CN}^-$  atd.),  $[\text{ML}_2\text{X}_2]$  ( $\text{X} = \text{Cl}^-, \text{Br}^-$ ;  $\text{L} = \text{NH}_3, \text{PR}_3$ , kde R = alkyl nebo aryl) a  $[\text{ML}_4]^{2+}$  ( $\text{L} =$  např.  $\text{NH}_3$ ). Prvním Pt(II) komplexem s  $\text{NH}_3$  byla v roce 1828 tzv. Magnusova sůl o složení  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_4][\text{PtCl}_4]$ , která je polymeračním izomerem komplexů  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ . Komplex  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$  existuje ve dvou geometrických izomerech (*cis*-, *trans*-), které se výrazně liší svými vlastnostmi a způsoby přípravy [1]. *Cis*-izomer zmíněné



sloučeniny je znám jako *cisplatina*, která se již téměř čtyřicet let využívá k léčbě rakoviny (viz níže).

Vedle Pt(II) komplexů existuje i velké množství oktaedrických Pt(IV) komplexů, které jsou většinou termodynamicky stabilní a kineticky inertní. Příkladem mohou být komplexy  $[\text{PtX}_6]^{2-}$ ,  $[\text{PtX}_4\text{L}_2]$  a  $[\text{PtL}_6]^{4+}$  ( $\text{X} = \text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{CN}^-$ ;  $\text{L} =$  např.  $\text{NH}_3$ ), které jsou známy už od času švýcarského chemika A. Wernera, zakladatele koordinační chemie a nositele Nobelovy ceny za chemii [1,3]. Vedle výše zmíněných Pt(IV) halogeno a ammin komplexů existují četné Pt(IV) komplexy, které obsahují *O*-donorové ligandy různého typu, jako jsou například hydroxo ligandy nebo anionty karboxylových kyselin. Příprava a charakterizace takových Pt(IV) komplexů je pak jedním z cílů předložené diplomové práce.

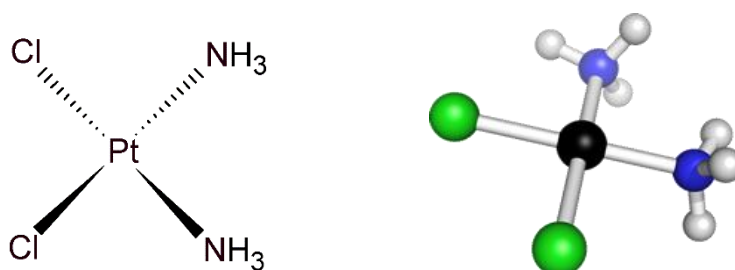
## 2.2 Protinádorově aktivní platnaté komplexy

Sloučeniny platiny tvoří nejvýznamnější kategorii chemoterapeutik, které jsou široce využívány v medicínské praxi jako protinádorová léčiva [4]. Objev a vývoj protinádorových léčiv na bázi platiny dodnes reprezentují jeden z největších úspěchů dosažených na poli bioanorganické chemie [5]. Od objevu terapeutického potenciálu cisplatiny, nejznámějšího a nejužívanějšího léčiva na bázi platiny klinicky používaného v protinádorové chemoterapii, uběhlo více než 50 let, na trh pak byla cisplatina uvedena v roce 1978 [6].

Od uvedení cisplatiny do klinické praxe se úsilí chemiků na celém světě soustředí na vývoj a design nových léčiv na bázi platiny a dalších perspektivních prvků (Ru, Cu, Zn, Au, Os, Ir aj.), které by předčily nedostatky cisplatiny spojené s rezistencí vůči některým druhům rakoviny a četnými vedlejšími účinky. Během této doby vstoupilo do klinických fází testování přes 23 léčiv na bázi platiny, kde pouze dvě látky (karboplatina a oxaliplatina) získaly mezinárodní obchodní schválení a další tři látky (nedaplatina, lobaplatina a heptaplatina) byly schváleny pouze v některých asijských zemích (viz níže) [6]. I v současnosti jsou některé komplexy na bázi platiny podrobována klinickému testování, v naději na objevení léčiv s výraznou protinádorovou aktivitou a minimálními vedlejšími účinky.

## 2.2.1 Cisplatina

Sloučenina  $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ , (*cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex, CDDP nebo *cis*-DDP; cisplatina; Obrázek 1) byla poprvé popsána italským chemikem Michele Peyronem (1813–1883) v roce 1845. Dlouhou dobu proto byla známá pod názvem Peyronův chlorid, který o pár let později sehrál ústřední roli v udělení Nobelovy ceny švýcarskému chemikovi Alfrédu Wernerovi (1866–1919) za izomerii koordinačních sloučenin [7,8]. Cisplatina je tvořena centrálním atomem Pt(II) a dvojicemi monodentátně vázaných ligandů. První dvojici tvoří odstupující chloro ligandy, které mohou být ve fyziologickém prostředí nahrazeny jinými ligandy (biomolekulami vč. DNA), druhou dvojici reprezentují neodstupující  $\text{NH}_3$  ligandy. Geometrie  $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$  je čtvercová [4,9].



**Obrázek 1.** Strukturální vzorec (vlevo) a molekulová struktura (vpravo; převzato z [10]) cisplatiny.

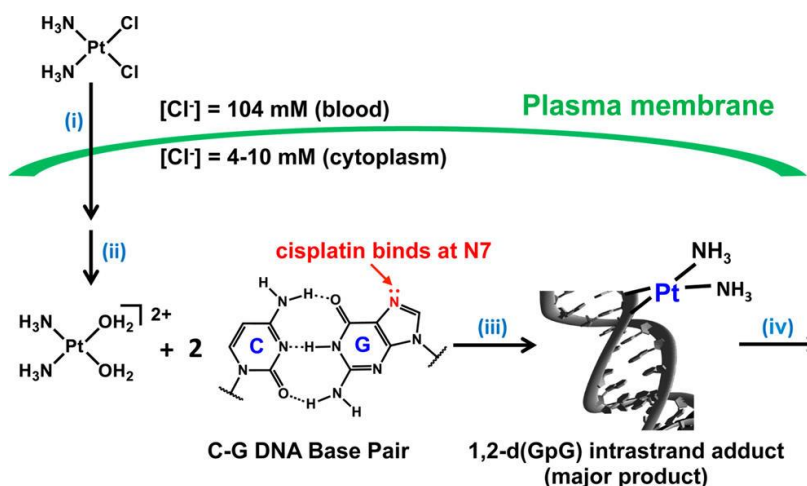
Protinádorová aktivita cisplatiny byla objevena již na počátku 60. let minulého století týmem Prof. Barnetta Rosenberga (Michigan State University, USA), který objevil cytostatické účinky komplexů platiny na proliferaci buněk bakterií. V té době se Rosenberg zabýval experimenty studujícími vliv elektrického pole na dělicí vřeténko v mitotické fázi dělení buněk bakterií. Jeho tým zjistil, že vložení elektrického proudu (užitím platinových elektrod) do kultivačního média, obsahujícího kolonie bakterií *Escherichia coli* a roztok chloridu amonného, vede k inhibici buněčného dělení bakterií. Pozdější detailní chemickou analýzou bylo potvrzeno, že inhibici dělení bakterií nezpůsobuje elektrické pole, ale produkt elektrolýzy, který v médiu vznikl, a to  $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$  [8,11,12,13]. Při pozdějším testování této látky (cisplatiny) na protinádorovou aktivitu na sarkomu 180 u myši byla prokázána výrazná regrese nádorů, vedoucí k tomu, že cisplatinou léčené myši nevykazovaly žádné

znaky rakoviny. Na základě těchto výsledků byl urychlen vstup cisplatiny do klinického testování a v roce 1971 bylo zahájeno léčení prvních pacientů. Po testování protinádorových účinků cisplatiny i na jiných nádorových buněčných liniích byla tato látka již v roce 1978 schválena americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration; FDA) pro léčbu rakoviny varlat a rakoviny vaječníků [8,12,13].

Použití cisplatiny jako protinádorového léčiva bylo dlouhou dobu diskutováno z důvodu negativních toxických účinků (viz níže). Na druhou stranu bylo ale zjištěno, že účinnost cisplatiny je za předpokladu včasné diagnostiky karcinomu až 90%, jak bylo pozorováno v případě senzitivního karcinomu vaječníků [6]. V současné době se cisplatinu používá k léčbě řady nádorových onemocnění zahrnující leukémii, malobuněčné nádory plic, nádory hlavy a krku, melanomy, lymfomy a myelomy [4,6,8].

### 2.2.1.1 Mechanismus účinku

Do těla pacienta je cisplatinu zpravidla podávána intravenózně (IV). Stabilita cisplatiny je v extracelulárním prostoru vysoká z důvodu vysoké koncentrace chloridových aniontů (ca 104 mM). Nedochozí tak k substituci chloro ligandů a léčivo je do buněk transportováno v neaktivní podobě (Obrázek 2) [5]. Vstup do intracelulárního prostoru buněk je umožněn více mechanismy, nejčastěji pasivní difúzí skrz plazmatickou membránu

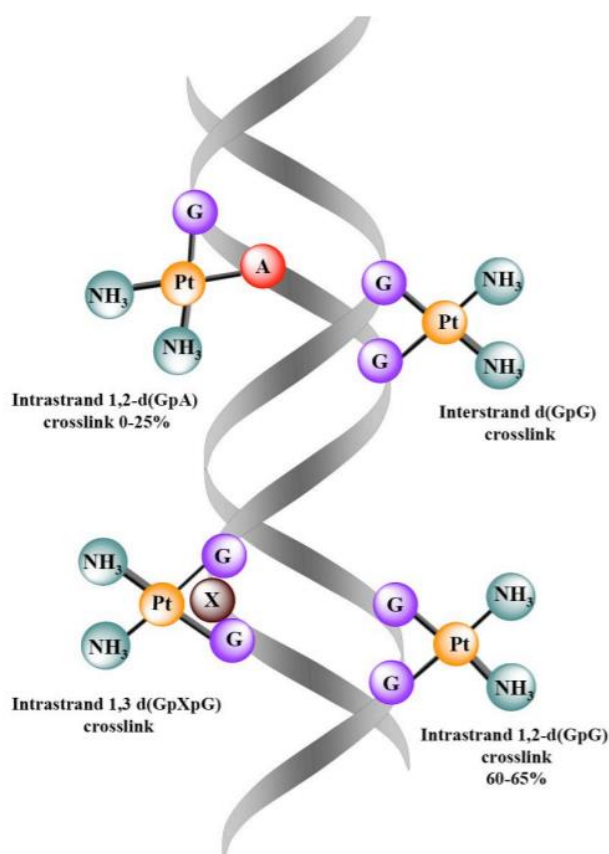


**Obrázek 2.** Mechanismus účinku cisplatiny. (i) Transport léčiva do buňky, (ii) hydratace/aktivace, (iii) vazba na DNA, (iv) buněčné procesy DNA lézí vedoucích k apoptóze rakovinové buňky (převzato z [5])

ve směru gradientu koncentrace chloridových aniontů (v intracelulárním prostoru je koncentrace chloridových aniontů nižší - 4–10 mM). Vedle pasivní difúze probíhá také aktivní transport prostřednictvím membránových proteinů ze skupiny Ctr, konkrétně přenašeči pro ionty mědi Ctr1. Také jsou uvažovány transportní proteiny na bázi organických kationtů. Nicméně otázka transportu cisplatinu do plazmatické membrány buněk je stále otevřená [5,6,15].

Dalším krokem po vstupu léčiva do cytoplazmy buněk je jeho aktivace. Dochází k pomalé hydrataci cisplatinu, kdy dojde k substituci chloro ligandů za molekuly vody za vzniku monoqua- a diaqua-komplexů o složení  $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)Cl]^+$  resp.  $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$ , což je umožněno nižší koncentrací chloridových aniontů v cytoplazmě buněk v porovnání s intracelulárním prostorem. Tyto hydrolyzované produkty patří mezi reaktivní elektrofilu, jejichž cílem jsou zejména nukleofilní centra purinových bází molekuly DNA v buněčném jádře (Obrázek 2). Na druhou stranu aktivované formy cisplatinu reagují i s nukleofily obsaženými v cytoplazmě (glutathion (GSH), methionin, metalothioneiny aj.), které jednak výrazně snižují účinnost léčby a také mohou být jedním z faktorů vzniku rezistence buněk k samotnému léčivu (viz níže) [4,5,12,15].

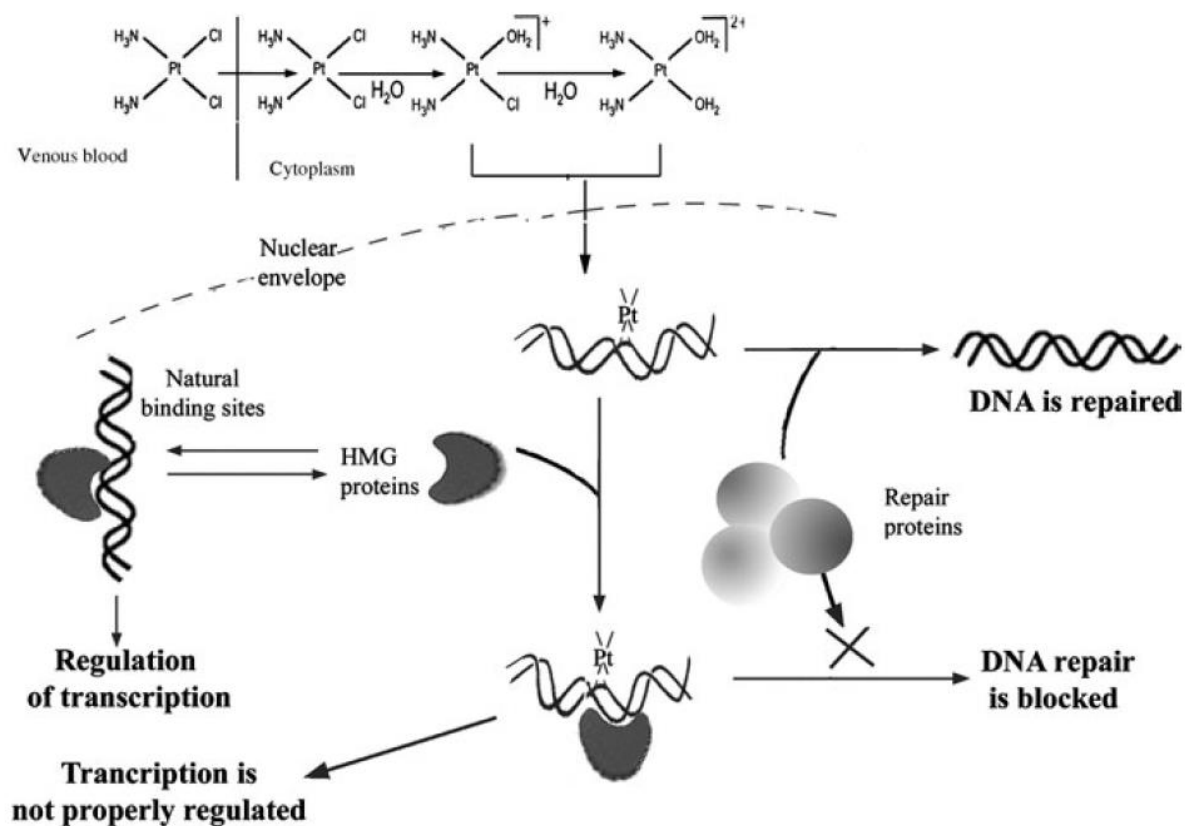
Aktivovaná cisplatinu vstupuje do jádra buňky, kde dochází k substituci koordinovaných vod za purinové báze molekuly DNA, které jsou primárním cílem působení cisplatinu a platnatých analog (Obrázek 3). Po desetiletích výzkumu, kdy byla experimentálně potvrzena hypotéza o tvorbě DNA aduktů (cisplatinu + nukleotidové báze DNA), bylo dále zjištěno, že dochází i k interakcím léčiva s proteiny a RNA, které mohou rovněž hrát důležitou roli



**Obrázek 3.** Typy aduktů DNA s cisplatinou (převzato z [18])

v aktivitě léčiva [5]. V DNA aduktech je cisplatina preferenčně koordinována na N7 atomy purinových bází a dochází k tvorbě vnitřetězcových 1,2-GG můstků (zastoupeny z ca 65%), 1,2-AG můstků (ca 25%), 1,3-GG můstků (5–10%) a v minoritním počtu dále vznikají meziřetězcové můstky a monofunkční adukty. U ostatních platnatých komplexů (oxaliplatina, karboplatina) byla zjištěna obdobná tvorba aduktů [4,5,8,17].

V důsledku vzniku DNA aduktů dochází k distorzi DNA (mezi 30° a 60° směrem k velkému žlábků) a rozvinutí šroubovice (až o 23°). Distorze DNA je rozpoznána tzv. High Mobility Group (HMG) proteiny, což je sekvence 80 aminokyselin. Bylo objeveno, že HMG proteiny navázané na DNA adukty chrání DNA před opravnými enzymy (např. nukleotidová excisní oprava). Takže ve výsledku se nejedná pouze o distorzi DNA, kdy je narušená její funkčnost, ale také schopnost HMG proteinů modifikovanou molekulu jaderné DNA částečně chránit před kaskádou opravných mechanismů buňky (Obrázek 4). V buňce jsou aktivovány signální transdukční dráhy, které jsou zapojeny do rozpoznávání poškození DNA, jejich oprav, zastavení buněčného cyklu a zahájení programované buněčné smrti (apoptózy). Distorze DNA rovněž brání normálnímu průběhu replikace a transkripce v procesu



Obrázek 4. Molekulární mechanismus protinádorové aktivity cisplatiny (převzato z [4])

proteosyntézy, což v konečném důsledku vede k apoptóze léčených rakovinných buněk, přeneseně k léčbě nádorového onemocnění [5,6,9,13].

Bohužel, i léčba cisplatinou je v určitých směrech omezena, a to z důvodu mnohdy závažných vedlejších účinků a rezistence, které významně ovlivňují kvalitu a výsledek léčby. Mezi vedlejší účinky patří nefrotoxicita (poškození fyziologické funkce ledvin), nevolnost, zvracení, neurotoxicita (poškození nervového systému), ototoxicita (poškození sluchového aparátu), myelosuprese (porucha krvetvorby) aj. Naproti tomu cisplatin, jako jediná z léčiv na bázi platiny, nezpůsobuje ve větší míře alopecii (vypadávání až ztráta vlasů). Výše zmíněná nefrotoxicita vážně ohrozila schválení cisplatin jako protinádorového léčiva. Z toho důvodu byly vyvinuty techniky tzv. prehydratace, které spočívají v podávání nadměrného množství vody a diuretik pacientům před samotnou chemoterapií. Proces prehydratace tak výrazně ovlivnil rychlost, s jakou je platina odstraňována ledvinami, čímž zmírnil vysokou toxicitu a rovněž umožnil zvýšit samotnou terapeutickou dávku cisplatin [4,6,8,13].

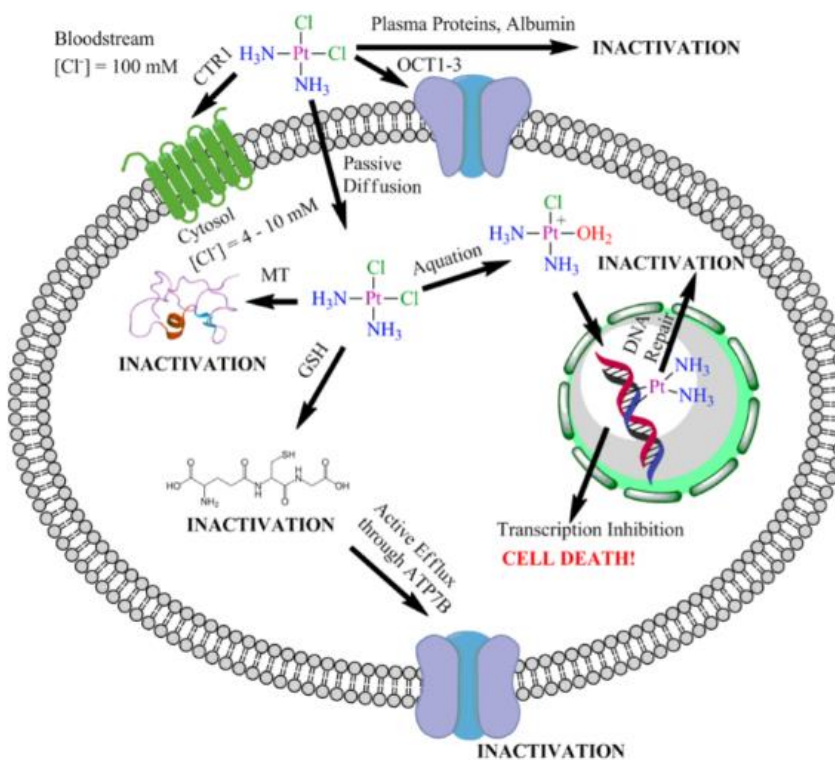
Výše zmíněné nežádoucí účinky cisplatin mohou znamenat, že předepsané dávkování léčiva může být subletální pro nádorová onemocnění a nádorové buňky si tak mohou vyvinout rezistenci pro další léčbu. Jsou známy tři hlavní mechanismy rezistence vůči cisplatině (Obrázek 5) [6,13,15,18]:

- snížený buněčný příjem (influx) do buňky nebo zvýšený buněčný výdej (efflux) z buňky;
- degradace a deaktivace léčiva intracelulárními thioley (GSH, metalothioneiny aj.);
- vylepšené opravné mechanismy ke vzniklým aduktům s DNA.

U cytostatik na bázi platiny rozlišujeme dva typy rezistence. *Získaná rezistence* vzniká v průběhu léčby cisplatinou (např. rakovina vaječnicků), kdy jsou podané dávky léčiva subletální pro nádory odolávající pak i následné léčbě. *Vrozená rezistence* vůči cisplatině je taková, kdy nádorové buňky (typicky rakovina tlustého střeva) na léčbu nikterak nereagují ani při vyšším dávkování [4,6,13,18].

Toxicita spojená s negativními vedlejšími účinky a rezistence při protinádorové léčbě cisplatinou vedly a stále vedou týmy vědců po celém světě k vývoji dokonalejších léčiv jak na bázi platiny, tak i jiných kovů (např. Au, Cu, Zn, Ru, Os, Ir aj.), které by při srovnatelné aktivitě vykazovaly nižší vedlejší účinky a účinně by překonávaly jeden či více mechanismů rezistence. Navíc, od schválení cisplatin jako protinádorového léčiva uběhlo

více jak 30 let a během této doby vstoupilo do klinického testování 23 dalších léčiv na bázi platiny, kdy pouze dvě léčiva (karboplatina, oxaliplatina) získaly mezinárodní schválení a další tři (lobaplatina, nedaplatina a heptaplatina) získaly schválení pouze na národní úrovni některých asijských zemí [6].

