

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



Potenciálně biologicky aktivní koordinační sloučeniny
vanadu s O,O-donorovými ligandy

Diplomová práce

Vypracoval: Bc. Igor Řezáč

Studijní program: N0114A130002 - Učitelství chemie pro střední školy

Studijní obor: Učitelství chemie pro střední školy/Učitelství matematiky pro 2. stupeň
základních škol

Forma studia: Prezenční

Vedoucí práce: doc. RNDr. Michal Čajan, Ph.D.

Olomouc 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně pod odborným vedením doc. RNDr. Michala Čajana, Ph.D., a veškeré uvedené zdroje uvedl v seznamu citované literatury.

V Olomouci dne:

.....

Igor Řezáč

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu mé diplomové práce doc. RNDr. Michalu Čajanovi, Ph.D., za odborné vedení, trpělivost, cenné připomínky a čas, který mi věnoval. Dále děkuji doc. PharmDr. Jánovi Vančovi, Ph.D. za pomoc při realizaci hmotnostní spektrometrie. Také děkuji své rodině za trpělivost a podporu během mého studia.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení:	Bc. Igor Řezáč
Název práce:	Potenciálně biologicky aktivní koordinační sloučeniny vanadu s O,O-donorovými ligandy
Typ práce:	Diplomová práce
Pracoviště:	Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Michal Čajan, Ph.D.
Rok obhajoby:	2021
Abstrakt:	<p>Diplomová práce se věnuje problematice bioanorganické chemie prvků 5. skupiny periodické soustavy prvků. V teoretické části je zaměřena pozornost na vybrané koordinační sloučeniny vanadu a jejich možnou biologickou aktivitou, zejména při léčbě různých typů rakoviny. Dále jsou jen ve stručnosti zmíněny sloučeniny niobu a tantalů. Experimentální část je zaměřena na pokusy o přípravu koordinačních sloučenin vanadu s O,O-donorovými ligandy a jejich následnou charakterizaci. Vykonané pokusy o přípravu sloučenin však nevedly k jednoznačně identifikovatelným produktům.</p>
Klíčová slova:	vanad, rakovina, biologická aktivita, komplexní sloučeniny
Počet stran:	64
Počet příloh:	0
Jazyk:	český

Bibliographical identification

Author's name and surname:	Bc. Igor Řezáč
Title:	Coordination compounds of vanadium and O,O-donor ligands with potential biological activity
Type of thesis:	Diploma thesis
Department:	Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc
Supervisor:	doc. RNDr. Michal Čajan, Ph.D.
The presentation year:	2021
Abstract:	<p>The diploma thesis deals with the issue of bioinorganic chemistry of elements of the fifth group of the periodic system of elements. The theoretical part focuses on selected coordination compounds of vanadium and their possible biological activity, mainly in cancer therapy. The compounds of niobium and tantalum are only briefly mentioned below. The experimental part is focused on experiments on the preparation of coordination compounds of vanadium with O, O-donor ligands and their subsequent characterization. However, attempts to prepare these compounds have not resulted in clearly identifiable solid products</p>
Keywords:	vanadium, cancer, biological activity, complex compounds
Number of pages:	64
Number of appendices:	0
Language:	Czech

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Vanad	9
2.1.1	Sloučeniny vanadu.....	9
2.2	Biologická aktivita sloučenin vanadu	11
2.2.1	Vanad v léčbě rakoviny	12
2.2.1.1	Vanadoceny	13
2.2.1.2	Sloučeniny vanadu s organickými ligandy	14
2.2.1.3	Komplexy vanadu s flavonoidy	21
2.2.2	Sloučeniny vanadu s antibakteriálními účinky.....	27
2.2.3	Vanad a <i>diabetes mellitus</i>	32
2.3	Sloučeniny niobu a tantalu	35
3	VÝSLEDKY A DISKUZE	40
3.1	Chemikálie a rozpouštědla.....	40
3.2	Příprava komplexů	41
3.3	Hmotnostní spektrometrie	50
4	ZÁVĚR	56
5	SEZNAM ZKRATEK.....	58
6.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	59

1 ÚVOD

Stále aktuálním problémem medicíny a příbuzných oborů je léčba, respektive zvýšení efektivity léčby závažných onemocnění, které následnými komplikacemi negativním způsobem omezují kvalitu života a často vedou k úmrtí postiženého pacienta. Nádorová onemocnění jsou po kardiovaskulárních onemocnění druhou nejčastější příčinou smrti. Nádorovou tkáň lze charakterizovat nekontrolovaným dělením nádorových buněk a ztrátou některých jejich důležitých vlastností, což umožňuje jejich diseminaci do jiných orgánů a tkání a tím tvorbu metastáz. Současně s rozvojem poznatků o regulaci dělení buněk, důležitých kontrolních bodech buněčného cyklu, účasti důležitých regulačních proteinů na regulaci fyziologického procesu tvorby a zániku buněk medicína postupně vyvíjela a vyvíjí možnosti omezení růstu nádorových buněk a hledá co nejefektivnější a nejspecifičtější způsob léčby. Historicky nejstarším řešením bylo chirurgické odstranění nádorové tkáně (bylo dokumentováno na papyrech ve starověkém Egyptě, nyní vystavených v muzeu v Lipsku), následně radioterapie, případně hormonální léčba (koncem 19. století) (1). Cytostatická (vyvíjená hlavně ve 20. století) vycházela z jednoduchého předpokladu – na růst a dělení nádorových buněk je nutná tvorba DNA a tvorba bílkovin. Tedy omezením dostupnosti substrátů lze zpomalit proliferaci nádoru. Na to se využívala analoga purinových a pyrimidinových bází (6-merkaptopurin, dále 6-MP, nebo fluorouracil), které po přeměně na příslušné modifikované nukleotidy inhibují tvorbu nukleotidů – základních stavebních jednotek potřebných na replikaci DNA. Nevyužívaly se pouze deriváty nukleových bází. Objev koordinačních sloučenin na počátku 20. století Alfredem Wernerem vedl k rozvoji bioanorganické chemie a hledání takových komplexů, které by mohly být efektivně používány nejen v léčbě. Průlomem v tomto odvětví byl objev biologických účinků cisplatin v 60. letech 20. století a jejich dalších derivátů, které jsou v současné době jedním z nejrozšířenějších chemoterapeutik (2). Nevýhodou léčby cisplatinou či chemoterapií je však obecně vícero skutečností. Jednak postihuje nejen nádorové buňky, ale také buňky všech rychle se dělících tkání (například kostní dřeň, střevní sliznice, apod.), což častokrát vede k tak závažným komplikacím, že léčba pokračovat nemůže. Kromě toho jsou nádorové buňky schopny vyvinout si postupně rezistenci na podávané léky. Proto není překvapením, že vývoj nových látek se v současnosti cílí na specifické proteiny nesoucí hlavní díl zodpovědnosti za nekontrolované dělení buněk. Příkladem takových látek mohou být komplexy přechodných kovů, například v práci pojednávaném vanadu s různými organickými ligandy, která mohou být využita také jako vhodná cytostatika. Tyto komplexní

sloučeniny však mohou být použity i jako terapeutika jiného typu, například pro stabilizaci normální hladiny glukosy v krvi při postižení diabetem.

Cílem předložené diplomové práce bylo vypracovat literární rešerši uvádějící přehled komplexních sloučenin vanadu využitelných v medicíně, zejména v léčbě rakoviny. V rámci experimentální části bylo cílem pokusit se připravit komplexní sloučeniny vanadu zejména s O,O-donorovými ligandy, případně je charakterizovat dostupnými analytickými metodami.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vanad

Vanad (latinsky *Vanadium*) je stříbrolesklý, kujný a poměrně tvrdý kov s vysokými teplotami tání a varu, hustotou $6,11 \text{ g/cm}^3$. Teploty tání a varu jsou 1915°C , respektive 3350°C . Za normální teploty se ovšem jedná o poměrně málo reaktivní prvek. Jeho postavení v periodickém systému jej řadí mezi přechodné prvky - nachází se ve 4. periodě a 5. skupině, a má protonové číslo 23 a elektronovou konfiguraci valenční sféry $[\text{Ar}]4s^23d^3$ (3). Ve vzorku olovněné rudy v Mexiku našel španělsko-mexický vědec A. M. del Rio neznámý prvek, který nazval jako Erythronium. Později francouzský vědec H. V. Collet-Descotils přišel s názorem, že se nejedná o nový prvek, nýbrž usuzoval, že se jedná o chroman draselný. V roce 1830 švédský chemik N. G. Sefström znovu tento prvek objevil ve švédských rudách a dal mu jméno Vanad, podle skandinávské bohyně krásy Vanadis (3).

Vanad se v zemské kůře vyskytuje v množství cca 136 ppm. I přesto, že se na Zemi vyskytuje řada minerálů obsahujících vanad, neexistují významnější, specificky na vanad bohatá naleziště. Nejznámější a nejpoužívanější minerály, ze kterých se vanad získává, jsou *patronit* – VS_4 , *vanadinit* – $\text{PbCl}_2 \cdot 3\text{Pb}_3(\text{VO}_4)_2$ a *karnotit* – $\text{K}(\text{UO}_2)\text{VO}_4 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ (3).



Obrázek 1: Patronit (vlevo) a vanadinit (vpravo) (4)

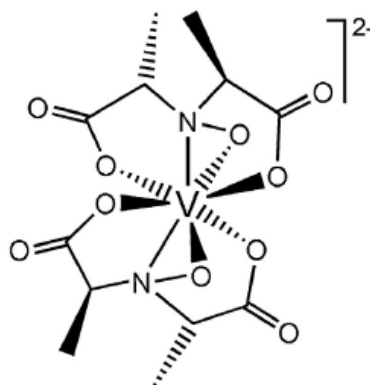
2.1.1 Sloučeniny vanadu

Vanad se ve sloučeninách může vyskytovat v různých oxidačních stavech (-III, -I, 0, I, II, III, IV, V). Ve vodných roztocích se vyskytuje v oxidačních stavech od +II po +V a v biologických systémech se nachází v stavech +III, +IV, +V (5) (6) a některé z těchto biologických forem jsou zmíněny v kapitole biologie vanadu. Nejstabilnější oxidační číslo ve sloučeninách je +IV, dobře popsané jsou i sloučeniny s oxidačním stavem +II a +III, které se řadí mezi redukční činidla. Oxidy vanadu tvoří ve 4 oxidačních stavech. Žlutočerný oxid

vanadičný (V_2O_5) má poměrně složitou strukturu skládající se z deformovaných trigonálních bipyramid, které jsou spojeny do lomených řetězců, a používá se jako katalyzátor. Další z řady oxidů, temně modrý oxid vanadičitý (VO_2), má amfoterní charakter. Reakcí s neoxidujícími kyselinami vytváří kationt vanadyl (VO^{2+}), který má značné uplatnění v komplexech s potenciální biologickou aktivitou. Dále jsou známy také černý oxid vanaditý (V_2O_3) a šedý oxid vanadnatý (VO), které ale nemají praktický význam. Mimo oxidů jsou známy také halogenidy. V oxidačních stavech +II až +IV jsou známy, vyjma jodidu vanadičného, všechny, v oxidačním stavu +V pouze fluorid. Jsou známy také sulfidy, selenidy, telluridy. Ovšem jejich stechiometrie je velmi komplikovaná (7). Koordinační sloučeniny tvoří vanad ve všech výše uvedených stavech, z nichž nejvíce jsou popsány oxidační stavy +II až +V. V záporných oxidačních stavech byly připraveny většinou komplexy s elektroneutrálními ligandy, jako je karbonyl. V oxidačním stavu +II jsou nejběžnějšími zástupci komplexy typu $[V(H_2O)_6]^{2+}$ a $[V(CN)_6]^{4-}$ s oktaedrickým uspořádáním a konfigurací d^3 . Komplexy s vanadem v oxidačním stavu +III jsou kationtové, aniontové i neutrální povahy, z nichž mezi běžnější patří aniontové komplexní částice typu $[VX_6]^{3-}$ a neutrální komplexy typu $[V(Cl)_3L_3]$ s koordinacním číslem 6 a konfigurací d^2 . Známy jsou i komplexy s koordinacími čísly 4 či 5 a zcela výjimečně i 7 (3). Příkladem sloučeniny s koordinacním číslem 7 je komplex $[VO(S_2CNEt_2)_3]$ (8). Připravena byla také celá řada komplexů vanadu v oxidačním stavu +IV s O-donorovými, chloro-, fluoro- a N-donorovými ligandy s koordinacími čísly od 4 do 8 a konfigurací d^1 . Mezi významné komplexy s oxidačním stavem +IV patří sloučeniny s vanadylovým kationtem. V oxidačním stavu +V jsou známy obdobné komplexy jako s oxidačním číslem +IV, tedy koordinacími čísly od 4 do 8 s konfigurací d^0 . Významnými komplexy jsou hexafluorovanadičnany typu $[VX_6]^-$ a také peroxovanadičné komplexy, jejichž forma je závislá zejména na pH podmínkách. V neutrálním až alkalickém prostředí se vyskytují anionty dioxo-diperoxovanadičnanové $[VO_2(O_2)_2]^{3-}$ a v kyselém prostředí pak kationty peroxovanadičné $[V(O_2)]^{3+}$ (3).

2.2 Biologická aktivita sloučenin vanadu

Vanad je prvek nacházející se nejen v zemské kůře, ale také v mořské vodě či vodách podzemních (v množství do 100 µg/l), a je také součástí biosféry. Přítomnost vanadu byla zjištěna v některých mořských řasách, kde vystupuje v aktivním centru haloperoxidas jako je vanad bromperoxidasa (5) nebo vanad chlorperoxidasa v houbě *Curvularia inaequalis*, které tyto organismy používají zejména k odstranění peroxidu vodíku (9). Vanad je také součástí enzymu nitrogenasy, pomocí kterého dochází k fixaci atmosférického dusíku, který rostliny nejsou schopny přijímat. Jedná se tedy o specifický enzym, který dokáže transformovat velmi stabilní molekuly dusíku na lépe stravitelné formy, zejména na amonné kationty, které jsou pro rostliny příznivější (5). Další sloučeninou obsahující vanad v biologických systémech je amavadin, nacházející se v houbě *Amanita muscaria*, tedy v muchomůrce červené. Amavadin, uvedený na obrázku 2, obsahuje atom vanadu v oxidačním stavu +IV vázaný na dva tetradentátní ligandy odvozené od N-hydroxyimino-2,2'-dipropionové kyseliny (10).



Obrázek 2: Strukturní vzorec amavadinu. (10)

Vanad se vyskytuje také v léčivých rostlinách, například v tymiánu s průměrným obsahem 0,5 mg V na kg sušiny, a dalších (11). Vanad je považován za stopový prvek, o kterém se v poslední době začíná stále více uvažovat v rámci jeho možného přínosu pro člověka. Udává se, že denní příjem vanadu u lidí je v řádu několika setin miligramu. Toto malé množství vanadu, které přijímáme spolu s živinami a pitnou vodou, je údajně prospěšné. Nadměrné množství přijímaného vanadu – v oblastech s vysokou koncentrací vanadu pocházejícího z přírodních usazenin nebo lidské činnosti, například oxidů vanadu vdechovaných ze vzduchu v průmyslových oblastech, jsou toxické. Například vdechování

oxidů vede k dráždivým účinkům na sliznici dýchacích cest následované rozvojem plicních chorob, a krajním případě smrti (12).

Většina „moderních“ léčivých sloučenin na bázi vanadu obsahuje vanadylový kation VO^{2+} zabudovaný do systému organických ligandů. Hlavní sloučenina, která zprostředkovává transport vanadu ve formě VO^{2+} v krevním systému je *transferrin*, dalším vhodným transportérem je případně *albumin* (13). O využití vanadu jako léčiva se začalo uvažovat při léčbě diabetu, kde si výzkumníci všimli, že podáváním jednoduchých anorganických solí obsahující vanad dochází ke snížení hladiny glukosy v krvi laboratorních myši s uměle vyvolaným diabetem. V 80. letech 20. století se výzkum biologické aktivity sloučenin vanadu výrazně zintenzivnil (14) (15). Ukázalo se, že sloučeniny vanadu vykazují hned několik zajímavých terapeutických účinků. Zejména se jedná o účinky antidiabetické, protirakovinné, antiproliferativní či proapoptické, ale také antibakteriální. Pozornost je věnována zejména antidiabetickým a protinádorovým vlastnostem komplexů vanadu, a to především kvůli relativně nízké toxicitě těchto sloučenin (16).

2.2.1 Vanad v léčbě rakoviny

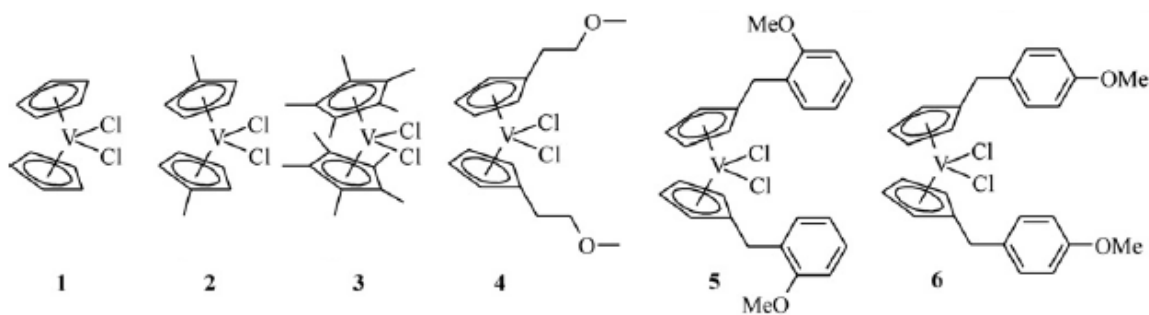
Rakovina byla a stále je považována za jedno z nejzávažnějších onemocnění na světě. Její léčba vyžaduje hluboké znalosti procesů, které iniciují a rozvíjejí chemické a biologické fenotypy onemocnění. V posledních letech bylo připraveno mnoho koordinačních sloučenin vanadu s možnými protinádorovými účinky, ovšem základní mechanismy působení těchto látek nejsou doposud zcela objasněny. Tyto sloučeniny pravděpodobně ovlivňují hladiny reaktivních forem kyslíku (dále ROS), které jsou rozhodující pro osud buňky. Akumulace těchto forem v normálních buňkách přispívá k oxidaci různých buněčných složek, včetně nukleových kyselin, proteinů a lipidů. Vysoké hladiny ROS jsou pro buňky cytotoxické a spouštějí apoptotické mechanismy (17). U rakovinové buňky pomocí ROS dochází k regulaci enzymatické fosforylace, která vede k rozmanitým účinkům v různých biologických systémech. K dalším účinkům koordinačních sloučenin vanadu lze zařadit i vliv na signální dráhy, které regulují proliferaci buněk a apoptózu. Jedná se například o ovlivnění aktivity cyklin-dependentních kinas (dále CDK), které hrají důležitou úlohu v kontrolních bodech buněčného cyklu – přechodu buňky z G1 do S fáze a přechodu z G2 do M fáze. Inhibice přechodu z G1 do S fáze neumožní nádorové buňce replikovat genetický materiál, blokáci G2 kontrolního bodu se zabrání rozdělení nádorové buňky. Aktivace apoptózy uvedenými sloučeninami může souviset s účinkem na mitochondrie s následným uvolněním cytochromu c, který působí jako aktivátor kaspas, což jsou enzymy zúčastňující

se programované smrti buněk (18). V rámci různých skupin byla syntetizována a charakterizována celá řada sloučenin vanadu s různými ligandy, které se jeví jako potenciální terapeutika pro léčbu rakoviny. Dosud připravené sloučeniny vanadu lze rozdělit na organokovové vanadoceny a na neorganokovové sloučeniny, a je jim věnován následující text.

2.2.1.1 Vanadoceny

Vanadoceny patří do skupiny metalocenů organokovových sloučenin, které obsahují kovový ion vázaný mezi dvěma paralelně orientovanými aromatickými kruhy. Prvním připraveným vanadocenem byl bis(cyklopentadienyl)dichlorovanadičitý komplex, $[\text{VCp}_2\text{Cl}_2]$ uvedený na obrázku 3. Tento vanadocen byl rozsáhle studován ve vztahu ke zvířecím a lidským rakovinným buněčným liniím, a při srovnávacích studiích s titanocenem vykazoval vyšší *in vitro* aktivitu, konkrétně docházelo k indukci apoptózy (19). U tohoto typu sloučenin bylo prokázáno, že inhibují růst vícero linií nádorových buněk, ale také růst solidních nádorů *in vivo*. Aktivace apoptózy je v tomto případě velmi podobná proapoptickému mechanismu způsobeným cis-platinou, protože primárně spouští poškození DNA a zabraňuje indukci p53 proteinu (protein, který se podílí na regulaci dělení buněk a jeho poruchy mají na svědomí vznik mnoha typů rakovin). I další studie *in vitro* a *in vivo* odhalily, že vanadoceny vykazují protinádorové vlastnosti (20).

Zajímavá cytotoxická aktivita byla pozorována také u methyl- a methoxy-substituovaných vanadocen dichloridů, uvedených na obrázku 3, ve vztahu k buňkám MOLT-4 (T-lymfocytární buňky leukémie).



