

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra anorganické chemie**



**Syntéza a studium vlastností komplexů ruthenia a osmia  
s bidentátními N1-deriváty 7-azaindolu**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Autor: Daniel Chrenko

Studijní obor: CHEMIE

Typ studia: Prezenční

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

Termín odevzdání práce: 30. 4. 2018

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci sepsal samostatně pod dohledem vedoucího bakalářské práce, a že jsem na konci práce uvedl všechnu použitou literaturu. Prohlašuji, že jsem v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce neporušil autorská práva.

Souhlasím s tím, aby byla tato práce přístupná v knihovně katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne .....

.....

Daniel Chrenko

Chtěl bych poděkovat doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za odborné vedení a připomínky při vypracovávání této bakalářské práce. Dále chci poděkovat kolektivu katedry anorganické chemie, a to především Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za provedení NMR spektroskopie, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení hmotnostní spektrometrie, Mgr. Aleně Klanicové, Ph.D. za provedení infračervené spektroskopie a paní Pavle Richterové za provedení elementární analýzy. Dále chci poděkovat vedoucímu katedry anorganické chemie, prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D., za provedení monokrystalové rentgenové strukturní analýzy, včetně řešení struktury jednoho z připravených komplexů, a především za možnost vypracovat předloženou práci na půdě uvedené katedry. Dále chci na tomto místě poděkovat prof. RNDr. Karlu Lemrovi, Ph.D., vedoucímu katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, za umožnění vypracování předložené práce na katedře anorganické chemie. Práce vznikla za finanční podpory projektů GAČR 17-08512Y a LO1305.

## Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Daniel Chrenko
Název práce:	Syntéza a studium vlastností komplexů ruthenia a osmia s bidentátními <i>N1</i> -deriváty 7-azaindolu
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
Rok odevzdání práce:	2018

**Abstrakt:** Byla připravena série polosendvičových organokovových ruthenatých a osemnatých komplexů obecného vzorce  $[M(\eta^6\text{-bz}^x)(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$ , (**1–4**), kde  $M = \text{Ru}$  (pro komplexy **1** a **2**) nebo  $\text{Os}$  (pro komplexy **3** a **4**),  $\text{bz}^x$  je *p*-cymen (pro komplexy **1** a **3**) nebo toluen (pro komplexy **2** a **4**) a pyaza je bidentátně koordinovaný *N,N*-donorový ligand 1-pyridyl-7-azaindol. Připravené komplexní sloučeniny byly charakterizovány elementární analýzou (C, H, N), FT-IR spektroskopií,  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopií, hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem v pozitivním ionizačním módu (ESI+ MS) a v případě komplexu **2** také monokrystalovou rentgenovou strukturní analýzou. Dále byly provedeny pokusy o nahrazení chloro ligandu komplexu **1** vybraným biologicky aktivním karboxyláto ligandem (chlorambucilem), a také byly provedeny syntézy směrem k jinému typu biologicky perspektivních ruthenatých komplexů obsahujících tris(1-pyrazolyl)borhydrid.

**Klíčová slova:** Ru(II) komplexy; Os(II) komplexy; 7-azaindol; organokovové sloučeniny; syntéza; charakterizace.

Počet stran: 49

Jazyk: Čeština

## Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Daniel Chrenko

Title: Synthesis and study of properties of ruthenium and osmium complexes containing bidentate *N1*-derivatives of 7-azaindole

Type of thesis: Bachelor

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

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

The year of submission: 2018

**Abstract:** The series of half-sandwich organometallic ruthenium(II) (**1** and **2**) and osmium(II) (**3** and **4**) complexes of the general formula  $[M(\eta^6\text{-bz}^x)(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$ , (**1–4**), where  $\text{bz}^x$  is *p*-cymene (for **1** and **3**) or toluene (for **2** and **4**) and pyaza symbolizes bidentate *N,N*-donor 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindole (pyaza) was prepared. Complexes were characterized by elemental analysis (C, H, N), FT-IR spectroscopy,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy, electrospray ionization mass spectrometry in positive ionization mode (ESI+MS) and in the case of complex **2** also by a single-crystal X-ray analysis. Further, the attempts to replace the chlorido ligand of complex **1** by the biologically active carboxylato ligand (chlorambucil) were performed, as well as the syntheses of a different type of biologically perspective ruthenium(II) complexes containing tris(1-pyrazolyl)borohydride.

Keywords: Ru(II) complexes; Os(II) complexes; 7-azaindole; organometallic compounds; synthesis; characterization

Number of pages: 49

Language: Czech

## OBSAH

1. ÚVOD.....	8
2. TEORETICKÁ ČÁST .....	9
2.1. Ruthenium a osmium .....	9
2.2. Biologicky aktivní komplexy ruthenia a osmia .....	10
2.3. Srovnání cytotoxicity komplexů s různými deriváty benzenu .....	17
2.3.1. Komplexy ruthenia .....	17
2.3.2. Komplexy osmia .....	23
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	26
3.1. Použité chemikálie a přístroje .....	26
3.2. Příprava sloučenin .....	27
3.2.1. Příprava výchozích sloučenin .....	27
3.2.1.1. Příprava 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindolu .....	27
3.2.1.2. Příprava výchozích Ru <sup>II</sup> a Os <sup>II</sup> dimerů .....	27
3.2.1.3. Příprava trifenylfosfin-dichlororuthenatého komplexu .....	29
3.2.1.4. Příprava derivátu chlorambucilu .....	29
3.2.2. Příprava Ru <sup>II</sup> komplexů .....	29
3.2.3. Příprava tris(pyrazolyl)boritanových (tpb) komplexů .....	31
3.2.4. Příprava Os <sup>II</sup> komplexů .....	32
4. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	34
5. ZÁVĚR.....	43
6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	44

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

THF	tetrahydrofuran
DCM	dichlormethan
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
HCl	kyselina chlorovodíková
NMR	nukleární magnetická rezonance
EA	elementární analýza
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem (ESI-MS)
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
DMSO	dimethylsulfoxid
en	ethylen-1,2-diamin
<i>p</i> -cym	1-methyl-4-(propan-2-yl)benzen ( <i>p</i> -cymen)
tol	methylbenzen (toluen)

# 1. ÚVOD

Léky na bázi platiny patří mezi nejdůležitější chemoterapeutika k léčbě rakoviny. Nejznámějším zástupcem této skupiny je *cisplatina* (*cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex), která byla ke klinickému využití povolena FDA (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv) v roce 1978 a od té doby je používána především k léčbě rakoviny varlat, močového měchýře, vaječníků, ale i vůči dalším typům rakoviny, jako je rakovina krku [1]. Snaha snížit nebo zcela odstranit toxicitu spojenou s léčbou rakoviny *cisplatinou* vedla k vývoji dalších platnatých komplexů, jako je *oxaliplatina* (1*R*,2*R*-diamin-cyklohexan-oxalatoplatnatý komplex) a *karboplatina* (diamin-1,1-cyklobutandikarboxylatoplatnatý komplex [2]. Avšak potřeba nalézt efektivnější, biologicky aktivnější a méně toxické protirakovinové léky vede i nadále k novým sloučeninám, včetně těch, které neobsahují platinu, ale jiné přechodné kovy, jako například lehké nebo těžké platinové kovy ruthenium, rhodium, palladium nebo osmium a iridium [3,4]. Právě zmíněné kovy ruthenium a osmium jsou předmětem předložené bakalářské práce.

Cytotoxicita komplexů ruthenia je známá již od 80. let. Některé z těchto látek (např. ruthenité komplexy (ImH)(*trans*-[RuCl<sub>4</sub>(DMSO)(Im)] (NAMI-A; DMSO = dimethyl sulfoxid, Im = imidazol) a (InH)(*trans*-[RuCl<sub>4</sub>(In)<sub>2</sub>]) (KP-1019; In = indazol) dokonce dosáhly fáze klinických studií na lidských pacientech. Zhruba před patnácti lety bylo prokázáno, že nejen ruthenité komplexy výše zmíněného typu, ale také ruthenaté polosendvičové komplexy mohou vykazovat srovnatelnou nebo dokonce vyšší cytotoxicitu v porovnání s NAMI-A resp. KP-1019. Stejně tak bylo prokázáno, že komplexy osmia jsou v mnoha případech cytotoxičtější než jejich analogy na bázi ruthenia [3,4].

Cílem této bakalářské práce bylo seznámit se s jednotlivými literárními zdroji a databázemi a vypracovat rešerši týkající se bioanorganické chemie protinádorově aktivních polosendvičových komplexů ruthenia a osmia, se zaměřením na vliv  $\eta^6$ -koordinovaných derivátů benzenu na jejich biologickou aktivitu. Dalším cílem bylo pokusit se připravit sérii Ru<sup>II</sup> a Os<sup>II</sup> sloučenin obecného vzorce [M( $\eta^6$ -bz<sup>x</sup>)(pyaza)Cl]PF<sub>6</sub>, kde bz<sup>x</sup> je *p*-cymen nebo toluen a pyaza 1-pyridyl-7-azaindol. Dalším cílem bylo tyto sloučeniny charakterizovat vhodnými metodami, a to ve spolupráci s vedoucím práce a dalšími zaměstnanci katedry anorganické chemie PŘF UP v Olomouci (např. NMR spektroskopie, hmotnostní spektrometrie nebo monokrystalová rentgenová strukturní analýza).



## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1. Ruthenium a osmium

Ruthenium (Ru) a osmium (Os) jsou přechodné prvky, které patří do VIII. B. skupiny periodické soustavy prvků (8. skupina dle IUPAC). Patří mezi ušlechtilé kovy s hexagonální strukturou, které se ve svých sloučeninách vyskytují v oxidačních stavech od -II až po +VIII. Ruthenium se řadí mezi lehké platinové kovy. Jeho elektronová konfigurace je  $[\text{Kr}]4d^75s^1$ , má protonové číslo 44 a jeho relativní atomová hmotnost je 101,07. Osmium se řadí mezi těžké platinové kovy a jeho elektronová konfigurace je  $[\text{Xe}]4f^{14}5d^66s^2$ , má relativní atomovou hmotnost 190,23 a jeho protonové číslo je 76.

Oba prvky jsou si fyzikálně a chemicky blízké. Mají velmi vysokou teplotu tání - ruthenium taje přibližně při teplotě 2282 °C a osmium, které má nejvyšší teplotu tání ze všech platinových kovů, taje při teplotě přibližně 3045 °C [4,5]. Sloučeniny s nižším oxidačním číslem než +II u těchto kovů reprezentují především karbonyly, které jsou známy jako těkavé kapaliny, které lze získat působením oxidu uhelnatého na  $\text{OsO}_4$  nebo na práškové ruthenium za zvýšené teploty a tlaku. V oxidačním stavu +II jsou známy jen disulfidy a koordinační sloučeniny. Disulfidy se získávají z  $\text{RuCl}_3$  nebo  $\text{OsCl}_3$  v proudu  $\text{H}_2\text{S}$ . Komplexy v oxidačním stupni +II mají konfiguraci  $d^6$  a především oktaedrické uspořádání, ve kterém jsou diamagnetické a kineticky inertní [7]. Tyto sloučeniny jsou stabilizovány  $\pi$ -akceptorovými C-, P-, As- a N-donorovými ligandy [5]. Sloučeniny v oxidačním stavu +III jsou stálé, avšak u sloučenin osmia dochází k oxidaci na Os(IV) nebo redukci v přítomnosti  $\pi$ -akceptorových ligandů na Os(II). Nejlépe prostudovanou látkou je chlorid ruthenitý, který se vyskytuje ve dvou bezvodých formách jako tmavě hnědý  $\beta$ - $\text{RuCl}_3$  a  $\alpha$ - $\text{RuCl}_3$ . Další forma chloridu ruthenitého je  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , který se připravuje rozpuštěním  $\text{RuO}_4$  v  $\text{HCl}$  a následným odpařením v proudu plynného  $\text{HCl}$ .  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  slouží jako výchozí látka pro přípravu dalších sloučenin ruthenia. V oxidačním stavu +IV se vyskytují pouze oxidy  $\text{RuO}_2$  a  $\text{OsO}_2$  a dále komplexní halogenidy, ze kterých jsou nejdůležitější hexachloroosmičitany, které slouží k přípravě dalších komplexů osmia. Oxidační stav +V není pro tyto kovy typický. V oxidačním stavu +VI se vyskytují ruthenany  $\text{RuO}_4^{2-}$  a méně stabilní osmiany. Maximálního oxidačního

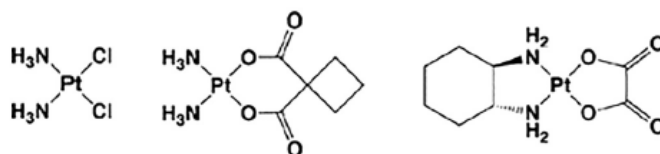
stavu +VIII dosahují z celé VIII.B skupiny pouze tyto dva prvky, a to v oxidech  $\text{RuO}_4$  a  $\text{OsO}_4$  [5, 7].

Osmium bylo objeveno v roce 1804 anglickým chemikem profesorem Tennetem. Ruthenium bylo objeveno v roce 1844. Společně s iridiem je to prvek s největší hustotou. Oba kovy mají stříbrnou barvu a patří mezi tvrdé, ale křehké kovy [8]. V přírodě se vyskytují jak v ryzím stavu, tak ve slitinách s platinou, mědí, zlatem nebo iridiem. Slitina osmia a iridia („osmiridium“) se vyskytuje ve všech platinových rudách. Tyto slitiny se dělí podle Sudburského způsobu, který spočívá v extrakci horkou lučavkou královskou [7].

Ruthenium, osmium a některé jejich sloučeniny mají použití v katalýze, uplatňují se například při hydrogenaci alkinů a dienů. Ruthenium katalyzuje Fischerovu-Tropschovu reakci hydrogenace oxidu uhelnatého na methan, hydrogenaci benzenu nebo redukci cukrů na polyalkoholy. Oxid osmičelý se používá v organické katalýze [6–8].

## 2.2. Biologicky aktivní komplexy ruthenia a osmia

V posledním století výrazně narostl počet onkologických pacientů s nejrůznějšími typy rakoviny. K léčbě rakoviny jsou využívány radioterapeutické, chemoterapeutické a chirurgické metody. K dnešnímu dni existuje řada chemoterapeutik, které jsou výrazně schopny omezit nebo zastavit růst nádorových buněk. K nejznámějším zástupcům chemoterapeutik patří komplex platiny známý pod jménem *cisplatina* (*cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex; Obr. 1).



Obrázek 1: Strukturální vzorce léčiv na bázi platiny *cisplatiny* (vlevo), *karboplatiny* (uprostřed) a *oxaliplatiny* (vpravo) (převzato a upraveno z [11])

*Cisplatina* v buněčném cyklu blokuje replikaci DNA (S fázi buněčného cyklu). Po vstupu do cílové buňky *cisplatina* hydrolyzuje, čímž ztratí své chloro ligandy. Molekula se stane elektro pozitivní a je schopna interagovat s nukleofilními molekulami uvnitř buňky, jako je DNA, RNA, proteiny nebo menší oligopeptidy. Při interakci s DNA se částice na

bázi platiny kovalentně vážou především na N7 atom imidazolového kruhu guaninu nebo v menší míře adeninu (viz schéma I) [1].

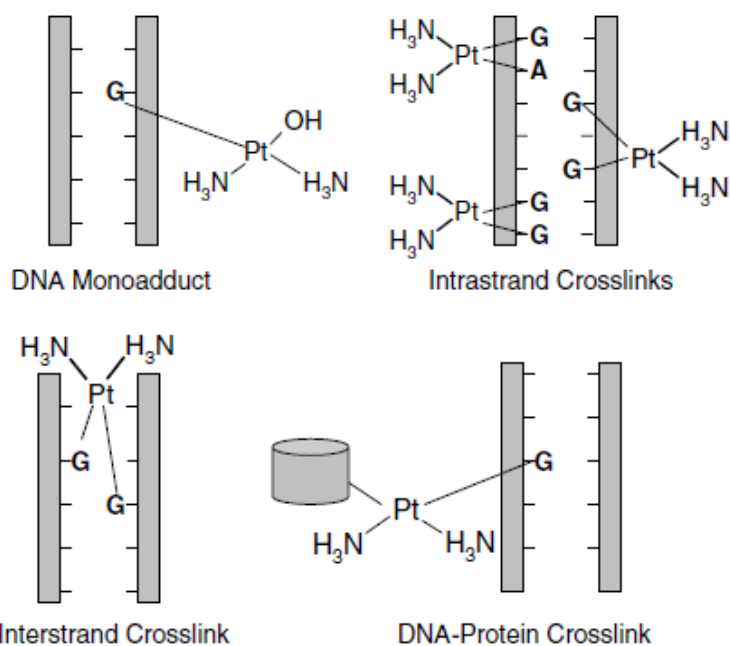


Schéma I: Znázornění aduktů *cisplatin* s molekulou DNA (převzato z [1])

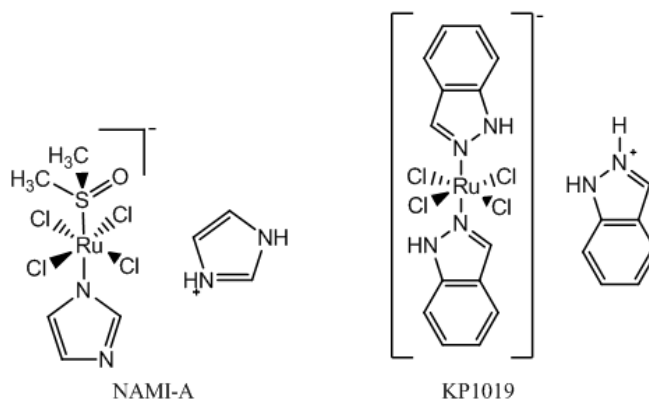
*Cisplatin* je v klinické praxi aplikována intravenózně, jelikož má omezenou rozpustnost ve vodě. V dnešní době se využívá přibližně v 50% léčby rakoviny. I přesto, že *cisplatin* a další klinicky používané komplexy na bázi platiny (viz níže; Obr. 1) vykazují velmi dobrou aktivitu vůči nádorovým buňkám, disponují také značnou toxicitou ke zdravým buňkám. Navíc je její využití limitováno rezistencí (vrozenou i získanou) některých nádorů a v neposlední řadě mnoha vedlejšími účinky [11,12]. K dalším léčivům na bázi platiny patří *karboplatina* a *oxaliplatin* (Obr. 1). *Karboplatina* je méně toxická než *cisplatin*, ale nepůsobí proti rezistentním nádorům vůči *cisplatině* a ničí kostní dřev. Naopak *oxaliplatin* působí proti rezistentním nádorům vůči *cisplatině*, ale je neurotoxická [11].

