

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

**Syntéza nových Pt komplexů obsahujících SnCl<sub>3</sub> ligand**

Miriam Syková

Bakalářská práce

2019

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Miriám Syková**  
Osobní číslo: **C16369**  
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**  
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**  
Název tématu: **Syntéza nových Pt komplexů obsahujících SnCl<sub>3</sub> ligand**  
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Literární rešerše zaměřená na využití Pt komplexů ve farmakochemii.
2. Literární rešerše zaměřená na přípravu Pt komplexů obsahujících SnCl<sub>3</sub> ligand.
3. Syntéza nových navržených Pt komplexů.
4. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Davies, A.G: Comprehensive Organometallic Chemistry II**

Vedoucí bakalářské práce:

**prof. Ing. Roman Jambor, Ph.D.**

Katedra obecné a anorganické chemie

Datum zadání bakalářské práce:

**28. února 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**4. července 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Syntéza nových Pt komplexů obsahujících  $\text{SnCl}_3$  ligand“ vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce za použití v seznamu uvedené literatury a pramenů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

Dále prohlašuji, že tato bakalářská práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Pardubicích 28. 6. 2019

Miriam Syková

## **Poděkování**

Ráda bych vyjádřila své poděkování prof. Ing. Romanu Jamborovi, Ph.D. za jeho ochotu, trpělivost, věnovaný čas a cenné rady při vedení mé bakalářské práce. Rovněž bych chtěla poděkovat prof. Ing. Jaromíru Vinklárkovi, Dr. za vstřícnost a pomoc při zajištění potřebných podkladů a informací. V neposlední řadě patří mé poděkování také Mgr. Lucii Melounkové za vypracování cytotoxické studie a poskytnutí možnosti odborné exkurze na Lékařské fakultě UK v Hradci Králové.

## **ANOTACE**

Předmětem této bakalářské práce je teoretická rešerše na téma využití Pt komplexních sloučenin ve farmakochemii a syntéza nových potenciálně biologicky aktivních Pt komplexů obsahujících ligand SnCl<sub>3</sub>. Na základě vypracované literární rešerše bylo zjištěno, že jedním z největších omezení léčiv na bázi cisplatiny je jejich omezená rozpustnost. Experimentální část bakalářské práce se tedy soustředí na syntézu nových Pt komplexů obsahujících fosfinové ligandy zahrnující NH funkční skupinu s cílem zvýšit rozpustnost a cytotoxickou aktivitu zavedením SnCl<sub>3</sub> skupiny. Připravené sloučeniny byly charakterizovány pomocí <sup>1</sup>H a <sup>31</sup>P NMR spektroskopie, bodu tání a následně byly testovány jejich cytotoxické účinky.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

biologická studie, fosfinový ligand, odstupující skupina SnCl<sub>3</sub>, Pt komplex, protinádorová aktivita, rozpustnost

## **TITLE**

Synthesis of new Pt complexes with SnCl<sub>3</sub> ligand

## **ANNOTATION**

The subject of this bachelor thesis is a theoretical research on Pt complexes used in pharmacology and a synthesis of new potentially biologically active Pt complexes containing trichlorostannyl ligands. Based on the literature review, it was found that one of the biggest limitations of cisplatin-based drugs is their limited solubility. Thus, the experimental part of the thesis focuses on the synthesis of new platinum complexes containing phosphine ligands including an NH functional group in order to increase solubility and cytotoxic activity by introducing a SnCl<sub>3</sub> leaving group. The compounds prepared were characterized by <sup>1</sup>H and <sup>31</sup>P NMR spectroscopy, melting points and subsequently their cytotoxic activity was tested.

## **KEYWORDS**

anticancer activity, cytotoxic study, SnCl<sub>3</sub> leaving group, Pt complexes, phosphine ligand, solubility

## Obsah

1	ÚVOD .....	10
2	Teoretická část .....	12
2.1	Pt komplexy v protinádorové léčbě .....	12
2.1.1	Cisplatina .....	13
2.1.2	Mechanismus účinku cisplatiny a jejích analog .....	14
2.1.3	Rezistence .....	17
2.1.4	Pt komplexy II. generace .....	18
2.1.5	Pt komplexy III. generace .....	19
2.1.6	Pt(IV) .....	20
2.2	Modifikace ligandů aktivních Pt sloučenin .....	22
2.2.1	Pt(II) komplexy s P donorovými ligandy a jejich aktivita .....	22
2.3	Protinádorová aktivita komplexů obsahující atom Sn .....	26
2.3.1	Biologická aktivita a obecné vlastnosti organocínitých sloučenin ...	27
2.3.2	Aktivita komplexů přechodných kovů nesoucích SnCl <sub>3</sub> ligand .....	28
3	CÍLE A ZÁMĚRY .....	30
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	32
4.1	Seznam použitých chemikálií .....	32
4.2	Přehled připravených sloučenin .....	33
4.3	Syntézy použitých ligandů .....	35
4.3.1	Syntéza <i>N</i> -(difenylfosfino)-2,6-diisopropylanilinu, L <sup>1</sup> .....	35
4.3.2	Syntéza ligandu L <sup>3</sup> .....	36
4.3.3	Syntéza ligandu [L <sup>3</sup> SnCl] <sup>+</sup> [SnCl <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> .....	38
4.4	Syntézy navržených Pt sloučenin .....	39
4.4.1	Syntéza komplexu [Pt(L <sup>1</sup> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (1) .....	39
4.4.2	Syntéza komplexu [Pt(L <sup>1</sup> ) <sub>2</sub> (SnCl <sub>3</sub> )Cl] (2) .....	40
4.4.3	Syntéza sloučeniny [Pt(L <sup>1</sup> ) <sub>2</sub> (SnCl <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] (3) .....	41

4.4.4	Syntéza sloučeniny $[L^2SnCl]_3[Pt(SnCl_3)_5]^{3-}$ (4) .....	42
4.4.5	Příprava $[L^3SnCl]_3[Pt(SnCl_3)_5]^{3-}$ (5).....	43
5	DISKUZE A ZÁVĚR .....	44
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	48



## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CRC – kolorektální karcinom

CRPC – kastročně rezistentní karcinom prostaty

CTR1 – selektivní transportér pro Cu

DACH – diamminocyklohexan

DMSO – dimethylsulfoxid

FDA – U. S. Food and Drug Administration, Úřad pro výživu a léky

IC<sub>50</sub> – inhibiční koncentrace

LG – odstupující skupina

MCF-7, MDA-MB – buněčné linie nádorů prsu

MG-63 – buněčná linie lidského osteosarkomu

SK-OV-3 – buněčná linie nádoru vaječníků

HepG2, BEL-7404 – buněčné linie rakoviny jater

NLG – neodstupující skupina

NMR – nukleární magnetická rezonance

NSCLC – nemalobuněčný karcinom plic

SCLC – malobuněčný karcinom plic

THF – tetrahydrofuran

WST-1 – metoda hodnocení buněčné proliferace, viability a cytotoxicity

## 1 ÚVOD

Onkologická onemocnění představují hlavní příčinu lidské smrti na celém světě. Rakovina je známa jako nemoc již více než 3500 let. Bylinná léčba nádorů je popsána už ve starověkých manuskriptech. Ve středověku byly užívány přípravky na bázi rtuti, zinku a stříbra. K užití pokročilejších léčiv pro léčbu rakoviny došlo až ve 40. letech 20. století. Termín rakovina je užíván pro více než 120 odlišných typů nemocí, které se dají charakterizovat nekontrolovatelným dělením abnormálních buněk v těle, jež se šíří i do dalších tkání až nakonec působí selhání celého organismu.[1, 2] Na základě počtu diagnostikovaných případů jsou nejčastěji diagnostikovány rakoviny: plic, prostaty, prsu, tlustého střeva a konečníku, ledvin (renální), močového měchýře, lymfatického systému, štítné žlázy, děložní sliznice a kůže. Mezi hlavní kategorie rakoviny patří: lymfom a myelom (rakovina buněk imunitního systému), leukémie (rakovina krvevorných tkání), karcinom (rakovina kůže nebo tkáně pokrývající vnitřní orgány), sarkom (rakovina kostí a jiné pojivové tkáně), rakoviny centrálního nervového systému mozku a míchy.

Pro léčbu nádorů existuje několik metod, včetně chirurgie, radiační terapie, imunologické léčby a chemických přístupů. Obecně se používá kombinace všech těchto metod a většina léčebných postupů léčby rakoviny zahrnuje chemoterapii. [1] Nevýhodou terapie cytotoxickými antineoplastickými léky je například dlouhá doba léčby, vznik rezistence a vliv na rozvoj nových nádorů. Existuje tisíce syntetických i přírodních sloučenin, které jsou hodnoceny jako „anticancer agents“. Avšak navzdory významným vedlejším účinkům a omezené selektivitě vůči rakovinným a zdravým buňkám, je chemoterapie díky vysoké účinnosti a široké použitelnosti stále hlavním přístupem, jež se v současné době využívá pro léčbu různých nádorů. [2] Z novějších studií bylo zjištěno, že velký počet schválených léků široce používaných v nemocnicích a klinikách pro bez nádorové nemoci, může mít i protirakovinný účinek. Mezi ně patří běžné antiflogistikum aspirin, metformin (léčivo užívané u cukrovky 2. typu) nebo některé doplňky stravy, jako jsou např. výtažky z *Astragalus*, *Tripterygium wilfordii* a jiné.

Protinádorová léčiva můžeme rozdělit do tří skupin: cytotoxická nebo chemoterapeutická, imunoterapeutická a hormonální. Dají se také rozdělit podle jejich cílů – rakovinových buněk, endotelu, extracelulární matrix, imunitního systému nebo

hostitelských buněk. Obecně klasická chemoterapeutika působí proti všem aktivně se dělícím buňkám. Relativně novým přístupem je „cílená léčba rakoviny“ zaměřující se pouze na rakovinné buňky. Syntetizují se léky, které interferují pouze s nádorovými buňkami a cílem je blokovat jejich dělení. [1]

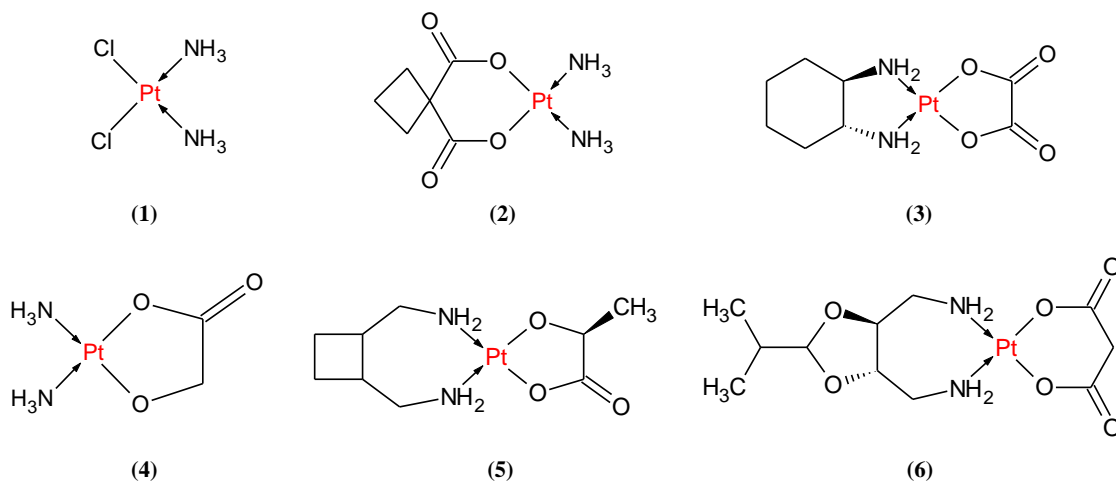
Sloučeniny mnoha různých kovů reprezentujících také řadu rozličných strukturních typů vykazovaly určitou aktivitu proti nádorovým buňkám ve zvířecích modelech nebo tkáňových kulturách. Doposud však pouze sloučeniny platiny dosáhly skutečného významu z hlediska klinického použití. Náhodný objev účinku *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>], jež dokáže potlačit buněčné dělení, vedl nakonec k jeho klinickému použití pod názvem cisplatina. Od té doby bylo věnováno mnoho práce vedoucí k pochopení mechanismu účinku cisplatiny a vývoji nových léčiv patřících do této třídy. Hlavním nárokem bylo snížení vedlejších účinků a rozšíření spektra protirakovinné aktivity. Význam platinových sloučenin pro léčbu rakoviny vyvolává otázku, zda by mohly být nalezeny jiné komplexy kovů, které mají podobně účinné léčivé vlastnosti. Vzhledem k tomu, že chemické vlastnosti kovů z d-bloku mají široký rozsah, existuje možnost nalezení sloučenin, které by vykazovaly protinádorové účinky prostřednictvím zcela odlišných mechanismů než cisplatina. Budotitan je první neplatinový komplex, který vstoupil do klinických studií. Jeho aplikace byly však omezeny nízkou rozpustností a hepatotoxicitou. Další slibné výsledky ukázaly některé komplexy ruthenia, rhodia, mědi a zlata, které jsou předmětem současného výzkumu a testování na modelových systémech. Zatímco studie mechanismu protinádorové aktivity platiny jsou nyní velice dobře rozvinuty, mechanismy působení neplatinových sloučenin zůstávají nejisté. [3]

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Pt komplexy v protinádorové léčbě

Koordinační platinové komplexy jsou v protirakovinné terapii široce využívány již více než 40 let. Prvním a nejznámějším léčivem použitým v protinádorové léčbě byla cisplatina, chemicky *cis*-diammin-dichloro platnatý komplex **(1)**. V roce 1978 byla v Kanadě zavedena pro všeobecnou onkologickou praxi pod obchodním názvem Platino<sup>®</sup> (výrobce: Bristol-Myers Squibb), schválena FDA ve Spojených státech amerických a následně i v dalších evropských zemích. [4,5]

Po úspěchu cisplatiny byly syntetizovány a testovány tisíce dalších sloučenin na bázi platiny a další výzkum se soustředil na hledání nových platinových léků, které by vykazovaly nižší toxicitu. Mezi kancerostatika další generace patří *karboplatina* **(2)** a *oxaliplatina* **(3)**. Karboplatina je nyní široce používána v kombinaci s jinými antineoplastickými léky. [3,6] Další příklady zahrnují *nedaplatinu* **(4)**, *lobaplatinu* **(5)** a *heptaplatinu* **(6)**, které prošly klinickým testováním, a nakonec byly schváleny pro použití v klinické praxi v Japonsku, Číně a Jižní Koreji. [7]

