Universiteit
Leiden
The Netherlands

Design, synthesis, characterization and biological studies of ruthenium and gold compounds with anticancer properties

Garza-Ortiz, A.

Citation
Garza-Ortiz, A. (2008, November 25). *Design, synthesis, characterization and biological studies of ruthenium and gold compounds with anticancer properties*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/13280

Version:	Corrected Publisher's Version
License:	Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden
Downloaded from:	https://hdl.handle.net/1887/13280

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

Ontwerp, Synthese, Karakterisatie en Biologische Studies van Ruthenium- en Goudverbindingen met Eigenschappen tegen Kanker

Met het doel om een systematisch kennis te ontwikkelen in de zoektocht naar alternatieve metaal-gebaseerde antikanker verbindingen (vnl. van ruthenium en goud) met verhoogde cytotoxische eigenschappen, beschrijft dit proefschrift belangrijke chemische, fysische en biologische eigenschappen van geselecteerde ruthenium- en goudverbindingen. Om deze redenen zijn verschillende Ru(III)-, Ru(II)- en Au(III)-coördinatieverbindingen gesynthetiseerd.

Het lange termijn doel voor de onderzoekprojecten die hier gestart zijn, is het ontwikkelen van een systematische aanpak in de synthese van op goud en ruthenium gebaseerde antikanker-verbindingen die in staat zijn de problemen inherent aan *cisplatina*-behandeling te overkomen, maar ook met een bredere toepassing naar verschillende kankertypes.

Het eerste hoofdstuk bevat algemene informatie gerelateerd aan kanker en de wereldwijde impact ervan, evenals de meest belangrijke chemische en biologische bevindingen in het veld van ruthenium- en goudbevattende cytotoxische complexen met mogelijke toepassing in de behandeling van kanker.

Het is duidelijk dat meer onderzoek nodig is op het gebied van de chemie en biologie van zowel ruthenium- als goudverbindingen. Het is echter ook duidelijk dat de belangrijkste focus moet liggen op het ontwikkelen van betere onderscheidingsprocedures voor de selectie van de meest potentiële cytotoxische verbindingen met minder bijverschijnselen. Om dit doel te bereiken is betere samenwerking tussen chemici, biologen en fysici vereist. Het is dan de belangrijkste taak voor chemici om een complete studie van elk systeem dat ze ontwikkelen te leveren. Helaas is dit niet altijd mogelijk, omdat de meeste projecten een levenslange experimentele studie vereisen.

Als de chemische eigenschappen van een systeem onder controle zijn, is het noodzakelijk rekening te houden met de hoge variatie in tumorrespons in mensen. In de context van onvoorspelbare systematische toxiciteiten, die de noodzaak onderstrepen van betere selectie van therapieën voor individuele patiënten en ook van de toepassing van gecombineerde behandelingen (bestraling, chemotherapie of operatie) en in het bijzonder de chemotherapie, de toediening van verschillende cytotoxische middelen.

Omdat Au(III) en Ru(II)/Ru(III) zeer veelbelovend gebleken zijn in het veld van kankerbehandeling, heeft dit onderzoeksproject zich toegespitst op het ontwerp, synthese en karakterisatie van nieuwe Ru(III)-, Ru(II)- en Au(III)-verbindingen met cytotoxische eigenschappen. Een doel dat volledig beschreven wordt in het laatste deel van hoofdstuk 1. Tegelijkertijd hebben *in vitro*-studies geholpen in de bepaling van structuur-activiteitsrelaties, die op hun beurt helpen in de verbetering van de cytotoxischiteit van de ontworpen verbindingen.

