# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

## Přírodovědecká fakulta

**Katedra anorganické chemie**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

# Syntéza a charakterizace polosendvičových komplexů tantalu


Autor: Milan Dak

Studijní obor: Bioanorganická chemie

Typ studia: Prezenční

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



Termín odevzdání práce: 30. dubna 2018

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem sepsal samostatně pod odborným dohledem vedoucího bakalářské práce. Veškerou použitou literaturu jsem uvedl na konci práce. Jako autor dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob. Souhlasím s tím, aby moje práce byla přístupná v knihovně katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne ……  ……

jméno

**Poděkování**

Chtěl bych zde poděkovat doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné připomínky při vypracovávání této bakalářské práce. Dále chci poděkovat zaměstnancům katedry anorganické chemie, a to konkrétně paní Pavle Richterové za provedení elementární analýzy, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení hmotnostní spektrometrie, Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za provedení NMR spektroskopie a Mgr. Aleně Klanicové, PhD. za provedení IČ spektroskopie. Dále chci poděkovat vedoucímu katedry anorganické chemie, prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D., za možnost vypracovat předloženou práci na půdě uvedené katedry.

Práce vznikla za finanční podpory projektů PrF_2017_018 a PrF_2018_011.

**Bibliografická identifikace:**


| | |
|---|---|
| Jméno a příjmení autora: | Milan Dak |
| Název práce: | Syntéza a charakterizace polosendvičových komplexů tantalu |
| Typ práce: | Bakalářská |
| Pracoviště: | Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci |
| Vedoucí práce: | doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D. |
| Rok obhajoby práce: | 2018 |



**Abstrakt**: Tato bakalářská práce je zaměřená na literární rešerši problematiky biologicky aktivních komplexů vybraných přechodných kovů a některých organických sloučenin perspektivně využitelných jako biologicky aktivní ligandy tzv. bimodálních koordinačních sloučenin. V teoretické části jsou diskutovány vybrané komplexy na bázi neplatinových přechodných kovů s úmyslem seznámit čtenáře s jejich možným biologickým účinkem především při léčbě rakoviny. Kromě cytotoxických komplexů neplatinových přechodných kovů jsou popsány také komplexy, které mohou vzhledem ke své struktuře zastupovat určitou funkci hormonu nebo enzymu. Dále se předložená práce zabývá přípravou polosendvičových komplexů tantalu s potenciálním biologickým účinkem a jejich charakterizací pomocí vhodných analytických technik (např. NMR spektroskopie nebo hmotnostní spektrometrie). Konkrétně práce navazuje na v nedávné době publikované vysoce cytotoxické dichlorotantaličné komplexy obecného složení [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(*n*salaph)], a to směrem substituce chloro ligandů za biologicky aktivní sloučeniny (např. dichloracetát, dca); salaph je deprotonizovaná Schiffova báze 2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol, *n*salaph její libovolný derivát. Takto byly v odpovídající čistotě připraveny a charakterizovány dva nové komplexy o složení [Ta($\eta^5$-Cp*)$(dca)_2$(salaph)] a [Ta($\eta^5$-Cp*)$(dca)_2$(salaph-4Br)]; salaph-4Br = deprotonizovaný 4-brom-2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol.



| | |
|---|---|
| Klíčová slova: | tantal, komplex, dichloracetát, Schiffova báze, syntéza, biologická aktivita |
| Počet stran: | 45 |
| Jazyk: | Čeština |

**Bibliographical identification:**

| | |
|---|---|
| Author's first name and surname: | Milan Dak |
| Title: | Synthesis and characterization of half-sandwich tantalum(V) complexes |
| Type of thesis: | Bachelor |
| Department: | Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc, Czech Republic |
| Supervisor: | doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D. |
| The year of presentation: | 2018 |

**Abstract**: This bachelor thesis focuses on the literature research of biologically active complexes of selected transition metals and some organic compounds usable as bioactive ligands of so called bimodal coordination compounds. The theoretical part deals with selected complexes based on non-platinum transition metals, with an intent to familiarize the reader with their possible biological effect, especially in the treatment of cancer. In addition to cytotoxic non-platinum complexes, selected non-platinum transition metal complexes, whose structure allows them to adopt a function of some hormones or enzymes, are also mentioned. Further, this thesis deals with the preparation of potentially biologically active half-sandwich tantalum(V) complexes and their characterization using suitable analytical techniques (e.g., NMR spectroscopy or mass spectrometry). In particular, this work follows recently reported dichloridotantalum(V) complexes of the general composition [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(*n*salaph)], where their chlorido ligands were replaced by the selected biologically active organic compounds (e.g., diochloroacetate, dca); salaph is deprotonated Schiff base 2-{(*E*)-[(2-hydroxyphenyl)imino]methyl}phenol and *n*salaph is its derivative. Two new complexes [Ta($\eta^5$-Cp*)$(dca)_2$(salaph)] and [Ta($\eta^5$-Cp*)$(dca)_2$(salaph-4Br)] were prepared in purity acceptable for the following biological experimants; salaph-4Br = deprotonated 4-bromo-2-{(*E*)-[(2-hydroxyphenyl)imino]methyl}phenol.

| | |
|---|---|
| Keywords: | tantalum, complex, dichloroacetate, Schiff base, synthesis, biological activity |
| Number of pages: | 45 |
| Language: | Czech |

# OBSAH

1. ÚVOD ..... 7
2. TEORETICKÁ ČÁST ..... 8
2.1. Historický vývoj léčiv na bázi přechodných kovů ..... 8
2.2. Léčiva na bázi přechodných kovů ..... 8
2.2.1. Protinádorově aktivní komplexy ..... 8
2.2.1.1. Vybrané komplexy na bázi neplatinových kovů s protinádorovým účinkem ..... 9
2.2.2. Vybrané komplexy na bázi neplatinových kovů jako mimetika ..... 12
2.3. Biologicky aktivní komplexy tantalu ..... 13
2.3.1. Biologicky aktivní karboranové komplexy tantalu ..... 13
2.3.2. Biologicky aktivní polosendvičové komplexy tantalu ..... 14
2.4. Vybrané biologicky aktivní sloučeniny jako ligandy – dichloracetát (DC) ..... 15
2.4.1. Jak získávají rakovinné buňky energii? ..... 16
2.4.2. Buněčná smrt (apoptóza) a její regulace ..... 16
2.4.3. Dichloracetát jako spouštěč buněčné smrti (apoptózy) ..... 17
2.4.4. Vybrané biologicky aktivní komplexy zahrnující DC jako ligand ..... 17
2.5. Vybrané biologicky aktivní sloučeniny jako ligandy – valproát (VP) ..... 19
2.5.1. Histon deacetylasy a rakovina ..... 20
2.5.2. Vybrané biologicky aktivní komplexy zahrnující VP jako ligand ..... 21
2.6. Vybrané biologicky aktivní sloučeniny jako ligandy – ibuprofen (IBU) ..... 22
2.6.1. Vybrané biologicky aktivní komplexy zahrnující IBU jako ligand ..... 22
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST ..... 24
3.1. Použité chemikálie ..... 24
3.2. Příprava sloučenin ..... 24
3.2.1. Příprava výchozích sloučenin ..... 25
3.2.2. Příprava dichloro komplexů ..... 27
3.2.3. Příprava dichloracetato komplexů ..... 28
3.2.4. Příprava valproato a ibuprofenato komplexů ..... 29
4. VÝSLEDKY A DISKUZE ..... 31
5. ZÁVĚR ..... 40
6. POUŽITÁ LITERATURA ..... 41

# 1. ÚVOD

Cytostatické působení komplexů platiny je známo už od 60. let 20. stol. Kromě všeobecně známé *cisplatiny*[1], byla připravena i řada komplexů ruthenia jako je např. NAMI-A[2]. Biologicky aktivní komplexy tantalu byly doposud popsány v jediné práci[3], a to konkrétně v roce 2000, kdy se autoři zabývali syntézou a studiem karboranových komplexů s cytostatickým účinkem. Další výzkum zaměřen na biologicky aktivní komplexy tantalu proběhl až v posledních dvou letech na katedře anorganické chemie Univerzity Palackého v Olomouci, kde se podařilo připravit řadu dichloro komplexů tantalu[4], které byly studovány na řadě buněčných linií rakovinných buněk. Řada biologicky aktivních sloučeniny (např. dichloracetát nebo valproát) mohou být využity jako vhodné ligandy při modifikaci biologických vlastností těchto komplexů, a to konkrétně náhradou za biologicky neaktivní chloro ligandy. Tyto komplexy mohou následně vykazovat potenciální zvýšení biologické aktivity, než původní dichloro komplexy. Důkazem je práce zabývající se *mitaplatinou*[5], která je Pt(IV) derivátem *cisplatiny*, který v axiálních polohách nese dva uvolnitelné dichlorcetato (dca) ligandy. Dalšími publikacemi popisující ladění biologické aktivity za pomocí těchto vhodných ligandů jsou např. publikace popisující přípravu a cytotoxické vlastnosti $[M(\eta^6\text{-pcym})(bphen)(dca)]PF_6$[6]; M = Ru nebo Os a $[Os(\eta^6\text{-pcym})(dpa)(vpa)]PF_6$[7] obsahující uvolnitelný dca nebo valproato (vpa) ligand.

Mezi cíle mé bakalářské práce patřilo:

- Vypracování litrární rešerše současného stavu bioanorganické chemie vybraných přechodných kovů.
- Vypracování litrární rešerše zaměřené na některé biologicky aktivní organické sloučeniny, které mohou být využity jako ligandy bimodálních komplexů přechodných kovů.
- Syntéza polosendivčových komplexů tantalu obecného vzorce $[Ta(\eta^5\text{-Cp*})(dca)_2(salaph)]$, kde Cp* = pentamethylcyklopentadienyl, salaph = deprotonizovaná Schiffova báze 2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol a dca = dichloracetát.
- Ve spolupráci s vedoucím práce a dalšími zaměstnanci katedry anorganické chemie PřF UP v Olomouci připravené sloučeniny charakterizovat vhodnými analytickými metodami.

# 2. TEORETICKÁ ČÁST

## 2.1. Historický vývoj léčiv na bázi přechodných kovů

Již v roce 3000 př. n. l. byla v Egyptě měď použita ke sterilizaci vody. Číňané a Arabové požívali zlato v řadě léků před více než 3500 lety, ve víře, že drahé kovy mají léčivou hodnotu. Chlorid měďný ($Hg_2Cl_2$) byl používán jako diuretikum během období renesance v Evropě. Paul Ehrlich vyvinul *Salvarsan* (obsahující arsen) jako lék na léčbu syfilis na počátku dvacátého století. Nicméně bioanorganická chemie, jak ji dnes známe, byla založena v 50. a 60. letech 20. století objevením bakteriostatických a protinádorových vlastností polypyridylových komplexů ruthenia Francisem Dwyerem a především objevem protinádorových vlastností *cisplatiny* (*cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex) Prof. Barnetem Rosenbergem. Od té doby byla syntetizována obrovská řada biologicky aktivních komplexů různých přechodných kovů, které byly aplikovány většinou jako protirakovinová, ale také jako protizánětlivá, antibakteriální, antirevmatická a antimalarická léčiva. Kromě koordinačních sloučenin je nutné zmínit také koloidní formy (nanočástice) některých ušlechtilých kovů používaných pro své terapeutické účinky. Ačkoli jejich účinnost je stále v debatě a byly vzneseny pochybnosti ohledně jejich bezpečnosti, koloidní zlato, stříbro, iridium, ruthenium a rhodium jsou dostupné pro boj s mnoha nemocemi, volnými radikály a bakteriemi.[8-9]

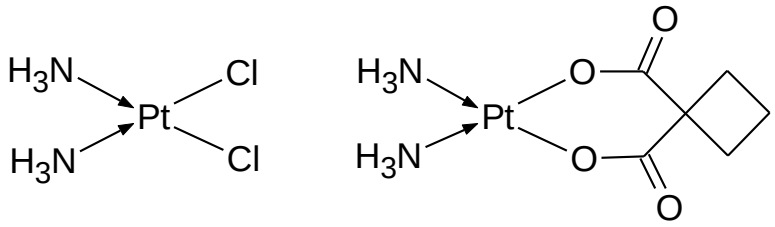
## 2.2. Léčiva na bázi přechodných kovů

S příchodem moderní medicíny se ukázalo, že mnohé léky na bázi nepřechodných i přechodných kovů jsou velmi účinné. Stejně tak i mnoho různých iontů kovů vykazuje aktivitu proti řadě onemocnění. Jedinečná elektronová struktura přechodných kovů nabízí velkou všestrannost, která se ne vždy projevuje u organických léků, pokud jde o schopnost modifikovat a ladit biologické vlastnosti dané molekuly.[10]

### 2.2.1. Protinádorově aktivní komplexy

Rakovina je hlavní příčinou úmrtí a onemocnění po celém světě. Podle odhadů WHO se roční úmrtí souvisejících s rakovinou zvýší na více než 21 milionů do roku 2030.[9] Náhodný objev protirakovinných vlastností *cisplatiny* (obrázek 1) a jejího klinického zavedení v sedmdesátých letech představuje významný orientační bod v historii úspěšných protirakovinových léků. Na *cisplatinu* navazují další protinádorová léčiva na bázi platiny. Například *karboplatina* (léčivo druhá generace; obrázek 1), která byla na trh zavedena

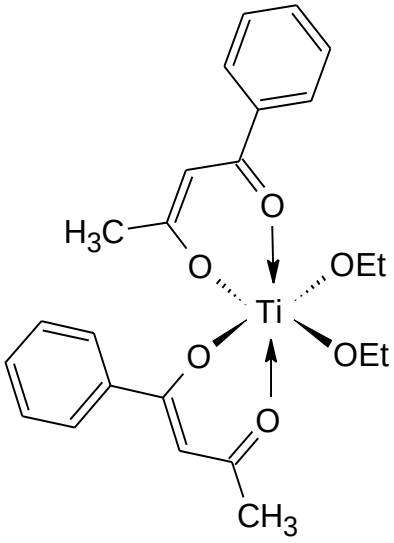
v osmdesátých letech, vykazuje podobné spektrum účinnosti jako *cisplatina*, ale je bezpečnější (méně toxická).[11] Celkově lze konstatovat, že bylo doposud testováno jako potenciální protinádorová léčiva několik tisíc sloučenin platiny, z nichž jen asi třicet látek proniklo do fáze klinických studií, a jen tři látky (*cisplatina*, *karboplatina* a *oxaliplatina*) jsou používány celosvětově. Kromě komplexů platiny se doposud uskutečnilo obrovské množství výzkumů protinádorově aktivních sloučenin, které nejsou na bázi platiny.[12]




**Obrázek č.1: Strukturní vzorec *cisplatiny* (vlevo) *a karboplatiny* (vpravo)**

**2.2.1.1. Vybrané komplexy na bázi neplatinových kovů s protinádorovým účinkem**

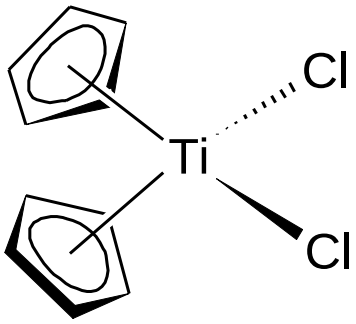
*Budotitan* (obrázek 2) $[Ti^{IV}(bzac)_2(OEt)_2]$ (bzac = 1-fenylbutan-1,3-dionát = benzoylacetonát) byl prvním neplatinovým komplexem testovaným v klinických studiích. U látek tohoto typu bylo zjištěno, že protinádorová aktivita je velmi závislá na povaze použitého diketonátu. Ligandy substituované rovinnými aromatickými kruhovými systémy, jako jsou fenylové skupiny v *budotitanu*, jsou výhodné. Většina bis(β-diketonato) komplexů inhibujících nádor je *cis*-konfigurována. *Cis*-konfigurované sloučeniny s nesymetricky substituovaným β-diketonátem jako ligandem jsou v rovnováze mezi třemi možnými *cis*-izomery v roztoku při laboratorní teplotě.[13] V preklinických studiích byla zkoumána protinádorová aktivita proti lidským nádorům, rostoucích jako xenografty (štěp pocházející z jiného živočišného druhu) u nahých myší. Protinádorové aktivity *budotitanu* a *cisplatiny* byly v těchto studiích prokazatelně srovnatelné.[14]