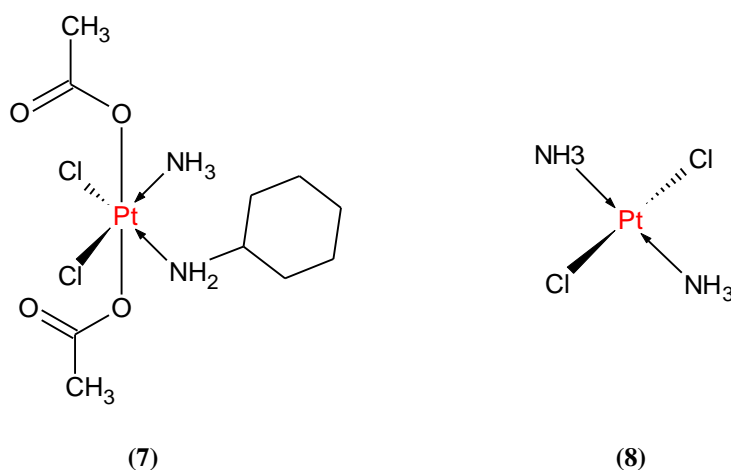


Obrázek 1: Chemická struktura schválených platinových léčiv užívaných v klinické praxi

Důležitými výzkumnými cíli jsou nové sloučeniny, které jsou účinné proti širšímu rozsahu nádorů nebo proti nádorům rezistentním na cisplatinu, a jejich další vývoj je závislý na podrobném pochopení mechanismu účinku platinových protinádorových činidel. [3]

Výše zmíněné klinicky používané léky na bázi platiny jsou neutrální Pt(II) komplexy s cis čtvercovou planární geometrií nesoucí takzvané nosné ligandy (tj. dva aminy nebo chelatační diamin) a odstupující skupiny (dva chloridy nebo chelatační dikarboxyláty). Jejich mechanismus účinku zahrnuje intracelulární aktivaci solvatací vody a následnou vazbou k DNA bázím, což vede k apoptóze buňky. [6]

V posledních letech získaly značnou pozornost také oktaedrické sloučeniny Pt(IV), protože mají odlišné farmakokinetické vlastnosti a odlišný profil aktivity. Uvnitř nádorových buněk jsou pravděpodobně redukovány na čtvercové planární komplexy Pt(II) se ztrátou dvou axiálních ligandů. Jednou z takovýchto Pt(IV) sloučenin je *satraplatina* (7), která měla velmi blízko ke schválení jako první perorálně dostupné platinové protinádorové léčivo, avšak zatím neprošla III. fází klinické studie. Zajímavé je, že trans enantiomer cisplatiny, též *transplatina* (8) vykazuje nejméně o jeden řád nižší aktivitu než cisplatina, a proto nikdy nevstoupil do klinických studií. [8]



Obrázek 2: Chemická struktura satraplatiny a transplatiny [7, 8]

### 2.1.1 Cisplatina

Cisplatina je účinná proti širokému spektru nádorů, včetně rakoviny vaječníků, varlat, močového měchýře, kolorektálního karcinomu, plic, hlavy a krku a dalším malignitám. Počáteční terapeutická odpověď je často spojená buď s kompletním vymizením příznaků onemocnění, částečnou odpovědí, nebo stabilizací nemoci. Léčba cisplatinou však vyžaduje další medikaci a je doprovázena závažnými vedlejšími účinky. Způsobuje závažnou nevolnost a zvracení. Působí také nefrotoxicky a neurotoxicky. Nefrotoxicitu lze snížit udržováním vysoké produkce moči během

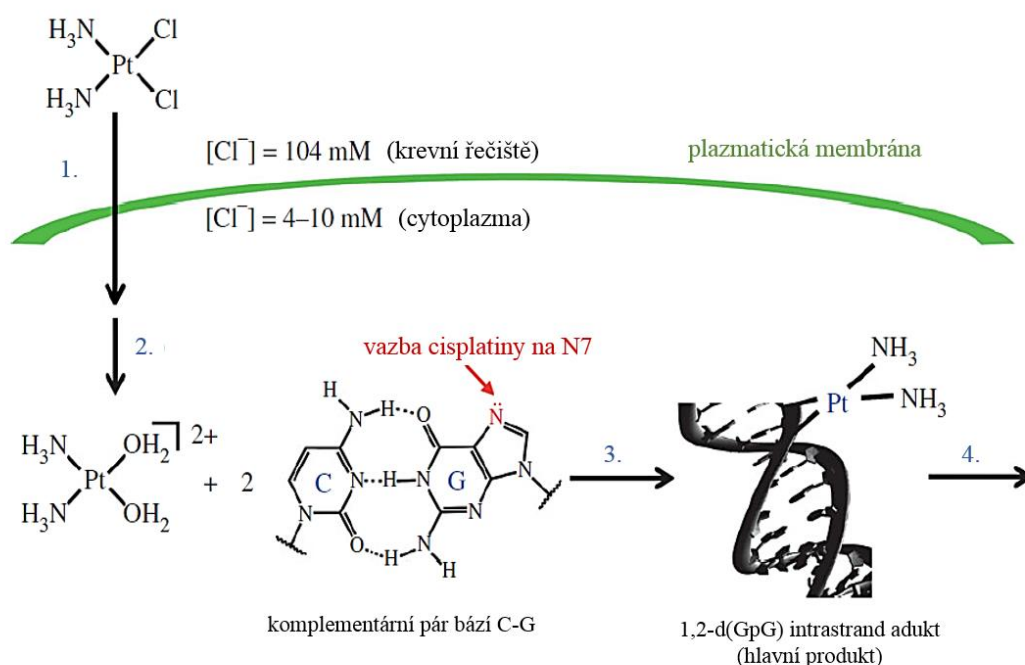
podávání cisplatiny a bezprostředně poté, ale neurotoxicita často limituje dávku. [9]  
Kromě toho, rezistence na cisplatinu (u některých nádorů vlastní nebo získaná až během chemoterapie) představuje hlavní překážku úspěchu léčby. [5]

Cisplatina je dostupná ve formě injekčních roztoků v koncentraci 1 mg/mL, v 10 nebo 50 mg lahvičkách. Obvyklá intravenózní dávka cisplatiny je 20 mg/m<sup>2</sup> tělesného povrchu denně po dobu pěti dnů nebo 100 mg/m<sup>2</sup> jednou za čtyři týdny. [9]

### 2.1.2 Mechanismus účinku cisplatiny a jejích analog

Mechanismus účinku léčiv na bázi platiny je založen na intracelulární hydrolyze (solvatace vody), která má za následek vytěsnění odstupujících skupin Cl<sup>-</sup>/cbdc/oxalát a tvorby pozitivně nabitých aqua/hydroxo komplexů, schopných se kovalentně vázat na cílovou molekulu DNA, zatímco *N*-donorové nosné ligandy (NH<sub>3</sub> nebo R,R-DACH) se průběhu mechanismu účinku vůbec neúčastní. [10]

Zobecněný mechanismus účinku zahrnuje čtyři klíčové kroky (Obr.3): 1. buněčné vychytávání, 2. solvatace vody (tj. aktivace), 3. vazba na DNA a 4. buněčné zpracování DNA lézí vedoucích k buněčné smrti (apoptóze).



Obrázek 3: Mechanismus účinku cisplatiny [11]

V tradičním modelu cisplatina vstupuje do buněk ve své nedotčené nenabité formě, protože koncentrace extracelulárních chloridových iontů je relativně vysoká

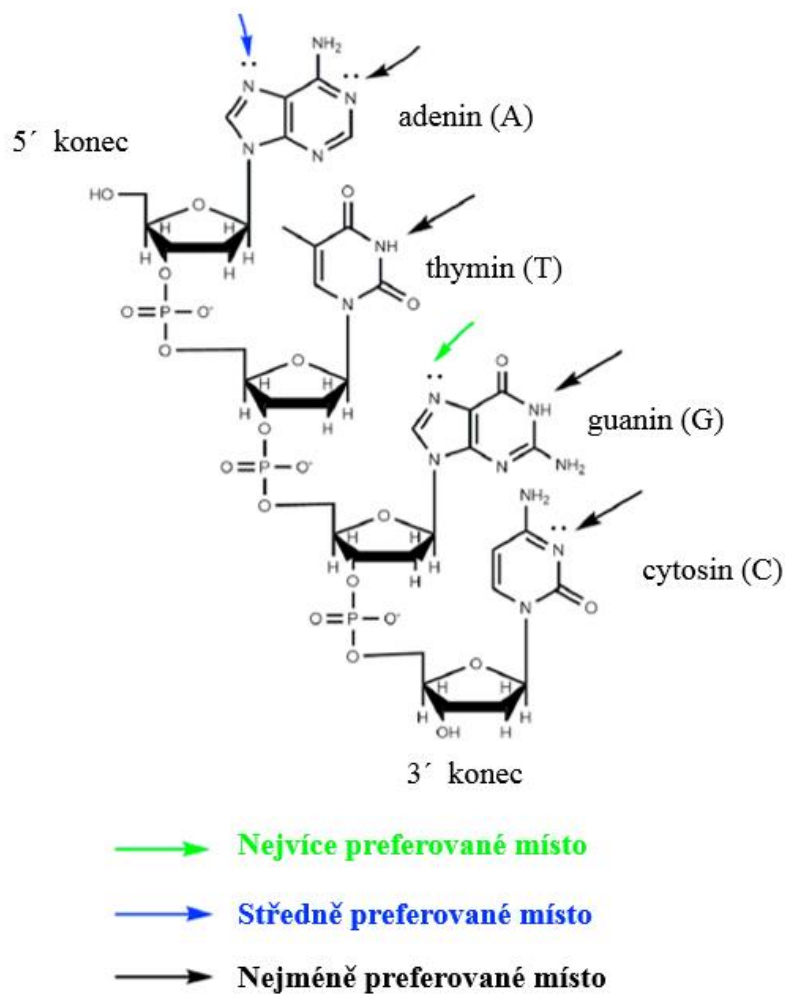
(cca 100 mM). Jakmile je uvnitř buňky, kde koncentrace chloridových iontů je jen několik mM, jeden chloridový ion se z komplexu disociuje a druhý pomaleji. Výsledný nabitý Pt komplex je tedy zachycen uvnitř buňky. Novější práce zpochybňují tento model, který je založen výhradně na difuzním vychytávání. [8]

Dvě cesty, kterými je cisplatina s největší pravděpodobností přijímána buňkami, jsou pasivní difúze plazmatickou membránou a aktivní transport zprostředkovaný membránovými proteiny. [10] Dochází také k zapojení Cu transportních systémů CTR1, které slouží k aktivnímu začlenění léčiva do buněk. Na tomto principu funguje i aktivní vylučovací systém pro ionty Cu, o kterém se předpokládá, že se podílí také na rezistenci na cisplatinu. [8] Malá velikost a planární geometrie cisplatiny přispívá k usnadnění pasivní difúze.

Čtvercová rovinná geometrie cisplatiny usnadňuje substituci ligandu, která je nezbytná pro to, aby vytvořila DNA léze, jež jsou podstatou její protinádorové aktivity. Před přímou vazbou k DNA dochází nejprve k substituční reakci ligandu, kde je chloridový ligand nahrazen molekulou vody. Extrapolace výsledků z jednoduchých vodných modelových roztoků ukazuje, že takováto solvatace vody je potlačena v krevním řečišti, kde je koncentrace chloridových iontů vysoká (~100 mM), a snadněji k ní dochází v cytoplazmě, kde koncentrace chloridových iontů klesá pod 20 mM. Při těchto nižších koncentracích je poločas přeměny reakce na  $cis\text{-[Pt(NH}_3\text{)}_2\text{Cl(H}_2\text{O)}]^+$  přibližně 2 hodiny. Karboplatina a oxaliplatina obsahují chelatační ligandy naproti pevně vázaným aminovým skupinám. Tyto chelatační ligandy jsou substituovány vodou mnohem pomaleji a roztoky těchto dvou léčiv jsou stabilní vůči koordinaci vody po dobu několika týdnů až měsíců. [11]

In vitro studie ukázaly, že monosubstituovaný komplex platiny ( $cis\text{-[Pt(NH}_3\text{)}_2\text{Cl(H}_2\text{O)}]^+$ ) je zodpovědný za vazbu k DNA v buněčném jádře v 98 %, kde je koordinovaná molekula vody substituována bází heterocyklické DNA. Obvykle dochází k substituci guaninem a formuje se monofunkční DNA adukt. Potenciální vazebná místa pro platinu na každé bázi jsou ukázána na Obr. 4. Nejvíce nukleofilní pozice DNA jsou N7 atomy purinových zbytků guaninu a adeninu, proto jsou cisplatinou přednostně atakovány. K vytvoření bifunkčního aduktu dochází buď přímo z monofunkčního aduktu, anebo zahrnuje solvataci vody a odstoupení druhé chloridové skupiny následované rychlým uzavřením kruhu. [10, 12]

Většina vytvořených bifunkčních aduktů s DNA je vytvořena mezi bázemi na stejném řetězci DNA (tj. intrastrand). Přibližně v 65 % jsou to velmi stabilní adukty GG a ve 25 % adukty AG, jež způsobují významnou deformaci DNA, která může být rozpoznána jedním nebo více DNA vazebnými proteiny. Tyto proteiny zahajují buď opravu poškozené DNA, nebo řízenou apoptózu buňky. [8, 12]



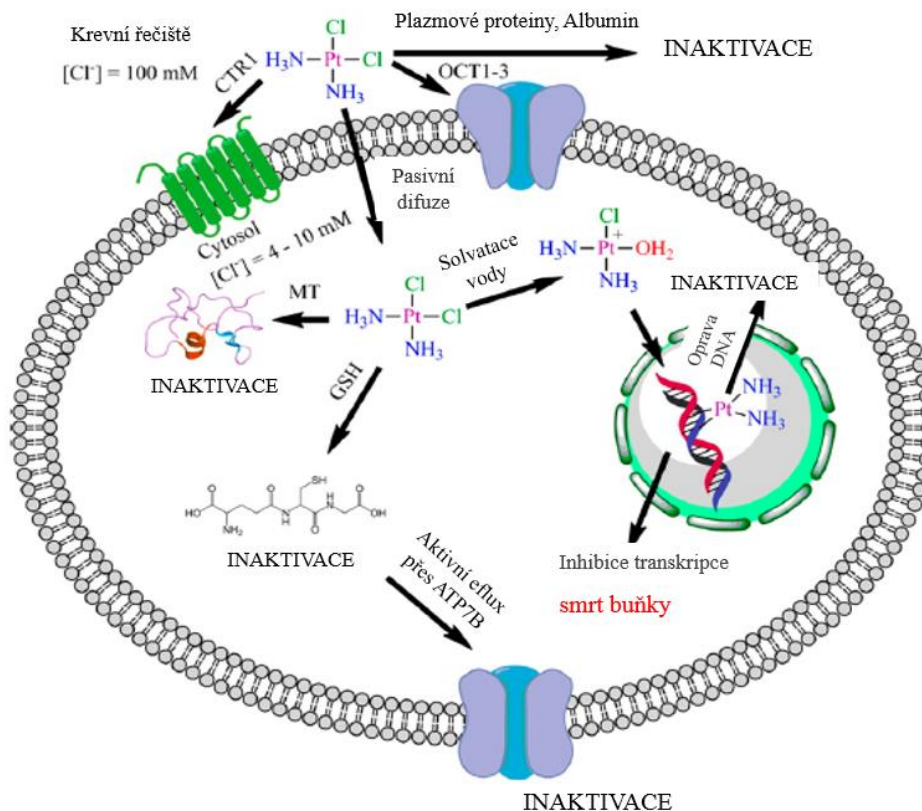
Obrázek 4: Schematické znázornění řetězce DNA ukazující místa, která jsou k dispozici pro vazbu cisplatin.[13]



### 2.1.3 Rezistence

Nejzávažnější nevýhodou léčby cisplatinou je její odolnost vůči rakovinným buňkám. Rezistence cisplatinou závisí na typu rakoviny. Například rakovina varlat, rakovina vaječníků, rakovina hlavy, krku a rakovina plicních buněk jsou velmi citlivé na cisplatinu, zatímco nemalobuněčný karcinom plic a kolorektální karcinom vykazují vysokou rezistenci na cisplatinu.