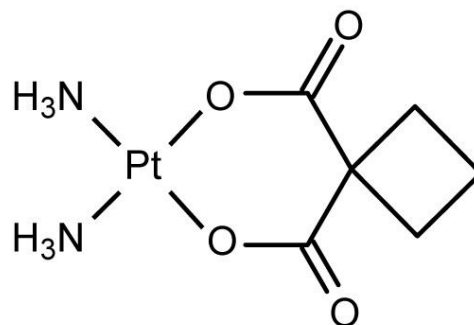


**Obrázek 5.** Mechanismy rezistence tumoru k cisplatině a její inaktivace (převzato z [19])

## 2.2.2 Další klinicky používané platnaté komplexy

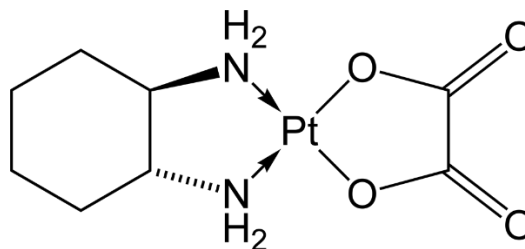
**Karboplatina.** Karboplatina, diammin-[1,1'-cyklobutandikarboxylato-*O,O'*]platnatý komplex (Obrázek 6), známá pod obchodním názvem Paraplatin®, je přímým analogem cisplatinu (tzv. léčivo druhé generace). Karboplatina byla speciálně navržena tak, aby byla snížena toxicita a s ní spojené vedlejší účinky léčby cisplatinou. Toho bylo dosaženo výměnou chloro ligandů za bidentátně vázaný 1,1'-cyklobutandikarboxylato ligand, který za fyziologických podmínek hydrolyzuje mnohonásobně pomaleji ve srovnání s hydrolyzou chloro ligandů cisplatinu. Právě díky nižší reaktivitě může být karboplatina podávána v mnohem vyšších dávkách ( $300\text{--}450 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) než cisplatinu ( $20\text{--}120 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) [6]. Karboplatina je, podobně jako cisplatinu, schválena k léčbě širokého spektra nádorových

onemocnění (např. rakovina vaječníků, plic, hlavy a krku) a vlivem snížení spektra nepříznivých vedlejších účinků je karboplatina pacienty mnohem lépe tolerována a může být užita v několikanásobně vyšších dávkách než cisplatina [9,12]. Mezi limitující vedlejší účinky patří leukopenie, neutropenie a trombocytopenie [6]. Z hlediska mechanismu účinku, karboplatina tvoří podobné spektrum DNA aduktů jako cisplatina [4]. V roce 2006 navíc FDA schválila užívání karboplatiny v kombinaci s léčivý bevacizumabem a paklitaxelem pro pacienty s neoperovatelnými a pokročilými metastázemi rakoviny plic [13]. Nedávno také karboplatina úspěšně dokončila II. a III. fázi klinického testování pro léčbu rakoviny slinných žláz a smíšených müllerianských tumorů urogenitálního ústrojí [6].



**Obrázek 6.** Strukturální vzorec karboplatiny

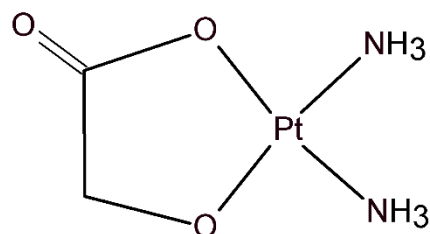
**Oxaliplatina.** Oxaliplatina (Eloxatin®), [(1*R*,2*R*)-cyklohexan-1,2-diamin] [ethandioato-*O,O'*]platnatý komplex (Obrázek 7), byl prvním schváleným léčivem se schopností léčit nádory rezistentní vůči cisplatině. Navíc nevykazuje křížovou rezistenci k cisplatině [4,6]. Oxaliplatina je léčivem na bázi platiny třetí generace, které získalo mezinárodní schválení pro léčbu rakoviny tlustého střeva. Na rozdíl od cisplatiny nebo karboplatiny má nepatrně odlišný mechanismus účinku [18]. Tvoří GG vnitrořetězcové můstky a objemný hydrofobní 1,2-diaminocyklohexan (DACH) míří do velkého žlábků DNA a zabraňuje tak vazbě opravných proteinů. Ve srovnání s cisplatinou snižuje oxalato ligand toxicitu a s ní spojené vedlejší účinky. Oxaliplatina nevykazuje nefrotoxicitu, ototoxicitu nebo myelosupresi [4,6]. Mezi další výhody léčby oxaliplatinou patří možnost kombinace s dalšími léčivými (např. 5-fluoruracilem a leukovorinem) při léčbě rakoviny tlustého střeva [4,20]. Současné klinické studie se snaží nadále rozšířit její spektrum aktivity o metastazující adenokarcinomy žaludku a jícnu a současně také zvýšit její efektivitu při léčbě rakoviny tlustého střeva v kombinaci s dalšími léčivými (např. irinotecanem nebo kapecitabinem) [6].



**Obrázek 7.** Strukturální vzorec oxaliplatiny

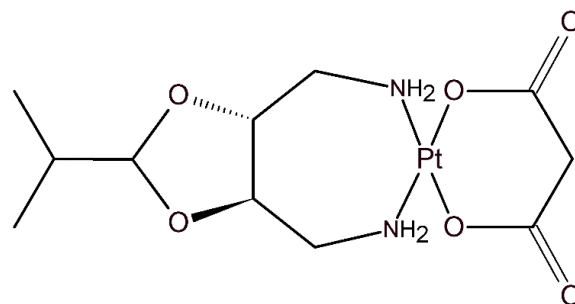


**Nedaplatina.** Nedaplatina, diammin[hydroxyacetato-*O,O'*]platnatý komplex (Obrázek 8), látka známá pod obchodním názvem Aqupla®, patří spolu s karboplatinou do druhé generace léčiv na bázi platiny [6,8]. Na rozdíl od cisplatiny má nedaplatina zhruba desetkrát vyšší rozpustnost ve vodě a navíc byla prokázána mnohem nižší toxicita než u cisplatiny [6]. Struktura nedaplatiny je podobná karboplatině, i proto z hlediska mechanismu účinku tvoří obdobné typy DNA aduktů, jako zmíněná karboplatina a cisplatin [4]. Nedaplatina získala pouze národní schválení v Japonsku, kde je od roku 1995 lékem první volby pro léčbu rakoviny hlavy, krku, vaječníků, jícnu a plic [4,13,15]. Maximální tolerovaná dávka (MTD) je  $90 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$  a mezi hlavní vedlejší účinky patří myelosuprese, trombocytopenie a neutropenie [6]. Nedávné výsledky I. a II. fáze klinických studií vykazují několik velmi slibných výsledků při použití nedaplatiny v kombinované léčbě s paklitaxelem při léčbě metastazujícího karcinomu jícnu, nebo v kombinaci s docetaxelem při kombinované léčbě spinocelulárního karcinomu ústní dutiny. V současné době navíc probíhají další klinické studie, které zkoumají další možnosti pro chemoterapeutické použití nedaplatiny [5,6,18].



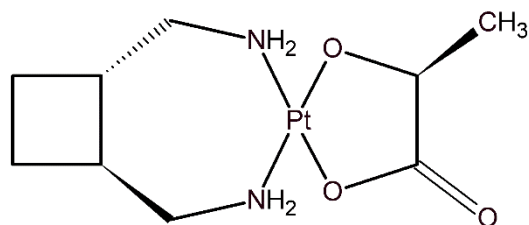
**Obrázek 8.** Strukturní vzorec nedaplatiny

**Heptaplatina.** Heptaplatina, [propandioato-*O,O'*][2-(1-methylethyl)-1,3-dioxolan-4,5-dimethanamin-*N,N'*]platnatý komplex (Obrázek 9), byla schválena v roce 1999 v Jižní Koreji pro léčbu rakoviny žaludku [5]. Heptaplatina byla vybrána do klinických studií z důvodu vyšší *in vitro* a *in vivo* cytotoxicity vůči různým buněčným liniím než u cisplatiny. Navíc vykazuje mnohem vyšší stabilitu a protinádorovou aktivitu vůči buňkám rezistentním k cisplatině a nebyla zjištěna výrazná toxicita [6,18]. MTD je  $480 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ , kdy byla zjištěna hepatotoxicita, nefrotoxicita a myelosuprese. Studia III. fáze klinického testování ukázaly, že společná aplikace heptaplatiny s 5-fluoruracilem je srovnatelná s kombinací cisplatin/5-fluoruracil. U kombinované léčby heptaplatiny s 5-fluoruracilem navíc byly prokázány mnohem nižší vedlejší účinky (myelosuprese aj.) [6,15,18].



**Obrázek 9.** Strukturní vzorec heptaplatiny

**Lobaplatina.** Lobaplatina, [2-hydroxypropanoato-*O,O'*][1,2-cyklobutandimethanamin-*N,N'*]platnatý komplex (viz Obrázek 10), patří spolu s oxaliplatinou a heptaplatinou mezi platnatá léčiva třetí generace [6]. Lobaplatina byla schválena v Číně v roce 2010 pro léčbu chronické myeloidní leukémie a také je užívána pro léčbu pacientů trpících malobuněčnou rakovinou plic a metastazující rakovinou prsu [5,6]. Lobaplatina je podávána v diastereomerní (chirální) směsi *S,S*- a *R,R*-konfigurace nosného ligandu a při jejím podání nebyla zjištěna alopecie, nefrotoxicita, neurotoxicita ani ototoxicita. Na druhou stranu, při léčbě lobaplatinou jsou běžné trombocytopenie, anemie, leukopenie, nevolnost a zvracení, které je možné minimalizovat užíváním antiemetik. Lobaplatina byla dále studována v kombinaci s vinorelbinem v léčbě pozdních stádií nemalobuněčného karcinomu plic, ale nebylo zjištěno zásadní zlepšení účinnosti ve srovnání s kombinací vinorelbin/cisplatina. Kombinace lobaplatiny s 5-fluoruracilem a leukovorinem jsou v současnosti ve III. fázi klinických studií pro léčbu metastazujícího karcinomu jícnu [6,21].



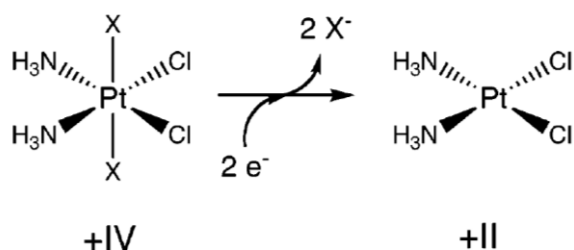
**Obrázek 10.** Strukturální vzorec lobaplatiny

### 2.3 Protinádorově aktivní platičité komplexy

Platnaté komplexy, v čele s cisplatinou, jsou široce využívány v protinádorové chemoterapii, ale jejich účinnost proti většině nádorů je limitována. Mezi hlavní důvody patří již zmíněná rezistence a vedlejší účinky spojené s dávkou limitující toxicitou (DLT) [22–28]. Platičité komplexy nabízejí příležitost k alespoň částečné eliminaci některých výše uvedených problémů spojených s klinickou aplikací Pt(II) léčiv. Mezi hlavní výhody Pt(IV) komplexů patří vyšší kinetická stabilita, nižší reaktivita a vyšší rozpustnost ve vodě. Výhodou je také oktaedrická geometrie, jež nabízí dvě axiální pozice pro další ligandy. Racionálním zaváděním různých axiálních ligandů do struktur Pt(IV) komplexů je možné cíleně získat zcela nové látky s vylepšenými vlastnostmi (lipofilita, rychlost redukce, nižší vedlejší účinky, zvýšená aktivita aj.) [22,29,30].

Komplexy platiny v oxidačním stavu +IV představují skupinu protinádorových látek, jejichž mechanismus účinku spočívá v následujících krocích. Původně inaktivní Pt(IV)

komplex je aplikován ve formě tzv. proléčiva. Ke konverzi Pt(IV) proléčiva na biologicky aktivní Pt(II) formu dochází redukcí za specifických podmínek (pH, přítomnost intracelulárního redukčního činidla, případně aplikace vhodného elektromagnetického záření) v intracelulárním prostoru nádorových buněk (Obrázek 11) [22,29]. Proces také vede ke ztrátě axiálních ligandů, jež mohou být nositeli vlastních farmakologických vlastností. Vzniklá reaktivní Pt(II) forma dané sloučeniny se chová podobně jako výše popsaná cisplatina a její analoga (tj. hydrolytická aktivace a tvorba aduktů s jadernou DNA) [15,22,30–32]. Redukce a rychlost vzniku reaktivních Pt(II) forem jsou tedy zcela zásadními parametry pro vlastní protinádorovou aktivitu daných Pt(IV) sloučenin [29,30].



**Obrázek 11.** Schéma dvouelektronové redukce Pt(IV) komplexů na Pt(II) komplexy (např. cisplatina) za odštěpení dvou axiálních ligandů (převzato z [22])

I přes velký potenciál, který platičité komplexy nabízí, není v současné době žádný registrován a schválen jako léčivo v protinádorové chemoterapii. Nicméně, celkem čtyři Pt(IV) komplexy v minulosti vstoupily do klinického testování (viz níže) [22,31].

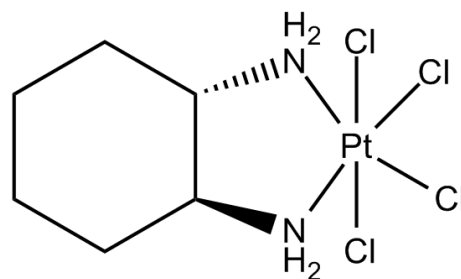
### 2.3.1 Klinicky testované komplexy

**Ormaplatina.** Ormaplatina, tetrachloro-(1,2-diaminocyklohexan)platičítý komplex (tetraplatina; Obrázek 12), je látka, která byla vybrána ze skupiny 28 podobných komplexů díky své *in vitro* a *in vivo* aktivitě proti leukemii, rakovině vaječníků, melanomům, myelomům a rakovině prsu [5,6,32]. Proléčivo mělo nabídnout řešení při léčbě onemocnění, které byly rezistentní k cisplatině. Na rozdíl od cisplatiny byla u ormaplatiny prokázána mnohem nižší nefrotoxicita a dále byla zjištěna její vazba k lidským proteinům přímým nukleofilním atakem, zatímco klasická aktivace hydrolyzou jako u cisplatiny a jejich analog

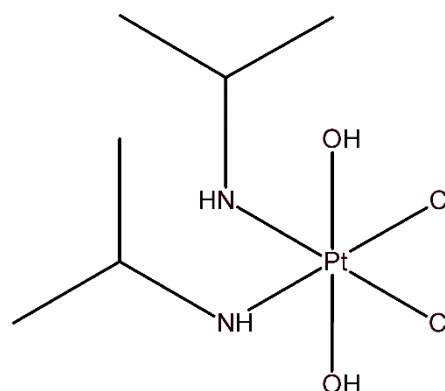
potvrzena nebyla [18,33]. V *in vitro* a *in vivo* studiích bylo zjištěno, že po vstupu tetraplatiny do tkáně dochází k její velmi rychlé redukci na platnatý  $[PtCl_2(DACH)]$  komplex, který je podobný aktivní částici oxaliplatiny. Vysoká rychlost redukce ormaplatiny je obecně způsobena vysokým redukčním potenciálem, který je pro Pt(IV) komplexy s chloro ligandy v axiálních polohách charakteristickým parametrem [6,31].

V I. fázi klinického testování bylo ormaplatinou léčeno více než sto pacientů. Z důvodu závažné kumulativní a ireverzibilní neurotoxicity při podání maximální tolerované dávky ormaplatiny (MTD) a nemožnosti zjistit její bezpečnou MTD, ormaplatina nikdy nepostoupila do II. fáze klinického testování [5,6,18,42].

**Iproplatina.** Iproplatina, známá také jako JM-9 nebo CHIP, je *cis,trans,cis*-dichloro-dihydroxo-bis(isopropylamin)platičitý komplex (Obrázek 13) [36]. Mechanismus účinku zahrnuje redukci Pt(IV) proléčiva na Pt(II) komplex a následně kovalentní vazbu na DNA. Iproplatina je, oproti ormaplatině, méně náchylná k redukci a deaktivaci biologickými redukčními činidly, a to pravděpodobně kvůli přítomnosti axiálních hydroxo ligandů [5,6]. Ze všech léčiv na bázi platiny, které kdy vstoupily do klinických testování na lidech, ale neuspěly či nezískaly obchodní schválení, byla iproplatina zdaleka nejvíce testována (5 testů v I. fázi, 22 testů ve II. fázi a 1 test ve III. fázi, v souhrnu více než 1000 pacientů) [5,6,37]. I. fáze klinického testování iproplatiny ukázala, že dávka limitující toxicitu způsobuje myelosupresi a částečnou kumulativní trombocytopenii a odpovídá minimální toxické dávce až  $350 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$  při intravenózním podávání. Pro II. fázi klinických testů na různých druzích rakoviny (rakovina vaječníků, prsu, děložního čípku, tlustého střeva, varlat aj.) byla doporučena dávka do  $100 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$  [6,37]. Ve většině případů klinických testů byla iproplatina neaktivní a v případech, kde byla iproplatina aktivní, byla pozorována menší efektivita než u cisplatiny



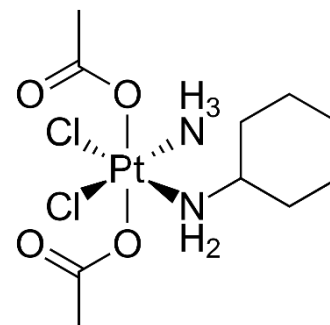
**Obrázek 12.** Strukturální vzorec ormaplatiny



**Obrázek 13.** Strukturální vzorec iproplatiny

a karboplatiny [5]. Dalšímu testování bránily vlastní toxické účinky iproplatinu, které vedly v některých případech až ke smrti z důvodu kumulativní trombocytopenie. Ve III. fázi testů byl studován vliv iproplatinu v kombinaci s cyklofosfamidem na rakovinu vaječníků, ale aktivita léčiva nepředčila cisplatinu [5,6,31,37].

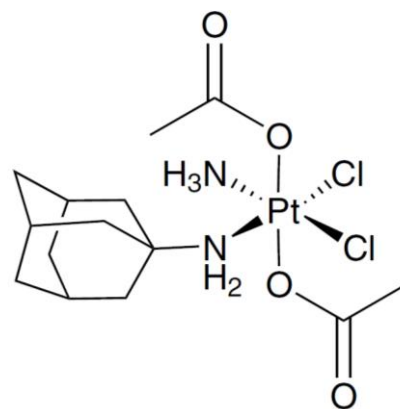
**Satraplatina.** Satraplatina (též JM-216), *cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)Cl<sub>2</sub>(ac)<sub>2</sub>(cyklohexylamin)] komplex (ac = acetato), je prvním perorálně podávaným platičtým proléčivem, vykazujícím protinádorovou aktivitu proti několika na cisplatinu senzitivním i rezistentním buněčným liniím, a to na úrovni *in vitro* [5,38] i *in vivo* [6,39]. Její výhodou je snadnost vstřebávání mukózní sliznicí žaludku. Je redukována na nejméně šest odlišných platnatých komplexů, z nichž je nejvíce zastoupen ammin-dichloro-(cyklohexylamin)platnatý komplex (JM-118) nesoucí výraznou protinádorovou aktivitu [6,38]. V preklinických studiích byla dále potvrzena nižší toxicita ve srovnání s cisplatinou. Obdobně jako u cisplatinu, je mechanismus účinku satraplatiny založen na tvorbě DNA aduktů, které způsobují distorzi DNA a následnou inhibici transkripce a replikace [5,38,39]. Satraplatina vykazuje nadějnou klinickou aktivitu proti rezistentnímu a metastazujícímu karcinomu prostaty. MTD proléčiva byla 45–50 mg·m<sup>-2</sup> s vedlejšími účinky jako je myelosuprese a zvracení. Ve II. fázi klinického testování byla satraplatina použita také pro léčbu nemalobuněčné rakoviny plic. V jiném testu byla také testována pro léčbu vysoce regresivnímu typu rakoviny prostaty. V následující III. fázi klinického testování byla zkoumána i kombinovaná chemoterapeutická léčba SPARC (satraplatin and prednisolone against refractory cancer). Bylo zjištěno, že satraplatina významně redukuje riziko progresu rakoviny prostaty o 40 %. Výsledkem pozitivních testů byla žádost firmy „GPC biotech“ o schválení satraplatiny jako léčiva, která ale byla úřadem FDA zamítnuta na základě toho, že při léčbě satraplatinou nebyla prokázána přesvědčivá aktivita, pokud jde o celkové přežití pacientů. Dále byly vzneseny obavy, že 50 % klinicky testovaným pacientům byla v minulosti podána předchozí léčba docetaxelem [5,6,13,38,40]. Satraplatina byla dále testována v různých fázích klinických testů v kombinaci s léčivy jako paklitaxel pro léčbu rakoviny plic, kapecitabin k léčbě pokročilých nádorových onemocnění a rovněž ve spojení s radioterapií. Většina testů



**Obrázek 14.** Strukturální vzorec satraplatiny

však byla pozastavena nebo zrušena zejména z důvodu nedostatku financí nebo nedostatečné aktivity [13,41].

**LA-12.** Vedle ormaplatiny, iproplatiny a satraplatiny také (OC-6-43)-bis(acetato)(1-adamantylamin)ammin-dichloroplaticitý komplex (LA-12; Obrázek 15) vstoupil do klinického testování [15]. LA-12 je přímým analogem satraplatiny, který namísto cyklohexylaminu obsahuje 1-adamantylamin [5,44]. LA-12 vykazuje podobnou aktivitu jako satraplatina, včetně onemocnění, které jsou rezistentní k léčbě cisplatinou [43]. Komplex LA-12 také vykazuje vyšší protinádorovou aktivitu ve srovnání jak s cisplatinou, tak i se satraplatinou. Jeho další výhodou je nižší akutní toxicita prokázána i v preklinických *in vivo* studiích [44]. U komplexu LA-12 byla také prokázána *in vivo* aktivita u myšího mnohočetného myelomu a rakoviny vaječníků. Na základě pozitivních výsledků výše zmíněných studií látka LA-12 úspěšně dokončila I. fázi klinických testů a je nadále testována [15].



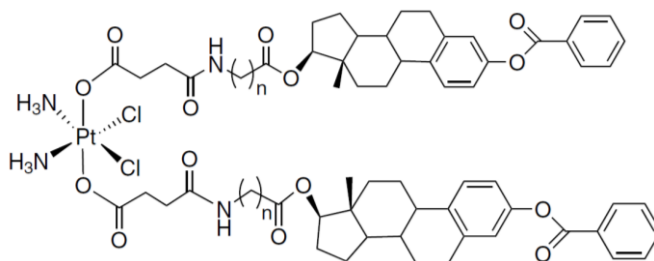
**Obrázek 15.** Strukturální vzorec komplexu LA-12

### 2.3.2 Platičité komplexy s biologicky aktivními *O*-donorovými ligandy

Ve všech příkladech platičitých komplexů, které byly popsány v kapitole 2.3.1., vedla jejich vnitrobuněčná redukce ke vzniku aktivního platnatého komplexu a biologicky neaktivních ligandů. Zavedením jednoho či více biologicky aktivních *O*-donorových ligandů do struktury platičitého komplexu může vést k tvorbě nových proléčiv, nabízejících zlepšení farmakologických vlastností takových Pt(IV) proléčiv, zvýšení selektivity k rakovinovým buňkám aj. Jedním ze současných trendů je design a studium Pt(IV) proléčiv s duálním účinkem (tzv. „*dual action prodrugs*“), nejčastěji odvozených od cisplatiny, oxaliplatiny nebo jejich derivátů. Příklady takových látek jsou např. ethacraplatina nebo mitaplatina (viz níže) se dvěma biologicky aktivními axiálními *O*-donorovými ligandy. V této strategii vývoje protinádorových Pt(IV) proléčiv byly v minulosti již použity *O*-donorové ligandy

odvozené od kyseliny dichloroctové, kyseliny valproové nebo kyseliny 4-fenylbutanové, kterým se věnuje i praktická část předložené diplomové práce.

První pokus se spojením klinicky schváleného Pt(II) léčiva s biologicky aktivními ligandy vzešel z práce skupiny Prof. Lipparda, kteří připravili Pt(IV) derivát cisplatiny obsahující v axiálních polohách deriváty hormonu estrogenu (Obrázek 16). Proléčivo bylo navrženo pro léčbu rakoviny prsu a vaječníků, jejichž buňky obsahují estrogenový receptor. Po akumulaci v buňkách dochází k redukci za vzniku cisplatiny a estrogenu, přičemž bylo prokázáno synergické působení obou složek. Deriváty estrogenu indukovaly expresi proteinu HMGB1, který chrání vzniklé DNA-adykty s cisplatinou před buněčnými opravnými mechanismy [15,45,46].