**Obrázek č.2: Strukturní vzorec *budotitanu***

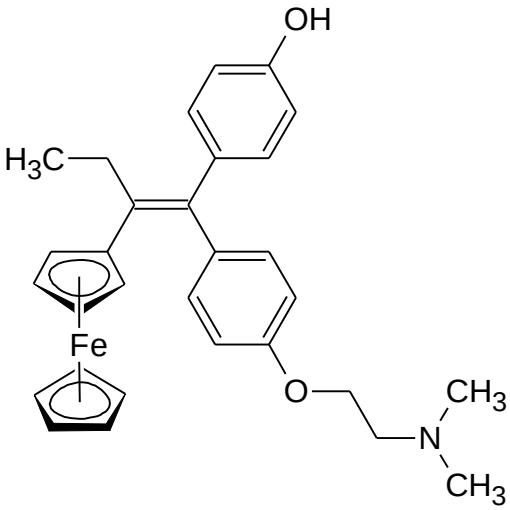
V roce 1979 Köpf a Köpf-Maier informovali o prvním metallocenu s protinádorovým účinkem. Jednalo se o komplex *titanocen dichlorid* (obrázek 3) $[Ti^{IV}(\eta^5\text{-}Cp)_2Cl_2]$ (Cp = cyklopentadienyl).[15] Červený krystalický komplex titanu(IV) byl poprvé připraven v roce 1954 Wilkinsonem a Birminghamem.[16] Je zajímavé poznamenat, že *titanocen dichlorid*

vykazuje účinnost proti lidským adenokarcinomům žaludku a tlustého střeva, které jsou necitlivé na běžné cytostatické látky, jako je např. *cisplatina*. Modifikace cyklopentadienylového ligandu, například nahrazením vodíku skupinou R ($CH_3$, $C_2H_5$, $Si(CH_3)_3$ a $N(CH_3)_2$) v rozmezí od mono-substituce k deka-substituci, ukázala dramatickou redukci protinádorové aktivity, přičemž aktivita klesá s tím, jak se substituce zvyšuje.[17]



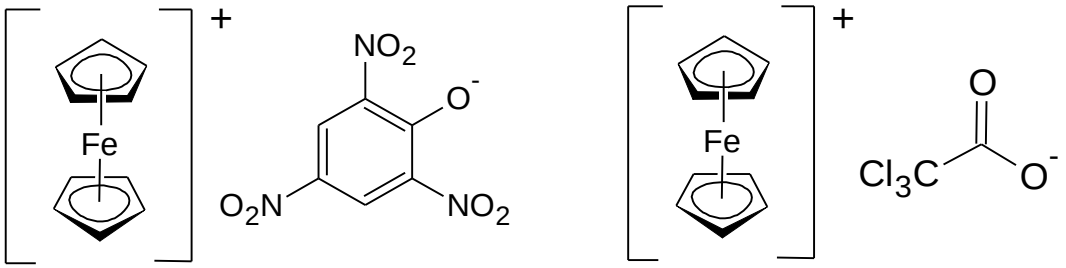

**Obrázek č.3: Strukturní vzorec *titanocen dichloridu***

Objev ferrocenu [$Fe(\eta^5\text{-}Cp)_2$] v roce 1951 pomohl otevřít novou oblast výzkumu organokovové chemie. Ve srovnání s jinými metalloceny se ferrocen široce používá v konstrukci léků, obvykle jako náhrada fenylové nebo alkylové skupiny. To je vyvoláno několika faktory. Například, ferrocen je více lipofilní než benzen a jeho začlenění do molekuly by mělo zvýšit propustnost membrány a možnou biologickou dostupnost. Kromě toho je ferrocen považován za bezpečný metallocen. Testy akutní a chronické toxicity ferrocenu a některých derivátů potvrzují jeho relativní bezpečnost u mnoha savčích druhů (psi, krysy, myši, opice). Otázka, zda je železo uvolňováno z ferrocenových sloučenin během metabolismu, však není zcela vyřešena. Volné železo může potenciálně katalyzovat radikálové reakce, což vede k lipidové peroxidaci buněčných membrán a vzniku reaktivních druhů kyslíku. Hanzlik a Soine poznamenali, že ferrocen se metabolizuje různými reakcemi bez ztráty kovu, což znamená, že železnatý ion ve ferrocenu je odolný vůči odstranění. Existuje mnoho příkladů, kdy byla fenylová nebo alkylová skupina nahrazena ferrocenem. Předpokládaný výsledek (nárůst aktivity) však nebyl vždy zjištěn. V některých případech zavedení ferrocenu zrušilo nebo významně snížilo aktivitu ve výsledné sloučenině. V ostatních případech byla činnost víceméně zachována. Existují také případy, kdy bylo zjištěno zvýšení aktivity nebo neočekávaná změna profilu aktivity.[18] Výzkum se zaměřil na nahrazení jednoho z fenylových kruhů v *tamoxifenu* ferrocenem což vedlo ke vzniku skupiny sloučenin nazývaných *ferrocifeny* (obrázek 4). *Tamoxifen* je selektivní modulátor estrogenního receptoru, který se používá




**Obrázek č.4: Strukturní vzorec *ferrocifenu***

proti rakovině prsu. *Ferrocifeny* byly syntetizovány ve snaze překonat nedostatky *tamoxifenu* jako protinádorového činidla.[19] Kromě *ferrocifenu* se pozornost soustředila na samotný ferrocen a soli ferricenia (soli obsahující ferrocenový kation s centrálním atomem železa v mocenství +III). Protinádorová aktivita byla poprvé popsána pro několik solí, například *pikrát ferricenia* a *trichloracetát ferricenia* (obrázek 5). Nečinnost špatně rozpustného ferrocenu v porovnání s ve vodě rozpustnými solemi *ferricenia* vedla k závěru, že rozdíl v protinádorových aktivitách lze odůvodnit rozdílnou rozpustností těchto látek. Soli *ferricenia* mají pravděpodobně správnou rovnováhu lipofilnosti a hydrofilnosti, která usnadňuje propustnost přes plazmatickou membránu. Vhodná substituce ferrocenu s hydrofilními substituenty by měla vést k účinným sloučeninám. Tento přístup byl podrobně zkoumán v řadě konjugátů polyaspartamidu ferrocenu s úspěšnými výsledky. Kovjazin *a kol.* ukázali, že ferrocen vykazuje protinádorový účinek při podávání intraperitoneálně nebo orálně myším s melanomem.[18]



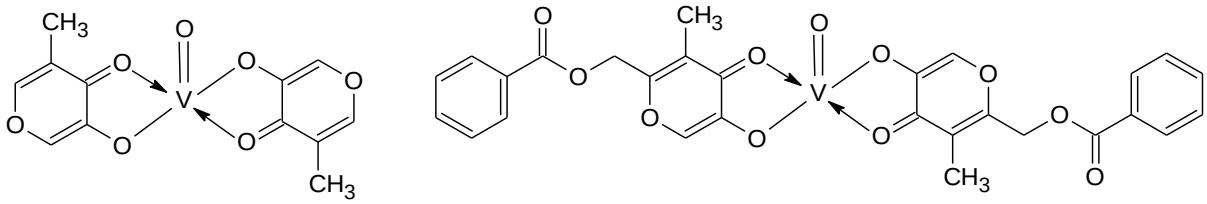

**Obrázek č. 5: Strukturní vzorec *pikrátu ferricenia* (vlevo) a *trichloracetátu ferricenia* (vpravo)**

Lékařská a terapeutická hodnota zlata byla uznána před tisíci lety, ale její racionální využití v medicíně nebylo zahájeno až do počátku dvacátých let 20. století. Byla studována celá řada Au(I) komplexů s dithiokarbamato ligandy a jejich deriváty. Všechny tyto sloučeniny mají prokazatelně vyšší aktivitu než *cisplatina* v několika lidských rakovinových buněčných liniích. Nedávné práce ukázaly, že derivát vitaminu K3 vykazoval významnou cytotoxicitu u rakovinových linií rezistentních vůči *cisplatině*. Kromě Au(I) komplexů byly hojně studovány i komplexy s centrálním atomem zlata v mocenství +III. Vzhledem k tomu, že Au(III) je isoelektronové s Pt(II) a tetrakoordinované Au(III) komplexy mají stejnou čtvercovou rovinou geometrii jako *cisplatina*, zkoumala se protirakovinová aktivita těchto komplexů. Předchozí studie naznačily, že na rozdíl od *cisplatiny* jsou komplexy zlata zaměřeny na proteiny, nikoliv na DNA. Nicméně Au(III) je v redukujícím prostředí nádorových buněk savců velice nestabilní, a je zde redukováno na Au(I) a elementární zlato.

Přesto je možné syntetizovat stabilní komplexy Au(III), které jsou odolné vůči redukci. Velice zajímavé jsou biologicky aktivní komplexy s dithiokarbamátem, kde bylo prokázáno, že jejich primárním cílem je proteasom. Léčba nahých myší nesoucích lidské nádory prsu s Au(III)-dithiokarbamátovým komplexem vedla k významné inhibici růstu nádoru, spojeného s inhibicí proteasomu a indukcí masivní apoptózy *in vivo*. Zvýšení počtu donorových atomů dusíku vede k vytvoření řady sloučenin se zvýšenou mírou inhibice růstu rakovinových buněk plic, tlustého střeva a děložního čípku v buněčných kulturách.[20-21]

### 2.2.2. Vybrané komplexy na bázi neplatinových kovů jako mimetika

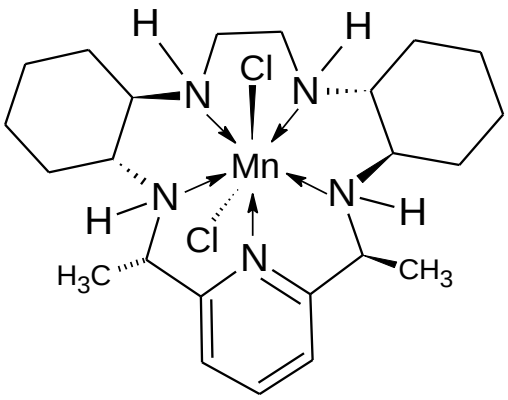
V řadě studií bylo prokázáno, že vhodné sloučeniny vanadu mohou mimikovat (napodobovat) funkci inzulínu. V méně širokém smyslu je inzulín-mimetická účinnost obvykle označována jako schopnost snížit hladinu glukózy v krvi aktivací transportu glukózy do buněk.[22] Po objevení inzulinových účinků jednoduchých anorganických solí vanadu(IV/V), které ovšem vykazovaly nízkou absorpci nebo toxicitu, směřoval intenzivní výzkum k vytvoření různých alternativ v podobě komplexů.[23] Komplex *BMOV* (obrázek 6) podstoupil 2. fázi klinických studií, ale selhal kvůli účinkům na ledviny pacientů. Ke snížení toxicity došlo při syntéze komplexu *BBOV* (obrázek 6), který obsahuje modifikovaný derivát pyranonu, který vykazuje nízkou *in vivo* toxicitu a perorální podání tohoto komplexu diabetickým krysám vede k dramatickému snížení hyperglykémie.[12] Většina sloučenin je toxická při zhruba 1 mM koncentraci a většina sloučenin je v podstatě netoxická a přibližně stejně účinná nebo účinnější než inzulín v koncentracích 0,01 mM a nižších. V(V) sloučeniny mají tendenci být méně toxické než sloučeniny V(IV). Komplexy obsahující thio funkční ligandy jsou poněkud toxičtější než jiné. Obecně platí, že komplexy s *O,N*-donorovými ligandy jsou lepší v inzulín-mimetické účinnosti než ty s ligandy *O,O*-, *O,S*- nebo *N,S*-donorovými, bez ohledu na oxidační stav vanadu.[22]



**Obrázek č.6: Strukturní vzorec komplexů *BMOV* (vlevo) a *BBOV* (vpravo)**

Bioanorganická chemie manganu se soustředila především na mimetickou roli SOD2 neboli MnSOD (superoxid dismutáza 2, Mn-dependentní superoxid dismutáza) v patologických studiích, protože se ukázalo, že oxidační stres běžně přispívá k mnoha

chorobným stavům. Pro terapeutické účely byly vyvinuty a použity syntetické formy s nižší molekulovou hmotností nazvané SOD mimetika (SODm). Ty katalyzují dismutaci superoxidu rychlostí podobnou nativnímu MnSOD a bylo prokázáno, že se distribuují široce do orgánů po intravenózním podání při zachování jejich chemické struktury.[24] SOD mimetika lze rozdělit na Mn(III)-metaloporfyriny, Mn(III)-saleny a Mn(II)-komplexy na bázi pentaazamakrocyklických ligandů. Komplexy metaloporfyrinu obsahují v jádře místo železa atom manganu. Tyto sloučeniny jsou velmi stabilní a jsou silnými inhibitory oxidativního stresu, který je důsledkem lipidové peroxidace. Peroxidace lipidů je přirozenou reakcí polynenasycených mastných kyselin s reaktivními formami kyslíku (ROS).[25] Mn(III)-saleny jsou nízkomolekulární syntetické sloučeniny, které vykazují jak SOD tak katalázovou aktivitu. Katalyticky zničí jak superoxid, tak peroxid vodíku.[26] Příkladem poslední skupiny je komplex s označením *M40403* (obrázek 7) obsahující bis(cyklohexylpyridin)-substituovaný makrocyklický ligand. Tento umělý antioxidant je mnohem účinnější než přírodní formy jiných antioxidantů se zlepšenou farmakokinetikou a stabilitou. Výhodou je jeho selektivita tím, že odstraňuje superoxidové anionty bez odstranění dalších důležitých sloučenin, jako je NO, $H_2O_2$ nebo chlornany.[27-28]




**Obrázek č.7: Strukturní vzorec komplexu *M40403***

## 2.3. Biologicky aktivní komplexy tantalu

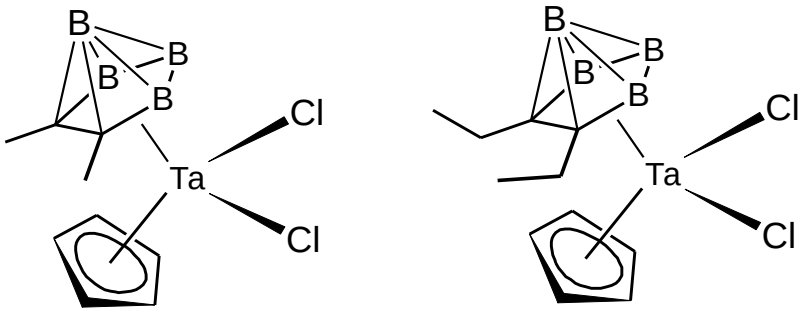
V souvislosti s těmito komplexy je třeba poznamenat, že tantal a jeho sloučeniny nejsou pro oblast medicinální chemie cizí. Tantal se používá jako inertní materiál pro kostní implantáty, vynikající dobře biokompatibilní a flexibilní materiály pro regenerační medicínu a nanočástice na bázi oxidu tantalu byly popsány jako prospektivní cytotoxické látky pro léčbu karcinomu jícnu.[29-31]

### 2.3.1. Biologicky aktivní karboranové komplexy tantalu

Popsaná protinádorová aktivita metallocenových sendvičových komplexů, zahrnujících neutrální $[M(\eta^5\text{-}Cp)_2X_2]$ (M = kov, X = halogen) komplexy, u kterých byla prokázána účinnost proti řadě nádorů (*in vivo*) nebo nádorovým buněčným liniím (*in vitro*), naznačuje možnost, že cytotoxické chování může být prokázáno i u jiných druhů organokovových

(polo)sendvičových sloučenin. Například byly publikovány velké klastry [Fe($\eta^5$-Cp)($MeC_3B_7H_9$)] a [Fe($\eta^5$-Cp)($MeC_3B_7H_9$)]X, které způsobují buněčnou smrt v několika liniích tkáňové kultury. Tato zjištění vedlo k tomu, že se zkoumání možných protinádorových vlastností u malých metallokarboranových komplexů stalo předmětem zájmu.