Uvedená léčiva na bázi platiny jsou známé velkým množstvím vedlejších účinků jako je nefrotoxicita (poškození ledvin), ototoxicita (poruchy sluchu), neurotoxicita (poškození nervové soustavy), trombocytopenie (snížení počtu trombocytů) nebo nevolnost a zvracení [1]. Uvedené vedlejší účinky jsou, společně s výše uvedeným problémem s rezistencí některých typů nádorů, jedním z důvodů, proč jsou v posledních

letech intenzivně zkoumány komplexy jiných přechodných kovů, a to s cílem vyvinout aktivnější a méně toxické látky pro použití v klinické praxi.

Hledání účinnějšího a méně toxického protinádorově aktivního léku vede bioanorganické chemiky k výzkumu sloučenin, které nejsou postaveny na platině, ale obsahují jiné přechodné kovy. Proto se velká pozornost v posledních letech věnuje komplexům např. ruthenia, zlata, mědi, palladia, titanu nebo železa [3].

Sloučeniny založené na rutheniu jsou perspektivní skupinou protinádorově aktivních komplexů. Mezi nejvýznamnější zástupce patří dvě látky, které dosáhly fáze klinických studií (Obr. 2). Jsou to strukturně podobné Ru(III) komplexy NAMI-A (imidazolium *trans*-tetrachloro(1*H*-imidazol)-(*S*-dimethyl sulfoxid)ruthenitý komplex) a KP-1019 (indazolium *trans*-tetrachloro-bis(1*H*-indazol)ruthenitý komplex) resp. jeho sodná sůl známá pod označením NKP-1339 [12, 13].

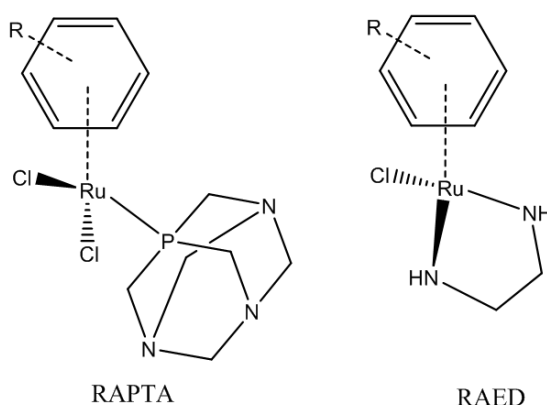


Obrázek 2: Strukturní vzorce NAMI-A a KP1019 (převzato a upraveno z [14]).

NAMI-A je aktivní proti solidním metastatickým nádorům a vykazuje pozoruhodný stupeň selektivity, avšak jeho aktivita je závislá na dávkování. Aktivita tohoto komplexu je vyšší, pokud se dává opakovaně v menších dávkách [8, 9, 15]. Komplex KP-1019 v porovnání s NAMI-A vykazuje dobrou protinádorovou aktivitu v preklinických studiích na kolorektálních karcinomech a dalších lidských nádorech s menšími vedlejšími účinky než tomu je u NAMI-A. Přes rozdíly v aktivitách se předpokládá, že společným znakem těchto ruthenitých komplexů je jejich aktivace redukcí na aktivnější ruthenaté sloučeniny, která probíhá v hypoxickém prostředí v nádorových buňkách. Vzniklé ruthenaté komplexy jsou více kineticky labilní a rychleji se vážou na biomolekuly [4]. Zde je možné zmínit, že z obecného pohledu je ruthenium unikátní, jelikož je ve fyziologických podmínkách

stabilní v oxidačních stavech +II, +III a +IV. Ruthenité sloučeniny jsou více biologicky inertní než ruthenaté a ruheničité sloučeniny a obecně všechny sloučeniny ruthenia jsou méně toxické, než sloučeniny platiny [16].

V současné době jsou hojně studovány další komplexy ruthenia, a to organokovové polosendvičové ruthenaté sloučeniny, které jsou stabilizovány v oxidačním čísle +II  $\eta^6$ -koordinovaným arenovým ligandem. Dvěma základními strukturními typy této skupiny vykazující výraznou protinádorovou aktivitu jsou komplexy typu RAPTA a RAED (Obr. 3) [17].



Obrázek 3: Strukturní vzorce komplexů ruthenia s označením RAPTA a RAED

U komplexů typu RAED, které byly poprvé popsány v roce 2001, byla popsána schopnost koordinovat se na DNA přes N7 atom guaninu. Navíc u těchto komplexů může bifenyl nebo dihydroantracen souběžně interkalovat DNA [18]. RAPTA sloučeniny nesou biologicky aktivní ligand spojený s makromolekulárním nosičem. Nejslibnějšími doposud připravenými látkami jsou RAPTA-C [ $\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cym}(\text{PTA})\text{Cl}_2)]$  (PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfátricyklo[3.3.1.1]dekan) a RM175 [ $\text{Ru}(\eta^6\text{-bifenyl})(\text{en})\text{Cl}]^+$ . Projevují antimetastatický potenciál a mají schopnost inhibovat růst nádoru. Dále mají vysokou selektivitu vůči rakovinným liniím a vykazují odlišné vazby na biomolekulární cíle [15,16]. Komplex RM175 vykazoval *in vitro* cytotoxickou aktivitu podobnou *cisplatině* a byl také aktivní *in vivo*. RAPTA komplexy inhibovaly metastáze na úrovni *in vivo*, avšak *in vitro* byly tyto komplexy ve většině případů neaktivní [20].

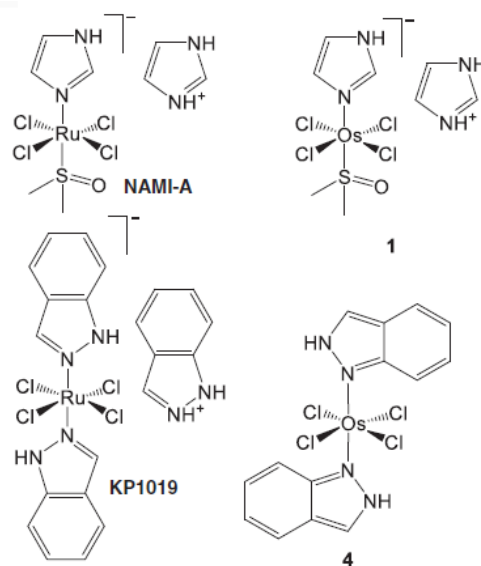
Významné pokroky v oblasti protinádorových látek na bázi ruthenia iniciovaly zájem o analogické komplexy osmia, díky jejich blízkosti v periodické tabulce prvků a chemické podobnosti. Obecně lze říci, že byly připraveny sloučeniny osmia, které jsou

analogy již známých a otestovaných sloučenin ruthenia. Mnoho doposud připravených komplexů osmia je silnými inhibitory lidských nádorových buněk a jejich aktivita *in vitro* i *in vivo* je často srovnatelná nebo větší než aktivita *cisplatin* nebo analogů na bázi ruthenia. Komplexy osmia vykazovaly zajímavé biologické vlastnosti, kdy jejich biologický účinek byl spojen s vazbou na různé cíle, kterými mohou být DNA, proteiny a enzymy. I přes prozatím nízké důkladné studie těchto látek je nutné hlubší pozorování pro zjištění mechanismu účinku takových komplexů osmia [3].

Osmium nabízí několik odlišných vlastností od ruthenia. Ochotněji se vyskytuje ve vyšších oxidačních číslech, má pomalejší výměnnou ligandovou kinetiku a silnější  $\pi$  akceptorové vlastnosti v nižších oxidačních číslech – proto jsou komplexy na bázi osmia dobrou alternativou pro ruthenium díky inertnosti a dostatečné stabilitě těchto látek ve fyziologických podmínkách [3].

Bioaktivní komplexy osmia zahrnují mononukleární koordinační sloučeniny, polynukleární klastry a organokovové sloučeniny s rozsáhlým výběrem chemických a biologických vlastností [21–26]. Jako první sloučeniny osmia s potenciální biologickou aktivitou byly připraveny analogy NAMI-A a KP-1019. Osemnaté a osmité komplexy odvozené od NAMI-A jsou rezistentní vůči hydrolýze a také se vyznačují odlišnou biologickou aktivitou. NAMI-A je na rozdíl od analogu osmia velmi rychle hydrolyzován a následně absorbován buňkami, avšak sloučeniny s osmiem vykazovaly vyšší *in vitro* cytotoxickou aktivitu. Proto lze předpokládat, že pro sloučeniny s osmiem není hydrolýza podmínkou pro biologickou aktivitu [26,27].

Během pokusů o přípravu analogu komplexu KP-1019 s osmiem se prováděla rozsáhlá studia na různých osmitých a osmičitých komplexů s azoly (5-ti čtené kruhy, obsahující dusíkový atom a alespoň jeden atom síry, dusíku či kyslíku jako součást kruhu). Jako první analogy byly připraveny sloučeniny o obecném vzorci  $[\text{OsCl}_4(\text{Hazol})_2]$ , kde Hazol je pyrazol, imidazol nebo benzimidazol. Tyto komplexy byly stabilní ve vodných



Obrázek 4: Strukturální vzorce NAMI-A a KP1019 a jejich osmiťaté analogy (převzato a upraveno z [27]).

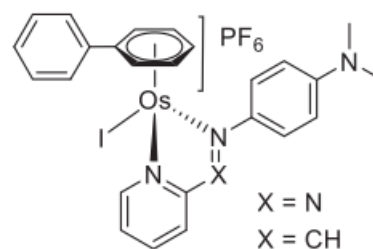
rozpouštědlech a vykazovaly stejnou cytotoxickou aktivitu jako KP-1019 v lidských rakovinových buňkách. Obecně byly tyto analogy lépe snášeny při *in vivo* testech na myších a vykazovaly vyšší selektivitu a cytotoxickou aktivitu [29].

Oxid dusnatý hraje klíčovou roli v mnoha biologických procesech jako mezimolekulový posel a ve vztahu s rakovinou, se oxid dusnatý podílí na zprostředkování nádorů v angiogenních procesech, což je klíčový krok pro tvorbu metastáz. Jeden z mnoha možných vysvětlení protinádorové aktivity komplexu NAMI-A je ten, že narušuje metabolismus oxidu dusnatého *in vivo*. Z tohoto důvodu se připravilo mnoho komplexů ruthenia a osmia obsahujících skupinu NO. Příklad těchto typů sloučenin jsou komplexy o obecném vzorci  $[MCl_4(\text{Hazol})_2]$ , kde Hazol je 1H-pyrazol, 1H-imidazol, 2H-indazol nebo 1H-benzimidazol. V porovnání s komplexy s DMSO, komplexy s rutheniem vykazovaly daleko vyšší cytotoxickou aktivitu oproti komplexům s osmiem, a to z důvodu rozdílné lability vazby M–NO oproti vazbě M–S mezi centrálním atomem a DMSO [30].

Sloučeniny osmia ve vyšších oxidačních číslech nejsou velmi prozkoumané. Byly popsány komplexy v oxidačním čísle +VI s nitridy vykazující aktivitu *in vitro* i *in vivo*, vysokou selektivitu vůči DNA, avšak jejich aktivita byla nižší než u *cisplatin*y [31–33].

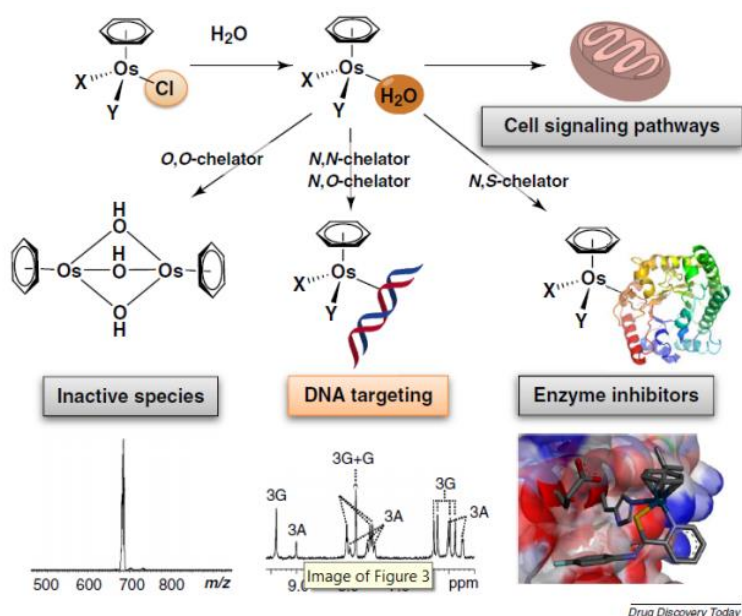
Další skupinou látek s osmiem s protirakovinovou aktivitou jsou organokovové klastry. Série komplexů o obecném vzorci  $[\text{Os}_3(\text{CO})_{12-n}(\text{L})_n]$  (L = nitril, acetonitril, maltol a trifenylofosfin) a jejich protonované analogy byly studovány pro svou účinnost v rakovinových buňkách [21,22,33]. Při studiích se ukázalo, že cytotoxicita u těchto sloučenin závisí na jejich rozpustnosti a typu ligandu. Sloučeniny s labilním ligandem acetonitrilem či maltolem byly aktivnější než sloučeniny s fosfonivým ligandem. Obecně lze konstatovat, že sloučeniny s osmiem, které postrádají snadno se odštěpující skupiny, jsou méně cytotoxické díky jejich inertnosti a nedostatku vazebné schopnosti na molekulární cíle. Zajímavý fakt je ten, že u těchto sloučenin byly ty kineticky nejlabilnější těmi nejméně cytotoxickými [35].

Série komplexů s arenovými ligandy obecného vzorce  $[\text{Os}(\eta^6\text{-ar})(\text{XY})\text{Z}]^+$  (Obr 5); XY = azopyridinové deriváty, Z = Cl nebo I, ar = *p*-cymen nebo bifenylo). Bidentátní azopyridinový ligand je s-



Obrázek 5: Strukturální vzorec  $[\text{Os}(\eta^6\text{-arene})(\text{XY})\text{Z}]^+$  (převzato a upraveno z [3])

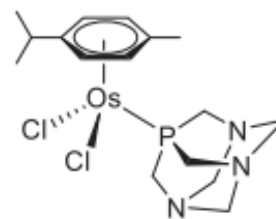
donor a  $\pi$ -akceptor, tudíž je zde silná zpětná donace elektronů z centrálního kovu na azopyridin. Tato zpětná donace má výrazný efekt na celkovou reaktivitu komplexu. Tyto Os(II) komplexy vykazují protirakovinovou aktivitu na lidských rakovinových buňkách vaječníku, prsou, prostaty, plic, tlustého střeva a měchýře [36]. Zejména  $[\text{Os}(\eta^6\text{-}p\text{-cym})(\text{Azpy-NMe}_2)\text{I}]\text{PF}_6$  (FY026) vykazoval vyšší protirakovinovou aktivitu ve srovnání s *cisplatinou* při testech na myších s lidskými rakovinovými buňkami tlustého střeva, vaječníků a plic [37, 38]. Další analýza těchto sloučenin vedla k tomu, že změna ligandu z *p-cymenu* na bifenyl a změna monodentátního chloro ligandu na jodo vedla ke zvýšení cytotoxické aktivity [36]. Tyto komplexy byly velice stabilní a zdály se hydrolyticky inertní, protože nepodléhaly substituci halogenu s molekulami vody ve vodných rozpouštědlech. V porovnání s existujícími léčivy na bázi platiny, aktivace hydrolyzou a následné navázání na DNA se nezdá být hlavním způsobem aktivace resp. mechanismu účinku těchto sloučenin [39]. Dále lze pro tyto jodo komplexy uvést, že vykazují vyšší aktivitu *in vitro* a žádnou křížovou rezistenci s *cisplatinou* nebo *oxaliplatinou*. Jsou selektivní na rakovinové buňky a vykazují vyšší akumulaci v buňkách [40]. Mechanismus účinku polosendvičových komplexů osmia není zcela objasněn, nicméně bylo prokázáno, že zahrnuje procesy zobrazené níže ve schématu II [3].



*Schéma II:* Mechanismus účinku komplexu osmia, nesoucí různé bidentátní chelátové kruhy a monodentátní ligandy (převzato z [3])



V neposlední řadě je nutné uvést komplexy osmia inspirované rodinou komplexů RAPTA. Analog rutenatého komplexu RAPTA-C, tedy  $[\text{Os}(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Cl}_2(\text{PTA})]$  (Obr. 6), je selektivní vůči nádorovým buňkám. Zvýšení selektivity bylo navíc dosaženo záměnou PTA ligandu za ligand fosforitanový. I přesto, že tyto sloučeniny vykazovaly vysokou biologickou aktivitu, jejich ruthenaté analogy byly aktivnější [41].