In hoofstuk 2, worden in detail de synthese en karakterisatie van een nieuwe serie van Au(III)-complexen met de algemene formule $[Au(L)Cl_2]Cl$ (waarin L=2-(fenylazo)pyridine (azpy), o-tolylazopyridine (tazpy), 3-methyl-2-fenylazopyridine (3-mazpy), 4-methyl-2-fenylazopyridine (4-mazpy) en 3-methyl-2-tolylazopyridine (3-mtazpy)) beschreven. De geselecteerde liganden zijn derivaten van arylazopyridines die elektrondonerende groepen bevatten, hetzij in het pyridylgedeelte, dan wel in het fenylgedeelte, dan wel in beide om zo de optimale stabiliteit en biologische *in vitro*-activiteit af te stemmen. De complexen zijn verder ontworpen met twee monodentaat chlorideliganden die gehydrolyseerd kunnen worden en daardoor zijn er twee plaatsen beschikbaar voor substitutie. De verbindingen, stabiel in de vaste fase, zijn gekarakteriseerd door middel van elementanalyse, IR, UV-Vis, geleidingsmetingen, ^{1}H-NMR, 2D ^{1}H COSY-studies, ESI-MS en ICP-OES.

Diverse auteurs hebben meerdere malen aangetoond dat Au(III)-verbindingen veelbelovend zijn als antitumorverbindingen. Het grootste nadeel is de hoge reactiviteit van Au(III) zelf. Het was een uitdaging om fysiologisch stabiele verbindingen te ontwerpen en te synthetiseren, vooral door het gebrek aan kennis in de Au(III)-chemie. Daarom beschrijft

hoofdstuk 3 de onverwachte reactiviteit in oplossing van de eerder genoemde goud(III)-verbindingen. De chemische stabiliteit van de kationen is geanalyseerd door middel van NMR en UV-Vis. De resultaten beschrijven een kinetisch-stabiele trend, afhankelijk van het gecoördineerde ligand aan het driewaardige goud-ion. Halfwaardetijden werden berekend gebaseerd op een exponentieel dissociatiemodel (een fase) van de integratie waardes van geselecteerde ^{1}H NMR-pieken van de stabiliteitstesten. Tricyclische kationische organische derivaten van de originele liganden (azpy, tazpy, 4mazpy en 3mtazpy) werden geproduceerd in oplossing en vervolgens geïsoleerd en gekarakteriseerd. De röntgendiffractiestudies geven extra steun aan de structurele voorstellingen gebaseerd op chemisch bewijs, verkregen door elementanalyse, NMR, ESI-MS en molaire geleidingsmetingen. Een mechanistisch voorstel voor deze onverwachte reactiviteit wordt in detail beschreven en vooral gedemonstreerd door het verkregen chemische bewijs. De nieuwe organische verbindingen verkregen in dit werk vertegenwoordigen veelbelovende uitgangsmaterialen voor de synthese van meer ontwikkelde organische structuren. In het laatste deel van dit hoofdstuk, worden 2-(arylazo)pyridine liganden, Au(III)-verbindingen en de organische cyclische kationen onderzocht op potentiële cytotoxiciteit en antikankereigenschappen. De cytotoxische activiteit *in vitro* voor cisplatina-gevoelige en cisplatina-resistente cellijnen wordt beschreven. De IC_{50} waardes van de goud(III)-verbindingen toonden een gemiddeld tot hoge cytotoxiciteit, terwijl de vrije 2-(arylazo)pyridine-gerelateerde liganden een lagere cytotoxiciteit vertoonden. Significante antikankeractiviteit op de cisplatina-resistente cellijnen werd gevonden voor een van de tricyclische zouten, die het ontstaan van cross-resistente fenomenen uitsluiten. Au-3mazpy toonde de hoogste cytotoxische activiteit (IC_{50} = 11 μM) en hoogste stabiliteit in oplossing.