Petnagonálně pyramidální malé *nido*-karborany (*nido*-$(R_2C_2B_4H_4)^{2-}$) jsou isolelektronové a velikostně shodné s cyklopentadienylovými kruhy v metallocenových komplexech, a tudíž mohly být využity jako ligandy pro vytvoření biologicky aktivních komplexů s účinkem podobným metallocenům. Ta(V) karborany (obrázek 8) se ukázaly být silnými cytotoxickými činidly proti suspendovaným nádorovým buňkám. Tyto komplexy účinně inhibují syntézu RNA a DNA v buňkách P388 lymfocytární leukémie. S překvapením jsou také karboranové komplexy tantalu(V) významně aktivní proti růstu MCF-7 (prsní nádor) a melanomu Sk-Mel-2, pro které se v současné době hledají účinné léky proti buněčnému růstu. Karboranové komplexy inhibovaly syntézu nukleových kyselin několika mechanismy, které byly pravděpodobně aditivní. Nejvýznamnější byla především inhibice enzymu dihydrofolátreduktasy, kdy došlo k zastavení purinové syntézy a potlačení syntézy pyrimidinu.[3]

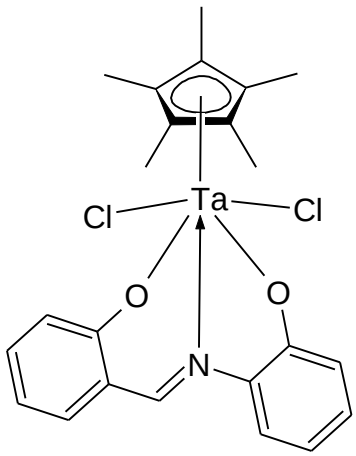



**Obrázek č.8: Strukturní vzorce některých karboranových komplexů tantalu**

## 2.3.2. Biologicky aktivní polosendvičové komplexy tantalu

Na výše zmíněnou práci o karboranových komplexech tantalu, která je jedinou doposud publikovanou prací o cytotoxických komplexech tantalu, navázal výzkum probíhající v posledních letech na půdě katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Zde byla zkoumána protinádorová aktivita série polosendvičových Ta(V) komplexů obecného složení [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(*n*salaph)] (obrázek 9), které obsahují deprotonovanou Schiffovou bázi 2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol ($H_2$salaph) nebo jeho deriváty, jako je např. 4-brom-2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol ($H_2$salaph-4Br) použitý v předložené bakalářské práci. *In vitro* studium zahrnovalo testování

protinádorového účinku vůči lidským nádorovým buněčným liniím karcinomu vaječníku A2780, *cisplatina*-rezistetnímu karcinomu vaječníku A2780R, osteosarkomu HOS a kolorektálnímu karcinomu Caco-2, kde *cisplatina*, *karboplatina* a *oxaliplatina* byly využity jako standardy (obrázek 9). Studium prokázalo, že např. komplexy [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph)] a [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph-4Br)] jsou až více než dvojnásobně účinnější než *cisplatina* (tabulka 1).[4]




**Obrázek č.9: Strukturní vzorec [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph)]**

| Komplex | $IC_{50}$±SE (μM) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | A2780 | A2780R | HOS | Caco-2 |
| [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph)] | 8,6±0,9 | 16,0±0,3 | 16,8±2,0 | 30,7±4,9 |
| [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph-4Br)] | 7,5±2,5 | 13,6±3,4 | 15,1±2,2 | 24,2±3,1 |
| cisplatina | 20,1±0,3 | 30,4±1,4 | 32,6±2,0 | >50,0 |

**Tabulka č.1: Srovnání hodnot $IC_{50}$ pro vybrané polosendvičové Ta(V) komplexy (převzato z [4])**

## 2.4. Vybrané biologicky aktivní sloučeniny jako ligandy – dichloracetát (DC)

V preklinických modelech *in vitro* a *in vivo* bylo prokázáno, že DCA může být přínosem pro léčbu rakoviny. Dichloracetát (DC) je malá molekula o hmotnosti 150 Da, což vysvětluje zčásti vysokou biologickou dostupnost tohoto léčiva a skutečnost, že může proniknout do tradičních míst při chemoterapii, včetně mozku. *In vitro* DC aktivuje pyruvátdehydrogenasu (PDH) inhibicí pyruvátdehydrogenasové kinasy (PDK). K dnešnímu dni byly identifikovány čtyři různé isoformy PDK, které mají proměnlivou expresi a citlivost

vůči inhibici pomocí DC. Izoenzym konstitutivně exprimovaný ve většině tkání a s nejvyšší citlivostí na DCA je PDKII.[32]

### 2.4.1. Jak získávají rakovinné buňky energii?

Většina druhů rakoviny je charakterizována glykolýzou (GLY), to znamená, že využívají glykolýzu k výrobě energie, přestože je přítomen kyslík. V roce 1929 Warburg poprvé pozoroval tento jev (tzv. Warburgův efekt) a navrhl, že je výsledkem mitochondriální dysfunkce, která brání mitochondriální oxidaci glukózy (GO). Vzhledem k tomu, že GO je mnohem účinnější při generování ATP ve srovnání s GLY (produkuje 36 vs 2 ATP na molekulu glukózy), rakovinné buňky regulují glukózové receptory a významně zvyšují příjem glukózy při pokusu o "dohánění" energetického deficitu. Protože se časná karcinogeneze objevuje v hypoxickém mikroprostředí (prostředí o nedostatku kyslíku), transformované buňky se zpočátku musí spoléhat na glykolýzu pro výrobu energie.[33] Některé meziprodukty glykolýzy (tj. laktát a sním spojená acidóza) přispívají k rozpadu extracelulární matrice, usnadňují buněčnou mobilitu a zvyšují metastatický potenciál. Proto i když se nádory nakonec stanou vaskularizovány (vznik krevních cév) a hladiny $O_2$ se zvětšují, glykolytický fenotyp přetrvává, což vede k "paradoxu" glykolýzy během aerobních podmínek.[34] HIF-faktor (transkripční faktor indukovaný hypoxií) je aktivován za hypoxických podmínek a bylo prokázáno, že indukuje expresi několika transportérů glukózy a většiny enzymů požadovaných pro GLY.[35] Například HIF indukuje expresi PDK, což je bránící enzym, který reguluje tok sacharidů (pyruvát) do mitochondrií. V přítomnosti aktivované PDK je inhibována PDH, která omezuje vstup pyruvátu do mitochondrie, kde může docházet ke GO. Jinými slovy aktivovaná PDK podporuje dokončení GLY v cytoplazmě metabolizací pyruvátu na laktát.[36]

### 2.4.2. Buněčná smrt (apoptóza) a její regulace

Aktivní PDH převádí pyruvát na acetyl-CoA, který spolu s acetyl-CoA z oxidace β-mastných kyselin je přiváděn do Krebsova cyklu a produkuje elektronové dárce NADH a $FADH_2$. NADH dodává elektrony do komplexu I transportního řetězce elektronů (ETC) ($FADH_2$ do komplexu III). Tok elektronů do ETC je spojen s produkcí reaktivních druhů kyslíku (ROS) a s odtokem $H^+$, který způsobuje negativní potenciál mitochondriální membrány ($\Delta\Psi m$). F1F0-ATP synthasa využívá uloženou energii $\Delta\Psi m$ k syntéze ATP. Prostřednictvím uvolňování ROS mitochondrie regulují otevírání plazmových membránových iontových kanálů. Některé z těchto cest jsou důležité při apoptóze a mohou přispět

k rezistenci na apoptózu u rakovinných buněk. Například inhibice nebo downregulace $K^+$ kanálů vede ke zvýšení $[K^+]_i$ snížením výtoku $K^+$ do jeho intracelulárního/extracelulárního gradientu. Vzhledem k tomu, že $[K^+]_i$ vykazuje inhibiční účinek na kaspasy (enzymy účastnící se apoptózy), inhibice nebo downregulace kanálů $K^+$ potlačuje apoptózu u několika buněčných typů, včetně rakoviny. To způsobuje, že jsou rakovinné buňky často významně více hyperpolarizované v porovnání s normálními buňkami.[37-40] $K^+$ kanály jsou redoxně citlivé, a proto mohou být regulovány mitochondriemi. Například, $H_2O_2$ odvozený od mitochondrie (relativně stabilní ROS) může tyto kanály aktivovat.[41] Také některé proapoptické mitochondriální mediátory, jako je cytochrom c, mohou aktivovat $K^+$ kanály. Tento mediátor je společně s translokačním faktorem indukující apoptózu (AIF), který spouští kondenzaci chromatinu a fragmentaci DNA v buňce za účelem vyvolání programované buněčné smrti, uvolňován přes mitochondriální membránu při změně (snížení) jejího membránového potenciálu.[38]

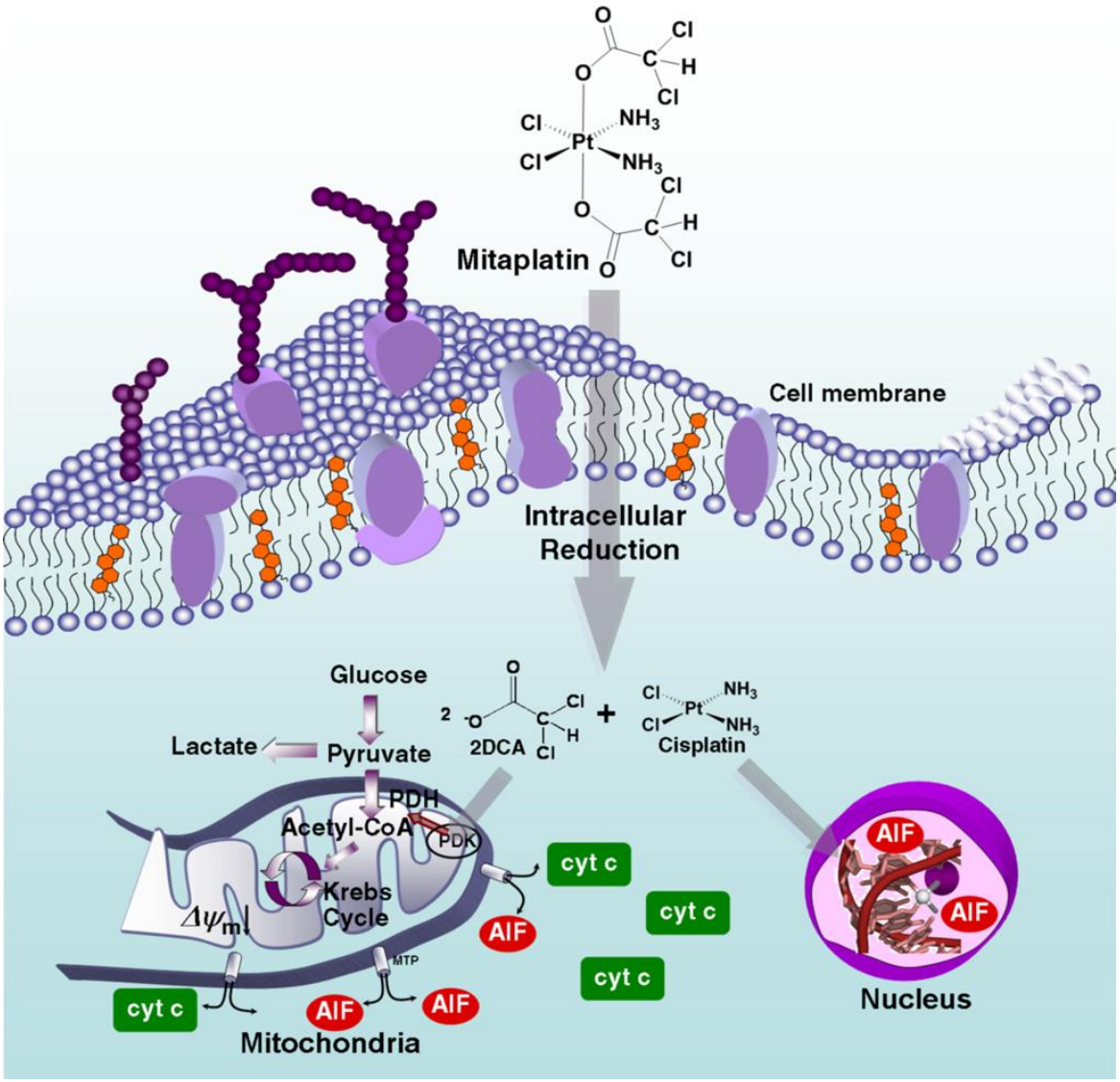
### 2.4.3. Dichloracetát jako spouštěč buněčné smrti (apoptózy)

DC mění metabolismus rakovinných buněk z glykolýzy na bázi cytoplazmy na oxidaci glukózy na bázi mitochondrie. To je spojeno se zvýšenou produkcí ROS a snížením $\Delta\Psi m$ u všech nádorových buněk, výtoku proapoptotických mediátorů z mitochondrií a indukcí apoptózy. DC rovněž vyvrací inhibici a downregulaci iontových $K^+$ kanálů u všech nádorů. Výsledný odtok $K^+$ a pokles intracelulárního $K^+$ dále zvyšuje proapoptotické účinky DC. DC účinně snižuje růst nádoru *in vitro* a *in vivo*.[42]

### 2.4.4. Vybrané biologicky aktivní komplexy zahrnující DC jako ligand

Pt(IV) komplexy obsahující biologicky aktivní axiální ligandy a studie zaměřené na charakterizaci základních mechanismů jejich působení na nádorovou buňku představují perspektivní oblast bioanorganické chemie a molekulární farmakologie. Příkladem takového komplexu je *cis,cis,trans*-$[Pt(NH_3)_2Cl_2(DC)_2]$ (*mitaplatina*; obrázek 10), která je Pt(IV) derivátem *cisplatiny* a patří mezi nejvýznamnější komplexy této skupiny. Negativní intracelulární redoxní potenciál způsobuje redukci centrálního atomu, kdy dochází k uvolnění *cisplatiny* a dvou ekvivalentů DC. *Mitaplatina* tedy napadá jak jadernou DNA (díky *cisplatině*), tak i mitochondrie (díky DC) v rakovinných buňkách. Cytotoxicita *mitaplatiny* v různých rakovinných buněčných liniích je srovnatelná s *cisplatinou*. *Mitaplatina* pozměňuje gradient potenciálů mitochondriální membrány rakovinných buněk a podporuje apoptózu uvolněním cytochromu c a translokačního faktoru indukujícího

apoptózu z mitochondrií do jádra. *Cisplatina* vytvořená po buněčné redukci *mitaplatiny* vstupuje do jádra, kde tvoří křížovými vazbami 1,2-intrastrand cross-link mezi dvěma guaniny v molekule DNA. Tyto vlastnosti *mitaplatiny* se projevují v její schopnosti selektivně zabíjet rakovinné buňky kultivované s normálními fibroblasty a částečně překonat rezistenci nádorových buněk na *cisplatinu*.[5]

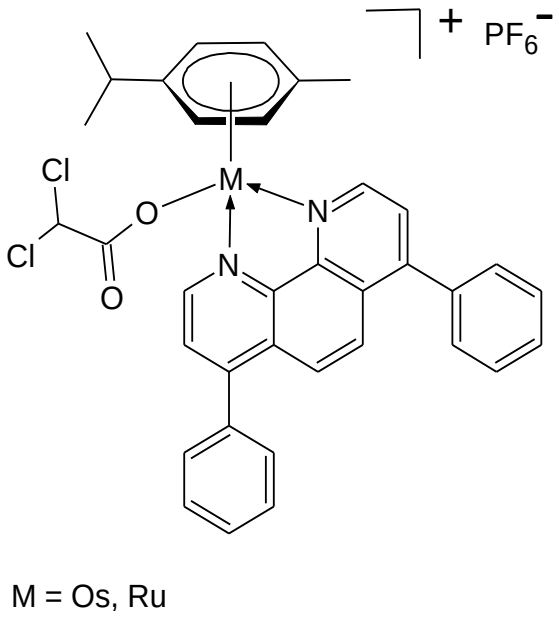



**Obrázek č.10: Strukturní vzorec *mitaplatiny* a její biologický mechanismus (převzato z [5])**

Byly studovány také protinádorové Pt(IV) deriváty *oxaliplatiny* obsahujících axiální DC ligandy. Tyto sloučeniny vykazují jedinečné biologické vlastnosti ve srovnání s rodičovskou *oxaliplatinou*. Mohou efektivně překonat rezistenci rakovinných buněk na klinicky užívanou *oxaliplatinu*. Mechanismus biologického účinku těchto Pt(IV) proléčiv je

obdobný účinku *mitaplatiny*. Vlastnosti Pt(IV) derivátů *oxaliplatiny* obsahujících axiální DC ligandy se projevují schopností účinněji zabíjet nejenom rakovinné buňky citlivé na *oxaliplatinu*, ale také ty, které jsou rezistentní vůči tomuto léčivu.[44]