Některé zdroje uvádějí, že rezistence na cisplatinu se může vyskytovat během cirkulace léku v krevním oběhu, při influxu a efluxu léčiva přes buněčnou membránu nebo během přítomnosti v cytoplazmě, a nakonec po vazbě na DNA. Existují dvě formy rezistence: vnitřní rezistence a získaná rezistence (Obr. 5). Vnitřní rezistence je rezistence, která se vyskytuje od začátku léčby lékem, zatímco u získané rezistence je léčivo zpočátku aktivní, ale s časem se jeho aktivita snižuje, až je zcela neaktivní. Rezistence na cisplatinu může být způsobena snížením buněčného příjmu léčiva, snížením influxu nebo zvýšením efluxu léku, detoxikací léků buněčnými thioley, změnou cíle léčiva a opravou DNA. [14]



Obrázek 5: Popis mechanismu rezistence [11]

## 2.1.4 Pt komplexy II. generace

Pochopení mechanismů účinku a mechanismu rezistence poskytuje důležitý náhled pro navrhování účinnějších léčiv na bázi platiny.

Cisplatina je antineoplastické léčivo, které má hydrofilní povahu, v jeho struktuře chybí atomy uhlíku, které by poskytovaly určitou míru lipofility a postrádá jakoukoliv specifitu vůči cíleným rakovinným buňkám. Na základě těchto poznatků bylo vyvinuto úsilí o syntézu léčiv na bázi dvojmocné platiny, které jsou více lipofilní a mají lepší buněčnou akumulaci za účelem zvýšení účinnosti proti nádorům. Proto byly aminové a chloridové ligandy v cisplatině nahrazeny chelatačními anorganickými diaminy, respektive kyslíkovými donorovými karboxyláty. [15]

### 2.1.4.1 Karboplatina

Druhou sloučeninou, která vstoupila do klinických studií a byla schválena v roce 1989 pod obchodním názvem Paraplatin v USA a Francii, byla *karboplatina* (2). Úspěch karboplatiny byl způsoben jejím příznivým profilem toxicity. Snížení toxicity je způsobeno změnou reaktivity v kovovém centru kvůli chelatační povaze ligandu odcházející skupiny a potenciální konformaci, kterou tento ligand předpokládá. [10] Od cisplatinu se liší přítomností 5,8-dioxo-spiro[3,4]oktan-6,7-dionového kruhu místo atomů chloru. Vzhledem k tomu, že tato odstupující skupina je stabilnější než chlorid, vykazuje karboplatina nižší reaktivitu a pomalejší kinetiku vazby na DNA. Byl pozorován pokles vedlejších účinků, zejména snížení nefrotoxicity, neurotoxicity a ototoxicity. Hlavní nevýhodou klinického použití je však její myelosupresivní účinek, zejména neutropenie, která zvyšuje riziko infekce oportunními infekcemi (infekce doprovázející jiná primární onemocnění např. HIV/AIDS aj.) [4]

Karboplatina našla uplatnění v léčbě pokročilého karcinomu vaječnicků v první fázi léčby (schválení FDA v roce 1991) nebo i v terapii druhé linie, po selhání jiných léčebných postupů. Míra odezvy u onemocnění citlivého na platinu na karboplatinu jako samostatnou látku je vyšší než 50 %, ale u pacientů rezistentních na cisplatinu je to pouze 10–20 %, proto jsou tyto pacienti obvykle léčeni jinými látkami. [12] Karboplatina se také využívá k léčbě retinoblastomů, neuroblastomů, nefroblastomů a mozkových nádorů, stejně jako rakoviny hlavy a krku, endometria, děložního hrdla, varlat, prsu, plic a močového měchýře. [10]

#### 2.1.4.2 Nedaplatina

Nedaplatina (*cis*-diamminglykolatoplatnatý komplex) vykazuje lepší profil toxicity ve srovnání s cisplatinou a má podobné farmakokinetické vlastnosti jako cisplatin. [5] Objev a vývoj nedaplatiny společností Shionogi Pharmaceutical Co. byl proveden v Japonsku, kde má v současné době omezené regionální schválení, které bylo uděleno v roce 1995.

Tento lék, označovaný původně jako 254-S, obsahuje nosné *cis*-ammin ligandy stejně jako cisplatin nebo karboplatina. Odcházející skupinou je chelatační ligand glykolát, jež poskytuje vyšší rozpustnost ve vodě (10 mg/mL) než dva chloridové ligandy cisplatin (2,5 mg/mL). [10]

Nedaplatina se primárně používá k léčbě karcinomu plicních buněk (SCLC), nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC), rakoviny hlavy a krku a jícnu. Klinické studie pokračují ve zkoumání rozšířeného použití nedaplatiny. [6, 10]

### 2.1.5 Pt komplexy III. generace

#### 2.1.5.1 Lobaplatina

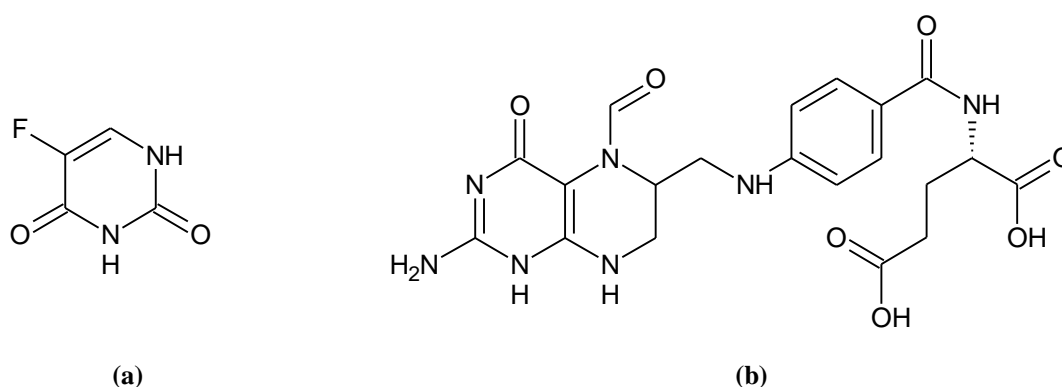
Lobaplatina může být považována za derivát heptaplatiny, ve které je cyklobutanový kruh přidán k sedmičlennému chelátovému kruhu místo funkcionalizovaného dioxolanu. Lobaplatina je však formulována jako racemická směs enantiomerů R,R a S,S ligandu neodstupující skupiny. Prodávaná léčivá látka je směsí diastereoizomerů, protože se jako ligand odštěpující se skupiny používá pouze S-laktát. Směs byla původně vyvinuta společností ASTA Medica v Německu a klinické studie byly prováděny v Evropě, USA, Austrálii, Brazílii a Jižní Africe za účelem zkoumání účinnosti u pacientů s celou řadou různých druhů rakoviny, regulační schválení bylo získáno pouze v Číně v roce 2010. Lobaplatina je schválena primárně pro léčbu chronické myelogenní leukémie, ale je také používán u pacientů trpících rakovinou plic a metastatickým karcinomem prsu. [10]

#### 2.1.5.2 Oxaliplatina

Oxaliplatina (L-OHP) (**3**) byla poprvé syntetizována v Japonsku, poté vyvinuta a schválena ve Francii v roce 1996 pod názvem Eloxatin, o tři roky později ve zbytku Evropy a ve Spojených státech v roce 2002. Jedná se o komplex platiny s oxalátem

a diaminocyklohexanem (DACH). Předpokládá se, že tento objemný DACH přispívá nejen k větší cytotoxicitě léčiva oproti cisplatině a karboplatině, ale také k tomu, že vůči nim oxaliplatina neposkytuje zkříženou rezistenci.

Jednalo se o první lék na bázi platiny, který prokázal přesvědčivou aktivitu proti metastatickému kolorektálnímu karcinomu (CRC). Je však aktivnější, používá-li se v kombinaci s infuzí fluorouracilu (Obr. 6a) a leukovorinu (kyseliny folinové) (Obr. 6b), což je kombinace známá jako FOLFOX. [4]



Obrázek 6: Struktura 5-fluorouracilu (a) a kyseliny folinové (b) [4]

Oxaliplatina v kombinované terapii s bevacizumabem a docetaxelem ve II. fázi studií prokázala významné účinky proti rakovinám ovárií, časných peritonea a vejcovodů. Avšak na druhé straně má léčivo závažné vedlejší účinky, jako je neurotoxicita, gastrointestinální a hematologická toxicita. [15]

### 2.1.6 Pt(IV)

Platinové(IV) prekurzory jsou důležitou třídou molekul, které by mohly zlepšit farmakologické vlastnosti protirakovinných činidel dvojmocné platiny, které se v současné době používají na klinice. Jejich axiální ligandy, které jsou oddělené během buněčné aktivace redukční eliminací, mohou být použity pro zlepšení farmakologických vlastností komplexů umožňujících potenciálně nižší toxicitu a zlepšenou účinnost.

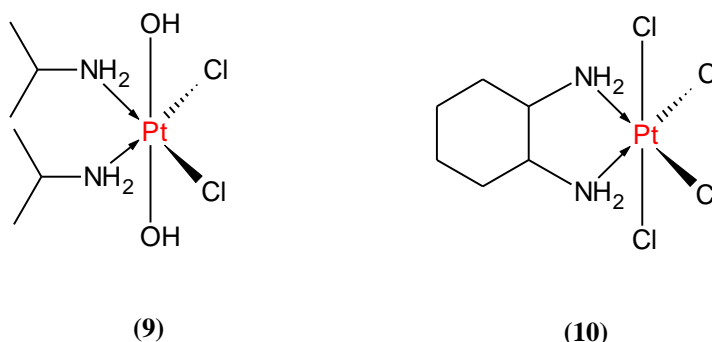
Komplexy platiny(IV) nabízejí oproti svým analogům dvojmocné platiny několik potenciálních výhod: jsou dostatečně stabilní, aby mohly být podávány orálně, jejich stabilita by měla mít za následek snížené vedlejší účinky a jsou přístupnější

strukturálním modifikacím přes axiální ligandy, které mohou být použity ke zlepšení jejich farmakologických vlastností. [16]

### 2.1.6.1 Satraplatina, Iproplatina, Tetraplatina

Satraplatina (**7**) (*c,c,t*-bis-acetatoammindichlorido(cyklohexylamin)platičitý komplex, JM216, obchodní název Orplatna) je sloučenina třetí generace platiny, strukturně podobná cisplatině, ale obsahuje dvě acetátové skupiny v axiální poloze. Satraplatina je první aktivní sloučeninou platiny, která se podává perorálně. Toto léčivo se rychle metabolizuje, odstraněním acetátových skupin, na odpovídající analog cisplatinu a vykazuje zlepšené vlastnosti ve srovnání s jinými platinovými činidly, jako je cisplatin, karboplatina a oxaliplatin. Má výrazně mírnější profil toxicity a je potenciálně schopná překonat rezistenci na jiná platinová léčiva. Jelikož je satraplatina více hydrofobní než cisplatin nebo oxaliplatin, prokázala účinnost u nádorů rezistentních na cisplatinu. Mimoto satraplatina nevykazuje zkříženou rezistenci vůči buňkám rezistentních k taxanům (př. docetaxel – antineoplastické léčivo proti rakovině prostaty). Z toho důvodu je satraplatina velice atraktivním kandidátem pro klinické použití při léčbě pacientů s CRPC. [17]

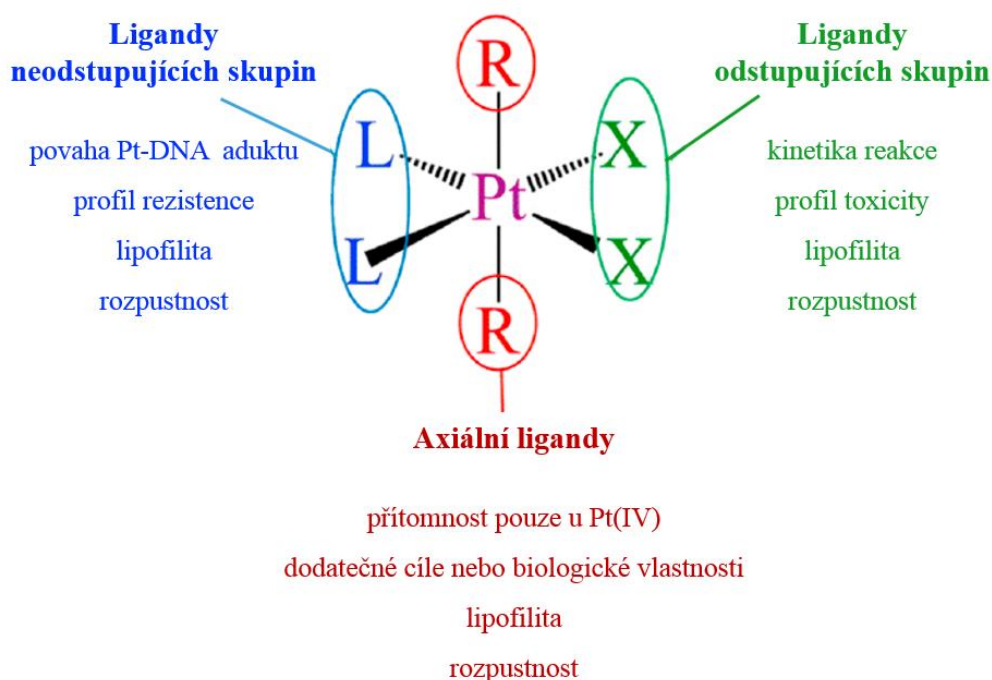
Je překvapivé, že vedle satraplatiny (JM216) do klinických studií vstoupily zatím pouze další dva komplexy čtyřmocné platiny. Iproplatina (**9**) byla studována z důvodu její vysoké rozpustnosti, avšak výsledky ukázaly, že je méně aktivní a tetraplatina (**10**) byla ve I. fázi opuštěna kvůli své vysoké neurotoxicitě, což je typický problém komplexů platiny obsahujících cyklohexan-1,2-diamin (DACH). [18]



Obrázek 7: Pt(IV) komplexní sloučeniny: Iproplatina (9), Tetraplatina (10). [18]

## 2.2 Modifikace ligandů aktivních Pt sloučenin

Většina připravených sloučenin platiny sdílí některé běžné strukturní znaky, jako je přítomnost dvou neodstupujících skupin (NLG), typicky dusíkatých ligandů a dvou odstupujících skupin (LG), například halogenidů nebo karboxylátů v poloze *cis*. Tato konfigurace umožňuje bidentátní koordinaci nukleových bází dvoušroubovice DNA, proto se modifikace nových aktivních molekul většinou soustředí na velice podobné systémy. [19]



Obrázek 8: Typy ligandů a jejich možný vliv na vlastnosti komplexní Pt sloučeniny [16]

### 2.2.1 Pt(II) komplexy s P donorovými ligandy a jejich aktivita

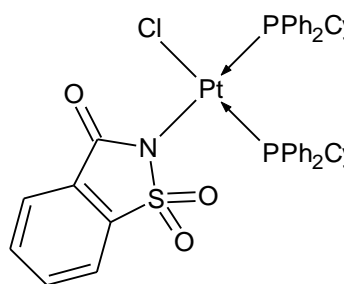
Substituce původních donorů v cisplatině atomy fosforu zatím nebyla nijak rozsáhle zkoumána. Strukturní a biologické studie platinových komplexů nesoucí fosfinové ligandy namísto dvou ligandů amoniaku byly iniciovány Longato a kol. Nedostatek zkoumání v oblasti biologických aktivit fosfinových komplexů platiny vyplývá pravděpodobně z obecného přijetí, že nevykazují antiproliferační účinek, což je však většinou způsobeno jejich špatnou rozpustností. Výzkum Romerosa, Bergamini nebo Osella a kol. v této oblasti ukázal, že P→Pt koordinované komplexy vykazují

antiproliferační vlastnosti na vybraných buněčných liniích *in vitro*. Tyto výsledky prokázaly, že studie různých platinových komplexů na bázi fosfinu představují významné téma, zejména pak syntéza ve vodě rozpustných komplexů.