**Obrázek 16.** Strukturní vzorec Pt(IV) komplexu s derivátem estrogenu v roli axiálních ligandů (převzato z [15])

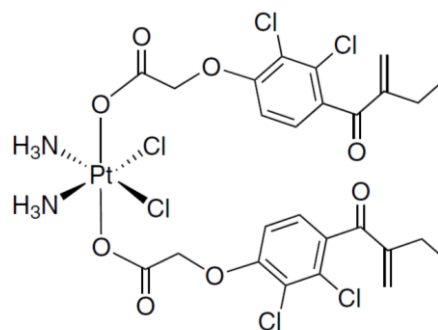
Dále byla studována cytotoxicita podobných Pt(IV) komplexů (BEP1–BEP5) s deriváty estrogenu v roli axiálních ligandů na buněčných liniích ER(+) MCF-7 a ER(-) HCC-1937 rakoviny prsu (Tabulka 1). Látky BEP1 a BEP2 vykazují podobnou cytotoxicitu

**Tabulka 1.** Hodnoty  $IC_{50}$  (v  $\mu M$ ) studovaných Pt(IV) komplexů s deriváty estrogenu (BEP1–BEP5; upraveno a převzato z [45])

Compound	MCF-7	HCC-1937
BEP1	3.2 ± 0.1	3.4 ± 0.4
BEP2	3.0 ± 0.2	3.6 ± 1.2
BEP3	2.1 ± 0.4	3.7 ± 0.9
BEP4	3.7 ± 0.5	4.8 ± 0.5
BEP5	5.5 ± 1.7	3.0 ± 0.2

v obou liniích, zatímco látka BEP5 vykazuje vyšší cytotoxicitu v linii buněk HCC-1937. Naproti tomu látky BEP3 a BEP4 vykazují vyšší cytotoxicitu na linii MCF-7. Odlišnost působení testovaných látek v obou liniích autoři opět vysvětlují zvýšenou regulací proteinu HMGB1 [45].

Ethacraplatina je Pt(IV) derivátem cisplatiny obsahujícím v axiálních pozicích anionty kyseliny etakrynové (Obrázek 17). Tato látka byla navržena s cílem obejít rezistenci, která vzniká vazbou platnatých komplexů na glutathion, jelikož kyselina etakrynová je inhibítozem enzymu glutathion-S-transferázy (GST), jež odpovídá za vznik vazby glutathionu a léčiva (např. cisplatinu), který vede k detoxifikaci léčené buňky a snížení účinnosti léčiva [15,46,47]. Cytotoxicita ethacraplatiny byla studována na buněčných liniích rakoviny prsu (MCF7 a T47D), plic (A549) a tlustého střeva (HT29), kde tato látka vykazovala srovnatelnou a ve většině případů vyšší cytotoxicitu ve srovnání s cisplatinou (Tabulka 2) [47]. V podobně zaměřené práci však jiní autoři demonstrovali, že inhibice GST, ve snaze snížit rezistenci nádorových buněk k léčivu, není výhodnou strategií v protinádorové terapii [48].



**Obrázek 17.** Ethacraplatina, Pt(IV) derivát cisplatinu s kyselinou etakrynovou v pozici axiálních ligandů (převzato z [15])

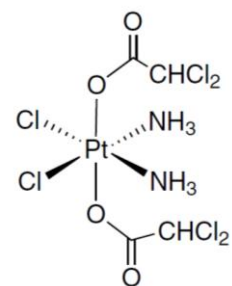
**Tabulka 2.** Srovnání cytotoxicity cisplatinu a ethacraplatiny na vybraných rakovinových buněčných liniích (upraveno a převzato z [47])

test compound	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)							
	MCF7		T47D		HT29		A549	
	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h	24 h	72 h
cisplatin	>80	36.02	>80	58.82	>80	16.82	>80	31.43
ethacraplatin ( <b>1</b> )	31.85	32.15	31.56	34.88	32.63	12.96	78.59	32.09

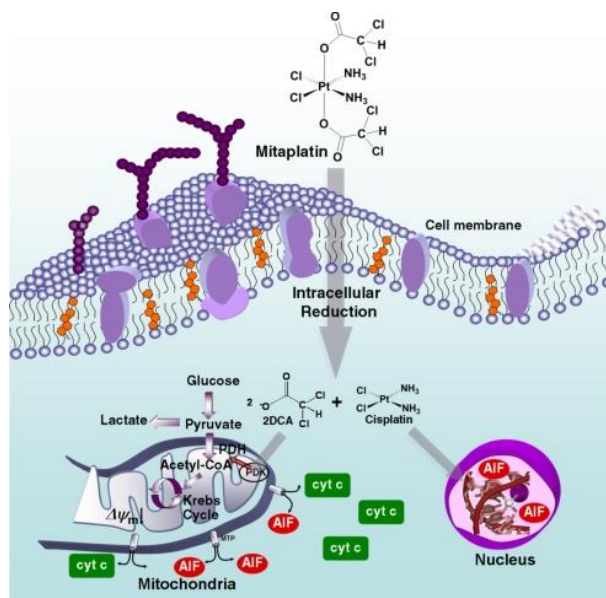
Velmi zajímavých výsledků na poli „*dual action prodrugs*“ bylo dosaženo přípravou a studiem mitaplatiny (*cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>]; Obrázek 18), která je odvozená od



cisplatiny a obsahuje dva axiální dichloracetato ligandy (DC) odvozené od kyseliny dichloroctové (viz kapitola 2.4.). Mechanismus účinku mitaplatiny je založen na rozdílném metabolismu sacharidů nádorových buněk a buněk normálních. Vysoká rychlost růstu nádorové tkáně má za příčinu její nedostatečné prokrvení a vznik hypoxického prostředí. Rakovinové buňky přesto preferují aerobní metabolismus sacharidů, kdy je glukóza metabolizována glykolýzou namísto glukozové oxidace (tzv. Warburgův efekt). Po vstupu Pt(IV) léčiva do buňky dochází k uvolnění DC ligandů, které inhibují pyruvátdehydrogenázové kinázy (PDK), velmi důležité enzymy metabolismu glukózy redukcí hladinu laktátu v buňce vedoucí k zvratu glykolýzy v glukózovou oxidaci, která je charakteristická pro normální buňky. Inhibice PDK navíc indukuje obnovu membránového potenciálu spojenou s fyziologickými funkcemi mitochondrií s možností translokace proapoptických mediátorů a spuštění apoptické kaskády. Výsledkem působení mitaplatiny v buňce je společný útok aktivované cisplatiny a dichloracetátu na DNA a mitochondrie (Obrázek 19) [5,15,19,46,49].



**Obrázek 18.** Strukturální vzorec mitaplatiny



**Obrázek 19.** Intracelulární redukce mitaplatiny na cisplatinu a dichloracetát a jejich duální účinek vedoucí přes tvorbu aduktů cisplatiny s jadernou DNA a inhibici PDK dichloracetátem (převzato z [49])

Mitaplatina vykazuje podobné výsledky *in vitro* cytotoxicity jako cisplatina a rovněž i podobnou selektivitu k nádorovým buňkám (Tabulka 3). Pozdější studie naznačují, že by mitaplatina, ve srovnání s cisplatinou, mohla být mnohem účinnější při testování na buňkách lidského epidermoidního adenokarcinomu a buňkách senzitivní i rezistentní formy hepatomu [50]. Pro zlepšení její účinnosti, byla navíc mitaplatina obalena do nanočástic a její farmakologické vlastnosti byly studovány *in vivo*. Výsledky však neprokázaly vyšší protinádorovou aktivitu obalené mitaplatiny oproti volné mitaplatině a cisplatině [51].

**Tabulka 3.** Cytotoxicita mitaplatiny ve vybraných buněčných liniích ve srovnání s cisplatinou a kyselinou dichloroctovou (DCA) (upraveno a převzato z [49])

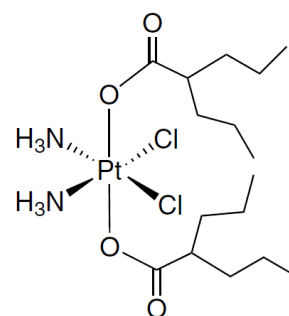
Cell lines*	IC <sub>50</sub> (μM)		
	Cisplatin	Mitaplatin	DCA
NTera-2	0.043	0.051	>0.4
HeLa	1.2	2.0	>8.0
U2OS	3.9	6.4	>100
A549	12.0	14.0	>200
MCF-7	13.0	18.0	>100
MRC-5	9.5	18.3	>100
A2780	0.56	1.1	>120
A2780/CP70	6.0	3.34	>120

Velmi dobrých výsledků dosahují studie konjugátu cisplatininy nebo oxaliplatininy s inhibitory histonových deacetyláz (HDAC), jakou jsou kyselina valproová (VPA) nebo kyselina 4-fenylbutanová (PBA) (viz kapitola 2.4). Odůvodnění použité strategie je v zásadě dvojí [29,46]:

- HDAC inhibitory samy o sobě vykazují protinádorovou aktivitu;
- inhibice HDAC vede k hyperacetylaci určitých histonů, což má za následek rozvolnění struktury chromatinu DNA, čímž se nukleofilní centra DNA stávají dostupnějšími pro atakující léčiva (např. cisplatina nebo oxaliplatina).

V roce 2013 popsaly dva týmy Pt(IV) deriváty cisplatininy se dvěma valproato ligandy (VP) v axiálních pozicích, o složení *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(VP)<sub>2</sub>] (VAAP; Obrázek 20)

[52,53]. Komplex VAAP vykazuje ve srovnání s cisplatinou až 50× vyšší *in vitro* cytotoxicitu, je také aktivnější než analogické komplexy s biologicky inaktivními ligandy (Tabulka 4) [15,52,53,54]. Vyšší cytotoxicita je způsobena vyšší koncentrací platiny v cytosolu buňky a synergickým působením platnatého komplexu a uvolněných valproátů [53]. Podle další práce za zvýšenou protinádorovou aktivitu může vyšší akumulace proléčiva, avšak synergický efekt mezi valproátem a cisplatinou v této studii prokázán nebyl, protože zjištěná hodnota koncentrace valproátu byla příliš nízká pro inhibici HDAC enzymů [52].



**Obrázek 20.** Strukturální vzorec komplexu VAAP (převzato z [15])

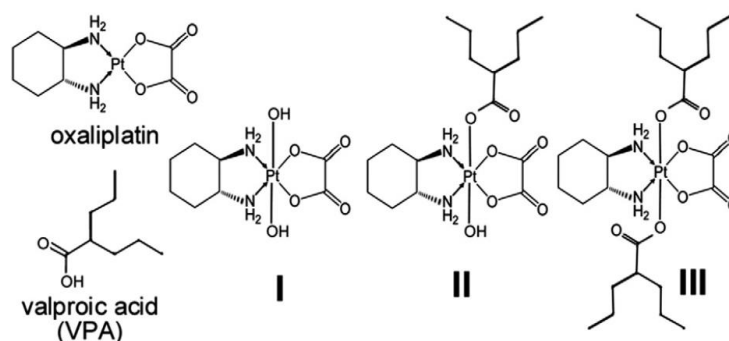
**Tabulka 4.** Hodnoty IC<sub>50</sub> (v μM) studovaných Pt(IV) komplexů o složení *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] (**1**), *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(VP)<sub>2</sub>] (VAAP; **2**), *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OC)<sub>2</sub>] (**3**; OC = oktanoato) (upraveno a převzato z [52])

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	Cisplatin	VPA
A2780	3.7 ± 1.9 × 10 <sup>-6</sup>	11.1 ± 0.3 × 10 <sup>-9</sup>	2.3 ± 0.6 × 10 <sup>-9</sup>	0.5 ± 0.1 × 10 <sup>-6</sup>	1.8 ± 0.7 × 10 <sup>-3</sup>
HCT116	22.9 ± 3.9 × 10 <sup>-6</sup>	77.1 ± 1.3 × 10 <sup>-9</sup>	9.0 ± 0.5 × 10 <sup>-9</sup>	2.3 ± 0.3 × 10 <sup>-6</sup>	1.3 ± 0.2 × 10 <sup>-3</sup>
A549	48.2 ± 27.7 × 10 <sup>-6</sup>	158 ± 35 × 10 <sup>-9</sup>	14.7 ± 3.2 × 10 <sup>-9</sup>	3.8 ± 0.7 × 10 <sup>-6</sup>	0.8 ± 0.5 × 10 <sup>-3</sup>
MCF-7	34.5 ± 1.1 × 10 <sup>-6</sup>	155 ± 49 × 10 <sup>-9</sup>	16.5 ± 4.8 × 10 <sup>-9</sup>	6.5 ± 0.9 × 10 <sup>-6</sup>	4.8 ± 1.1 × 10 <sup>-3</sup>
HMC	>100 × 10 <sup>-6</sup>	1.4 ± 0.2 × 10 <sup>-6</sup>	91.7 ± 2.8 × 10 <sup>-9</sup>	6.7 ± 1.2 × 10 <sup>-6</sup>	7.9 ± 0.1 × 10 <sup>-3</sup>
BR95	78.1 ± 17.5 × 10 <sup>-6</sup> (>1.3)	708 ± 446 × 10 <sup>-9</sup> (1.4)	64.3 ± 19.2 × 10 <sup>-9</sup> (2.0)	6.2 ± 0.9 × 10 <sup>-6</sup> (1.1)	1.5 ± 0.2 × 10 <sup>-3</sup> (5.3)
MG06	74.7 ± 6.8 × 10 <sup>-6</sup> (>1.3)	548 ± 370 × 10 <sup>-9</sup> (2.2)	41.3 ± 11.0 × 10 <sup>-9</sup> (2.6)	4.1 ± 1.5 × 10 <sup>-6</sup> (1.6)	2.2 ± 0.9 × 10 <sup>-3</sup> (3.6)
MM98	78.1 ± 5.6 × 10 <sup>-6</sup> (>1.3)	273 ± 42 × 10 <sup>-9</sup> (5.4)	17.0 ± 3.9 × 10 <sup>-9</sup> (5.9)	3.2 ± 1.0 × 10 <sup>-6</sup> (2.1)	3.9 ± 0.9 × 10 <sup>-3</sup> (2.0)
MM98R	>100 × 10 <sup>-6</sup> (-)	245 ± 53 × 10 <sup>-9</sup> (4.2)	22.0 ± 3.3 × 10 <sup>-9</sup> (5.7)	19.4 ± 2.8 × 10 <sup>-6</sup> (0.4)	3.5 ± 0.7 × 10 <sup>-3</sup> (2.3)

\* BR95, maligní epithelioidní mezoteliom; MM98, maligní sarkomatoidní mezoteliom; MG06, směs s predominancí epithelioidní formy; MM98R, cisplatin rezistentní maligní sarkomatoidní mezoteliom; A2780, karcinom vaječnicků; HCT116, karcinom tlustého střeva; MCF-7, karcinom prsu; A549 - karcinom plic

Vedle konjugátu cisplatinu s VP byly připraveny i platičité komplexy odvozené od oxaliplatinu a obsahující jednu či dvě valproové kyseliny v pozici axiálních ligandů (Obrázek 21) [55]. Autoři prezentovali Pt(IV) deriváty oxaliplatinu s jedním nebo se dvěma axiálními valproato ligandy [55]. U připravených komplexů byla, mimo jiné, studována cytotoxicita proti cisplatinu-senzitivním a -rezistentním buněčným liniím rakoviny vaječnicků

a také buněčném liniím rakoviny prsu (Tabulka 5). Zjištěné hodnoty  $IC_{50}$  prokázaly, že dihydroxo komplex **I** vykazuje nižší nebo srovnatelnou cytotoxicitu ve srovnání s oxaliplatinou. Nahrazením jednoho či obou hydroxo ligandů valproato ligandy mělo u komplexů **II** a **III** za následek rapidní zvýšení cytotoxicity. Zmíněné Pt(IV) deriváty oxaliplatin, tak představují slibné kandidáty pro další preklinické studie.



**Obrázek 21.** Protinádorové Pt(IV) deriváty oxaliplatin s valproato ligandy (převzato z [55])

**Tabulka 5.** Cytotoxicita ( $IC_{50}$ ;  $\mu$ M nebo mM) oxaliplatin, komplexů  $[Pt(DACH)(OH)_2(ox)]$  (**I**; ox = oxalato),  $[Pt(DACH)(OH)(VP)(ox)]$  (**II**) a  $[Pt(DACH)(VP)_2(ox)]$  (**III**) a kyseliny valproové (VPA).

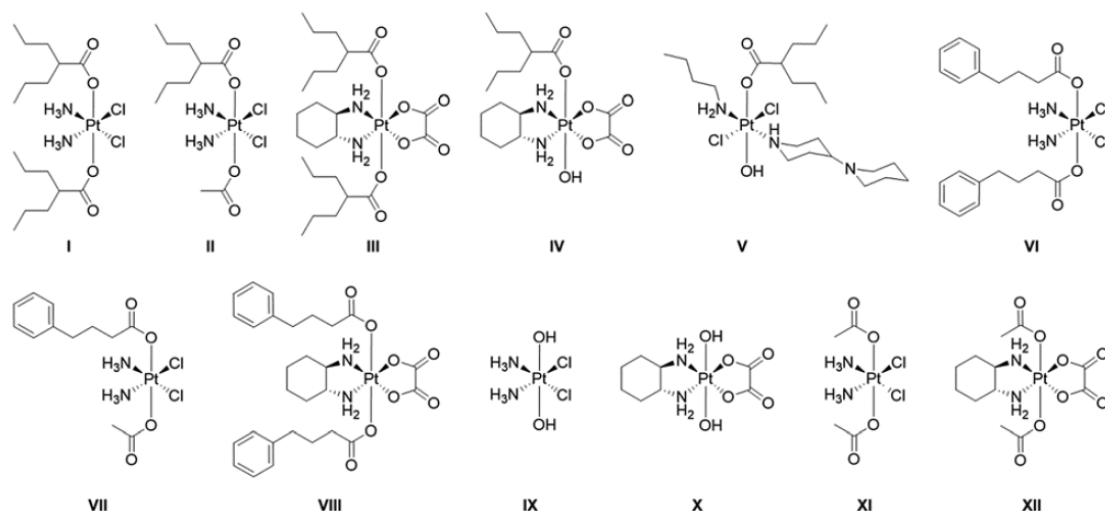
RF = rezistenční faktor ( $IC_{50}(A2780/cisR)/IC_{50}(A2780)$ ). Upraveno a převzato z [55]

	A2780	A2780/cisR	RF <sup>b</sup>	MCF-7
Oxaliplatin ( $\mu$ M)	0.52 $\pm$ 0.08	4.2 $\pm$ 1.6	8.1	19.6 $\pm$ 1.5
<b>I</b> ( $\mu$ M)	11.4 $\pm$ 1.8	22.5 $\pm$ 4.6	2.0	77.4 $\pm$ 15.3
<b>II</b> ( $\mu$ M)	5.4 $\pm$ 0.5	16.1 $\pm$ 0.7	3.0	31.6 $\pm$ 2.1
<b>III</b> ( $\mu$ M)	1.3 $\pm$ 0.2	8.8 $\pm$ 2.1	6.8	5.7 $\pm$ 0.9
VPA (mM)	8.6 $\pm$ 1.9	4.3 $\pm$ 1.5	0.5	8.5 $\pm$ 1.1

V souvislosti s předchozími studii byla v následující studii rozvinuta myšlenka využití dalších inhibitorů histonových deacetyláz jako axiálních ligandů podobných Pt(IV) komplexů [56]. Byly připraveny a studovány Pt(IV) deriváty cisplatin a oxaliplatin se dvěma axiálními 4-fenylbutyrato ligandy (PB; Obrázek 22).

Derivát cisplatin s dvěma axiálními PB ligandy, *cis,cis,trans*- $[Pt(NH_3)_2Cl_2(PB)_2]$  (komplex **VI** v Obrázku 22 a Tabulce 6), je látka s více než 100x vyššími cytotoxickými účinky než bylo zjištěno u cisplatin. Výše uvedený konjugát (**VI**) vykazuje i mnohem vyšší cytotoxickou aktivitu oproti Pt(IV) derivátům cisplatin s dvěma hydroxo, acetato nebo

valproato ligandy. Vysvětlením autorů je „synergická akumulace“ Pt-komplexu a PB ligandů, což koreluje i se zvýšenou vazbou cisplatinu uvolněné z komplexu **VI** na DNA. U konjugátu **VI** bylo dále prokázáno, že inhibuje 60-70 % HDAC aktivity rakovinových buněk, a navíc indukuje kaspázy, které jsou důležitým článkem kaskády apoptického děje. Komplex **VI** je také mnohem více aktivní než **VIII** analog odvozený od oxaliplatinu [56].



**Obrázek 22.** Pt(IV) komplexy s axiálními valproato nebo 4-fenylbutyrato ligandy (převzato z [56])

**Tabulka 6.** Výsledky studia *in vitro* cytotoxicity Pt(IV) komplexů (upraveno a převzato z [56])

	A2780	A2780cisR	MCF-7	A549	HCT-15	PC3	A498	BxPC3	A375
CDDP	2.8 ± 0.2	13.8 ± 0.2	17.4 ± 0.2	8.35 ± 0.87	11.32 ± 1.06	2.25 ± 0.82	17.53 ± 1.21	11.36 ± 1.14	4.03 ± 0.95
OXF	0.52 ± 0.27	4.2 ± 1.6	3.36 ± 0.2	1.46 ± 0.31	1.15 ± 0.43	5.24 ± 0.86	7.94 ± 1.04	4.15 ± 0.93	6.30 ± 1.11
<b>I</b>	0.25 ± 0.09	0.30 ± 0.10	0.91 ± 0.30	1.12 ± 0.32	0.81 ± 0.12	2.13 ± 0.45	2.43 ± 0.72	1.13 ± 0.14	1.25 ± 0.25
<b>II</b>	1.02 ± 0.6	1.62 ± 0.30	5.74 ± 1.10	8.36 ± 1.14	6.36 ± 1.03	7.32 ± 1.24	4.21 ± 0.95	3.54 ± 0.66	2.17 ± 0.53
<b>III</b>	1.3 ± 0.2	8.8 ± 2.1	5.7 ± 0.9	20.5 ± 2.14	16.4 ± 1.63	10.1 ± 1.17	5.21 ± 1.10	14.4 ± 2.16	4.17 ± 0.87
<b>IV</b>	5.4 ± 0.2	16.1 ± 0.7	31.6 ± 2.1	60.3 ± 3.34	51.5 ± 3.26	53.2 ± 4.24	21.1 ± 3.07	19.8 ± 2.25	47.3 ± 2.53
<b>V</b>	1.18 ± 0.33	1.29 ± 0.29	8.80 ± 1.48	15.5 ± 1.13	14.4 ± 2.05	16.8 ± 1.41	8.64 ± 0.95	4.43 ± 1.94	12.4 ± 2.93
<b>VI</b>	0.14 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.18 ± 0.03	0.17 ± 0.04	0.31 ± 0.04	0.41 ± 0.06	0.43 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.16 ± 0.02
<b>VII</b>	0.65 ± 0.04	1.54 ± 0.27	3.43 ± 0.14	7.16 ± 1.11	5.17 ± 0.85	4.34 ± 1.25	8.42 ± 1.47	10.14 ± 1.69	6.25 ± 1.94
<b>VIII</b>	0.90 ± 0.08	1.96 ± 0.44	2.28 ± 0.46	19.63 ± 3.22	12.54 ± 1.13	6.35 ± 1.19	9.32 ± 1.07	7.64 ± 1.15	0.64 ± 0.13
<b>IX</b>	—	—	11.52 ± 3.71	22.52 ± 4.54	15.34 ± 3.23	2.98 ± 1.35	21.98 ± 0.85	6.23 ± 1.47	1.93 ± 0.75
<b>X</b>	—	—	19.88 ± 1.41	26.14 ± 2.89	18.89 ± 3.18	5.85 ± 1.08	24.36 ± 5.35	14.33 ± 2.09	6.85 ± 1.55
<b>XI</b>	—	—	39.52 ± 4.45	32.32 ± 4.25	40.23 ± 2.86	10.11 ± 2.02	20.12 ± 0.85	36.59 ± 3.39	29.69 ± 5.16
<b>XII</b>	—	—	46.58 ± 1.48	35.14 ± 4.25	48.28 ± 3.33	15.85 ± 2.87	22.45 ± 5.05	29.69 ± 5.16	19.59 ± 2.84
PhB	—	—	1735 ± 27	1989 ± 22	1214 ± 81	795 ± 18	925 ± 81	1523 ± 36	25.65 ± 2.89

\* A549, karcinom plic; MCF-7, karcinom prsu; BxPC3, karcinom slinivky břišní; A498, karcinom ledvin; PC3, karcinom prostaty; HCT-15, karcinom tlustého střeva; A375, melanom; A2780, karcinom vaječnicků; A2780cisR, cisplatinu-rezistentní karcinom vaječnicků

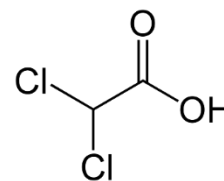
Další studie se zabývá protinádorovým účinkem Pt(IV) proléčiva s chlorambucilem (CBA) o složení *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(CB)<sub>2</sub>]. Jedná se tedy o derivát cisplatiny, kde je v axiálních pozicích navázán deprotonizovaný chlorambucil (CB) [57]. Chlorambucil je aromatický derivát dusíkatého yperitu, působící jako alkylační činidlo. Toto léčivo, známe pod obchodním názvem Leukeran, patří mezi cytostatika a využívá se k léčbě Hodgkinovy choroby, chronické lymfatické leukemie a některých ne Hodgkinských lymfomů [58]. Léčivo Leukeran bylo pro tyto účely schváleno Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) již v roce 1957, tedy dříve než byla objevena cisplatina [59]. Z hlediska mechanismu účinku působí chlorambucil obdobně jako cisplatina, tedy tvorbou DNA aduktů. Navíc byla zjištěna jeho schopnost regulovat množství glutathionu v buňce prostřednictvím katalýzy GST enzymů. Komplex *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(CB)<sub>2</sub>] tak velmi elegantně kombinuje účinky obou léčiv, vedoucí k vysoké cytotoxické aktivitě proti nádorovým buněčným liniím. Zvýšená cytotoxická aktivita tohoto komplexu (Platin-Cbl v Tabulce 7) je připisována duálnímu účinku obou léčiv (tj. cisplatina a chlorambucil), které působí jednak jako alkylační činidla, jednak tvoří DNA adukty a navíc katalyzují množství glutathionu v buňce [57].