V roce 2018 publikovali pracovníci katedra anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci článek zahrnující přípravu polosendvičových Ru(II) a Os(II) komplexů batofenanthrolinu obsahující uvolnitelný dichloracetato ligand. Jednalo se o $[Ru(\eta^6\text{-pcym})(bphen)(DC)]PF_6$ a $[Os(\eta^6\text{-pcym})(bphen)(DC)]PF_6$ (obrázek 11); pcym = 1-methyl-4-(propan-2-yl)benzen (p-cymen), bphen = 4,7-difenyl-1,10-fenantrolin (batofenantrolin). Oba komplexy vykazovaly mírně vyšší *in vitro* cytotoxicitu proti lidskému karcinomu vaječníků A2780 než *cisplatina*. Oba komplexy modifikovaly buněčný cyklus, potenciál mitochondriální membrány a indukovaly uvolnění mitochondriálního cytochromu c výrazněji než analogické chloro komplexy neobsahující DC ligand. Výsledky ukazují na fakt, že strukturální optimalizace polosendvičových Ru(II) a Os(II) komplexů představuje slibný přístup pro vývoj vysoce účinných protirakovinových látek.[6]




**Obrázek č.11: Stukturní vzorec komplexů $[M(\eta^6\text{-pcym})(bphen)(dca)]PF_6$ (M = Ru nebo Os)**

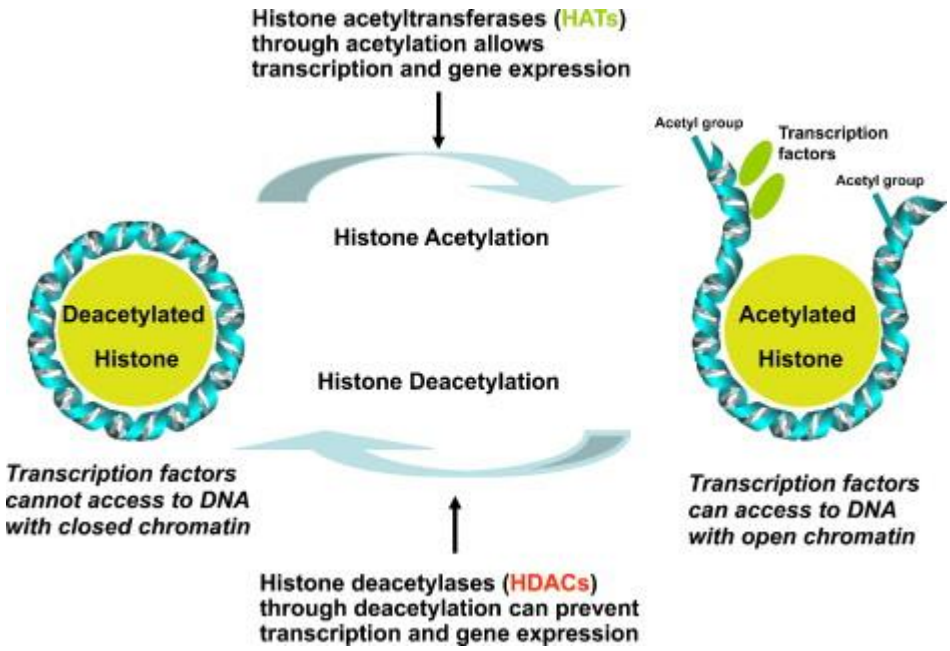
## 2.5. Vybrané biologicky aktivní sloučeniny jako ligandy – valproát (VP)

Tato sloučenina vstoupila do klinických studií jako samostatná látka, stejně jako v kombinaci s jinými léčivy pro léčbu různých typů rakoviny.[45] Například kombinace *bevacizumabu* (antiangiogenní látka – působící proti vzniku cév) a valroátu (VP) byla použita

u pacientů s pokročilým onkologickým onemocněním a prokázala, že tato kombinace je účinná u pacientů s rakovinou tlustého střeva a prostaty.[46] VP byl také testován u pacientů s pokročilý stadiem NSCLC (druh rakoviny plic) v kombinaci s 5-aza-2'-deoxycytidinem (*decitabin*).[47] VP byl testován v kombinaci s 5-fluoruracilem při rakovině pankreatobiliárního traktu a prokázal protinádorovou aktivitu u těchto pacientů.[48]

### 2.5.1. Histon deacetylasy a rakovina

Acetylace N-ε-lysinu a deacetylace histonu jsou řízeny dvěma skupinami enzymů: histon acetyltransferasami (HATs) a histon deacetylasami (HDACs). Rovnováha mezi acetylací a deacetylací histonů nebo reverzními aktivitami HATs a HDACs reguluje genovou expresi pomocí modifikací chromatinu (obrázek 12). Acetylace histonů pomocí HATs hraje klíčovou roli při transkripční aktivaci, zatímco deacetylace histonů podporuje transkripční represi a tlumení genů. Nadměrná hladina acetylace histonů indukuje apoptotickou buněčnou smrt, zatímco nadbytečná úroveň deacetylace histonů byla spojena s patologickými onemocněními rakoviny podporou represe nádorových regulačních genů. Inhibitory HDACs (např. valproát) způsobují zvýšení acetylované hladiny histonů, což podporuje re-expresi tlumených regulačních genů v rakovinných buňkách a zvrácení maligního fenotypu. V důsledku toho se inhibitory HDACs nedávno objevily jako potenciální léky proti rakovině.[49-50]

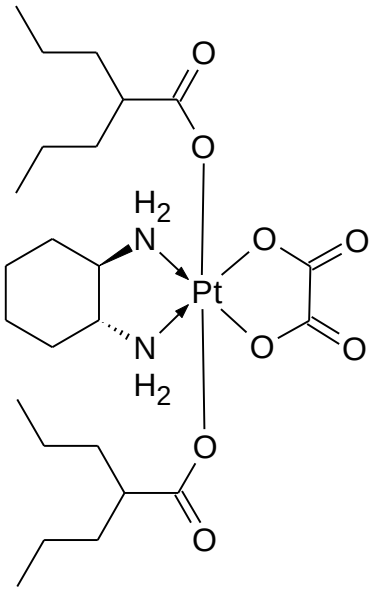



**Obrázek č.12: Působení histon acetyltransferáz/deacetyláz (převzato z [51])**

HDACs hrají hlavní roli v epigenetické regulaci exprese genu (změny genové exprese, které nejsou způsobeny změnou nukleotidové sekvence DNA) prostřednictvím jejich vlivů na kompaktní chromatinovou strukturu. V posledních letech se HDACs staly slibnými terapeutickými cíli s potenciálem zvrátit aberantní epigenetické stavy spojené s rakovinou. Byly popsány změny hladin acetylace a nadměrné exprese různých HDACs v mnoha rakovinných buněčných liniích a nádorových tkáních. V rakovinových patologických stavech, kde jsou klasické HDACs nadměrně exprimovány, byly zjištěny inhibitory HDACs, které jsou účinné při zvrácení maligního fenotypu transformovaných buněk a následně se objevily jako slibná rakovinná terapeutická činidla. Inhibitory HDACs mají potenciál narušit více signálních cest k inhibici růstu nádorů a k indukci apoptózy. Inhibitory HDACs se mohou nejen zaměřit na histony, ale mají schopnost ovlivňovat celou řadu procesů, jako je zastavení buněčného cyklu, angiogeneze, imunitní modulace a apoptóza tím, že se zaměřují na nehistonové proteiny.[52-53]

### 2.5.2. Vybrané biologicky aktivní komplexy zahrnující VP jako ligand

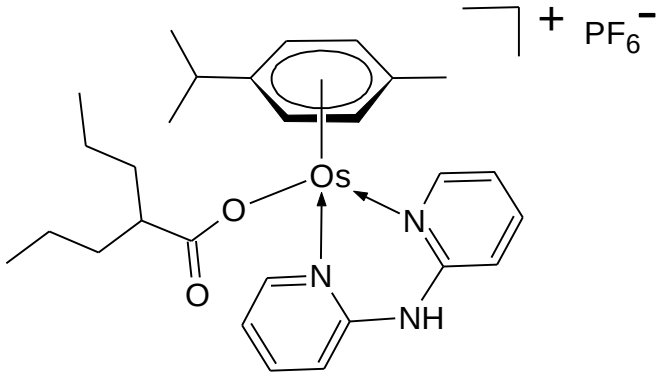
Opět byla zkoumána celá řada Pt(IV) komplexů, především pak deriváty *oxaliplatiny* (obrázek 13) a jejich účinnost proti nádorovým buněčným liniím karcinomu vaječníků A2780. Ukazuje se, že volný VP uvolněný z Pt(IV) komplexů (v důsledku jejich redukce v nádorových buňkách) snižuje aktivitu histonové deacetylasy vedoucí k hyperacetylaci histonových proteinů v komplexu s DNA. Bylo prokázáno, že tato hyperacetylace zvyšuje poškození jaderné DNA, které je zodpovědné za zvýšené toxické účinky na nádorové buňky. Navíc, vzhledem k tomu, že ve srovnání s konvenční *cisplatinou* vykazuje *oxaliplatina* odlišné protinádorové spektrum a má příznivější profil toxicity a snášenlivosti, dosavadní výsledky také naznačují, že Pt(IV) deriváty *oxaliplatiny* s axiálními ligandy VPA se zdají být nadějnými kandidáty pro další preklinické studie.[54]




**Obrázek č.13: Strukturní vzorec derivátu *oxaliplatiny* se dvěma valproato (VP) ligandy**

V letošním roce byl popsán také Os(II) komplex [Os($\eta^6$-pcym)(dpa)(VP)]$PF_6$ (obrázek 14), který obsahoval uvolnitelný VP ligand; dpa = 2,2´-dipyridylamin. Tento komplex rovněž vykazoval slibnou selektivitu vůči buněčným liniím karcinomu vaječníků A2780 v porovnání s buňkami nenádorovými. Podrobné průtokově

cytometrické studie ukázaly, že aplikace komplexu vedla u buněk A2780 k indukci apoptózy a k produkci ROS a superoxidového anionu. Kromě toho došlo také ke snížení potenciálu mitochondriální membrány a poruše buněčného cyklu.[7]




**Obrázek č. 14: Strukturní vzorec [Os(η$^6$-pcym)(dpa)(VP)]PF$_6$**

## 2.6. Vybrané biologicky aktivní sloučeniny jako ligandy – ibuprofen (IBU)

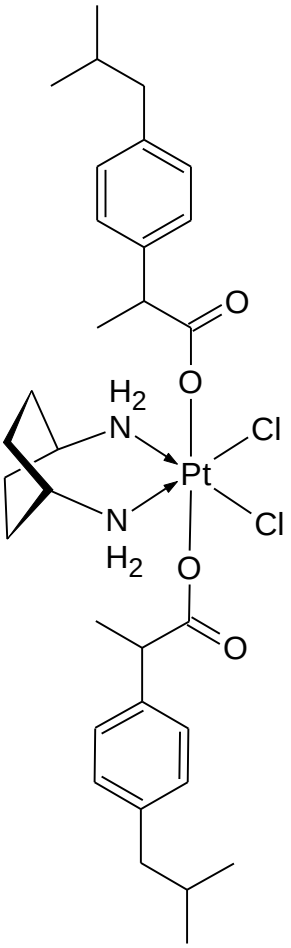
Ibuprofen ((*RS*)-2-(4-(2-methylpropyl)fenyl)propanová kyselina) je nesteroidní biologicky aktivní sloučenina řadící se mezi inhibitory cyklooxygenas. Cyklooxygenasa (COX, prostaglandin-endoperoxid synthasa) převádí kyselinu arachidonovou na prostaglandin (PG) H2, který je dále metabolizován jinými enzymy na různé PGs, prostacyklin a thromboxany. COX existuje v nejméně dvou izoformách s podobnou molekulovou hmotností (70 kDa). Aktivace COX-1 vede například k tvorbě prostacyklínu, který je při uvolnění endotelem antitrombogenní a při uvolnění žaludeční sliznicí cytoprotektivní. COX-2 je indukován v buňkách vystavených prozánětlivým činidlům, včetně cytokinů, mitogenů a endotoxinů. Katalyzuje tvorbu prostaglandinů jako odpověď na zánět a tím napomáhá k rozvoji zánětu, bolestivým vjemům a zvýšení teploty. Nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) inhibují aktivitu COX, což je vlastnost, která se věnuje jejich společným terapeutickým a vedlejším účinkům. Tudíž schopnost NSAID inhibovat COX-2 může dobře vysvětlit jejich terapeutickou použitelnost jako protizánětlivá léčiva, zatímco inhibice COX-1 může vysvětlit jejich nežádoucí vedlejší účinky, jako je poškození žaludku a ledvin.[55]

### 2.6.1. Vybrané biologicky aktivní komplexy zahrnující IBU jako ligand

V roce 2018 byl publikovaný článek popisující přípravu a *in vitro* výzkum cytotoxicity Pt(IV) derivátu tzv. *kiteplatiny* (obrázek 15), který obsahoval v axiálních polohách ibuprofen jako uvolnitelný ligand. Cílem bylo zesílit cytotoxický účinek *kiteplatiny* s protizánětlivou

aktivitou ibuprofenu. Redukční potenciál konjugátu je srovnatelný s jinými popsanými Pt(IV) karboxylátovými komplexy, zajišťující stabilitu v krvi *in vivo* během transportu a intracelulární redukci uvolňováním účinných látek. Koordinované molekuly ibuprofenu pravděpodobně podporují transport a akumulaci komplexu v nádorových buňkách zvýšením lipofilnosti. Vedle zvýšeného vychytávání by ibuprofen mohl také vykazovat protizánětlivé působení zprostředkované inhibicí COX enzymů, které jsou nadměrně exprimovány v nádorech. Použití konjugátu s ibuprofenem vázaným na Pt může zajistit přesné vychytávání a biodistribuci buněk pro protizánětlivé a cytotoxické léky v přesném poměru 2:1.[56]

Reakce hydratovaného ibuprofenátu měďnatého s různými donorovými ligandy, β-pikolinem, γ-pikolinem, pyrrolidinem a nesymetrickým dimethylethylendiaminem (unsym-dmen) při laboratorní teplotě ve směsi methanol: voda (4:1 v/v) poskytly čtyři nové komplexy, $[Cu(IBU)_2(\beta\text{-pikolin})_2(H_2O)]$, $[Cu(IBU)_2(\gamma\text{-pikolin})_2(H_2O)].H_2O$, $[Cu(IBU)_2(pyrrolidin)_2].H_2O$ a $[Cu(unsym\text{-}dmen)_2(H_2O)](IBU)_2$. Cytotoxické účinky všech komplexů byly testovány kolorimetrickým testem na třech lidských buněčných liniích, kde nově syntetizované komplexy vykazovaly vyšší cytotoxicitu než původní molekula proti všem nádorovým buněčným liniím.[57]




**Obrázek č.15: Strukturní vzorec derivátu kiteplatiny se dvěma ibuprofenovými ligandy**

# 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

## 3.1. Použité chemikálie

Chemikálie *o*-aminofenol, salicylaldehyd, 5-bromsalicylaldehyd, [Ta($\eta^5$-Cp$^*$)Cl$_4$], kyselina dichloroctová, ibuprofenát sodný (sodná sůl 2-(4-(2-methylpropyl)fenyl)propanové kyseliny), trifluormethansulfonát (triflát) stříbrný, kyselina valproová (2-propylpentanová kyselina) a hydroxid sodný, rozpouštědla dichlormethan (DCM), hexan, diethylether, isopropanol a methanol, a deuterovaná rozpouštědla DMSO-$d_6$, DMF-$d_7$ a $D_2O$ byly zakoupeny od komerčních dodavatelů (Sigma-Aldrich, Lach-Ner, Litolab a Fischer Scientific).

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

Hmotnostní spektrometrie roztoků studovaných látek v methanolu nebo acetonitrilu byla provedena přístrojem LCQ Fleet (Thermo Scientific) technikou ionizace elektrosprejem v pozitivním (ESI+) módu.

