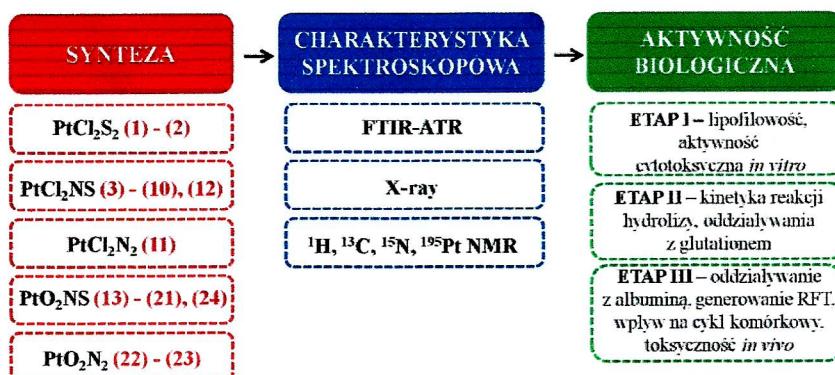


STRESZCZENIE

Cisplatyna znajduje zastosowanie w leczeniu różnego typu nowotworów. Jednak jej słaba rozpuszczalność w wodzie i inne niedogodności kliniczne wpływają na osłabienie potencjału terapeutycznego. Wieloletnie badania naukowe umożliwiły wprowadzenie do praktyki onkologicznej leków drugiej generacji – Carboplatyny i Oksaliplatyny. Wspomniane leki wykazują mniejszą niż Cisplatyna toksyczność względem komórek prawidłowych, co wynika z obecności w najbliższym otoczeniu Pt(II) bardziej inertnych (w porównaniu z chlorkami) dikarboksyianów. Niestety, Carboplatyna i Oksaliplatyna wykazują wąski zakres aktywności antynowotworowej. Z tego względu, badania ukierunkowane na dalszą modyfikację sfery koordynacyjnej Pt(II) pozostają jak najbardziej aktualne.

Wpisując się zatem w nurt najbardziej aktualnych badań związanych z poszukiwaniem selektywnych, nieorganicznych chemioterapeutyków, wiodącym celem niniejszej rozprawy była synteza mieszanych kompleksów platyny(II) o wzorze ogólnym $[\text{Pt}(\text{L}_1)(\text{L}_2)(\text{L}_3)]$, gdzie L_{1-3} to odpowiednio ligandy O-, N- i S-donorowe takie jak: L_1 – dikarboksyliany (malonian, cyklobutano-1,1-dikarboksylian); L_2 – pochodne puryn: 5,7-dipodstawione-1,2,4-triazolo[1,5- α]pirymidyny (dtp) takie jak: 5,7-dimetylo-1,2,4-triazolo[1,5- α]pirymidyna (dmtp), 7-izobutylo-5-metylo-1,2,4-triazolo[1,5- α]pirymidyna (ibmtp), 5,7-diterertiarybutylo-1,2,4-triazolo[1,5- α]pirymidyna (dbtp), 5,7-difenylo-1,2,4-triazolo[1,5- α]pirymidyna (dptp); lub rybozydy: rybozyd kinetyny (KR) lub 1- β -D-rybofuranozylo-4-(2-pirydylo)-1,2,3-triazol (PTR); L_3 – sulfotlenki (dimetylosulfotlenek, tlenek 1-tetrahydrotiofenu, difenylosulfotlenek).

W toku przeprowadzonych eksperymentów wyizolowano **24 zróżnicowane pod względem strukturalnym kompleksy platyny(II)**, które scharakteryzowano z wykorzystaniem różnorodnych metod spektroskopowych (IR; X-ray; ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{195}Pt NMR). W celu wyselekcjonowania związku(ów) o najbardziej korzystnych właściwościach terapeutycznych, wszystkie rozpuszczalne kompleksy platyny(II) z ligandami N-donorowymi skierowano do badań biologicznych, które przeprowadzono w 3 etapach (Schemat 1).