Mezi spoustou různých připravených fosfinových ligandů jsou zajímavé fosfíny donorového atomu, tzv. „hemi-labilní“ ligandy, protože kombinují vlastnosti vysoké zásaditosti a sterické objemnosti. Tyto ligandy představují různé režimy koordinace v komplexech přechodných kovů; obsahující bidentátní nebo tridentátní chelátové kruhy. [19]

Bylo zjištěno, že substituce ligandů v cisplatině aminofosfinovými skupinami vede k vytvoření komplexů, které účinně interagují s nukleovou bází thyminem v DNA za vzniku stabilních aduktů. Komplexy fosforu mají obvykle dobrou rozpustnost ve vodě (i přes přítomnost fenylových skupin), proto další směr vývoje takových netradičních protinádorových sloučenin platiny spočívá také v syntéze komplexů obsahujících i zmíněné P-donorové ligandy. [19,20]

Jednou ze zajímavých potenciálně aktivních protinádorových sloučenin je komplex platiny a sacharinu typu (Obr. 9A), který obsahuje terciární fosfinové ligandy. Sacharin, dobře známé sladidlo (sachH, *o*-sulfobenzimid), v roztocích snadno odštěpuje iminový vodík. Odpovídající anion, sacharinát (sach), se chová jako univerzální polyfunkční ligand, a to hlavně díky přítomnosti záporně nabitého iminového dusíku a karbonylových a sulfonylových kyslíkových atomů. Komplexy tohoto typu jsou vysoce rozpustné v polárních rozpouštědlech, avšak bohužel velmi málo rozpustné ve vodě. [21]

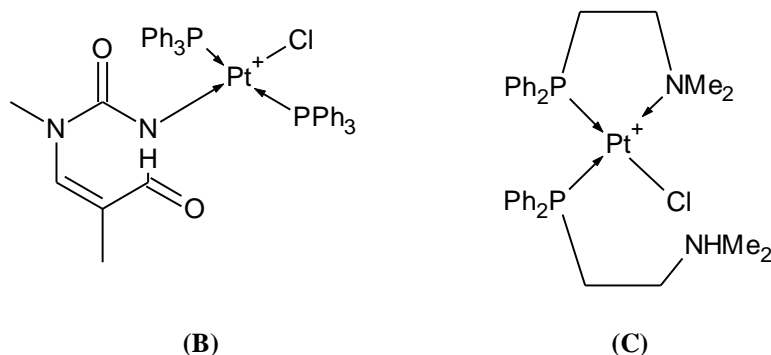


(A)

Obrázek 9: Struktura Pt komplexu obsahující ligand sacharinu [21]

U uvedené komplexní sloučeniny (**A**) a jejích strukturních analog byly provedeny *in vitro* testy cytotoxicity proti několika lidským rakovinným buněčným liniím. Dalším předmětem výzkumu byla akumulace komplexů v buňkách, schopnost indukovat buněčnou apoptózu a v neposlední řadě také studium interakce komplexů s DNA a proteiny. Testování protinádorové aktivity ukázalo, že zejména *trans*-konfigurovaná analoga (**A**) vykazují slibnou biologickou aktivitu ve srovnání s cisplatinou a svou roli hraje také zvýšený lipofilní charakter těchto sloučenin. [21]

Výrazná cytotoxicita proti nádorové buněčné linii odvozené od chronické myeloidní leukémie byla pozorována u komplexu (Obr. 10**B**), který obsahuje ligandy trifenylofosfinu a *N*-methylthyminu, zatímco sloučenina typu (Obr. 10**C**) [20] a řada jejích strukturních analogů vykazují vysokou aktivitu proti liniím rezistentním na cisplatinu. [19] Ačkoli je v literatuře zmíněna lepší rozpustnost ve vodě, potvrzující údaje pro tyto sloučeniny nejsou uvedeny. Zvýšená rozpustnost komplexních sloučenin typu (**C**) v polárních rozpouštědlech, zejména ve vodě, je pravděpodobně dosažena také díky přítomnosti NH funkční skupiny. [20]

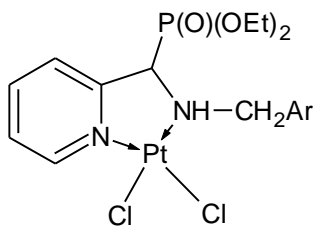


Obrázek 10: Příklady aktivních komplexních Pt sloučenin s P-donorovými ligandy [20]

Podobným způsobem byly připraveny sloučeniny typu (Obr. 10**D**) obsahující aminofosfonátové estery jako neodstupující skupinu a NH funkční skupinu v rámci *N*-pyridinové skupiny. V porovnání s cisplatinou mají vyšší rozpustnost v polárních rozpouštědlech i ve vodě. Dále byla testována *in vitro* cytotoxicita komplexu (**D**) a jeho analogických sloučenin, přičemž výsledky ukázaly vysokou účinnost proti buněčným liniím MG-63, SK-OV-3, HepG2 a BEL-7404. Několika studiemi bylo dále prokázáno, že komplexy platiny s aminobisfosfonáty jsou aktivní *in vivo* proti kostním



nádorům a dalším typům nádorů spojených s anomální rovnováhou iontů vápníku a rezistencí na cisplatinu. [22]



(D)

Obrázek 11: Strukturální vzorec sloučeniny (D)

Na základě těchto poznatků, by bylo žádoucí rozšířit skupinu P-donorových ligandů, které obsahují ve své struktuře také NH funkční skupinu. V literatuře již existují nějaké příklady takových sloučenin. Jednou z nich je níže uvedený Pt komplex (**11**), geometricky podobný cisplatině a obsahující fosfinový ligand. Byly syntetizovány i další jeho analogické deriváty, u nichž měla být zkoumána jejich biologická aktivita, ale ukázalo se, že sloučeniny nejsou rozpustné nebo dostatečně stabilní ve vodném prostředí. Proto byl jednoduchou reakcí s HCl připraven ve vodě rozpustný komplex (**12**), ve kterém se fosfinový ligand stále chová jako PN chelatující ligand k centrálnímu Pt atomu. Sloučenina (**12**) byla charakterizována NMR spektroskopií. [19]

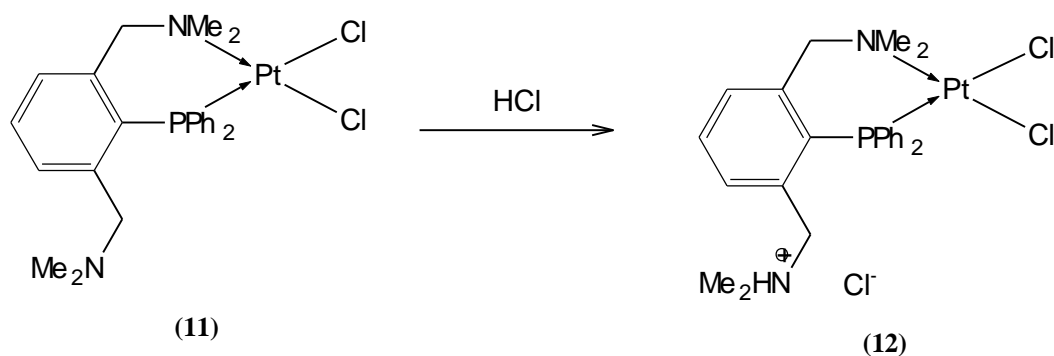
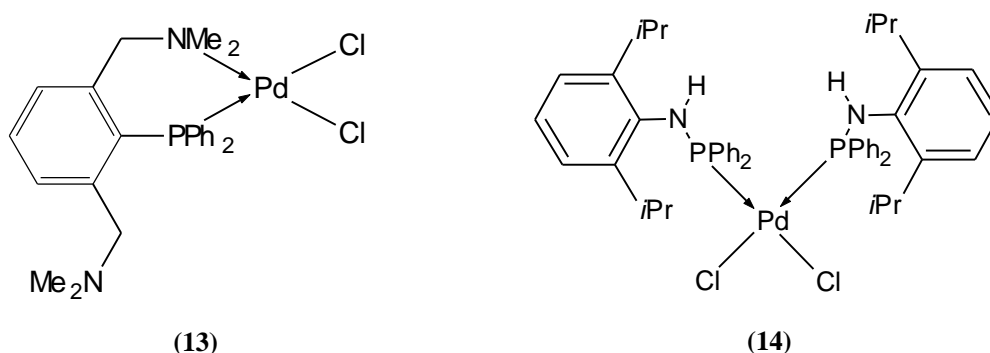


Schéma 1: Syntéza ve vodě rozpustného komplexu (**12**), strukturální analog cisplatiny [19]

Pro zkoumání cytotoxické aktivity Pt(II) komplexu (**12**) byl použit standardní test viability WST-1 a cytotoxický účinek byl hodnocen na lidských T-lymfocytových

leukemických buňkách MOLT-4 a HL-60. Na základě výsledků testů byla prokázána protinádorová aktivita, avšak ve srovnání s výsledky pro cisplatinu komplex (12) vykazoval nižší toxicitu. Závěrem je možné říci, že použité fosfinové ligandy hrají určitou roli v biologické aktivitě. [19]

V nedávné době byl také například připraven PNH ligand a byl využit pro přípravu Pd i Pt komplexů vhodných pro cross-couplingové reakce. [23] Za zmínku stojí, že tyto paladnaté komplexní sloučeniny (13 a 14) byly využity jako vhodné katalyzátory právě pro C-C couplingové reakce ve vodném prostředí, a tudíž připravený PNH ligand může jednoznačně ovlivnit rozpustnost komplexů přechodných kovů v H<sub>2</sub>O.



Obrázek 12: Pd(II) komplexy obsahující PNH ligand, vhodné pro cc-coupling. reakce ve vodě [23]

Uvedené sloučeniny byly charakterizovány pomocí NMR spektroskopie a byla určena i jejich struktura. [23]

### 2.3 Protinádorová aktivita komplexů obsahující atom Sn

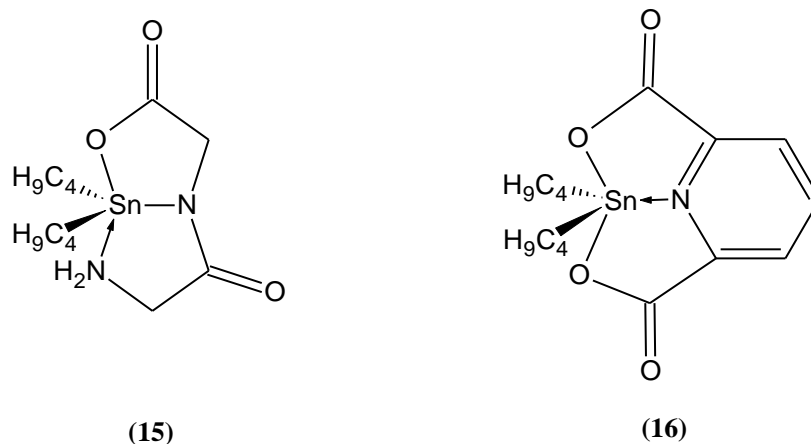
Při hledání nových sloučenin s protinádorovou aktivitou byly studovány také různé organocínové sloučeniny, neboť neurotoxicita trialkylcínových derivátů je dobře známa. [3] Marcel Gielen zahájil v 80. letech výzkum sloučenin cínu s protinádorovou aktivitou. Jeho studie ukazují, že čtyřmocné organocíny, mohou mít nižší toxicitu, lepší vylučování z těla a méně vedlejších účinků než platinová léčiva. Nejdůležitější vlastností těchto organocínových sloučenin je to, že se u nich nevyvíjí rezistence vůči rakovinným buňkám a mohou vykazovat nižší toxicitu ve srovnání s analogy cisplatinu. [24]

### 2.3.1 Biologická aktivita a obecné vlastnosti organocínitých sloučenin

Následná analýza Gielenho výzkumů ukazuje, že biologická aktivita organocínitých sloučenin závisí na typu a počtu skupin R (R = Bu, Ph, Et, Me), klesající podle následujícího pořadí: n-Bu > Ph a Et > Me, zatímco di-n-butylcín > difenylcín > diethylcín > di-n-oktylcín > dicyklohexylcín > acyklovir. To může být způsobeno relativní lipofilitou mezi organocínitými skupinami. Gielen také ukázal, že skupiny R některých organocínových sloučenin hrají důležitější roli v protirakovinném účinku než jejich ligandy, což dokazují testy na buňkách WiDr (karcinom tlustého střeva) a MCF-7 (karcinom prsu).

Kromě toho tri-alkylcínité komplexy vykazují lepší cytotoxickou aktivitu než diorganocíny(IV). To lze připsat volné koordinační pozici v případě tri-organocínových sloučenin. Nízká aktivita tri-organocínů je přičítána jejich disproporcionační reakci v roztoku. K tomu může dojít také prostřednictvím zásahu enzymů, které se podílí na biosyntéze estrogenů. To zřejmě vysvětluje vyšší selektivitu, kterou vykazují triorganocíny proti buňkám MCF-7 (závislé na hormonu) než proti MDA-MB 231 (hormonálně nezávislé). [24]

Oktaedrální Sn(IV) komplexy typu  $[\text{SnR}_2\text{X}_2\text{L}_2]$  (R = alkyl nebo fenyl; X = F, Cl, Br, NCS; L = dusíkatý donor, př. pyridin) vykazovaly aktivitu proti P388 lymfatické leukémii, ale proti dalším modelům ne. Předmětem studií byly také komplexy dialkylcín dipeptidu. Komplexy dibutylglycylglycinátu (**15**) a (**16**) poskytly u zvířecích modelů s leukémií P388 prodloužení délky života až o polovinu, ale opět chyběla účinnost proti jiným testovaným nádorovým systémům. Ve srovnání s cisplatinou 2,6-dikarboxylátové deriváty dialkylcínpyridinu vykazují lepší aktivitu proti buněčným liniím nádoru prsu (MDF-7) a karcinomu tlustého střeva (WiDr). [3]



Obrázek 13: Strukturní vzorce aktivních sloučenin cínu [3]

Nízká rozpustnost většiny organocínitých sloučenin ve vodě představuje omezující faktor jejich terapeutického použití. Pro zlepšení rozpustnosti je tedy nutné použít koloidní suspenze nebo přidání dimethylsulfoxidu (DMSO). Další způsoby zlepšení rozpustnosti nabízí použití hydrofilních odstupujících skupin, protože se zdá, že aktivita sloučenin cínu závisí na určité hydrolýze. Toxicita organocínitých sloučenin závisí pravděpodobně na lipofilite méně labilních organoskupin a obecně se dá říct, že butylové skupiny poskytují nejlepší výsledky.