Obrázek 3: Strukturní vzorce vanadocenů. (21)

Hodnoty IC₅₀ těchto sloučenin jsou shrnuty v tabulce 1. Z tabulky je patrné, že sloučeniny 3 a 4 vykazovaly nižší cytotoxický účinek než nesubstituovaný analog 1. Nejvyšší cytotoxický účinek byl zjištěn u methoxybenzyl derivátu 5 a 6. (21)

Tabulka 1: Hodnoty IC₅₀ vanadocenů 1-6

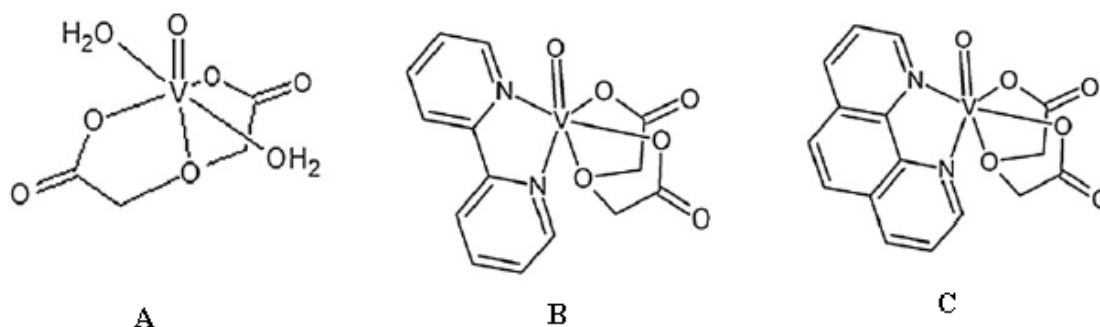
Sloučenina	IC ₅₀ (μM)
1	70 ± 7
2	96 ± 12
3	152 ± 10
4	105 ± 10
5	33 ± 11
6	11 ± 7

2.2.1.2 Sloučeniny vanadu s organickými ligandy

Další skupinou potenciálně biologicky aktivních sloučenin vanadu jsou komplexy, které obsahují (V^{IV}O)²⁺ skupinu s nejčastěji O,O- a O,N- donorovými organickými ligandy. Tyto sloučeniny mohou interagovat jak s DNA, tak také generovat ROS, což může způsobit řadu efektů, například inhibice protein tyrosinfosfatasy, štěpení DNA, oxidační poškození buněčných složek a nakonec spuštění apoptózy (22).

Mezi nejstarší syntetizované a testované terapeutické látky této kategorie patří komplex vanadyly s acetylacetonátem. Kromě jeho inzulín mimetické aktivity byl zdůrazněn i jeho protirakovinný potenciál na buněčné linii lidského hematomu. Ukázalo se, že tento komplex vykazuje hned několik zajímavých vlastností, v malých koncentracích štěpí DNA, je účinnější než anorganická sůl vanadyl sulfát při stimulaci aktivity cytosolové proteinkinasy, nebo také indukuje mitochondriální toxicitu prostřednictvím mechanismů oxidačního stresu (23) (24).

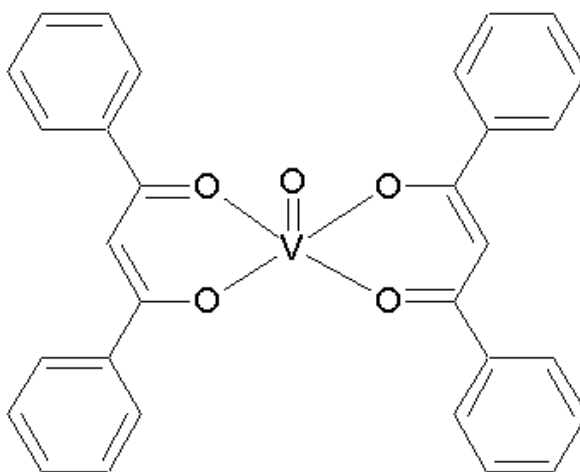
Dalšími testovanými komplexy byly sloučeniny s poměrně jednoduchým organickým ligandem odvozeným od oxidoacetátu (oda), $\text{O}(\text{CH}_2\text{COO}^-)_2$. Jedná se o tři komplexy: $[\text{VO}(\text{oda})]$ (A), $[\text{VO}(\text{oda})(\text{bipy})]$ (B), a $[\text{VO}(\text{oda})(\text{phen})]$ (C) uvedené na obrázku 4.



Obrázek 4: Strukturní vzorce komplexů obsahující oxidoacetát.

Tyto komplexní sloučeniny byly testovány na buněčnou linii lidského osteosarkomu (MG-63) a bylo prokázáno, že způsobují inhibici životaschopnosti buněk závislou na koncentraci. Antiproliferativní účinek byl pozorován v celém rozsahu koncentrací pouze u $[\text{VO}(\text{oda})(\text{phen})]$, kdežto u zbylých dvou byl účinek pozorován při vyšších koncentracích. Z testů je patrné, že nejsilnější účinek byl zaznamenán v pořadí $[\text{VO}(\text{oda})(\text{phen})] > [\text{VO}(\text{oda})(\text{bipy})] > [\text{VO}(\text{oda})]$. Procento přežití buněk při 100 μM pro každý komplex bylo 39% pro $[\text{VO}(\text{oda})(\text{phen})]$, 70% pro $[\text{VO}(\text{oda})(\text{bipy})]$ a 84% pro $[\text{VO}(\text{oda})]$ (25).

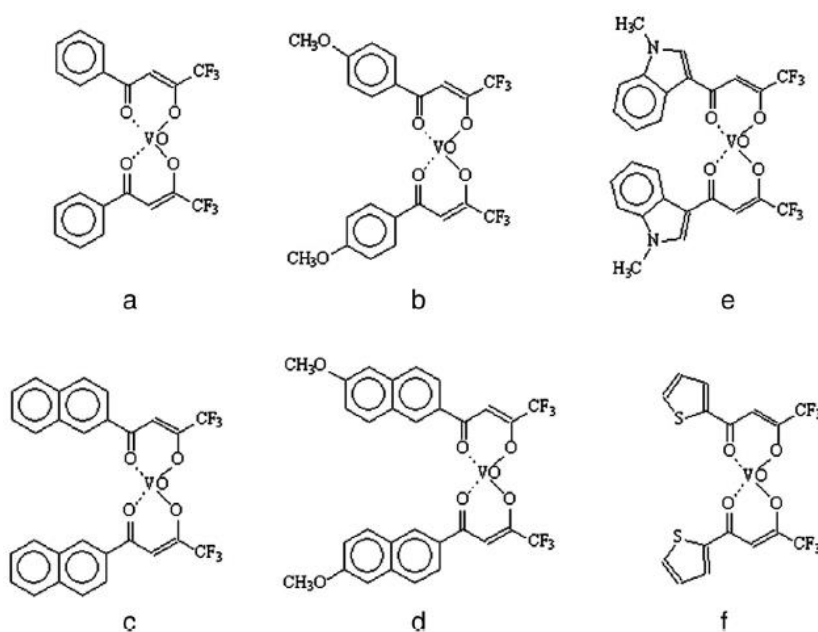
Jak bylo výše uvedeno již komplex vanadu s acetylacetonátem vykazoval slibné účinky vůči rakovinným buňkám. Proto není překvapivé, že byly následně připraveny i další sloučeniny s podobnou strukturou mající ve své struktuře aromatická jádra, atomy fluoru nebo obojí (obrázky 5 a 6). Mezi takové komplexy patří bis(1,3-difeny-1,3-propandionato)oxovanadičitý komplex, $[\text{VO}(\text{dfp})_2]$, jehož strukturní vzorec je uveden na obrázku 5. Komplex byl testován *in vitro* na antiproliferativní aktivitu vůči buněčným liniím rakovinných buněk typu HPG-2 (buněčná linie rakoviny jater), HT-29 (buněčná linie rakoviny tlustého střeva) a MCF-7 (buněčná linie rakoviny prsu).



Obrázek 5: Strukturní vzorec $[\text{VO}(\text{dfp})_2]$.

Z naměřených dat vyplývá, že životaschopnost buněčných linií klesá v závislosti na koncentraci, což naznačilo inhibiční účinek růstu závislým na dávce. Navíc, při nižších koncentracích byla životaschopnost buněk HPG-2 ovlivněna mnohem více, než u zbylých linií. Pro komplexy byly vypočteny hodnoty IC_{50} (koncentrace testované sloučeniny potřebné ke snížení přežití buněk o 50%.) proti buněčným liniím MCF-7, HPG-2 a HT-29 na 7,8, 13,5 a 16,1 mM (26).

Fluorované deriváty, coby ligandy, byly obecně testovány vůči nejrozličnějším typům rakovinných buněčných linií. Testy na životaschopnost buněk byly prováděny na dvou nenádorových buňkách (hTERT-HME1 a podocyty) a na dvou nádorových buňkách (HCT 116 a HT-29 – linie rakoviny tlustého střeva). Experimentální nálezy ukázaly, že normální buněčné linie jsou ve srovnání s nádorovými buňkami citlivější na komplexy a-f.



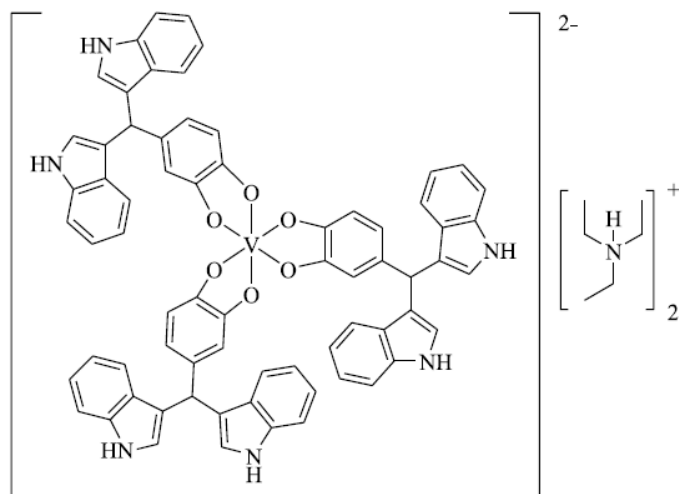
Obrázek 6: Strukturní vzorce komplexů s fluorovanými deriváty jako ligandy (27)

Dále se prokázalo, že zkoumané nádorové linie jsou rezistentní vůči působení volných ligandů i síranu vanadylu, a že komplexací došlo ke zvýšení citlivosti těchto linií. Hodnoty IC_{50} uvedené v tabulce 2 poukazují na skutečnost, že chování komplexů nebylo výrazněji odlišné od $VOSO_4$. Komplexy a-d při nejvyšší koncentraci (50 μM) značně inhibovaly životaschopnost buněk HCT 116 a buňky HT-29 (27).

Tabulka 2: Hodnoty IC_{50} komplexů a-f.

	Hodnoty IC_{50} (mM)			
	hTERT-HME1	podocyty	HCT 116	HT-29
A	$5,83 \pm 1,21$	$1,53 \pm 1,23$	$29,23 \pm 3,28$	$31,70 \pm 3,28$
B	$4,74 \pm 1,21$	$1,82 \pm 1,26$	$32,90 \pm 2,97$	$31,00 \pm 3,28$
C	$6,68 \pm 1,26$	$1,97 \pm 1,24$	$24,39 \pm 4,28$	$26,03 \pm 1,75$
D	$5,64 \pm 1,20$	$2,51 \pm 1,29$	$28,70 \pm 2,30$	$23,10 \pm 1,20$
E	$17,40 \pm 1,20$	$2,98 \pm 1,29$	$33,40 \pm 3,30$	>50,00
F	$11,04 \pm 1,30$	$3,13 \pm 1,38$	>50,00	>50,00
$VOSO_4$	$9,85 \pm 1,20$	$2,12 \pm 1,35$	>50,00	>50,00

K zastavení buněčného cyklu rakovinových buněk ve fázi G2/M docházelo také účinkem bis(triethylamonium) tris[1,1-bis(indol-3-yl)-1-(3,4-katecholáto)]vanadičného komplexu $[V(cat)_3]$, jehož strukturní vzorec je uveden na obrázku 7. Antiproliferativní aktivita tohoto komplexu byla zkoumána ve vztahu k různým rakovinovým buněčným liniím (518A2 – melanom, HT-29 a HCT-116 – linie rakoviny tlustého střeva, KB-V1 – linie rakoviny děložního čípku, MCF-7 a MDA-MB-231 – linie rakoviny prsu, PANC-1 a BxPC-3 – linie rakoviny slinivky), a také proti nezhoubným lidským buňkám epitelu prsu označovaných jako MCF-10a.



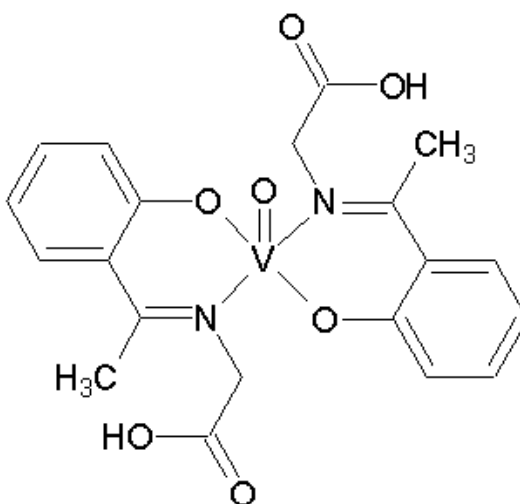
Obrázek 7: Strukturní vzorec $[V(cat)_3]$.

Testovaný komplex vykazoval inhibiční křivku růstu buněk závislou na dávce proti všem testovaným liniím. Účinek tohoto komplexu byl vyhodnocen hodnotami IC_{50} , které jsou uvedené v tabulce 3. Tato sloučenina vykazovala zřetelnou nádorovou selektivitu, vyjádřenou indexem nádorové selektivity (SI), znázorňující poměr hodnot IC_{50} nezhoubného nádoru MCF-10A k zhoubným nádorům (28).

Tabulka 3: Hodnoty IC_{50} stanovené pro $[V(cat)_3]$.

	Hodnoty IC_{50} (μM)	Hodnoty SI
518A2	$3,0 \pm 0,4$	$>13,3$
HT-29	$8,5 \pm 0,4$	$>4,7$
HCT-116	$1,8 \pm 0,1$	>22
KB-V1	$6,8 \pm 0,2$	$>5,9$
MCF-7	$14,7 \pm 1,6$	$>2,7$
MDA-MB-231	$2,5 \pm 0,1$	>16
PANC-1	$1,8 \pm 0,1$	$>22,2$
BxPC-3	$2,8 \pm 0,1$	>16

Další sloučenina, která byla v literatuře popsána jako účinné a relativně netoxické potenciální protirakovinové terapeutikum je $[VO(NG)_2]$, komplex vanadu se Schiffovou bází N-(2-hydroxyacetofenon)glycinátem, uvedený na obrázku 8. *In vitro* testovaná protirakovinová aktivita byla zkoumána u různých typů buněk, konkrétně MCF-7, HCT-116, U373 MG, CCRF-CEM, EAC, Sarcoma 180 a normálních buněk PBMC (29).



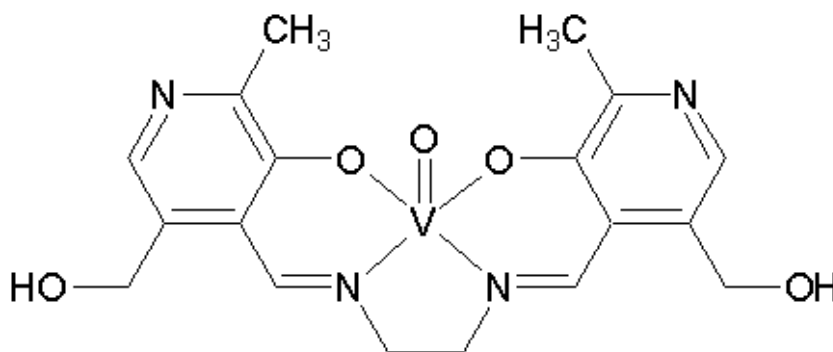
Obrázek 8: Strukturní vzorec $[VO(NG)_2]$.

U připraveného komplexu se prokázala jeho antiproliferativní aktivita, která je závislá na dávce a délce působení. Ukázalo se, že komplex je relativně širokospektrálním protirakovinným činidlem, který vykazuje nižší toxicitu vůči normálním buňkám. Z testů je také patrné, že komplexace zvýšila inhibiční účinek ligandu. Hodnoty IC_{50} a celková inhibice růstu buněk v % při maximální dávce je uvedena v tabulce 4 (29).

Tabulka 4: Hodnoty IC_{50} a celková inhibice růstu buněk stanovené pro $[VO(NG)_2]$.

	IC_{50} [$\mu\text{g/ml}$]	Inhibice [%]
HCT 116	-	$9,9 \pm 2,7$
MCF-7	$1,51 \pm 0,11$	$57,57 \pm 7,9$
U373MG	$28 \pm 1,9$	$79,79 \pm 3,4$
CCRF-CEM	$17,10 \pm 0,93$	$82,82 \pm 4,1$
S180	$12,21 \pm 0,84$	$74,98 \pm 7,0$
EAC/S	-	$47,86 \pm 5,4$
PBMC	-	$11,94 \pm 0,68$

Protirakovinový účinek byl studován a popsán také u N,N-ethylenbis(pyridoxylidenamináto)oxovanadičitého komplexu, označovaného jako $\text{Pyr}_2\text{enVO}(+IV)$, jehož strukturní vzorec je uveden na obrázku 9. Účinky tohoto komplexu byly zkoumány ve vztahu ke dvěma typům nádorových linií, a to lidskému melanomu (A375) a lidskému karcinomu plic (A549). Byla také ověřena toxicita komplexu ve vztahu k normálním buňkám, a to lidským epidermálním keratinocyům NEK, normálním plicním buňkám NuLi-1 a buňkám periferní krve PBMC (periferní krev – krev, která obíhá v cévách).



Obrázek 9: Strukturní vzorec $\text{Pyr}_2\text{enVO}(+IV)$.

Účinky komplexu, volného ligandu a cisplatinu na normální buňky a úmrtnost buněk A375 a A549 byly kvantifikovány hodnotou IC_{50} . V případě buněk A375 byla vypočtena hodnota IC_{50} po 24, 48 a 72 hodinové inkubaci. Tato skutečnost ukázala, že účinek komplexu je závislý na délce působení, a že komplexace zvýšila účinnost ligandu. Naměřené hodnoty byly srovnatelné s cisplatinou v případě rakovinových buněk. Při ošetření normálních buněk vykazoval komplex nižší toxicitu ve srovnání s cisplatinou. Hodnoty jsou pro přehled uvedeny v tabulce 5 (30).

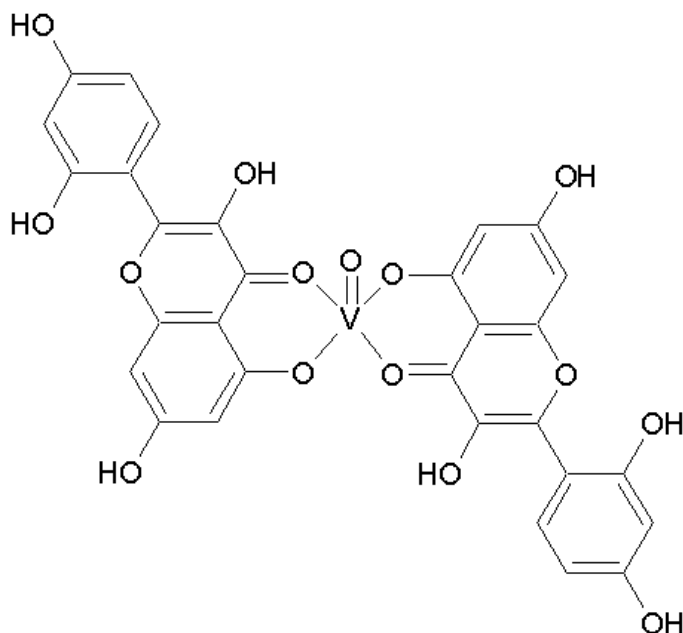
Tabulka 5: Hodnoty IC_{50} stanovené pro Pyr₂enVO.

	IC_{50} (μ M)					
	doba inhibice (hod.)	A375	A579	PBMC	NEK	NuLi-1
Pyr ₂ enVO	24	61,5 \pm 1,5	-	-	-	-
	48	13 \pm 3,2	-	-	-	-
	72	6 \pm 0,6	37,5 \pm 2,1	>100	68 \pm 1,0	100 \pm 0,5
Pyr ₂ en	24	>100	-	-	-	-
	48	>100	-	-	-	-
	72	>100	>100	>100	>100	>100
cisplatina	24	27 \pm 0,03	-	-	-	-
	48	5 \pm 0,07	-	-	-	-
	72	3 \pm 1,0	10,5 \pm 2,0	26,5 \pm 0,7	57 \pm 0,5	84 \pm 0,8

2.2.1.3 Komplexy vanadu s flavonoidy

Sloučeniny vanadu, jak již bylo řečeno výše, mohou také způsobovat nepřímé poškození biomakromolekul (DNA, proteiny aj.) generováním reaktivních forem kyslíku vedoucích k oxidačnímu stresu (nerovnováha mezi oxidanty a antioxidanty ve prospěch oxidantů, které vedou k narušení redoxní signalizace) (31). Oxidační stres má dvojí roli. Působení oxidačního činidla na fyziologické úrovni je žádoucím efektem pro správné fungování životních procesů, nadměrné působení tohoto činidla však způsobuje poškození těchto biomakromolekul. Nádorové buňky zvýšeným metabolismem produkují více ROS, aby mohly rychle růst. Ovšem nedovolí, aby růst byl natolik rychlý, aby je usmrtil. Proto si vytvořily určitou rezistenci vůči ROS, kdy normální buňku by takové množství usmrtilo, rakovinovou nikoli (32). K ochraně biomolekul před napadením volnými radikály, nebo k potlačení jejich následného poškození existuje řada přírodních „vychytávačů“ volných radikálů, které obecně nazýváme antioxidanty. Ozařování je úspěšnější, je-li nádorová tkáň více oxygenována, takže vzniká více volných radikálů a ROS látek. Ty poškodí buněčné DNA v tumoru a způsobí jeho apoptózu. (33). Mezi takovéto antioxidanty patří flavonoidy, což jsou přirozeně se vyskytující polyfenoly nacházející se například u vyšších rostlin. Uvádí se, že flavonoidy mají nejrůznější biologické účinky, včetně antikarcinogéních či protizánětlivých (34) (35) (36). Tyto pozitivní účinky jsou dané jejich právě schopností vychytávat vysoce reaktivní radikály kyslíku. Při tomto procesu vznikají méně reaktivní a méně agresivní formy radikálů. (37). Při komplexaci s vanadem, ale i jinými kovy, se předpokládá zvýšení antioxidačních vlastností, inhibice různých enzymů zodpovědných za tvorbu ROS/RNS a regulace enzymatických i neenzymatických systémů, které jsou zapojeny do detoxikačních procesů, jako je redukovaný glutathion (GSH), GSH-peroxidasa či superoxiddismutasa (38). Kromě antioxidační aktivity mohou vykazovat také prooxidační aktivitu, která je spojována jednak s různými toxickými účinky, ale také může mít efekt prospěšný, například v rámci apoptotické nebo baktericidní aktivity (39). V mnoha případech se uvádí, že protinádorová aktivita komplexů s flavonoidy je vyšší než aktivita volných molekul. To může být způsobeno regulací buněčných cyklů, změnami ve struktuře DNA, prooxidačními účinky nebo interakcí s fosfolipidovou dvojvrstvou. Bylo popsáno, že cytotoxická aktivita flavonoidů zahrnuje inhibici a aktivaci několika cílů a drah, jako je DNA topoizomerasa I a II (40), cyklin-dependentní kinasa CDK1 a CDK2 (41) a aktivace proteinu p53 (42).