V roce 2016 Zajac et al. popsali mechanismus účinku cytotoxicity konjugátu DCA s Pt(IV) deriváty oxaliplatiny. Ze zjištěných výsledků jednoznačně vyplývá, že při substituci biologicky neaktivních axiálních ligandů biologicky aktivními axiálními dichloracetato ligandy, dochází k rapidnímu zvýšení cytotoxicity, a to i k cisplatin- a oxaliplatin- rezistentním nádorovým buněčným liniím. Při studiu rovněž objevili „synergický efekt“ při použití kombinované léčby Pt(IV) derivátu oxaliplatiny s DCA s 5-fluoruracilem. Zajac et al. výsledky cytotoxicity výše uvedených látek publikovali a uvedli, že nejvyšší cytotoxicity bylo dosaženo při kombinaci Pt(IV) komplexu s DCA se 4 molárními ekvivalenty 5-fluoruracilu [58].

Uvedený výčet současně studovaných látek není konečný. Týmy vědců po celém světě neustále hledají nové syntetické cesty, které by sloužily k designu látek požadovaných vlastností. Vedle studia sloučenin na bázi platiny se dnes stále více do popředí dostává studium sloučenin na bázi jiných kovů, jako jsou např. tantal, rhenium, osmium aj. Současným cílem vědců je najít účinná xenobiotika, která by svými protinádorovými vlastnostmi předčila nejčastěji podávaná chemoterapeutika na bázi platiny, které v mnoha případech onemocnění rakovinou selhávají, nemají dostatečné účinky a jejich užívání je téměř vždy spojeno s negativními vedlejšími účinky.

## 2.4 Vybrané biologicky aktivní karboxylové kyseliny a jejich deriváty

**Kyselina dichloroctová.** Kyselina dichloroctová ( $\text{HCCl}_2\text{COOH}$ , DCA; Obrázek 23) patří mezi organické halogenkyseliny odvozené od kyseliny octové. Její sůl dichloracetát sodný, byla díky schopnosti inhibovat pyruvátdehydrogenáz kinázy (PDK) v metabolismu sacharidů studována jako potencionální léčivo pro léčbu poruch metabolismu, včetně laktátové acidózy. V současné době se jedná o schválené, orálně podávané léčivo, pro primární léčbu laktátové acidózy a mimo jiné také pro léčbu diabetes mellitus, pulmonální arteriální hypertenze aj. [61,64].

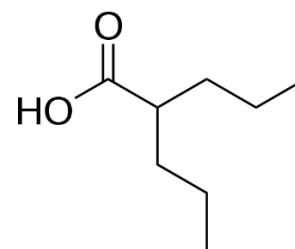


**Obrázek 23.** Strukturní vzorec kyseliny dichloroctové (DCA)

Mechanismus účinku DCA je založen na inhibici PDK v metabolismu sacharidů, kdy je potlačena glykolýza a je podpořena glukózová oxidace. V současné době se kyselina dichloroctová užívá i pro léčbu různých druhů rakoviny, a to v kombinaci s jinými chemoterapeutiky nebo je součástí Pt(IV) proléčiv, které vedle základní struktury, většinou odvozené od schváleného protinádorového léčiva na bázi platiny (cisplatina, oxaliplatina), obsahují v axiálních polohách dichloracetato ligandy. Takový příklad využití DCA byl komentován výše u mitaplatiny, u které byl potvrzen synergický efekt mezi uvolněným Pt(II) komplexem a dichloracetáty. Využití DCA v protinádorové terapii je spojeno s aerobní glykolýzou rakovinových buněk, která dále souvisí s disfunkcí mitochondrií a potlačením glukózové oxidace (Warburgův efekt). Inhibice PDK a zvrát Warburgova efektu, kdy je potlačena glykolýza a naopak podpořena glukózová oxidace, byly pozorovány při studiu *in vivo* vlivu DCA na buněčné linie rakoviny plic, glioblastomu a rakoviny prsu. DCA tak obnovuje funkci mitochondrií (indukce apoptózy), snižuje proliferaci buněk a potlačuje růst nádoru [61,63]. Z další studie na buněčných liniích invazivních a metastazujících karcinomech tlustého střeva vyplývá, že DCA způsobuje jednoznačné snížení proliferace rakovinových buněk, navíc byla prokázána apoptóza a zastavení buněčného cyklu v G<sub>2</sub>-fázi [64].

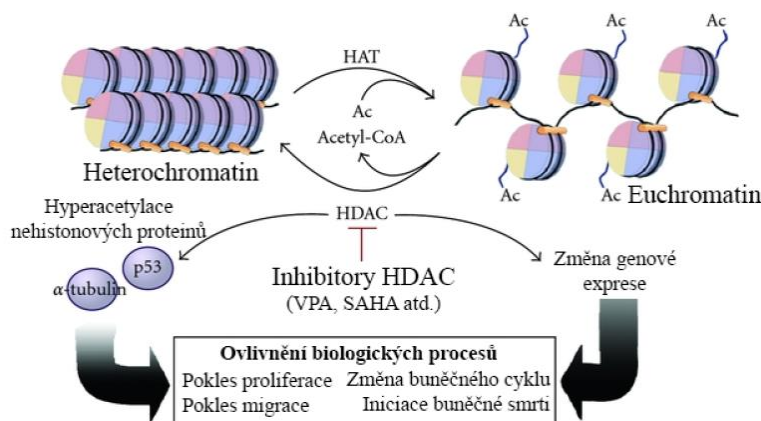
**Kyselina valproová.** Kyselina valproová (2-propylvalerová kyselina, VPA; Obrázek 24) patří mezi schválené léčivo, které se více jak 30 let užívá k léčbě epilepsie a bipolárních poruch. V posledních několika letech se VPA používá jako stabilizátor nálady a k prevenci migrén [65]. Mechanismus účinku kyseliny valproové při léčbě epilepsie a jiných poruch je

založen na zvýšení aktivity kyseliny gama-aminomáselné (GABA), která je důležitým neurotransmiterem v mozku. VPA potlačuje mechanismy inhibice GABA zahrnující inhibici degradace GABA, katalýzu syntézy GABA a navíc blokuje sodné a vápenaté kanály na membránách neuronů. V nedávné době bylo navíc zjištěno, že VPA má schopnost inhibovat histonové deacetylázy (HDAC) a tak spolu s dalšími látkami (např. 4-fenylbutyrát sodný, viz níže) patří mezi tzv. inhibitory histonových deacetyláz (HDACi), které vzbuzují zvýšený zájem z hlediska využití v protinádorové léčbě.



**Obrázek 24.** Strukturální vzorec kyseliny valproové (VPA)

Mechanismus působení HDAC inhibitorů je následovný. Přechod mezi euchromatinem a chromatinem je řízen dvěma skupina proteinů – histonacetyltransferázami (HAT) a histondeacetylázami. Inhibice HDAC vede k hyperacetylaci určitých histonů, což má za následek rozvolnění struktury heterochromatinu (kondenzovaná forma chromatinu) na euchromatinu (dekondenzovaná, aktivní forma chromatinu) (Obrázek 25). Takto rozvolněná struktura chromatinu je mnohem stericky dostupnější pro vazbu protinádorových léčiv na bázi platiny. Navíc po inhibici HDAC dochází ke změnám genové exprese, které mohou vyvolat změny v buněčném cyklu nebo iniciovat buněčnou smrt [29,65,66]. Navíc bylo zjištěno, že VPA potlačuje tvorbu glutathionu v buňkách, který se velkou měrou podílí na deaktivaci protinádorových léčiv, čímž podporuje vyšší efektivitu aktivních forem protinádorových léčiv na bázi platiny [29]. Mechanismus účinku

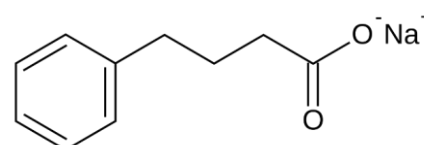


**Obrázek 25.** Schéma mechanismu působení inhibitorů histonových deacetyláz (upraveno a převzato z [29])



VPA se stal inspirací pro návrh nových platičitých proléčiv s inhibítorem HDAC (viz kapitola 2.3.2) [52,53]. Jiné práce se zabývaly zvýšením protinádorové aktivity cisplatinu vlivem společně podávané VPA [67]. Autoři popsali synergické působení VPA s cisplatinou, kdy rezistentní buněčné linie nádoru vykazovaly vyšší senzitivitu k cisplatině, než tomu bylo bez přídatku VPA. VPA také již vstoupila do klinického testování, kde je testována jak samotná, tak i v kombinaci s dalšími léčivými [68].

**4-fenylbutyrát sodný.** 4-fenylbutyrát sodný (NaPB; Obrázek 25) je sůl odvozená od kyseliny 4-fenylbutanové (PBA). Patří do skupiny histon deacetylázových inhibitorů. NaPB je schváleným a celosvětově užívaným léčivem pro léčbu poruchy močovinného (ornitinového) cyklu spojené s hyperamonemií. Mechanismus účinku NaPB



**Obrázek 25** Strukturální vzorec 4-fenylbutyrátu sodného (NaPB)

je založen na přeměně na fenylacetát (beta-oxidací po vstupu do jater). Fenylacetát přednostně reaguje s glutaminem (důležitá role při detoxikaci amoniaku) za vzniku fenylacetylglutaminu, který je močí z těla vyloučen. Bylo popsáno, že NaPB vykazuje *in vitro* protinádorovou aktivitu u různých druhů rakovinového bujení. Z těchto důvodů byl NaPB testován v I. a II. fázi klinických testů a prokázal účinnost v léčbě různých druhů nádorů, zahrnující hormon refrakterní karcinom prostaty, hematologické malignity a astrocytom [70]. Další výhodou NaPB a jiných HDACi je schopnost prostupovat hematoencefalickou membránu, která je v případě jiných léčiv hlavním limitujícím faktorem z hlediska prostupnosti. NaPB pozitivně působí na různé záněty nervové soustavy, včetně mnohočetné roztroušené sklerózy, což z něj činí velmi dobrého kandidáta i pro léčbu onemocnění mozku a periferního nervstva. Protinádorový efekt NaPB může být spojen i s jinými mechanismy vedoucími k inhibici růstu nádorových buněk [69]. Byl studován i vliv NaPB na rakovinové buňky prostaty, kde se NaPB jeví jako slibné léčivo, které jednak inhibuje růst a migraci rakovinových buněk, u kterých vyvolává apoptózu. Navíc autoři předpokládají, že kombinovaná léčba NaPB s tradičními chemoterapeutiky (např. cisplatinou) může poskytnout mnohem účinnější léčbu karcinomu prostaty [71]. Tuto hypotézu potvrdila nedávná práce popisující cytotoxicitu Pt(IV) derivátů cisplatinu a oxaliplatinu se dvěma axiálními 4-fenylbutyrato ligandy, která byla až stonásobně vyšší v porovnání se samotnými Pt(II) léčivými (kapitola 2.3.2) [56].

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Chemikálie a přístroje

#### *Chemikálie a rozpouštědla:*

(1*R*,2*R*)-(-)-1,2-diaminocyklohexan (DACH,  $\geq 98\%$ ), tetrachloroplatnatán draselný ( $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ , 99%), jodid draselný (KI,  $\geq 99\%$ ), chlorid draselný (KCl,  $\geq 98\%$ ), hydroxid sodný (NaOH,  $\geq 97\%$ ), dusičnan stříbrný ( $\text{AgNO}_3$ ,  $\geq 99\%$ ), kyselina dichloroctová (DCA,  $\geq 98\%$ ), anhydrid kyseliny dichloroctové (DCAAn,  $\geq 96\%$ ), kyselina 4-fenylbutanová (PBA,  $\geq 99\%$ ), kyselina valproová (VPA,  $\geq 98\%$ ), peroxid vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 30%), amoniak - vodný roztok ( $\text{NH}_3$ , 25%), chlorid thionylu ( $\text{SOCl}_2$ ,  $\geq 97\%$ ), *N,N'*-dimethylformamid (DMF, p.a.), diethylether ( $\text{Et}_2\text{O}$ , p.a.), aceton (p.a.), ethanol (EtOH, 96%), methanol (MeOH, p.a.), chloroform (p.a.), dichlormethan (p.a.) byly zakoupeny od firem Sigma-Aldrich, Litolab, Lach-Ner a Fischer Scientific.

#### *Přístroje:*

Elementární analýza byla provedena na elementárním analyzátoru Flash 2000 CHNS (Thermo Scientific). NMR spektroskopie byla provedena na spektrometrech Varian 400 a JEOL JNM-ECA600II při 300 K. Rozpouštědlem byl DMF-*d*<sub>7</sub> (Sigma-Aldrich) a spektra byla kalibrována vůči residuálním signálům použitého rozpouštědla. Hmotnostní spektra byla zaznamenána v pozitivním (ESI+) i v negativním ionizačním módu (ESI-) na komplexech rozpuštěných v methanolu na přístroji LCQ Fleet (Thermo Scientific). Infračervená spektroskopie byla provedena ATR technikou na spektrometru Nexus 670 FT-IR (Thermo Nicolet) ve střední infračervené oblasti ( $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ).

### 3.2 Syntéza prekurzorů

#### **Chlorid kyseliny dichloroctové (DCCI)**

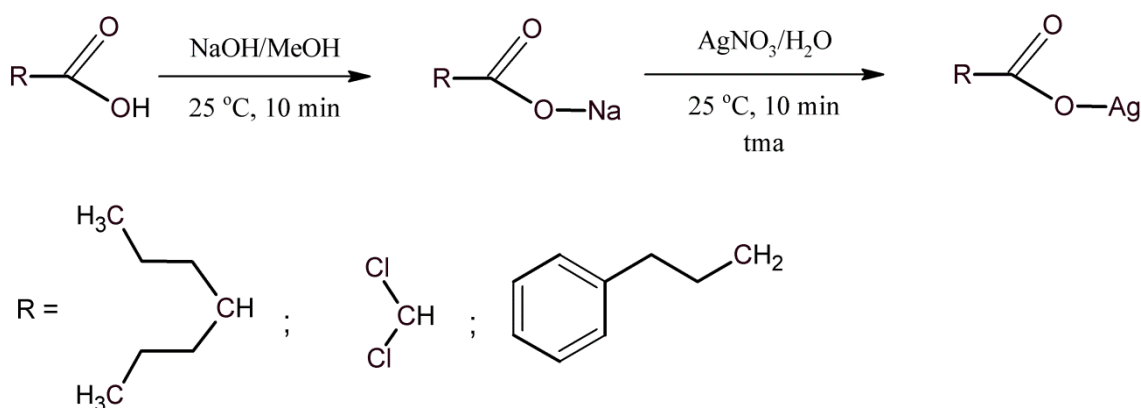
Do 2 ml dichlormethanu bylo přidáno 135  $\mu\text{l}$  kyseliny dichloroctové (1,55 mmol). Po přidavku 10  $\mu\text{l}$  bylo do reakční směsi po kapkách přidáno ekvimolární množství  $\text{SOCl}_2$  (1,55 mmol; 113  $\mu\text{l}$ ). Reakční směs byla 1 h míchána při teplotě 25 °C. Světle žlutý produkt, olejovité konzistence byl získán odpařením reakční směsi na RVO.

### Chlorid kyseliny 4-fenylbutanové (PBCl)

4-fenylbutanová kyselina (1,8 mmol; 300 mg) byla rozpuštěna ve 3 ml dichlormethanu. K roztoku byly přidány 3  $\mu\text{L}$  DMF a směs byla míchána až do vzniku čirého roztoku. Poté bylo po kapkách přidáno 172  $\mu\text{L}$   $\text{SOCl}_2$  a reakční směs byla míchána 1 h při teplotě 25  $^\circ\text{C}$ . Směs byla odpařena na RVO za vzniku olejovitého produktu.

### Syntéza stříbrných solí karboxylových kyselin

1 mmol karboxylových kyselin DCA (129 mg), PBA (186 mg) a VPA (164 mg) byl rozpuštěn v minimálním objemu MeOH. K roztoku bylo přidáno ekvimolární množství 1M roztoku NaOH v MeOH (Schéma 1). Reakční směs byla 5 min míchána při teplotě 25  $^\circ\text{C}$ , následně byl přidán 1 mmol  $\text{AgNO}_3$  (169,9 mg) a reakční směs byla míchána za tmy (pod hliníkovou fólií) po dobu dalších 10 min při teplotě 25  $^\circ\text{C}$ . Výsledné bílé produkty, tj. dichloracetát stříbrný (AgDC), 4-fenylbutyrát stříbrný (AgPB) a valproát stříbrný (AgVP), byly zfiltrány přes fritu, promyty (voda, MeOH,  $\text{Et}_2\text{O}$ ), vysušeny v exsikátoru pod vakuem a skladovány ve tmě a v chladu.

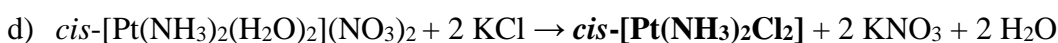
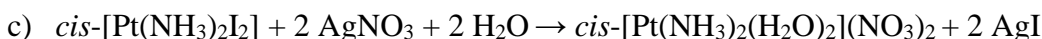
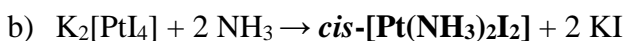
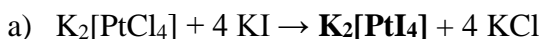


**Schéma 1.** Příprava dichloracetátu stříbrného (AgDC), 4-fenylbutyrátu stříbrného (AgPB) a valproátu stříbrného (AgVP)

### Syntéza cisplatiny *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]

Roztok  $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$  (125 mg, 0,3 mmol) v ca 2 ml deionizované vody byl zahřát na 40  $^\circ\text{C}$ . Po přidání roztoku KI (300 mg, 1,8 mmol) v 2 ml deionizované vody taktéž zahřátého na 40  $^\circ\text{C}$  byla reakční směs za stálého míchání zahřáta na teplotu 60  $^\circ\text{C}$ . Po 10 min

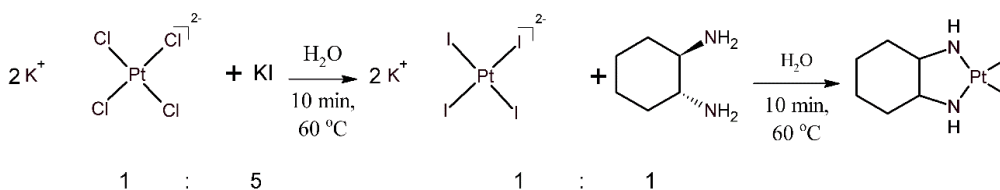
míchání (rovnice *a*) byla směs ochlazena na laboratorní teplotu a za stálého míchání bylo po kapkách přidáno 500  $\mu\text{l}$  2,0 M vodného roztoku  $\text{NH}_3$  za vzniku světle žlutého komplexu  $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{I}_2]$ , který byl zfiltrován přes fritu, promyt  $\text{EtOH}$  a  $\text{Et}_2\text{O}$ , a vysušen v exsikátoru pod vakuem (rovnice *b*). Takto připravený  $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{I}_2]$  (100 mg; 0,2 mmol) byl po malých částech přidán do roztoku  $\text{AgNO}_3$  (63 mg; 0,37 mmol) v 10 ml deionizované vody. Vzniklá reakční směs byla za stálého míchání v temnu (pod alobalem) zahřáta na teplotu  $80\text{ }^\circ\text{C}$  a míchána při této teplotě po dobu 10 min (rovnice *c*). Reakční směs byla zfiltrována a filtrát obsahující  $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$  byl zakoncentrován na rotační vakuové odparce (RVO) na objem asi 2 ml. Do roztoku  $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$  byl přidán nadbytek  $\text{KCl}$  (300 mg, 4,4 mmol) a roztok byl míchán při teplotě  $80\text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 3 min, za vzniku finálního produktu  $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$  (cisplatina; rovnice *d*). Suspenze byla zchlazena na teplotu  $0\text{ }^\circ\text{C}$  a světle žlutý produkt (cisplatina) byl odfiltrován na fritě, promyt malým množstvím  $\text{EtOH}$  a  $\text{Et}_2\text{O}$  a vysušen v exsikátoru pod vakuem.



### Syntéza $[\text{Pt}(\text{DACH})\text{I}_2]$

$\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$  (0,5 mmol, 207,4 mg) byl rozpuštěn ve 2 ml deionizované vody za vzniku červeného roztoku, ke kterému byl dále přidán  $\text{KI}$  (415 mg, 2,5 mmol) (Schéma 2). Reakční směs byla míchána po dobu 10 min při teplotě  $60\text{ }^\circ\text{C}$  za vzniku tmavě červeného roztoku. Přídavkem 60  $\mu\text{l}$  (0,5 mmol)  $\text{DACH}$  vznikla béžová sraženina, která byla po 10 min míchání ochlazena ledem. Produkt byl zfiltrován přes fritu, promyt malým množstvím deionizované vody,  $\text{MeOH}$  a  $\text{Et}_2\text{O}$  a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

*Anal.* Vyp. pro  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{PtI}_2$  ( $M_r = 563,10$ ): C, 12,8; H, 2,51; N, 4,98 %; nalezeno: C, 12,25; H, 2,52; N, 4,90 %.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMF-}d_7$ ,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ , ppm): 5,53 (2H), 4,93 (2H), 2,46 (2H),



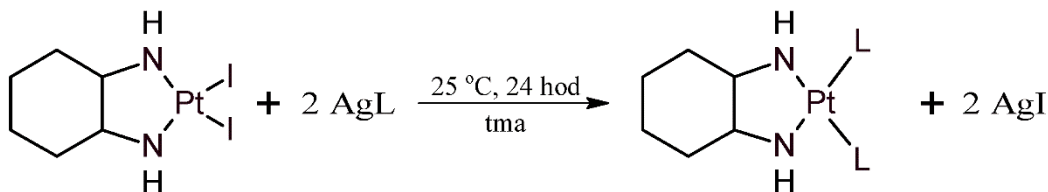
**Schéma 2:** Příprava komplexu  $[\text{Pt}(\text{DACH})\text{I}_2]$

2,14 (2H), 1,51 (4H), 1,11 (2H).