Přesný mechanismus účinku organocínitých sloučenin zůstává zatím neobjasněný. Vazby fragmentů organocínitých sloučenin na fosfát v DNA se vyskytly při hodnotách pH nižších než 7 ve studiích s 50-AMP, 50-GMP, DNA z telecího thymu a 50-d (CGCGCG) 2. Nad touto hodnotou pH se hydroxylová skupina stává konkurenceschopnou fosfátu ve vazbě na fragment organocínitých sloučenin. Očekává se, že vazba na hydroxylové skupiny cukru vyžaduje hodnoty pH vyšší než 9, ačkoli vazba na příslušně orientované sousední hydroxylové skupiny cukru může být podpořena chelátovým efektem. Zdá se, že fosfát je nejpravděpodobnějším místem pro vazbu organocínu k DNA, ale jak to souvisí s jejich protinádorovou aktivitou, je nejasné. [3]

### 2.3.2 Aktivita komplexů přechodných kovů nesoucích $\text{SnCl}_3$ ligand

Výsledek studie reakcí  $\text{SnCl}_2$  s deriváty ruthenia ukazuje, že přidání trichlorocínatanových ligandů do koordinační sféry centrálního atomu ruthenia

zvyšuje karcinostatické vlastnosti studovaných komplexů. K čemuž dochází nejpravděpodobněji díky zvýšeným vlastnostem ligandu jako  $\sigma$ -donoru, což může usnadnit a podpořit vazbu komplexu na potenciální cíle biomolekul. Reakce  $\text{SnX}_2$  (X = halogenid) s jinými kovy, jako je palladium a platina, byly rozsáhle studovány, avšak pouze pro svou katalytickou aktivitu. [25]

Z literatury je zřejmé, že nedochází ke kombinaci obou aktivních center Pt – Sn a bimetalické komplexy obsahující obě zmíněná aktivní centra Pt a Sn doposud nebyly testovány. Cílená syntéza a testy Pt komplexů, které by obsahovaly oba zmíněné atomy nejsou v literatuře dosud popsány. Na základě těchto faktů lze tedy definovat cíle této práce následujícím způsobem.

### 3 CÍLE A ZÁMĚRY

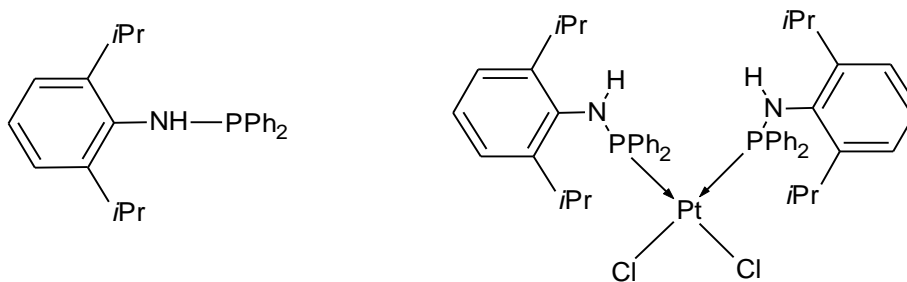
Jak již bylo zmíněno v teoretické části, v současné době jsou znalosti o karcinostatických aktivních platinových komplexech dobře zmapovány. Jednoznačně lze deklarovat, že aktivita Pt komplexů závisí nejen na typu koordinujícího ligandu, ale také na typu odstupující polární skupiny X. Lze konstatovat, že změnou odstupující polární skupiny Cl za atomy kyslíku bylo dosaženo lepších výsledků (viz. karboplatina), pravděpodobně díky lepší rozpustnosti oproti cisplatině, kde rozpustnost ve vodě je pouze 1 mg/mL (3,3 mM). [26]

Obecně většina komplexů platiny obsahuje N-donorové ligandy, přičemž studie prokázaly že lepších rozpustností lze dosáhnout zavedením fosfinu (P-donoru), či přítomností NH funkčních skupin (viz sloučenina (**12**) v teoretické části). V neposlední řadě bylo také poukázáno, že jiným zkoumaným prvkem je také atom cínu.

Z tohoto důvodu cílem této práce je pokus o přípravu odpovídajících Pt komplexů, které by zahrnovaly všechny zmíněné faktory v jedné molekule. Cílem je tedy pokusit se připravit takové sloučeniny, které by mohly být dobře rozpustné v polárních rozpouštědlech jako je H<sub>2</sub>O či DMSO. Tohoto lze docílit např. použitím fosfinových ligandů, které ve svém skeletu budou obsahovat NH funkční skupinu.

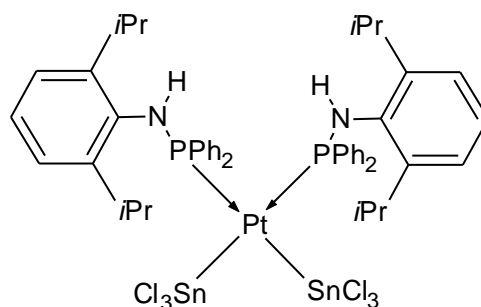
V literatuře se objevila zmínka o použití ligandu PNH, který obsahuje P-donorový atom a zároveň NH funkční skupinu. Tento ligand byl využit pro syntézu Pd komplexů, které byly rozpustné ve vodě a ty byly následně využity pro CC-couplingové reakce ve vodě.

Příprava a aplikace tohoto ligandu na syntézu Pt komplexu je prvním dílčím úkolem této práce.



Obrázek 14: PNH ligand (L<sup>1</sup>) a strukturální analog cisplatinu obsahující PNH ligandy **1**

Vzhledem k faktu, že je také kladen důraz na typ odstupujících skupin X v kombinaci s informací o možném pozitivním dopadu atomu Sn na karcinostatickou aktivitu, je dalším cílem připravit Pt komplex obsahující SnCl<sub>3</sub> skupinu, která je analogem polární skupiny Cl a zároveň obsahuje atom Sn.



Obrázek 15: Pt(II) komplex obsahující SnCl<sub>3</sub> jako odstupující skupinu

Takto navržená sloučenina je analogem cisplatiny, kde místo Cl jsou obsaženy SnCl<sub>3</sub> skupiny, atom dusíku neodstupující skupiny je nahrazen atomem fosforu a Pt komplex dále obsahuje NH funkční skupinu.

Další možností, jak zvýšit rozpustnost Pt komplexů v polárních rozpouštědlech je příprava iontových Pt komplexů. Druhým dílčím cílem je tedy příprava iontových Pt komplexů, jež ve své struktuře budou obsahovat SnCl<sub>3</sub> skupinu.

V případě úspěšné syntézy bude práce zaměřena na studium stability, rozpustnosti v polárních rozpouštědlech. V neposlední řadě, budou u připravených sloučenin provedeny testy cytotoxicity.

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Veškeré přípravy uvedené v experimentální části byly prováděny za inertní atmosféry argonu (Linde, 99,999 %) technikou využívající Schlenkových baněk, kanyl a sept. Pro potvrzení a kontrolu navržené struktury sloučenin, složení a jejich čistoty v průběhu chemických experimentů nebo po izolaci individuálních produktů, popř. meziproductů bylo použito různých technik. Nejčastěji zvolenou metodou byla nukleární magnetická rezonance (NMR spektroskopie). Charakterizace byla doplněna také o body tání připravených sloučenin.

### 4.1 Seznam použitých chemikálií

Acetonitril – (p.a., Lach-Ner)

Diethylether – (p.a., Lach-Ner)

Dichlormethan – (p.a., Lach-Ner)

Hexan – (p.a., Lach-Ner)

Methanol – (p.a., Lach-Ner)

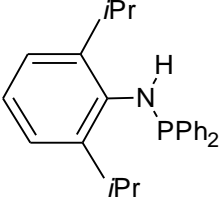
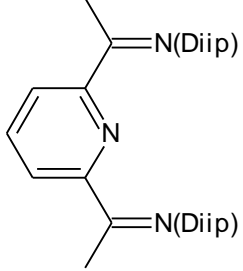
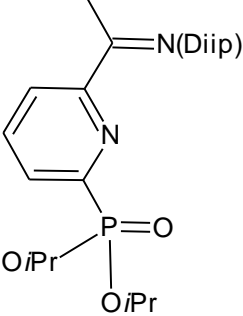
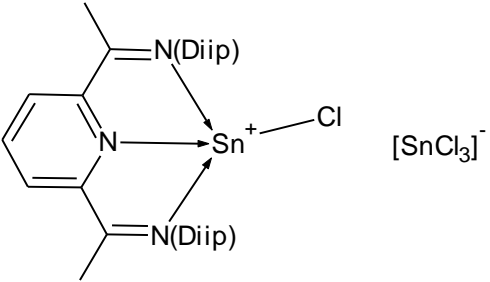
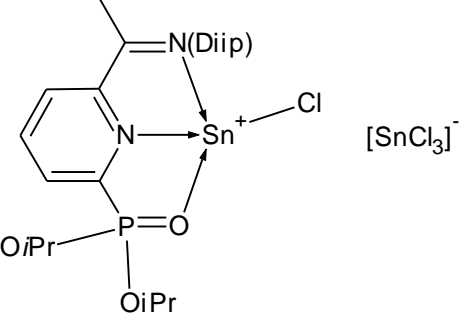
Tetrahydrofuran – (p.a., Lach-Ner)

Ligand  $L^2$  a  $[L^2SnCl]^+[SnCl_3]^-$ ,  $PtCl_2$ ,  $SnCl_2$ ,  $ClPPh_2$ ,  $nBuLi$  (1,6 M hexanový roztok), 2,6-diisopropylanilin, 2-acetyl-6-bromopyridin, diisopropylfosfonát, TEA,  $Pd(OAc)_2$ , DPPF,  $HCOOH$  - ze zásob katedry

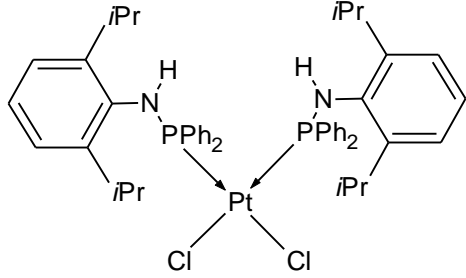
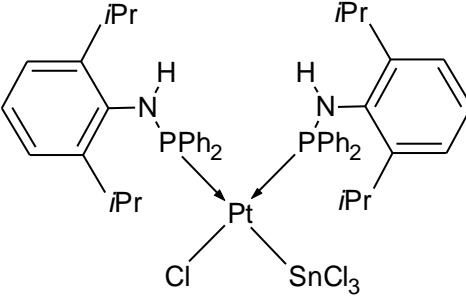
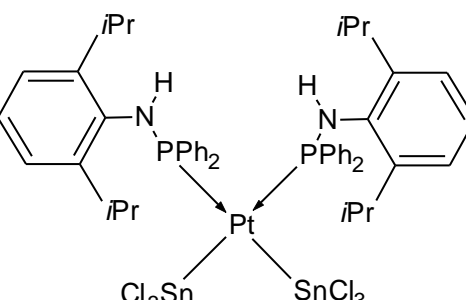
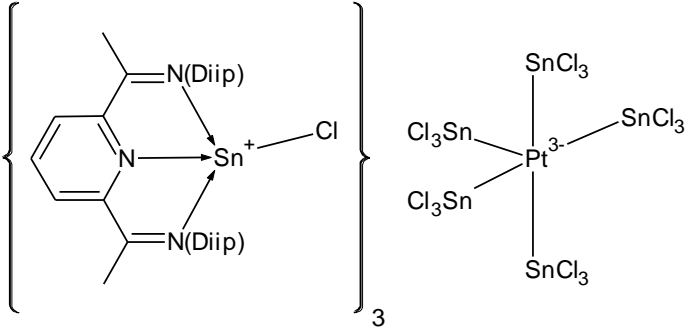
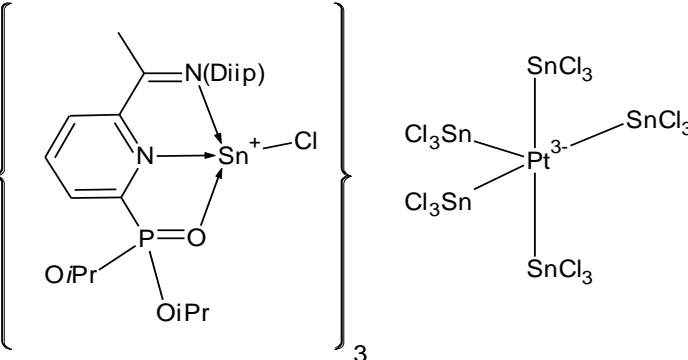


## 4.2 Přehled připravených sloučenin

Tabulka 1: Strukturní vzorce ligandů

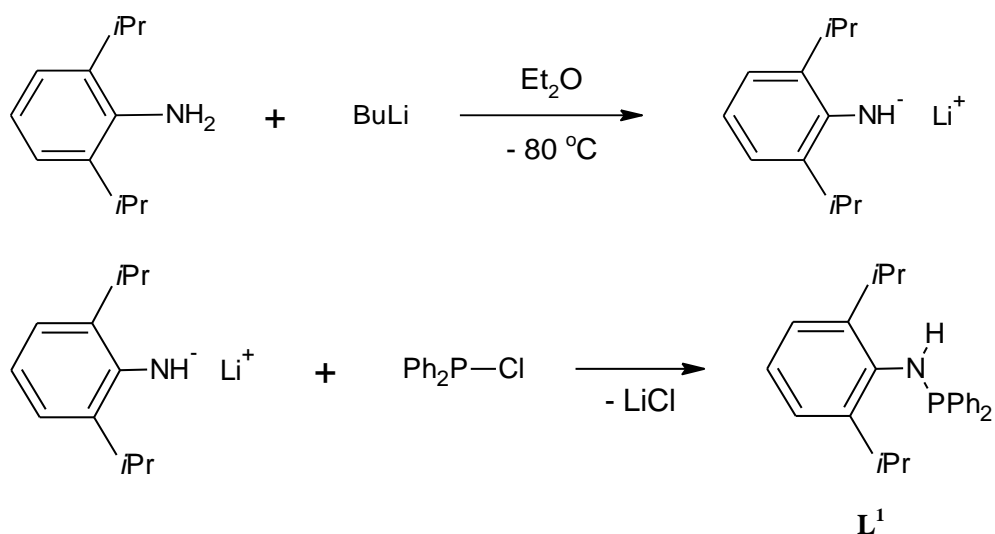
Sloučenina	vzorec
$L^1$	
$L^2$	
$L^3$	
$[L^2SnCl]^+[SnCl_3]^-$	
$[L^3SnCl]^+[SnCl_3]^-$	