Jednou z takto připravených sloučenin je $[\text{VO}(\text{mor})_2]$, komplex vanadu s flavonolem morinem, uvedený na obrázku 10. Tento komplex vykazoval antioxidační a antiproliferativní aktivitu. Protinádorová aktivita byla testována vůči dvěma typům buněčných linií, a to osteosarkomu (UMR106 a MC3T3E1) a rakovině prsu (T47D a SKBR3).



Obrázek 10: Strukturní vzorec $[\text{VO}(\text{mor})_2]$.

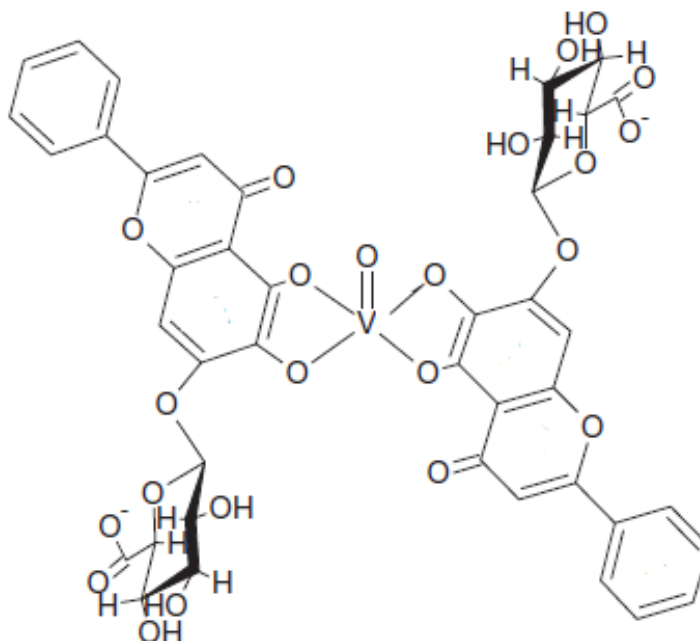
Účinkem 10 μM komplexu, ligandu i výchozí soli na tyto buněčné linie se ukázalo, že sloučeniny vykazují inhibici proliferace buněčné linie MC3T3E1, T47D a SKBR3 a že komplexace zvýšila účinek ligandu. V případě buněčné linie typu UMR106 nedocházelo ke zlepšení inhibičního efektu komplexu.

Při zkoumání mechanismu působení se dospělo k závěru, že aktivace buněčné smrti je pravděpodobně způsobena narušením potenciálu mitochondriální membrány a aktivací kaspasy 3/7 (43). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6: Účinky $[\text{VO}(\text{mor})_2]$ a ligandu na buňky.

	Proliferace (%)		
	Morin	$[\text{VO}(\text{mor})_2]$	$(\text{VO})^{2+}$
UMR106	$101,9 \pm 2,3$	$122,8 \pm 3,8$	$117,0 \pm 1,4$
MC3T3E1	$94,0 \pm 1,4$	$73,9 \pm 2,8$	$85,7 \pm 0,5$
T47D	$101,4 \pm 3,0$	$57,6 \pm 2,8$	$92,5 \pm 1,6$
SKBR3	$85,9 \pm 3,7$	$62,7 \pm 8,0$	$77,6 \pm 2,0$

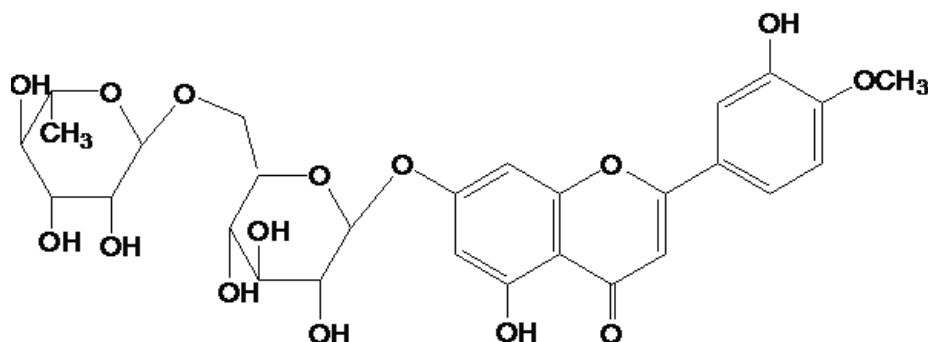
Další sloučeninou, která byla připravena je $\text{Na}_4[\text{VO}(\text{baic})_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, komplex vanadu s baicalinem, uvedený na obrázku 11. Komplex vykazoval lepší antioxidační vlastnosti než volné výchozí látky. Komplex a výchozí ligand byly testovány jako látky snižující životaschopnost lidských buněčných linií rakoviny plic (A549).



Obrázek 11: Strukturní vzorec $[\text{VO}(\text{baic})_2]$. (44)

Ve všech testech vykazoval komplex výrazně lepší hodnoty IC_{50} v porovnání s volným ligandem. Ke zlepšení protirakovinných účinků komplexu i volného ligandu docházelo prodloužením doby inkubace buněk. Po 72 hodinách inkubace byla u baicalinu vypočtena hodnota IC_{50} 77,4 μM a v případě komplexu 21,7 μM . Pro srovnání, po 48 hodinách to u ligandu byla hodnota vyšší než 100 μM a u komplexu 44,7 μM (44).

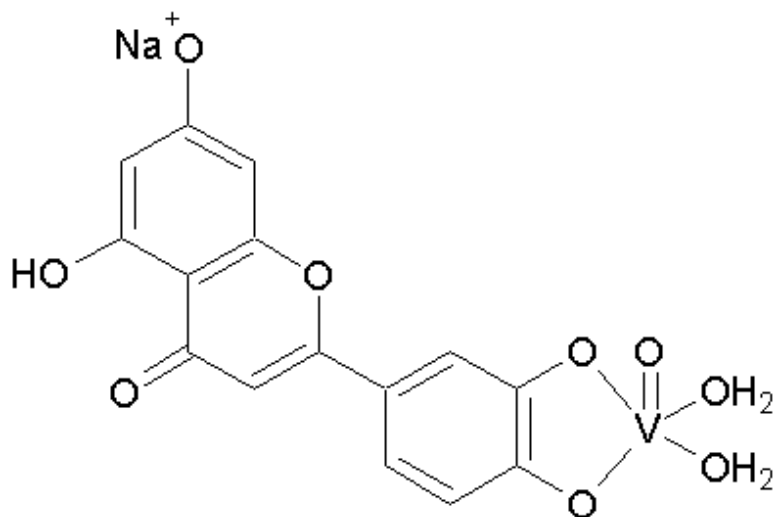
Diosmin, uvedený na obrázku 12, je přírodní flavonoid vyskytující se v citrusech, který byl použit pro přípravu dalšího komplexu s vanadem $\text{Na}_5[\text{VO}(\text{dios})(\text{OH})_3] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.



Obrázek 12: Strukturní vzorec diosminu. (45)

U tohoto komplexu byly testovány jeho protirakovinné účinky u několika typů buněčných linií, a to rakoviny plic (A549) a lidské buněčné linie rakoviny prsu (T47D, SKBR3 a MDAMB231). Antiproliferativní účinky na lidskou buněčnou linii rakoviny plic byly doprovázeny generováním buněk ROS. V případě rakoviny prsu se komplex choval jako silné cytotoxické činidlo. Tento účinek byl charakterizován hodnotami IC_{50} 23,3 μ M, 46,4 μ M a 11,6 μ M (na životaschopnosti buněk T47D, SKBR3 a MDAMB231). Hodnoty prokázaly, že komplexace výrazně zvýšila účinek ligandu. V případě buněk s rakovinou plic se komplex choval jako slabší cytotoxické činidlo inhibující 31% životaschopnosti buňky při dávce 100 μ M. V porovnání s volným ligandem lze konstatovat, že komplexace mírně zlepšila jeho vlastnosti. Byl navržen antiproliferativní apoptotický mechanismus, nezávislý na kaspáze 3/7 a oxidačním stresu (45).

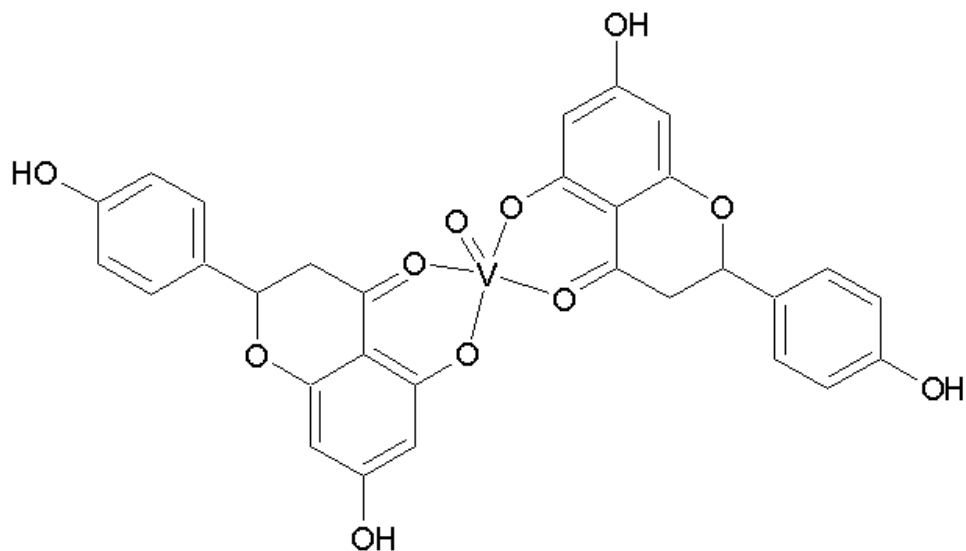
Jednou z dalších sloučenin s možnými protirakovinnými účinky je $Na[VO(lut)(H_2O)_2] \cdot 3H_2O$, komplex vanadu s luteolinem, jehož předpokládaná struktura je uvedena na obrázku 13. Účinky luteolinu a komplexu na životaschopnost buněk byly zkoumány ve vztahu k buněčné linii rakoviny prsu (MDAMB231) a rakoviny plic (A549).



Obrázek 13: Strukturní vzorec $[VO(lut)(H_2O)_2]$.

Oba typy buněk byly vystaveny působení komplexu v různých dávkách (0-100 μ M) po dobu 24 hodin. Z testování je patrné, že komplexace zlepšila účinky ligandu zejména vůči linii rakoviny prsu. V případě linie rakoviny plic byly výsledky srovnatelné. U buňky MDAMB231 byla stanovena hodnota IC_{50} = 17 μ M pro komplex a 88,3 μ M pro luteolin, v případě buňky A549 je hodnota IC_{50} = 60,5 μ M pro komplex a pro luteolin 66,3 μ M (46).

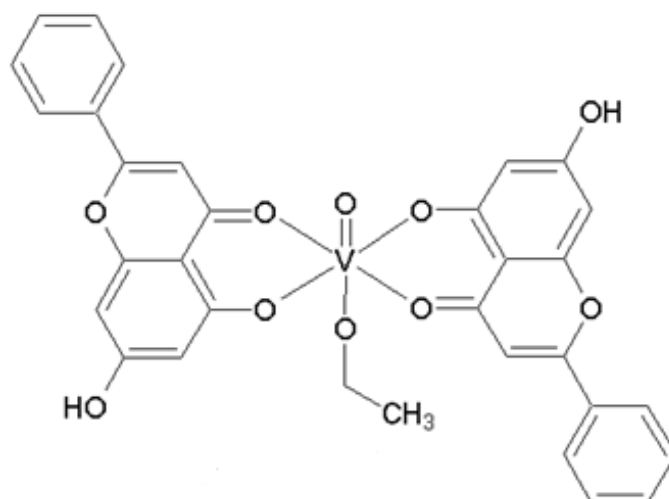
Protirakovinový účinek byl studován a popsán také u $[\text{VO}(\text{nar})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, komplexu vanadu s naringeninem, jehož strukturní vzorec je uveden na obrázku 14. U tohoto komplexu byla testována jeho protirakovinová aktivita ve vztahu k buňkám s rakovinou plic (A549) a rakovinou prsu (SKBr3 a MDAMB231). Výsledky testování při dávce $100 \mu\text{M}$ ukázaly, že naringenin nevykazuje cytotoxický účinek vůči buňkám A549. Komplexací tohoto ligandu s vanadem došlo ke snížení životaschopnosti buněk o cca 35 %. V případě buněk SKBr3 a MDAMB231 ligand výrazně neprojevoval cytotoxický účinek (47).



Obrázek 14: Strukturní vzorec $[\text{VO}(\text{nar})_2]$.

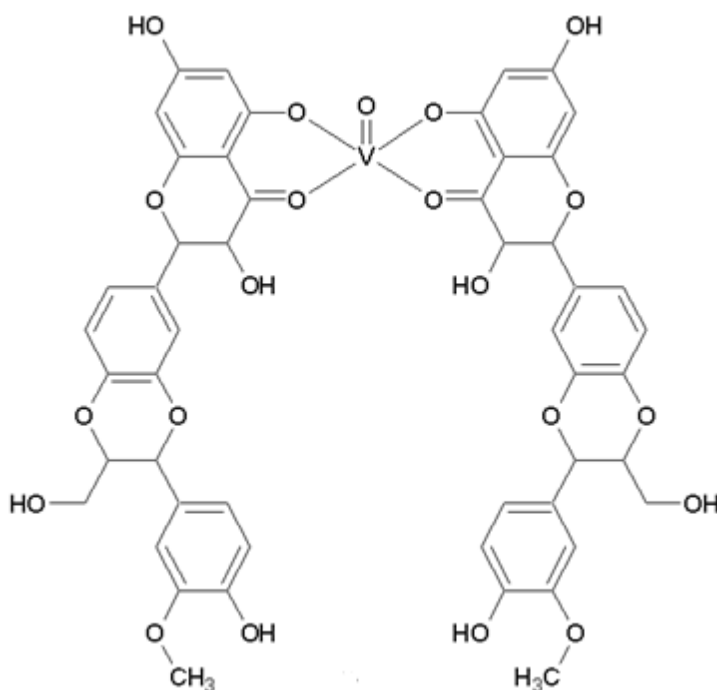
Tento komplex ($[\text{VO}(\text{nar})_2]$) působil jako vysoce účinná látka proti oběma liniím rakoviny prsu charakterizované hodnotami IC_{50} $73 \mu\text{M}$ a $20 \mu\text{M}$ pro SKBr3 a MDAMB231. Předpokládá se, že antiproliferativní účinek komplexu je doprovázen generací ROS, poškozením buněčné membrány a degradací DNA, zastavením buněčného cyklu a aktivací kaspásy 3/7 (47).

S flavonoidy, konkrétně se silibinem a chrysinem, byly připraveny další komplexy, a to $[\text{VO}(\text{chrys})_2\text{EtOH}]$ (obrázek 15) a $\text{Na}_2[\text{VO}(\text{silibinin})_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ zkráceně $[\text{VO}(\text{sil})_2]$ (obrázek 16). Obě sloučeniny byly testovány vůči buněčným liniím HT-29 (48) a MG-63 (buněčná linie osteosarkomu) (49). Oba komplexy vykazovaly inhibici životaschopnosti buněk závislou na dávce. Také aktivovaly kaspasu 3, což vedlo ke spuštění apoptózy. V další studii způsoboval $[\text{VO}(\text{sil})_2]$ také inhibici topoizomerasy IB. Ve srovnávání protinádorového účinku $[\text{VO}(\text{sil})_2]$ a cisplatinu vůči MG-63 linii byl $[\text{VO}(\text{sil})_2]$ výrazněji účinnější a méně škodlivý oproti cisplatině až při vyšším množství dávky. Při dávkách do $25 \mu\text{M}$ vykazovaly účinky srovnatelné.



Obrázek 15: Strukturní vzorec $[\text{VO}(\text{chrys})_2]$.

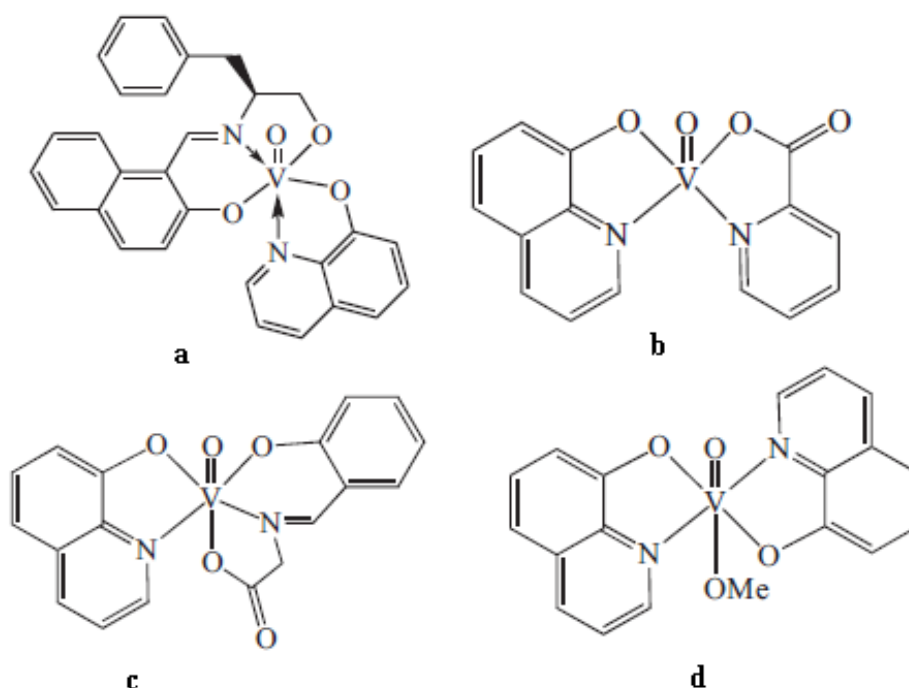
Dalším pozitivním účinkem je zastavení buněčného cyklu ve fázi G2/M komplexem $[\text{VO}(\text{chrys})_2]$ a úplné zastavení buněčného cyklu $[\text{VO}(\text{sil})_2]$. Negativním účinkem bylo nadměrné zvýšení hladin ROS a snížení poměru redukovaného glutathionu k množství oxidované formy. Oxidační stres byl následně potlačen přítomností vitamínu C a E. Ve všech ohledech však komplex se silibinem vykazoval lepší účinky, než komplex s chrysinem (48) (49) (50).



Obrázek 16: Strukturní vzorec $[\text{VO}(\text{sil})_2]$.

2.2.2 Sloučeniny vanadu s antibakteriálními účinky

Sloučeniny vanadu nejsou zkoumány a testovány jen jako potenciální antidiabetika nebo jako cytostatika. Byla připravena řada sloučenin, které vykazují různé antibakteriální účinky. Jednou, z mnoha skupin bakterií, na kterých byly komplexy vanadu testovány, jsou bakterie *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) způsobující tuberkulózu (TBC). Tuberkulóza je plicní infekční onemocnění, které postihuje člověka i zvířata. Jedná se o velmi závažné onemocnění, a proto není divu, že se hledají alternativní sloučeniny vykazující minimální inhibiční koncentraci (MIC), které jsou srovnatelné nebo lepší oproti lékům používaným v současnosti, například streptomycinu. Zajímavé výsledky, které byly v nedávné době publikovány, vykazují sloučeniny $(V^{IV}O)^{2+}$ a V^V s 8-hydroxychinolinem (8HQ) a pikolinátem jako ligandem. Konkrétně se jedná o $[V^{+V}O(L\text{-pheolnaph-im})(8HQ)]$ (a), $[V^{+IV}O(pic)(8HQ)]$ (b), $[V^{+V}O(sal\text{-Gly})(8HQ)]$ (c), $[V^{+V}O(MeO)(8HQ)_2]$ (d), jejichž strukturní vzorce jsou uvedeny na obrázku 17.