### Syntéza [Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>] (1)

[Pt(DACH)I<sub>2</sub>] (112,6 mg; 0,2 mmol) bylo rozsuspendován ve 2 ml DMF. Za stálého míchání byl do reakční směsi přidán AgDC (94,4 mg; 0,4 mmol). Po 24 h míchání za tmy při teplotě 25 °C (Schéma 3) byla vzniklá suspenze zfiltrována přes papírový filtr (pro odstranění vzniklého AgI). Světle žlutý filtrát byl přikapáván do nadbytku deionizované vody za vzniku bílého produktu, který byl následně odfiltrován, promyt malým množstvím acetonu a Et<sub>2</sub>O a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

*Anal.* Vyp. pro C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Cl<sub>4</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 565,13): C, 21,3; H, 2,85; N, 4,96 %; nalezeno: C, 21,16; H, 2,70; N, 5,35 %. <sup>1</sup>H NMR (DMF-*d*<sub>7</sub>, 25 °C, ppm): 6,25 (4H), 5,48 (2H), 2,46 (2H), 2,12 (2H), 1,53 (4H), 1,14 (2H). FTIR (ν<sub>ATR</sub>/cm<sup>-1</sup>): 634w, 672m, 737m, 783w, 822m, 922w, 952w, 1032w, 1064m, 1098w, 1128w, 1158m, 1197m, 1291m, 1252m, 1345vs, 1450w, 1494w, 1593m, 1657vs, 2865s, 2940m, 3022w, 3122m, 3198m.



**Schéma 3.** Příprava [Pt(DACH)(L)<sub>2</sub>]; L = dichloracetato, valproato nebo fenylbutyrato *O*-donorové ligandy

### Syntéza [Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>] (2)

Komplex **2** byl připraven obdobně jako komplex **1** za použití 108,4 mg AgPB (Schéma 3).

*Anal.* Vyp. pro C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 635,66): C, 49,1; H, 5,71; N, 4,41 %; nalezeno: C, 48,97; H, 5,86; N, 4,10 %. <sup>1</sup>H NMR (DMF-*d*<sub>7</sub>, 25 °C, ppm): 7,24 (10H), 6,42 (2H), 5,19 (2H), 2,55 (6H), 2,06 (6H), 1,76 (4H), 1,47 (4H), 1,11 (2H). FTIR (ν<sub>ATR</sub>/cm<sup>-1</sup>): 698m, 729w, 786w, 811w, 907w, 926w, 1034w, 1065w, 1155m, 1183w, 1215w, 1264w, 1296m, 1325m, 1379s, 1419m, 1453m, 1495w, 1585vs, 1695w, 2858w, 2933m, 3025w, 3107m, 3183m, 3334m, 3427m, 3580w.

### Syntéza [Pt(DACH)(VP)<sub>2</sub>] (3)

Komplex **3** byl připraven obdobně jako komplexy **1** a **2**, avšak syntéza probíhala v 5 ml chloroformu a přidavkem bylo 99,9 mg AgVP (Schéma 3). Po filtraci vzniklé suspenze byl světle žlutý filtrát odpařen do sucha na RVO. Po přilití malého množství Et<sub>2</sub>O byl získán světle hnědý produkt, který byl odfiltrován přes fritu a vysušen v exsikátoru po vakuem.

*Anal.* Vyp. pro C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 595,68): C, 44,4; H, 7,44; N, 4,70 %; nalezeno: C, 44,15; H, 7,68; N, 4,56 %. FTIR (ν<sub>ATR</sub>/cm<sup>-1</sup>): 620w, 653w, 754w, 788w, 854w, 904w, 922w, 948w, 965w, 1033w, 1063m, 1090m, 1127m, 1139m, 1171w, 1127m, 1139m, 1171w, 1218m, 1269m, 1303m, 1353m, 1389s, 1459m, 1510w, 1603vs, 1657w, 2869m, 2934vs, 2954s, 3097m, 3194m, 3270m.

## 3.3 Syntéza Pt(IV) komplexů

### Prekurzory

#### Syntéza oxidované cisplatiny *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>]

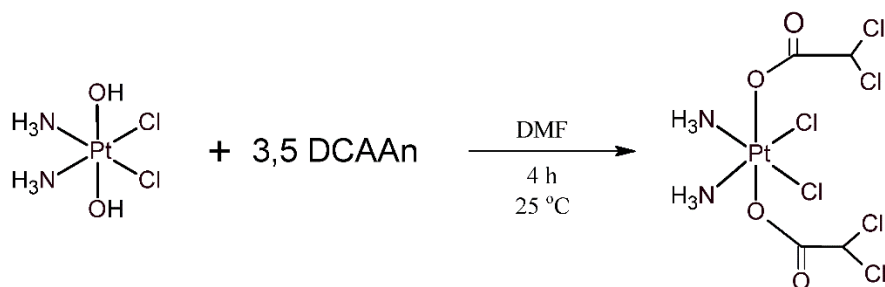
Cisplatina (0,4 mmol; 120 mg) byla rozsuspendována v malém množství deionizované vody, poté byl přidán nadbytek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (4 mmol; 123 μl) a reakční směs byla míchána 1 h při teplotě 50 °C. Ochlazením na laboratorní teplotu vznikl světle žlutý produkt, který byl odizolován filtrací, promyt MeOH a Et<sub>2</sub>O a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

*Anal.* Vyp. pro H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 334,06): H, 2,41; N, 8,39 %; nalezeno: H, 2,17; N, 8,01 %.

#### Syntéza komplexu *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (mitaplatina)

Komplex *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] (0,3 mmol; 100 mg) byl rozpuštěn v 1 ml DMF. Po přidavku 3,5 molárního ekvivalentu DCAAn (160 μl) byla reakční směs míchána po dobu 4 h při teplotě 25 °C (Schéma 4). Poté byla směs přikapávána do vialky s Et<sub>2</sub>O, čímž vznikl světle žlutý produkt. Produkt byl následně odfiltrován a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

*Anal.* Vyp. pro C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub> (M<sub>r</sub> = 555,9): C, 8,64; H, 1,45; N, 5,04 %; nalezeno: C, 8,9; H, 1,47; N, 4,53 %. <sup>1</sup>H NMR (DMF-*d*<sub>7</sub>, 25 °C, ppm): 6,32 (2H), 4,88 (6H). FTIR (ν<sub>ATR</sub>/cm<sup>-1</sup>): 613w, 636w, 693w, 772w, 906w, 967w, 1039m, 1164w, 1361m, 1588s, 1818w, 2070w, 2173w, 2277w, 2446w, 2513w, 2598w, 2725m, 2898s, 2931s, 3088m, 3255s, 3514vs.



**Schéma 4.** Příprava komplexu *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (mitaplatina; **4**)

#### Syntéza komplexu *cis,trans*-[Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>]

Komplex **1** (0,35 mmol; 20 mg) byl rozpuštěn v 0,5 ml DMF. Následně byl přidán nadbytek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3,5 mmol; 11 μl). Reakční směs byla míchána po dobu 1 h a při teplotě 50 °C za vzniku žlutého roztoku (Schéma 5). Roztok byl odpařen na RVO. Po přilítí Et<sub>2</sub>O byl světle žlutý produkt rozsuspendován, odfiltrován a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

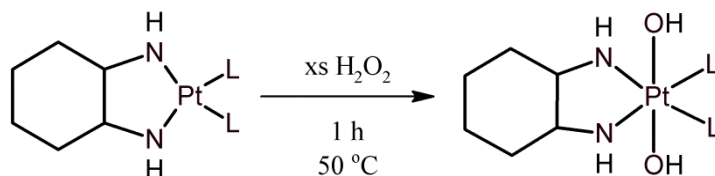
*Anal.* Vyp. pro C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Cl<sub>4</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 599,14): C, 20,0; H, 3,03; N, 4,68 %; nalezeno: C, 20,98; H, 3,05; N, 5,39 %.

#### Syntéza komplexu *cis,trans*-[Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>]

Syntéza proběhla stejně jako u komplexu *cis,trans*-[Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>], avšak s použitím komplexu 0,05 mmol komplexu **2** (30 mg) a přidavku 0,5 mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (14,5 μl) (Schéma 5).

*Anal.* Vyp. pro C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 669,67): C, 46,6; H, 5,72; N, 4,18 %; nalezeno: C, 2,15; H, 0,00; N, 0,00 %.

#### Syntéza komplexu *cis,trans*-[Pt(DACH)(VP)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>]



**Schéma 5.** Oxidace [Pt(DACH)(L)<sub>2</sub>] komplexů přidavkem nadbytku peroxidu vodíku;  
L = dichloracetato, fenylbutyrato nebo valproato.

Syntéza proběhla obdobně jako u komplexu *cis,trans*-[Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>], s tím, že byl jako výchozí komplex použit komplex **3** (0,04 mmol; 24 mg), ke kterému byly přidány 4 mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (12 μl).

*Anal.* Vyp. pro C<sub>22</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 629,69): C, 42,0; H, 7,36; N, 4,45 %; nalezeno: C, 43,74; H, 7,83; N, 4,45 %.

### Syntéza komplexu [Pt(DACH)(OH)<sub>4</sub>]

Komplex [Pt(DACH)I<sub>2</sub>] (0,1 mmol; 56 mg) byl rozpuštěn v 1 ml DMF za vzniku žlutooranžového roztoku. Poté byly přidány 2 molární ekvivalenty AgNO<sub>3</sub> (34 mg). Reakční směs byla míchána v temnu (překryta alobalem) po dobu 2 h při teplotě 25 °C, za vzniku světle žluté suspenze. Suspenze byla poté zfiltrována a k filtrátu byl přidán H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mmol, 31 μl) (Schéma 6). Reakční směs byla míchána po dobu 24 h při teplotě 25 °C. Následně byl filtrát zcela odpařen. Po přidání Et<sub>2</sub>O byl žlutooranžový produkt odfiltrován a sušen v exsikátoru pod vakuem.

*Anal.* Vyp. pro H<sub>18</sub>C<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 377,3): C, 19,1; H, 4,81; N, 7,42 %; nalezeno: C, 16,85; H, 2,85; N, 8,38 %.

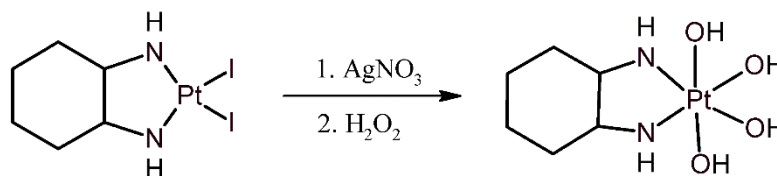


Schéma 6. Syntéza komplexu [Pt(DACH)(OH)<sub>4</sub>]

### Finální Pt(IV) komplexy

#### Syntéza komplexu *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(DC)<sub>4</sub>] (**4**)

Komplex *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (mitaplatina; 0,1 mmol, 55 mg) byl rozpuštěn v 1 ml DMF a k roztoku bylo přidán nadbytek (např. 2,25, 2,5 nebo 5,0 molárního ekvivalentu) soli AgDC. Reakční směs byla následně míchána 24 hodin ve tmě (pod alobalem) při teplotě 25 °C. Poté byla reakční směs zfiltrována, pro odstranění nerozpustné soli AgCl. Světle žlutý filtrát byl odpařen na RVO do sucha a vzniklý světle žlutě



zbarvený produkt byl rozsuspendován v Et<sub>2</sub>O, odfiltrován a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

*Anal.* Vyp. pro C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>8</sub>N<sub>2</sub>PtCl<sub>8</sub> (M<sub>r</sub> = 740,85): C, 13,0; H, 1,36; N, 3,78 %; nalezeno: C, 14,2; H, 1,49; N, 4,14 %.

#### **Syntéza komplexu *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (5)**

Komplex **5** byl syntetizován stejně jako komplex **4**, za použití jiné stříbrné soli, a to AgPB. Syntézy byly opět opakovány při různých molárních poměrech.

*Anal.* Vyp. pro C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>8</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>2</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 811,39): C, 35,5; H, 3,73; N, 3,45 %; nalezeno: C, 7,91; H, 1,83; N, 7,50 %. FTIR (ν<sub>ATR</sub>/cm<sup>-1</sup>): 666w, 739w, 818m, 949w, 1022w, 1062w, 1102w, 1217w, 1297s, 1314s, 1359s, 1415m, 1435w, 1464w, 1495w, 1651vs, 2361w, 2808w, 3020m, 3218s, 3286vs.

#### **Syntéza komplexu *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(VP)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (6)**

Syntéza byla obdobná jako u komplexů **4** a **5**.

*Anal.* Vyp. pro C<sub>20</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>2</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 771,41): C, 31,1; H, 4,96; N, 3,63 %; nalezeno: C, 11,55; H, 1,68; N, 8,39 %. FTIR (ν<sub>ATR</sub>/cm<sup>-1</sup>): 671w, 745w, 790w, 820w, 953w, 1039w, 1106w, 1214w, 1313us, 1658us, 2528w, 3207m, 3414 m, 3529m.

#### **Syntéza komplexu [Pt(DACH)(PB)<sub>4</sub>] (7)**

Komplex [Pt(DACH)(OH)<sub>4</sub>] (0,1 mmol; 38 mg) byl rozsuspendován v dichlormethanu. K suspenzi byly přidány 4 molární ekvivalenty PBCl (33 μl). Reakční směs byla míchána 24 h při teplotě 25 °C. Tmavě hnědý produkt byl získán přikapáváním do nadbytku Et<sub>2</sub>O. Produkt byl po filtraci promyt etherem a poté vysušen v exsikátoru pod vakuem.

*Anal.* Vyp. pro C<sub>46</sub>H<sub>58</sub>O<sub>8</sub>N<sub>2</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 962,05): C, 57,4; H, 6,08; N, 2,91 %; nalezeno: C, 20,5; H, 3,31; N, 6,07%.

#### **Syntéza komplexu [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (8)**

Pro syntézu komplexu **8** byly vyzkoušeny dvě různé syntetické strategie, a to s použitím [Pt(DACH)(OH)<sub>4</sub>] a DCCL, nebo s použitím *cis,trans*-[Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] a DCAAn.

a) Komplex [Pt(DACH)(OH)<sub>4</sub>] (0,04 mmol; 15 mg) byl rozsuspendován ve 2 ml acetonu a k této suspenzi byly přidány 4 molární ekvivalenty DCCl (15,4 μl). Reakční směs byla míchána po dobu 24 h při teplotě 25 °C. Následně byla vzniklá žlutohnědá reakční směs odpařena do sucha na RVO. Po přidání Et<sub>2</sub>O byl žlutohnědý produkt odfiltrován a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

b) Komplex *cis,trans*-[Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] (0,03 mmol; 18 mg) byl rozpuštěn ve 400 μl DMF za vzniku žlutého roztoku. Poté byly přidány 4 molární ekvivalenty DCAAn (18,3 μl). Reakční směs byla 24 h míchána při teplotě 25 °C. Následně byla reakční směs zcela odpařena na RVO a vzniklý žlutý produkt byl rozsuspendován do Et<sub>2</sub>O, odfiltrován přes fritu a sušen v exsikátoru.

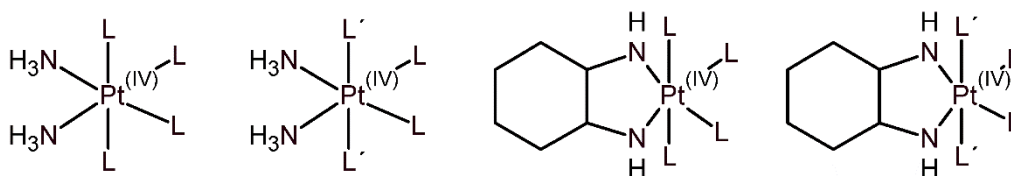
*Anal.* Vyp. pro C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>8</sub>Pt (M<sub>r</sub> = 820,98): C, 20,48; H, 2,21; N, 3,41%; nalezeno: C, 21,1; H, 2,41; N, 3,94%. <sup>1</sup>H NMR (DMF-*d*<sub>7</sub>, 25 °C, ppm): 6,09, 2,34, 2,12, 1,61, 0,88. FTIR (ν<sub>ATR</sub>/cm<sup>-1</sup>): 668w, 725w, 786w, 819m, 947w, 1025w, 1064w, 1099w, 1211m, 1328s, 1451w, 1650vs, 2865w, 2943m, 3018m, 3212m.

### **Syntéza komplexu *cis,trans*-[Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (9)**

Komplex [Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] (0,04 mmol; 26,8 mg) byl rozpuštěn ve 2 ml DMF. Po přidavku 7,5 μl DCCl (0,08 mmol) byla reakční směs 24 h míchána při teplotě 25 °C. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a světle béžový produkt byl získán po přidavku Et<sub>2</sub>O, filtrací přes fritu a následným vysušením v exsikátoru pod vakuem.

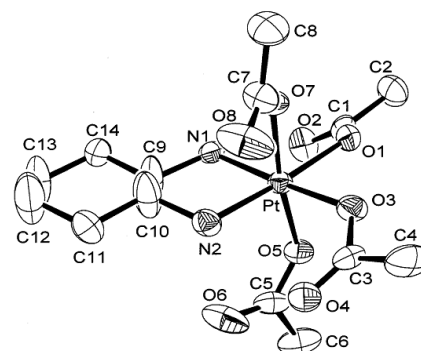
## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem experimentální části předložené diplomové práce bylo pokusit se připravit a relevantními analytickými metodami charakterizovat inovativní platičité tetrakarboxylato komplexy obecného složení  $cis$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>4</sub>],  $cis,cis,trans$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>], [Pt(DACH)(L)<sub>4</sub>] nebo  $cis,trans$ -[Pt(DACH)(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>] (Obrázek 26), obsahující ve své struktuře celkem čtyři biologicky aktivní *O*-donorové ligandy (L, L'; dichloracetato, valproato nebo 4-fenylbutyrato) navázané na základní motiv  $cis$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (odvozený od cisplatiny) nebo [Pt(DACH)] (odvozený od oxaliplatiny).



**Obrázek 26.** Obecné strukturální vzorce předpokládaných finálních Pt(IV) komplexů o složení  $cis$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>4</sub>],  $cis,cis,trans$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>], [Pt(DACH)(L)<sub>4</sub>] a  $cis,trans$ -[Pt(DACH)(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>].

V literatuře byly dosud popsány pouze tetrakarboxylatoplatičité komplexy, které ve své struktuře obsahují biologicky neaktivní ligandy (např. acetato). Takovými komplexy jsou v roce 1999 popsané diammin-tetrakarboxylatoplatičité komplexy obsahující ve své struktuře čtyři monodentátně vázané *O*-donorové acetato nebo propionato ligandy, a jejich analoga obsahující namísto dvou NH<sub>3</sub> ligandů ethylen-1,2-diamin nebo DACH (Obrázek 27) [72]. Podobné komplexy byly studovány i v nedávno publikované práci, avšak ani v tomto případě nebyly do struktury studovaných Pt(IV) komplexů zaváděny biologicky aktivní ligandy [73].



**Obrázek 27.** Příklad diammin-tetrakarboxylatoplatičitého komplexu (převzato z [72]).

Tetrakarboxylatoplatičitý komplex o složení  $cis$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(DC)<sub>4</sub>] (odpovídající složení komplexu **4**) obsahující čtyři biologicky aktivní dichloracetato ligandy, byl zmíněn avšak nedoložen v patentu WO 2010/027428 A1 z roku 2010 [74].

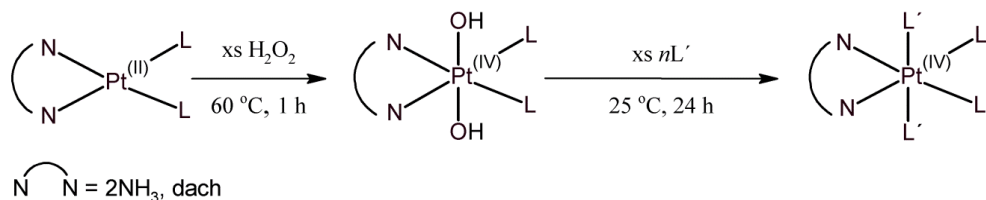
Souhrnem lze k provedené literární rešerši říci, že z dostupné literatury jsou dosud známy příklady Pt(IV) komplexů obsahující ve své struktuře pouze dva biologicky aktivní ligandy (např. mitaplatina aj.; viz Teoretické část předložené práce) [47–58]. S ohledem na provedenou literární rešerši však lze konstatovat, že do dnešního dne nebyla opublikována žádná práce, která by se zabývala syntézou tetrakarboxylatoplatičitých komplexů se čtyřmi biologicky aktivními ligandy.

Jak je zmíněno výše, jedním z cílů předložené diplomové práce byla příprava tetrakarboxylatoplatičitých komplexů (Obrázek 26). Aplikované syntetické postupy přípravy finálních Pt(IV) komplexů byly vesměs víceřadové a vyžadovaly přípravu a izolaci četných prekurzorů. Při přípravě stříbrných solí použitých karboxylových kyselin byly jednotlivé karboxylové kyseliny (DCA, PBA a VPA) neutralizovány v MeOH přidavkem NaOH a následně pak reagovaly s AgNO<sub>3</sub> za vzniku stříbrných solí (AgDC, AgPB a AgVP; Schéma 1). Dále byly připravovány chloridy karboxylových kyselin (DCCl a PBCl), opakovaně pak byly připravovány komplexy  $cis$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (cisplatina), [Pt(DACH)L<sub>2</sub>], komplexy **1–3**,  $cis,cis,trans$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>],  $cis,cis,trans$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (mitaplatina),  $cis,trans$ -[Pt(DACH)(L)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] (L = DC, PB nebo VP) a [Pt(DACH)(OH)<sub>4</sub>]. Pro syntézu tetrakarboxylatoplatičitých komplexů pak byly v předložené práci využity celkem tři syntetické strategie, které vycházely z metod popsanych v literatuře.

## I. syntetická strategie

Jedna z možných cest pro přípravu tetrakarboxylato Pt(IV) komplexů vycházela z biskarboxylato Pt(II) komplexů jako prekurzorů, jejichž příprava byla popsána v kapitole 3.2. Připravené biskarboxylato Pt(II) komplexy [Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>] (**1**), [Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>] (**2**) a [Pt(DACH)(VP)<sub>2</sub>] (**3**) byly dále oxidovány přidavkem nadbytku peroxidu vodíku na příslušné dihydroxo komplexy  $cis,trans$ -[Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>],  $cis,trans$ -[Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] a  $cis,trans$ -[Pt(DACH)(VP)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>]. Tyto dihydroxoplatičité komplexy se chovají jako vhodný elektrofil ochotný reagovat s celou řadou nukleofilů, zahrnující např. reaktivní halogenidy nebo anhydridy karboxylových kyselin. Dalším krokem tedy byla reakce těchto dihydroxoplatičitých komplexů s PBCl, DCCl nebo

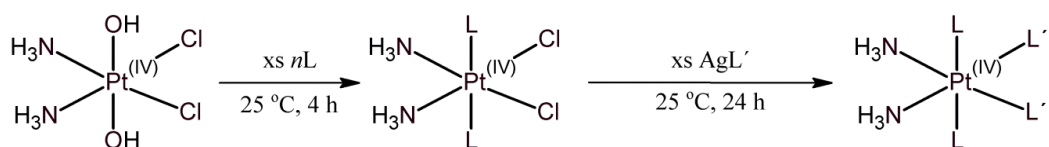
DCAAn, při které měly být substituovány dva hydroxo ligandy za použité karboxylato ligandy (Schéma 7).