Tabulka 2: Strukturní vzorce navržených Pt sloučenin

Sloučenina	vzorec
1	
2	
3	
5	
6	

### 4.3 Syntézy použitých ligandů

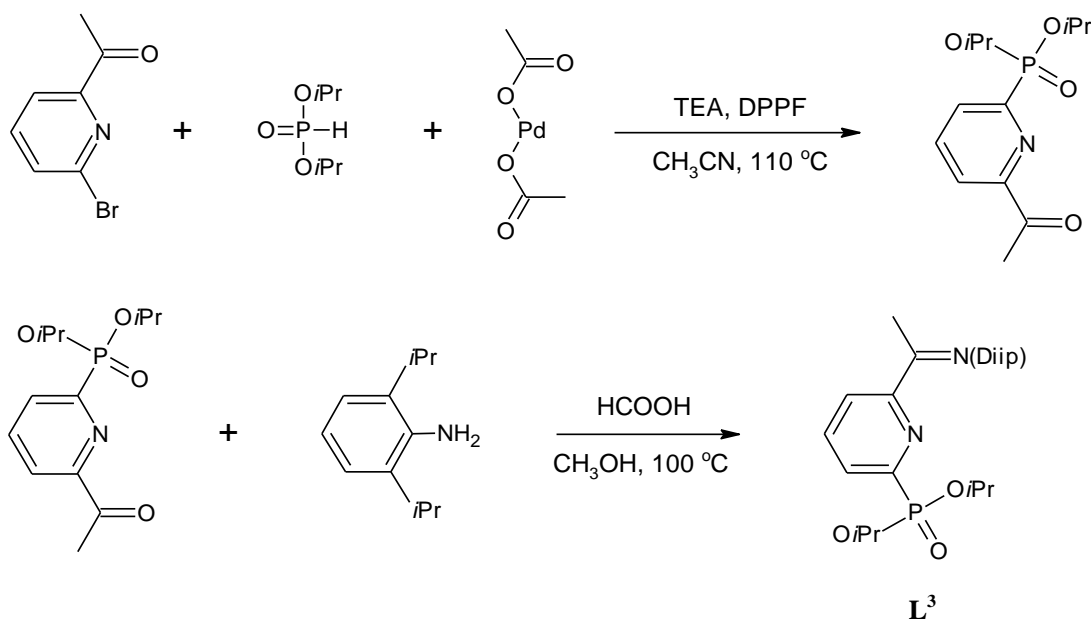
#### 4.3.1 Syntéza *N*-(difenyfosfino)-2,6-diisopropylanilinu, **L**<sup>1</sup>



#### *Pracovní postup:*

K výchozímu 2,6-diisopropylanilinu (1,69 g; 9,53 mmol) byl přidán ether (20 ml) a roztok byl následně schlazen na -80 °C. K roztoku bylo po kapkách přidáno ekvivalentní množství *n*BuLi v 5 % nadbytku (6,26 ml; 9,53 mmol, *c* = 1,6 M). Poté bylo k reakční směsi po 30 minutách míchání při -80 °C po kapkách přidáno odpovídající množství chlorodifenyfosfinu (1,75 ml; 9,53 mmol). Chlazení bylo odstraněno a roztok byl míchán za laboratorní teploty do druhého dne. Došlo k vysrážení produktu. Byl přidán hexan a roztok byl nechán krystalizovat při -18 °C. Pevný podíl byl zfiltrován, pod vakuem dosušen a charakterizován pomocí <sup>1</sup>H a <sup>31</sup>P NMR spektroskopie jako sloučenina **L**<sup>1</sup>. <sup>31</sup>P NMR spektrum odpovídalo spektru popsanému v literatuře. [27]

### 4.3.2 Syntéza ligandu L<sup>3</sup>



#### Pracovní postup:

K CH<sub>3</sub>CN (30 ml) roztoku 2-acetyl-6-bromopyridinu (1,52 g; 7,60 mmol) byl přidán diisopropyl fosfonát ve 20% nadbytku (1,51 g; 9,12 mmol), triethylamin (2,11 ml; 0,015 mol). Jako katalyzátory reakce byly použity octan paladnatý (7 mg) a bis(difenylfosfino)ferrocen (17 mg). Reakční směs byla zahřívána při teplotě 110 °C v olejové lázni pod zpětným chladičem po dobu 4 dnů. Vzniklá suspenze byla zfiltrována a acetonitrilový roztok byl odpařen. Produkt byl 2x vyextrahován do hexanu, zfiltrován a odpařen.

Získaný meziprodukt byl rozpuštěn v CH<sub>3</sub>OH (25 ml). K roztoku byl přidán 2,6-diisopropylanilin ve 20 % nadbytku (1,72 ml; 9,10 mmol) a 5 kapek kyseliny mravenčí pro zajištění kyselé katalýzy reakce. Reakční směs byla 24 hodin míchána při 100–110 °C po zpětným chladičem. Roztok byl zahuštěn na polovinu původního objemu a po týdnu v mrazáku došlo k vykrytání produktu. Výsledné žluté krystaly byly charakterizovány pomocí <sup>1</sup>H a <sup>31</sup>P NMR jako sloučenina L<sup>3</sup>.

#### Charakterizace:

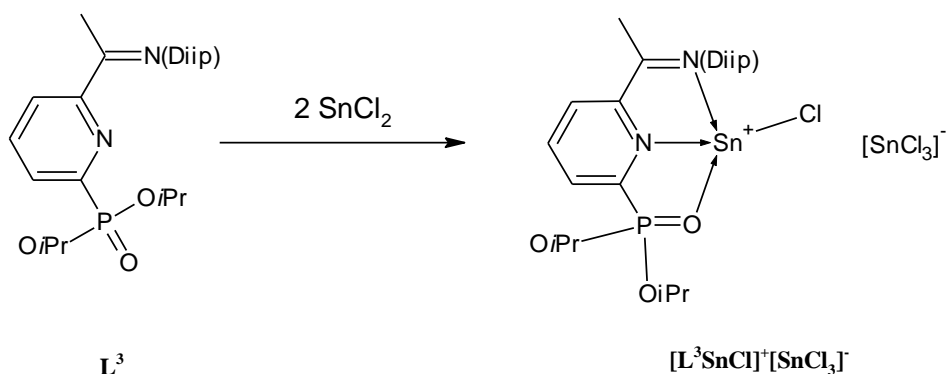
M = 444,546 g/mol

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500.13 MHz): δ 1.1 (d, 6H, CH<sub>3</sub>(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 1.2 (d, 6H, CH(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 1.3 (d, 6H, CH<sub>3</sub>(OiPr)), 1.4 (d, 6H, CH<sub>3</sub>(OiPr)) 2.3

(s, 3H,  $CH_3(Me)C=N$ ), 2.6 (dd, 2H,  $CH(iPr)$ ), 4.65 (dd, 2H,  $CH(OiPr)$ ), 7.1 (m, 3H,  $ArH$ ), 8.1 (t, 1H,  $ArH$ ), 8.2 (d, 1H,  $ArH$ ), 9.0 (d, 1H,  $ArH$ )

$^{31}P$  NMR ( $CDCl_3$ , 202,40 MHz):  $\delta$  7,15 (s)

### 4.3.3 Syntéza ligandu $[L^3SnCl]^+[SnCl_3]^-$



*Pracovní postup:*

Do THF (20 ml) roztoku  $SnCl_2$  (90 mg; 0,48 mmol) bylo přisypáno stechiometrické množství  $L^3$  (105 mg; 0,24 mmol). Reakční směs byla míchána min. 24 hodin při laboratorní teplotě. Poté bylo rozpouštědlo odpařeno, výsledný produkt byl promyt malým množstvím hexanu a dosušen vakuem. Zářivě žluté krystalky sloučeniny byly charakterizovány pomocí  $^1H$  a  $^{31}P$  NMR spektroskopie jako sloučenina  $[L^3SnCl]^+[SnCl_3]^-$ .

Výtěžek: 0,18 g (91 %).

*Charakterizace:*

$M = 822,55$  g/mol

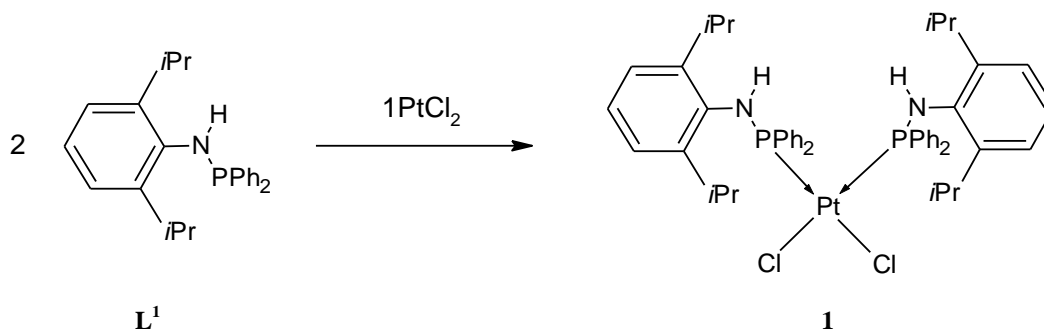
b.t.: 148,9 °C s dekompozicí

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500.13 MHz):  $\delta$  1.07 (d, 6H,  $CH_3(iPr)$ ,  $^3J(^1H, ^1H) = 6.5$  Hz), 1.21 (d, 6H,  $CH(iPr)$ ,  $^3J(^1H, ^1H) = 6.5$  Hz), 1.31 (d, 6H,  $CH_3(OiPr)$ ) 1.43 (d, 6H,  $CH_3(OiPr)$ ) 2.57 (s, 3H,  $CH_3(Me)C=N$ ), 2.93 (dd, 2H,  $CH(iPr)$ ), 5.07 (dd, 2H,  $CH(OiPr)$ ), 7.5 (dd, 3H,  $H$ ), 8.16 (m, 3H,  $ArH$ ), 8.59 (t, 1H,  $ArH$ ), 8.70 (d, 1H,  $ArH$ ) 8.71 (d, 1H,  $ArH$ )

$^{31}P$  NMR ( $CDCl_3$ , 202.40 MHz):  $\delta$  16.35 ( $^1J(^{119}Sn, ^{31}P) = 51,75$  Hz)

## 4.4 Syntézy navržených Pt sloučenin

### 4.4.1 Syntéza komplexu [Pt(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (1).



#### Pracovní postup:

Výchozí *N*-(difenylfosfino)-2,6-diisopropylanilin **L<sup>1</sup>** (0,86g; 2,37 mmol) byl rozpuštěn v 15 ml THF. K roztoku bylo přidáno stechiometrické množství PtCl<sub>2</sub> (0,32g; 1,19 mmol). Reakční směs byla míchána za laboratorních podmínek do druhého dne. Vzniklý roztok byl zfiltrován od přebytku pevného PtCl<sub>2</sub> a bylo odpařeno rozpouštědlo. Produkt byl dosušen pomocí vakua a pevný zbytek byl přečištěn přidáním malého množství hexanu. Výsledná pevná látka nažloutlé barvy byla charakterizována <sup>1</sup>H a <sup>31</sup>P NMR jako sloučenina **1**.

Výtěžek: 1,06 g (90 %).

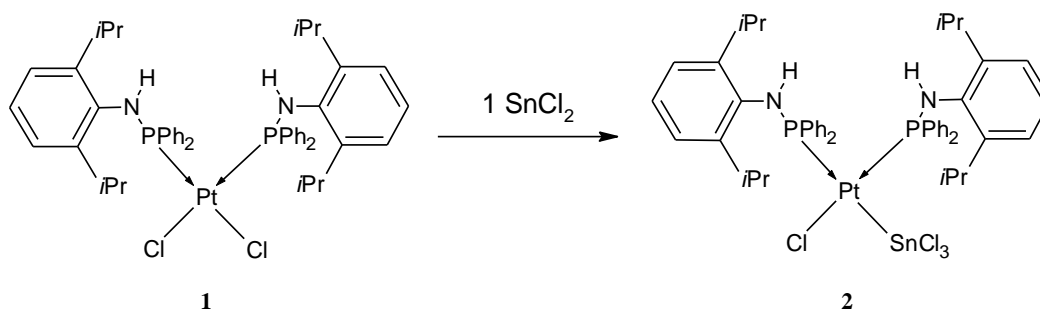
#### Charakterizace:

M = 989,26 g

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500.13 MHz): δ 0.88 (d, 24H, CH<sub>3</sub>(*i*Pr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 3.30 (hept, 4H, CH(*i*Pr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 5.99 (dd, 2H, NH, <sup>2</sup>J(<sup>31</sup>P,<sup>1</sup>H) = 11.5 Hz), 6.99 (d, 4H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 7.01 (t, 2H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 7.26-7.34 (m, 12H, ArH), 7.40 (m, 8H, ArH).

<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202.40 MHz): δ 45.7 (<sup>1</sup>J(<sup>195</sup>Pt,<sup>31</sup>P) = 2611 Hz)

#### 4.4.2 Syntéza komplexu $[\text{Pt}(\text{L}^1)_2(\text{SnCl}_3)\text{Cl}]$ (**2**).



##### Pracovní postup:

K THF (20 ml) roztoku sloučeniny **1** (0.15 g, 0,15 mmol) bylo přidáno ekvivalentní množství SnCl<sub>2</sub> (0.03 g, 0,15 mmol). Směs byla míchána 7 dní při laboratorní teplotě. Výsledný roztok byl odpařen a dosušen pod vakuem. Naoranžovělý produkt byl charakterizován pomocí <sup>1</sup>H a <sup>31</sup>P NMR jako sloučenina **2**.

Výtěžek: 0,17 g (95 %)

##### Charakterizace:

M = 1178,26 g/mol

b.t.: 158,9 °C s dekompozicí

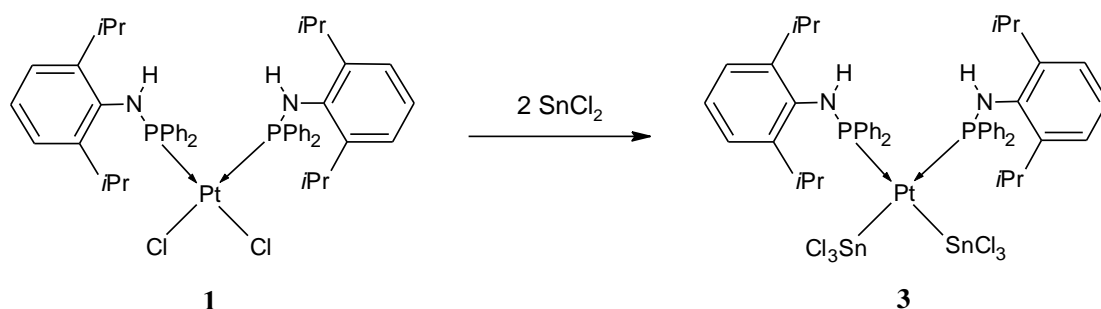
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500.13 MHz): δ 0.80 (d, 12H, CH<sub>3</sub>(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 0.87 (d, 12H, CH<sub>3</sub>(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 3.15 (hept, 2H, CH(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 3.23 (hept, 2H, CH(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 5.92 (dd, 1H, NH, <sup>2</sup>J(<sup>31</sup>P, <sup>1</sup>H) = 11.5 Hz), 6.02 (dd, 1H, NH, <sup>2</sup>J(<sup>31</sup>P, <sup>1</sup>H) = 11.5 Hz), 6.92 (d, 2H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 6.94 (d, 2H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 6.96 (t, 1H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 6.98 (t, 1H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 7.20-7.26 (m, 12H, ArH), 7.40 (m, 8H, ArH).