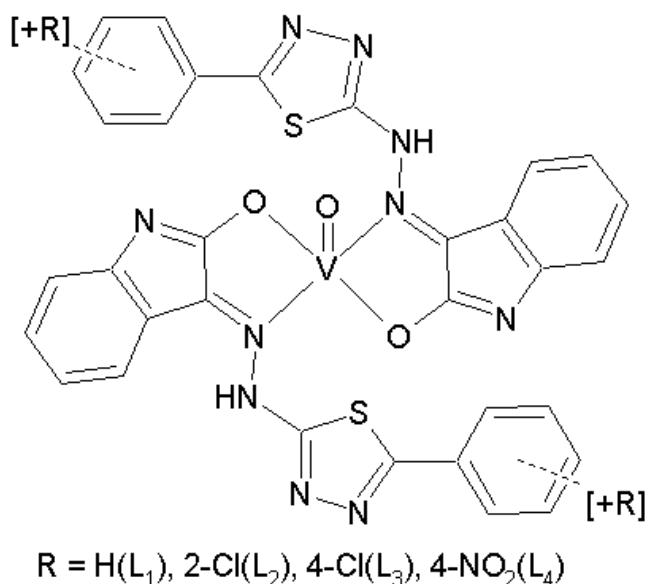
Obrázek 17: Strukturní vzorce sloučenin a-d. (51)

Biologická aktivita těchto komplexů byla hodnocena prostřednictvím MIC. Na základě hodnot MIC tyto komplexy vanadu vykazují vyšší aktivitu vůči Mtb ve srovnání se současně používanými léčivy, například streptomycinem či ethambutolem. Pokud je srovnání provedeno na molární bázi, jsou komplexy aktivnější než všechny tyto v současné době používané léky. Pro přehled jsou hodnoty uvedeny v tabulce 7 (51).

Tabulka 7: Hodnoty MIC sloučenin a-d

	MIC (µg/mL)	MIC (µM)
[V ^{IV} O(L-pheolnaph-im)(8HQ)]	1,5 ± 2,0	2,9
[V ^{IV} O(pic)(8HQ)]	1,5 ± 1,3	4,1
[V ^{IV} O(sal-Gly)(8HQ)]	1,4 ± 1,4	3,4
[V ^{IV} O(MeO)(8HQ) ₂]	1,4 ± 2,2	3,7
8HQ	0,36	2,5
Streptomycin	1,0	
Ethambutol	0,94 – 1,88	

Byla také stanovena aktivita ve vztahu k nejrozličnějším typům gram pozitivním a gram negativním bakteriím, a proti některým houbám. Jako příklad lze uvést [VO(L₁₋₄)₂], oxovanadičitý komplex s ligandem vzniklým z 5-(fenyl)-2-hydrazin-1,3,4-thiadiazolu (a substituovaného fenylu) a indolin-2,3-dionu, jehož strukturní vzorec je uveden na obrázku 18 (52).

**Obrázek 18:** Strukturní vzorec [VO(L₁₋₄)₂].

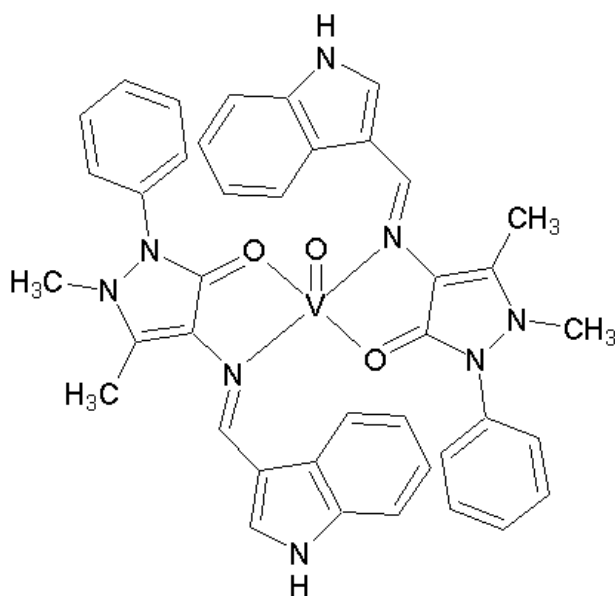
U těchto čtyř sloučenin byla testována *in vitro* aktivita proti houbám *Aspergillus niger* (způsobuje tzv. černou plíseň na ovoci a zelenině, u člověka aspergilózu), *Colletotrichum falcatum* a *Colletotrichum pallescens* (způsobující nákazu nejrozličnějších typů ovoce, např. jahodníku). Výsledky byly porovnány se standardním lékem gentamycinem. Komplex obsahující ligand se substituentem 2-Cl vykazuje lepší aktivitu než ostatní komplexy a všechny komplexy vykazují mírně vyšší aktivitu proti *A. niger* v porovnání s jinými

studovanými houbami. Dále byla u těchto sloučenin testována jejich *in vitro* antibakteriální aktivita proti gramnegativním bakteriím *Escherichia coli* (u člověka v malém množství jako součást střevní mikroflóry, která způsobuje bakteriémie nebo infekce získané v nemocnicích) a *Salmonella typhi* (způsobuje horečnaté střevní onemocnění břišní tyfus) a grampozitivním bakteriím *Staphylococcus aureus* (zlatý stafylokok způsobující různé infekce) a *Bacillus subtilis* (bacil senný vyskytující se zejména v půdě). Výraznější inhibiční účinek byl prokázán proti všem kmenům grampozitivním bakteriím. Výsledky byly porovnány s hodnotami pro standardní léčivo - gentamycin. Ukázkové hodnoty při dávce 200 µg/ml (pro 10 a 100 viz citovaná literatura) jsou pro přehled uvedeny v tabulce 8 (52).

Tabulka 8: Hodnoty inhibice (%) proti houbám a bakteriím.

	A. niger	C. falcatum	C. pallescens	E. coli	S. typhi	S. aureus	B. subtilis
[VO(L ₁) ₂]	72,8	67,2	66,4	58	56	67	72
[VO(L ₂) ₂]	89,4	80,6	76,0	62	57	76	85
[VO(L ₃) ₂]	83,6	79,4	71,8	60	55	73	81
[VO(L ₄) ₂]	83,7	79,8	72,6	60	53	74	82
gentamycin	100	100	100	100	100	100	100

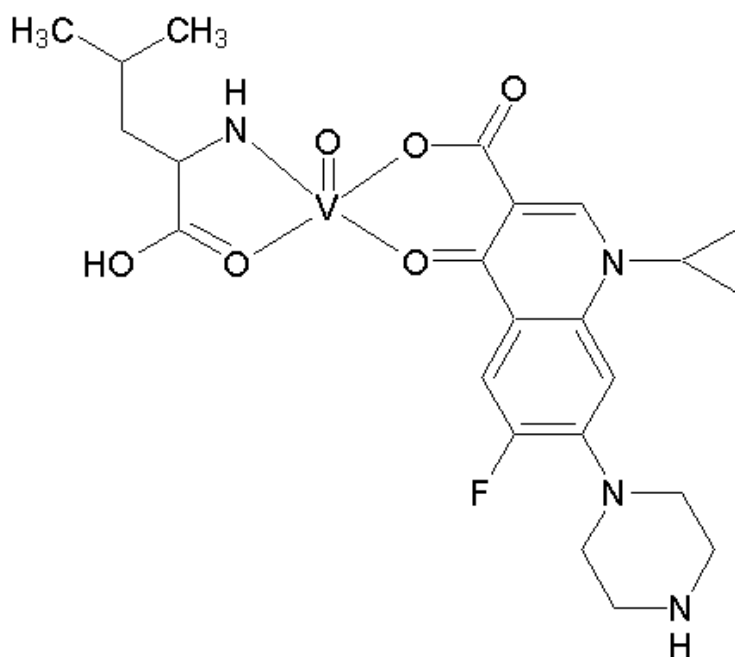
Další připravenou a testovanou sloučeninou je [VO(L)₂(H₂O)]SO₄, oxovanadičitý komplex s 1-fenyl-2,3-dimethyl-4-(1H-indol-3-karboxyaldehyd)-3-pyrazolin-5-onem co by ligandem, uvedeným na obrázku 19.



Obrázek 19: Strukturní vzorec [VO(L)₂(H₂O)].

In vitro antibakteriální aktivita byla zkoumána a kvantifikována hodnotou MIC vůči grampozitivním bakteriím *Staphylococcus aureus* (Sa), *Klebsiella pneumoniae* (Kp) a *Legionella monocytogenes* (Lm, způsobuje tzv. legionářskou nemoc postihující převážně dýchací cesty) a gramnegativním *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Pa, potencionální patogen vyvolávající nejrozličnější infekce, např. zánět močových cest) a *Salmonella typhimurium* (St). Byla také zkoumána *in vitro* aktivita proti dvěma typům hub - *Candida albicans* (způsobuje kvasinkovou infekci kandiózu) a *Aspergillus flavus* (Af). Hodnoty MIC jsou následující: pro Sa 32 µg/mL, pro Kp 64 µg/mL, pro Lm 32 µg/mL, pro Ec 32 µg/mL, pro Pa 16 µg/mL, pro St 64 µg/mL, pro Ca 64 µg/mL, pro Af 32 µg/mL. Jako srovnávací látka by v případě antibakteriální aktivity použit streptomycin s hodnotou MIC 4-16 µg/mL, a v případě protihoubové aktivity byl použit fluconazol s hodnotou 2-4 µg/mL (53).

Antibakteriální aktivita, vyjádřená hodnotou MIC, byla stanovena pro grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens* (bakterie účastníci se infekcí získaných v nemocnici, např. infekce močových cest), a také pro gramnegativní bakterie typu *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli* za použití následujících komplexních oxovanadičitých komplexních sloučenin mající dva různé ligandy v molárním poměru 1:1, a to ciprofloxacin a bidentátní aminokyseliny – alanin [VO(ala)(cfx)], tyrosin [VO(tyr)(cfx)], tryptofan [VO(trp)(cfx)], glutamová kyselina [VO(glu)(cfx)] a leucin [VO(leu)(cfx)]. Na obrázku 20 je uveden strukturní vzorec komplexu s leucinem.



Obrázek 20: Strukturní vzorec [VO(leu)(cfx)].

In vitro aktivita výše uvedených sloučenin byla porovnávána s léčivy ciprofloxacinem nebo norfloxacinem, a také s výchozí solí, trihydrátem síranu vanadylu. Z výsledků je patrné, že všechny komplexní sloučeniny vykazují v případě grampozitivních bakterií antimikrobiální aktivitu srovnatelnou s uvedenými léčivy. V případě gramnegativních bakterií jsou výsledky rozdílné. Komplex s leucinem vykazoval vyšší aktivitu vůči *Escherichia coli* a komplexy s alaninem a tyrosinem vykazovaly vyšší aktivitu vůči *Pseudomonas aeruginosa*. Hodnoty MIC jsou pro přehled uvedeny v tabulce 9 (54).

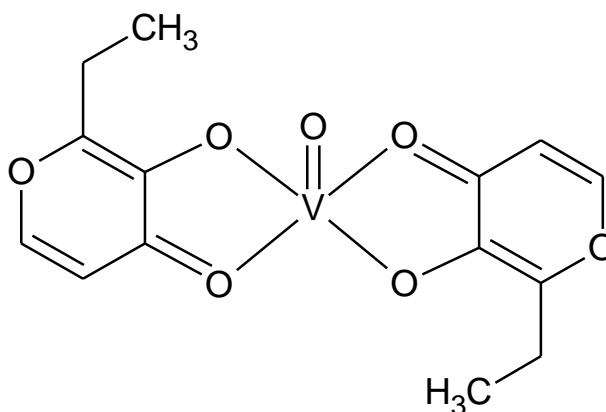
Tabulka 9: Hodnoty MIC (v μM) sloučenin $[\text{VO}(\text{L})(\text{cfx})]$.

	S. aureus	B. subtilis	S. marcescens	P. aeruginosa	E. coli
$[\text{VO}(\text{ala})(\text{cfx})]$	0,57	0,76	0,76	0,95	2,87
$[\text{VO}(\text{tyr})(\text{cfx})]$	1,63	1,63	1,63	1,63	3,26
$[\text{VO}(\text{trp})(\text{cfx})]$	0,62	0,78	0,78	3,92	3,92
$[\text{VO}(\text{glu})(\text{cfx})]$	1,72	1,72	0,86	4,31	4,31
$[\text{VO}(\text{leu})(\text{cfx})]$	1,77	0,88	0,88	4,43	1,77
$\text{VOSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	2568,35	2568,35	2568,35	1580,52	1185,39
ciprofloxacin	1,63	1,08	1,63	1,36	1,36
norfloxacin	2,50	2,50	4,07	3,75	2,81

2.2.3 Vanad a *diabetes mellitus*

Diabetes mellitus je jedním z nejrozšířenějších civilizačních chronických onemocnění současné doby, které postihuje metabolické dráhy sacharidů, lipidů a proteinů – především metabolismus glukosy a mastných kyselin. Problémy vznikají v důsledku minimálního či absolutního nedostatku inzulínu, nebo nedostatečnou reakcí na inzulín. Z tohoto důvodu se rozlišují dva základní typy diabetu – *diabetes* 1. typu (IDDM) projevující se absolutním nedostatkem inzulínu a *diabetes* 2. typu (NIDDM). DM 2. typu se obvykle projevuje u starších lidí, inzulín je stále produkován, ovšem inzulínové receptory tkáňových buněk dostatečně správně nereagují na inzulín. Inzulín je hormon, který produkují β buňky Langerhansových ostrůvků v slinivce břišní. Společným znakem projevů diabetu je hyperglykemie, glukosurie a ketoacidosa v případě 1. typu (55). Potenciál sloučenin vanadu v léčbě diabetu pravděpodobně spočívá v podobnosti vanadičnanů, vanadičitanů s fosforečnany. Nicméně na rozdíl od fosforečnanů a fosforečnanových esterů, se výše uvedené soli snadno neuvolňují z vazby na aktivní místo enzymu. Přestože mechanismus, kterým kovové ionty působí jako inzulínová mimetika nebyl ještě kompletně objasněn, vícero prací ukázalo, že zasahují do inzulínové signální dráhy. Inhibují tyrosinfosfatasu, čímž inzulínový receptor a IRS-1 zůstává v aktivním, fosforylovaném, stavu (56) (57). Také zůstává aktivní fosfatidylinozitol-3-kinasa, což vede k translokaci GLUT-4 transportéru a k aktivaci fosfodiesterasy (která rozkládá cAMP, a nedochází tak k aktivaci drah vedoucích k tvorbě glukosy). Zjistilo se také, že účinkem těchto sloučenin dochází ke zlepšení aktivity klíčového enzymu glykolýzy – fosfofruktokinasy-2 (58). Již koncem 19. století se objevily první studie o působení solí vanadu jako vhodného metaloterapeutika. Jedná se o jednoduchou anorganickou sůl vanadičnan sodný, NaVO_3 . V té době publikovali B. M. Lyonett a kolektiv studií, kdy příslušný vanadičnan testovali na sobě a poté i na svých pacientech (někteří z nich byli diabetici) po dobu několika měsíců. Popsali, že u těchto pacientů docházelo po pravidelných dávkách k přechodnému snížení hladiny cukru v krvi. Později docházelo k náhradě vanadičnanu jinou solí, síranem vanadylu. Účinky obou sloučenin jsou popsány v uvedených publikacích (59) (60). Až o několik desetiletí později (v době, kdy byl již inzulín objeven) bylo v roce 1985 uvedeno McNeilem a jeho spolupracovníky, že přidání vanadičnanu sodného k pitné vodě při experimentech na diabetických krysách by mohlo zvrátit většinu diabetických symptomů (61). Tato zjištění vedla k výzkumu antidiabetických a dalších biologických funkcí nejen anorganických solí vanadu, ale i jeho komplexních sloučenin s organickými ligandy, kterým byla věnována má bakalářská práce, proto zde stručně uvedu jen nejvýznamnější z nich.

Jedním z prvních a klíčových komplexních sloučenin vanadu je bis(maltoláto)oxovanadičitý komplex, BMOV a jeho derivát bis(ethylmaltoláto)oxovanadičitý komplex, BEOV, jehož strukturní vzorec je na obrázku 21 (62).



Obrázek 21: Strukturní vzorec BEOV.

V případě BEOV se jedná o jedinou komplexní sloučeninu vanadu podrobenou klinickým testováním. V roce 2000 byla dokončena I. fáze testů, která spočívala v posouzení bezpečnosti a snášenlivosti orálně podávaných dávek komplexu, a také v porovnání biologické dostupnosti vanadu z BEOV a VOSO_4 . Také se snažili porovnat účinek látky u pacientů na lačno a po příjmu potravy. Touto fází bylo prokázáno, že jednotlivé dávky v rozmezí 10 – 90 mg BEOV jsou dobře snášeny a dostupnost vanadu z BEOV je až 3krát vyšší, než z příslušného síranu. II. fáze klinických testů byla dokončena v roce 2009 a prokázala dobrou snášenlivost komplexů. Časem se ale u testovaných jedinců objevily problémy s ledvinami, a proto se od testů upustilo (14) (63).

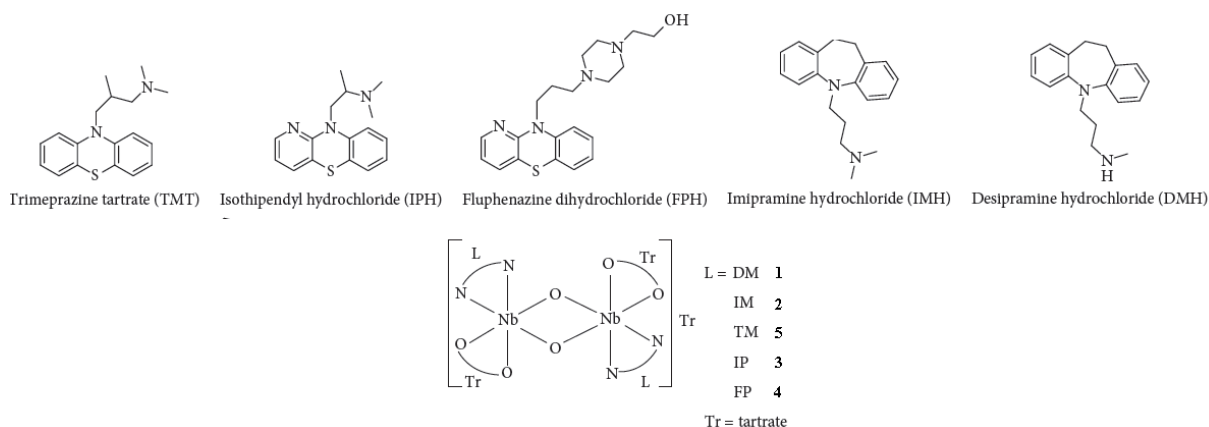
Dále bylo připraveno a testováno několik dalších koordinačních sloučenin vanadu s organickými ligandy s obecným vzorcem $[\text{VOL}_2]$, kde L je většinou bidentátní ligand. Testy probíhaly jak *in vitro*, tak *in vivo* na diabetických zvířatech, zejména hlodavcích. U těchto zvířat byl vyvolán diabetes pomocí streptozocinu a alloxanu. *In vitro* testování spočívalo většinou v hodnocení inhibičního efektu uvolňování mastných kyselin z adipocytů vyjádřeno hodnotou IC_{50} a testu vychytávání glukosy (jde o to, jak rychle glukosové transportéry přináší glukosu do buňky) (64) (65). Hypoglykemická aktivita byla testována *in vivo*. Jako příklady lze uvést další sloučeniny s O,O – donorovými ligandy, např. komplex s přírodní látkou – flavonem. Konkrétně se jedná o bis(3-hydroxyflavon)oxovanadičitý komplex u kterého byl prokázán *in vivo* účinek snižování hladiny glukosy u potkanů

s diabetem indukovaným streptozocinem. Hypoglykemický účinek byl potvrzen po celou dobu testování. Sloučenina také bránila nárůstu krevní glukosy po aplikaci glukosy v potravě. Hodnota glykemie po 30. denním testování byla $7,58 \pm 0,29$ mM kdežto u neléčeného subjektu se hodnota pohybovala okolo 20 mM (66).

2.3 Sloučeniny niobu a tantalu

Přesto, že se prvky niob a tantal nachází ve skupině s vanadem, kterému je v chemickém výzkumu věnována značná pozornost a jeho komplexní sloučeniny s organickými ligandy vykazují slibné výsledky, nejsou zatím v tak velkém zájmu vědeckých skupin. Dokazuje to i množství publikovaných prací věnujícím se přípravě komplexů niobu a tantalu a studiu jejich biologické aktivity. I přesto, že zájem není tak velký, se v literatuře objevují práce popisující přípravu a studium biologické aktivity těchto komplexů a o některých z nich se v krátkosti zmiňuje následující text.

Niob se v komplexních sloučeninách vyskytuje nejčastěji v oxidačním stavu +IV a zejména v oxidačním stavu +V. Antimikrobiální aktivita byla zkoumána u komplexů niobu(V) s N,N- a O,O-donorovými ligandy obsahující dva atomy niobu spojených peroxy skupinou. O,O-donorový ligand představuje tartrát, což je sůl odvozená od kyseliny vinné, a N,N-donorové ligandy jsou uvedeny na obrázku 22 spolu se strukturním vzorcem připravených komplexů.



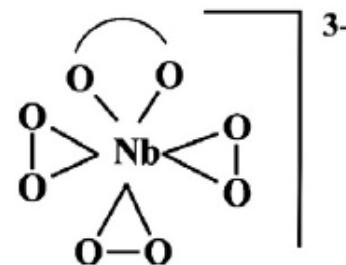
Obrázek 22: Strukturní vzorec $[(L_{1-5})(Tr)_3]Nb_2O_5$ (67).

U těchto sloučenin byla zkoumána jak antibakteriální aktivita u grampozitivních a gramnegativních bakterií - *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* a *B. subtilis*, tak protiplísňová aktivita u kmenů hub *A. flavus* a *A. niger*. Procentuální inhibice růstu byla zkoumána při dávkách 30 μg a 60 μg a prokázalo se, že komplexace zvyšuje účinnost ligandu. Hodnoty jsou pro přehled uvedena v následující tabulce 10 (67).