Obrázek 6: Strukturální vzorec ruthenatého analogu RAPTA s osmiem (Převzato z [41])

### 2.3. Srovnání cytotoxicity komplexů s různými deriváty benzenu

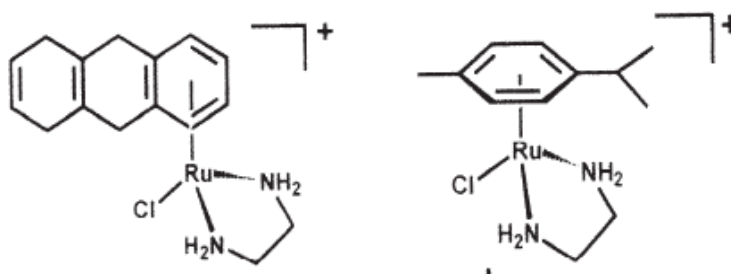
Různě substituované deriváty benzenu stabilizují v polosendvičových komplexech typu  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{L})\text{X}]^+$  ( $\text{X}$  = halogeno ligand,  $\text{L}$  = bidentátní ligand a  $\text{ar}$  = derivát benzenu) ruthenium a osmium v oxidačním čísle +II a zabraňují mu v jeho oxidaci, což je pro biologický účinek zásadní, jelikož M(II) komplexy jsou, obecně řečeno, kineticky reaktivnější a hydrofobnější než M(III), což může zvyšovat procesy rozpoznávání biomolekul a transport ruthenia přes buněčné membrány [42]. V některých pracích byl pozorován vliv substituce hapto-koordinovaného benzenu na biologickou aktivitu studovaných komplexů, což bylo i jedním z cílů této bakalářské práce. Proto bude v této kapitole detailněji popsáno, jakým způsobem se liší cytotoxicita polosendvičových Ru(II) a Os(II) komplexů v závislosti na použitém derivátu benzenu.

#### 2.3.1. Komplexy ruthenia

Jako první porovnáme polosendvičové komplexní sloučeniny ruthenia o obecném vzorci  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{en})\text{X}]^+$  ( $\text{ar}$  = *p*-cymen, benzen, methylbenzoát nebo bifenyl). Komplexní sloučeniny tohoto typu jsou efektivní inhibitory růstu rakovinových buněk a tvoří silné monofunkční adukty s DNA. Tyto sloučeniny byly aplikovány na A2780 lidské nádorové buňky karcinomu vaječníku (24 h expozice). V sérii analogických  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{en})\text{Cl}]^+$  komplexů byl nejaktivnějším komplex obsahující bifenyl ( $\text{IC}_{50}$  = 6  $\mu\text{M}$ ), následován komplexem s *p*-cymenem ( $\text{IC}_{50}$  = 9  $\mu\text{M}$ ) a benzenem ( $\text{IC}_{50}$  = 17  $\mu\text{M}$ ). Podobně bylo ve stejné práci také u jodo komplexů obecného vzorce  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{en})\text{I}]^+$  pozorováno, že komplex s *p*-cymenem je více *in vitro* cytotoxický ( $\text{IC}_{50}$  = 8  $\mu\text{M}$ ) než jeho analog s

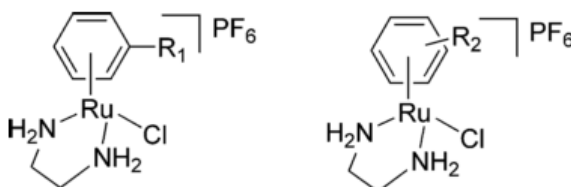
nesubstituovaným benzenem ( $IC_{50} = 20 \mu M$ ); jodo komplex s biphenylem nebyl v práci popsán [42].

V další práci byly popsány podobné polosedvičové komplexní sloučeniny o obecném vzorci  $[Ru(\eta^6\text{-ar})(en)(Cl)]^+$  (Obr. 7), kde byl tentokrát za ar zvolen tetrahydroanthracen (v komplexu Ru-THA) a *p*-cymen (komplex Ru-CYM). Tyto dva arenové ligandy byly vybrány z důvodu odlišné DNA interakce, kde Ru-THA se interkalárně vázal s DNA a Ru-CYM nemohl tvořit interakci s dvoušroubovicí DNA. Tyto sloučeniny byly testovány na lidské rakovinné buněčné linii HT29 a A2780, kde byly jejich hodnoty  $IC_{50}$  rovny pro A2780 = 3 a pro HT29 >100  $\mu M$  (pro Ru-CYM) resp. pro A2780 = 0,4 a pro HT29 = 10  $\mu M$  (pro Ru-THA). Tricyklický komplex Ru-THA má tedy značně vyšší aktivitu než komplex Ru-CYM a jeho adukt je z DNA hůře odstraňován [43].



Obrázek 7: Strukturální vzorce komplexních kationtů komplexů Ru-THA a Ru-CYM ze skupiny komplexů obecného vzorce  $[Ru(\eta^6\text{-ar})(en)(Cl)]^+$  (převzato z [43]).

U dalších Ru(II) komplexů obecného vzorce  $[Ru(\eta^6\text{-ar})(en)Cl]PF_6$  (Obr. 8) bylo zjištěno, že zavedení polárního substituentu na benzenový kruh snižuje hodnoty  $IC_{50}$  v pořadí OPh < H (benzen) < CONH<sub>2</sub>, COOEt, CPh, COOMe, Br a CH<sub>2</sub>OH, a to od  $IC_{50} = 18 \mu M$  po  $IC_{50} > 100 \mu M$  [18].

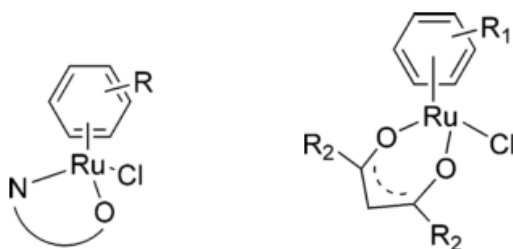


Obrázek 8: Obecné strukturální vzorce komplexů  $[Ru(\eta^6\text{-ar})(en)Cl]PF_6$  (převzato z [18]).

Zavedením relativně nepolární alkylové, fenylové (Ph) nebo benzylové skupiny se hodnoty  $IC_{50}$  mění. Pro 1,3,5-Ph a Ph<sub>6</sub> byly hodnoty  $IC_{50}$  3  $\mu M$ , pro Ph  $IC_{50}$  5  $\mu M$ , pro Me<sub>6</sub>

IC<sub>50</sub> 9 μM, pro 1-Me a 3-p-cym IC<sub>50</sub> 10 μM, pro CMe<sub>2</sub>Ph byly hodnoty IC<sub>50</sub> 11 μM a pro 1,2-Ph IC<sub>50</sub> > 100 μM. Tyto komplexní sloučeniny nevykazují křížovou rezistenci s *cisplatinou* vůči A2780 buňkám. Dále lze říct, že sloučeniny s benzenem sloučeným s pěti-, šesti – nebo sedmičtým kruhem vykazují velmi dobrou aktivitu vůči A2780 linii. Nejlepší aktivitu vykazoval komplex s tetrahydroanthracenem (IC<sub>50</sub> = 0,4 μM) a s 5,6-dihydrofenantrenem (IC<sub>50</sub> = 1 μM). Kromě vlivu typu arenového ligandu na výslednou cytotoxicitu byl v práci také prokázán výrazný vliv *N,N*-donorového chelatujícího ligandu na cytotoxicitu vůči použité A2780 linii, protože záměna en za 1,2-diaminobenzen (dab), bipyridin (bpy) nebo fenantolin (phen) u komplexů obsahujících mono, di nebo tri-cyklický arenový ligand vedla ke zvýšení hodnot IC<sub>50</sub> [18].

Při studiu komplexů obsahující *p*-cymen a *N,O*-donorový chelatující ligand glycin, alanin, fenylalanin a prolin (Obr. 9) byly tyto komplexní sloučeniny vůči A2780 linii také neaktivní (IC<sub>50</sub> > 100 μM) [18].

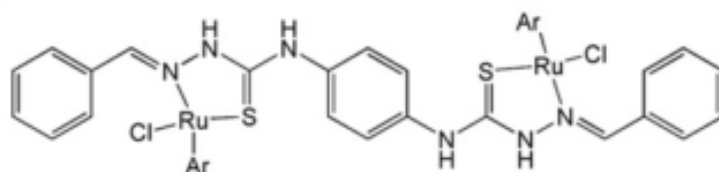


Obrázek 9: Obecné strukturální vzorce komplexů [Ru(η<sup>6</sup>-ar)(X)Cl]PF<sub>6</sub> (X = *N,O*- nebo *O,O*-donorový ligand (převzato z [18]).

Na druhou stranu komplexy obsahující *O,O*-donorový ligand acetylacetonát (Obr. 9) vykazovaly průměrné hodnoty IC<sub>50</sub> vůči A2780 linii. U těchto sloučenin je aktivita závislá na volbě arenového derivátu, kterým byl *p*-cymen nebo bipyridin. Nejvyšší aktivitu vykazuje komplex s *p*-cym a s fenylem v poloze R<sub>2</sub> (IC<sub>50</sub> = 11 μM), následoval komplex s C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (IC<sub>50</sub> = 14 μM) a s CH<sub>3</sub> (IC<sub>50</sub> = 19 μM) v poloze R<sub>2</sub> [18]. Obecným závěrem této rozsáhlé studie může být to, že mezi neaktivnější sloučeniny patří jednoduše připravitelné sloučeniny s *p*-cymenem a komplexy obsahující polycyklický arenový ligand. Polární substituenty arenového ligandu pak mnohonásobně snižují aktivitu [18].

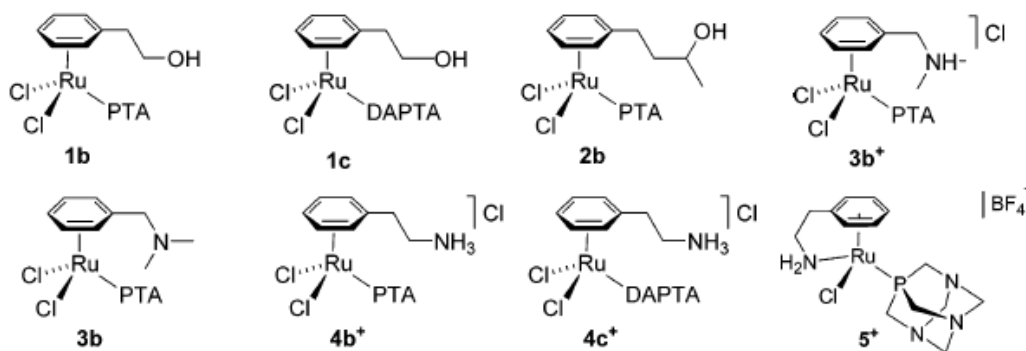
Další série mono a dinukleárních ruthenatých koordinačních sloučenin obsahuje benzaldehyd monothiosemikarbazon (L<sup>1</sup>) nebo benzaldehyd dithiosemikarbazon (L<sup>2</sup>) a arenový ligand *p*-cym nebo C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>COOH (Obr. 10). Tyto mono a polynukleární

arenové komplexní sloučeniny vykazují *in vitro* a *in vivo* protinádorovou aktivitu zahrnující aktivitu proti nádorovým buňkám rezistentním vůči *cisplatině*. Byly syntetizovány čtyři komplexy a byly vyhodnoceny pro jejich cytotoxickou účinnost proti lidským rakovinovým buňkám jícnu WHCO1 (24 h expozice). Nejlepších hodnot  $IC_{50}$  dosahoval komplex  $[Ru_2(\eta^6-C_6H_5C_3H_6COOH)_2(\mu-L^2)Cl_2]$  ( $IC_{50} = 8,96 \mu M$ ), ale v porovnání jeho volným ligandem  $L^2$  ( $IC_{50} = 0,21 \mu M$ ) pozorujeme pokles aktivity v důsledku vzniku zmíněného komplexu. Nízká aktivita může být důsledkem nedostačené akumulace těchto sloučenin uvnitř buněk [44].



Obrázek 10: Obecné strukturní vzorec  $[Ru_2(\eta^6-ar)(\mu-L^n)Cl_2]$  komplexů (převzato a upraveno z [44]).

Třetí skupinou jsou ruthenaté arenové sloučeniny o obecném vzorci  $[RuCl_2(\eta^6-ar)(fosf)]$  (fosf = 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan, PTA, nebo 3,7-diacetyl-1,3,7-triaza-5-fosfabicyclo-[3.3.1] nonan, DAPTA) (Obr. 11) [16].



Obrázek 11: Obecné strukturní vzorec komplexních sloučenin o obecném vzorci  $[RuCl_2(\eta^6-ar)(fosf)]$  (převzato a upraveno z [16]).

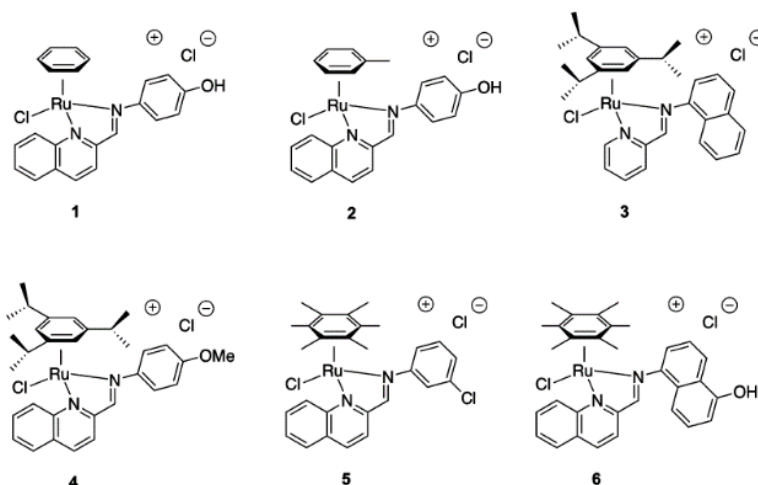
Tato série organokovových sloučenin s různě substituovaným derivátem benzenu byla studována na lidských buňkách karcinomu prsou HBL-100 a na TS/A myší buněčné linie rakoviny adenokarcinomu *in vivo* a *in vitro* [16]. Série sloučenin s PTA vykazují aktivitu proti TS/A, ale žádná cytotoxicita nebyla pozorována vůči HBL-100, což indikuje selektivitu těchto sloučenin. *In vivo* studium komplexů  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cym})(\text{PTA})]$  (RAPTA-C) a  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-bz})(\text{PTA})]$  (RAPTA-B) ukázalo, že jsou neaktivní proti primárním nádorům, ale jsou efektivní v redukci růstu metastázi plic a karcinomu prsu a vykazují relativně malou toxicitu [16]. Mechanismus RAPTA sloučenin je prozatím neznámý, ale cílem těchto sloučenin je pravděpodobně DNA. Jedna z potencionálních cest jak zvýšit aktivitu těchto sloučenin tedy je derivatizace arenového ligandu funkční skupinou schopnou tvořit vodíkové můstky s DNA. Komplexní sloučeniny  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_5(\text{CH}_2)_2\text{NH}_3)(\text{DAPTA})]\text{Cl}$  a  $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_5(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2)(\text{PTA})][\text{BF}_4]$  jsou netoxické vůči TS/A a nejvyšší cytotoxická aktivita je zaznamenána u komplexu  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{H})(\text{PTA})]\text{Cl}$  ( $\text{IC}_{50} = 1,34 \mu\text{M}$ ) a  $\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2)(\text{PTA})$  ( $\text{IC}_{50} = 1,78 \mu\text{M}$ ) (24–72 h expozice). Lze říct, že toxicita vůči nádorovým buňkám RAPTA sloučenin se zmíněnými funkčními skupinami na benzenovém ligandu je vyšší v porovnání s výchozími komplexy RAPTA-C ( $\text{IC}_{50} = 1,97 \mu\text{M}$ ) a RAPTA-B ( $\text{IC}_{50} = 4,33 \mu\text{M}$ ) [16].

Mezi dalšími koordinačními sloučeninami s měnícím se koordinovaným derivátem benzenu, u kterých bylo provedeno studium cytotoxicity vůči lidským nádorovým buňkám karcinomu vaječníku A2780 a lidským nádorovým buňkám karcinomu plic A549, byl neaktivnějším komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-thn})(\text{bpy}(\text{OH})\text{O})\text{Cl}]$ , který měl vůči A2780 linii hodnotu  $\text{IC}_{50} = 7 \mu\text{M}$  a  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-tha})(\text{bpy}(\text{OH})\text{O})\text{Cl}]$  s  $\text{IC}_{50} = 8 \mu\text{M}$  (podobné *cisplatině* s  $\text{IC}_{50} = 5 \mu\text{M}$ ; 24 h expozice); thn = tetrahydronaftalen a tha = tetrahydroantracen [45]. Tyto koordinační sloučeniny byly obecně aktivnější proti A2780 buňkám. U těchto komplexů aktivita rostla se změnou benzenového derivátu v pořadí: thn, tha > dha (dihydroantracen), ind (indan) > *p*-terp (*p*-terfenyl) > bip (bifenyl) > bz (benzen) [45].