Schemat 1. Badania przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej

Sposób koordynacji ligandów N-donorowych we wszystkich otrzymanych kompleksach platyny(II) określono na podstawie analizy widm ^1H - ^{15}N NMR. Największe wartości przesunięć koordynacyjnych ($\Delta_{\text{koord.}} \approx 100$ ppm) obserwowano dla: **i)** atomu N3 w kompleksach z 5,7-dipodstawionymi-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pirymidynamami; **ii)** atomu N7 w kompleksach z rybozydem kinetyny; **iii)** atomów N3 i N7 w kompleksach z 1- β -D-rybofuranozylo-4-(2-pirydylo)-1,2,3-triazolem. Na podstawie powyższych parametrów spektroskopowych potwierdzono monodentatną koordynację cząsteczek dtp (N3) oraz KR (N7) oraz bidentatną koordynację cząsteczki PTR (N3 i N7). Z kolei, sposób koordynacji dikarboksyianów zaproponowano na podstawie parametrów Nakamoto, które dla kompleksów platyny(II) **(13) – (24)** przyjmowały większe wartości, w porównaniu z wartościami charakterystycznymi dla odpowiednich dikarboksyianów sodu ($\Delta v(\text{R}(\text{COO}^-)_2) > \Delta v(\text{R}(\text{COONa})_2)$). Na tej podstawie stwierdzono, że każda grupa karboksylowa jest monodentatna. Dodatkowo, skład sfery koordynacyjnej kompleksów **(3) cis-[PtCl₂(dmtp)(tmso)]**, **(5) cis-[PtCl₂(dbtp)(tmso)]**, **(9) trans-[PtCl₂(dbtp)(dpsol)]** oraz **(13) [Pt(mal)(dmso)(dmtp)]** potwierdzono analizą rentgenostrukturalną. Wykazano płaskokwadratową geometrię sfery koordynacyjnej Pt(II), w której ligandy chlorowe ułożone są w pozycji *cis* (w kompleksach **(3)** i **(5)**) lub *trans* (w kompleksie **(9)**). Z kolei, w mieszanym kompleksie platyny(II) **(13) [Pt(mal)(dmso)(dptp)]** chlorki podstawione zostały bidentatnym malonianem.

W kolejnym etapie badań określono potencjał terapeutyczny nowych kompleksów platyny(II). Wstępne badania biologiczne wykazały, że najlepiej rokującym jest lipofilowy kompleks **(15) [Pt(mal)(dmso)(dptp)]** ($\log P = +0.54$). W toku prowadzonych eksperymentów potwierdzono, że **(15)** wykazuje: **i)** 10-krotnie mniejszą niż Cisplatyna toksyczność *in vitro* wobec prawidłowych mysich fibroblastów (BALB/3T3); **ii)** podobną do Cisplatyny ($\text{IC}_{50} = 10.1 \mu\text{M}$ **(15)** i $9.0 \mu\text{M}$ (CDDP)), lecz większą niż Carboplatyna ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$) cytotoksyczność *in vitro* względem komórek nowotworu płuc linii A549; **iii)** mniejszą, niż współczesne leki onkologiczne (Cisplatyna i Carboplatyna), reaktywność względem glutationu; **iv)** zdolność do oddziaływanego z albuminą i generowania reaktywnych form tlenu w hodowli A549; **v)** wpływ na cykl komórkowy linii A549; **vi)** mniejszą niż Carboplatyna toksyczność *in vivo* i zdolność do wydłużenia czasu życia myszy z indukowanym nowotworem linii A549.

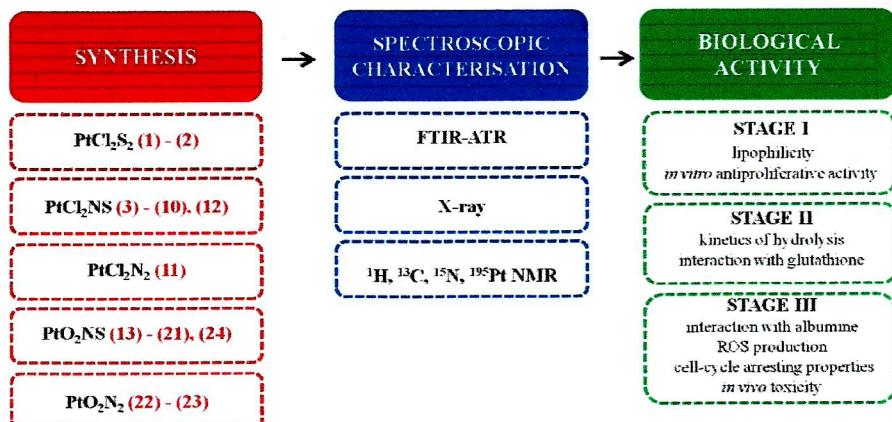
Wymienione wyżej właściwości kompleksu **(15) [Pt(mal)(dmso)(dptp)]** sugerują, że jest on konkurencyjny w stosunku do współczesnych leków Pt(II) i z tego powodu jest rekomendowany do kolejnego etapu badań *in vivo* i badań przedklinicznych.

ABSTRACT

The therapeutic effectiveness of Cisplatin, which has been used to treat various type of cancers is reduced by poor water solubility and wide range of side effects. The second-generation of platinum(II) drugs such as Carboplatin and Oxaliplatin exhibit lower toxicity towards normal cells and tissues. Their promising properties result from presence of dicarboxylato ions, which are more inert in comparison with chlorido leaving ligands. Unfortunately, Carboplatin and Oxaliplatin which are approved for global applications show relatively narrow range of anticancer activity. For that reason, the studies focused on consecutive modification of the coordination sphere of platinum(II) ion are still valid.