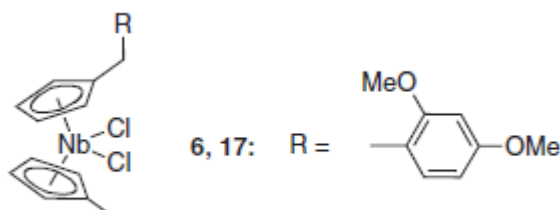
Tabulka 10: Inhibiční účinek sloučenin $[(L_{1-5})(Tr)_3]Nb_2O_5$ v procentech.

	E. coli		S. aureus		P. aeruginosa		B. subtilis		A. flavus		A. niger	
	30 μ g	60 μ g	30 μ g	60 μ g	30 μ g	60 μ g	30 μ g	60 μ g	30 μ g	60 μ g	30 μ g	60 μ g
1	6.7	22.4	8.2	19.0	8.9	22.8	6.8	21.6	8.2	23.3	9.6	27.2
2	3.5	16.8	7.6	17.4	7.5	23.3	6.7	20.3	7.3	27.3	6.2	30.7
3	10.5	36.2	9.2	33.2	7.0	27.3	8.9	26.4	13.5	38.4	14.8	34.6
4	4.5	18.2	6.3	13.1	4.7	16.4	5.3	20.6	4.2	11.7	5.3	13.9
5	4.5	16.0	5.3	11.2	4.4	15.0	5.5	16.5	3.5	17.3	4.7	16.5

Dalším peroxo-komplexem niobu(V) je $K_3[Nb(Asc)(O_2)_3] \cdot 4H_2O$, mají O,O donorový ligand anion kyseliny askorbové, jehož pravděpodobná struktura je na obrázku 23. Cytotoxická aktivita byla zkoumána u buněčných linií lidské leukémie HL-60 a K562. Rakovinové buňky byly vystaveny působení komplexu i samotné kyseliny askorbové formou postupně zvyšující se dávky (6, 60, 600 a 6000 μ g/ml) a zvyšování času inhibice po dobu 24, 48 a 72 hodin. Ukázalo se, že komplexace zvýšila účinek ligandu způsobem závislým na dávce a čase. Také se zjistilo, že komplex je velmi málo citlivý na K562 buňky, z čehož lze usoudit také závislost na typu buňky (68).

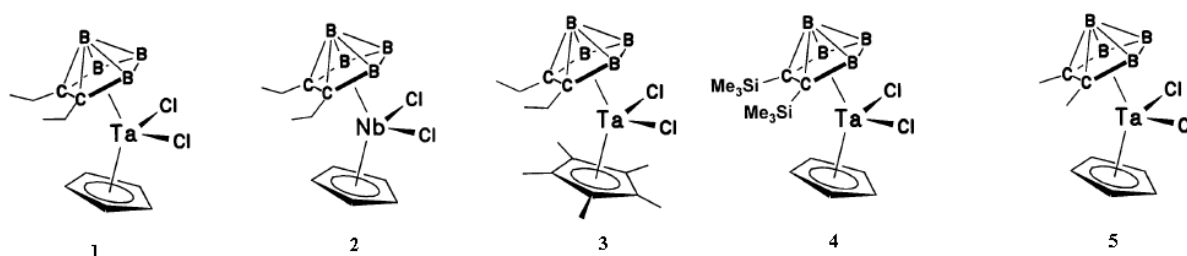
**Obrázek 23:** Strukturní vzorec aniontu $[Nb(Asc)(O_2)_3]$.

Nebyly připraveny pouze peroxo komplexy niobu. Byly připraveny také metalloceny niobu, konkrétně niobocen dichloridy, které mají na atom niobu(IV) navázány dva substituované cyklopentadienové kruhy. Cytotoxická aktivita byla zkoumána zejména u niobocenů, které mají na kruhu navázány v různé poloze methoxybenzylové skupiny. Cytotoxicita těchto sloučenin byla zkoumána vůči lidské T lymfocytární leukemické buňce a pohybovala se ve velkém rozmezí od vysoce aktivních až po téměř neaktivní. Aktivita těchto sloučenin byla vyjádřena hodnotou IC_{50} . Na obrázku 24 je uveden strukturní vzorec sloučeniny vykazující nejlepší hodnotu

**Obrázek 24:** Strukturní vzorec niobocen dichloridu. (69)

IC₅₀, konkrétně $14 \pm 1 \mu\text{M}$. Ostatní sloučeniny, které nejsou součástí této práce, vykazovaly hodnoty v intervalu 32 – 150 μM (69).

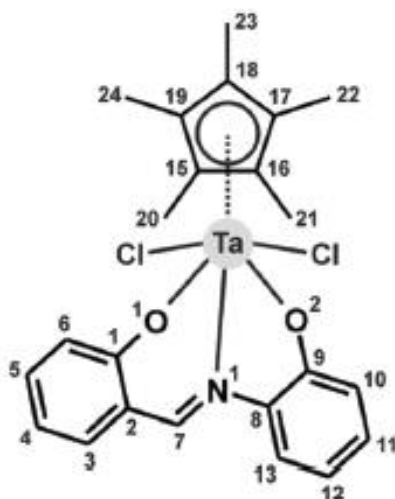
Cytotoxickým vlastnostem komplexů tantalu bylo věnováno malé množství publikací. V diplomové práci zmíním dvě z nich. První práce, publikovaná v roce 2000, se věnuje přípravě a cytotoxické studii metalokarboranů tantalu a niobu, uvedených na obrázku 25, s obecným vzorcem $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^x)(\eta^5\text{-carb}_n)\text{Cl}_2]$, kde carb_n = C-derivát nido-2,3-dikarbohexaboranu, Cp^x = cyklopentadienyl (Cp) nebo pentamethylcyklopentadienyl.



Obrázek 25: Struktura metalokarboranů tantalu a niobu

U připravených sloučenin byla popsána *in vitro* cytotoxická aktivita ve vztahu k lidským a myším buněčným liniím, jako jsou leukémie, kožní lymfom, adenokarcinom, karcinom prsu a tlustého střeva a mnohé další. Cytotoxicita byla vyjádřena hodnotou ED₅₀ [$\mu\text{g/ml}$], která udává koncentraci sloučeniny inhibující 50% buněčného růstu a pro významnou aktivitu vyžadovali hodnotu menší než 4 $\mu\text{g/ml}$. Proti leukemickým myším buňkám L1210 vykazoval nejslibnější výsledek komplex 5 (1,51 $\mu\text{g/ml}$). Růst lidské leukémie (TMolt4) byl zpomalen zejména komplexem 3 (2,17 $\mu\text{g/ml}$). Růst suspendovaného karcinomu dělohy HeLa-S³ byl významně snížen všemi komplexy (hodnoty od 2,34 $\mu\text{g/ml}$ po 3,47 $\mu\text{g/ml}$). U jiných buněk však byly uvedené sloučeniny málo aktivní, například hodnoty 5,59 až 7,81 $\mu\text{g/ml}$. Studie byla prováděna společně se standardními chemoterapeutickými látkami, jako je 6-MP, Ara-C (Cytarabin) a další. (70).

V další studii popsán komplex $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^x)\text{Cl}_2(\text{salph})]$ uvedený na obrázku 28, který obsahuje jako ligand Schiffovu bázi 2-{(E)-[(2-hydroxyphenyl)imino]methyl}fenol, zkráceně H₂salph a pentamethylcyklopentadienový kruh. Uvedený komplex vykazoval vysokou *in vitro* cytotoxickou aktivitu (vyjádřenou hodnotou IC₅₀) vůči lidským rakovinovým buňkám, jako jsou buňky ovariálního karcinomu A2780 (které jsou citlivé na cisplatinu). Dále to jsou varianty buněk rezistentní na cisplatinu (A2780R) a vnitřně rezistentní buňky lidského osteosarkomu (HOS).



Obrázek 26: Strukturní vzorec $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^x)\text{Cl}_2(\text{salph})]$. (71)

Bylo zjištěno, že cytotoxicita připraveného komplexu je zhruba 2krát vyšší než u cisplatiny ve všech výše uvedených buňkách po 24 hodinách inkubace. Navíc, oproti cisplatině, nedocházelo navýšením doby inhibice ke změnám hodnot IC_{50} . Pro přehled jsou hodnoty IC_{50} shrnuty v tabulce 11. Další pozitivum uvedeného komplexu spočívá v jeho nízké toxicitě vůči nerakovinovým buňkám (MRC-5) a kultuře lidských hepatocytů. Uvedená toxicita byla výrazně nižší v porovnání s cisplatinou (71).

Tabulka 11: Hodnoty IC_{50} stanovené pro $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^x)\text{Cl}_2(\text{salph})]$.

	IC_{50} (μM)			
	doba inhibice (hod.)	A2780	A2780R	HOS
$[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^x)\text{Cl}_2(\text{salph})]$	24	8.6 ± 0.9	16.0 ± 0.3	$16,8 \pm 2.0$
	48	$8,4 \pm 1.9$	-	-
	72	$6,4 \pm 0,3$	-	-
cisplatina	24	$20,1 \pm 0,3$	$34,0 \pm 1,4$	$32,6 \pm 2.0$
	48	$13,2 \pm 2,8$	-	-
	72	$7,4 \pm 0,3$	-	-

Je třeba poznamenat, že i přes evidentně malý zájem o tantal a jeho potenciál v oblasti cytostatik, není zcela neznámým prvkem na poli medicínálních aplikací. Tantal se používá jako inertní materiál pro implantáty. Dále se také využívají nanočástice na bázi tantalu a oxidů tantalu, které jsou vhodnými biokompatibilními a pružnými materiály pro

regenerativní medicínu. Tyto porézní materiály přetváří okolí kostních implantátů a umožňují vrůstání kostí a biologickou fixaci, čímž eliminují uvolnění implantátu, což by vedlo k selhání léčby. Porézní tantal také usnadňuje pronikání měkkých tkání, včetně tvorby krevních cév, u kterých bylo zjištěno, že se shlukují jak na povrchu, tak ve struktuře porézního tantalu. Tantal je také silně rentgenově kontrastní látkou, čehož je využíváno pro značení v ortopedii a v endovaskulárních lékařských zařízeních (72).

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Chemikálie a rozpouštědla

Provedené experimenty většinou vycházely z komerčně dostupných látek, jejichž seznam je uveden v tabulce 12, přičemž použity byly bez dalších úprav. V případě komplexů 1-9 byly jako prekurzory použity ligandy H_2L^{1-5} připravené dle modifikovaných literárních postupů. Jako výchozí sůl byl pro většinu prezentovaných experimentů použit $VO(acac)_2$, vanadyl acetylacetonát, který je rozpustný v methanolu, tetrahydrofuranu i acetonu. Další v experimentech použitou solí byl pentahydrát síranu vanadylu, který je však ve výše uvedených rozpouštědlech špatně rozpustný, a proto byl používán ve formě vodného roztoku.

Tabulka 12: Přehled použitých chemikálií.

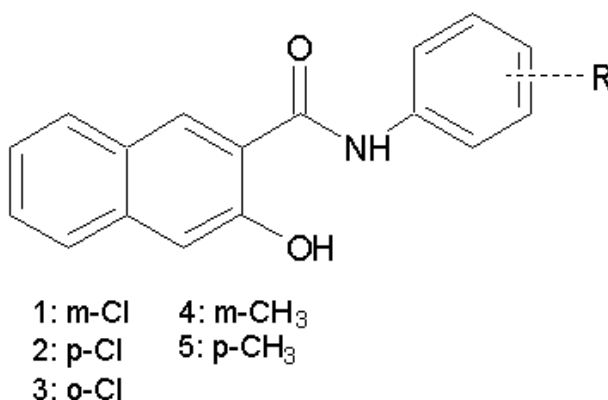
Chemikálie	Číslo CAS	Čistota	Výrobce/Dodavatel
chrysin	480-40-0	97 %	Sigma-Aldrich
o-fenanthrolin	5144-89-8	p.a.	Lachema
kyselina 3-hydroxy-2-naftoová	92-70-6	98%	Sigma-Aldrich
2-hydroxy-4-methoxybenzofenon	131-57-7	98%	Sigma-Aldrich
2-hydroxy-4-methoxyacetofenon	552-41-0	99%	Sigma-Aldrich
kyselina 2-formylfenoxyoctová	6280-80-4	97%	Sigma-Aldrich
kyselina α -hydroxyhippurová	16555-77-4	98%	Sigma-Aldrich
bis(cyklohexanon)oxaldihydrazon	370-81-0	99%	Fluka
3-formylchromon	17422-74-1	97%	Sigma-Aldrich
kyselina benzoylvinná	2743-38-6	98%	Sigma-Aldrich
kyselina 3,4-(methylenedioxy)skořicová	2373-80-0	98%	Sigma-Aldrich
kyselina 2-hydroxyskořicová	614-60-8	97%	Sigma-Aldrich
7-chloro-1-cyklorpopyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxoquinolin-3-karboxylová kyselina	86393-33-1	98%	TCI Chemicals
vanadyl acetylacetonát	3153-26-2	98%	Sigma-Aldrich
síran vanadylu pentahydrát	123334-20-3	97%	Sigma-Aldrich
chlorid vanaditý	7718-98-1	97%	Sigma-Aldrich
methanol	67-56-1	99,99%	Lach-Ner
propan-2-ol	67-63-0	99,8%	Sigma-Aldrich
tetrahydrofuran	109-99-9	p.a.	Lach-Ner
aceton	67-64-1	99,1%	VWR Chemicals

triethylamin	121-44-8	p.a.	Lach-Ner
xylén	95-47-6	p.a.	Lach-Ner
dichlormethan	75-09-2	p.a.	Lach-Ner
n-hexan	110-54-3	p.a.	Penta
uhličitan draselný	*	*	*
hydroxid sodný	1310-73-2	98%	Sigma-Aldrich

*není známo.

3.2 Příprava komplexů

Všechny komplexní sloučeniny s předpokládaným složením $[\text{VO}(\text{L})_2]$ byly připravovány s ohledem na dříve publikovaný postup reakcí soli kovu s ligandem v molárním poměru 1:2 (73). Na obrázku 29 je uveden obecný strukturní vzorec ligandů HL^{1-5} , který byl použit při přípravě komplexů **1-9** (74). Strukturní vzorce dalších ligandů jsou uvedeny u konkrétních příprav komplexů.



Obrázek 27: Strukturní vzorec výchozího ligandu $\text{HL}^{(1-5)}$.

Příprava komplexů 1–3

Postupně byly připraveny 3 roztoky ligandů HL^1 , HL^2 a HL^3 , kdy 0,68 mmol ligandu bylo rozpuštěno v 10 ml tetrahydrofuranu. K takto připraveným bezbarvým roztokům byl za stálého míchání postupně přidán zeleno-modrý roztok 0,34 mmol $\text{VO}(\text{acac})_2$ v 15 ml tetrahydrofuranu. Reakční směs byla následně 24 hodin refluxována při teplotě 50 °C. Po ukončení reakce byla reakční směs přefiltrována přes fritu a ve všech třech případech byl žluto-oranžový filtrát ponechán volným odpařováním krystalizovat při pokojové teplotě. Ani dlouhodobé stání nicméně nevedlo ke vzniku pevné fáze. V průběhu zvyšování koncentrace došlo postupně ke změně barvy ze žlutooranžové na tmavě oranžovou. Cca 1 ml roztoku bylo v případě komplexů **1** a **2** ponecháno v uzavřené nádobce v rámci pokračování pokusů

o přípravu monokrystalu. V případě roztoku komplexu **3** vedlo další odpařování rozpouštědla ke vzniku tmavě hnědé viskózní kapaliny.

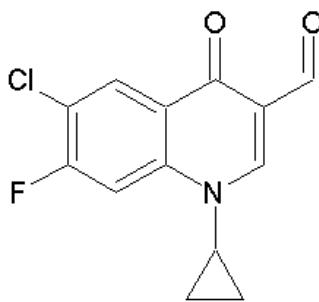
Příprava komplexů 4 a 5

V případě komplexů **4** a **5** bylo 0,73 mmol ligandu HL⁴, respektive HL⁵ rozpuštěno v 15 ml THF. Ligandy byly následně deprotonizovány přidavkem 0,79 mmol triethylaminu. K takto připraveným roztokům byl za stálého míchání postupně přidán zelenomodrý roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 0,37 mmol soli v 10 ml THF. Připravená reakční směs byla následně refluxována po dobu 24 hodin při teplotě 50 °C. Původně zelenomodré zbarvení reakční směsi postupně přešlo v případě obou komplexů na zbarvení červenohnědé. Po ukončení reakce byla reakční směs přefiltrována a získaný roztok ponechán volně krystalizovat v částečně uzavřených vialkách. I v tomto případě zakoncentrování nevedlo ke vzniku pevného produktu. Červenohnědý roztok se postupně transformoval na černou olejovitou kapalinu.

Příprava komplexu 6, 8 a 9

Roztok ligandu HL² byl připraven obdobným způsobem jako v předchozích případech. 0,69 mmol ligandu bylo rozpuštěno v 15 ml THF. K takto připravenému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán modrý roztok VOSO₄ připravený rozpuštěním 0,34 mmol VOSO₄·5H₂O v 10 ml vody. Připravená reakční směs byla refluxována 24 hodin při teplotě 50 °C. Během reakce došlo ke změně zbarvení ze zelenomodrého roztoku na zelenožlutý. Po ukončení reakce byla směs přefiltrována a rozdělena na dvě části. První část byla ponechána volně krystalizovat v částečně uzavřené vialce. V případě druhé části reakční směsi bylo upraveno pH na hodnotu 8-9 přidáním pár kapek roztoku hydroxidu sodného (c = 1 mol/l) za vzniku zelenočerného roztoku, který byl opět ponechán volně krystalizovat. V případě přípravy komplexu **8** s ligandem HL² a komplexu **9** s ligandem HL¹ byl postup přípravy obdobný. Rozdíl spočíval v použití jiné báze. pH roztoku ligandu bylo upraveno přidavkem 0,72 mmol triethylaminu. V případě první části roztoku komplexu **6** vedlo odpařování rozpouštědla ke vzniku hnědé látky a v případě experimentu pracujícího s roztokem NaOH došlo k transformaci na hnědou olejovitou kapalinu. Během přípravy komplexu **8** a **9** nevedlo zakoncentrování ke vzniku krystalů, nýbrž ke vzniku malého množství kapaliny s malým množstvím hnědočervené a bílé sraženiny.

Příprava komplexu 10 a 11



V případě přípravy komplexu **10** bylo 0,72 mmol ligandu bylo rozpuštěno v 15 ml THF. Ke vzniklému roztoku byl za stálého míchání přidán modrý roztok VOSO_4 připravený rozpuštěním 0,37 mmol soli v 10 ml vody. Vzniklá reakční směs byla 24 hodin refluxována při teplotě 50 °C. Původně zelenomodré zbarvení reakční směsi postupně přešlo v případě komplexu **10** na zbarvení černé. Po ukončení reakce byla reakční směs přefiltrována a filtrát byl ponechán krystalizaci při pokojové teplotě. V tomto případě zakoncentrování vedlo ke vzniku malého množství nažloutlého prášku. V případě přípravy sloučeniny **11** byl použit stejný ligand, 1,59 mmol bylo rozpuštěno v 15 ml THF a ke vzniklému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán modrozelený roztok $\text{VO}(\text{acac})_2$ připravený rozpuštěním 0,79 mmol soli v 10 ml THF. Připravená reakční směs byla následně refluxována po dobu 24 hodin při teplotě 50 °C. Po ukončení reakce byla vzniklá směs přefiltrována. Vzniklý zelenobílý prášek se vysušil a filtrát byl ponechán volným odpařováním krystalizovat při pokojové teplotě v částečně uzavřené vialce. Zvyšování koncentrace a následné odpaření rozpouštědla vedlo k vyloučené zeleného prášku a průhledných krystalů, což nasvědčuje dle barvy na původní výchozí látky.

Příprava komplexu 12

0,69 mmol ligandu HL^2 bylo rozpuštěno v 10 ml acetonu. Ligand byl následně deprotonizován přidavkem 0,72 mmol triethylaminu. K takto připravenému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán zelenomodrý roztok $\text{VO}(\text{acac})_2$ připravený rozpuštěním 0,34 mmol v 10 ml acetonu. Reakční směs byla poté refluxována po dobu 24 hodin při teplotě 60 °C. Původně zelenomodré zbarvení reakční směsi postupně přešlo na zbarvení červenohnědé. Po ukončení reakce byl získaný roztok ponechán volně krystalizovat v částečně uzavřené vialce. Postupné odpaření rozpouštědla vedlo k tvorbě směsi čirých krystalů a malého množství hnědého prášku. Rekrytalizace uvedené směsi vedla opět k tvorbě stejných pevných látek.

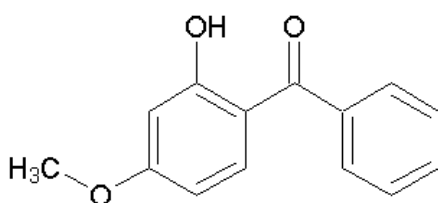
Příprava komplexu 13

0,25 mmol chrysinu bylo rozpuštěno v 10 ml methanolu. Ke vzniklému žlutému roztoku bylo přidáno 0,49 mmol triethylaminu. K roztoku chrysinu byl za stálého míchání postupně přidán bezbarvý roztok o-fenantrolinu připravený rozpuštěním 0,25 mmol

sloučeniny v 5 ml methanolu a zelenomodrý roztok $\text{VO}(\text{acac})_2$ připravený rozpuštěním 0,25 mmol soli v 5 ml methanolu. Vzniklá červenohnědá reakční směs byla refluxována 24 hodin při teplotě 70 °C. Po ukončení reakce byla reakční směs ponechána volně krystalizovat v částečně uzavřených kádinkách. Z roztoku se nevyloučila pevná látka, zvyšování koncentrace vedlo ke vzniku malého množství černé olejovité kapaliny.

Příprava komplexu 14

0,25 mmol ligandu ($\text{L} = 2\text{-hydroxy-4-methoxybenzofenon}$) bylo rozpuštěno v 10 ml



Obrázek 28: Strukturní vzorec 2-hydroxy-4-methoxybenzofenonu.