Polosedvičové ruthenaté komplexy s různě substituovaným arenem o obecném vzorci  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{X})(\text{Y})(\text{Z})]^{n+}$  (X a Y jsou dva monodentátní ligandy nebo jeden bidentátní ligand, Z je ligand monodentátní) byly studovány *in vivo* vůči karcinomu vaječníku A2780 a zdravým lidským buňkám HEK293 a byl pozorován 90% úbytek růstu nádoru. Byly studovány dvě skupiny látek, a to chloro komplexy s bidentátním ethylendiaminem (en), které jsou vysoce cytotoxické *in vitro* (viz výše). Naopak komplexy s třemi monodentátními ligandy zahrnujícími hydrofilický ligand 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan

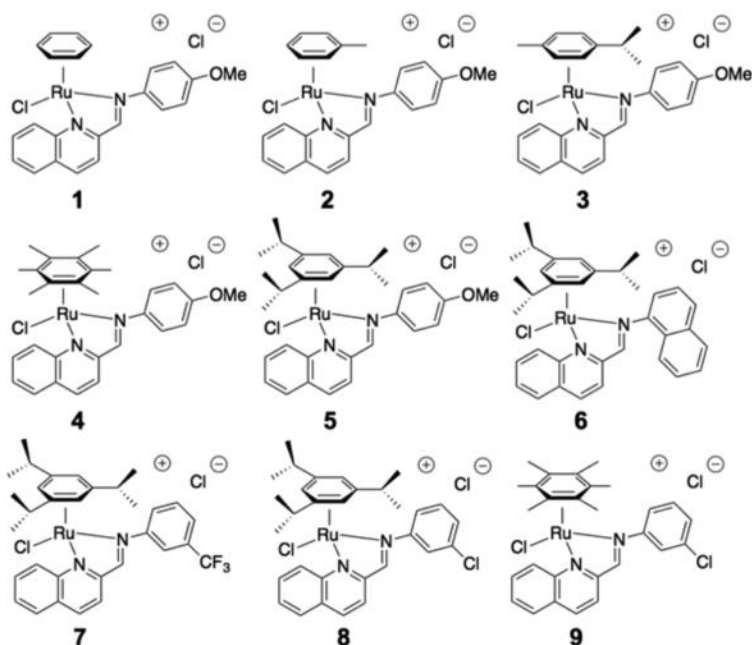
(PTA),  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{PTA})\text{Cl}_2]$  (RAPTA), nejsou cytotoxické, ale vykazují antimetastatickou a antiangiogenní vlastnosti *in vivo*. Byly také studovány bifunkční sloučeniny s hydrofilickými ligandy nesoucími dlouhý fluorovaný řetězec (např. 2-((1H,1H,2H,2H-perfluorodecyl)oxy)-2-oxoethyl-3-(pyridin-3-yl) propanoát,  $\text{L}^3$ ), což vedlo ke zvýšení cytotoxicity vůči rezistentním a citlivým buňkám na *cisplatinu*. Záměnou benzenových derivátů se také měnily hodnoty  $\text{IC}_{50}$  na A2780 linii. Komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})\text{Cl}_2(\text{L}^3)]$  měl  $\text{IC}_{50} = 40 \mu\text{M}$  a komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-1,3,5-tri-iso-propylbenzen})\text{Cl}_2(\text{L}^3)]$  byl aktivnější s hodnotou  $\text{IC}_{50} = 31 \mu\text{M}$  (72 h expozice). Obě uvedené komplexní sloučeniny vykazovaly vyšší aktivitu než RAPTA-C ( $\text{IC}_{50} = 251 \mu\text{M}$ ), ale v porovnání s *cisplatinou* ( $\text{IC}_{50} = 4,3 \mu\text{M}$ ) byla aktivita připravených komplexů nižší [46].

Koordinační sloučeniny ruthenia s Schiffovými bázemi (označovány v literatuře jako tzv. RAS komplexy) jsou další skupinou sloučenin (Obr. 12), u kterých byla studována cytotoxicita vůči linii karcinomu vaječníku A2780, linii karcinomu prsu MCF7, vůči linii karcinomu vaječníku rezistentnímu vůči *cisplatině* A2780R a linii kolorektálního karcinomu HCT116 a SW480 [47]. Neaktivnější sloučeninou byl chloro komplex obsahující hapto-koordinovaný 1,3,5-triisopropylbenzen a bidentátní *N,N*-donorový ligand 4-methoxy-*N*-(2-quinolinylmethylen)anilin, který dosahoval hodnot  $\text{IC}_{50} = 2,76 \mu\text{M}$  (24 h expozice) pro A2780 buňky, což je přibližně čtyřikrát nižší hodnota než u *cisplatinu* s  $\text{IC}_{50} = 9,54 \mu\text{M}$ . Komplex navíc nevykazoval žádnou křížovou rezistenci vůči A2780R buňkám. Z dalších látek této série stojí za zmínku komplex s hexamethylbenzenem a 3-chloro-*N*-(2-quinolinylmethylen)anilinem, který vykazoval aktivitu rovnou hodnotě  $\text{IC}_{50} = 7,58 \mu\text{M}$  [47].



Obrázek 12: Strukturální vzorce komplexů ruthenia s vybranými Schiffovými bázemi (převzato z [47]).

Další skupinou RAS koordinačních sloučenin jsou látky, kde ar = p-cymen, toluen nebo 1,3,5-triisopropylbenzen (TPB), a u které byla pozorována aktivita vůči linii kolorektálního HCT116 a SW480, žaludečního karcinomu AGS a KATOIII (24 h expozice) [48]. Neaktivnějšími byly komplexy obsahující TPB jako aromatický ligand, např. komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-TPB})(4\text{-metoxy-N-(2-quinolinylmethylen)anilin})(\text{Cl})]\text{Cl}$  vykazoval aktivitu s  $\text{IC}_{50}$  o hodnotě 1,19  $\mu\text{M}$  v HCT116 buňkách, 1,01  $\mu\text{M}$  v AGC, 1,22  $\mu\text{M}$  v KATOIII a 4,07  $\mu\text{M}$  v SW480, nebo komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-TPB})(4\text{-metoxy-N-(2-quinolinylmethylen)anilin})(\text{Cl})]\text{Cl}$  aktivitu s  $\text{IC}_{50}$  o hodnotě 3,48  $\mu\text{M}$  v HCT116, 1,16  $\mu\text{M}$  v AGC, 1,86  $\mu\text{M}$  v KATOIII a 5,32  $\mu\text{M}$  v SW480 [48].



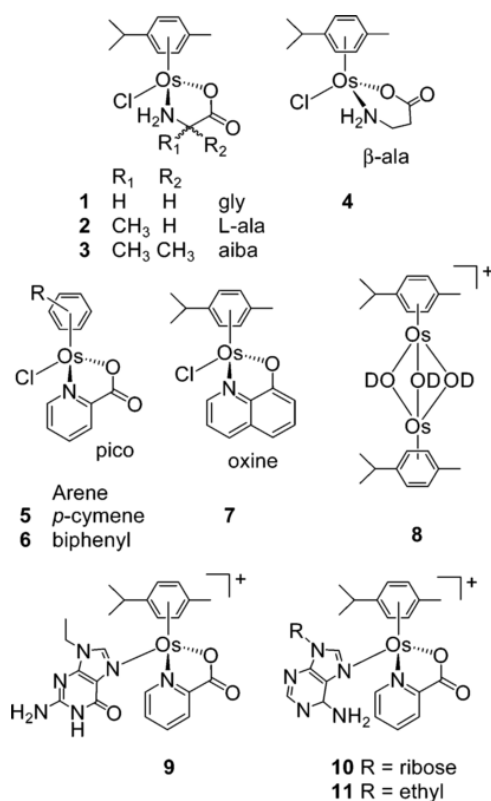
Obrázek 13: Strukturální vzorce komplexních sloučenin RAS (převzato z [48]).

### 2.3.2. Komplexy osmia

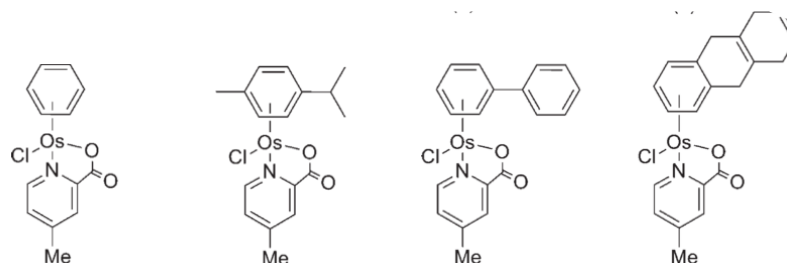
V případě podobných osemnatých polosedvičových koordinačních sloučenin o obecném vzorci  $[\text{Os}(\eta^6\text{-ar})(\text{XY})\text{Cl}]$  bylo zjištěno, že na biologickou aktivitu má vliv jak XY chelatující ligand, tak také arenový ligand; XY = např. picolinát (pico) nebo 8-hydroxychinolinát (Obr. 14) [49]. Cytotoxicita byla studována na liniích karcinomu plic A549 a karcinomu vaječníků A2780. Nejlepší hodnoty dosahoval komplex  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-$

cym)(pico)Cl] o hodnotách  $IC_{50}$  (72 h expozice) pro A549 = 17  $\mu\text{M}$  a pro A2780 = 4,5  $\mu\text{M}$  a komplex [Os( $\eta^6$ -bip)(pico)Cl] o hodnotách  $IC_{50}$  pro A549 = 8  $\mu\text{M}$  a pro A2780 = 4,2  $\mu\text{M}$  (kde p-cym = p-cymen a bip = bifenyl). Uvedené hodnoty jsou srovnatelné s hodnotami  $IC_{50}$  = 10 resp. 6  $\mu\text{M}$  pro A549 a A2780 buňky pro použitý standard, kterým v této studii byla *karboplatina* [49].

Další čtyři osemnácté koordinační sloučeniny o obecném vzorci [Os( $\eta^6$ -ar)(4-methyl-picolinát)Cl] se liší pouze deriváty benzenu, kterými jsou benzen, p-cymen, bifenyl a tetrahydroanthracen (Obr. 15) [50]. Všechny komplexy vykazovaly aktivitu vůči linii A2780, přičemž aktivita klesá se záměnou arenu v pořadí bifenyl ( $IC_{50}$  = 3,2  $\mu\text{M}$ ) > tetrahydroantracen ( $IC_{50}$  = 4,5  $\mu\text{M}$ ) > p-cymen ( $IC_{50}$  = 7,6  $\mu\text{M}$ ) > benzen ( $IC_{50}$  = 32,7  $\mu\text{M}$ ) a tyto hodnoty jsou ve srovnání s hodnotami, které má *cisplatin* ( $IC_{50}$  = 2,2  $\mu\text{M}$ ), za stejných podmínek (24 h expozice) vyšší. Publikované výsledky nicméně i tak prokazují, že arenový ligand hraje roli v biologické aktivitě sloučenin osmia tohoto typu [50].



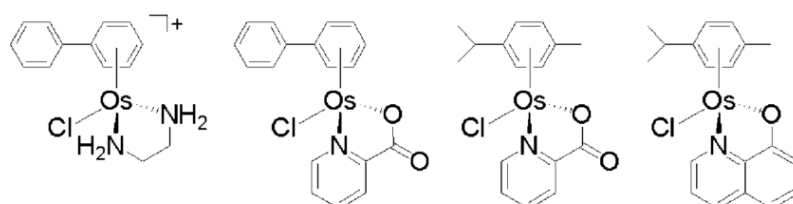
Obrázek 14: Strukturální vzorce komplexů o obecném vzorci [Os( $\eta^6$ -ar)(XY)Cl] (převzato z [49]).



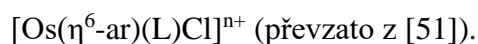
Obrázek 15: Strukturální vzorce komplexních sloučenin o obecném vzorci [Os( $\eta^6$ -ar)(4-methyl-picolinát)Cl] (převzato z [50]).



Další skupinou látek, u kterých se studoval vliv arenového ligandu na cytotoxickou aktivitu, jsou osemnaté polosendvičové komplexy typu  $[\text{Os}(\eta^6\text{-ar})(\text{L})\text{Cl}]^{n+}$  ( $n = 0$  nebo  $1$ ; ar = bifenyl nebo *p*-cymen, L = *N,N*-donorový chelátový ligand ethylendiamin a *N,O*-donorový chelátový ligand picolinát (pico) nebo oxinát (oxi)) (Obr. 16) [51]. Tyto koordinační sloučeniny se vážou na DNA a vykazují dobrou cytotoxicitu vůči A2780 a A2780R liniím. Nejvyšší aktivitu v obou liniích má komplex  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pico})\text{Cl}]$  o hodnotách  $\text{IC}_{50}$  pro A2780  $5,9 \mu\text{M}$  a  $\text{IC}_{50}$  pro A2780R  $5,6 \mu\text{M}$  a komplex  $[\text{Os}(\eta^6\text{-bip})(\text{en})\text{Cl}]^+$  o hodnotách  $\text{IC}_{50}$  pro A2780  $9,0 \mu\text{M}$  a  $\text{IC}_{50}$  pro A2780R  $5,0 \mu\text{M}$ , komplex  $[\text{Os}(\eta^6\text{-bip})(\text{pico})\text{Cl}]$  měl hodnoty  $\text{IC}_{50}$  pro A2780  $6,8 \mu\text{M}$  a  $\text{IC}_{50}$  pro A2780R  $7,7 \mu\text{M}$  a komplex  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{oxi})\text{Cl}]$  byl nejméně aktivní s hodnotami  $\text{IC}_{50}$  pro A2780  $30,3 \mu\text{M}$  a  $\text{IC}_{50}$  pro A2780R  $36,3 \mu\text{M}$ . *Cisplatin*a za stejných podmínek měla hodnoty  $\text{IC}_{50}$  pro A2780  $3,6 \mu\text{M}$  a  $\text{IC}_{50}$  pro A2780R  $21,4 \mu\text{M}$  [51].



Obrázek 16: Strukturální vzorce komplexních sloučenin o obecném vzorci



### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1. Použité chemikálie a přístroje

Použité chemikálie hydratovaný chlorid ruthenitý ( $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) (99%), hydratovaný chlorid osmitý ( $\text{OsCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) (99%), 4-methyl-1-(1-methylethyl)-1,3-cyklohexadien ( $\alpha$ -terpinen; <95%), 1-methyl-1,4-cyklohexadien (99%), 7-azaindol (98%), 2-brompyridin (99%), jodid měďný ( $\geq 95\%$ ), uhličitan draselný ( $\geq 99\%$ ), síran hořečnatý (99%), chlorid lithný (99%), chlorid amonný ( $\geq 99,5\%$ ), hexafluorofosforečnan amonný ( $\geq 98\%$ ), trifenylfosfin (99%), tri(1-pyrazolyl)borohydrid draselný ( $\text{K}(\text{tpb})$ ), tri(3,5-dimethyl-1-pyrazolyl)borohydrid draselný ( $\text{K}(\text{dmtpb})$ ), 1,10-fenanthrolin (99%), chlorambucil, trifluormethansulfonát stříbrný a rozpouštědla *N,N*-dimethylformamid (DMF), dichlormethan (DCM), methanol, ethanol, ethylester kyseliny octové, cyklohexan, *n*-hexan, diethylether a tetrahydrofuran (THF) byly zakoupeny z komerčních zdrojů (Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fischer Scientific) a byly použity bez dalších úprav.

Elementární analýza (C, H, N) byla provedena na přístroji Flash 2000 (Thermo Finnigan).

Hmotnostní spektrometrie roztoků studovaných látek byla provedena přístrojem LCQ Fleet (Thermo Scientific) technikou ionizace elektrosprejem v pozitivním (ESI+) módu. Všechna hmotnostní spektra byla interpretována pomocí programu QualBrowser (verze 2.0.7, Thermo Fischer Scientific).

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopie a  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  gs-COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gs-HMQC a  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  gs-HMBC 2D NMR experimenty byly provedeny na přístroji JOEL JNM-ECA 600II při 600,00 MHz ( $^1\text{H}$ ) a 150,86 MHz ( $^{13}\text{C}$ ); gs = gradient selected, COSY = correlation spectroscopy, HMQC = heteronuclear multiple quantum coherence, HMBC = heteronuclear multiple bond coherence. Vzorky pro NMR experimenty byly rozpuštěny v  $\text{DMSO-}d_6$  a analyzovány při teplotě 300 K. Štěpení signálu v  $^1\text{H}$  NMR spektrech je definované jako s = singlet, d = dublet, t = triplet, br = široký signál, m = multiplet. Koordinační posuny byly spočítány jako  $\Delta\delta = \delta_{\text{komplex}} - \delta_{\text{ligand}}$ .

Infračervená spektra byla změřena na přístroji Nexus 670 FT-IR (Thermo Nicolet) rozsahu vlnočtů 400–4000  $\text{cm}^{-1}$  za použití techniky ART.

Monokrystalová rentgenová strukturní analýza byla provedena na přístroji D8 QUEST (Bruker) s detektorem PHOTON 100 CMOS a Mo–K $\alpha$  zdrojem ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ).

## 3.2. Příprava sloučenin

### 3.2.1. Příprava výchozích sloučenin

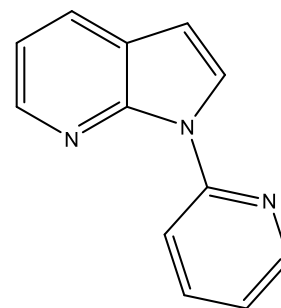
#### 3.2.1.1. Příprava 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindolu

Byla připravena směs 212 mg (5 mmol) chloridu lithného, 591 mg (5 mmol) 7-azaindolu, 2,07 g (15 mmol) uhličitanu draselného, 95 mg (0,5 mmol) jodidu měďného s 524  $\mu\text{l}$  (5,5 mmol) 2-brompyridinu ve 4 ml DMF. Tato směs reagovala pod zpětným chladičem za stálého míchání po dobu 18 hod při teplotě 148 °C. Po vychladnutí na laboratorní teplotu byl do reakční směsi přidán nasycený vodný roztok NH<sub>4</sub>Cl (15 ml) a po filtraci byl filtrát 3× extrahován do 20 ml ethylacetátu. Ethylacetátový roztok byl vysušen MgSO<sub>4</sub>, přefiltrován a odpařen na vakuové odparce. Olejovitá kapalina byla přečištěna sloupcovou chromatografií s mobilní fází *n*-hexan : ethylacetát (6 : 1, *v/v*). Kontrola se dělala pomocí TLC chromatografie a příslušná frakce se odpařila na vakuové odparce. Finálním produktem byla žlutohnědá olejovitá kapalina (Obr. 17).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  8,28 (d,  $J = 4,1 \text{ Hz}$ , C6H), 8,05 (d,  $J = 7,6 \text{ Hz}$ , C4H), 7,91 (d,  $J = 3,4 \text{ Hz}$ , C2H), 7,87 (d,  $J = 8,2 \text{ Hz}$ , C9H, C13H), 7,51 (m, C10H, C12H), 7,32 (m, C11H), 7,18 (dd,  $J = 7,6, 4,8 \text{ Hz}$ , C5H), 6,69 (d,  $J = 3,4 \text{ Hz}$ , C3H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  146,9, 143,2, 138,1, 129,2, 129,1, 128,4, 125,9, 123,2, 121,3, 116,8, 101,8 ppm.