<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202.40 MHz): δ 42.8 (<sup>1</sup>J(<sup>195</sup>Pt, <sup>31</sup>P) = 2253 Hz, <sup>2</sup>J(<sup>119</sup>Sn, <sup>31</sup>P) = 218 Hz), 45.7 (<sup>1</sup>J(<sup>195</sup>Pt, <sup>31</sup>P) = 2596 Hz).

<sup>119</sup>Sn NMR (CDCl<sub>3</sub>, 186.36 MHz): δ -234.9 (bs, SnCl<sub>3</sub>).



#### 4.4.3 Syntéza sloučeniny $[\text{Pt}(\text{L}^1)_2(\text{SnCl}_3)_2]$ (**3**).



##### *Pracovní postup:*

K THF (20 ml) roztoku sloučeniny **1** (0,24 g; 0,24 mmol) byly přidány dva ekvivalenty SnCl<sub>2</sub> (0,09 g; 0,49 mmol). Směs byla míchána 7 dní při laboratorní teplotě. Roztok byl odpařen a dosušen pod vakuem. Výsledný oranžový produkt byl charakterizován pomocí <sup>1</sup>H a <sup>31</sup>P NMR jako sloučenina **3**.

Výtěžek: 0,30 g (91 %)

##### *Charakterizace:*

M = 1367,26 g/mol

b.t.: 161,1 °C s dekompozicí

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500.13 MHz): δ 0.86 (d, 24H, CH<sub>3</sub>(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 3.16 (hept, 4H, CH(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 6,02 (dd, 2H, NH, <sup>2</sup>J(<sup>31</sup>P, <sup>1</sup>H) = 11.5 Hz), 6.83 (d, 4H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 6,97 (t, 2H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 7.22-7.36 (m, 12H, ArH), 7.58 (m, 8H, ArH)

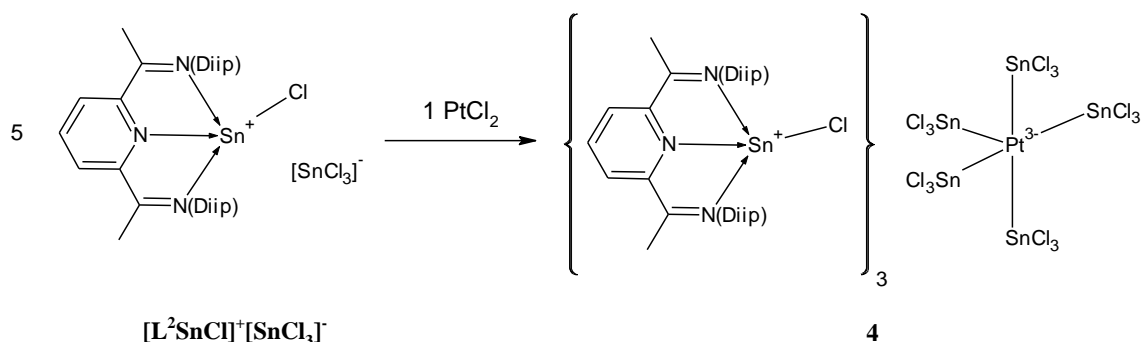
<sup>31</sup>P NMR (CDCl<sub>3</sub>, 202.40 MHz): δ 42.8 (<sup>1</sup>J(<sup>195</sup>Pt, <sup>31</sup>P) = 2256 Hz, <sup>2</sup>J(<sup>119</sup>Sn, <sup>31</sup>P) = 218 Hz)

<sup>119</sup>Sn NMR (CDCl<sub>3</sub>, 186.36 MHz): δ -235.2 (t, SnCl<sub>3</sub>, <sup>2</sup>J(<sup>119</sup>Sn, <sup>31</sup>P) = 218 Hz)

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 500.13 MHz): δ 0.85 (d, 24H, CH<sub>3</sub>(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 2.98 (hept, 4H, CH(iPr), <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 6.5 Hz), 6,23 (dd, 2H, NH, <sup>2</sup>J(<sup>31</sup>P, <sup>1</sup>H) = 11.5 Hz), 6.96 (d, 4H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 7.10 (t, 2H, ArH, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 7.5 Hz), 7.37 (m, 12H, ArH), 7.57 (m, 8H, ArH)

<sup>31</sup>P NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 202.40 MHz): δ 43,98

#### 4.4.4 Syntéza sloučeniny $[L^2SnCl]^+_3[Pt(SnCl_3)_5]^{3-}$ (**4**)



##### *Pracovní postup:*

Do THF (25 ml) roztoku  $[L^2SnCl]^+[SnCl_3]^-$  (0,20 g, 0,23 mmol) byl za laboratorní teploty přisypán  $PtCl_2$  (12 mg; 0,05 mmol). Reakční směs byla míchána 7 dní, poté bylo odpařeno rozpouštědlo, produkt byl přečištěn hexanem a dosušen. Výsledná pevná sloučenina červené barvy byla charakterizována pomocí  $^1H$  a  $^{31}P$  NMR jako sloučenina **4**.

Výtěžek 0,13 g (80 %)

##### *Charakterizace:*

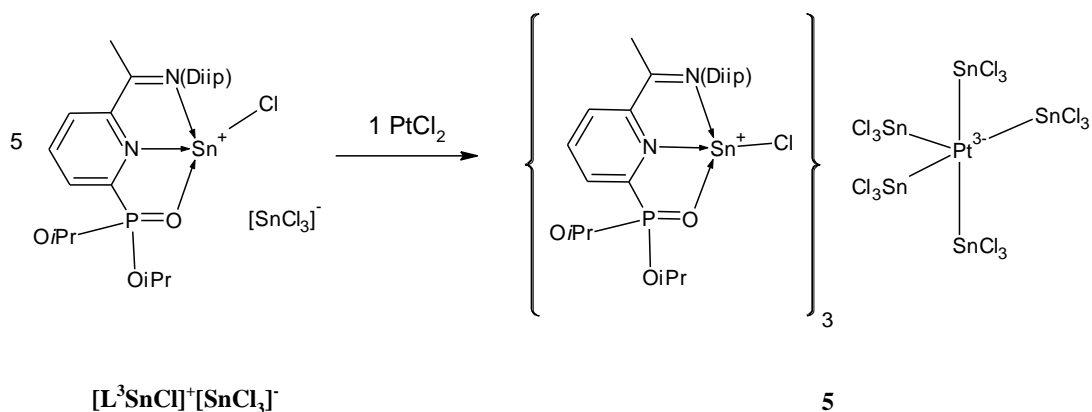
$M = 3358,8$  g/mol

b.t.: 125 °C s dekompozicí

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 300,13 MHz):  $\delta$  1,22 (d, 12H,  $CH_3(iPr)$ ), 1,26 (d, 12H,  $CH_3(iPr)$ ), 2,69 (s, 6H,  $(CH_3)C=N$ ), 2,90 (bs, 4H,  $CH(iPr)$ ), 7,21-7,35 (m, 6H, ArH), 8,80 (d, 2H, ArH), 9,20 (t, 1H, ArH).

$^{119}Sn$  NMR ( $CDCl_3$ , 111,92 MHz):  $\delta$  -125,2 ( $^1J(^{119}Sn, ^{195}Pt) = 15872$  Hz,  $^2J(^{119}Sn, ^{117}Sn) = 6055$  Hz), -423,8.

#### 4.4.5 Syntéza sloučeniny $[L^3SnCl]^+[Pt(SnCl_3)_5]^{3-}$ (5)



*Pracovní postup:*

Do  $CH_2Cl_2$  (25 ml) roztoku  $[L^3SnCl]^+[SnCl_3]^-$  (0,14 g, 0,16 mmol) byl přidán  $PtCl_2$  (9 mg, 0,032 mmol). Směs byla míchána 7 dní při laboratorní teplotě. Poté bylo odpařeno rozpouštědlo, produkt byl promyt malým množstvím hexanu a dosušen. Výsledná sloučenina byla charakterizována pomocí  $^1H$  a  $^{31}P$  NMR jako sloučenina **5**.

Výtěžek 0,10 g (85 %)

*Charakterizace:*

$M = 3595,7$  g/mol

b.t.: 128,8 °C s dekompozicí

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 300,13 MHz):  $\delta$  1,17 (d, 6H,  $CH_3(iPr)$ ), 1,26 (d, 6H,  $CH_3(iPr)$ ), 1,36 (d, 6H,  $CH_3(OiPr)$ ), 1,48 (d, 6H,  $CH_3(OiPr)$ ), 2,59 (bs, 3H,  $(CH_3)C=N$ ), 2,83 (bs, 2H,  $CH(iPr)$ ), 5,02 (bs, 2H,  $CH(OiPr)$ ), 7,20-7,30 (m, 3H,  $ArH$ ), 8,23 (m, 1H,  $ArH$ ), 8,73 (m, 1H,  $ArH$ ), 8,80 (m, 1H,  $ArH$ ).

$^{31}P$  NMR ( $CDCl_3$ , 202,40 MHz):  $\delta$  15,8 (bs)

$^{119}Sn$  NMR ( $CDCl_3$ , 111,92 MHz):  $\delta$  -125,6 ppm ( $^1J(^{119}Sn, ^{195}Pt) = 15872$  Hz,  $^2J(^{119}Sn, ^{117}Sn) = 6055$  Hz), -482,4 ppm.

$^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ , 300,13 MHz):  $\delta$  1,10 (dd, 12H,  $CH_3(iPr)$ ), 1,29 (dd, 12H,  $CH_3(OiPr)$ ), 2,19 (s, 3H,  $(CH_3)C=N$ ), 2,65 (hept, 2H,  $CH(iPr)$ ), 4,78 (hept, 2H,  $CH(OiPr)$ ), 7,10 (t, 1H,  $ArH$ ), 7,16 (d, 2H,  $ArH$ ), 8,00 (m, 1H,  $ArH$ ), 8,12 (m, 1H,  $ArH$ ), 8,30 (m, 1H,  $ArH$ ).

## 5 DISKUZE A ZÁVĚR

V rámci této práce byly připraveny komplexní Pt sloučeniny **1–5**. Přičemž sloučenina **3** obsahuje všechny výše zmíněné fragmenty, které by mohly mít vliv na rozpustnost, a tudíž biologickou aktivitu komplexu. Struktura této sloučeniny je tvořena fosfinovými ligandy obsahující NH funkční skupinu a dvěma SnCl<sub>3</sub> odstupujícími skupinami.

Sloučeniny **1–3** byly charakterizovány pomocí NMR spektroskopie. Z <sup>1</sup>H NMR spektra je patrný slabý vliv SnCl<sub>3</sub> skupiny na chemický posun NH funkční skupiny, kdy chemický posun této skupiny je posunut k nižšímu poli přítomností SnCl<sub>3</sub> fragmentu (δ 5,99 pro sloučeninu **1** a δ 6,03 pro sloučeninu **3**). Analogicky vliv SnCl<sub>3</sub> skupin byl také patrný v <sup>31</sup>P NMR spektrech diskutovaných sloučenin, kdy v případě komplexu **1** byl nalezen signál s chemickým posunem δ 45,7 ppm a interakční konstantou  $^1J(^{31}\text{P},^{195}\text{Pt}) = 2611$  Hz, zatímco u sloučeniny **3** byl nalezen signál s chemickým posunem δ 42,8 ppm a interakční konstantou  $^1J(^{31}\text{P},^{195}\text{Pt}) = 2256$  Hz. Je tedy zřejmé, že přítomnost SnCl<sub>3</sub> fragmentu vedla k posunu <sup>31</sup>P k vyššímu poli a zároveň ke zmenšení interakční konstanty  $^1J(^{31}\text{P},^{195}\text{Pt})$ . Lze tedy konstatovat, že zavedení SnCl<sub>3</sub> fragmentu oslabilo P→Pt interakci. Přítomnost SnCl<sub>3</sub> fragmentu byla prokázána díky <sup>119</sup>Sn NMR spektroskopii, kde byl pozorován signál s chemickým posunem δ -235,2 ppm. Sloučeniny **1** a **3** jsou symetrické, což bylo potvrzeno díky <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P NMR spektroskopii, kde byla nalezena jedna sada signálů.

Sloučenina **2** je nesymetrická a <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P NMR spektrech vidíme 2 sady signálů. V <sup>31</sup>P NMR spektru je signál s chemickým posunem δ 42,8 ppm a má interakční konstantu  $^1J(^{195}\text{Pt}, ^{31}\text{P}) = 2253$  Hz, zatímco druhý signál s chemickým posunem δ 45,7 ppm má interakční konstantu  $^1J(^{195}\text{Pt}, ^{31}\text{P}) = 2596$  Hz a  $^2J(^{119}\text{Sn}, ^{31}\text{P}) = 218$  Hz. Přítomnost SnCl<sub>3</sub> fragmentů je také potvrzena díky <sup>119</sup>Sn NMR spektroskopii, kdy byl nalezen signál s chemickým posunem δ -234,9 ppm.