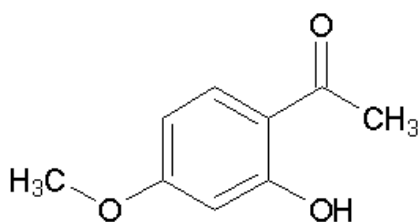
methanolu. Ligand byl následně deprotonizován přidavkem 0,49 mmol triethylaminu. K takto připravenému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán roztok o-fenantrolinu, připravený rozpuštěním 0,25 mmol sloučeniny v 5 ml methanolu a zelenomodrý roztok $\text{VO}(\text{acac})_2$ připravený rozpuštěním 0,25 mmol soli v 5 ml methanolu. Vzniklá

tmavá reakční směs byla refluxována 24 hodin při teplotě 70 °C. Po ukončení reakce se nechala reakční směs volně krystalizovat v částečně uzavřených vialkách. Z roztoku se nevyloučila pevná látka, zakoncentrování vedlo ke vzniku malého množství černé olejovité kapaliny.

Příprava komplexu 15 a 16

1,01 mmol ligandu ($\text{L} = 2\text{-hydroxy-4-methoxybenzofenon}$) bylo rozpuštěno v 10 ml methanolu a následně upraveno pH přidavkem 1,08 mmol triethylaminu. K tomuto roztoku byl za stálého míchání postupně přidán modrozelený roztok $\text{VO}(\text{acac})_2$ připravený rozpuštěním 0,52 mmol v 10 ml methanolu. Vzniklá reakční směs byla refluxována 24 hodin při teplotě 70°C. Po ukončení reakce byl vzniklý černohnědý roztok ponechán volně krystalizovat v částečně uzavřených kádinkách. Po několika dnech se v zakoncentrovaném roztoku vyloučily světle hnědé krystaly a zůstalo malé množství hnědé olejovité kapaliny. Rentgenostrukturní analýza vzniklých krystalů prokázala přítomnost volného ligandu.

Příprava komplexu 17

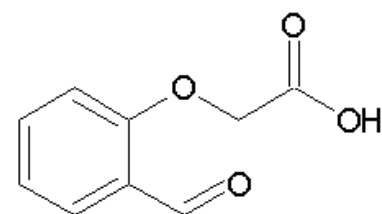


Obrázek 29: Strukturní vzorec 2-hydroxy-4-methoxyacetofenonu.

Za stálého míchání bylo rozpuštěno 1 mmol ligandu (L = 2-hydroxy-4-methoxyacetofenon) v 10 ml methanolu. Ke vzniklému roztoku bylo přidáno 1,08 mmol triethylaminu. Poté byl postupně přidán modrozelený roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 0,50 mmol soli v 10 ml methanolu. Vzniklá reakční směs byla 24 hodin refluxována při teplotě 70°C. Po ukončení reakce byl vzniklý černohnědý roztok ponechán volně

krystalizovat v částečně uzavřených kádinkách. I v tomto případě zakoncentrování nevedlo ke vzniku pevné látky. Černohnědý roztok se postupně transformoval na černou olejovitou kapalinu.

Příprava komplexu 18

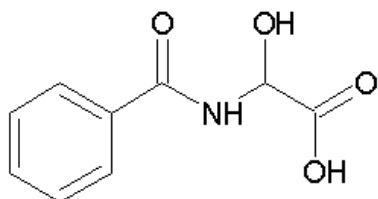


Obrázek 30: Strukturní vzorec kyseliny 2-formylfenoxyoctové.

Na magnetické mícháče bylo rozpuštěno 4 mmol ligandu (L = kyselina 2-formylfenoxyoctová) v 50 ml methanolu. Ke vzniklému světle hnědému roztoku byl následně přidán (4,33 mmol) triethylaminu. Za stálého míchání byl postupně přidáván modrozelený roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 2 mmol soli v 30 cm³ methanolu. Vzniklá tmavě zelená reakční směs byla refluxována 24 hodin při teplotě 70 °C. Původně tmavě zelené zbarvení reakční směsi postupně přešlo na zbarvení rezavé. Po ukončení reakce byl získaný roztok ponechán

volně krystalizovat v částečně uzavřené kádince za laboratorní teploty i za studena v lednici. Pokusy o vysrážení komplexu postupně propan-2-olem, destilovanou vodou, xylenem či dichlormethanem nevedly k tvorbě pevné fáze. Postupné zvyšování koncentrace nevedlo k tvorbě pevné. Rezavý roztok se za laboratorní teploty postupně transformoval na tmavě zelenou olejovitou kapalinu. Vzhledem k charakteru barevné změny lze předpokládat, že došlo k rozpadu na výchozí látky. Ani po měsíci volné krystalizace za chladu nedocházelo k tvorbě pevné látky nebo k barevným změnám v důsledku pomalého odpařování rozpouštědla.

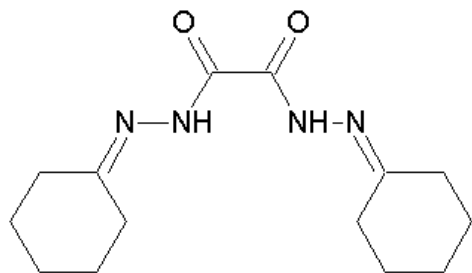
Příprava komplexu 19



Obrázek 31: Strukturní vzorec kyseliny α -hydroxyhippurové.

1 mmol ligandu (L = kyselina α -hydroxyhippurová) bylo rozpuštěno v 10 ml methanolu. Poté byl ligand deprotonizován přidáním 1,08 mmol triethylaminu. K takto připravenému roztoku byl za stálého míchání postupně přidáván modrozelený roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 0,50 mmol soli v 10 ml methanolu. Připravená reakční směs byla následně refluxována po dobu 24 hodin při teplotě 70 °C. Původně zelenomodré zbarvení reakční směsi postupně přešlo na zbarvení rezavé. Po ukončení reakce byl získaný roztok ponechán volně krystalizovat v částečně uzavřené kádince při pokojové teplotě i za chladu v lednici. I v tomto případě zakonzentrování nevedlo ke vzniku pevné látky. Rezavý roztok se postupně transformoval na černozelelou olejovitou kapalinu, což může svědčit o rozkladu na výchozí látky. Ani po měsíci volné krystalizace za chladu nedocházelo k tvorbě pevné látky nebo k barevným změnám.

Příprava komplexu 20

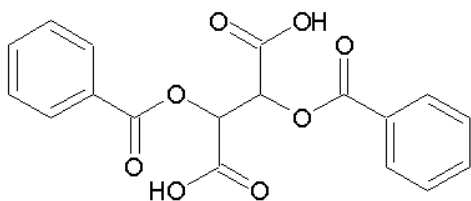


Obrázek 32: Strukturní vzorec bis(cyklohexanon)oxaldihydrazonu.

2 mmol ligandu (L = bis(cyklohexanon)oxaldihydrazon) bylo rozpuštěno ve 20 ml methanolu za vzniku bezbarvého roztoku. K takto vzniklému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán zelenomodrý roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 1 mmol soli v 15 ml methanolu. Vzniklá reakční směs zelené barvy byla refluxována po dobu 24 hodin při teplotě 70 °C. Během reakce došlo ke změně zbarvení na rezavý a postupně až tmavě hnědý roztok. Po ukončení reakce byl získaný roztok ponechán volně krystalizovat za laboratorní teploty a chladu v lednici v částečně uzavřených kádinkách. Ani dlouhodobé stání nevedlo ke vzniku pevné fáze. V průběhu zvyšování koncentrace postupným odpařením rozpouštědla došlo ke vzniku černé olejovité hmoty. Ani po měsíci volné krystalizace za chladu nedocházelo k tvorbě pevné látky nebo k barevným změnám.

Příprava komplexu 21

2 mmol ligandu (L = kyselina dibenzoylvinná) bylo rozpuštěno v 20 ml methanolu a



Obrázek 33: Strukturní vzorec kyseliny dibenzoylvinné.

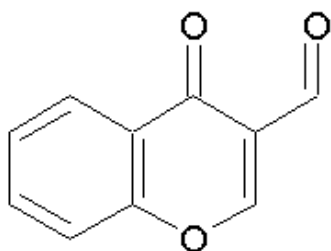
následně upraveno pH (2,15 mmol) triethylaminu.

K bezbarvému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán modrozelený roztok VO(acac)₂ připraveným rozpuštěním 1 mmol soli v 15 ml methanolu. Vzniklá světle modrá reakční směs byla refluxována a míchána 24 hodin při teplotě 70 °C.

V průběhu reakce došlo ke změně barvy modré na rezavou. Po ukončení reakce byl získaný roztok ponechán volně krystalizovat za laboratorní teploty i chladu v částečně uzavřených kádinkách. Rezavě zbarvený roztok se postupně transformoval na černou olejovitou kapalinu. Dlouhodobým stáním za chladu nedocházelo k tvorbě pevné látky nebo k barevným změnám.

Příprava komplexu 22

2 mmol ligandu (L = 3-formylchromon) bylo rozpuštěno ve 20 ml methanolu. K takto



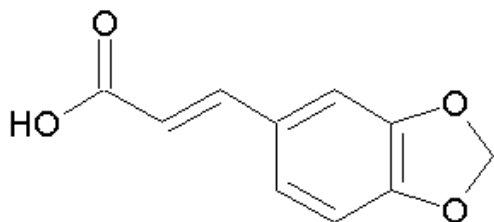
Obrázek 34: Strukturní vzorec 3-formylchromonu.

vzniklému oranžovému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán modrozelený roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 1 mmol soli v 15 ml methanolu. Vzniklá hnědočerná reakční směs byla refluxována 24 hodin při teplotě 70 °C. Během reakce došlo ke změně barvy na světle oranžovou. Po ukončení reakce byl získaný roztok ponechán

volně krystalizovat v částečně uzavřené kádince za laboratorní teploty i za chladu v lednici. I v tomto případě nedocházelo ke vzniku pevné látky. Rezavý roztok se postupně transformoval na hnědou olejovitou kapalinu. Krystalizací za snížené teploty nedocházelo k tvorbě pevné látky ani k barevným změnám.

Příprava komplexu 23

2 mmol ligandu (L = kyselina 3,4-(methylendioxy)skořicová) bylo rozpuštěno ve 20



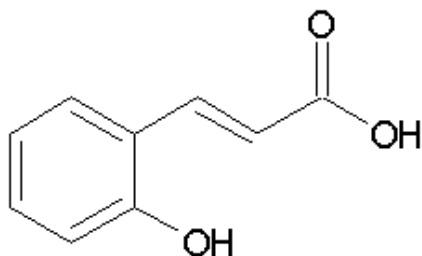
Obrázek 35: Strukturní vzorec kyseliny 3,4-(methylendioxy)skořicové.

ml methanolu a následně upraveno pH (2,15 mmol) triethylaminu. K takto vzniklému světle oranžovému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán modrozelený roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 1 mmol soli v 15 ml methanolu. Po smíchání vznikl černozeleň

roztok, který byl refluxován 24 hodin při teplotě 70 °C. Během reakce došlo ke změně barvy na tmavě hnědou. Po ukončení reakce byl hnědý roztok ponechán krystalizovat v částečně uzavřené kádince za laboratorní teploty i za chladu v lednici. Odpařením rozpouštědla se vyloučilo nepatrné množství jemného černého prášku. Pokusy o krystalizaci za snížené teploty nevedly k tvorbě pevné látky ani k barevným změnám.

Příprava komplexu 24

2 mmol ligandu (L = kyselina 2-hydroxyskořicová) bylo rozpuštěno ve 20 ml



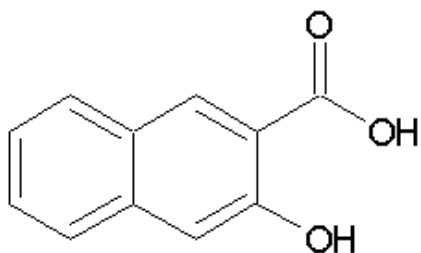
Obrázek 36: Strukturní vzorec kyseliny 2-hydroxyskořicové.

methanolu. Ve vzniklém bezbarvém roztoku ligandu bylo upraveno pH nadbytkem (2,15 mmol) triethylaminu. Poté byl za stálého míchání postupně přidán modrozelený roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 1 mmol soli v 15 ml methanolu. Vzniklá reakční směs světle modrozeleného zabarvení byla refluxována 24 hodin při teplotě 70 °C. Po ukončení

reakce byl vzniklý roztok ponechán volně krystalizovat v částečně uzavřených kádinkách za laboratorní teploty i chladu v lednici. Ani dlouhodobé stání nicméně nevedlo ke vzniku pevné fáze. Postupným odpařením rozpouštědla došlo k tvorbě hnědozelené olejovité kapaliny.

Příprava komplexu 25

2 mmol ligandu (L = kyselina 3-hydroxy-2-naftoová) bylo rozpuštěno ve 20 ml methanolu



Obrázek 37: Strukturní vzorec kyseliny 3-hydroxy-2-naftoové.

a následně byl ligand deprotonizován nadbytkem (2,15 mmol) triethylaminu. K takto vzniklému světle žlutému roztoku byl za stálého míchání přidán modrozelený roztok VO(acac)₂ připravený rozpuštěním 0,97 mmol soli v 15 ml methanolu. Po smíchání byla tmavá reakční směs refluxována 24 hodin při teplotě 70 °C. Po odstavení byl hnědý roztok ponechán krystalizovat

v částečně uzavřené kádince za laboratorní teploty i za chladu v lednici. I v tomto případě zakoncentrování nevedlo ke vzniku suspenze. Černý roztok se postupně transformoval na nazelenalou olejovitou kapalinu.

Příprava komplexu 26

2 mmol ligandu ($L = 2\text{-hydroxy-4-methoxybenzofenon}$) bylo rozpuštěno v 10 ml methanolu. K takto vzniklému světle žlutému roztoku byl přidán vodný modrý roztok VOSO_4 připravený rozpuštěním 1 mmol soli v 10 ml vody. Po smíchání bylo v reakční směsi upraveno pH na hodnotu 8-9 pár kapkami 6% roztoku uhličitanu draselného za vzniku béžového roztoku se sraženinou. Vzniklá reakční směs byla následně míchána a refluxována 24 hodin při teplotě 70°C . Po ukončení reakce se vyloučila šedooranžová sraženina a reakční směs byla přefiltrována přes fritu. Ke vzniklému žlutooranžovému filtrátu bylo přidáno 10 ml dichlormethanu, promícháno a rozděleno na děliče. Extrakce se provedla dvakrát, dichlormethanový podíl se smíchal a odpařil, následně se přidal hexan a směs se dala do lednice. V hexanovém podílu v lednici se postupně vyloučila pevná bílá látka, což může svědčit o některé z výchozích látek. Světle oranžová vodná fáze byla ponechána volně krystalizovat v částečně uzavřené kádince za laboratorní teploty. Během zakonzervování nedocházelo k tvorbě pevné fáze.

Příprava komplexu 27 a 28

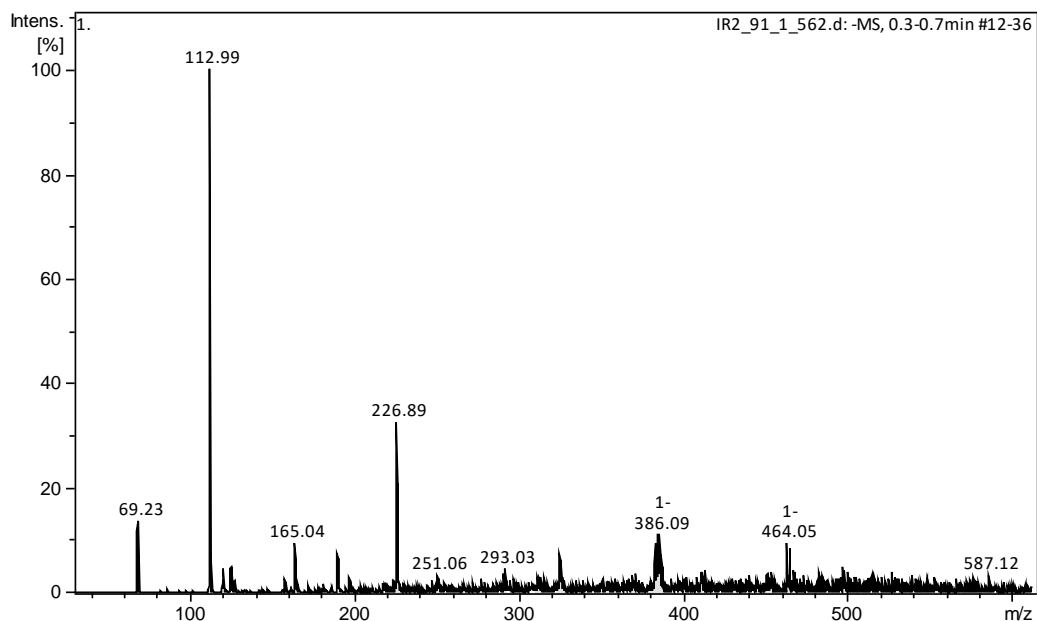
2 mmol ligandu ($L = \text{kyselina } \alpha\text{-hydroxyhippurová}$) bylo rozpuštěno v 10 ml vodě za vzniku bezbarvého roztoku a následně upraveno pH pár kapkami 6% roztoku K_2CO_3 . K takto vzniklému roztoku byl za stálého míchání postupně přidán modrý roztok VOSO_4 připravený rozpuštěním 1 mmol soli v 10 ml vody. Vzniklá tmavě modrá reakční směs byla refluxována po dobu 2 hodin při teplotě 90°C . Během reakce došlo ke změně barvy z tmavě modré na černou. Po ukončení reakce bylo k černému roztoku přidáno 15 ml dichlormethanu, rozděleno na děliče a extrakce se následně opakovala. Dichlormethanové podíly se smíchaly, dichlormethan se odpařil a ke vzniklé vrstvě se přidalo 5 ml hexanu a dalo do lednice. I v tomto případě došlo k vyloučení bílé látky, což může svědčit o výchozí látce (pravděpodobně ligandu). Vodná fáze byla ponechána volně krystalizovat za laboratorní teploty v částečně uzavřené kádince. Během zkoncentrování nedocházelo ke vzniku pevné látky. Komplex **28** byl připravován obdobným způsobem. Změna spočívala v rozpouštění ligandu v methanolu a úprava pH pomocí (2,15 mmol) triethylaminu. I v tomto případě došlo v hexanu k vyloučení bílé látky, která pravděpodobně odpovídá ligandu. Vodná modrá fáze byla ponechána volně krystalizovat v částečně uzavřené kádince. Ani dlouhodobé stání nicméně nevedlo ke vzniku pevné fáze. Postupným odpařováním rozpouštědla došlo k barevné změně roztoku z modré na tmavě modrozelenou.

3.3 Hmotnostní spektrometrie

Protože se nepodařila vyizolovat chemická individua, byly roztoky vybraných komplexů (**2**, **3**, **18**, **20-25**) analyzovány HPLC/MS metodou. K analýze bylo odebráno 10 μ l vzorku roztoku komplexu. Jako mobilní fáze byl použitý methanol.

Komplex 2

Analýza roztoku **1** v THF pomocí hmotnostní spektrometrie v negativním módu odhalila přítomnost několika fragmentů. V případě požadovaného komplexu $[\text{VO}(\text{L}^1)_2]$ je teoretická molekulová hmotnost tohoto komplexu 660,39. Signál odpovídající této hodnotě se však ve spektru nevyskytuje. Pík při $m/z = 464,05$ nicméně naznačuje možnou přítomnost komplexní částice složení $[\text{VO}(\text{acac})(\text{L}^1)]$, což nasvědčuje faktu, že v reakční směsi ke komplexním reakcím pravděpodobně dochází.

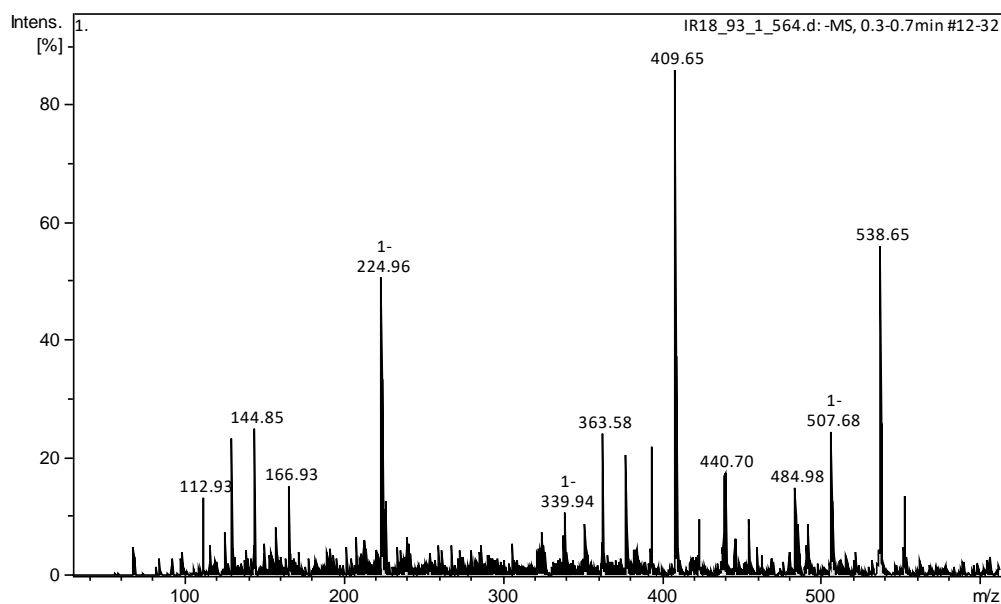


Obrázek 38: Hmotnostní spektrum komplexu **1** měřené v negativním módu.