**Schéma 7.** Příprava tetrakarboxylato Pt(IV) komplexu založená na oxidaci Pt(II) komplexu a následné substituci hydroxo ligandů (L, L' = DC, VP nebo PB)

## II. syntetická strategie

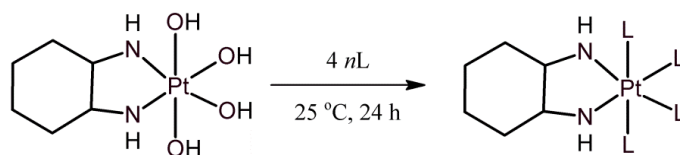
Další z cest pro přípravu Pt(IV) tetrakarboxylato komplexů vycházela z oxidace cisplatiny přidavkem nadbytku peroxidu vodíku za vzniku oxidované cisplatiny *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl<sub>2</sub>)(OH)<sub>2</sub>]. Reakcí oxidované cisplatiny s nadbytečným množstvím anhydridu kyseliny dichloroctové (DCAAn) byla připravena mitaplatina, *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] [49]. Pro přípravu příslušných tetrakarboxylato Pt(IV) komplexů byly provedeny četné reakce připravené mitaplatiny s nadbytkem stříbrné soli příslušné karboxylové kyseliny (AgDC, AgPB nebo AgVP) za předpokládaného vzniku tetrakarboxylatoplaticitých komplexů (Schéma 8).



**Schéma 8.** Příprava tetrakarboxylato Pt(IV) komplexů založená na substituci hydroxo a chloro ligandů oxidované cisplatiny (tj. *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl<sub>2</sub>)(OH)<sub>2</sub>]); nL = anhydrid karboxylové kyseliny (např. DCAAn); AgL = AgDC, AgPB a AgVP; a L a L' = DC, VP nebo PB.

## III. syntetická strategie

Třetí syntetická strategie vycházela z reakce tetrahydroxoplaticitého komplexu [Pt(DACH)(OH)<sub>4</sub>] s halogenidy příslušných karboxylových kyselin (DCCl, PBCl) za předpokládaného vzniku příslušných tetrakarboxylato Pt(IV) komplexu (Schéma 9).



**Schéma 9.** Příprava tetrakarboxylato Pt(IV) komplexů založená na substituci hydroxo ligandů komplexu  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{OH})_4]$  halogenidy karboxylových kyselin (DCCl nebo PBCl); L = DC nebo PB

Syntéza komplexů **1–3** byla založena na reakci  $[\text{Pt}(\text{DACH})\text{I}_2]$  s příslušnými stříbrnými solemi karboxylových kyselin, konkrétně s AgDC (pro komplex **1**), AgPB (pro komplex **2**) a AgVP (pro komplex **3**). Platnaté komplexy **1–3** jsou již samy o sobě látky potenciálně protinádorově aktivní, navíc je třeba zmínit, že představují nový typ platnatých komplexů kombinujících v jedné molekule aktivní Pt(II) částici a HDAC inhibitor nesoucí vlastní protinádorovou aktivitu. Lze očekávat, že výsledný efekt bude podobný jako u nedávno popsaných platičitých komplexů (viz Teoretická část) [47–58]. Připravené biskarboxylatoplatnaté komplexy (**1–3**) byly dále oxidovány peroxidem vodíku se snahou o získání dihydroxoplatičitých komplexů *cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2(\text{OH})_2]$ , *cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2(\text{OH})_2]$  a *cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2(\text{OH})_2]$ , které se ale v průběhu řešení předložené práce nepodařilo úspěšně izolovat a jejich vznik se tak nepodařilo prokázat. Jedním z důvodů může být kinetická nestabilita komplexu, který se při oxidaci peroxidem vodíku rozkládá. I přes neúspěšnou izolaci byly tyto komplexy použity *in situ* jako prekurzory příprav komplexů  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_4]$  (**8**), který pravděpodobně vznikl reakcí podle I. syntetické strategie využívající reakci *cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2(\text{OH})_2]$  s nadbytkem komerčně dostupného anhydridu kyseliny dichloroctové (DCAAn). Byly provedeny i reakce komplexů *cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2(\text{OH})_2]$  a *cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2(\text{OH})_2]$  s DCAAn, ale nevedly k izolovatelným a analyzovatelným produktům, z toho důvodu nejsou uvedeny v Experimentální části předložené práce.

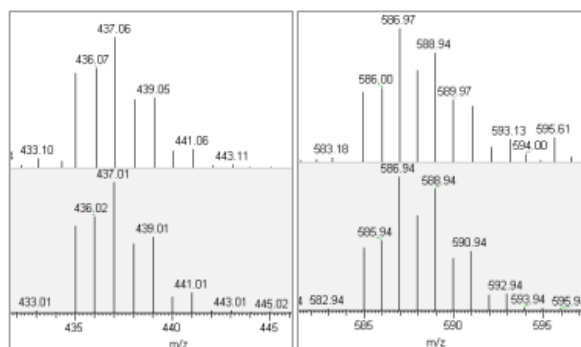
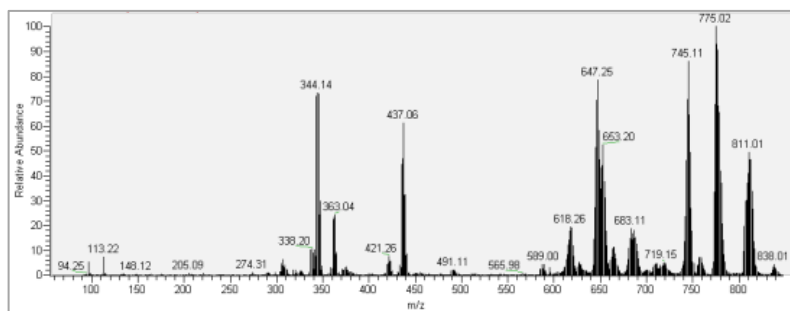
I přesto, že použitím I. syntetické strategie nebyla připravena žádná chemická individua, byla tomuto obecnému postupu věnována větší pozornost než III. strategii syntéz plánovaných platičitých komplexů. Důvodem byla především problematická syntéza meziprojektu  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{OH})_4]$  spojená s obtížnou izolací této látky, která vznikala jako žlutá pastovitá hmota. Navíc výsledky elementární analýzy potvrdily, že se nejedná o zcela

čistý produkt. I přesto byl komplex  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{OH})_4]$  použit pro reakce s PBCl a DCCI pro komplexy **7** a **8**, avšak opět tyto syntézy nevedly k produktům požadovaného složení.

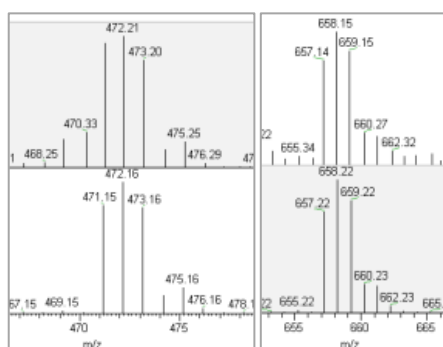
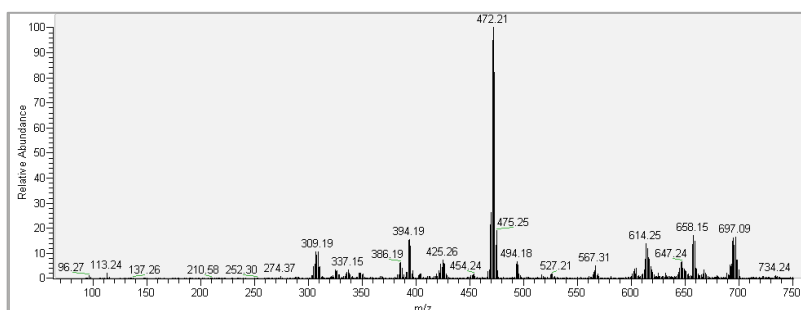
Pro přípravu komplexů **4–6** byla použita II. syntetická strategie, která vycházela z mitaplatiny (*cis,cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2(\text{DC})_2]$ ) a její reakce s nadbytkem stříbrné soli příslušné karboxylové kyseliny. Problematickým krokem při syntéze výše uvedených tetrakarboxylato Pt(IV) komplexů je jejich izolace, protože se většinou jedná o gelovité látky, které obtížně krystalizovaly. Syntézy byly vícekrát opakovány, přičemž docházelo k modifikacím molárního poměru mitaplatiny a jednotlivých stříbrných solí karboxylových kyselin. Z výsledku EA vyplývá, že se podařilo připravit pouze komplex *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{DC})_4]$  (**4**). Komplexy *cis,cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{PB})_2(\text{DC})_2]$  (**5**) a *cis,cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{VP})_2(\text{DC})_2]$  (**6**) se i přes opakovanou syntézu nepodařilo připravit resp. izolovat – provedené CHN elementární analýzy se výrazně lišily od předpokládaného procentového zastoupení jednotlivých stanovovaných prvků. Zde je třeba zdůraznit, že v čase počátku řešení předložené práce nebyly známé komplexy (např. *cis,cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2(\text{PB})_2]$  nebo *trans*- $[\text{Pt}(\text{DACH})_2(\text{ox})(\text{PB})_2]$ ), které byly v průběhu řešení této práce publikovány [56]. Mnohé ze zde publikovaných látek měly být součástí předložené práce, ve které měly plnit stejnou funkci jako mitaplatina, tedy měly být meziprodukty pro další syntetické kroky. Z objektivních důvodů ale tyto látky do práce zahrnuty nebyly.

Souhrnem lze k provedeným syntézám říci, že podle výsledků CHN elementární analýzy byly pravděpodobně připraveny komplexy **4** a **8** obsahující čtyři dichloracetato ligandy. U dalších syntéz tetrakarboxylato komplexů se výsledky elementární analýzy výrazně lišily od teoretických hodnot. Důvodem může být znečištění produktu použitými meziprodukty, neúplná konverze nebo také nestabilita komplexu z důvodu vazby čtyř objemných nukleofilů.

U vybraných produktů byla následně provedena hmotnostní spektrometrie a  $^1\text{H}$  NMR spektroskopie. Hmotnostní spektrometrie byla provedena pro roztoky v MeOH za použití ionizace elektrospřejem v pozitivním (ESI+) i negativním (ESI-) módu. Na Obrázcích 28–34 jsou uvedena hmotnostní spektra komplexů **1–6**, **8** a mitaplatiny, ve většině případů včetně porovnání experimentální a teoretické izotopové distribuce charakteristických signálů.



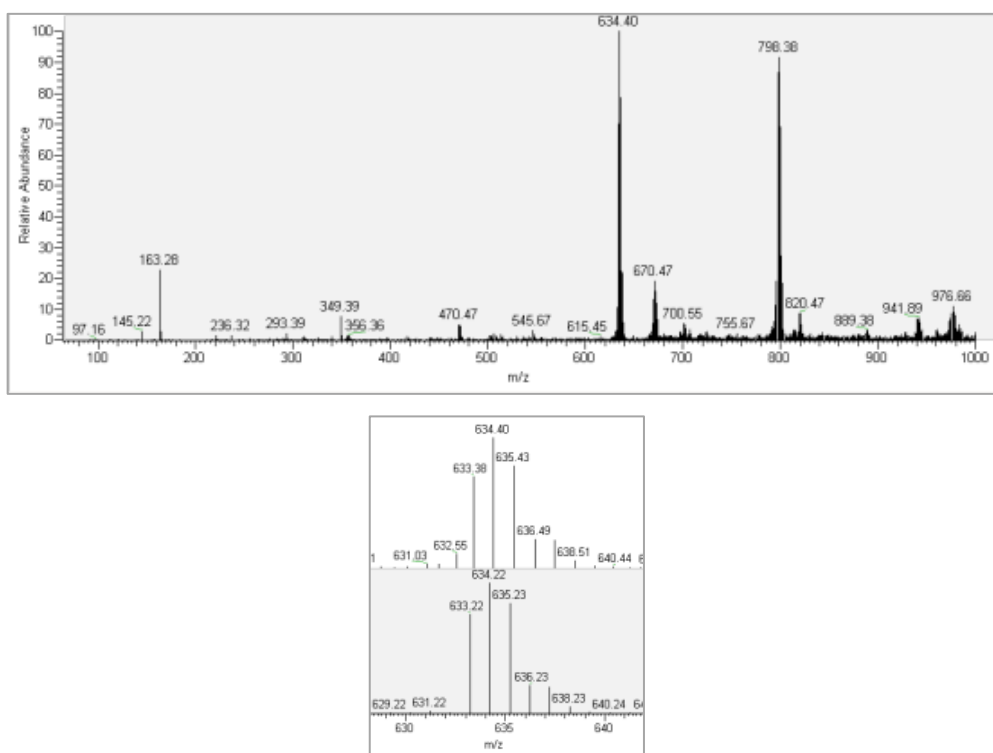
**Obrázek 28.** ESI+ hmotnostní spektrum komplexu  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2]$  (**1**; nahoře) a porovnání experimentální a teoretické izotopové distribuce pro částice  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})]^+$  (dole vlevo) a  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2]+\text{Na}\}^+$  (dole vpravo).



**Obrázek 29.** ESI+ hmotnostní spektrum komplexu  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]$  (**2**; nahoře) a porovnání experimentální a teoretické izotopové distribuce pro částice  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})]^+$  (dole vlevo) a  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]+\text{Na}\}^+$  (dole vpravo).



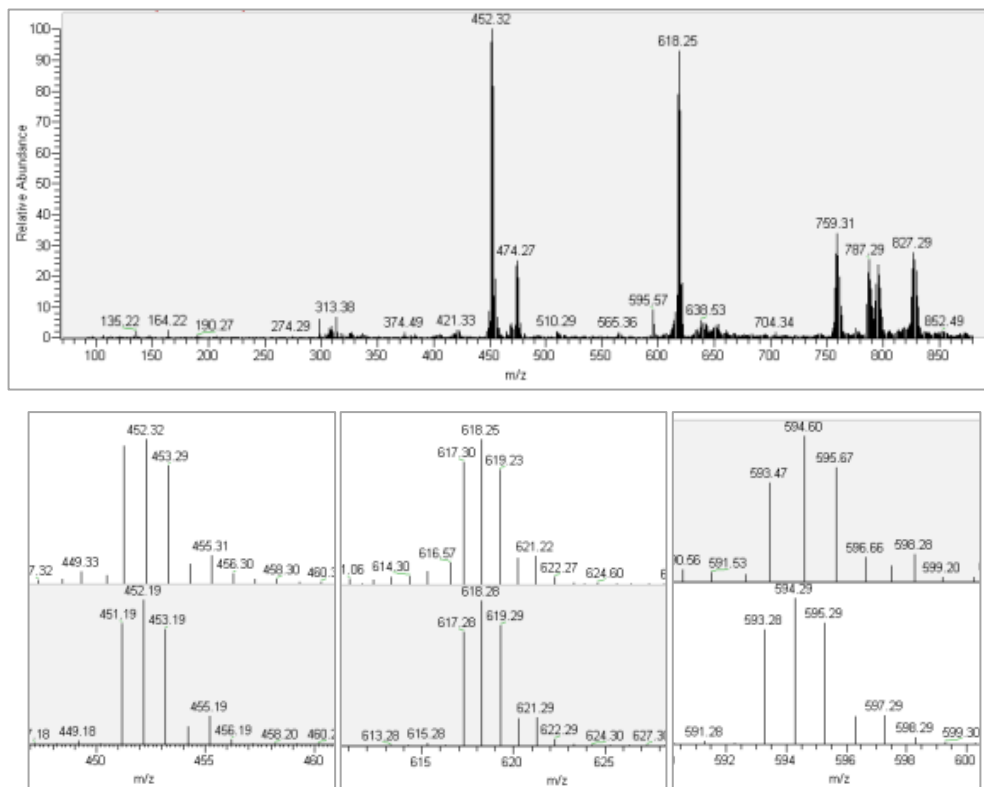
V ESI+ hmotnostním spektru komplexu **1** byly detekovány píky signálů částic  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2]+\text{Na}\}^+$  ( $587,0\text{ m/z}$ ) která odpovídá aduktu komplexu **1** a sodného kationtu, a  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})]^+$  ( $437,1\text{ m/z}$ ), který ze studovaného komplexu **1** vzniká odštěpením jednoho dichloracetato (Obrázek 28). Analogické částice, tedy  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]+\text{Na}\}^+$  ( $658,2\text{ m/z}$ ) a  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})]^+$  ( $472,2\text{ m/z}$ ), byly pozorovány také v ESI+ hmotnostním spektru komplexu **2** (Obrázek 29). U komplexu **2** byla dále v ESI- hmotnostním spektru detekována částice  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]-\text{H}\}^-$  ( $634,4\text{ m/z}$ ), která odpovídá molekulovému píku komplexu **2** a potvrzuje vznik této látky provedenou syntézou (Obrázek 30).



**Obrázek 30.** ESI- hmotnostní spektrum komplexu  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]$  (**2**; nahoře) a porovnání experimentální a teoretické izotopové distribuce pro částici  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]-\text{H}\}^-$  (dole).

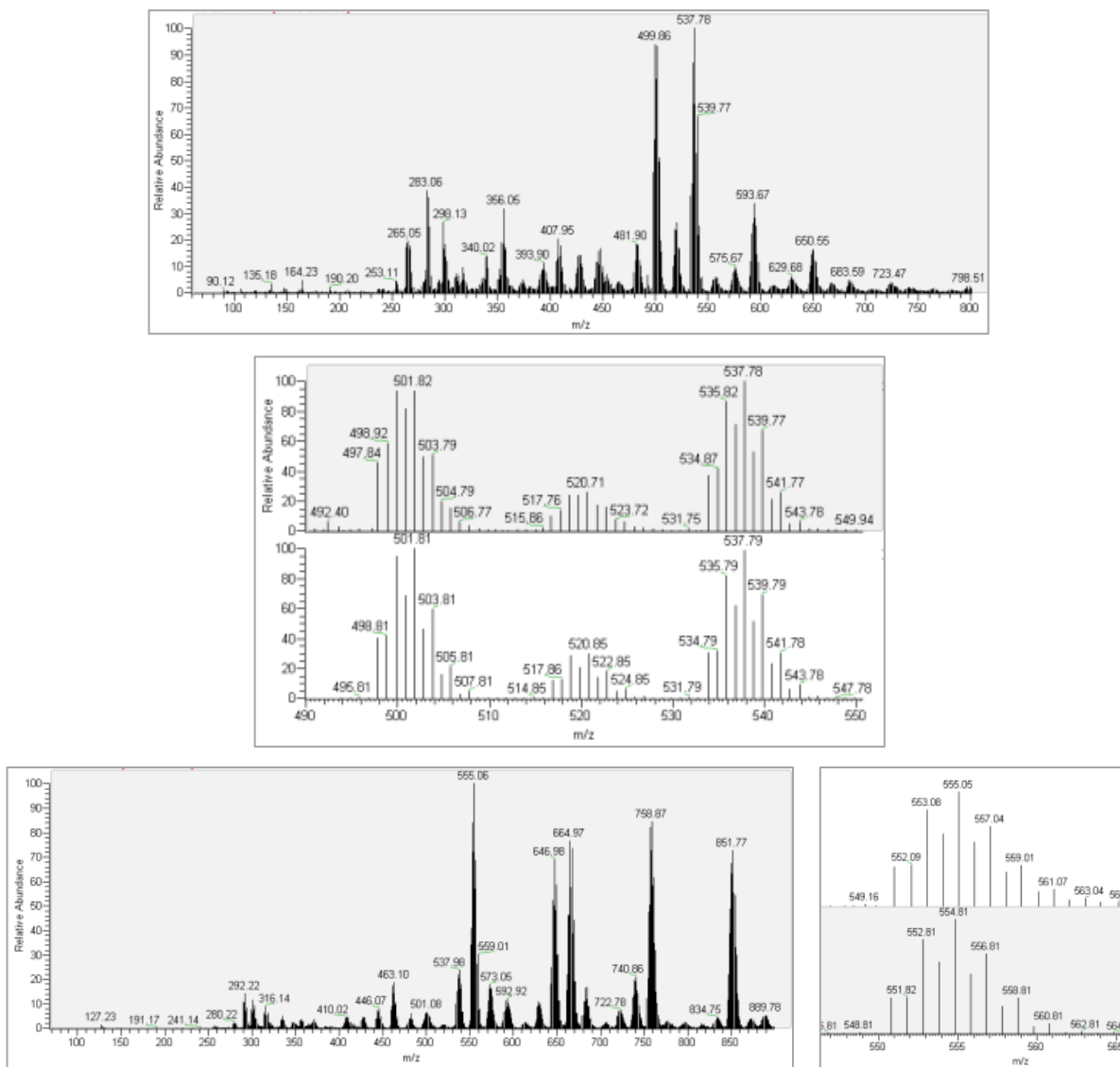
ESI+ a ESI- hmotnostní spektra dalšího platnatého komplexu o složení  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]$  (**3**) obsahovalo píky, jejichž hodnoty  $m/z$  a shodná experimentální a teoretická izotopová distribuce prokazovaly přítomnost částic  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})]^+$  ( $452,3\text{ m/z}$ ),  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]+\text{Na}\}^+$  ( $618,2\text{ m/z}$ ) (detekované v kladném ionizačním módu),

a částici  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]-\text{H}\}^-$  ( $594,3 \text{ m/z}$ ) detekované v ESI<sup>-</sup> hmotnostním spektru (Obrázek 31).



**Obrázek 31.** ESI<sup>+</sup> hmotnostní spektrum komplexu  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]$  (**3**; nahoře) a porovnání experimentální a teoretické izotopové distribuce pro částice  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]^+$  (dole vlevo),  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]+\text{Na}\}^+$  (dole uprostřed), který byly detekovány v ESI<sup>+</sup> hmotnostním spektru, a částice  $\{[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]-\text{H}\}^-$  (dole vpravo) detekované v ESI<sup>-</sup> hmotnostním spektru.

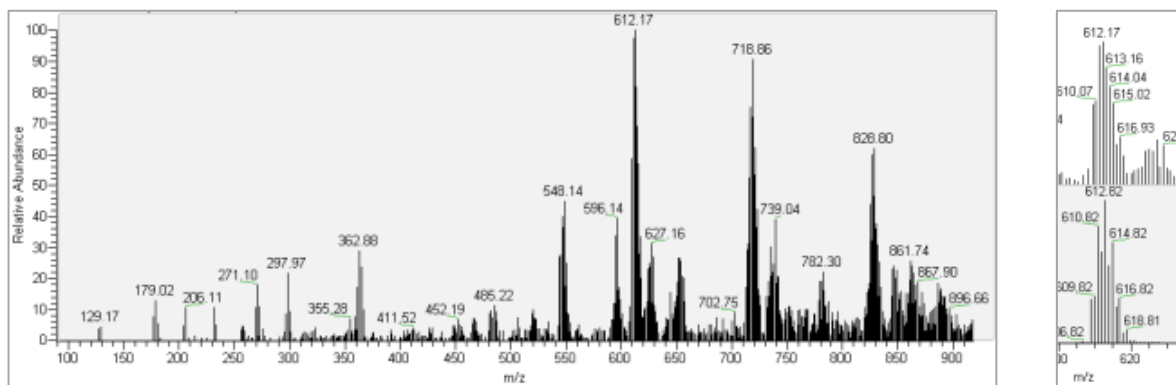
Hmotnostní spektrometrií byl studován také komplex *cis,cis,trans*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2(\text{DC})_2]$  (mitaplatina), který byl v práci použit jako jeden z klíčových meziproduktů při syntézách požadovaných tetrakarboxylatoplatičitých komplexů (Obrázek 32). V poměrně bohatém ESI<sup>+</sup> hmotnostním spektru byly, mimo, jiné, rozpoznány částice  $\{[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}(\text{DC})_2]-2\text{H}\}^+$  ( $501,8 \text{ m/z}$ ),  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{DC})_2]^+$  ( $520,7 \text{ m/z}$ ) a  $\{[\text{Pt}(\text{NH}_3)\text{Cl}_2(\text{DC})_2]-2\text{H}\}^+$  ( $537,8 \text{ m/z}$ ), které vznikly z připravené mitaplatiny odštěpením chloro a/nebo amin ligandu, zatímco oba axiální dichloracetato ligandy zůstaly ve vnitřní koordinační sféře komplexní částice. Intenzivní molekulový pík částice  $\{[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2(\text{DC})_2]-\text{H}\}^-$  ( $555,0 \text{ m/z}$ ) byl přítomen v ESI<sup>-</sup> hmotnostním spektru tohoto komplexu.