#### 3.2.1.2. Příprava výchozích Ru<sup>II</sup> a Os<sup>II</sup> dimerů

[Ru( $\eta^6$ -*p*-cym)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> byl připraven rozpuštěním 0,5 g RuCl<sub>3</sub>·*n*H<sub>2</sub>O (2 mmol) v 5 ml methanolu. Následně byl přidán 0,97 ml  $\alpha$ -terpinenu (6 mmol). Tato směs reagovala v mikrovlnném syntetizátoru při 140 °C po dobu 1 minuty. Vzniklá červená krystalická látka (Obr. 18) byla odsána na fritě a promyta diethyletherem. Výtěžnost byla 64 %.

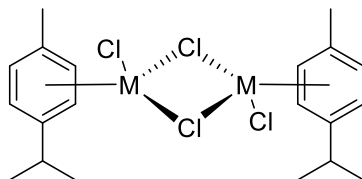


Obrázek 17: Strukturní vzorec 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindolu.

*Anal.* vypočteno pro  $\text{Ru}_2\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{Cl}_4$  (612,39): C, 39,2; H, 4,6. Nalezeno: C, 39,1; H, 4,3%.

$[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})\text{Cl}_2]_2$  byl připraven analogickým postupem reakcí 0,5 g  $\text{OsCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  v 5 ml methanolu a 0,97 ml  $\alpha$ -terpinenu (6 mmol). Produktem (Obr. 18) je hnědozelená krystalická látka. Výtěžnost reakce byla 71 %.

*Anal.* vypočteno pro  $\text{Os}_2\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{Cl}_4$  (790,71): C, 30,4; H, 3,6. Nalezeno: C, 30,0; H, 3,9%.



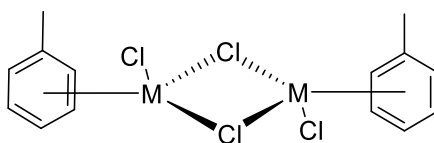
Obrázek 18: Obecný strukturální vzorec dimerů  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})\text{Cl}_2]_2$  a  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})\text{Cl}_2]_2$

$[\text{Ru}(\eta^6\text{-tol})\text{Cl}_2]_2$  byl připraven rozpuštěním 0,5 g  $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  v 5 ml methanolu. Následně byl přidán 0,67 ml 1-methylcyklohexa-1,4-dienu (6 mmol). Tato směs reagovala v mikrovlnném syntetizátoru při 140 °C po dobu 1 minuty. Vzniklá tmavě hnědá krystalická látka (Obr. 19) byla odsána na fritě a promyta diethyletherem. Výtěžnost reakce byla 67 %.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  5,99 (t,  $J = 6,0$  Hz, 2H), 5,70 (m, 3H), 2,14 (s, 3H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , 300 K):  $\delta$  105,6, 89,5, 84,8, 82,2, 18,5 ppm. *Anal.* vypočteno pro  $\text{Ru}_2\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{Cl}_4$  (528,2): C, 31,8; H, 3,1. Nalezeno: C, 31,4; H, 2,8%.

$[\text{Os}(\eta^6\text{-tol})\text{Cl}_2]_2$  byl připraven analogickým postupem reakcí 0,5 g  $\text{OsCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  v 5 ml methanolu a 0,67 ml 1-methylcyklohexa-1,4-dienu (6 mmol). Produktem je hnědozelená krystalická látka (Obr. 19). Výtěžnost reakce byla 73 %.

*Anal.* vypočteno pro  $\text{Os}_2\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{Cl}_4$  (706,6): C, 23,8; H, 2,3. Nalezeno: C, 23,9; H, 2,1%.

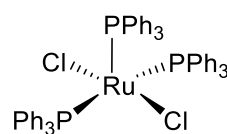


Obrázek 19: Obecný strukturální vzorec dimerů  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-tol})]_2$  a  $[\text{OsCl}_2(\eta^6\text{-tol})]_2$

### 3.2.1.3. Příprava trifenylofosfin-dichlororuthenatého komplexu

Byl připraven roztok rozpuštěním 500 mg  $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  v 75 ml ethanolu, který byl po 10 minut probubláván dusíkem. Následně se přidaly 2 g (7,62 mmol) trifenylofosfinu a reakční směs reagovala 1 hodinu při laboratorní teplotě. Vznikla tmavě hnědá krystalická látka  $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$  (Obr. 20) byla odsáta na fritě a promyta etherem. Výtěžnost reakce byla 68%.

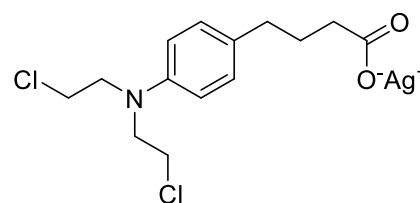
*Anal.* vypočteno pro  $\text{RuC}_{54}\text{H}_{45}\text{Cl}_2\text{P}_3$  (958,83): C, 67,6; H, 4,7. Nalezeno: C, 67,1; H, 4,8%.



Obrázek 20:  
Strukturní vzorec  
 $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$

### 3.2.1.4. Příprava derivátu chlorambucilu

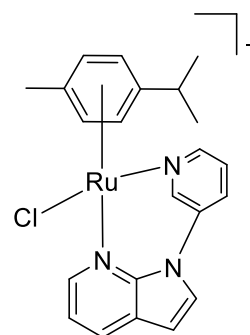
Byla připravena stříbrná sůl chlorambucilu (tj. 4-{4-[bis(2-chloroethyl)amino]fenyl}butanoát stříbrný; Obr. 21) smícháním 304 mg chlorambucilu v 1 ml methanolu, do kterého se následně přidal 1 mmol 1M NaOH. Po 10 minutách se přidalo 256,9 mg triflátu stříbrného. Vznikla světle hnědá krystalická látka, která byla odsáta na fritě a promyta methanolem. Celá reakce se prováděla ve tmě. Výtěžnost reakce byla 52%.



Obrázek 21: Strukturní vzorec 4-{4-[bis(2-chloroethyl)amino]fenyl}butanoátu stříbrného

### 3.2.2. Příprava $\text{Ru}^{\text{II}}$ komplexů

$[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**1**):  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})\text{Cl}_2]_2$  (0,1 mmol, 61,2 mg) byl rozpuštěn ve 2 ml methanolu a do roztoku byl přidán 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindol (0,2 mmol, 39 mg). Tato směs reagovala v mikrovlnném syntetizátoru při 100 °C po dobu 3 minut. Následně byl roztok přefiltrován a k filtrátu se přidalo 0,5 mmol hexafluorofosforečnanu amonného (81,5 mg). Vyloučená žlutá látka (komplex **1**; Obr. 22) byla izolována filtrací za sníženého tlaku přes fritu a promyta etherem. Výtěžnost reakce byla 49%.

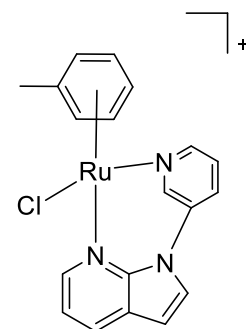


Obrázek 22: Strukturní vzorec  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**1**)

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9,02 (d,  $J = 4,6$  Hz, C10-H), 8,74 (d,  $J = 5,5$  Hz, C6-H), 8,55 (d,  $J = 3,7$  Hz, C2-H), 8,39 (d,  $J = 7,3$  Hz, C4-H), 8,24 (m, C12-H), 8,03 (d,  $J = 9,2$  Hz, C13-H), 7,57 (dd,  $J = 7,8, 6,0$  Hz, C5-H), 7,49 (t,  $J = 6,9$  Hz, C11-H), 7,13 (d,  $J = 3,7$  Hz, C3-H), 5,85 (d,  $J = 5,5$  Hz, C22-H), 5,79 (d,  $J = 6,4$  Hz, C21-H), 5,71 (m, C21,22-H), 2,21 (sep,  $J = 6,9$  Hz, C24-H), 2,03 (s, C26-H<sub>3</sub>), 0,92 (m, C25-H<sub>6</sub>) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  157,1 (C10-H), 151,4 (C6-H), 148,3 (C8), 144,1 (C7a), 141,8 (C12-H), 132,9 (C4-H), 128,1 (C2-H), 124,0 (C3a), 121,9 (C11-H), 120,8 (C5-H), 115,2 (C13-H), 108,0 (C3-H), 105,4 (C20), 101,3 (C23), 85,8 (C22-H), 84,8 (C23-H), 84,0 (C22,23-H), 30,1 (C24-H), 21,6 (C25-H), 21,2 (C25-H), 17,6 (C26-H) ppm. ESI+ MS (MeOH;  $m/z$ ): 466,0 (vyp. 466,1 pro  $[\text{Ru}(\text{p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]^+$ ; 15%), 430,1 (vyp. 430,1 pro  $\{[\text{Ru}(\text{p-cym})(\text{pyaza})-\text{H}]^+\}$ ; 100%). *Anal.* vypočteno pro  $\text{RuC}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{ClPF}_6$  (611,93): C, 43,2; H, 4,0; N, 6,9. Nalezeno: C, 42,9; H, 3,5; N, 6,7. FT-IR (ATR): 465w, 521m, 555s, 602w, 636w, 717s, 765s, 800s, 836vs, 883m, 930w, 1034w, 1058w, 1087w, 1105w, 1128w 1176m, 1204m, 1243s, 1328s, 1370m, 1386m, 1427s, 1439s, 1468s, 1483s, 1501w, 1533m, 1572w, 1600m, 2874m, 2968m, 3045m, 3091m, 3125m  $\text{cm}^{-1}$ .

**$[\text{Ru}(\eta^6\text{-tol})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (2):**  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-tol})\text{Cl}_2]_2$  (0,1 mmol, 38,6 mg) bylo rozpuštěno ve 2 ml methanolu a do roztoku byl přidán 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindol (0,2 mmol, 39 mg). Analogickým postupem jako u komplexu **1** byl připraven žlutooranžový komplex **2** (Obr. 23) s výtěžností 52 %.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ , 300 K):  $\delta$  9,11 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H, C10-H), 8,79 (d,  $J = 4,6$  Hz, 1H, C6-H), 8,59 (d,  $J = 2,8$  Hz, 1H, C2-H), 8,38 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, C4-H), 8,23 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H, C12-H), 8,04 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, C13-H), 7,56 (t,  $J = 6,4$  Hz, 1H, C5-H), 7,47 (t,  $J = 6,4$  Hz, 1H, C11-H), 7,13 (d,  $J = 2,8$  Hz, 1H, C3-H), 5,98 (t,  $J = 5,0$  Hz, 1H, C-H<sup>tol</sup>), 5,91 (t,  $J = 5,5$  Hz, 1H, C-H<sup>tol</sup>), 5,85 (t,  $J = 5,5$  Hz, 1H, C-H<sup>tol</sup>), 5,71 (dd,  $J = 13,8, 5,8$  Hz, 2H, C-H<sup>tol</sup>), 1,83 (s, 3H, C24-H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ , 300 K):  $\delta$  157,1 (C10-H), 151,3 (C6-H), 148,6 (C8), 144,2 (C7a), 141,7 (C12-H), 132,8 (C4-H), 128,4 (C2-H), 123,9 (C3a), 121,8 (C11-H), 120,7 (C5-H), 115,0 (C13-H), 107,9 (C3-H), 105,5 (C20), 92,0 (C<sup>tol</sup>), 91,9 (C<sup>tol</sup>), 81,9 (C<sup>tol</sup>), 81,2 (C<sup>tol</sup>), 79,6 (C<sup>tol</sup>), 18,0 (C24-H) ppm. ESI+ MS (MeOH;  $m/z$ ): 424,1 (vyp. 424,0

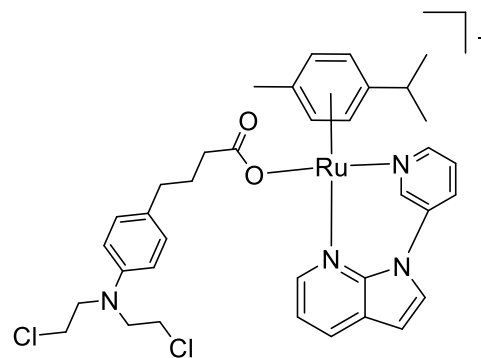


Obrázek 23: Strukturální vzorec  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-tol})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**2**)

pro  $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{pyaza})\text{Cl}]^+$ ; 5%), 388,0 (vyp. 388,0 pro  $\{[\text{Ru}(\text{tol})(\text{pyaza})]-\text{H}\}^+$ ; 100%). *Anal.* vypočteno pro  $\text{RuC}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{ClPF}_6$  (568,84): C, 40,1; H, 3,0; N, 7,4. Nalezeno: C, 40,0; H, 2,6; N, 7,0%. FT-IR (ATR): 449m, 467m, 483m, 520m, 555s, 602m, 634m, 715s, 729s, 763s, 796s, 836vs, 927w, 1024m, 1064w, 1088w, 1105w, 1129w, 1181m, 1207m, 1241m, 1263w, 1333m, 1374m, 1427s, 1440m, 1470s, 1483s, 1536m, 1572w, 1600m, 2916w, 3087w, 3118w, 3192w  $\text{cm}^{-1}$ .

### $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})(\text{chlorambucil})]\text{PF}_6$ :

Byla provedena syntéza smícháním komplexu  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**2**; 0,05 mmol, 30,5 mg) se stříbrnou solí chlorambucilu v 6 ml methanolu. Reakce probíhala přes noc, produktem byl žlutý roztok, který byl zahuštěn a následně rekrystalizován ve směsi diethyl ether/methanol. Poté byl žlutý produkt (Obr. 24) odfiltrován a promyt etherem.



Obrázek 24: Strukturální vzorec  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{chlorambucil}]\text{PF}_6$

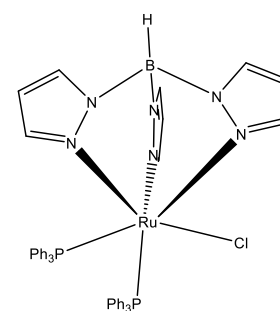
### 3.2.3. Příprava tris(pyrazolyl)boritanových (tpb) komplexů

300 mg komplexu  $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$  (0,313 mmol) se rozpustilo v 15 ml dichlormethanu a následně bylo do roztoku přidáno 79 mg (0,313 mmol)  $\text{K}(\text{tpb})$ . Po 30 minutách míchání se přidalo 10 ml hexanu a roztok byl odfiltrován, abychom se zbavili  $\text{KCl}$ . Následně byl filtrát zahuštěn a rekrystalizován ve směsi dichlormethan/ethanol. Získali jsme zelenou sloučeninu předpokládaného složení  $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{tpb})]$  (Obr. 25).

*Anal.* vypočteno pro  $\text{RuC}_{45}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{BClP}_2$  (874,12): C, 61,8; H, 4,6; N, 9,6. Nalezeno: C, 47,6; H, 3,7; N, 2,8%.

Obdobně byla provedena syntéza s tris-(3,5-dimethyl-1-pyrazolyl)boritanem ( $\text{K}(\text{dmtpb})$ ; 76 mg). Výsledný látka měla tmavě zelenou barvu.

*Anal.* vypočteno pro  $\text{RuC}_{51}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{BClP}_2$  (958,28): C, 63,9; H, 5,5; N, 8,8. Nalezeno: C, 55,2; H, 4,9; N, 3,7%.

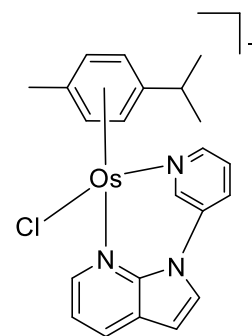


Obrázek 25: Strukturální vzorec  $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{tpb})]$

Třetí syntéza tris(pyrazolyl)boritanových komplexů byla provedena nahrazením PPh<sub>3</sub> ligandů trifenylfosfinu 1,10-fenanthrolinem. Komplex [RuCl(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(tpb)], kterého bylo použito 43,5 mg (0,04 mmol) byl rozpuštěn ve 3 ml dichlormethanu a následně bylo do roztoku přidáno 10 mg (0,055 mmol) 1,10-fenanthrolinu. Roztok se následně zahustil a rekrystalizoval ve směsi dichlormethan/ethanol. Výsledná látka měla tmavě zelenou barvu.

### 3.2.4. Příprava Os<sup>II</sup> komplexů

[Os(η<sup>6</sup>-p-cym)(pyaza)Cl]PF<sub>6</sub> (**3**): [Os(η<sup>6</sup>-p-cym)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (0,1 mmol, 79,1 mg) bylo rozpuštěno ve 2 ml methanolu a do roztoku byl přidán 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindol (0,2 mmol, 39 mg). Tato směs reagovala v mikrovlnném syntetizátoru při 100 °C po dobu 3 minut. Následně byl roztok přefiltrován a k filtrátu se přidal pěti molární nadbytek hexafluorofosforečnanu amonného (81,5 mg). Vyloučená látka byla izolována filtrací za sníženého tlaku přes fritu a promyta etherem. Vzniklý žlutozelený komplex **3** (Obr. 26) byl získán v 55% výtěžku.