Komplex 18

Analýza methanolvého roztoku komplexu **18** pomocí hmotnostní spektrometrie v negativním módu odhalila přítomnost několika fragmentů. V případě požadovaného komplexu $[\text{VO}(\text{L}^{18})_2]$ je teoretická molekulová hmotnost 425,23. Signál odpovídající této hodnotě se ve spektru neobjevuje. Pík při $m/z = 440,70$ nicméně naznačuje možnou přítomnost komplexní částice složení $[\text{VO}(\text{L}^{18})\text{CH}_3]$, nebo pík při $m/z = 409,65$ odpovídající

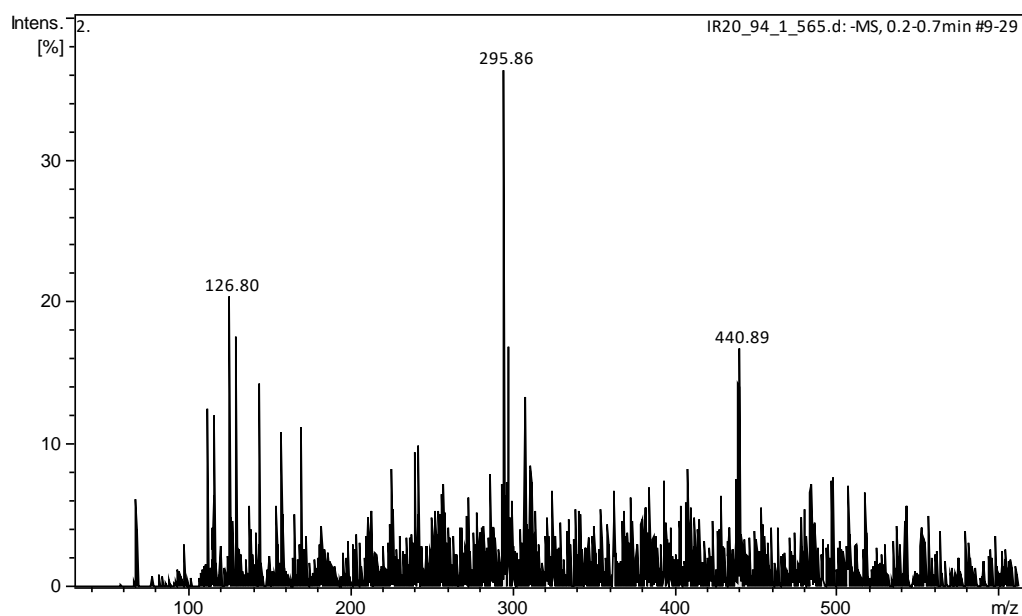
komplexní částici $[V(L^{18})_2]$, to nasvědčuje faktu, že v reakční směsi ke komplexním reakcím pravděpodobně dochází.



Obrázek 39: Hmotnostní spektrum komplexu **18** měřené v negativním módu.

Komplex 20

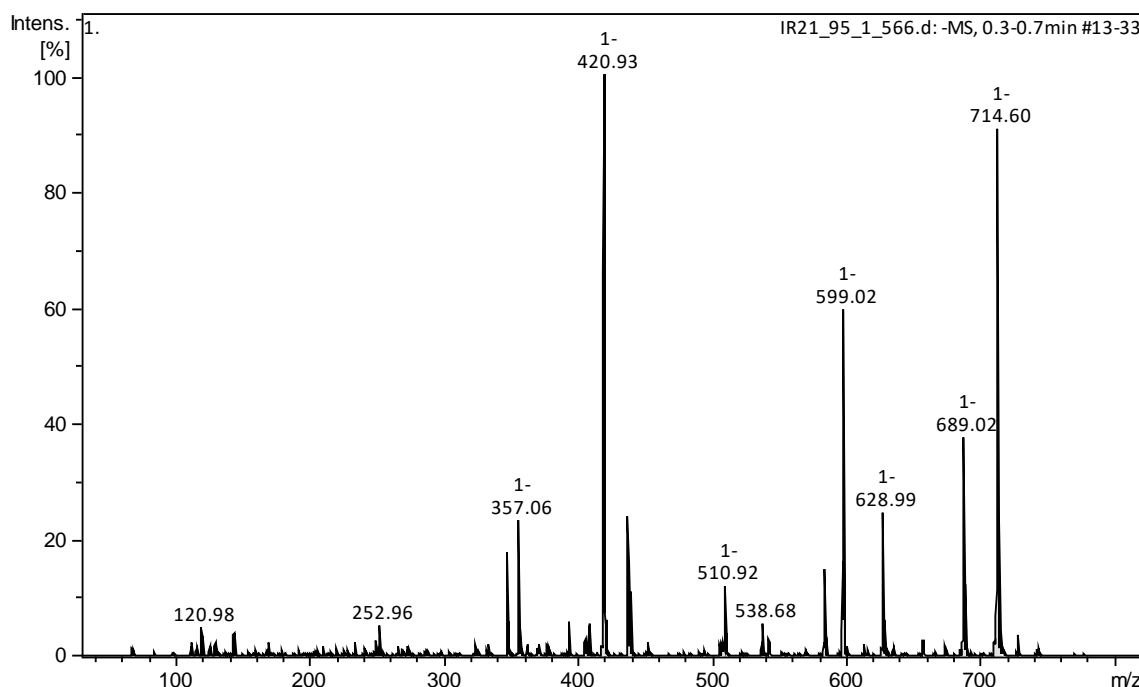
Analýza methanolového roztoku komplexu **20** pomocí hmotnostní spektrometrie odhalila přítomnost několika fragmentů. Teoretická molární hmotnost komplexu $[VO(L^{20})_2]$ je 623,64. Při hodnotách m/z však nebyla nalezena shoda s komplexem ani jinou komplexní částicí.



Obrázek 40: Hmotnostní spektrum komplexu **20** měřené v negativním módu.

Komplex 21

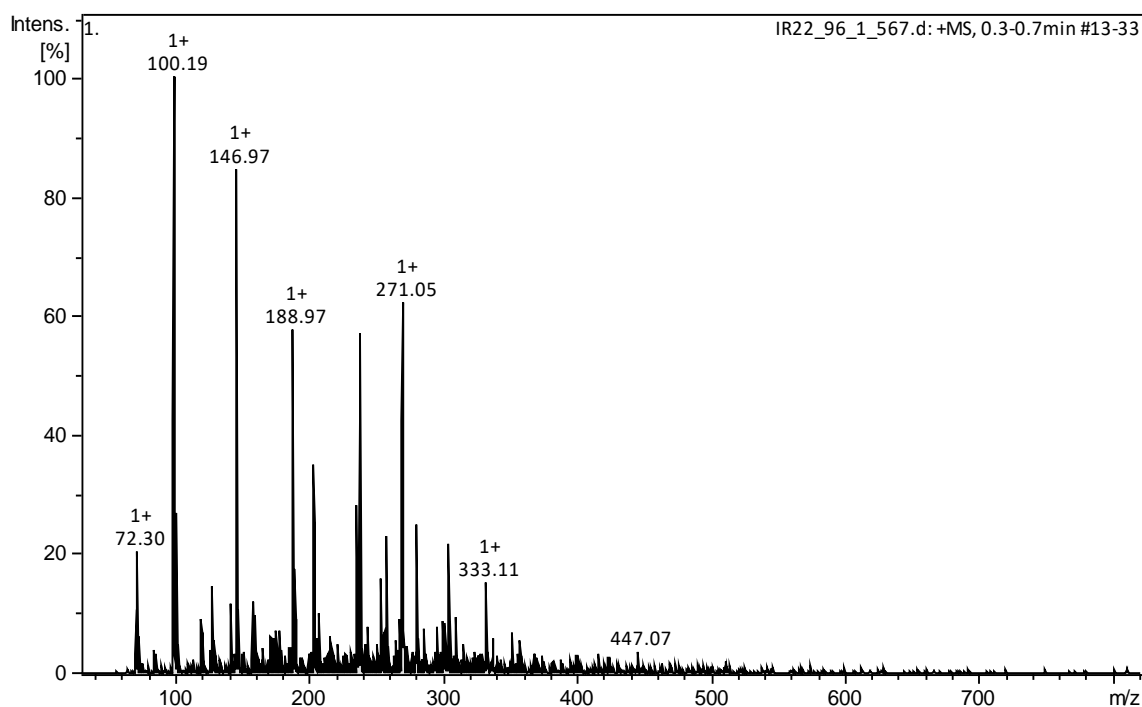
Analýza methanolového roztoku **21** pomocí hmotnostní spektrometrie v negativním módu byla odhalena přítomnost několika komplexních částic. Pro předpokládaný komplex $[\text{VO}(\text{L}^{21})_2]$ je teoretická molekulová hmotnost 781,52. Signál odpovídající této hodnotě se ve spektru neobjevuje. Pík při $m/z = 538,68$ nicméně naznačuje přítomnost komplexní částice složení $[\text{VO}(\text{acac})\text{L}^{21}\text{CH}_3]$ a pík při $m/z = 689,02$ komplexní částici $[(\text{VO})_2(\text{acac})_2(\text{L}^{21})]$. To nasvědčuje faktu, že v reakční směsi ke komplexním reakcím pravděpodobně dochází.



Obrázek 41: Hmotnostní spektrum komplexu **21** měřené v negativním módu.

Komplex 22

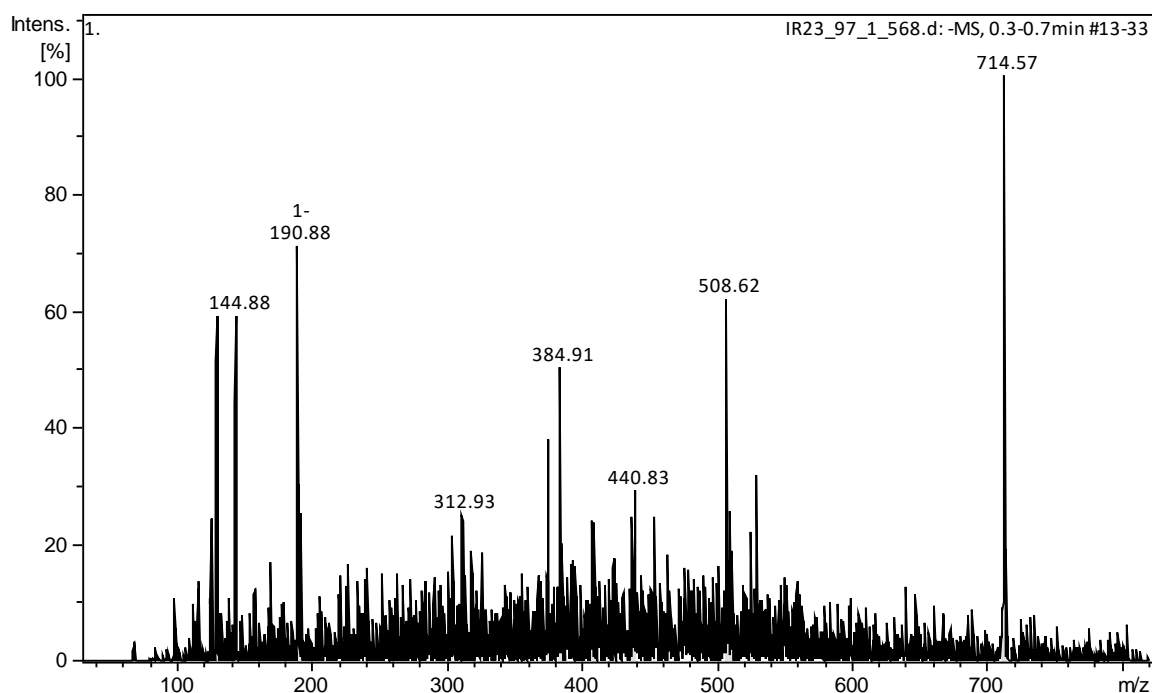
Analýza methanolového roztoku **22** pomocí hmotnostní spektrometrie v pozitivním módu byla odhalena přítomnost několika fragmentů. Pro předpokládaný komplex $[\text{VO}(\text{L}^{22})_2]$ je teoretická molekulová hmotnost 415,24. Pík odpovídající této hodnotě se ve spektru neobjevuje. Pík při hodnotě $m/z = 100,19$ naznačuje přítomnost acetylacetonátu, pík při hodnotě $m/z = 271,05$ naznačuje přítomnost komplexní částice $[\text{VO}(\text{L}^{22})\text{MeOH}]$, a také při hodnotě m/z 447,07 částici $[\text{VO}(\text{L}^{22})_2\text{MeOH}]$. To nasvědčuje faktu, že v reakční směsi ke komplexním reakcím pravděpodobně dochází.



Obrázek 42: Hmotnostní spektrum komplexu **22** měřené v pozitivním módu.

Komplex 23

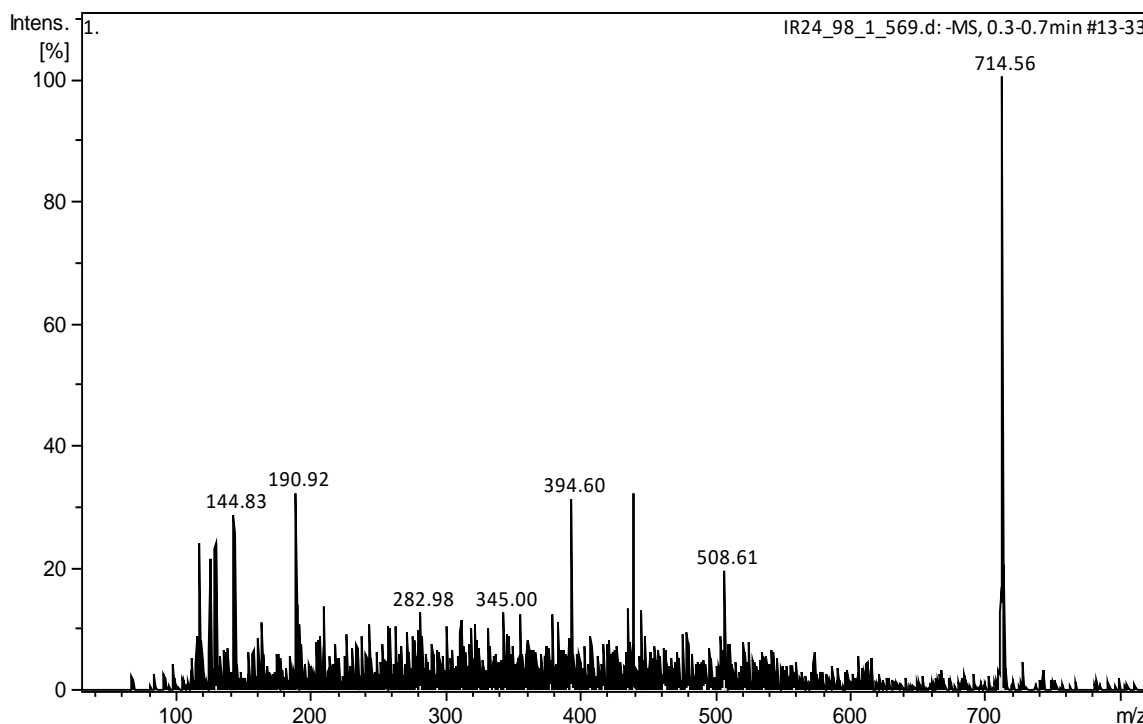
Analýza methanolového roztoku **23** pomocí hmotnostní spektrometrie odhalila přítomnost několika fragmentů v pozitivním i negativním módu. Pro předpokládaný komplex $[\text{VO}(\text{L}^{23})_2]$ je teoretická molekulová hmotnost 449,26. Při hodnotách m/z však nebyla nalezena shoda s komplexem ani jinou komplexní částicí.



Obrázek 43: Hmotnostní spektrum komplexu **23** měřené v negativním módu.

Komplex 24

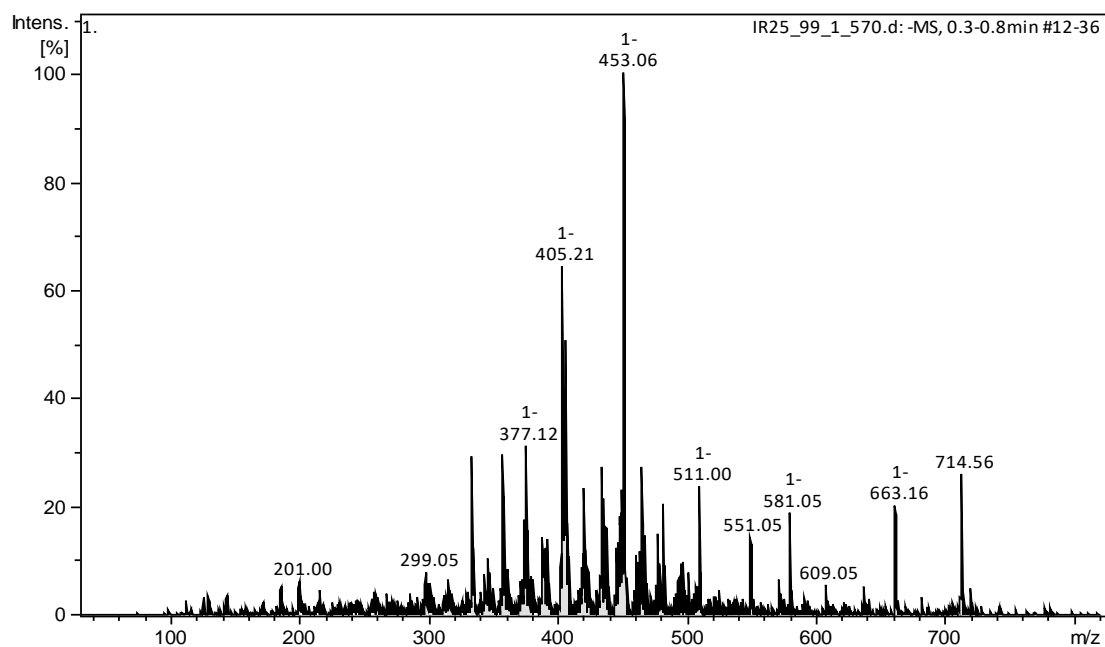
Analýzou methanolového roztoku **24** hmotnostní spektrometrií v negativním módu se vyskytuje pík s hodnotou $m/z = 394,60$, což nasvědčuje přítomnosti požadované komplexní částice $[\text{VO}(\text{L}^{24})_2]$. Při $m/z 100,18$ v pozitivním módu je pík prokazující pravděpodobně přítomnost acetylacetonu.



Obrázek 44: Hmotnostní spektrum komplexu **24** měřené v negativním módu.

Komplex 25

Analýzou methanolového roztoku **25** hmotnostní spektrometrií. Pro předpokládaný komplex $[\text{VO}(\text{L}^{22})_2]$ je teoretická molekulová hmotnost 441,28. Signál odpovídající této hodnotě se ve spektru nevyskytuje. Byla zjištěna přítomnost acetylacetonu při $m/z 100,19$ v pozitivním módu. V negativním módu se vyskytuje pík při $m/z = 453,06$ což naznačuje přítomnost komplexní částice $[\text{VO}(\text{acac})(\text{L}^{25})\text{TEA}]$. U dalších fragmentů se nepodařila objasnit možná struktura.



Obrázek 45: Hmotnostní spektrum komplexu **25** měřené v negativním módu.

4 ZÁVĚR

Předkládaná diplomová práce je věnována potenciálně biologicky aktivním komplexům vanadu s O,O–donorovými ligandy. V teoretické části byla vypracována literární rešerše věnující se problematice koordinačních sloučenin vanadu a jich potenciálu v medicíně aplikacích. Nejprve jsou ve stručnosti zmíněny základní vlastnosti vanadu a jeho sloučenin. Dále jsou zmíněny biologické systémy obsahující tento prvek a jeho možný terapeutický potenciál. Velká pozornost je věnována komplexům vanadu jako možných protirakovinných sloučenin. Ve stručnosti je objasněn možný mechanismus působení těchto sloučenin, respektive místa v biologickém systému, která mohou být ovlivněna těmito sloučeninami. Slibné výsledky byly publikovány zejména u komplexů vanadu s rostlinnými fenoly – flavonoidy. U těchto sloučenin byla zkoumána biologická aktivita vůči různým typům nádorů. Dále je věnována také pozornost antibakteriálním vlastnostem komplexů vanadu proti bakteriím způsobující tuberkulózu nebo proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím typu *Escherichia coli* nebo *Staphylococcus aureus*. V poslední řadě je ve stručnosti zmíněn potenciál v oblasti onemocnění diabetem – těmito sloučeninám byla ovšem detailně věnována bakalářská práce. Lze tedy konstatovat, že byla připravena celá řada potenciálně funkčních komplexů vanadu. Většina těchto literárně popsanych komplexů však není převedena do fáze klinického testování. Existuje však komplexní sloučenina BEOV u které byla provedena I. a II. fáze klinických testů. Nicméně se u pacientů po podání této látky vyskytovaly problémy s ledvinami.