$^1$H, $^{13}$C NMR spektroskopie a $^1$H–$^1$H gs-COSY, $^1$H–$^{13}$C gs-HMQC a $^1$H–$^{13}$C gs-HMBC 2D NMR experimenty byly provedeny na přístroji JOEL JNM-ECA 600II; gs = gradient selected, COSY = correlation spectroscopy, HMQC = heteronuclear multiple quantum coherence, HMBC = heteronuclear multile bond coherence. Vzorky pro NMR experimenty byly rozpuštěny v DMSO-$d_6$ a analyzovány při teplotě 300 K. Štěpení signálu v $^1$H NMR spektrech je definované jako s = singlet, d = dublet, t = triplet, br = široký signál, m = multiplet.

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

## 3.2. Příprava sloučenin

V této části jsou podrobně popsány přípravy jednotlivých Schiffových bází, jakožto výchozích sloučenin pro přípravu Ta(V) komplexů, dále pak příprava dichloro komplexů [Ta($\eta^5$-Cp*)Cl$_2$(*n*salaph)] a především pak syntéza finálních komplexů o složení [Ta($\eta^5$-Cp*)(dca)(*n*salaph)]. Hlavními produkty tedy byly dva tantaličné komplexy s dichloracetato ligandem, které se vzájemně liší typem Schiffovy báze ($H_2$salaph, $H_2$salaph-4Br). Mimo to byly provedeny také pokusy o přípravu podobných Ta(V) komplexů s jinými biologicky aktivními karboxyláto ligandy (valproato, ibuprofenato).

### 3.2.1. Příprava výchozích sloučenin

**2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol ($H_2$salaph)** byl připraven z *o*-aminofenolu (2 mmol; 218,3 mg) a salicyladehydu (2 mmol; 0,2 ml). Jednotlivé navážky byly smíchány ve vialce v 5 ml isopropanolu jako rozpouštědla. Reakce probíhala v mikrovlnném syntetizátoru při 100 °C po dobu 1 minuty (schéma 1). Po proběhnutí reakce byl výsledný produkt odsán na fritě a promyt diethyletherem. Následně byl připravený ligand vysušen v exsikátoru (pod sníženým tlakem) a uschován do vialky pro pozdější využití. Připravená organická součenina měla červeno-oranžovou barvu.

Anal. vypočteno pro $C_{13}H_{11}NO_2$: C, 73,2; H, 5,2; N, 6,6. Nalezeno: 72,9; H, 5,1; N, 6,4 %. $^1$H NMR (DMSO-$d_6$): δ 13,80 (s, 1H), 9,74 (s, 1H), 8,97 (s, 1H), 7,61 (d, 1H), 7,38 (m, 2H), 7,12 (t, 1H), 6,93 (m, 3H), 6,87 (t, 1H) ppm. FT-IR (ATR): 421w, 452w, 476w, 524w, 548w, 572w, 630w, 725m, 740m, 763m, 805w, 852w, 902m, 945m, 969m, 1022m, 1041m, 1115s, 1138vs, 1159s, 1176m, 1221vs, 1241vs, 1273s, 1304s, 1368s, 1414s, 1460vs, 1485vs, 1527vs, 1591vs, 1612vs, 1627vs, 2694m, 2834w, 3044w cm$^{-1}$.

**4-bromo-2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol ($H_2$salaph-4Br)** byl připraven z *o*-aminofenolu (2 mmol; 218,3 mg) a 5-bromsalicylaldehydu (2 mmol; 402,0 mg) způsobem zcela obdobným přípravě předchozí (schéma 1). Připravená látka měla oranžovou barvu.

Anal. vypočteno pro $C_{13}H_{10}NBrO_2$: C, 53,5; H, 3,5; N, 4,8. Nalezeno: 53,1; H, 3,1; N, 4,4 %. $^1$H NMR (DMSO-$d_6$): δ 13,83 (s, 1H), 9,81 (s, 1H), 8,95 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,52 (dd, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,14 (d, 1H), 6,96 (d, 1H), 6,92 (m, 2H) ppm. FT-IR (ATR): 432w, 480m, 516w, 559w, 584w, 621m, 669m, 746s, 783m, 823s, 859m, 881m, 910m, 934m, 1036s, 1074s, 1111vs, 1138vs, 1207vs, 1224vs, 1272vs, 1300s, 1322s, 1351s, 1380s, 1459vs, 1491vs, 1591s, 1628vs, 2533s, 2677s, 2928s, 3060vs cm$^{-1}$.

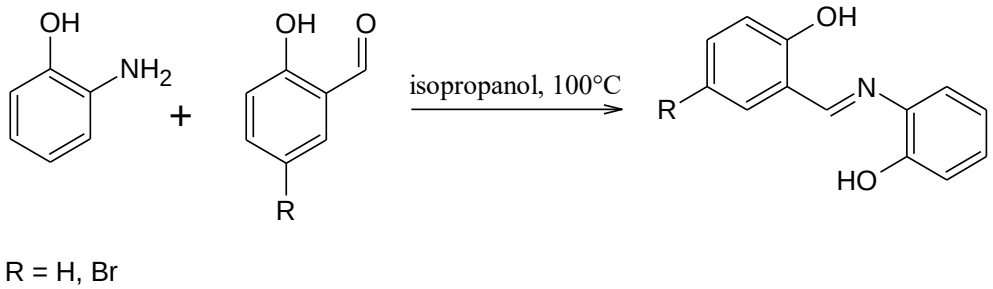



**Schéma 1: Příprava Schiffových bazí $H_2$salaph a $H_2$salaph-4Br**

**Dichloracetát stříbrný (Ag(DC))** byl připraven z kyseliny dichloroctové (1 mmol; 0,1 ml) a trifluormethansulofnátu stříbrného (1 mmol; 256,9 mg). Nejprve byl připraven 1M roztok hydroxidu sodného v methanolu (schéma 2). Následovala neutralizace kyseliny dichloroctové ekvimolárním množství připraveného roztoku $NaOH/CH_3OH$. Po přidání trifluoromethansulfonátu byl vyloučený bílý produkt odsát na fritě a vysušen v exsikátoru (pod sníženým tlakem). Látka byla následně uschována ve vialce obalené alobalem při nízké teplotě (v lednici).

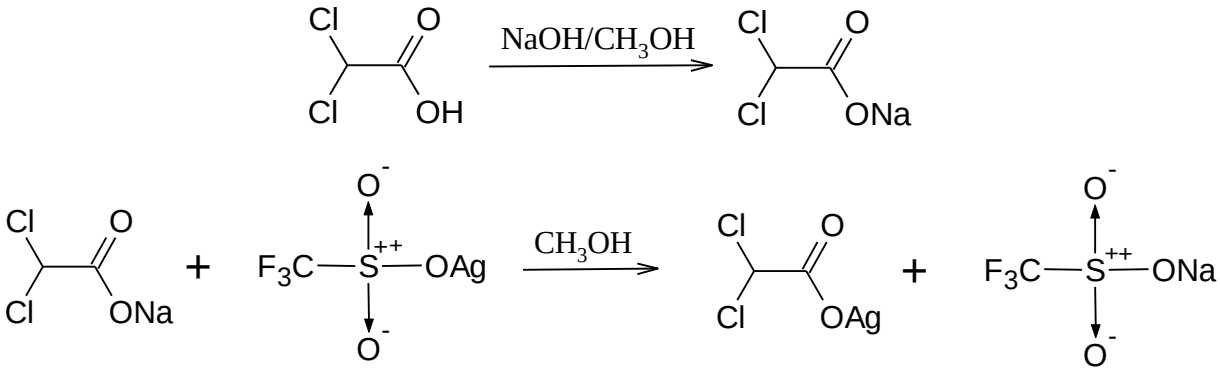



**Schéma 2: Příprava dichloracetátu stříbrného**

**Valproát stříbrný (Ag(VP))** byl připraven z kyseliny valproové (1 mmol; 0,2 ml) a trifluoromethansulfonátu stříbrného (1 mmol; 256,9 mg) stejným způsobem jako Ag(DC) (schéma 3). Připravený bílý organický ligand měl práškovitou strukturu.

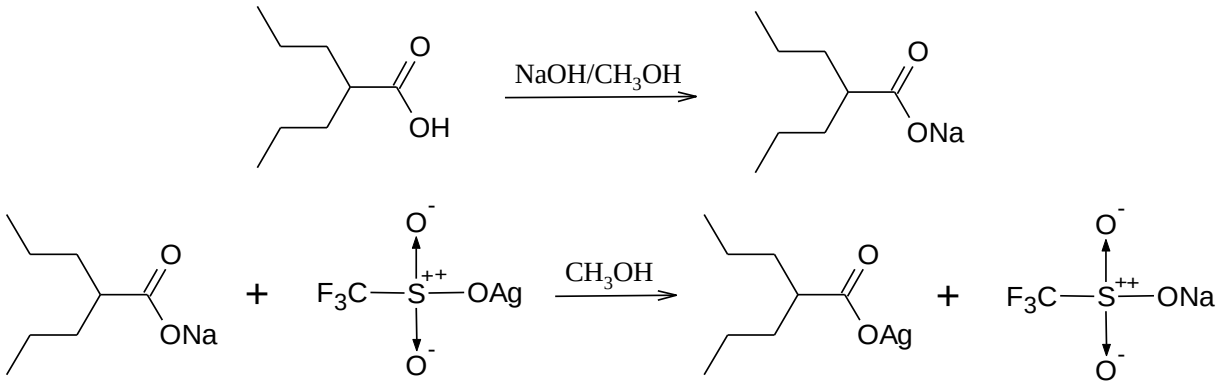



**Schéma 3: Příprava valproátu stříbrného**

**Ibuprofenát stříbrný (Ag(IBU))** byl připraven z ibuprofenátu sodného (1 mmol; 228,3 mg) a dusičnanu stříbrného (1 mmol; 169,9 mg) (schéma 4). Navážené množství

ibuprofenátu sodného bylo rozpuštěno ve vialce v 5 ml destilované vody. Po přidání dusičnanu stříbrného došlo k vyloučení produktu, který byl odsán na fritě a vysušen v exsikátoru (pod sníženým tlakem). Výsledné bílá organická látka byla následně uschována ve vialce obalené alobalem při nízké teplotě pro další využití.

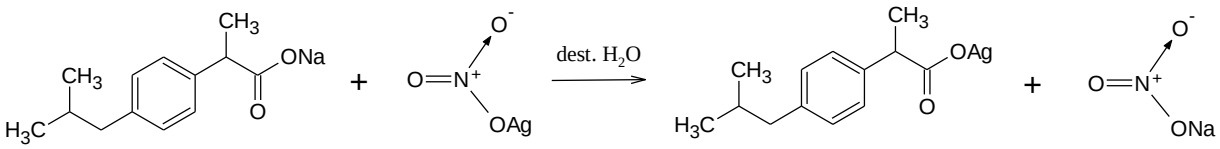



**Schéma 4: Příprava ibuprofenátu stříbrného**

### 3.2.2. Příprava dichloro komplexů

**[Ta(η$^5$-Cp*)Cl$_2$(salaph)]** (**1***) byl připraven z [Ta(η$^5$-Cp*)Cl$_4$] (0,2 mmol; 91,6 mg) a salaph (0,2 mmol; 42,6 mg). Komplex [Ta(η$^5$-Cp*)Cl$_4$] byl rozsuspendován v 15 ml dichlormethanu s následným přidáním naváženého množství Schiffovy báze (schéma 5). Reakce byla ponechána ve varné baňce pod refluxem za nepřetržitého míchání přes noc, kdy došlo ke změně zbarvení ze žluto-oranžové do červené. Poté byl červený roztok obsahující výsledný produkt odpařen na rotační vakuové odparce na minimální objem. Pevný produkt, který se začal vylučovat po přidání n-hexanu (≈1,5 ml), byl nakonec odsát na fritě a vysušen v exsikátoru (pod sníženým tlakem). Tento červený meziprodukt byl poté uschován pro další využití.

Anal. vypočteno pro $C_{23}H_{24}NCl_2O_2Ta$: C, 46,2; H, 4,0; N, 2,3. Nalezeno: C, 46,2; H, 4,1; N, 2,1 %. $^1$H NMR (DMSO-$d_6$): δ 8,85 (s, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,12 (t, 1H), 6,93 (t, 1H), 6,82 (t, 1H), 6,57 (d, 1H), 6,47 (d, 1H), 2,28 (s, 15H) ppm. FT-IR (ATR): 447w, 469w, 493w, 535m, 551m, 629m, 642m, 655m, 752s, 798m, 817m, 860s, 873m, 927m, 964w, 1030m, 1073w, 1123m, 1152m, 1177m, 1257vs, 1295vs, 1375m, 1388s, 1446s, 1480vs, 1556s, 1588s, 1598vs, 1616vs, 2914s, 2959m, 2987m, 3025m, 3057m cm$^{-1}$.

**[Ta(η$^5$-Cp*)Cl$_2$(salaph-4Br)]** (**2***) byl připraven z [Ta(η$^5$-Cp*)Cl$_4$] (0,2 mmol; 91,6 mg) a salaph-4Br (0,2 mmol; 58,4 mg) způsobem zcela obdobným přípravě předchozího dichloro komplexu (schéma 5). Připravený komplex měl červenou barvu.

Anal. vypočteno pro $C_{23}H_{23}NBrCl_2O_2Ta$: C, 40,8; H, 3,4; N, 2,1. Nalezeno: C, 40,7; H, 3,0; N, 2,3 %. $^1$H NMR (DMSO-$d_6$): δ 8,85 (s, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,59 (dd, 2H), 7,14 (t, 1H), 6,85 (t, 1H), 6,55 (d, 1H), 6,49 (d, 1H), 2,28 (s, 15H) ppm. FT-IR (ATR): 472w, 493w, 536m, 559w, 642m, 657m, 689m, 743s, 813s, 860m, 879m, 929w 962w, 1022w, 1078w,

1110w, 1132m, 1173m, 1223m, 1256vs, 1275s, 1293vs, 1373vs, 1470vs, 1483vs, 1543m, 1585s, 1614vs, 2912m, 2956m, 2990m, 3055m $cm^{-1}$.

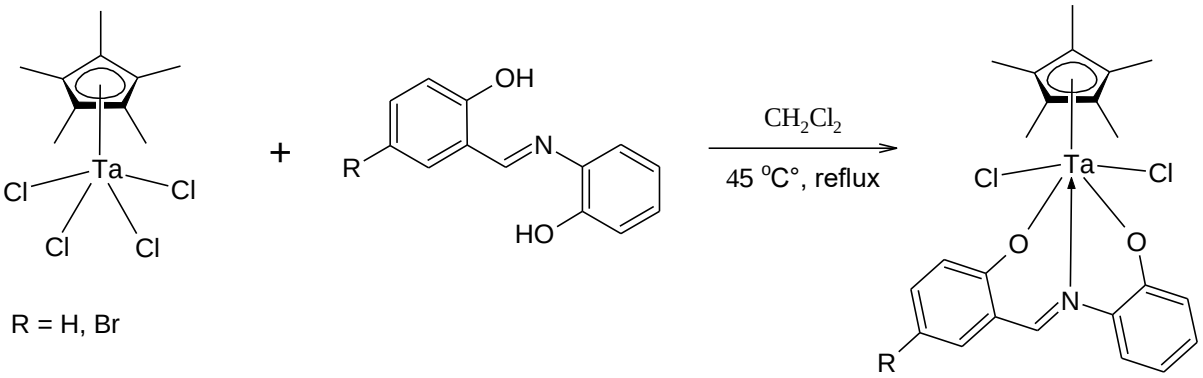



**Schéma 5: Příprava komplexů [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph)] a [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph-4Br)]**

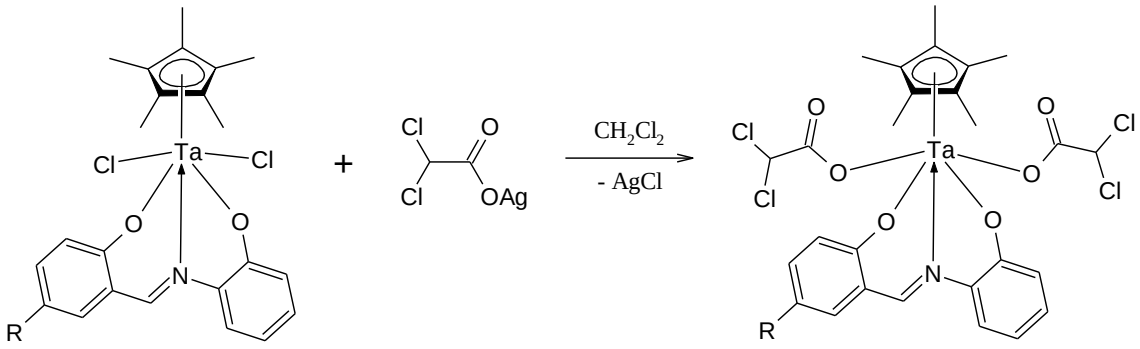
### 3.2.3. Příprava dichloracetato komplexů

**[Ta($\eta^5$-Cp*)$(DC)_2$(salaph)]** (**1**) byl připraven z [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph)] (**1***; 0,05 mmol; 29,9 mg) a dichloracetátu stříbrného (0,25 mmol; 59,0 mg). Navážené množství komplexu **1*** a stříbrné soli bylo smícháno ve vialce v přítomnosti 5 ml dichlormethanu jako rozpouštědla (schéma 6). Vialka opatřená magnetickým míchadlem byla uzavřena a zabalena do alobalu. Reakční směs reagovala při nepřetržitému míchání na magnetické míchačce přes noc. Po proběhnutí reakce byla nezreagovaná stříbrná sůl a vyloučený chlorid stříbrný odfiltrován přes filtrační papír a výsledný filtrát vyfoukán dusíkem na minimální objem. Po přikapání n-hexanu (≈1,5 ml) došlo k vyloučení produktu. Výsledný produkt byl odsán na fritě a vysušen v exsikátoru (pod sníženým tlakem). Připravený komplex měl oranžovou barvu a výtěžek činil 25,5 mg (65,1 %).