Obrázek 26: Strukturální vzorec

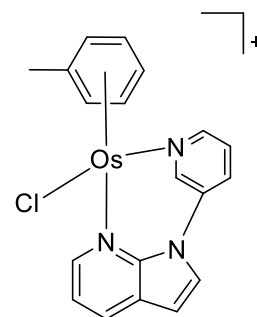
[Os(η<sup>6</sup>-p-cym)(pyaza)Cl]PF<sub>6</sub> (**3**)

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8,95 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H, C10–H), 8,66 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, C6–H), 8,57 (d, *J* = 4,1 Hz, 1H, C2–H), 8,32 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, C4–H), 8,20 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, C12–H), 8,02 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, C13–H), 7,48 (dd, *J* = 7,6, 5,5 Hz, 1H, C5–H), 7,41 (t, *J* = 6,5 Hz, 1H, C11–H), 7,16 (d, *J* = 4,1 Hz, 1H, C3–H), 6,12 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, C22–H), 6,03 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H, C21–H), 5,95 (m, 2H, C21,22–H), 2,17 (sep, *J* = 6,9 Hz, 1H, C24–H), 2,10 (s, 3H, C26–H), 0,92 (m, 6H, C25–H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 K): δ 158,1 (C10–H), 151,7 (C6–H), 146,9 (C8), 142,8 (C7a), 142,0 (C12–H), 133,2 (C4–H), 128,0 (C2–H), 123,8 (C3a), 122,4 (C11–H), 121,0 (C5–H), 114,7 (C13–H), 108,3 (C3–H), 96,0 (C20), 93,7 (C23), 76,7 (C22–H), 76,0 (C23–H), 75,2 (C22,23–H), 30,3 (C24–H), 21,8 (C25–H), 21,6 (C25–H), 17,6 (C26–H) ppm. ESI+ MS (MeOH; *m/z*): 556,0 (vyp. 556,1 pro [Os(p-cym)(pyaza)Cl]<sup>+</sup>; 15%), 520,2 (vyp. 520,1 pro {[Os(p-cym)(pyaza)]–H}<sup>+</sup>; 100%). *Anal.* vypočteno pro OsC<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>ClPF<sub>6</sub> (701,09): C, 37,7; H, 3,5; N, 6,0. Nalezeno: C, 37,2; H, 3,1; N, 5,6%. FT-IR (ATR): 430w, 467w, 520m, 556s, 602w, 637m, 666m, 717s, 767s, 803s, 837vs, 877m, 926w, 997w, 1036w, 1056w, 1086w,



1106w, 1129w, 1176m, 1205m, 1242s, 1328m, 1370m, 1386m, 1428s, 1468s, 1483s, 1533m, 1570w, 1601m, 2874w, 2929w, 2966m, 3087w  $\text{cm}^{-1}$ .

**[Os( $\eta^6$ -tol)(pyaza)Cl]PF<sub>6</sub> (4):** [Os( $\eta^6$ -tol)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (0,1 mmol, 70,66 mg) byl rozpuštěn v 5 ml methanolu a do roztoku byl přidán 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindol (0,4 mmol, 78,1  $\mu\text{l}$ ). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě po dobu 30 minut a následně byl ke vzniklému roztoku přidán hexafluorofosforečnan amonný (81,5 mg). Žlutozelený produkt (Obr. 27) byl odfiltrován za sníženého tlaku přes fritu a promyt etherem. Výtěžnost byla 31 %.



Obrázek 27: Strukturální vzorec [Os( $\eta^6$ -tol)(pyaza)Cl]PF<sub>6</sub> (4)

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  9,03 (dd,  $J = 5,9, 1,2$  Hz, 1H, C10–H), 8,70 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, C6–H), 8,57 (d,  $J = 3,9$  Hz, 1H, C2–H), 8,31 (d,  $J = 7,0$  Hz, 1H, C4–H), 8,20 (m, 1H, C12–H), 8,04 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H, C13–H), 7,48 (dd,  $J = 7,8, 5,9$  Hz, 1H, C5–H), 7,39 (t,  $J = 6,5$  Hz, 1H, C11–H), 7,14 (d,  $J = 3,9$  Hz, 1H, C3–H), 6,06 (m, 5H, C–H<sup>tol</sup>), 1,89 (s, 3H, C24–H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  158,0 (C10–H), 151,4 (C6–H), 147,3 (C8), 143,0 (C7a), 141,9 (C12–H), 133,2 (C4–H), 128,3 (C2–H), 123,7 (C3a), 122,2 (C11–H), 121,0 (C5–H), 114,6 (C13–H), 108,2 (C3–H), 97,0 (C20), 83,8 (C<sup>tol</sup>), 83,7 (C<sup>tol</sup>), 72,5 (C<sup>tol</sup>), 71,7 (C<sup>tol</sup>), 70,4 (C<sup>tol</sup>), 17,9 (C24–H) ppm. ESI+ MS (MeOH;  $m/z$ ): 478,0 (vyp. 478,1 pro {[Os(tol)(pyaza)]–H}<sup>+</sup>; 100%). Anal. vypočteno pro OsC<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>ClPF<sub>6</sub> (658,00): C, 34,7; H, 2,6; N, 6,4. Nalezeno: C, 34,4; H, 2,3; N, 6,3%. FT-IR (ATR): 469w, 520w, 554s, 616w, 716m, 729m, 761s, 795s, 834vs, 878m, 1029m, 1089s, 1180m, 1205m, 1241m, 1333m, 1375m, 1425s, 1471s, 1484s, 1514w, 1535s, 1599m, 2853, 3052  $\text{cm}^{-1}$ .

## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

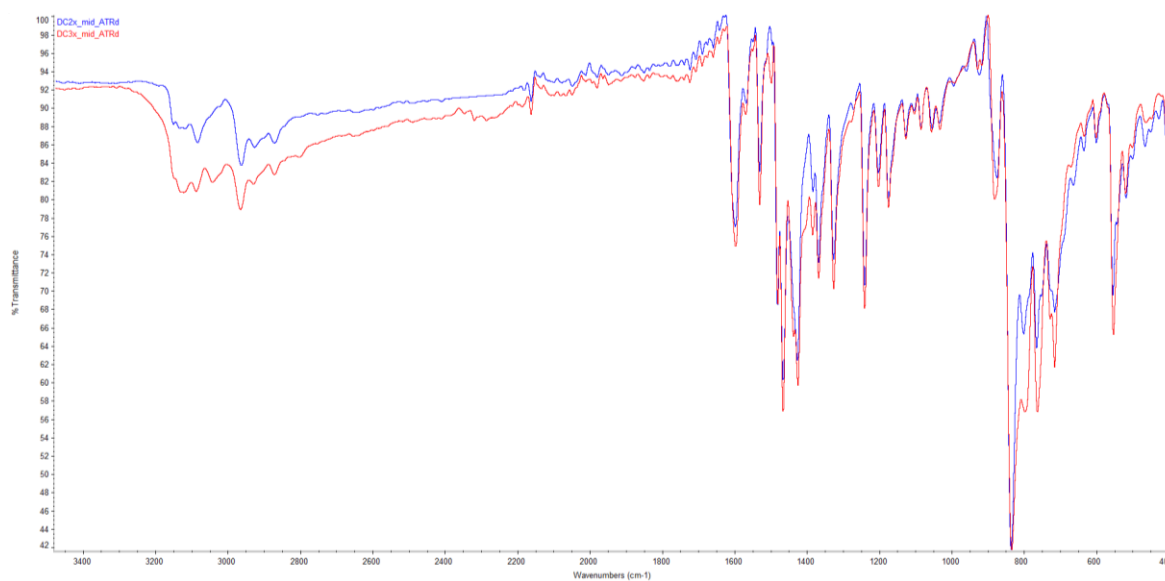
Cílem experimentální části práce byla příprava série ruthenatých a osmnatých polosendvičových koordinačních sloučenin obecného vzorce  $[M(\eta^6\text{-bz}^x)(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$ , kde  $M = \text{Ru}$  nebo  $\text{Os}$ , a  $\text{bz}^x$  symbolizuje *p*-cymen (*p*-cym) nebo toluen (tol). Ligand 1-pyridyl-7-azaindol (pyaza) byl zvolen v návaznosti na jednu z předchozích bakalářských prací [52] vypracovaných na katedře anorganické chemie PřF UP v Olomouci, kde byl tento ligand použit k přípravě polosendvičových chloroiriditých komplexů  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^x)(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$ , u kterých byla později zjištěna výrazná *in vitro* cytotoxicita vůči lidským nádorovým buněčným liniím, jako např. A2780 karcinom vaječníku (nepublikovaná data);  $\text{Cp}^x =$  pentamethylcyklopentadienyl nebo 1-fenyl-2,3,4,5-tetramethylcyklopentadienyl. Z výše uvedeného důvodu je i způsob přípravy sloučeniny pyaza analogem postupu popsaného v bakalářské práci studentky Evy Mačálové z roku 2016 [52].

Popsanými postupy v experimentální části byly připraveny dva komplexy ruthenia a dva komplexy osmia. Konkrétně se jedná o komplexy  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**1**),  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-tol})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**2**),  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**3**),  $[\text{Os}(\eta^6\text{-tol})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**4**). Příprava podobných ruthenatých a osmnatých polosendvičových komplexů obecného vzorce  $[\text{M}(\eta^6\text{-bz}^x)(\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}]^+$  ( $\text{N}^{\wedge}\text{N} =$  bidentátní *N,N*-donorový ligand) je v literatuře známá a detailně popsána na četných příkladech. Syntézy vycházely z hydratovaných chloridů  $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  resp.  $\text{OsCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , ze kterých byly reakcemi s nadbytkem příslušného cyklohexadienového derivátu připraveny v mikrovlákném syntetizátoru dimerní sloučeniny  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})\text{Cl}_2]_2$ ,  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-tol})\text{Cl}_2]_2$ ,  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})\text{Cl}_2]_2$  a  $[\text{Os}(\eta^6\text{-tol})\text{Cl}_2]_2$ . Finální krok syntéz komplexů **1–4** probíhal reakcemi zmíněných ruthenatých a osmnatých dimerů s nadbytkem pyaza v minimálním množství methanolu. Takto vzniklé chloridy obecného složení  $[\text{M}(\eta^6\text{-bz}^x)(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{Cl}$  byly obtížně izolovatelné, proto byly ve všech případech převedeny přidáním nadbytku  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  na finální, dobře izolovatelné hexafluorofosforečnanové formy obecného složení  $[\text{M}(\eta^6\text{-bz}^x)(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$ . Reakcemi docházelo ke změnám barvy reakční směsi z původní oranžovo-červené do žluté (pro ruthenaté komplexy **1** a **2**) nebo žlutozelené (pro osmnaté komplexy **3** a **4**).

Komplexy **1–4** byly velmi dobře rozpustné v DMF, DMSO, chloroformu, DCM, acetonu nebo methanolu, omezeně rozpustné byly ve vodě a zcela nerozpustné byly v diethyletheru nebo hexanu.

Komplexy **1–4** byly charakterizovány elementární analýzou, infračervenou spektroskopií, NMR spektroskopií ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem v pozitivním ionizačním módu (ESI+ MS). Výsledky elementární analýzy jsou uvedeny v experimentální části, přičemž rozdíl experimentálně zjištěných a teoreticky vypočtených hodnot procentuálního zastoupení uhlíku, vodíku a dusíku nepřekračuje 0,5%.

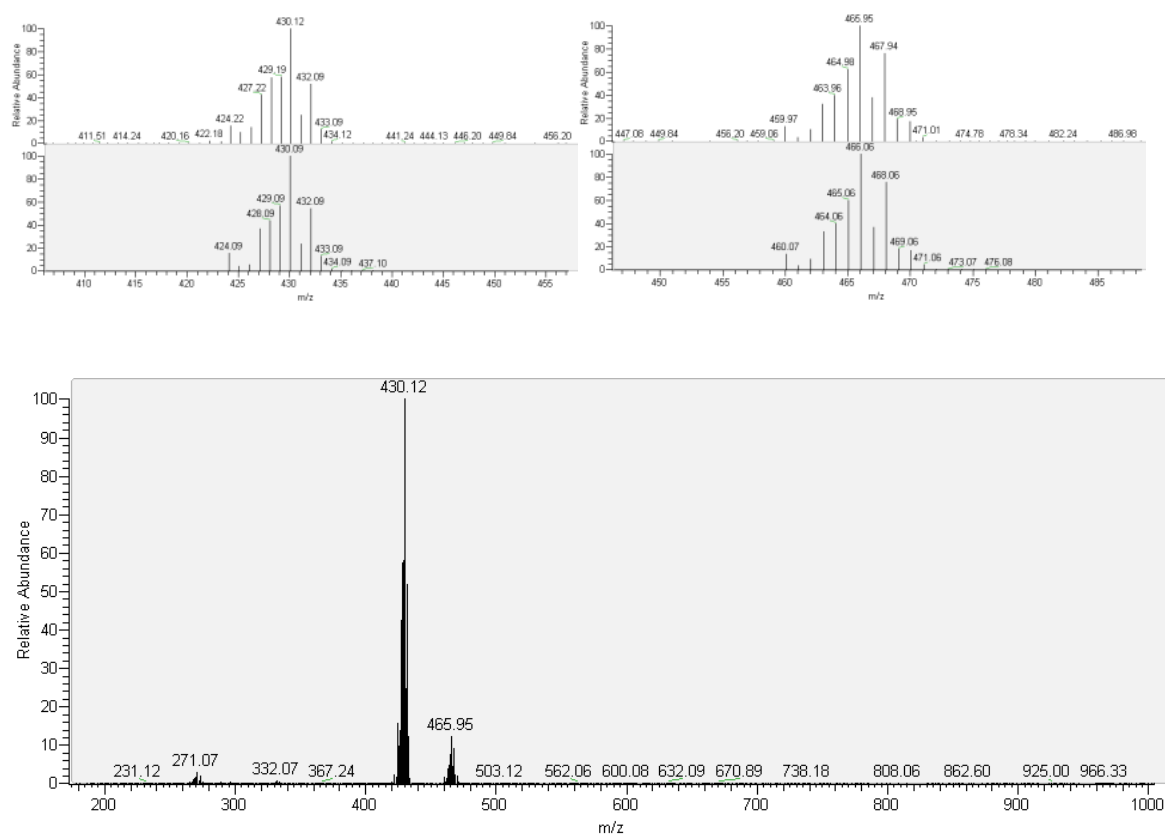
Připravené polosendvičové komplexy **1–4** byly dále charakterizovány pomocí infračervené spektroskopie, kdy byla zaznamenána spektra v rozsahu  $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$  (Obr. 28). Ve spektrech (výsledky jsou uvedeny v Experimentální části) byly rozpoznány píky charakteristických vibrací jak použitých derivátů benzenu (např.  $\nu(\text{C-H})_{\text{alif}}$  při přibližně  $2900\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$  nebo  $\nu(\text{C-H})_{\text{arom}}$  při přibližně  $3000\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ ) [53] tak i pyza ligandu (např.  $\nu(\text{C-N})$  při přibližně  $1470$  a  $1580\text{ cm}^{-1}$ ). Bylo také detekováno minimum při přibližně  $830\text{ cm}^{-1}$  charakteristické vibrace  $\text{PF}_6^-$  aniontu [54].



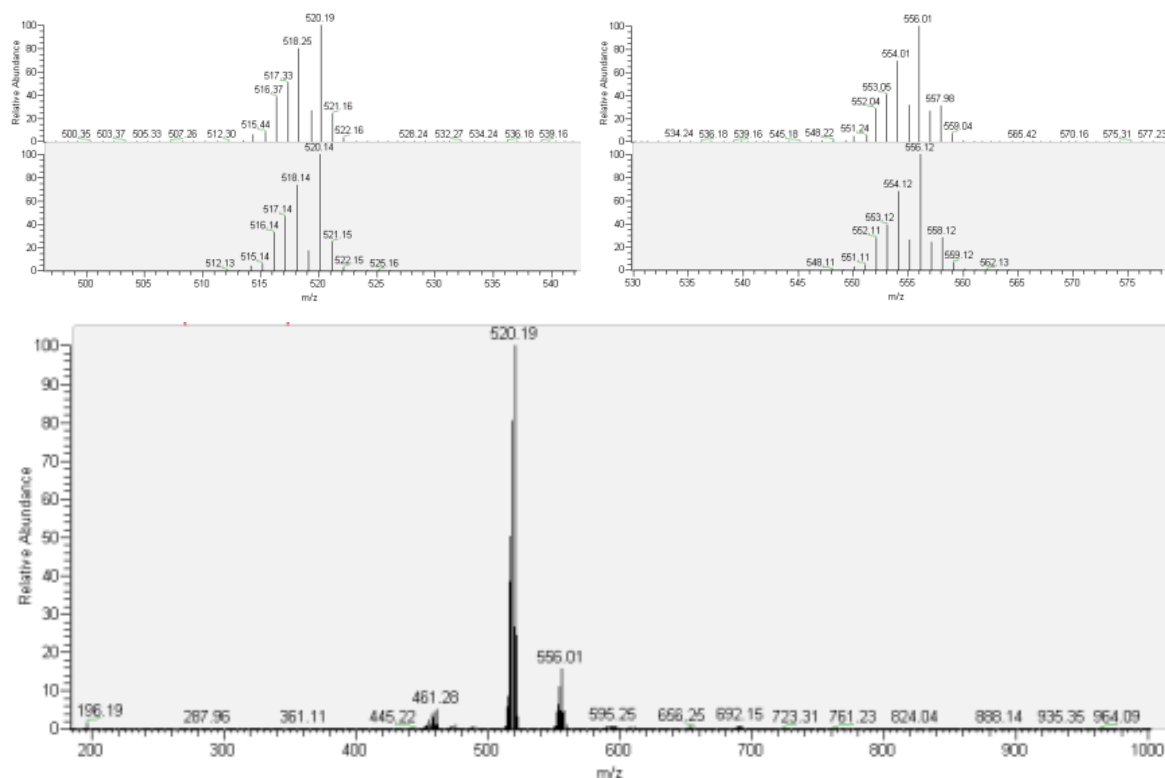
Obrázek 28: Infračervená spektra komplexů  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**1**; červená) a  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**3**; modrá)

Hmotnostní spektra iontových komplexů **1–4** v kladném ionizačním módu (ESI+) obsahovala jeden dominantní pík s relativní intenzitou 100% (Obr. 29 a 30). Tento pík lze přiřadit částici o složení  $\{[\text{M}(\text{bz}^x)(\text{pyza})]\text{-H}\}^+$ , která vznikla z původního komplexního

kationtu odštěpením chloro ligandu (společně s jedním vodíkovým kationtem). Samotný signál komplexního kationtu  $[M(bz^x)(pyaza)Cl]^+$  byl detekován s nižší relativní intenzitou, ale u komplexu **4** tento pík detekován nebyl. Výsledky jsou podány v Experimentální části a v případě komplexů **1** a **3** zobrazeny v obrázcích 29 a 30.