Na rešeršní část navazuje část praktická. Cílem praktické části bylo provést pokusy o syntézu a charakterizaci komplexů vanadu s O,O- a O,N- donorovými ligandy. Byla provedena série reakcí s různými typy ligandů a $[\text{VO}(\text{acac})_2]$ nebo $\text{VOSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ použitých jako sůl. Druhá z uvedených solí je však reálně rozpustná pouze ve vodě, což po smíchání s methanolvým roztokem ligandu vedlo k jeho částečnému vysrážení. K úplnému rozpuštění nicméně došlo během refluxu reakční směsi. Při těchto pokusech byla vybrána řada organických ligandů, z větší části komerčně dostupných. Z menší části látky, se kterými pracuje školící pracoviště. Většina těchto ligandů obsahuje karboxylovou skupinu nebo hydroxylovou skupinu. S ohledem na charakter ligandů i předpokládanou strukturu komplexů byly experimenty modifikovány z hlediska úpravy pH. Zásadou používanou v některých případech byl 1M roztok hydroxidu sodného nebo 6% roztok uhličitanu draselného. Přidáním pár kapek těchto bází do roztoku vedlo k poměrně rychlým změnám

pH a v případě hydroxidu také ke vzniku makroskopicky viditelných dvoj-vrstev nebo vzniku malého množství kalu. Hydroxid je silná báze, která může v některých případech ligandů odštěpit také kyselý vodík z uhlíku v α poloze vzhledem k substituentu se záporným indukčním efektem na sousedním atomu. Z tohoto důvodu se přistoupilo k použití slabší organické báze, triethylaminu, který navíc podpořil rozpustnost výchozího ligandu v methanolu. Průběh reakce byl obecně spojen se změnami barev. Byly provedeny pokusy o přípravu komplexů v pevné fázi. To však vedlo většinou k tvorbě viskózní kapaliny, doprovázené změnou barvy, nebo k tvorbě směsi pevných látek. Pokusy o vysrážení komplexu **18** z reakční směsi se provedla nejprve odpařením malého množství směsi na rotační vakuové odparce za vzniku zelené olejovité kapaliny. Přidáním malého množství n-hexanu nicméně nevedlo k vysrážení pevného produktu. Další pokusy o vysrážení komplexu **18** se provedly odebráním 2 ml reakční směsi do 4 vialek a přidáním ekvivalentního množství destilované vody, dále propan-2-olu, xylenu a dichlormethanu. Rozpouštědla byla vybrána s ohledem na polaritu vzhledem k methanolu – od nejpolárnější vody, k méně polárnímu propan-2-olu a nepolárnímu dichlormethanu a xylenu. I v těchto případech nedocházelo k tvorbě pevného produktu. Během několika týdnů došlo k barevnému přechodu z původně rezavého roztoku na žlutý, nebo k úplnému odbarvení. Vzhledem k předchozímu byly provedeny HPLC/MS experimenty o charakterizaci roztoků komplexů **2**, **3**, **18** a **19–25** hmotnostní spektrometrií. Z výsledků je možné se domnívat, že v některých případech docházelo ke vzniku komplexních částic.

5 SEZNAM ZKRATEK

6-MP	6-merkaptopurin
8-HQ	8-hydroxychinolin
BEOV	bis(ethylmaltoláto)oxovanadičitý komplex
Bipy	2,2'-bipyridin
BMOV	bis(maltoláto)oxovanadičitý komplex
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CDK	cyklin-dependentní kinasa
DNA	deoxyribonukleová kyselina
GLUT-4	glukózový transportér závislý na inzulinu
GSH	redukováný glutation
<i>In vivo</i>	experiment se provádí uvnitř organismu
<i>In vitro</i>	experiment se provádí mimo organismus v řízeném prostředí
IDDM	inzulin-dependentní <i>Diabetes mellitus</i>
IRS-1	substrát inzulinového receptoru 1
MeOH	methanol
MIC	minimální inhibiční koncentrace
NIDDM	non-inzulin-dependentní <i>Diabetes mellitus</i>
Oda	oxidoacetát
p53	transkripční faktor
Phen	1,10-fenantrolin
ROS	reaktivní formy kyslíku
RNS	reaktivní formy dusíku
TEA	triethylamin
VO ²⁺	vanadylový kationt

6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. <https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-of-cancer/cancer-treatment-hormone-therapy.html?fbclid=IwAR0WPvtQTJbIUWBRTXiPnTHTr34h4m7L7J-PiWAwraLHIystURRNYFdMbUw>. [Online]
2. Z. Oktábec, J. Jampílek. Stručná historie chemoterapie. *Chem. Listy*. 2013, 107, 151-159.
3. N. N. Greenwood, A. Earnshaw. *Chemie prvků. Svazek II*. Praha : Informatorium, 1993.
4. [Online] [Citace: 27. březen 2021.] <https://www.mindat.org/photo-102227.html>.
5. D. C. Crans, J. J. Smee, E. Gaidamauskas, L. Yang. The Chemistry and Biochemistry of Vanadium and the Biological Activities. *Chem. Rev.* 2004, 104, 849-902.
6. Rehder, D. The Bioinorganic Chemistry of Vanadium. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* . 1991, 30, 148-167.
7. C. E. Housecroft, A. G. Sharpe. *Anorganická chemie*. Praha : Vysoká škola chemicko-technologická, 2014.
8. R. Choukroun, D. Gervais,. Synthesis and Properties of Some Dialkylamido Vanadium(V) Derivatives. *Inorg. Chim. Acta*. 1978, 27, 163-166.
9. Butler., A. Vanadium haloperoxidases. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1998, 2, 279-285.
10. J. A. L. da Silva, J. J. R. Fraústo da Silva, A. J. L. Pombeiro. Amavadin, a vanadium natural complex: Its role and applications. *Coord. Chem. Rev.* 2013, 257, 2388-2400.
11. I.A. Owolabi, K.L. Mandiwana, N. Panichev. Speciation of Chromium and Vanadium in Medicinal Plants. *S. Afr. J. Chem.* 2016, 69, 67-71.
12. Gustafsson., J. P. Vanadium geochemistry in the biogeosphere – speciation, solid-solution interactions, and ecotoxicity. *Appl. Geochem.* 2019, 102, 1-25.
13. A. Levina, P.A. Lay. Stabilities and Biological Activities of Vanadium Drugs: What is the Nature of the Active Species? *Chem. Asian J.* 2017, 12, 1692 - 1699.
14. K. H. Thompson, Ch. Orvig. Vanadium in diabetic: 100 years from Phase 0 to Phase 1. *J. Inorg. Biochem.* 2006, 12, 1925-1935.
15. G. Boden, X. Chen, J. Ruiz, G. D. van Rossum, S. Turco. Effects of Vanadyl Sulfate on Carbohydrate and Lipid Metabolism in Patients With Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Metab. Clin. Exp.* 1996, 45, 1130-1135.
16. J. Costa Pessoa, S. Etcheverry, D. Gambino. Vanadium compounds in medicine. *Coord. Chem. Rev.* 2015, 24-48.

17. K. Holmström, T. Finkel. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2014, 15, 411-421.
18. Evangelou., A. M. Vanadium in cancer treatment. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2002, 42(3), 249-265.
19. J. Aubrecht, R. K. Narla, P. Ghosh, J. Stanek, F. M. Uckun. Molecular Genotoxicity Profiles of Apoptosis-Inducing Vanadocene Complexes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999, 154(3), 228-235.
20. J. Vinklerek, J. Honzicek, J. Holubova. Interaction of the antitumor agent vanadocene dichloride with phosphate buffered saline. *Inorg. Chim. Acta.* 2004, 357(12), 3765-3769.
21. J. Honzíček, I. Klepalová, J. Vinklerek, Z. Padělková, I. Císařová, P. Šiman, M. Řezáčová. Synthesis, characterization and cytotoxic effect of ring-substituted and ansa-bridged vanadocene complexes. *Inorg. Chim. Acta.* 2011, 373, 1-7.
22. J. Benítez, L. Guggeri, I. Tomaz, J. Costa Pessoa, V. Moreno, J. Lorenzo, F.X. Avilés, B. Garat, D. Gambino. A novel vanadyl complex with a polypyridyl DNA intercalator as ligand: A potential anti-protozoa and anti-tumor agent. *J. Inorg. Biochem.* 2009, 103, 1386-1394.
23. N. Butenko, A.I. Tomaz, O. Nouri, E. Escribano, V. Moreno, S. Gama, V. Ribeiro, J. Paulo, Telo, J. Costa Pessoa, I. Cavaco. DNA cleavage activity of VIVO(acac)₂ and derivatives. *J. Inorg. Biochem.* 2009, 103, 622-632.
24. Y. Fu, Q. Wang, X.-G. Yang, X.-D. Yang, K. Wang. Vanadyl bisacetylacetonate induced G1/S cell cycle arrest via high-intensity ERK phosphorylation in HepG2 cells. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2008, 13, 1001-1009.
25. I. E. León, N. Butenko, A. L. Di Virgilio, C. I. Muglia, E. J. Baran, I. Cavaco, S. B. Etcheverry. Vanadium and cancer treatment: antitumoral mechanisms of three oxidovanadium(IV) complexes on a human osteosarcoma cell line. *J. Inorg. Biochem.* 2014, 134, 106-117.
26. M. Mohamadi, S. Yousef Ebrahimipour, M. Torkzadeh-Mahani, S. Foro, A. Akbari. A mononuclear Diketone-based Oxido-Vanadium(IV) complex: Structure, DNA and BSA binding, molecular docking and anticancer activities against MCF-7, HPG-2, and HT-29 cell lines. *RSC Adv.* 2015, 5, 101063-101075.
27. S. Sgarbossa, E. Diana, D. Marabello, A. Deagostino, S. Cadamuro, A. Barge, E. Laurenti, M. Gallicchio, V. Boscaro, E. Ghibaudi. Synthesis, characterization and cell viability test of six vanadyl complexes with acetylacetonate derivatives. *J. Inorg. Biochem.* 2013, 128, 26-37.
28. K. Dankho, A. Ahmad, B. Weber, B. Biersack, R. Schobert. 194, 2019, 1–6. Anticancer properties of a new Non-Oxido Vanadium(IV) complex with a catechol-modified 3,3-Diindolylmethane ligand. *J. Inorg. Biochem.* 2019, 194, 1-6.

29. A. Sinha, K. Banerjee, A. Banerjee, S. Das, S. K. Choudhuri. Synthesis, characterization and biological evaluation of a novel vanadium complex as a possible anticancer agent. *J. Organomet. Chem.* 2014, 772-773, 34-41.
30. M. Strianese, A. Basile, A. Mazzone, S. Morello. Therapeutic Potential of a Pyridoxal-Based Vanadium(IV) Complex Showing Selective Cytotoxicity for Cancer Versus Healthy Cells. *J. Cell. Physiol.* 2013, 228, 2202-2209.
31. H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones. Oxidative stress. *Annu. Rev. Biochem.* 2017, 86, 715-748.
32. V. Sosa, T. Moliné, R. Somoza, R. Paciucci, H. Kondoh, M.E. LLeonart. Ageing Res. Rev. 2013, 376–390. Oxidative stress and cancer: An overview. *Ageing Res. Rev.* 2013, 12(1), 376-390.
33. Holeček, V. Oxidační stres u nádorových onemocnění. *Klin. Biochem. Metab.* 2010, 18(39), 225-230.
34. Marchand., L. Le. Cancer preventive effects of flavonoids—a review. *Biomed. Pharmacother.* 2002, 56, 296-301.
35. V. Elangovan, N. Sekar, S. Govindasamy. Chemopreventive potential of dietary bioflavonoids against 20-methylcholanthrene-induced tumorigenesis. *Cancer Lett.* 1994, 87, 107-113.
36. A. Gomes, E. Fernandes, J. L.F.C. Lima, L. Mira, M. L. Corvo. Molecular Mechanisms of Anti-Inflammatory Activity Mediated by Flavonoids. *Curr. Med. Chem.* 2008, 15, 1586-1605.
37. R. J. Nijveldt, E. van Nood, D. E. C. van Hoorn, P. G. Boelens, K. van Norren, P. A. M. van Leeuwen. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 74, 418-425.
38. G. Leonarduzzi, G. Testa, B. Sottero, P. Gamba, G. Poli. Design and Development of Nanovehicle-Based Delivery Systems for Preventive or Therapeutic Supplementation with Flavonoids. *Curr. Med. Chem.* 2010, 17, 74-95.
39. D. Procházková, I. Boušová, N. Wilhelmová. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia.* 2011, 82, 513-523.
40. M. L. Lázaroa, E. Willmorea, C. A. Austina. The dietary flavonoids myricetin and fisetin act as dual inhibitors of DNA topoisomerases I and II in cells. . *Mutat. Res.* 2010, 696, 41-47.
41. F. Casagrande, J. M. Darbon. Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1. *Biochem. Pharmacol.* 2001, 61, 1205-1215.

42. S. Erdogan, O. Doganlar, Z. B. Doganlar, R. Serttas, K. Turkekul, I. Dibirdik, A. Bili. The flavonoid apigenin reduces prostate cancer CD44+ stem cell survival and migration through PI3K/Akt/NF- κ B signaling. *Life Sci.* 2016, 162, 77-86.
43. L. G. Naso, L. Lezama, T. Rojo, S. B. Etcheverry, M. Valcarcel, M. Roura, C. Salado, E. G. Ferrer, P. A. M. Williams. Biological evaluation of morin and its new oxovanadium(IV) complex as antio-xidant and specific anti-cancer agents. . *Chem.-Biol. Interact.* 2013, 206, 289-301.
44. J. J. M. Medina, L. G. Naso, A. L. Pérez, A. Rizzi, E. G. Ferrer, P. A. M. Williams. Antioxidant and anticancer effects and bioavailability studies of the flavonoid baicalin and its oxidovanadium(IV) complex. *J. Inorg. Biochem.* 2017, 166, 150-161.
45. L. Naso, V. R. Martínez, L. Lezama, C. Salado, M. Valcarcel, E. G. Ferrer, P. A. M. Williams. Antioxidant, anticancer activities and mechanistic studies of the flavone glycoside diosmin and its oxidovanadium(IV) complex. Interactions with bovine serum albumin. *Bioorg. Med. Chem.* 2016, 24, 4108-4119.
46. L. G. Naso, L. Lezama, M. Valcarcel, C. Salado, P. Villacé, D. Kortazar, E. G. Ferrer, P. A. M. Williams. Bovine serum albumin binding, antioxidant and anticancer properties of an oxidovanadium(IV) complex with luteolin. *J. Inorg. Biochem.* 2016, 157, 80-93.
47. M. S. Islas, L. G. Naso, L. Lezama, M. Valcarcel, C. Salado, M. Roura-Ferrer, E. G. Ferrer, P. A. M. Williams. Insights into the mechanisms underlying the antitumor activity of an oxidovanadium(IV) compound with the antioxidant naringenin. Albumin binding studies. *J. Inorg. Biochem.* 2015, 149, 12-24.
48. I.E. León, J.F. Cadavid-Vargas, I. Tiscornia, V. Porro, S. Castelli, P. Katkar, A. Desideri, M. Bollati-Fogolin, S.B. Etcheverry. Oxidovanadium(IV) complexes with Chrysin and Silibinin: Anticancer activity and mechanisms of action in a human colon adenocarcinoma model. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2015, 20, 1175-1191.
49. I.E. Leon, V. Porro, A.L. Di Virgilio, L.G. Naso, P.A. Williams, M. Bollati-Fogolin, S.B. Etcheverry. Antiproliferative and apoptosis-inducing activity of an oxidovanadium(IV) complex with the flavonoid silibinin against osteosarcoma cells. *J. Biol. Inorg. Chem.* . 2014, 19, 59.
50. I.E. Leon, A.L. Di Virgilio, V. Porro, C.I. Muglia, L.G. Naso, P.A. Williams, M. Bollati-Fogolin, S.B. Etcheverry. Antitumor properties of a vanadyl(IV) complex with the flavonoid chrysin [VO(chrysin)₂EtOH]₂ in a human osteosarcoma model: the role of oxidative stress and apoptosis. . *Dalton Trans.* 2013, 42, 11868.
51. I. Correia, P. Adão, S. Roy, M. Wahba, C. Matos, M. R. Maurya, F. Marques, F. R. Pavan, C. Q. F. Leite, F. Avecilla, J. C. Pessoa. Hydroxyquinoline derived vanadium(IV and V) and copper(II) complexes as potential anti-tuberculosis and anti-tumor agents. *J. Inorg. Biochem.* 2014, 141, 83-93.

52. M. K. Sahani, U. Yadava, O. P. Pandey, S. K. Sengupta. Synthesis, Spectral characterization and antimicrobial studies of nano-sized oxovanadium(IV) complexes with Schiff bases derived from 5-(phenyl/substituted phenyl)-2-hydrazino-1,3,4-thiadiazole and indoline-2,3-dione. *Spectrochim. Acta, Part A*. 2014, 125, 189-194.
53. T. Rosu, E. Pahontu, D. C. Ilies, R. Georgescu, M. Mocan, M. Leabu, S. Shova, A. Gulea. Synthesis and characterization of some new complexes of Cu(II), Ni(II) and V(IV) with Schiff base derived from indole-3-carboxaldehyde. Biological activity on prokaryotes and eukaryotes. *Eur. J. Med. Chem.* 2012, 53, 380-389.
54. M. N. Patel, S. H. Patel, M. R. Chhasatia, P. A. Parmar. Five-coordinated oxovanadium(IV) complexes derived from amino acids and ciprofloxacin: Synthesis, spectral, antimicrobial, and DNA interaction approach. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 6494-6500.
55. Holeček, M. *Regulace metabolismu základních živin u člověka*. Praha : Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum., 2016.
56. G. Huyer, S. Liu, J. Kelly, J. Moffat, P. Payette, B. Kennedy, G. Tsaprailis, M. J. Gresser, Ch. Ramachandran. Mechanism of Inhibition of Protein-tyrosine Phosphatases by Vanadate and Pervanadate. . *J. Biol. Chem.* 1997, 272(2), 843-851.
57. E. Irving, A. W. Stoker. Vanadium Compounds as PTP Inhibitors. *Molecules*. 2017, 22, 2269.
58. S. Treviño, A. Diaz. Vanadium and insulin: Partners in metabolic regulation. *J. Inorg. Biochem.* 2020, 208, 111094.
59. N. Sekar, S. William, N. Balasubramaniyam, P. Kamarajan, S. Govindasamy. Optimization of sodium orthovanadate to treat streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Biosci.* 1990, 15, 67-75.
60. G. Boden, X. Chen, J. Ruiz, G. D. van Rossum, S. Turco. Effects of Vanadyl Sulfate on Carbohydrate and Lipid Metabolism in Patients With Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Metabolism*. 1996, 45, 1130-1135.
61. C. E. Heyliger, A. G. Tahiliani, J. H. McNeill. Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. *Science*. 1985, 227, 1474-1477.
62. K. H. Thompson, B.D. Liboiron, Y. Sun, K.D.D. Bellman, I. A. Setyawati, B.O. Patrick, V. Karunaratne, G. Rawji. J. Wheeler, K. Sutton, S. Bhanot, C. Cassidy, J.H. McNeill, V.G. Yuen, C. Orvig. Preparation and characterization of vanadyl complexes with bidentate maltol type ligands: in vivo comparisons of anti-diabetic therapeutic potential. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2003, 8, 66-74.

63. K. H. Thompson, J. Lichter, C. LeBel, M. C. Scaife, J. H. McNeill, Ch. Orvig. Vanadium treatment of type 2 diabetes: A view to the future. *J. Inorg. Biochem.* 2009, 103, 554-558.
64. Y. Adachi, H. Sakura. Insulin-Mimetic Vanadyl(IV) Complexes as Evaluated by Both Glucose Uptake and Inhibition of Free Fatty Acids (FFA)-Release in Isolated Rat Adipocytes. *Chem. Pharm. Bull.* 2004, 52, 428-433.
65. T. Jakusch, T. Kiss. In vitro study of the antidiabetic behavior of vanadium compounds. *Coord. Chem. Rev.* 2017, 351, 118-126.
66. S. I. Pillai, S. P. Subramanian, M. Kandaswamy. A novel insulin mimetic vanadium-flavonol complex: Synthesis, characterization and in vivo evaluation in STZ-induced rats. *Eur. J. Med. Chem.* 2013, 63, 109-117.
67. H. D. Revanasiddappa, B. Vijaya, L. Shivakumar, K. Shiva Prasad. Synthesis, Structural Characterization, and Antimicrobial Activity Evaluation of New Binuclear Niobium(V) Tartrate Complexes with Biologically Important Drugs. *ISRN Inorg. Chem.* 2012, vol. 2013, 1-7.
68. H. Thomadaki, A. Lymberopoulou-Karaliota, A. Maniatakou, A. Scorilas. Synthesis, spectroscopic study and anticancer activity of a water-soluble Nb(V) peroxo complex. *J. Inorg. Biochem.* 2011, 105, 155-163.
69. I. Honzíčková, J. Honzíček, J. Vinklár, Z. Padělková, M. Řezáčová, L. Šebestová. Ring-functionalized niobocene complexes. *Appl. Organomet. Chem.* 2014, 28, 252-258.
70. I. H. Hall, C. E. Tolmie, B. Jo Barnes, M. A. Curtis, J. M. Russell, M. G. Finn, R. N. Grimes. Cytotoxicity of Tantalum(V) and Niobium(V) Small Carborane Complexes and Mode of Action in P388 Lymphocytic Leukemia Cells. *Appl. Organometal. Chem.* 2000, 14, 108-118.
71. P. Štarha, Z. Trávníček, Z. Dvořák. A cytotoxic tantalum(V) half-sandwich complex: a new challenge for metal-based anticancer agents. *Chem. Commun.* 2018, 54, 9533.
72. G. Mohandas, N. Oskolkov, M. T. McMahon, P. Walczak, M. Janowski. Porous tantalum and tantalum oxide nanoparticles for regenerative medicine. *Acta Neurobiol. Exp.* 2014, 74, 188-196.
73. D. L. Flynn, D. L. Zabrowski, D. P. Becker, R. Nosal, C. I. Villamil, G. W. Gullikson, Ch. Moumami, D. C. Yang. Bis(maltolato)oxovanadium(IV) Is a Potent Insulin Mimic. *J. Med. Chem.* 1992, 35, 1489-1491.
74. J. Kos, I. Zadrazilova, M. Pesko, S. Keltosova, J. Tengler, T. Gonec, P. Bobal, T. Kauerova, M. Oravec, P. Kollar, A. Cizek, K. Kralova, J. Jampilek. Antibacterial and herbicidal activity of ring-substituted 3-hydroxynaphthalene-2-carboxanilides. *Molecules.* 2013, 18, 7977-7997.