Anal. vypočteno pro $C_{27}H_{26}NCl_4O_6Ta$: C, 41,4; H, 3,4; N, 1,8. Nalezeno: C, 41,0; H, 3,0; N, 1,6%. $^1$H NMR (DMSO-$d_6$): δ 8,86 (s, 1H), 7,46 (d, 2H), 7,39 (d, 1H), 7,04 (t, 1H), 6,84 (t, 1H), 6,67 (m, 2H), 6,48 (d, 1H), 6,22 (s, 1H), 2,24 (s, 15H) ppm. ESI+ MS (MeOH; *m/z*): 654,0 (vyp. 654,1 pro $[Ta(Cp^*)(DC)(salaph)]^+$; 60%), 558,1 (vyp. 558,2 pro $\{[Ta(Cp^*)(salaph)]+OCH_3\}^+$; 100%). FT-IR (ATR): 447w, 470w, 537w, 552m, 633m, 690m, 708m, 754s, 801m, 814m, 863m, 931m, 1030m, 1075m, 1108m, 1123m, 1152m, 1186m 1208m, 1259vs, 1301vs, 1389s, 1445s, 1480vs, 1554s, 1588s, 1612vs, 1698s, 2853m, 2922s, 2958m, 3060m $cm^{-1}$.

**[Ta(η$^5$-Cp*)(DC)$_2$(salaph-4Br)]** (**2**) byl připraven z [Ta(η$^5$-Cp*)Cl$_2$(salaph-4Br)] (**2***; 0,05 mmol; 33,9 mg) a dichloracetátu stříbrného (0,25 mmol; 59,0 mg) jiným způsobem než komplex **1**, protože reakce byla prováděna v mikrovlnném syntetizátoru po dobu 1 minuty při 100 °C (schéma 6). Připravený komplex měl oranžovou barvu a jeho výtěžek byl 22,7 mg (52,7 %).

Anal. vypočteno pro $C_{27}H_{25}NBrCl_4O_6Ta$: C, 37,6 ; H, 2,9; N, 1,6. Nalezeno: C, 37,9; H, 3,1; N, 1,8%. $^1$H NMR (DMSO-$d_6$): δ 8,90 (s, 1H), 7,71 (m, 1H), 7,61 (m, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,10 (d, 1H), 6,68 (m, 2H), 6,54 (d, 1H), 6,32 (s, 1H), 2,28 (s, 15H) ppm. ESI+ MS (MeOH; *m/z*): 734,0 (vyp. 734,0 pro [Ta(Cp*)(DC)(salaph-4Br)]$^+$; 30%), 638,1 (vyp. 638,1 pro {[Ta(Cp*)(salaph-4Br)]+$OCH_3$}$^+$; 100%). FT-IR (ATR): 447w, 474w, 537m, 553m, 609m, 640s, 659s, 688s, 752m, 777m, 814s, 862m, 881m, 942m, 1027m, 1078m, 1135m, 1163s, 1214s, 1257vs, 1296vs, 1317vs, 1374s, 1409m, 1468s, 1483vs, 1542s, 1587s, 1611vs, 1681vs, 2852m, 2919m, 2957m, 3058m cm$^{-1}$.




R = H, Br

**Schéma 6: Příprava komplexů [Ta(η$^5$-Cp*)(DC)$_2$(salaph)] a [Ta(η$^5$-Cp*)(DC)$_2$(salaph-4Br)]**

### 3.2.4. Příprava valproato a ibuprofenato komplexů

Tyto komplexy byly připravovány ve stejných molárních poměrech a obdobným způsobem jako v případě přípravy dichloracetato komplexů **1** a **2** (schéma 7). Navážené množství [Ta(η$^5$-Cp*)Cl$_2$(salaph-4Br)] a stříbrné soli (valproát stříbrný/ibuprofenát stříbrný) bylo smícháno ve vialce obalené alobalem v 5 ml dichlormethanu. Reakce byla ponechána na magnetické míchačce přes noc za laboratorní teploty. Při izolaci [Ta(η$^5$-Cp*)(VP)$_2$(salaph-4Br)] komplexu s valproátem došlo k vyloučení zelenohnědé sraženiny. Při izolaci [Ta(η$^5$-

Cp*)(IBU)$_2$(salaph-4Br)] komplexu s ibuprofenátem byla výslednou látkou hnědá obtížně izolovatelná gelovitá hmota.

[Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)$_2$(salaph-4Br)]: ESI+ MS (MeOH; *m/z*): 750,0 (vyp. 750,1) pro [Ta(Cp*)(salaph-4Br)(VP)]$^+$; 699,6 (vyp. 700,0) pro {[Ta(Cp*)(salaph-4Br)Cl$_2$]+Na}$^+$; 642,0 (vyp. 642,0) pro [Ta(Cp*)(salaph-4Br)(OCH$_3$)]$^+$ a [Ta(Cp*)(salaph-4Br)Cl]$^+$.

[Ta($\eta^5$-Cp*)(IBU)$_2$(salaph-4Br)]: ESI+ MS (MeOH; *m/z*): 865,8 (vyp. 866,2) pro {[Ta(Cp*)(salaph-4Br)(IBU)(OCH$_3$)]+Na}$^+$; 812,1 (vyp. 812,1) pro [Ta(Cp*)(salaph-4Br)(IBU)]$^+$; 638,1 (vyp. 638,1) pro [Ta(Cp*)(salaph-4Br)(OCH$_3$)]$^+$.

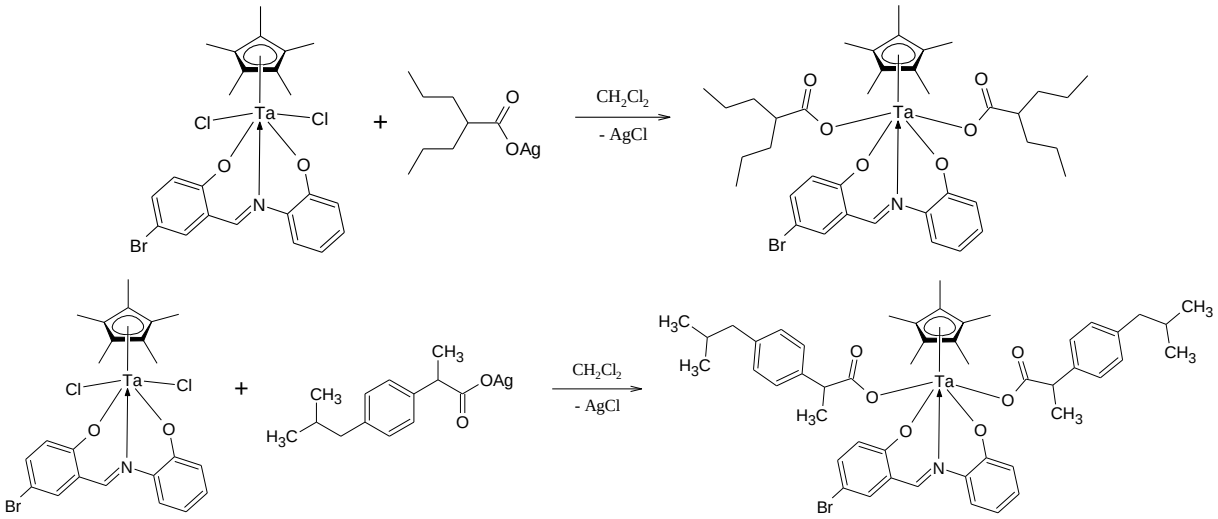


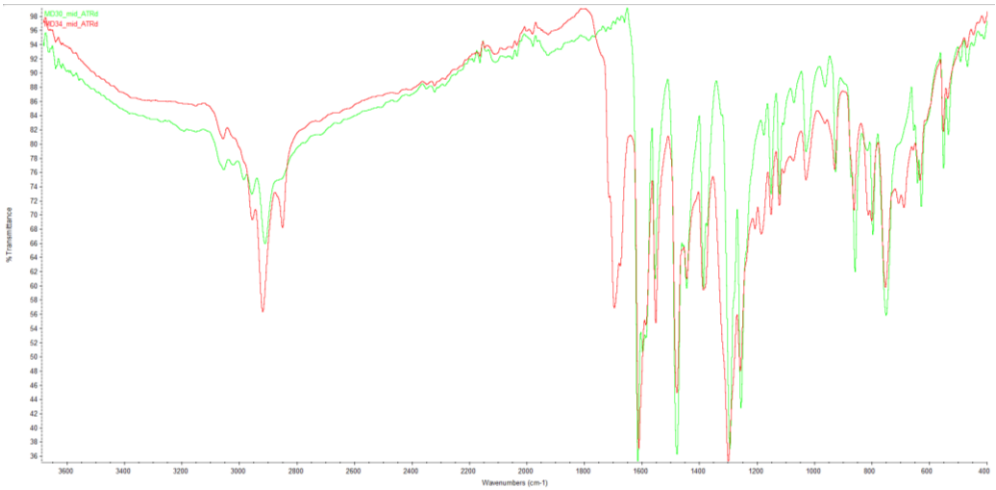

**Schéma 7: Příprava komplexů [Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)$_2$(salaph-4Br)] a [Ta($\eta^5$-Cp*)(IBU)$_2$(salaph-4Br)]**

# 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

Biologickou aktivitou sloučenin tantalu se zabývala pouze jediná práce z roku 2000 zaměřená na přípravu karboranových komplexů[3]. Dalším výzkum biologické aktivity komplexů tantalu probíhá až v současné době na katedře anorganické chemie Univerzity Palackého v Olomouci, kde se v nedávné době podařilo připravit řadu vysoce cytotoxických dichloro komplexů[4], které byly studovány na několika buněčných liniích nádorových buněk. Tato bakalářská práce tedy částečně navazuje na předchozí práci s cílem připravit komplexy zahrnující biologicky aktivní ligandy záměnou za chloro ligandy. Tento přístup byl úspěšně použit u komplexů mnoha přechodných kovů, jako např. u komplexů platiny (*mitaplatina*)[5], osmia a ruthenia obsahujících dichloracetato ligand[6] nebo valproato ligand[7].

V předložené práci první kroky syntézy zahrnovaly přípravu Schiffových bází, které byly připraveny v mikrovlnném syntetizátoru. Tyto látky reagovaly pod refluxem s [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_4$] komplexem, čímž byly získány červeně zbarvené dichloro komplexy, Ty pak po reakci se stříbrnými solemi příslušných biologicky aktivních látek (dichloracetát stříbrný, valproát stříbrný, ibuprofenát stříbrný) dávaly vzniku příslušným komplexům [Ta($\eta^5$-Cp*)$(DC)_2$(salaph)] (**1**), [Ta($\eta^5$-Cp*)$(DC)_2$(salaph-4Br)] (**2**), [Ta($\eta^5$-Cp*)$(VP)_2$(salaph-4Br)] a [Ta($\eta^5$-Cp*)$(IBU)_2$(salaph-4Br)]. Tyto komplexy byly charakterizovány pomocí vhodných analytických technik. Mezi tyto techniky patřily elementární analýza, hmotnostní spektrometrie, NMR spektroskopie a infračervená spektroskopie. Výsledky jsou uvedeny v experimentální části a některé z nich budou okomentovány níže v textu.

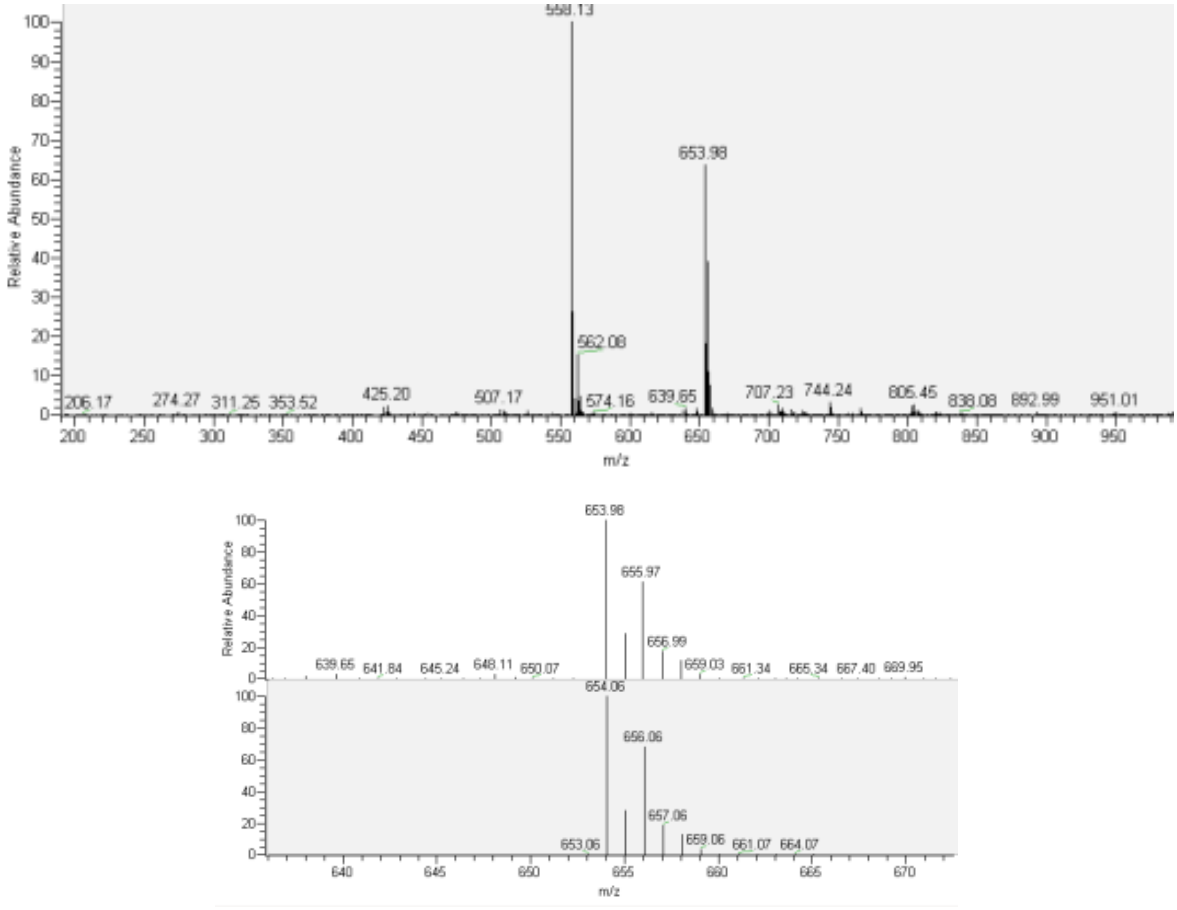
Infračervená spektra obou dichloracetato komplexů **1** a **2** obsahovala charakteristické