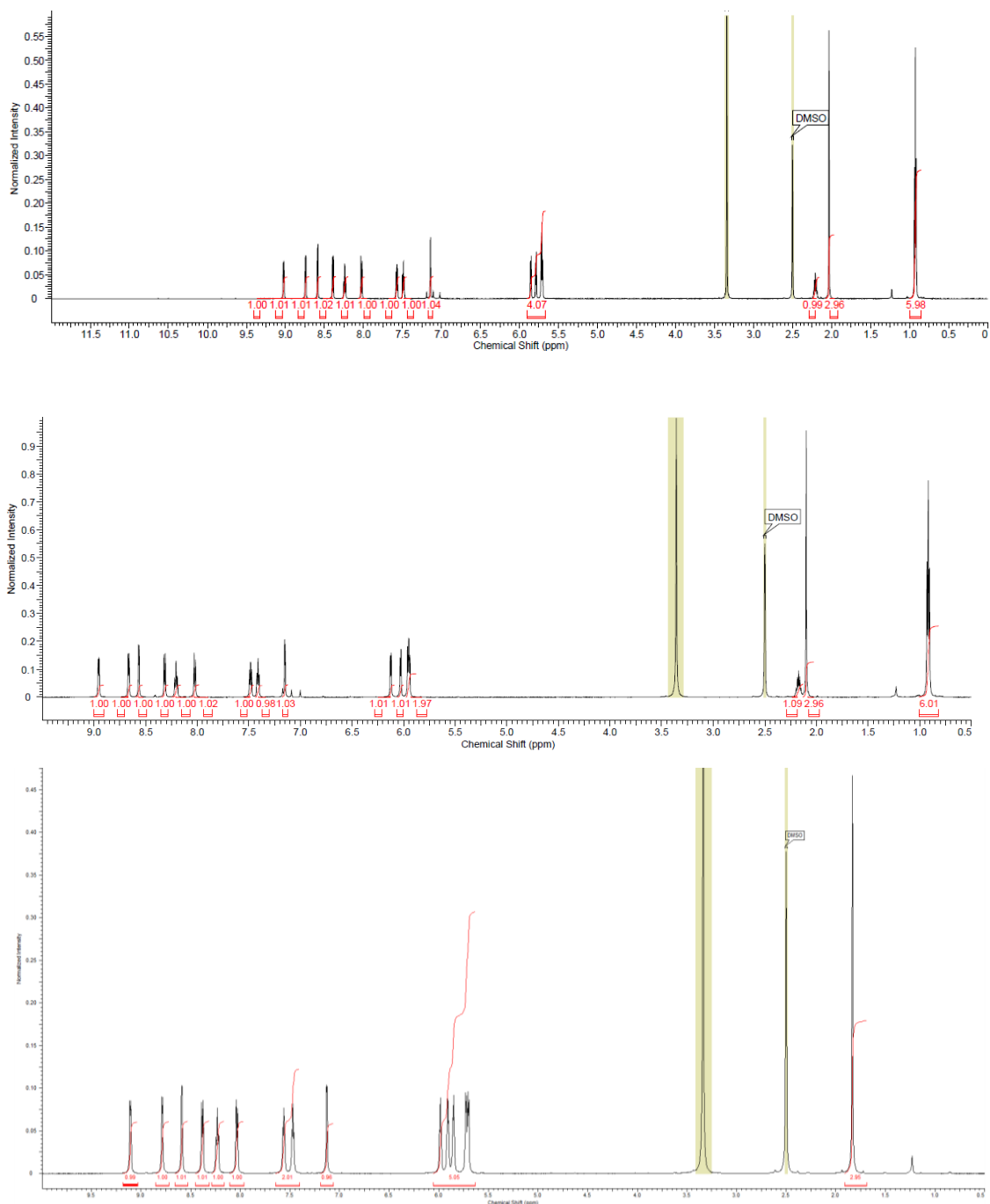
*Obrázek 29:* ESI+ hmotnostní spektrum komplexu  $[Ru(\eta^6\text{-p-cym})(pyaza)Cl]PF_6$  (**1**; dole) rozpuštěného v methanolu, zobrazené společně s detaily hlavních píků a porovnáním jejich teoretického a experimentálně zjištěného izotopového rozložení (nahore)



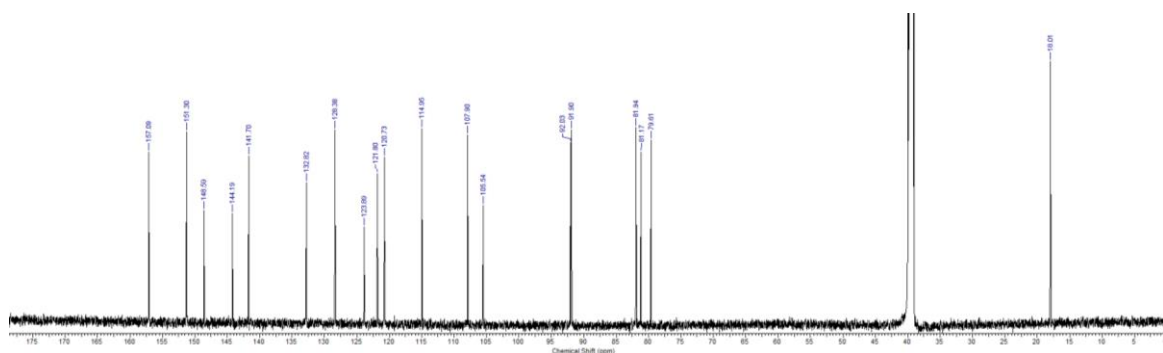
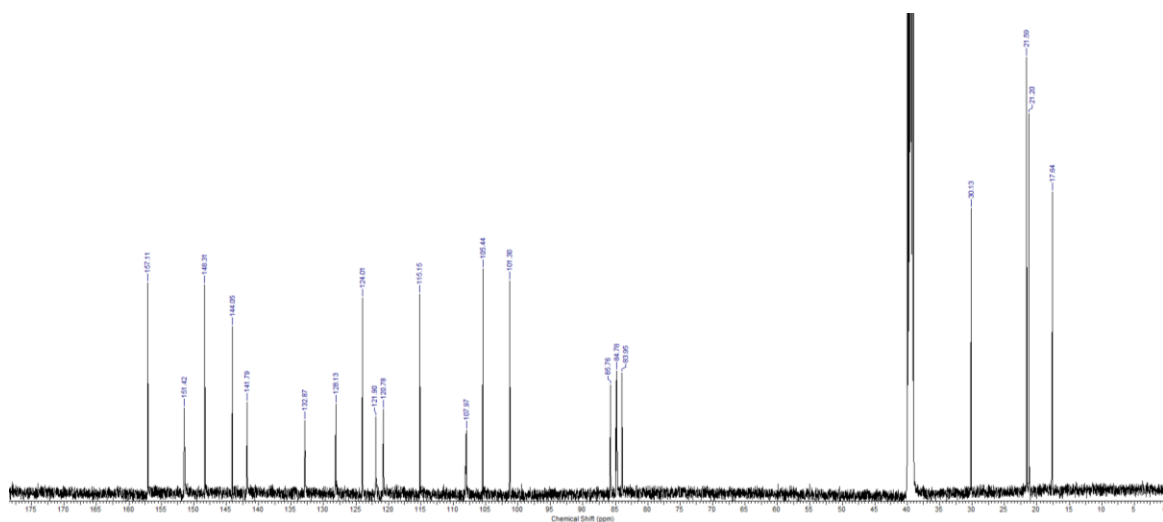
Obrázek 30: ESI+ hmotnostní spektrum komplexu  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**3**; dole) rozpuštěného v methanolu, zobrazené společně s detaily hlavních píků a porovnáním jejich teoretického a experimentálně zjištěného izotopového rozložení (nahore)

Pro charakterizaci připravených komplexů **1–4** byly také použity  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopie. Získané výsledky jsou shrnuty v Experimentální části, vybrané výsledky jsou zobrazeny na obrázcích 31–33. V  $^1\text{H}$  NMR spektrech byly detekovány signály použitých derivátů benzenu, a to jak pro aromatické vodíky (5,8–6,0 ppm) tak i pro alifatické vodíkové atomy, konkrétně tedy v případě *p*-cymenu u komplexu **1** a **3** (dublet, singlet a septet při přibližně 0,9, 2,0 a 2,2 ppm) a toluenu u komplexu **2** a **4** (singlet při přibližně 1,8 ppm). Bidentátně koordinovaný derivát 7-azaindolu (pyaza) byl v  $^1\text{H}$  spektrech identifikován díky přítomnosti devíti signálů aromatických vodíkových atomů této látky, která byly nalezeny v oblasti 7,1–9,1 ppm se souhrnnou integrální intenzitou rovnou devíti (Obr. 31). Ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrech byl pozorován odpovídající počet signálů, v souladu s předpokládaným složením studovaných komplexů **1–4** (Obr. 32). Přiřazení

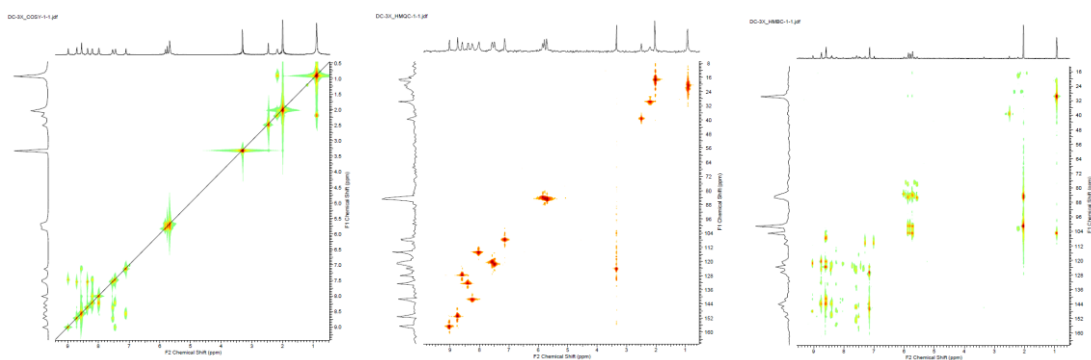
jednotlivých  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR signálů bylo provedeno pomocí  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC a  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC spekter (Obr. 33).



Obrázek 31:  $^1\text{H}$  NMR spektra komplexů **1** (nahore), **2** (uprostřed) a **3** (dole), zobrazená společně s příslušnými integrálními intenzitami jednotlivých signálů; vzorky byly připraveny rozpuštěním komplexů v  $\text{DMSO-}d_6$ .



Obrázek 32:  $^{13}\text{C}$  NMR spektra komplexů **1** (nahore) a **2** (dole); vzorky byly připraveny rozpuštěním komplexů v  $\text{DMSO-}d_6$ .

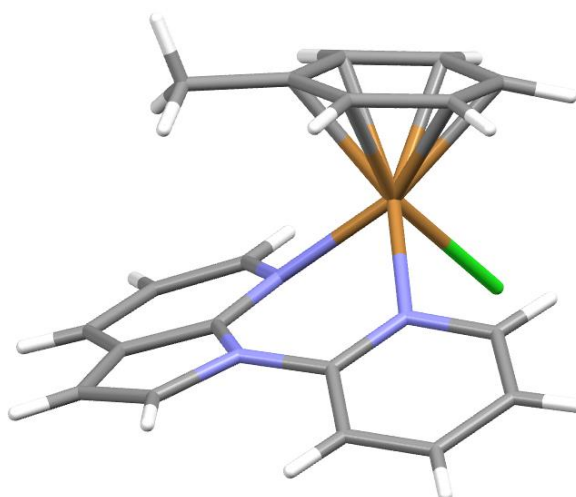


Obrázek 33:  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (vlevo),  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC (uprostřed) a  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC (vpravo) NMR spektra pro komplex **1**; vzorek byl připraven rozpuštěním komplexu v  $\text{DMSO-}d_6$ .

Pro další charakterizaci připravených komplexů byla použita monokrystalová rentgenová strukturní analýza. Během experimentu byl použit software APEX3 [55], SHELXS a SHELXTL [56]. Obrázky molekulové struktury byly vytvořeny v programu Mercury [57]. Krystalová data a detaily experimentu jsou uvedeny níže v tabulce 1.

*Tabulka 1:* Krystalová data a detaily experimentu provedeného pro komplex **2**

Empirický vzorec	$C_{19}H_{17}ClN_3RuPF_6$
Molekulová relativní hmotnost	658,00
Teplota (K)	120(2)
Krystalografická soustava	Monoklinická
Prostorová grupa	$P2_1/n$
$a; b; c$ (Å)	12,7633; 11,2983; 14,0475
$\alpha; \beta; \gamma$ (°)	90; 97,13; 90
Velikost krystalu (mm)	$0,08 \times 0,10 \times 0,16$
Data/restraints/parameters	3539/0/281
Final $R$ indices [ $I > 2\sigma(I)$ ]	$R_1 = 0,0441$
$R$ indices (all data)	$R_1 = 0,0619$
Largest peak and hole ( $e \text{ \AA}^{-3}$ )	1,129 and -1.953



*Obrázek 34:* Monokrystalová struktura komplexního kationtu komplexu **2**;  $PF_6^-$  aniont není pro přehlednost zobrazen



Tabulka 2: Vybrané vazebné délky (Å) a úhly (°) pro komplex **2**. Cg = centroid aromatického kruhu tol ligandu definovaný atomy C20–C25

Ru–Cl1	2.3858(6)	Cl1–Ru–N7	86.262(9)
Ru–N7	2.0866(6)	Cl1–Ru–N9	86.572(13)
Ru–N9	2.1039(5)	Cl1–Ru–Cg	128.74(2)
Ru–C20	2.1794(4)	N7–Ru–N9	84.797(11)
Ru–C21	2.1858(6)	N7–Ru–Cg	127.878(13)
Ru–C22	2.1894(7)	N9–Ru–Cg	127.74(2)
Ru–C23	2.2053(4)		
Ru–C24	2.2094(6)		
Ru–C25	2.2006(6)		
Ru–Cg	1.6756(5)		

Kromě syntézy ruthenatých a osemnatých komplexů **1–4** byly nad rámec zadání práce provedeny syntézy komplexu  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})(\text{chlorambucil})]\text{PF}_6$  a tris(1-pyrazolyl)borhydridových (v literatuře často zkracováno jako tpb) komplexů. V případě komplexu  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})(\text{chlorambucil})]\text{PF}_6$  se jednalo o snahu nahradit chloro ligand ligandem nesoucím vlastní biologickou aktivitu, v tomto případě chlorambucilem. Při syntéze uvedené komplexní sloučeniny se vycházelo z komplexu **1** a ve výsledném kroku se nahrazoval chloro ligand koordinovaný na centrální atom za chlorambucilový aniont. Ačkoli podobné syntézy byly v nedávné době na katedře anorganické chemie PřF UP v Olomouci provedeny v případě podobných ruthenatých a osemnatých polosendvičových komplexů s jinými karboxyláto ligandy [58], tato syntéza nebyla úspěšná, protože navázání chlorambucilu se neprokázalo žádnou z provedených technik (elementární analýza,  $^1\text{H NMR}$ , ESI+ MS).

V případě tpb komplexů bylo snahou připravit nové látky známého strukturního typu pro následné testování biologické aktivity. Z literatury je známé, že mnohé tpb komplexy platinových kovů mají využití v homogenní katalýze a v široké škále transformačních reakcí [18]. Avšak jejich syntéza, která byla popsána již před 45 lety, se stále vyvíjí a jsou připravovány látky nové, jejichž společným znakem je přítomnost různě substituovaných tpb ligandů [59]. Motivací pro v této bakalářské práci provedené syntézy

byl fakt, že tpb komplexy nejsou prozatím z hlediska biologické aktivity prozkoumané [60]. Záměrem bylo připravit meziprodukty  $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{tpb})]$  a/nebo  $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{dmtpb})]$ , a jejich složení následně vhodně modifikovat např. vybranými bidentátními *N,N*-donorovými ligandy. Ačkoli byly tyto komplexní sloučeniny připravovány podle literatury [59, 60], jejich složení nebylo elementární analýzou (byly provedeny také ESI+ MS analýzy) prokázáno.

Vzhledem k tomu, že ani jeden z dostupných postupů přípravy ruthenatých tpb komplexů nevyšel, byly provedeny pokusy o přípravu těchto látek ještě jiným postupem. Vycházeli jsme opět ze  $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  a přidali jsme k němu 1,25 mmol 1,5-cyklooktadienu (COD), celá reakce probíhala v 5 ml ethanolu v mikrovlnném syntetizátoru při 150 °C po dobu 5 minut. Výsledná látka  $[\text{RuCl}_2(\text{COD})]_4$  (*Anal.* vypočteno C, 36,08; H, 4,32. Nalezeno: C, 34,43; H, 4,73 %) vypadla ve formě hnědého prášku a výtěžnost reakce byla 90% (pozn.: reakce je v literatuře dobře známá, avšak nikdy nebyla provedena v mikrovlnném syntetizátoru, což vedlo k významné úspoře času). Komplex  $[\text{RuCl}_2(\text{COD})]_4$  jsme následně upravovali podle literatury [61, 62] reakcí 100 mg  $[\text{RuCl}_2(\text{COD})]_4$ , ke kterému bylo přidáno 5 ml  $\text{CH}_3\text{CN}$  a 100  $\mu\text{l}$  1,5-cyklooktadienu. Směs reagovala 5 hodin pod refluxem. K výslednému produktu  $[\text{RuCl}_2(\text{COD})(\text{CH}_3\text{CN})_2]$  (40 mg) jsme přidali tri(3,5-dimethyl-1-pyrazolyl)borohydrid draselný ( $\text{K}(\text{dmtpb})$ ) (33 mg) v acetonu. Nicméně, výsledný produkt očekávaného složení  $[\text{RuCl}(\text{COD})(\text{dmtpb})]$  nebyl prozatím dokázán žádnou metodou.