**Obrázek 32.** ESI+ hmotnostní spektrum komplexu *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (mitaplatina; nahoře), porovnání experimentální a teoretické izotopové distribuce pro částice {[Pt(NH<sub>3</sub>)Cl(DC)<sub>2</sub>]-2H}<sup>+</sup>, [Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl(DC)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> a {[Pt(NH<sub>3</sub>)Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>]-2H}<sup>+</sup> (uprostřed; zleva doprava v poměru 1 : 0,3 : 1), a ESI- hmotnostní spektrum stejného komplexu (dole vlevo) včetně porovnání experimentální a teoretické izotopové distribuce pro částici {[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>]-H}<sup>-</sup> (dole vpravo).

ESI- hmotnostní spektrum komplexu *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(DC)<sub>4</sub>] (**4**; Obrázek 33) se poměrně výrazně liší od výchozí mitaplatiny (Obrázek 32), což nepřímě poukazuje na změny složení studované látky v důsledku proběhnuvší chemické reakce zmíněné mitaplatiny s nadbytkem AgDC. Mezi nově objevenými píky stojí za zmínku pík detekovaný při 612,2 *m/z* odpovídající s největší pravděpodobností částici [Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(DC)<sub>3</sub>]<sup>-</sup>, kde je centrální atom

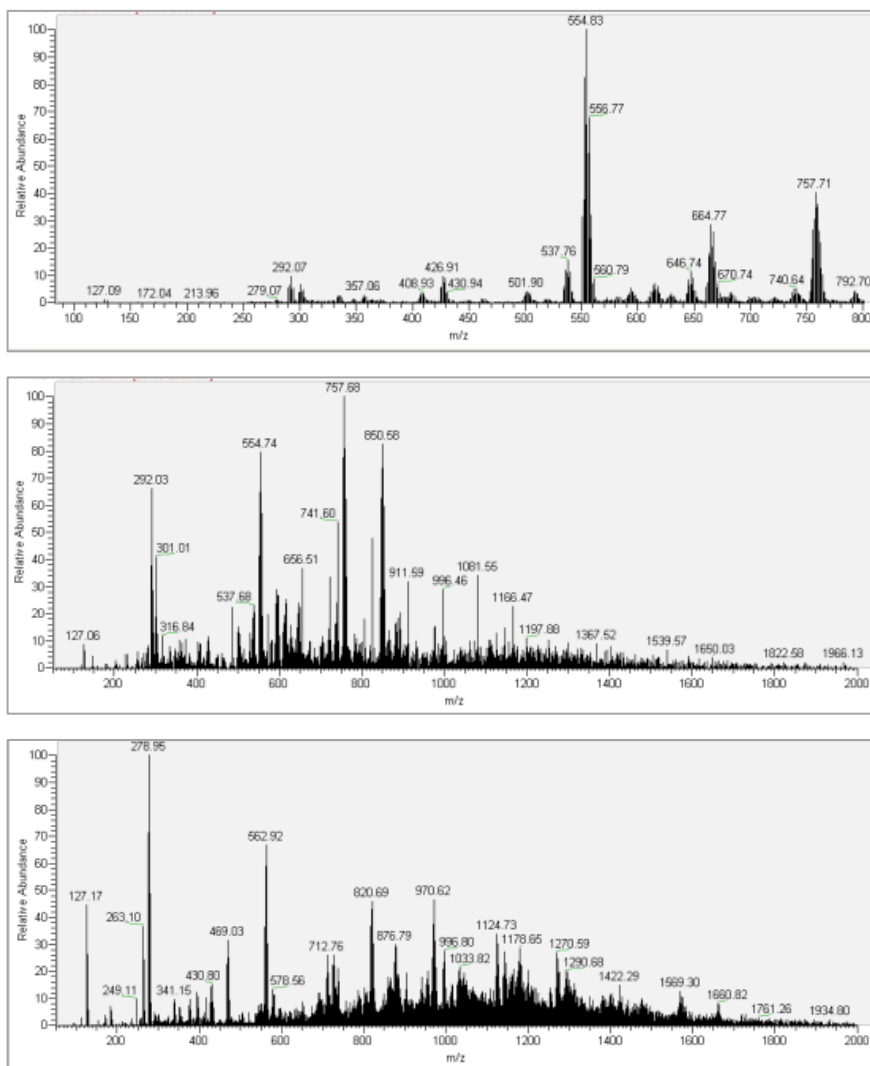
pravděpodobně redukováný s počátečního oxidačního čísla +IV do oxidačního stavu +II (Obrázek 33). Je nutné ale zmínit, že nepanuje dostatečná shoda mezi experimentálním a teoretickým izotopovým rozložením pro tuto částici.



**Obrázek 33.** ESI– hmotnostní spektrum komplexu, *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(DC)<sub>4</sub>] (**4**) (vlevo) a porovnání experimentální a teoretické izotopové distribuce pro částici [Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(DC)<sub>3</sub>]<sup>-</sup> (vpravo).

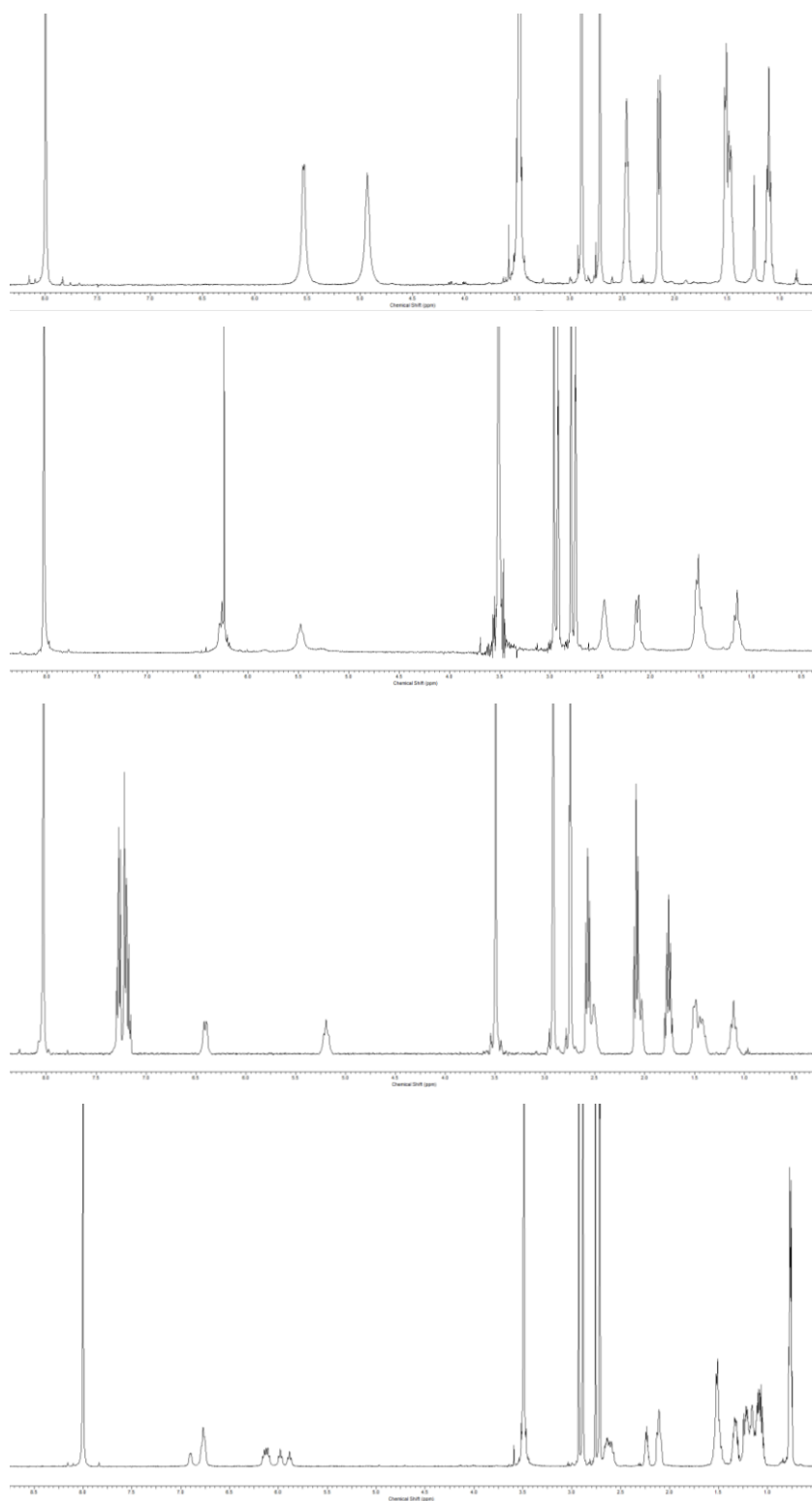
Hmotnostní spektrometrií byly studovány i izolované produkty příprav komplexů *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**5**), *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(VP)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**6**) a [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (**8**) (Obrázek 34). Nicméně, ani v ESI+ ani v ESI– hmotnostních spektrech těchto látek nebyly detekovány signály, jejichž hodnoty *m/z* a dobrá shoda experimentální a teoretické izotopové distribuce by jakýmkoli způsobem prokazovaly úspěšnou přípravu uvedených komplexů.

Další analytickou metodou, které bylo využito ke studiu připravovaných látek, byla <sup>1</sup>H nukleární magnetická resonance (NMR). Experimenty byly provedeny na ca 5 mM roztocích studovaných komplexů [Pt(DACH)<sub>2</sub>], [Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>] (**1**), [Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>] (**2**), [Pt(DACH)(VP)<sub>2</sub>] (**3**), *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>], *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(DC)<sub>4</sub>] (**4**), *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**5**), *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(VP)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**6**), [Pt(DACH)(PB)<sub>4</sub>] (**7**) a [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (**8**) rozpuštěných v DMF-*d*<sub>7</sub>, přičemž měření probíhala při teplotě okolí (ca 25 °C). Některé dosažené výsledky <sup>1</sup>H NMR spektroskopie jsou uvedeny u jednotlivých komplexů v Experimentální části předložené práce, jiné jsou, z důvodu nejednoznačné interpretovatelnosti, v předložené práci pouze vyobrazeny (viz níže některé z Obrázků 35–39).



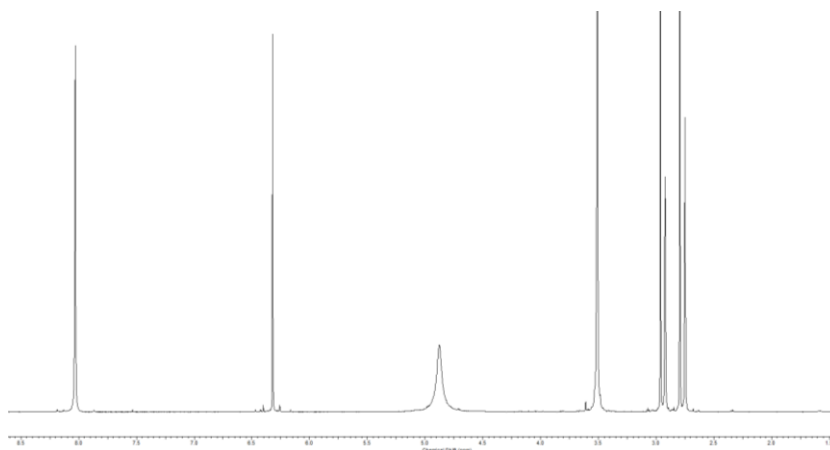
**Obrázek 34.** ESI– hmotnostní spektra komplexů *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**5**; nahoře), *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(VP)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**6**; uprostřed) a [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (**8**; dole).

Další analytickou metodou, které bylo využito ke studiu připravovaných látek, byla <sup>1</sup>H nukleární magnetická rezonance (NMR). Experimenty byly provedeny na ca 5 mM roztocích studovaných komplexů rozpuštěných v DMF-*d*<sub>7</sub>, přičemž měření probíhala při teplotě okolí (ca 25 °C). Některé dosažené výsledky <sup>1</sup>H NMR spektroskopie jsou uvedeny u jednotlivých komplexů v Experimentální části předložené práce, jiné jsou, z důvodu nejednoznačné interpretovatelnosti, v předložené práci pouze vyobrazeny (viz níže některé z Obrázků 35–42).



**Obrázek 35.**  $^1\text{H}$  NMR spektra komplexů  $[\text{Pt}(\text{DACH})\text{I}_2]$ ,  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2]$  (**1**),  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]$  (**2**) a  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]$  (**3**) (zobrazeny v uvedeném pořadí od shora dolů).

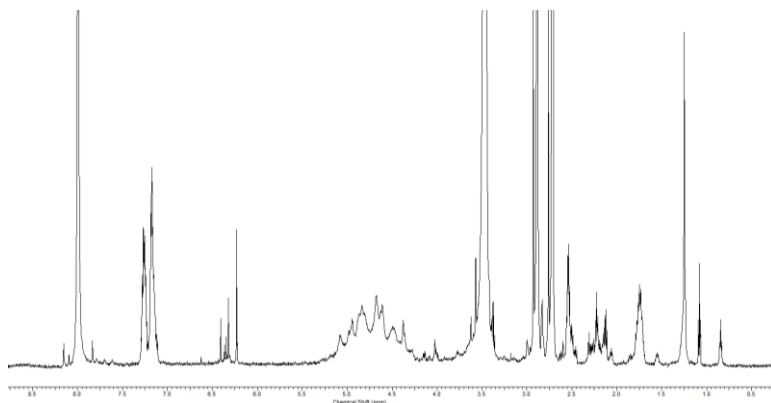
V  $^1\text{H}$  NMR spektru meziprojektu  $[\text{Pt}(\text{DACH})\text{I}_2]$  (Obrázek 35) byly s odpovídající integrální intenzitou detekovány signály vodíků obou  $\text{NH}_2$  skupin DACH ligandu (ca 5,0 a 5,5 ppm) a signály alifatických vodíků cyklohexanového kruhu (ca 1,0–2,5 ppm). Tyto signály byly přítomny také v  $^1\text{H}$  NMR spektrech komplexů  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2]$  (**1**),  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]$  (**2**) a  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]$  (**3**), jejichž syntéza z diiodoplatnatého komplexu  $[\text{Pt}(\text{DACH})\text{I}_2]$  vycházela (Obrázek 35). Navíc byly v  $^1\text{H}$  NMR spektrech komplexů **1–3** detekovány signály jednotlivých karboxylato ligandů, tedy DC pro komplex **1**, PB pro komplex **2** a VP pro komplex **3**. Pro příklad lze zmínit charakteristické signály těchto ligandů detekované pro DC při 6,25 ppm ( $\text{CHCl}_2$ ), pro PB při 1,76 ppm ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ) a při 7,15–7,30 ppm (aromatické uhlovodíky fenylového kruhu) a pro VP při 0,84 ppm ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ) (Obrázek 35). V případě komplexů **1** a **2** byly poměry integrálních intenzit DACH a karboxylato ligandů v souladu s předpokladem, což v součtu s výsledky elementární analýzy a hmotnostní spektrometrie jednoznačně potvrzuje vznik těchto látek. Naproti tomu u komplexu **3** bylo z poměrů integrálních intenzit DACH a VP ligandů usouzeno, že komplex obsahuje pouze jeden VP ligand, a tedy že jeho složení neodpovídá, podle výsledku  $^1\text{H}$  NMR spektroskopie vzorci  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]$ .



**Obrázek 36.**  $^1\text{H}$  NMR spektrum komplexu  $cis,cis,trans$ - $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2(\text{DC})_2]$ .

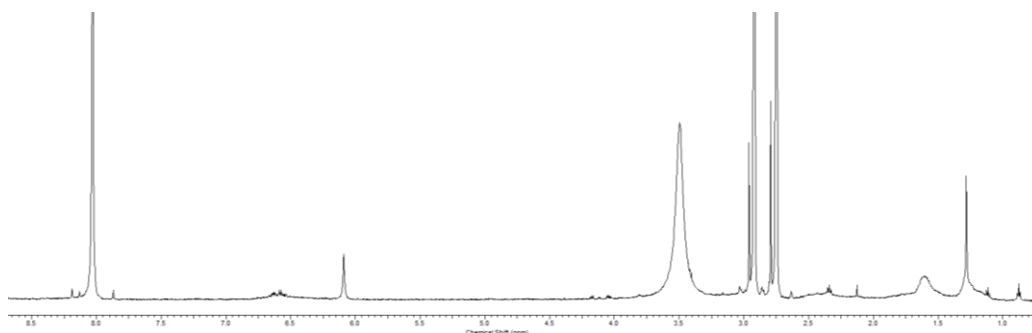
Dalším důležitým meziprojektu prováděných syntéz byl komplex  $cis,cis,trans$ - $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2(\text{DC})_2]$  (mitaplatina; Obrázek 36). V  $^1\text{H}$  NMR spektru této látky pozorujeme CH signál axiálních DC ligandů a široký signál dvou  $\text{NH}_3$  ligandů, které pak pozorujeme i ve spektrech komplexů, které využívají mitaplatinu jako výchozí Pt(IV)

komplex. Příkladem může být komplex *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**5**; Obrázek 37), v jehož <sup>1</sup>H NMR spektru byly detekovány jak signály axiálních dichloracetato ligandů, tak také signály nově navázaných 4-fenylbutyrato ligandů po reakci mitaplatiny s nadbytkem AgPB. Nicméně je patrné, že studovaná látka (**5**) nepředstavuje chemické individuum, protože ve spektru byly pozorovány minimálně tři charakteristické signály CH vodíků DC ligandů (Obrázek 37).



**Obrázek 37.** <sup>1</sup>H NMR spektrum komplexu *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**5**).

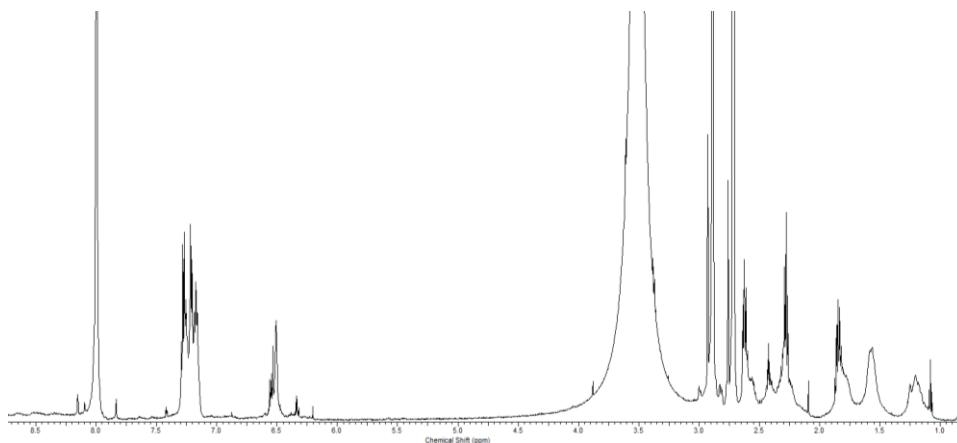
Na Obrázku 38 je znázorněno <sup>1</sup>H NMR spektrum komplexu [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (**8**), ve kterém byl detekován charakteristický signál dichloracetato ligandu (ca 6,1 ppm). Naopak nebyly detekovány signály vodíkových atomů obou NH<sub>2</sub> skupin DACH ligandu, což se stávalo i u <sup>1</sup>H NMR spektroskopii jiných zde studovaných DACH komplexů (viz níže), a je to pravděpodobně způsobeno výměnou/substitucí těchto vodíkových atomů a použitím rozpouštědla nebo vody.



**Obrázek 38.** <sup>1</sup>H NMR spektrum komplexu [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (**8**).

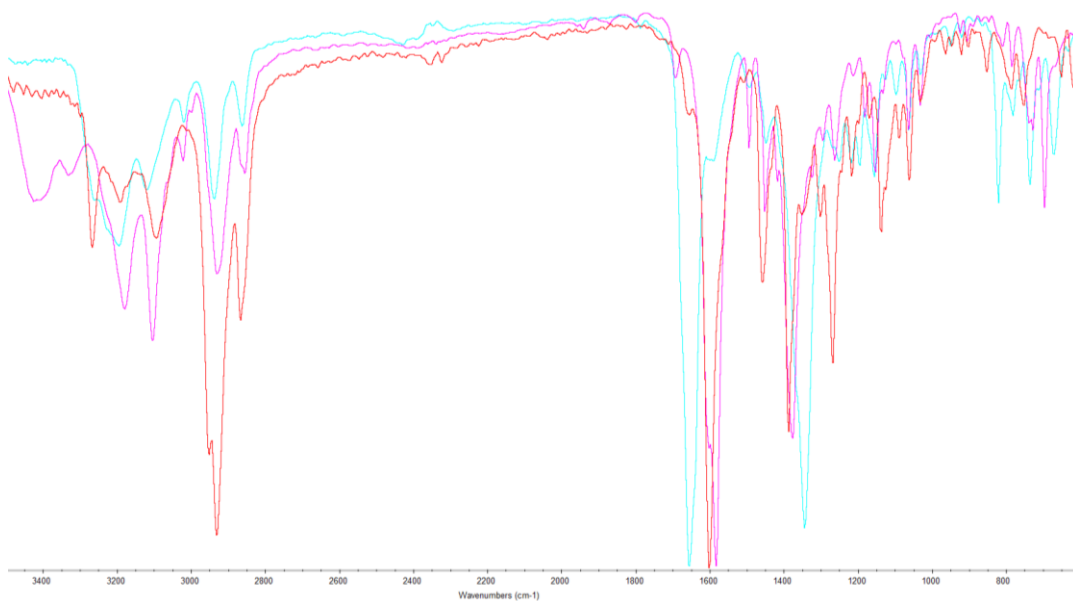


Podobně jako u předchozí látky, ani v  $^1\text{H}$  NMR spektru komplexu *cis,trans*-[Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**9**; Obrázek 39) nebyly detekovány signály vodíkových atomů NH<sub>2</sub> skupin obsažených na DACH ligandu. Na druhou stranu přítomnost DACH ligandu ve struktuře studované látky je prokázána přítomností signálů CH<sub>2</sub> a CH vodíkových atomů DACH ligandu. Ve spektru také vidíme, že společně s PB ligandy, které jsou obsaženy již ve výchozích komplexech [Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>] (**2**) a *cis,trans*-[Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>], je v komplexu přítomen i DC ligand (signály při ca 6,5 ppm). Opět však lze předpokládat, že se nejedná o chemické individuum a že by syntéze tohoto komplexu ještě musela být vhodně modifikována.