As a part of modern stream of studies associated with the exploration selective inorganic anticancer agents, the main aim of this PhD was connected with design and synthesis of new mixed ligand platinum(II) complexes of general formula $[\text{Pt}(\text{L}_1)(\text{L}_2)(\text{L}_3)]$, where L_{1-3} are appropriate O-, N- and S-donor ligands, such as: L_1 – dicarboxylato ion (cyclobutane-1,1-dicarboxylato or malonato), L_2 – purine derivative such as 5,7-disubstituted-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidines (dtp): 5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine (dmtp), 7-isobutyl-5-methyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine (ibmtp), 5,7-ditertbutyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine (dbtp), 5,7-diphenyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine (dptp); or ribosides: kinetin riboside (KR) or 1- β -D-ribofuranosyl-4-(2-pyridyl)-1,2,3-triazole (PTR); L_3 – sulfoxide (dimethyl sulfoxide, diphenyl sulfoxide or tetrahydrothiophene 1-oxide).

Within the PhD thesis, **24 new structurally different platinum(II) complexes** were synthesized and fully characterized with use of various spectroscopic methods (IR; X-ray; ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{195}Pt NMR). In order to choose the compound(s) with the most promising therapeutic effectiveness, all soluble platinum(II) complexes with N-donor ligands were directed to the 3-stage biological studies (Scheme 1).



Scheme 1. Studies conducted within PhD thesis

Abstract

The determination of coordination site of N-donor ligands in all new complexes was possible by ^1H - ^{15}N NMR experiments. The biggest coordination shifts ($\Delta_{\text{koord.}} \approx 100$ ppm) were observed for: **i)** N3 in complexes with 5,7-disubstituted-1,2,4-triazolo[1,5- α]pyrimidine; **ii)** N3 and N7 in complexes with 1- β -D-ribofuranosyl-4-(2-pyridyl)-1,2,3-triazole; **iii)** N3 in complexes with kinetin riboside. These spectroscopic parameters clearly indicated that molecules of dtp and KR coordinated monodentate (via nitrogen N3 and N7, respectively), whereas PTR was able to bind bidentately via nitrogen N3 and N7. The coordination mode of dicarboxylato ions in complexes **(13) – (24)** was proposed based on Nakamoto parameters ($\Delta v(\text{R}(\text{COO})_2)$). The ($\Delta v(\text{R}(\text{COO})_2)$) values for new compounds were higher than the corresponding parameters for sodium dicarboxylatos ($\Delta v(\text{R}(\text{COO})_2) > \Delta v(\text{R}(\text{COONa})_2)$). It suggested that each carboxylato group coordinated monodentately. Moreover, the composition of coordination sphere of platinum(II) ion has been determined with use single-crystal X-ray diffraction for **(3)** *cis*-[PtCl₂(dmtp)(tmsso)], **(5)** *cis*-[PtCl₂(dbtp)(tmsso)], **(9)** *trans*-[PtCl₂(dbtp)(dpsso)] and **(13)** [Pt(mal)(dmsso)(dmtp)]. X-ray data confirmed a square-planar geometry of Pt(II) with monodentate N3-bonded triazolopyrimidine, S-bonded sulfoxide and two chlorido ligands located in *cis* position for **(3)**, **(5)** or in *trans* position for **(9)**. Additionally, in case of mixed ligand platinum(II) complex **(13)** Pt(mal)(dmsso)(dmtp)], chlorido leaving ligands were substituted by bidentate malonato ion.

Next step of research focused on examination of therapeutic potential of new platinum(II) compounds. Based on preliminary biological studies it was possible to suggest, that lipophilic complex **(15)** [Pt(mal)(dmsso)(dptp)] ($\log P = +0.54$) exhibited the most promising properties. It was proved, that **(15)** showed: **i)** 10-times lower *in vitro* toxicity towards normal embryonic fibroblast cells (BALB/3T3) in comparison with CDDP; **ii)** similar to Cisplatin ($\text{IC}_{50} = 10.1 \mu\text{M}$ and $9.0 \mu\text{M}$, respectively), but definitely higher than Carboplatin ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$) *in vitro* cytotoxicity against human lung adenocarcinoma cells (A549); **iii)** lower reactivity towards glutathione than currently used platinum(II) drugs (Cisplatin and Carboplatin); **iv)** ability to interact with albumine and generate reactive oxygen species in A549 cell line; **v)** cell cycle of A549 modulation by induction of arrest in G₀/G₁ phase; **vi)** lower than Carboplatin *in vivo* toxicity and ability to treat of mice bearing A549 cancer cells.

The above mentioned properties suggest that new complex **(15)** [Pt(mal)(dmsso)(dptp)] is able to compete with today's platinum(II) anticancer drugs and it is recommended to further *in vivo* and preclinical studies.