## 5. ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se v první fázi zabývala literární rešerší týkající se problematiky protinádorově aktivních koordinačních sloučenin ruthenia a osmia, se zaměřením na vliv substituce benzenového kruhu v rámci  $\eta^6$ -bz<sup>x</sup> ligandu těchto sloučenin. Dále se práce zabývala syntézou a charakterizací dvou ruthenatých a dvou osmenatých komplexních sloučenin o složení  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**1**),  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-tol})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**2**),  $[\text{Os}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**3**) a  $[\text{Os}(\eta^6\text{-tol})(\text{pyaza})\text{Cl}]\text{PF}_6$  (**4**). Jedná se o iontové komplexy, v jejichž struktuře je obsažen komplexní kationt obsahující elektroneutrální derivát 7-azaindolu, a to 1-(pyridin-2-yl)-7-azaindol (pyaza), který se na centrální atom váže bidentátně jako *N,N*-donorový ligand. Komplexy **1** a **3** obsahují *p*-cymen a komplexy **2** a **4** obsahují toluen. Složení připravených látek bylo prokázáno elementární analýzou (C, H, N), FT-IR a <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektroskopii a ESI+ hmotnostní spektrometrií. Komplex **2** byl charakterizován rentgenovou strukturní analýzou.

Kromě komplexů **1–4** byly provedeny pokusy o přípravu tris(1-pyrazolyl)borhydridových komplexů ruthenia, které výhledově představují nový typ biologicky perspektivních neplatinových komplexů. Nicméně tyto víceetapové syntézy nevedly k přípravě finálních produktů vhodných pro následné studium biologické aktivity.

## 6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] C.A. Rabik, M.E. Dolan, Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat. Rev.* 33 (2007) 9–23.
- [2] I. Ott, R. Gust, Non platinum metal complexes as anti-cancer drugs. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 340 (2007) 117–126.
- [3] M. Hanif, M. V. Babak, C.G. Hartinger, Development of anticancer agents: Wizardry with osmium. *Drug Discov. Today* 19 (2014) 1640–1648.
- [4] M. Pongratz, P. Schluga, M.A. Jakupec, V.B. Arion, C.G. Hartinger, G. Allmaier, B.K. Keppler, Transferrin binding and transferrin-mediated cellular uptake of the ruthenium coordination compound KP1019, studied by means of AAS, ESI-MS and CD spectroscopy. *J. Anal. At. Spectrom.* 19 (2004) 46–51.
- [5] J. Kameníček, Z. Šindelář, R. Pastrorek, F. Kašpárek, *Anorganická chemie*,: 4. vyd. (2009) 281–284.
- [6] J. Klikorka, B. Hájek, J. Votinský, *Obecná a anorganická chemie*, 2. vyd. Praha: STNL (1989) 550-570.
- [7] R.B. Heslop, K. Jones, *Anorganická chemie* (1976).
- [8] H. Remy, *Anorganická chemie: II. díl*, 2. vyd. Praha: STNL (1971) 340-350.
- [9] M.A. Jakupec, M. Galanski, V.B. Arion, C.G. Hartinger, B.K. Keppler, Antitumour metal compounds: more than theme and variations. *Dalt. Trans.* 0 (2008) 183–194.
- [10] L. Kelland, The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat. Rev. Cancer* 7 (2007) 573–584.
- [11] M. Gielen, E.R.T. Tiekink, *Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine*, Hoboken, N.J.: Wiley, (2005) 489-490.
- [12] R. Trondl, P. Heffeter, C.R. Kowol, M.A. Jakupec, W. Berger, B.K. Keppler, NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application, *Chem. Sci.* 5 (2014) 2925–2932.
- [13] A. Bergamo, G. Sava, Ruthenium complexes can target determinants of tumour malignancy, *Dalt. Trans.* (2007) 1267.
- [14] G.S. Smith, B. Therrien, Targeted and multifunctional arene ruthenium chemotherapeutics, *Dalt. Trans.* 40 (2011) 10793–10800.
- [15] E. Alessio, Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field

- of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2017) 1549–1560.
- [16] C. Scolaro, T.J. Geldbach, S. Rochat, A. Dorcier, C. Gossens, A. Bergamo, M. Cocchietto, I. Tavernelli, G. Sava, U. Rothlisberger, P.J. Dyson, Influence of hydrogen-bonding substituents on the cytotoxicity of RAPTA compounds, *Organometallics* 25 (2006) 756–765.
- [17] C.G. Hartinger, P.J. Dyson, Bioorganometallic chemistry—from teaching paradigms to medicinal applications, *Chem. Soc. Rev.* 38 (2009) 391–401.
- [18] A. Habtemariam, M. Melchart, R. Fernández, S. Parsons, I.D.H. Oswald, A. Parkin, F.P.A. Fabbiani, J.E. Davidson, A. Dawson, R.E. Aird, D.I. Jodrell, P.J. Sadler. Structure-activity relationships for cytotoxic ruthenium(II) arene complexes containing N,N-, N,O-, and O,O-chelating ligands, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 6858–6868.
- [19] B.S. Murray, M. V. Babak, C.G. Hartinger, P.J. Dyson, The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors, *Coord. Chem. Rev.* 306 (2016) 86–114.
- [20] C.G. Hartinger, N. Metzler-Nolte, P.J. Dyson, Challenges and Opportunities in the Development of Organometallic Anticancer Drugs, *Organometallics* 31 (2012) 5677–5685.
- [21] D. Colangelo, A. Ghiglia, A. Ghezzi, M. Ravera, E. Rosenberg, F. Spada, D. Osella, Water-soluble benzoheterocycle triosmium clusters as potential inhibitors of telomerase enzyme, *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 505–512.
- [22] V.K. Kien, K.L. Weng, L.H.K. Lim, Osmium carbonyl clusters containing labile ligands hyperstabilize microtubules, *Chem. Res. Toxicol.* 22 (2009) 1116–1122.
- [23] K.V. Kong, W.K. Leong, S.P. Ng, T.H. Nguyen, L.H.K. Lim, Osmium carbonyl clusters: A new class of apoptosis inducing agents, *ChemMedChem* 3 (2008) 1269–1275.
- [24] N.P.E. Barry, F. Edeaf, P.J. Dyson, B. Therrien, Anticancer activity of osmium metalla-rectangles, *Dalt. Trans.* 39 (2010) 2816–2820.
- [25] N. Muhammad, Z. Guo, Metal-based anticancer chemotherapeutic agents, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 19 (2014) 144–153.
- [26] C.G. Hartinger, A.D. Phillips, A.A. Nazarov, Polynuclear Ruthenium, Osmium and Gold Complexes. The Quest for Innovative Anticancer Chemotherapeutics, *Curr.*

- Top. Med. Chem. 11 (2011) 2688–2702.
- [27] B. Cebrián-Losantos, A.A. Krokhin, I.N. Stepanenko, R. Eichinger, M.A. Jakupec, V.B. Arion, B.K. Keppler, Osmium NAMI-a analogues: Synthesis, structural and spectroscopic characterization, and antiproliferative properties, *Inorg. Chem.* 46 (2007) 5023–5033.
- [28] A. Egger, B. Cebrián-Losantos, I.N. Stepanenko, A.A. Krokhin, R. Eichinger, M.A. Jakupec, V.B. Arion, B.K. Keppler, Hydrolysis and cytotoxic properties of osmium(II)/(III)-DMSO-Azole complexes, *Chem. Biodivers.* 5 (2008) 1588–1593.
- [29] G.E. Büchel, I.N. Stepanenko, M. Hejl, M.A. Jakupec, B.K. Keppler, V.B. Arion, En Route to Osmium Analogues of KP1019: Synthesis, Structure, Spectroscopic Properties and Antiproliferative Activity of trans -[Os<sup>IV</sup>Cl<sub>4</sub>(Hazole)<sub>2</sub>], *Inorg. Chem.* 50 (2011) 7690–7697.
- [30] G.E. Büchel, A. Gavriluta, M. Novak, S.M. Meier, M.A. Jakupec, O. Cuzan, C. Turta, J.B. Tommasino, E. Jeanneau, G. Novitchi, D. Luneau, V.B. Arion, Striking difference in antiproliferative activity of ruthenium-and osmium-nitrosyl complexes with azole heterocycles, *Inorg. Chem.* 52 (2013) 6273–6285.
- [31] W-X. Ni, W-L. Man, S-M. Yiu, M. Ho, M.T-W. Cheung, C-C. Ko, C-M. Che, Y-W. Lam, T-C. Lau, Osmium(VI) nitrido complexes bearing azole heterocycles: a new class of antitumor agents, *Chem. Sci.* 3 (2012) 1582–1588.
- [32] Q. Tang, W-X. Ni, C-F. Leung, W-L. Man, K.K-K. Lau, Y. Liang, Y-W. Lam, W-Y. Wong, S-M. Peng, G-J. Liu, T-C. Lau, Synthesis and antitumor activity of a series of osmium(VI) nitrido complexes bearing quinolinolato ligands, *Chem. Commun.* 49 (2013) 9980–9982.
- [33] K. Suntharalingam, T.C. Johnstone, P.M. Bruno, W. Lin, M.T. Hemann, S.J. Lippard, Bidentate ligands on osmium(VI) nitrido complexes control intracellular targeting and cell death pathways, *J. Am. Chem. Soc.* 135 (2013) 14060–14063.
- [34] H.Z.S. Lee, W.K. Leong, S. Top, A. Vessières, Cytotoxic triosmium carbonyl clusters: A structure-activity relationship study, *ChemMedChem* 9 (2014) 1453–1457.
- [35] G.E. Büchel, I.N. Stepanenko, M. Hejl, M.A. Jakupec, V.B. Arion, B.K. Keppler, [Os<sup>IV</sup>Cl<sub>5</sub>(Hazole)] – Complexes: Synthesis, Structure, Spectroscopic Properties, and Antiproliferative Activity, *Inorg. Chem.* 48 (2009) 10737–10747.
- [36] Y. Fu, A. Habtemariam, A.M. Pizarro, S.H. Van Rijt, D.J. Healey, P.A. Cooper,

- S.D. Shnyder, G.J. Clarkson, P.J. Sadler, Organometallic osmium arene complexes with potent cancer cell cytotoxicity, *J. Med. Chem.* 53 (2010) 8192–8196.
- [37] A. Bergamo, A. Masi, A.F.A. Peacock, A. Habtemariam, P.J. Sadler, G. Sava, In vivo tumour and metastasis reduction and in vitro effects on invasion assays of the ruthenium RM175 and osmium AFAP51 organometallics in the mammary cancer model. *J. Inorg. Biochem.* 104 (2010) 79–86.
- [38] S.D. Shnyder, Y. Fu, A. Habtemariam, S.H. Van Rijt, P.A. Cooper, P.M. Loadman, P.J. Sadler, Anti-colorectal cancer activity of an organometallic osmium arene azopyridine complex, *Medchemcomm.* 2 (2011) 666–668.
- [39] Y. Fu, A. Habtemariam, A.M.B.H. Basri, D. Braddick, G.J. Clarkson, P.J. Sadler, Structure–activity relationships for organometallic osmium arene phenylazopyridine complexes with potent anticancer activity, *Dalt. Trans.* 40 (2011) 10553–10562.
- [40] I. Romero-Canelón, L. Salassa, P.J. Sadler, The contrasting activity of iodido versus chlorido ruthenium and osmium arene azo- and imino-pyridine anticancer complexes: Control of cell selectivity, cross-resistance, p53 dependence, and apoptosis pathway, *J. Med. Chem.* 56 (2013) 1291–1300.
- [41] M. Hanif, A.A. Nazarov, C.G. Hartinger, W. Kandioller, M.A. Jakupec, V.B. Arion, P.J. Dyson, B.K. Keppler, Osmium(II)–*versus* ruthenium(II)–arene carbohydrate-based anticancer compounds: similarities and differences, *Dalt. Trans.* 39 (2010) 7345–7352.
- [42] R.E. Morris, R.E. Aird, P. Del Socorro Murdoch, H. Chen, J. Cummings, N.D. Hughes, S. Parsons, A. Parkin, G. Boyd, D.I. Jodrell, P.J. Sadler, Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) arene complexes, *J. Med. Chem.* 44 (2001) 3616–3621.
- [43] O. Novakova, J. Kasparkova, V. Bursova, C. Hofr, M. Vojtiskova, H. Chen, P.J. Sadler, V. Brabec, Conformation of DNA modified by monofunctional Ru(II) arene complexes: Recognition by DNA binding proteins and repair. Relationship to cytotoxicity, *Chem. Biol.* 12 (2005) 121–129.
- [44] T. Stringer, B. Therrien, D.T. Hendricks, H. Guzgay, G.S. Smith. Mono- and dinuclear ( $\eta^6$ -arene) ruthenium(II) benzaldehyde thiosemicarbazone complexes: Synthesis, characterization and cytotoxicity, *Inorg. Chem. Commun.* 14 (2011) 956–960.
- [45] T. Bugarcic, A. Habtemariam, J. Stepankova, P. Heringova, J. Kasparkova, R.J.

- Deeth, R.D.L. Johnstone, A. Prescimone, A. Parkin, S. Parsons, V. Brabec, P.J. Sadler, The contrasting chemistry and cancer cell cytotoxicity of bipyridine and bipyridinediol ruthenium(II) arene complexes, *Inorg. Chem.* 47 (2008) 11470–11486.
- [46] C.M. Clavel, E. Păunescu, P. Nowak-Sliwinska, A.W. Griffioen, R. Scopelliti, P.J. Dyson, Discovery of a highly tumor-selective organometallic ruthenium(II)-arene complex, *J. Med. Chem.* 57 (2014) 3546–3558.
- [47] M.J. Chow, C. Licon, D. Yuan Qiang Wong, G. Pastorin, C. Gaiddon, W.H. Ang, Discovery and investigation of anticancer ruthenium-arene Schiff-base complexes via water-promoted combinatorial three-component assembly, *J. Med. Chem.* 57 (2014) 6043–6059.
- [48] M.J. Chow, M. V. Babak, D.Y.Q. Wong, G. Pastorin, C. Gaiddon, W.H. Ang, Structural determinants of p53-independence in anticancer ruthenium-arene Schiff-base complexes, *Mol. Pharm.* 13 (2016) 2543–2554.
- [49] A.F.A. Peacock, S. Parsons, P.J. Sadler, Tuning the hydrolytic aqueous chemistry of osmium arene complexes with N,O-chelating ligands to achieve cancer cell cytotoxicity, *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007) 3348–3357.
- [50] S.H. Van Rijt, A. Mukherjee, A.M. Pizarro, P.J. Sadler, Cytotoxicity, hydrophobicity, uptake and distribution of osmium(II) anticancer complexes in ovarian cancer cells, *J. Med. Chem.* 53 (2010) 840–849.
- [51] O. Novakova, H. Chen, O. Vrana, A. Rodger, P.J. Sadler, V. Brabec, DNA Interactions of Monofunctional Organometallic Ruthenium(II) Antitumor Complexes in Cell-free Media, *J. Med. Chem.* 42 (2008) 11544–11554.
- [52] E. Máčalová, Biologicky aktivní komplexy vybraných kovů VIII.B skupiny, Olomouc, Bakalářská práce (bc.). Univerzita Palackého, Přírodovědecká fakulta, katedra anorganické chemie (2016) 23–24.
- [53] P. Štarha, Z. Trávníček, R. Křikavová, Z. Dvořák, Half-Sandwich Ru(II) Halogenido, Valproato and 4-Phenylbutyrato Complexes Containing 2,2'-Dipyridylamine: Synthesis, Characterization, Solution Chemistry and In Vitro Cytotoxicity, *Molecules* 21 (2016) 1725.
- [54] P. Govindaswamy, Y.A. Mozharivskyj, M.R. Kollipara, Syntheses, spectral and structural studies of Schiff base complexes of  $\eta^5$ -pentamethylcyclopentadienyl rhodium and iridium, *Polyhedron* 24 (2005) 1710–1716.



- [55] Bruker, Apex3. Bruker AXS Inc. Madison (2015).
- [56] G.M. Sheldrick, *Acta Cryst. C* 71 (2015) 3.
- [57] J. van de S. and P.A.W. C. F. Macrae, I. J. Bruno, J. A. Chisholm, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, Mercury CSD 2.0—New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures, *J. Appl. Crystallogr.* 41 (2008) 466–470.
- [58] P. Štarha, Z. Trávníček, R. Herchel, P. Jewula, Z. Dvořák, A potential method to improve the in vitro cytotoxicity of half-sandwich Os(II) complexes against A2780 cells, *Dalt. Trans.* 47 (2018) 5714–5724.
- [59] H. Samouei, V. V Grushin, New, Highly Efficient, Simple, Safe, and Scalable Synthesis of  $[(\text{Ph}_3\text{P})_3\text{Ru}(\text{CO})(\text{H})_2]$ , *Organometallics* 32 (2013) 4440–4443.
- [60] N.W. Alcock, K.S. Claire, I.D. Burns, A.F. Hill, Ruthenatetraboranes: Synthesis of  $[\text{Ru}(\text{B}_3\text{H}_8)(\text{PPh}_3)\{\text{HB}(\text{pz})_3\}]$  and Crystal Structure of  $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2\{\text{HB}(\text{pz})_3\}]$  (pz = Pyrazol-1-yl), *Inorg. Chem.* 31 (1992) 2906–2908.
- [61] S. Kostera, B. Wyrzykiewicz, P. Pawluć, B. Marciniak, Ruthenium-catalyzed deaminative redistribution of primary and secondary amines, *Dalt. Trans.* 46 (2017) 11552–11555.
- [62] A. Ali, F.P. Malan, E. Singleton, R. Meijboom, Fulvene-ruthenium and Cp-ruthenium complexes via  $[2 + 2 + 1]$  cyclootrimerization of phenylacetylene with  $[\text{RuCl}(\text{Tp})(1,5\text{-cod})]$ , *Organometallics* 33 (2014) 5983–5989.