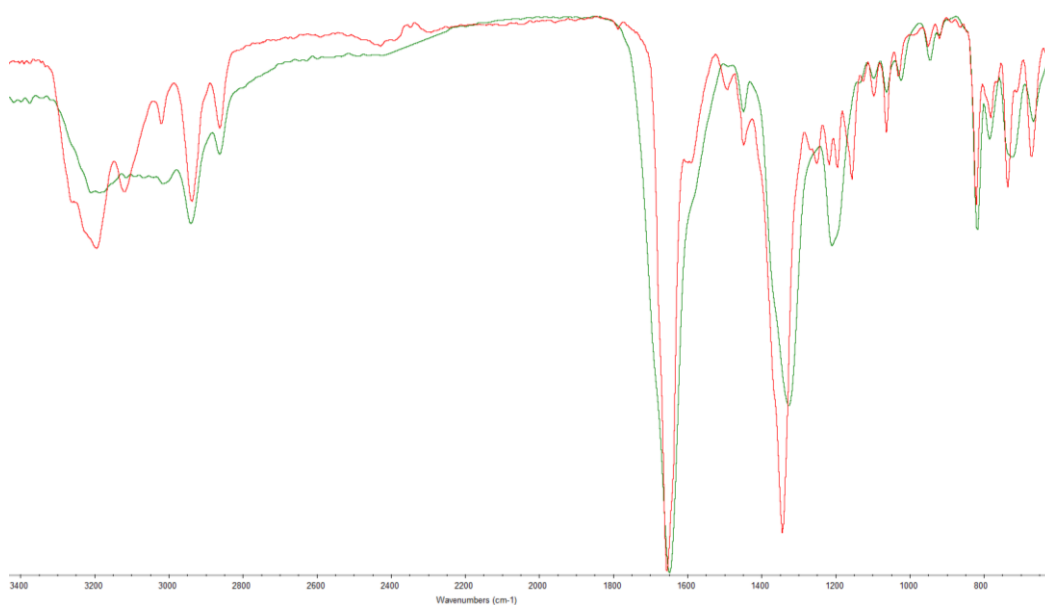


**Obrázek 39.**  $^1\text{H}$  NMR spektrum komplexu *cis,trans*-[Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**9**)

Vybrané komplexy, konkrétně **1–3**, mitaplatina, *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(PB)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**5**), *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(VP)<sub>2</sub>(DC)<sub>2</sub>] (**6**) a [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (**8**), byly studovány také FT-IR spektroskopí v oblasti od 400 do 4000 cm<sup>-1</sup>. Ve všech FT-IR spektrech byly signály vibrací charakteristických C=O a C–O vazeb karboxylových skupin použitých DC, PB a VP ligandů. Na Obrázku 40 je zobrazeno porovnání FT-IR spekter platnatých komplexů **1–3**, kde jsou patrné rozdíly v oblasti vibrací aromatických a alifatických CH<sub>n</sub> skupin (2800–3300 cm<sup>-1</sup>), způsobené přítomností odlišných karboxylato ligandů ve strukturách zmíněných Pt(II) komplexů. Odlišnou strukturu komplexů [Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>] (**1**) a [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (**8**) pak nepřímo prokazuje porovnání FT-IR spekter těchto látek zobrazené na Obrázku 41.



**Obrázek 40.** Porovnání FT-IR spekter komplexů  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2]$  (**1**; modře),  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{PB})_2]$  (**2**; růžově) a  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{VP})_2]$  (**3**; červeně).



**Obrázek 41.** Porovnání FT-IR spekter komplexů  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_2]$  (**1**; červeně) a  $[\text{Pt}(\text{DACH})(\text{DC})_4]$  (**8**; zeleně).

## 5 ZÁVĚR

Vzhledem k četným negativním vedlejším účinkům protinádorových chemoterapeutik na bázi platiny jsou již po několik posledních desetiletí stále vyvíjeny nové komplexy platiny s cílem o přípravu co nejméně negativní vedlejší účinky. Výrazného navýšení aktivity konvenčních platnatých léčiv cisplatiny a oxaliplatiny bylo dosaženo jejich oxidací do oxidačního stupně +IV a navázáním dvou biologicky aktivních *O*-donorových ligandů nesoucí vlastní protinádorovou aktivitu (např. 4-fenylbutyrato ligand) [56 a reference citované tamtéž]. Zajímavé je, že doposud nebyly v literatuře popsány platičité komplexy, kde by ve vnitřní koordinační sféře byly, společně se dvěma monodentátními *N*-donorovými ligandy nebo jedním bidentátním *N*-donorovým ligandem, navázány ne pouze dva, ale čtyři biologicky aktivní *O*-donorové karboxylato ligandy. Pokusit se o přípravu takovýchto látek obecného složení *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>4</sub>], *cis,cis,trans*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>], [Pt(DACH)(L)<sub>4</sub>] nebo *cis,trans*-[Pt(DACH)(L)<sub>2</sub>(L')<sub>2</sub>], kde L a L' symbolizují monodentátní *O*-donorové karboxylato ligandy dichloracetato, 4-fenylbutyrato a valproato, bylo hlavním cílem předložené diplomové práce.

Vlastní práce vycházela z detailní literární rešerše na téma protinádorově aktivních platnatých a platičitých komplexů, se zaměřením na platičité komplexy obsahující biologicky aktivní *O*-donorové karboxylato ligandy. Na základě provedené rešerše byly stanoveny celkem tři možné syntetické strategie pro přípravu požadovaných tetrakarboxylatoplatičitých komplexů. Získané produkty byly charakterizovány relevantními analytickými technikami (elementární analýza, FT-IR a NMR spektroskopie a hmotnostní spektrometrie), které prokázaly, že byly připraveny dva nové platnaté komplexy [Pt(DACH)(DC)<sub>2</sub>] (**1**) a [Pt(DACH)(PB)<sub>2</sub>] (**2**). Dále se podařilo připravit obdobný platnatý komplex [Pt(DACH)(VP)<sub>2</sub>] (**3**) a dva platičité tetrakis(dichloracetato)platičité komplexy o složení *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(DC)<sub>4</sub>] (**4**) a [Pt(DACH)(DC)<sub>4</sub>] (**8**), avšak izolované produkty pravděpodobně nedosahují požadované čistoty a jejich syntézy budou vyžadovat ještě další optimalizaci nad rámec předložené práce.

## 6 POUŽITÁ LITERATURA A ZDROJE

- [1] Kameníček, J., Šindelář, Z., Pastorek, R., Kašpárek, F. *Anorganická chemie*. 4. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009. ISBN 978-80-244-2387-6
- [2] Greenwood, N. N., Earnshaw, A. *Chemie prvků*. Praha: Informatorium, 1993. ISBN 80-85427-38-9
- [3] Housecroft, C. E., Sharpe, A. G. *Anorganická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014. ISBN 978-80-7080-872-6
- [4] Gielen M., Tiekink E. R. T. *Metallotherapeutic Drugs and Metal-based Diagnostic Agents*. Eley, 2005. ISBN 0-470-86403-6
- [5] Johnstone, C. T., Suntharalingam K., Lippard J. S. *The next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs*. Chem. Rev. 2016, 116, 3436-3486
- [6] Wheate N. J., Walker S., Craig E. G, Oun R. *The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials*. Dalton Trans., 2010, 39, 8113-8127
- [7] Kauffman B. G., Pentimalli R., Doldi S., Hall D. M. *Michele Peyrone (1813-1883), Discoverer of Cisplatin*. Platinum Metals Rev., 2010, 54, (4), 250-256
- [8] Dasari S., Tchounwou B. P. *Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action*. Eur J Pharmacol., 2014, October 5, 0, 364-378
- [9] Kostova I. *Platinum Complexes as Anticancer Agents*. Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery, 2006, 1, 1-22
- [10] Cisplatina – strukturní model. Dostupné z: <http://web.natur.cuni.cz/~kudch/main/halogeny/HALOGENY/HALOGENY/chlor/vyznam/cisplatina.html>, 2017
- [11] Rosenberg B., Renshaw E., Vancamp L., Hartwick J., Drobnik J. *Platinum-Induced Filamentous Growth in Escherichia coli*. Journal of Bacteriology. 1967, Feb., Vol. 93, No. 2, 716 - 721
- [12] Alderden A. R., Hall D. M., Hambley W. T. *The Discovery and Development of Cisplatin*. Journal of Chemical Education, 2006, Vol. 83, No. 5
- [13] Kelland L. *The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy*. Nature Reviews. Cancer, 2007, Vol. 7, 573 - 584
- [14] Dhara, S. C. *Cisplatin*. Indian J. Chem. 1970; 8:193

- [15] Dilruba, S., Kalayda, V. G. *Platinum-based drugs: past, present and future*. *Cancer Chmother Pharmacol*, 2016, 77, 1103-1124
- [16] Matysiak, W., Gustaw-Rothenberg, K. *Pharmacological profile and clinical features of cisplatin*. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 2009, Vol. 3, No 1, 020-023
- [17] E. R. Jamieson a S. J. Lippard. *Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin-DNA Adducts*. *Chemical Reviews*. 1999, č. 99, 2467-98
- [18] Boulikas, T., Pantos, A., Bellis, E., Christofis, P. *Designing platinum compounds in cancer structures and mechanisms*. *Cancer Therapy*, 2007, Vol 5, 537-583
- [19] Johnstone, C. Timothy, Wilson, J. J., Lippard, J. S. *Monofunctional and Higher-Valent Platinum Anticancer Agents*. *Inorg. Chem.* 2013, 52, 12234-12249
- [20] Stordal, B., Pavlakis, N., Davey, R. *Oxaliplatin for the treatment of cisplatin-resistant cancer: A systematic review*. *Cancer Treatment Reviews*. 2007, 33, 347-357
- [21] McKeage, J. M. *Lobaplatin: a new antitumour platinum drug*. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 2001, Vol 10, Issue 1, 119-128
- [22] Hall, D. M., Mellor, R. H., Callaghan, R., Hambley, W. T. *Basis for Design and Development of Platinum(IV) Anticancer Complexes*. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2007, Vol 50, Number 15, 3403-3411
- [23] Wang, D., Lippard, S. J. *Cellular processing of platinum anticancer drugs*. *Nat. Rev. Drug Discovery*. 2005, 4, 307-320
- [24] Jung, Y., Lippard, S. J. *Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage*. *Chem. Rev.* 2007, 107, 1387-1407
- [25] Bose, R. N. *Biomolecular targets for platinum antitumor drugs*. *Mini-Rev. Med. Chem.* 2002, 2, 103-111
- [26] Andrews, P. A.; Howell, S. B. *Cellular pharmacology of cisplatin: perspectives on mechanisms of acquired resistance*. *Cancer Cells*. 1990, 2, 35-43
- [27] Gately, D. P.; Howell, S. B. *Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review*. *Br. J. Cancer* 1993, 67, 1171-1176
- [28] Timerbaev, A. R.; Hartinger, C. G.; Aleksenko, S. S.; Keppler, B. K. *Interactions of antitumor metallodrugs with serum proteins: advances in characterization using modern analytical methodology*. *Chem. ReV.* 2006, 106, 2224-2248

- [29] Novohradský, V. *Modifikace biomakromolekul metalofarmaky: Zdokonalení teoretického zázemí pro vývoj nových léčiv proti rakovině*. Disertační práce. 2015. PřF UP, Olomouc
- [30] Hall, D. M., Dolman, R., Hambley W. Trevor. *Platinum(IV) Anticancer Complexes*. Metal ions in biological systems. 2004
- [31] Hall, D. M., Hambley, T. W. *Platinum(IV) antitumour compounds: their bioinorganic chemistry*. *Coord. Chem. Rev.* 2002, 232, 49-67
- [32] W. K. Anderson, D. A. Quagliato, R. D. Haugwitz, V. L. Narayanan M. K. Wolpert-DeGillipes, *Primary systemic therapy for operable breast cancer*. *Cancer Treat. Rep.*, 1986, 70, 997–1002.
- [33] LeRoy A. F., Thompson W. C. *Binding kinetics of tetrachloro-1,2-diaminocyclohexaneplatinum(IV)(Tetraplatin) and cis-diamminedichloroplatinum(II) at 37° with human plasma proteins and with bovine serumalbumin. Does aquation precede protein binding?* *Journal of the National Cancer Institute*. 1989, 81, 427-436.
- [34] Schilder, R. J.; LaCreta, F. P.; Perez, R. P.; Johnson, S. W.; Brennan, J. M.; Rogatko, A.; Nash, S.; McAleer, C.; Hamilton, T. C.; Roby, D.; Young, R. C.; Ozols, R. F.; O'Dwyer, P. J. *Phase I and Pharmacokinetic Study of Ormaplatin (Tetraplatin, NSC 363812) Administered on a Day 1 and Day 8 Schedule*. *Cancer Res.* 1994, 54, 709–717.
- [35] Ormaplatina. Vzorec struktury. Dostupné z: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ormaplatin.png>, 2017.
- [36] Pendyala, L.; Cowens, J. W.; Chheda, G. B.; Dutta, S. P.; Creaven, P. J. *Identification of cis-Dichloro-bis-isopropylamine Platinum(II) as a Major Metabolite of Iproplatin in Humans*. *Cancer Res.* 1988, 48, 3533–3536.
- [37] V. H.C. Bramwell, D. Crowther, S. O'Malley, R. Swindell, R. Johnson, E. H. Cooper, N. Thatcher and A. Howell. *Activity of JM9 in Advanced Ovarian Cancer: A Phase I-II Trial*. *Cancer Treat. Rep.*, 1985, 69, 409–416.
- [38] Bhargava, A, Vaishampayan N. U. *Satraplatin: leading the new generation of oral platinum agents*. *Expert Opin Investig Drugs*, 2009, 18(11), 1-19
- [39] Kelland, L. R., Abel G., McKeage M. J., Goddard, P. M., Valenti, M., Murrer B. A., Harrap, K. R. *Preclinical antitumor evaluation of Bis-acetato-ammine-dichloro-cyclohexylamine platinum(IV): an orally active platinum drug*. *Cancer Res.* 1993, 53, 2581–2586

- [40] Petrylak, D. P.; Sartor, O.; Witje, F.; Ferrero, J.; Berry, W. R.; Koletsy, A.; Falcon, S.; Nathan, F. E.; Petrone, M. E.; Sternberg, C. A. *Phase III, Randomized, Double-Blind Trial of Satraplatin and Prednisone vs. Placebo and Prednisone for Patients with Hormone Refractory Prostate Cancer (HRPC)*. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 2007, #145.
- [41] Satraplatina – klinické testy. Dostupné z: <http://www.clinicaltrials.gov>, U.S National Library of medicine, Bethesda, 2017.
- [42] Strukturní vzorec satraplatiny. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Satraplatin>, 2017.
- [43] Kozubik, A.; Horvath, V.; Svihalkova-Sindlerova, L.; Soucek, K.; Hofmanova, J.; Sova, P.; Kroutil, A.; Zak, F.; Mistr, A.; Turanek, J. *High effectiveness of platinum(IV) complex with adamantylamine in overcoming resistance to cisplatin and suppressing proliferation of ovarian cancer cells in vitro*. Biochem. Pharmacol. 2005, 69, 373-383.
- [44] Bouchal, P., Jarkovský J., Hrazdilová, K., Dvořáková, M., Struharová I., Hernychová, L., Damborský, J., Sova, P., Vojtěšek, B. *The new platinum-based anticancer agent LA-12 induces retinol binding protein 4 in vivo*. Proteome Science. 2011, 9:68, 1-9
- [45] Barnes, R. K, Kutikov, A., Lippard, J. S. *Synthesis, Charakterization, and Cytotoxicity of a Series of Estrogen-Tethered Platinum(IV) Complexes*. Chemistry and Biology. 2004, Vol. 11, 557-564
- [46] Gibson, D. *Platinum(IV) anticancer prodgrugs – hypotheses and facts*. Dalton Trans. 2016, 45, 12983
- [47] W. H. Ang, I. Khalaila, C. S. Allardyce, L. Juillerat-Jeanneret and P. J. Dyson. *Rational design of platinum(IV) compounds to overcome glutathione-S-transferase mediated drug resistance*. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 1382–1383.
- [48] I. Zanellato, I. Bonarrigo, M. Sardi, M. Alessio, E. Gabano, M. Ravera and D. Osella. *Antiproliferative activity of Pt (IV)-bis (carboxylato) conjugates on malignant pleural mesothelioma cells*. ChemMedChem, 2011, 6, 2287–2293.
- [49] Dhar, S., Lippard, S. J. *Mitaplatin, a potent fusion of cisplatin and the orphan drug dichloracetate*. PNAS USA. 2009, 106(52):22199-22204
- [50] X. Xue, S. You, Q. Zhang, Y. Wu, G. Z. Zou, P. C. Wang, Y. L. Zhao, Y. Xu, L. Jia, X. Zhang and X. J. Liang. *Mitaplatin increases sensitivity of tumor cells to cisplatin by inducing mitochondrial dysfunction*. Mol. Pharmaceutics, 2012, 9, 634–644.

- [51] T. C. Johnstone, N. Kulak, E. M. Pridgen, O. C. Farokhzad, R. Langer and S. J. Lippard. *Nanoparticle encapsulation of mitaplatin and the effect thereof on in vivo properties*. ACS Nano, 2013, 7, 5675–5683.
- [52] Allesio, M., Zanellato, I., Bonarrigo, I., Gabano, E., Ravera M., Osella, D. *Antiproliferative activity of Pt(IV)-bis(carboxylato) conjugates on malignant pleural mesothelioma cells*. Journal of Inorganic Biochemistry. 2013, 129, 52-57.
- [53] Yang, J., Sun, X., Mao, W., Tang, J., Shen, Y. *Conjugate of Pt(IV)–Histone Deacetylase Inhibitor as a Prodrug for Cancer Chemotherapy*. Molecular Pharmaceutics. 2013, 9, 2793-2800.
- [54] Novohradský, V., Zerzánková, Štěpánková, J., Vrána, O., Raveendran, R., Gibson, D., Kašpárková, J., Brabec, V. *New insights into the molecular and epigenetic effects of antitumor Pt(IV)-valproic acid conjugates in human ovarian cancer cells*. Biochemical Pharmacology. 2015, 95, 133-144.
- [55] Novohradský, V., Zerzánková, Štěpánková, J., Vrána, O., Raveendran, R., Gibson, D., Kašpárková, J., Brabec, V. *Antitumor platinum(IV) derivatives of oxaliplatin with axial valproate ligands*. Journal of Inorganic Biochemistry. 2014, 140, 72-79.
- [56] Raveendran, R., Braude, J. P., Wexselblatt, E., Novohradsky, V., Stuchlikova, O., Brabec, V., Gandinand, V., Gibson, D. *Pt(IV) derivatives of cisplatin and oxaliplatin with phenylbutyrate axial ligands are potent cytotoxic agents that act by several mechanisms of action*. Chem. Sci., 2016, 7, 2381
- [57] Pathak K. R., Wen, R., Kolishetti, N., Dhar, S. *A prodrug of Two Approved Drugs, Cisplatin and Chlorambucil, for Chemo War Against Cancer*. Molecular Cancer Therapeutics. 2017, 16, 625-636
- [58] Zajac, J., Kostrhunova, H., Novohradsky V., Vrana, O., Raveeendran, R., Gibson, D., Kasparkova, J., Brabec, V. *Potential of mitochondrial dysfunction in tumor cells by conjugates of metabolic modulator dichloroacetate with a Pt(IV) derivative of oxaliplatin*. Journal of Inorganic Biochemistry. 2016, 156, 89-97
- [59] Státní úřad pro kontrolu léčiv. *Leukeran – souhrn údajů o přípravku*. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/download/spc/SPC23579.pdf>, 2017
- [60] Chlorambucil. National Cancer Institute. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/chlorambucil>, 2017



- [61] Bonnet, S., Archer, S. L., Allalunis-Turner, J., Haromy, A., Beaulieu, Ch., Thompson, R., Lee, T. Ch., Lopaschuk, G. D., Puttagunta, L., Bonnet S., Harry G., Hashimoto, K., Porter, Ch. J., Andrade, M. A., Thebaud, B., Michelakis, E. D. *A Mitochondria-K<sup>+</sup> Channel Axis Is Suppressed in Cancer and Its Normalization Promotes Apoptosis and Inhibits Cancer Growth*. *Cancer Cell*. 2007, 11, 37-51
- [62] James, O. M., Jahn, S. C., Zhong, G., Smeltz, M. G., Hu, Z., Stacpoole, P. W. *Therapeutic applications of dichloroacetate and the role of glutathione transferase zeta-1*. *Pharmacology and Therapeutics*. 2017, 170, 166-180
- [63] Michelakis, E. D., Webster, L., Mackey, J. R. *Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer*. *British Journal of Cancer*. 2008, 99, 989-994
- [64] Madhok, B. M., Yeluri, S., Perry, S. L., Hughes, T. A., Jayne, D. G. *Dichloroacetate induces apoptosis and cell-cycle arrest in colorectal cancer cells*. *British Journal of Cancer*. 2010, 102, 1746-1752
- [65] Marchion, D., Münster, P. *Development of histone deacetylase inhibitors for cancer treatment*. *Expert Rev. Anticancer Ther*. 2007, 7(4), 583-598
- [66] Chateauvieux, S., Morceau, F., Dicato, M., Diederich, M. *Molecular and Therapeutic Potential and Toxicity of Valproic Acid*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2010, Article ID 479364, 1-18
- [67] Lin, Ch. T., Lai, H. Ch., Lee, H. Y., Lin, W. H., Chang, Ch. Ch., Chu, T. Y., Lin, Y. W., Lee, K. D., Yu, M. H. *Valproic acid resensitizes cisplatin-resistant ovarian cancer cells*. *Cancer Sci*. 2008, vol. 99, no. 6, 1218-1226
- [68] Mottamal, M., Zheng, S., Huang, L. T., Wang, G. *Histone Deacetylase Inhibitors in Clinical Studies as Templates for New Anticancer Agents*. *Molecules*. 2015, 20, 3898-3941
- [69] Iannitti, T., Palmieri, B. *Clinical and Experimental Applications of Sodium Phenylbutyrate*. *Drugs R D*. 2011, 11 (3): 227-249
- [70] Svechnikova, I., Almqvist, P. M., Ekström, T. J. *HDAC inhibitors effectively induce cell type-specific differentiation in human glioblastoma cell lines of different origin*. *Int J Oncol*. 2008 Apr; 32 (4): 821-7
- [71] Xu, Y., Zheng, S., Wen, Y., Zhu, S. *Sodium phenylbutyrate antagonizes prostate cancer through the induction of apoptosis and attenuation of cell viability and migration*. *Onco Targets and Therapy*. 2016, 9, 2825-2833

- [72] Kim, K. M., Lee, Y. A., Lee, S. S., Sohn, S. Y. *Facile synthesis and structural properties of (diamine)tetracarboxylatoplatinum(IV) complexes*. *Inorganica Chimica Acta*. 1999, 292, 52-56
- [73] Höfer, D., Varbanov, H. P., Legin, A., Jakupec, A. M., Roller, A., Galanski, M., Keppler, K. B. *Tetracarboxyplatinum (IV) complexes featuring monodentate leaving – A rational approach toward exploiting the platinum (VI) prodrug strategy*. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2015, 153, 259-271
- [74] Lippard, S. J., Dhar, S. *Platinum (IV) complexes for use in dual mode pharmaceutical therapy*. 2009

## 7 SEZNAM ZKRATEK

DACH	1,2-diaminocyklohexan
DCA	kyselina dichloroctová
DC	dichloracetato ligand, anion kyseliny dichloroctové
DLT	dávka limitující toxicitu
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FDA	Food and Drug Administration
GSH	glutathion
GST	glutathion-S-transféráza
HDAC	histon deacetylázová skupina enzymů
HDACi	inhibitor histon deacetyláz
HMG	high mobility group proteiny
MTD	maximální tolerovaná dávka
PBA	kyselina 4-fenylbutanová
PB	fenylbutyrato ligand, anion kyseliny 4-fenylbutanové
NaPB	4-fenylbutyrát sodný
PDK	pyruvát dehydrogenáza kináza
RNA	ribonukleová kyselina
VPA	kyselina valproová
VP	valproato ligand, anion kyseliny valproové