Byl také zjištěn vliv SnCl<sub>3</sub> skupiny na rozpustnost sloučenin **1–3** v DMSO, kdy sloučeniny **1** a **2** nebyly rozpustné, zatímco sloučenina **3** ukazuje rozpustnost 6 mg/1 ml DMSO. Takto nalezená rozpustnost pro komplex **3** je dvakrát vyšší než deklarovaná rozpustnost cis-platiny, u níž je uváděna rozpustnost 3 mg/1 mL DMSO. [26, 28] Z tohoto důvodu byla žádoucí studie protinádorové aktivity sloučenin **1–3**. Pro hodnocení cytotoxického účinku byly tyto komplexy testovány *in vitro* na

nádorové linii buněk ovariálního karcinomu A2780 a linie ovariálního karcinomu rezistentního na cis-platinu, A2780cis. Pro hodnocení selektivity komplexu bylo provedeno testování cytotoxicity i na linii nenádorových buněk MRC-5. (viz Tab.3)

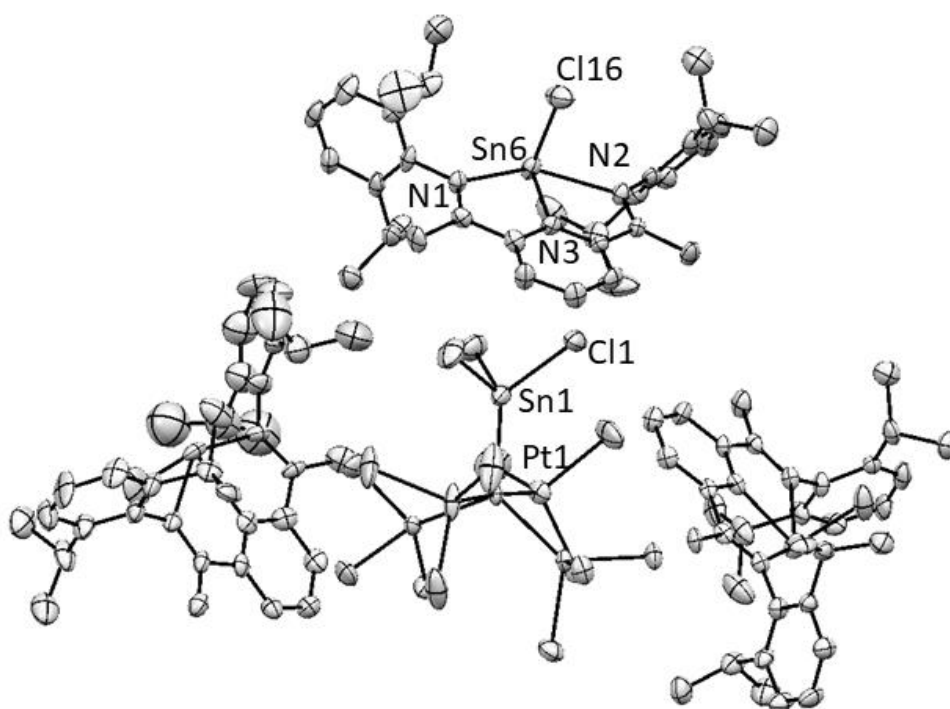
Tabulka 3: Hodnoty IC<sub>50</sub> v μM

Sloučenina/testované kultury	A27180	A27180cis	MRC-5
<b>1</b>	>50	>50	>50
<b>2</b>	>50	>50	>50
<b>3</b>	>50	>50	>50

Díky přítomnosti požadovaných funkčních skupin došlo ke zvýšení rozpustnosti sloučeniny **3** v DMSO, nicméně tato sloučenina nevykazovala žádnou aktivitu.

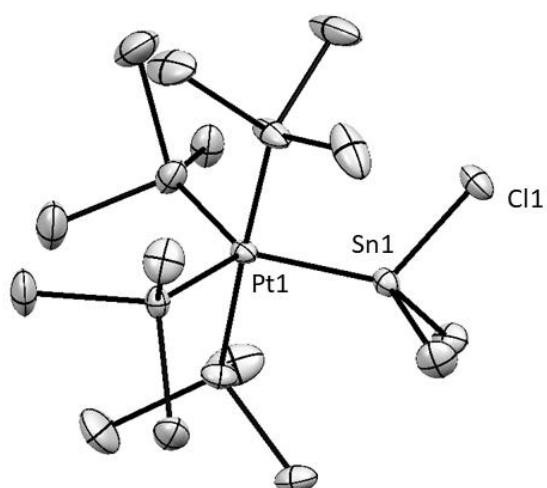
Z tohoto důvodu byly připravené iontové Pt komplexy, které ve své struktuře obsahují SnCl<sub>3</sub> fragment. Příprava spočívala v reakci sloučenin [L<sup>2</sup>SnCl<sub>3</sub>]<sup>+</sup> [SnCl<sub>3</sub>]<sup>-</sup> a [L<sup>3</sup>SnCl<sub>3</sub>]<sup>+</sup> [SnCl<sub>3</sub>]<sup>-</sup> s PtCl<sub>2</sub>. Z těchto reakcí byl izolován materiál, který byl charakterizován jako sloučeniny **4** a **5**. NMR spektra prokázala přítomnost neekvivalentních atomů Sn, kdy v <sup>119</sup>Sn NMR spektrech byly nalezeny signály s chemickým posunem δ -423,8 ppm, který odpovídá N→Sn koordinovanému cínatému kationtu [L<sup>2</sup>SnCl]<sup>+</sup> a signál s chemickým posunem δ -482,4 kationtu [L<sup>3</sup>SnCl]<sup>+</sup>. Ve <sup>119</sup>Sn NMR spektrech byly také nalezeny signály s chemickým posunem δ -125,2 ppm a δ -125,6 ppm, které odpovídají SnCl<sub>3</sub> skupinám sloučenin **4** a **5**. Fakt, že jsou tyto skupiny koordinovány k atomu Pt lze dokázat díky interakční konstantě <sup>1</sup>J(<sup>119</sup>Sn, <sup>195</sup>Pt) = 15872 Hz pro sloučeninu **4** a 15872 Hz pro sloučeninu **5**.

Nakonec, struktura komplexu **4** byla jednoznačně prokázána pomocí rentgenové difrakční analýzy (viz Obr. 16). [29]



Obrázek 16: Rentgenová struktura komplexu 4

Centrální atom Pt je koordinován pěti  $\text{SnCl}_3$  anionty ve tvaru trigonální bipyramidy. Komplexní aniont  $[\text{Pt}(\text{SnCl}_3)_5]^{3-}$  je kompenzován třemi  $[\text{L}^2\text{SnCl}]^+$  kationty. (viz obr.17)



Obrázek 17: Rentgenová struktura komplexního aniontu sloučeniny 4

Obě sloučeniny byly také zkoumány s cílem zjistit jejich rozpustnost v DMSO. Sloučenina **4** nebyla rozpustná, avšak sloučenina **5** ukazuje rozpustnost 7 mg/1mL DMSO. Takto nalezená rozpustnost je téměř trojnásobně vyšší než rozpustnost cisplatin, což bylo důvodem pro testování cytotoxické aktivity také u těchto sloučenin **4** a **5**. Komplexy byly testovány *in vitro* na nádorových buňkách ovariálního karcinomu A2780 a linii A2780cis. Pro hodnocení selektivity komplexu bylo též provedeno testování cytotoxicity i na linii zdravých buněk MRC-5.

Tabulka 4: Hodnoty IC<sub>50</sub> v μM

Sloučenina/testované kultury	A27180	A27180cis	MRC5
<b>4</b>	>50	>50	>50
<b>5</b>	9	15	10

Výsledky testů ukázaly, že sloučenina **4** nevykazuje žádnou cytotoxickou aktivitu a komplex **5** je sice cytotoxicky aktivní, avšak neposkytuje žádnou selektivitu vůči nenádorovým buňkám MRC-5 (viz Tab. 4).

Závěrem lze říci, že použitý P-NH ligand **L1** může vést ke zlepšení rozpustnosti v DMSO a jiných polárních rozpouštědlech (viz sloučenina **3**). Z tohoto důvodu je žádoucí do budoucna studovat [L<sup>1</sup>Pt] komplexy s jinou odstupující polární skupinou X. Zároveň sloučenina **5** ukazuje dobrou rozpustnost a cytotoxickou aktivitu, není však selektivní. Jednou z cest pro zvýšení selektivity může být výměna kationtu pro [Pt(SnCl<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]<sup>3-</sup> aniont.

## 6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] VARDANYAN, Ruben, HRUBY, Victor. Antineoplastic Agents. *Synthesis of Best-Seller Drugs*. Elsevier. **2016**. 495–495. ISBN 978-0-12-411492-0
- [2] TSHUVA, E. Y., MILLER, M. Titanium-Phenolato-Based Anticancer Chemotherapy: Developmental Stages. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier. **2017**. 1–8.
- [3] JONES, Chris, THORNBACK, John. Therapeutic Medicine. *Medicinal Applications of Coordination Chemistry*. Royal Society of Chemistry. **2007**. 224–257. ISBN 978-0-85404-596-9
- [4] LEBWOHL, D., CANETTA, R. Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. *European Journal of Cancer*. **1998**. 34 (10). 1522–1534.
- [5] DILRUBA, Shahana, KALAYDA, V. Ganna. Platinum-based drugs: past, present and future. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. **2016**. 77 (6). 1103–1124. ISSN 0344-5704.
- [6] VARBANOV, H. P., KUTTLER, F., BANFI, D., TURCATTI, G., DYSON, P. J. Screening-based approach to discover effective platinum-based chemotherapies for cancers with poor prognosis. *PLOS One*. **2019**. 14 (1). eISSN 1932-6203.
- [7] ALESSIO, E. Bioinorganic Medicinal Chemistry, **2011**. Wiley-VCH, ISBN 978–3–527–32631-0
- [8] METZLER-NOLTE, Nils, SCHATZSCHNEIDER, Ulrich. Metal Complexes with Anti-Proliferative Activity. *Bioinorganic Chemistry – A Practical Course*. De Gruyter. **2009**. 116–120. ISBN 978-3-11-020954-9
- [9] Works of the Department of Health and Human Services. Substance Profiles. *14th Report on Carcinogens 2016*. U.S. Department of Health and Human Services. **2016**.
- [10] ŠTARHA, P., VANČO, J., TRÁVNÍČEK, Z. Platinum iodido complexes: A comprehensive overview of anticancer activity and mechanisms of action. *Coordination Chemistry Reviews*, **2019**. 380, 103–135.



- [11] JOHNSTONE, Timothy, C., SUNTHARALINGAM, Kogularamanan, LIPPARD, Stephen, J. The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. *Chemical Reviews*. **2016**. *116*. 3436–3486.
- [12] ALDERDEN, Rebecca, A., HALL, Matthew, D., HAMBLEY, Trevor, W. The Discovery and Development of Cisplatin, *Journal of Chemical Education*. **2006**. *83* (5). 728–734.
- [13] GHOSH, Sumit. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic Chemistry*. **2019**. *88*. 102925.
- [14] FUERTES, M., A., ALONSO, C., PEREZ, J., M.. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance, *Chemical Reviews*. **2003**. *103* (3). 645–1362.
- [15] IMRAN, Muhammad, AYUB, Wagma, BUTLER, Ian, S., REHMAN, Zia-ur. Photoactivated platinum-based anticancer drugs. *Coordination Chemistry Reviews*. **2018**. *376*. 405–429.
- [16] WEXSELBLATT, Ezequiel, GIBSON, Dan. What do we know about the reduction of Pt(IV) pro-drugs? *Journal of Inorganic Biochemistry*. **2012**. *117*. 220–229.
- [17] MATOS, C.S., DE CARVALHO, A.L., LOPES, R., P. a MARQUES, M.P. New Strategies Against Prostate Cancer – Pt(II)-Based Chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry*, **2012**. *19*. 4678–4687
- [18] GALANSKI, Markus, JAKUPEC, Michael, A. a KEPPLER, Bernhard, K. Update of the Preclinical Situation of Anticancer Platinum Complexes: Novel Design Strategies and Innovative Analytical Approaches. *Current Medicinal Chemistry*. **2005**. *12*. 2075–2094.
- [19] ŘEZNÍČEK, Tomáš, DOSTÁL, Libor, RŮŽIČKA, Aleš, VINKLÁREK, Jaromír, ŘEZÁČOVÁ, Martina a JAMBOR, Roman. Synthesis and cytostatic activity of Pt(II) complexes of intramolecularly coordinated phosphine and stibine ligands. *Applied Organometallic Chemistry*. **2012**. *26*. 237–245.

- [20] KRITCHENKOV, A. S., STANISHEVSKII, Ya. M. a SKORIK, Yu. A.. Design and antitumor activity of platinum complexes. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. **2019**. 53. (1). 8–16.
- [21] YILMAZ, Veysel T., ICSEL, Ceyda, TURGUT, Omer R., AYGUN, Muhittin, ERKISA, Merve, TURKDEMIR, Mehmet H., ULUKAYA, Engin. Synthesis, structures and anticancer potentials of platinum(II) saccharinate complexes of tertiary phosphines with phenyl and cyclohexyl groups targeting mitochondria and DNA. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2018**. 155. 609–622.
- [22] HUANG, Ke-Bin, CHEN, Zhen-Feng, LIU, Yan-Cheng, LI, Zhu-Quan, WEI, Jian-Hua, WANG, Meng, XIE, Xiao-Li, LIANG, Hong. Platinum(II) complexes containing aminophosphonate esters: Synthesis, characterization, cytotoxicity and action mechanism. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2013**. 64. 554–561
- [23] JANSA, Josef, ŘEZNÍČEK, Tomáš, DOSTÁL, Libor, RŮŽIČKOVÁ, Zdena, BUREŠ, Filip a JAMBOR, Roman. Amidophosphine-stabilized palladium complexes catalyse Suzuki–Miyaura crosscouplings in aqueous media. *Applied Organometallic Chemistry*. **2016**. 30. 1036–1042.
- [24] BANTIA, Christina N., HADJIKAKOUA, Sotiris K., SISMANOGLUB, Tuba, HADJILIADISA, Nick. Anti-proliferative and antitumor activity of organotin(IV) compounds. An overview of the last decade and future perspectives. *Journal of Inorganic Biochemistry*. **2019**. 194. 114–152.
- [25] RENIER, Olivier, DEACON-PRICE, Connor, PETERS, Joannes, E. B., NUREKEYEVA, Kunsulu, RUSSON, Catherine, DYSON, Simba, NGUBANE, Siyabonga, BAUMGARTNER, Judith, DYSON, Paul J., RIEDEL, Tina, CHIRIRIWA, Haleden a BLOM, Burgert. Synthesis and *In Vitro* (Anticancer) Evaluation of  $\eta^6$ -Arene Ruthenium Complexes Bearing Stannyl Ligands. *Inorganics*. **2017**, 5 (3). 44.
- [26] JIANBIN, Han, XIANGQIAN, Gao, RAN, Liu, JINNA, Yang, MENGHUA, Zhang, YI, Mi, YING, Shi a QINGZHI, Gao. Design, Synthesis of Novel Platinum(II) Glycoconjugates, and Evaluation of Their Antitumor Effects. *Chemical Biology Drug Design*. **2016**. 87. 867–877.

- [27] AYDEMIR, Murat, BAYSAL, Akin, GURBUZ, Nevin, OZDEMIR, Ismail, GUMGUM, Bahattin, OZKAR, Saim, CAYLAK, Nagihan, YILDIRIM, Leyla, Tatar. Synthesis and characterization of new (N-diphenylphosphino)-isopropylanilines and their complexes: crystal structure of  $(\text{Ph}_2\text{P}=\text{S})\text{NH}-\text{C}_6\text{H}_4-4-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  and catalytic activity of palladium(II) complexes in the Heck and Suzuki cross-coupling reactions. *Applied Organometallic Chemistry*. **2010**. 24.17–24.
- [28] HALL, Matthew, D., TELMA, Katherine, A., CHANG, Ki-Eun, LEE, Tobie, D., MADIGAN, James, P., LLOYD, John, R., GOLDLUST, Ian, S., HOESCHELE, James, D., GOTTESMAN, Michael, M.. Say No to DMSO: Dimethylsulfoxide Inactivates Cisplatin, Carboplatin, and Other Platinum Complexes. *Cancer Research*. **2014**. 74, (14). 3913–3922.
- [29] BOUŠKA, M. *Syntéza a reaktivita intramolekulárně koordinovaných distannynu*. Pardubice. **2014**. Disertační práce. Univerzita Pardubice.