Hoofdstuk 4 beschrijft de synthese, spectroscopische, structurele en biologische studies van twee nieuwe bis(arylimino)pyridine Ru(III)-chloride-verbindingen die een van de tridentaat liganden 2,6-bis(2,4,6-trimethylfenyliminomethyl)pyridine en 2,6-bis(2,6-diisopropylfenylimino-methyl)pyridine bevatten. De bis(arylimino)pyridine-liganden werden gesynthetiseerd door condensatie van 2,6-pyridinedicarboxaldehyde met 2,4,6-trimethylaniline of 2,6-diisopropylaniline en verder gekarakteriseerd in de vaste fase door middel van éénkristal-röntgendiffractie-analyse en andere standaard karakterisatietechnieken. De Ru(III)-verbindingen met de algemene formule $[RuCl_3(L)]\cdot x(H_2O)$, waarin L=L1=2,6-bis(2,4,6-trimethylfenyl-iminomethyl)pyridine, L2=2,6-bis(2,6-isopropylfenylimino methyl)pyridine and x=0 or 1, afgekort als respectievelijk RuL1 en RuL2, werden structureel bepaald op basis van analytische en spectroscopische studies (IR, UV-Vis, ESI-MS, EPR, 1D and 2D ^{1}H NMR). Hoewel de vrije liganden van zichzelf al gemiddeld cytotoxisch zijn in de geselecteerde cellijnen (EVSA-T en MCF-7), blijkt de antikankeractiviteit van de $[Ru(L)Cl_3]xH_2O$ verbindingen significant te zijn voor een breed scala van kankercellijnen, getest *in vitro* (IC_{50}-waardes = 4 ~ 17 μM). De reactie van RuL1 met de DNA-modelbase 9-ethylguanine (9EtGua) gaf in een redoxreactie de verbinding *trans*-$[Ru(II)(L1)(9EtGua)_2(H_2O)](ClO_4)_2$ (RuL1-9EtGua) en deze was volledig gekarakteriseerd met conventionele methodes in oplossing, alsmede in de vaste stof door röntgenkristallografie. De structuur bevat de tot nu toe onbekende *trans*-bis(purine)Ru(II)-eenheid. Dit onderzoek heeft geleid tot de ontwikkeling van een veelbelovende nieuwe generatie van potentiële antineoplastische Ru(III)- en Ru(II)-verbindingen met bis(arylimido)pyridine-liganden. De potentiële interesse ligt hoofdzakelijk in de mogelijkheden van aanpassingen in de liganden, welke de biologische eigenschappen kunnen sturen, maar representeren ook mogelijke actieve katalytische verbindingen in het veld van recent gevonder metaal-bis(imino)pyridine-systemen.

Tot slot wordt in hoofdstuk 5, door een succes in de synthese van cytotoxisch zeer actieve Ru(III)-bis(arylimino)pyridine-derivaten, de synthese en isolatie van een nieuwe familie van Ru(II)-complexen van het type $[Ru(Lx)(Ly)Cl]^+$ (Lx=L1: 2,6-bis(2,4,6-trimethylfenyliminomethyl)pyridine of L2: 2,6-bis(2,6-diisopropylfenyliminomethyl) pyridine en Ly= azpy, bpy (2,2'dipyridyl), 3mazpy, phen (1,10-fenanthroline), pic (picolinate) en tazpy) beschreven. De karakterisatie werd gedaan door middel van elementanalyse, IR, ^{1}H-NMR, ESI-MS, UV-Vis en in sommige gevallen röntgendiffractie. De synthese van deze familie van Ru(II)-verbindingen werd ontworpen in een poging tot verdere evaluatie en modificatie van de chemische reactiviteit en cytotoxiciteit. De complexen met bidentaat liganden met verschillende donoreigenschappen zijn ook ontworpen met een monodentaat chlorideligand, dat gemakkelijk gesubstitueerd kan worden. De *in vitro*-evaluatie van de cytotoxische eigenschappen van deze nieuwe Ru(II)-complexen is in vergelijking met de

oorspronkelijke Ru(III)-verbindingen (IC_{50} values = 4 ~ 17 μM) resulteerde in een significante verbetering in de cytotoxiciteit (IC_{50} values = 0.4 ~ 10 μM) voor een breed geteste scala aan kankercellijnen. Sommigen toonden zelfs hogere cytotoxische effecten dan cisplatina. De meest actieve familie van verbindingen, in termen van cytotoxiciteit, is degene met het tridentaat ligand 2,6-bis(2,6-diisopropylfenyliminomethyl)pyridine.