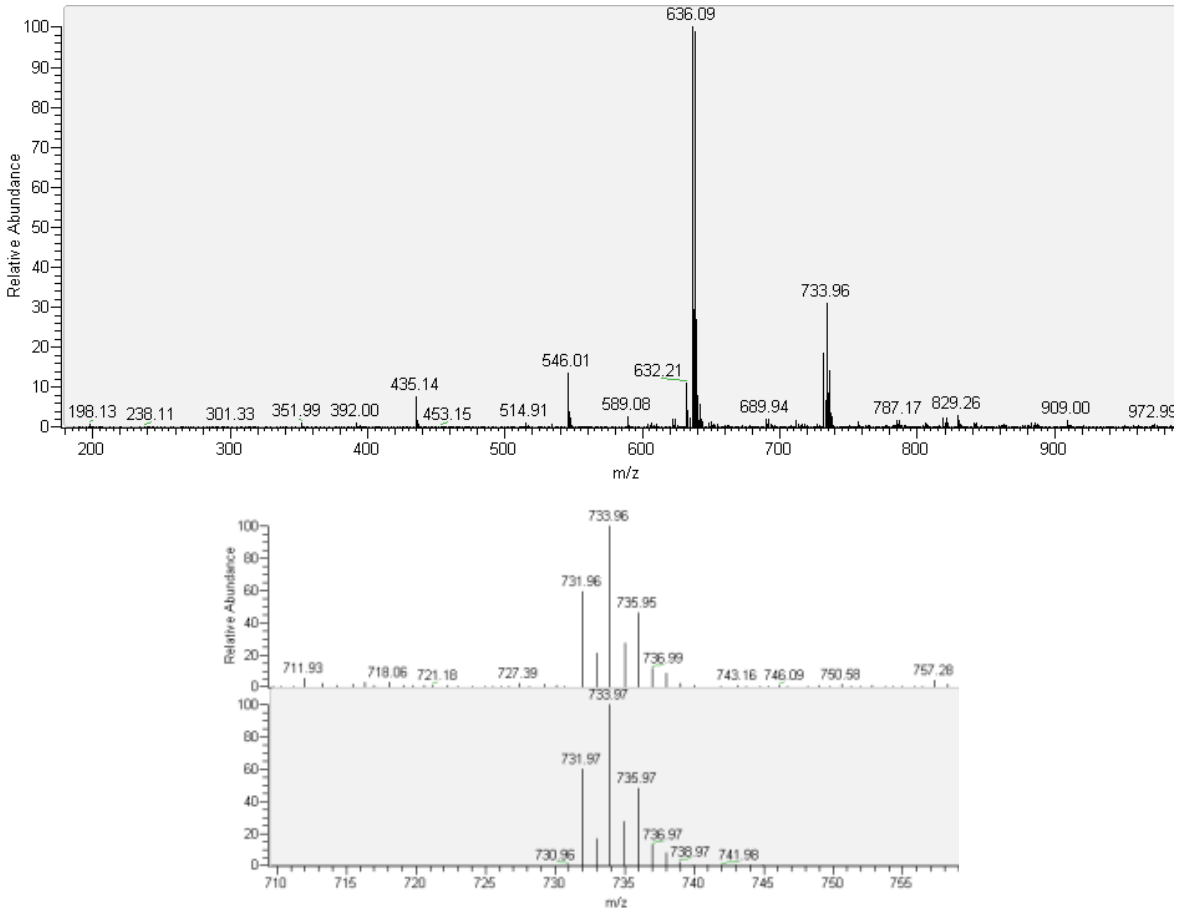
**Obrázek 16:** Porovnání FT-IR spekter komplexů [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph)] (zeleně; **1***) a [Ta($\eta^5$-Cp*)$(DC)_2$(salaph)] (červeně; **1**).

píky, které náleží vibracím karboxylových skupin při ca. 1700 $cm^{-1}$ (obrázek 16), čímž se tato spektra lišila od prekurzorů **1*** a **2***. Přítomnost DC ligandu v komplexech **1** a **2** se také projevila změnami v oblasti okolo 2900 $cm^{-1}$ typické pro vibrace alifatických C–H skupin, která se nachází také v použitém DC ligandu.

V ESI+ hmotnostním spektru komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(DC)$_2$(salaph)] (**1**) nebyly pozorovány molekulové píky, ale pouze píky odpovídající částici [Ta($\eta^5$-Cp*)(DC)(salaph)]$^+$ , která vznikla ze studovaného komplexu odštěpením jednoho DC ligandu, a aduktu {[Ta($\eta^5$-Cp*)(salaph)]+$OCH_3$}$^+$, který vznikl odštěpením obou DC ligandů a interakcí s methanolem použitým jako rozpouštědlo pro tuto analýzu (obrázek 17). Obdobné výsledky ESI+ hmotnostní spektrometrie byly získány i v případě komplexu **2** (obrázek 18).



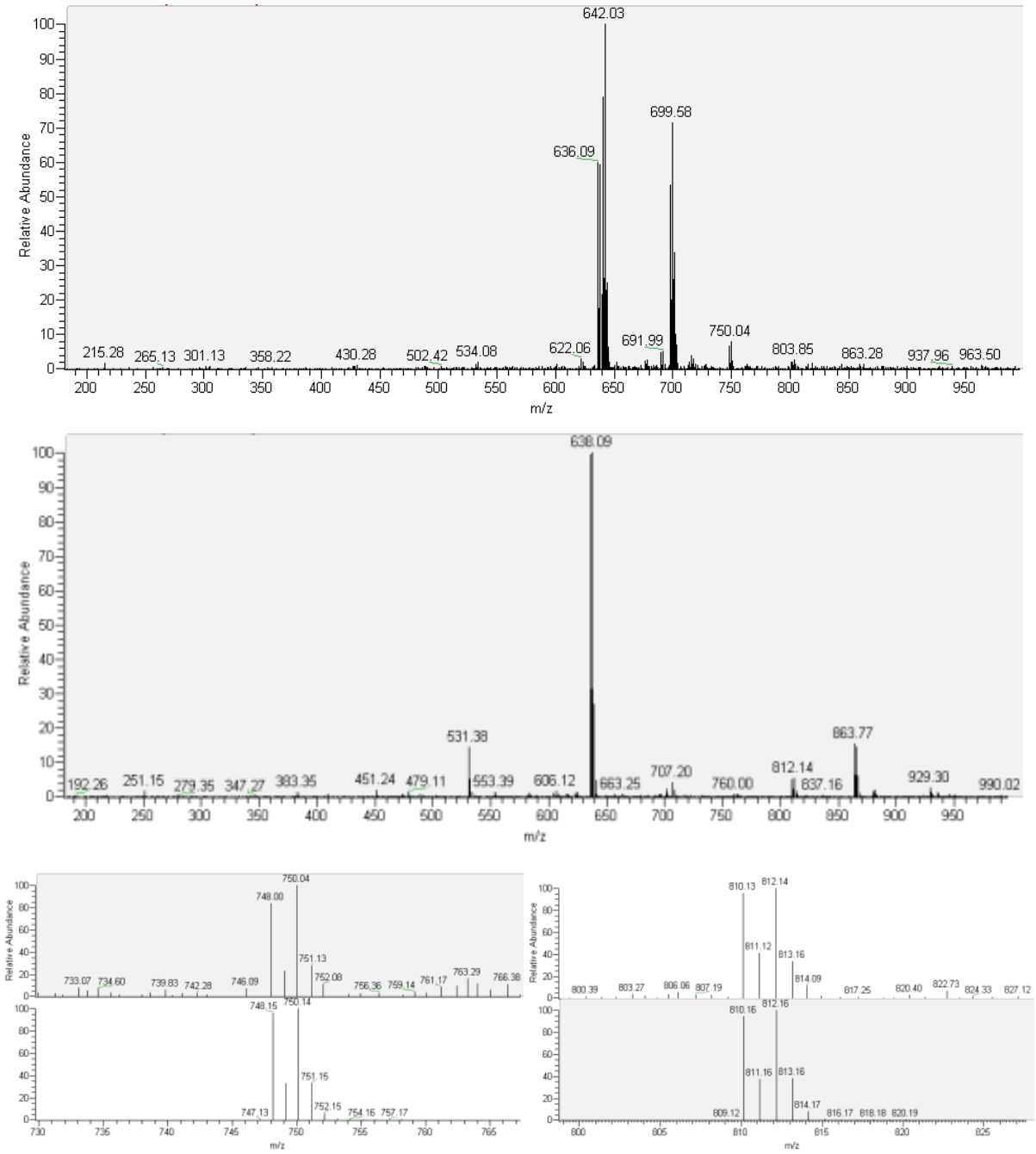

**Obrázek 17:** ESI+ hmotnostní spektrum komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(DC)$_2$(salaph)] (**1**; nahoře), zobrazené společně s detailem píku částice [Ta($\eta^5$-Cp*)(DC)(salaph)]$^+$ (dole), kde je porovnáno experimentální (bez podbarvení) a teoreticky vypočítané (šedě podbarvené) izotopové rozložení této částice.




**Obrázek 18:** ESI+ hmotnostní spektrum komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(DC)$_2$(salaph-4Br)] (**2**; nahoře), zobrazené společně s detailem píku částice [Ta($\eta^5$-Cp*)(DC)(salaph-4Br)]$^+$ (dole), kde je porovnáno experimentální (bez podbarvení) a teoreticky vypočítané (šedě podbarvené) izotopové rozložení této částice.

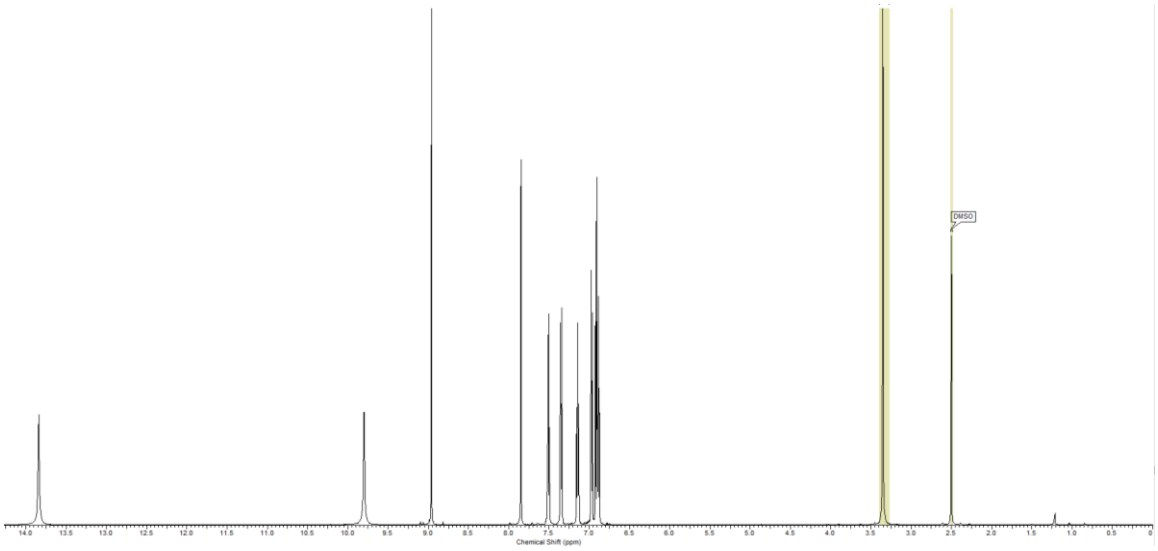
V ESI+ hmotnostní spektru komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)$_2$(salaph-4Br)] nebyly pozorovány molekulové píky, ale byly detekovány píky částice [Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)(salaph-4Br)]$^+$ (při 750,0 *m/z*), která poukazují na vznik valproato komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)$_2$(salaph-4Br)] (obrázek 19). S ohledem na to, že byly pozorovány také píky částic [Ta(Cp*)(salaph-4Br)Cl]$^+$, {[Ta(Cp*)(salaph-4Br)Cl$_2$]+Na}$^+$ a aduktu {[Ta(Cp*)(salaph-4Br)]+OCH$_3$}$^+$, je pravděpodobné, že reakce neproběhla úplně a izolovaný produkt obsahoval směs valproato komplexu a výchozího dichloro komplexu **2***.

V ESI+ hmotnostní spektru komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(IBU)$_2$(salaph-4Br)] byly detekovány dokonce dva píky, jejichž hodnota *m/z* a izotopové rozložení poukazuje na vznik tohoto ibuprofenato komplexu. Jedná se o částice [Ta($\eta^5$-Cp*)(IBU)(salaph-4Br)]$^+$ a {[Ta(Cp*)(salaph-4Br)(IBU)(OCH$_3$)]+Na}$^+$ (obrázek 19).

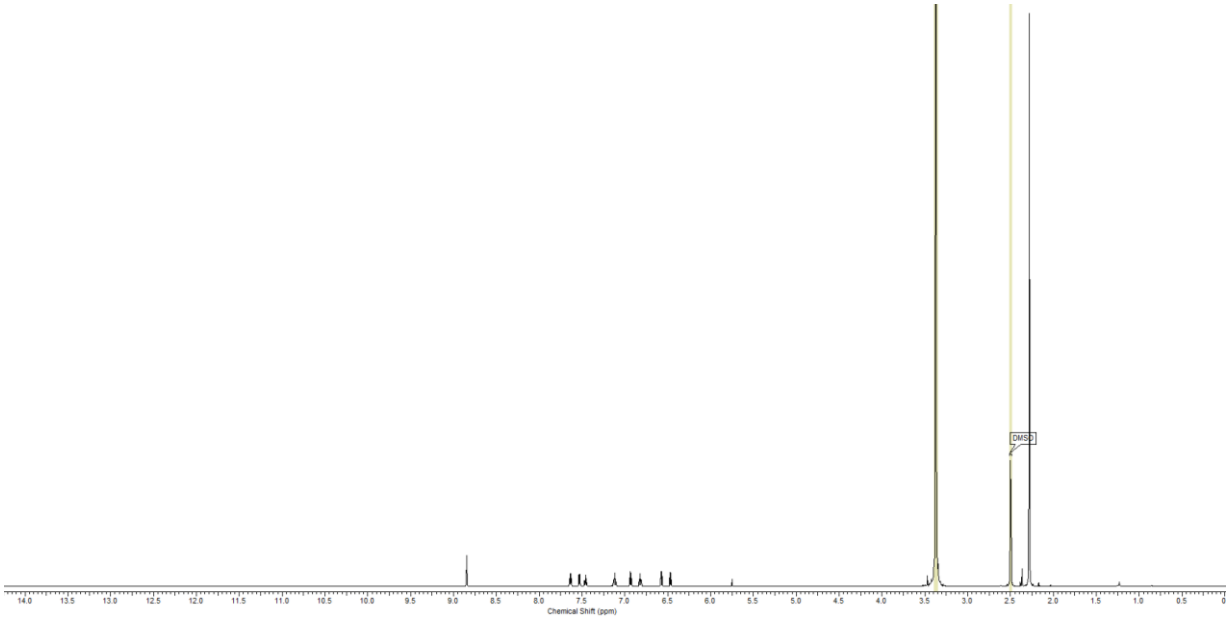



**Obrázek 19:** ESI+ hmotnostní spektrum komplexů [Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)$_2$(salaph-4Br)] (nahoře) a [Ta($\eta^5$-Cp*)(IBU)$_2$(salaph-4Br)] (uprostřed), zobrazené společně s detaily píku částic [Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)(salaph-4Br)]$^+$ (dole vlevo) a [Ta($\eta^5$-Cp*)(IBU)(salaph-4Br)]$^+$ (dole vpravo), kde je porovnáno experimentální a teoreticky vypočítané izotopové rozložení těchto částic.

V $^{1}$H NMR spektrech Schiffových bází $H_2$salaph a $H_2$salaph-4Br byly pozorovány všechny předpokládané signály, včetně singletů obou O–H skupin s chemickým posunem 13,80 ppm a 9,74 ppm pro $H_2$salaph a 13,83 ppm a 9,81 ppm pro $H_2$salaph-4Br (obrázek 20).




**Obrázek 20:** $^{1}$H NMR spektrum 4-brom-2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenolu ($H_2$salaph-4Br); vzorek byl připraven rozpuštěním v DMSO-$d_6$.




**Obrázek 21:** $^{1}$H NMR spektrum komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(salaph)] (**1***); vzorek byl připraven rozpuštěním v DMSO-$d_6$.

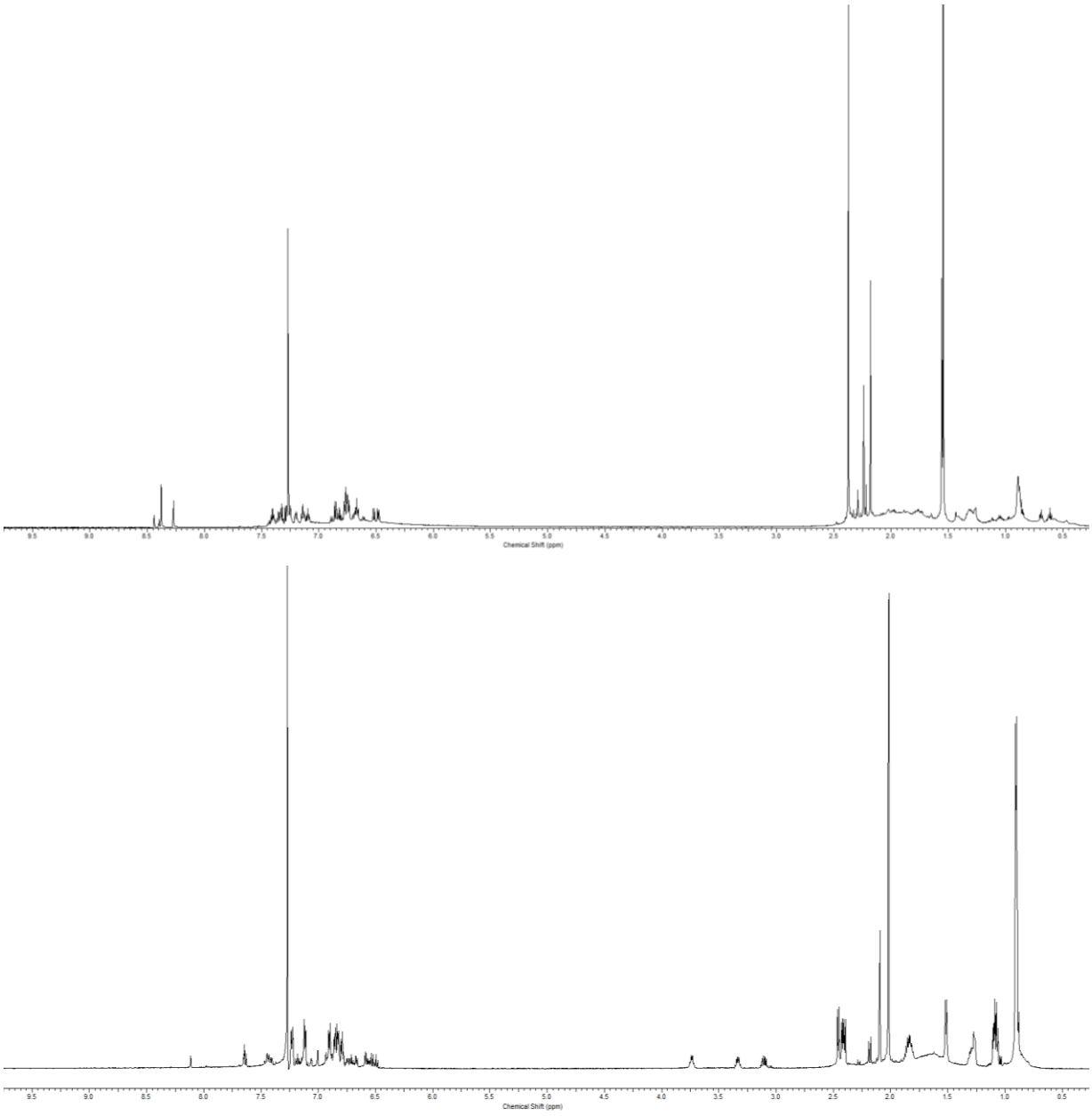
Při vzniku dichloro komplexů **1*** a **2*** došlo v důsledku koordinace použitých Schiffových bází na Ta(V) centrum ke změnám v $^1$H NMR spektrech. V porovnání s $^1$H NMR spektry Schiffových bází (viz obrázek 20) nebyly ve spektrech komplexů **1*** a **2*** pozorovány signály obou O–H skupin (obrázek 21). Další změna souvisí s přítomností Cp* ligandu v komplexech **1*** a **2***, jehož charakteristický $^1$H NMR singlet byl pozorován při 2,28 ppm.

**Obrázek 22:** $^1$H NMR spektrum komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(DC)$_2$(salaph)] (**1**); vzorek byl připraven rozpuštěním v DMSO-$d_6$.

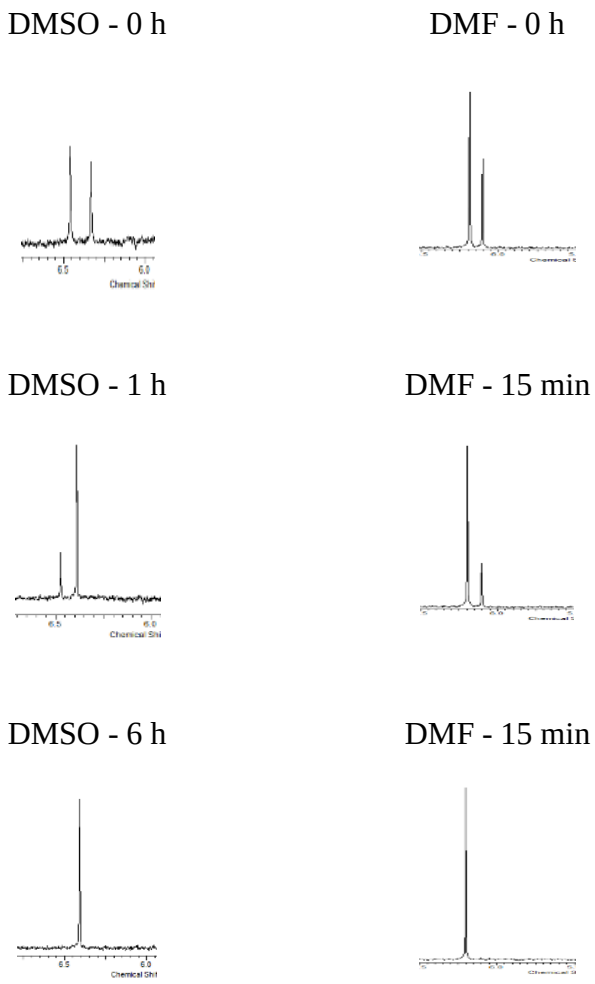
Reakcí výchozích dichloro komplexů **1*** a **2*** s Ag(DC) došlo k nahrazení obou chloro ligandů DC ligandem, což vedlo jednak ke změnám chemických posunů *n*salaph a Cp* ligandů, ale především k detekci nového signálu (singlet) při hodnotě chemického posunu 6,22 ppm (pro komplex **1**) a 6,32 ppm (pro komplex **2**), který v NMR spektrech pro komplexy **1*** a **2*** pozorován nebyl (obrázek 21 a 22). Tento singlet náleží DC ligandům a jeho integrální intenzita odpovídá navázání dvou DC ligandů v rámci molekul komplexů **1** a **2**.

V $^1$H NMR spektru komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)$_2$(salaph-4Br)] (obrázek 23) byly přítomny tři charakteristické C7–H singlety (8,27, 8,38 a 8,44 ppm) a tři singlety Cp* ligandu (2,18, 2,24 a 2,37 ppm). Toto prokazuje, že v případě tohoto komplexu nebyla izolována chemicky čistá látka a že se jednalo o směs blíže neidentifikovaných látek. Přítomnost signálů (triplety) o hodnotách 0,59 a 0,67 ppm dokazuje přítomnost valproato ligandu v některých sloučeninách z izolované směsi. Podobně i v případě komplexu [Ta($\eta^5$-Cp*)(IBU)$_2$(salaph-

4Br)] bylo v $^{1}$H NMR spektru (obrázek 23) prokázána přítomnost více Cp* signálů při hodnotách 2,02 a 2,09 ppm. Signály při např. 3,73 ppm a 0,90 ppm dokazují přítomnost 2-ibuprofenato ligandu v izolované směsi. Výsledky $^{1}$H NMR spektroskopie i zde naznačují přítomnost různých látek o odlišném složení, nejedná se tedy o chemické individuum.



**Obrázek 23:** $^{1}$H NMR spektra komplexů [Ta($\eta^5$-Cp*)(VP)$_2$(salaph-4Br)] (nahoře) a [Ta($\eta^5$-Cp*)(IBU)$_2$(salaph-4Br)] (dole); vzorky byly připraveny rozpuštěním v DMSO-$d_6$.




**Obrázek 24:** $^{1}$H NMR spektra pro roztok komplexu **1** ve směsi 50% DMSO-$d_6$/50% $D_2O$ (vlevo) a 50% DMF-$d_7$/50% $D_2O$ (vpravo) zaznamenána pro čerstvý roztok ($t$ = 0 hod) a následně v různých časech po stání roztoků za laboratorní teploty.

$^{1}$H NMR (50% DMSO-$d_6$/50% $D_2O$) signál C–H vodíkového atomu dca ligandů původního komplexu **1** byl detekován jako singlet s chemickým posunem 6,47 ppm, který byl už v čerstvém roztoku doprovázen signálem uvolněného DC ligandu (δ = 6,39 ppm) (obrázek 24). Stáním roztoku docházelo ke změně poměru obou signálů a po šesti hodinách stání roztoku za laboratorní teploty byl detekován už pouze signál volného DC. Podobně byly dva signály pozorovány i pro methylové skupiny Cp* ligandu, kde je pro původní komplex chemický posun rovný 2,72 ppm. Produkt vzniklý uvolněním DC ligandů, pravděpodobně diaqua/dihydroxo komplex, má signál těchto vodíků při 2,58 ppm.

Studium roztokové stability bylo provedeno i ve směsi 50% DMF-$d_7$/50% $D_2O$ (obrázek 24). V této směsi docházelo k uvolňování DC ligandu rychleji v porovnání s 50%

DMSO-$d_6$/50% $D_2O$. V čerstvém roztoku ($t$ = 0 hod) byly pozorovány charakteristické signály C–H vodíkového atomu DC ligandů a methylových skupin Cp* ligandu původního komplexu **1** při 6,14 ppm resp. 2,47 ppm. Společně s nimi jsou ve spektru přítomny také signály uvolněného DC ligandu a vzniklého aqua/hydroxo komplexu, a to při při 6,22 ppm resp. 2,34 ppm. Už po 1 hod stání za laboratorní teploty nebyly pozorovány signály původního komplexu **1**.

# 5. ZÁVĚR

Byla vypracována literární rešerše zahrnující léčiva na bázi přechodných neplatinových kovů a biologicky aktivní sloučeniny, které lze uplatnit jako ligandy při syntéze nových komplexů. Samotná syntéza zahrnovala přípravu polosendivčových komplexů tantalu obecného vzorce **1** a **2** (**1** a **2**), kde Cp* = pentamethylcyklopentadienyl, DC = dichloracetát, *n*salaph = deprotonizovaný 2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol ($H_2$salaph) nebo deprotonizovaný 4-brom-2-{(*E*)-[(2-hydroxyfenyl)imino]methyl}fenol ($H_2$salaph-4Br). V první fázi byly v mikrovlnném syntetizátoru připraveny Schiffovy báze ($H_2$salaph, $H_2$salaph-4Br), které následně reagovaly s komplexem [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_4$], kdy došlo ke vzniku komplexů [Ta($\eta^5$-Cp*)$Cl_2$(*n*salaph)]. Tyto dichloro komplexy reagovaly s dichloracetátem stříbrným za vzniku výše zmíněných komplexů **1** a **2**, které byly poté charakterizovány vhodnými analytickými technikami (IČ spektroskopie, NMR spektroskopie, elementární analýza a hmotnostní spektrometrie). Kromě dichloracetátu byly nad rámec zadání předložené bakalářské práce při syntéze vyzkoušeny i jiné biologicky aktivní organické sloučeniny ve formě jejich stříbrných solí, a to valproát stříbrný a ibuprofenát stříbrný. Vzniklé komplexy [Ta($\eta^5$-Cp*)$(VP)_2$(salaph-4Br)] a [Ta($\eta^5$-Cp*)$(IBU)_2$(salaph-4Br)] byly obtížně izolovatelné, gelovité a tedy nevhodné pro elementární analýzu. Pomocí hmotnostní spektrometrie a NMR spektroskopie bylo prokázáno, že se v případě těchto dvou komplexů nejednalo o chemicky čisté látky.

# 6. POUŽITÁ LITERATURA


1. ROSENBERG, B. a L. VanCamp a kol.: Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. *Nature*. **1969**, *222*, 385–386.

2. MESTRONI, G., E. Alessio a G. Sava. New salt of anionic complexes of Ru(III) as antimetastatic and antineoplastic agents. Mezinárodní patent, PCT C 07F 15/00, A61K 31/28. WO 98/00431, 1998.

3. HALL, I., C. Tolmie a kol.: 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.

4. Univerzita Palackého v Olomouci. Dichloro-komplexy tantalu a použití těchto komplexů pro přípravu léčiv pro léčbu nádorových onemocnění. Česká republika. Užitný vzor CZ 31254 U1. 12/2017

5. DHAR, S. a S. Lippard: Mitaplatin, a potent fusion of cisplatin and the orphan drug dichloroacetate. *PNAS*. **2009**, *106*, 22199 –22204.

6. ŠTARHA, P., Z. Trávníček, J. Vančo a Z. Dvořák: Half-Sandwich Ru(II) and Os(II) Bathophenanthroline Complexes Containing a Releasable Dichloroacetato Ligand. *Mol*. **2018**, *23*, 1-16.

7. ŠTARHA, P., Z. Trávníček, R. Herchel, P. Jewula a Z. Dvořák: A possible way how to improve in vitro cytotoxicity of half-sandwich Os(II) complexes against A2780 cells. *Dal. Trans*. **2018**.

8. MEDICI, S. a M. Peana a kol.: Noble metals in medicine: Latest advances. *Coord. Chem. Rev*. **2015**, *284*, 329-350.

9. GAYNOR, D. a D. Griffith: The prevalence of metal-based drugs as therapeutic or diagnostic agents: beyond platinum. *Dal. Trans*. **2012**, *43*, 1-19.

10. MCQUITTY, R.: Metal-based drugs. *Scien. Prog*. **2014**, *97*, 1-19.

11. KELLAND, L: The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat. Rev*. **2007**, *7*, 574-584.

12. BARRY, N. a P. Sadler: Exploration of the medical periodic table: towards new targets. *Chem. Commun*. **2013**, *49*, 5106-5131.

13. KEPPLER, B., C. Friesen a kol.: Tumor-inhibiting bis(β-Diketonato) metal complexes. Budotitane, cis-diethoxybis(1-phenylbutane-1,3-dionato)titanium(IV). *Struct. Bonding*. **1991**, *78*, 97-127.

14. MATERN, J., B. Keppler a M. Volm.: Preclinical evaluation of diethoxy-(1-phenyl-1,3-butanedionato) titanium (IV) in human tumour xenografts. *Arzneim.-Forsch*. **1984**, *34*, 1289-1290.

15. KÖPF, H. a P. Köpf-Maier.: Titanocene Dichloride-The First Metallocene with Cancerostatic Activity. *Angew. Chem*. **1979**, *18*, 477-478.

16. WILKINSON, G. a J. Birmingham: Bis-cyclopentadienyl Compounds of Ti, Zr, V, Nb and Ta. *J. Am. Chem. Soc*. **1954**, *76*, 4281-4284.

17. MELÉNDEZ, E.: Titanium complexes in cancer treatment. *Struct. Bonding*. **2002**, *42*, 309-315.

18. GIELEN, M. a E. Tiekink: Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine. *Wiley*, **2005**. ISBN 9780470864036.

19. TOP, S. a A. Vessiéres a kol.: Synthesis, Biochemical Properties and Molecular Modelling Studies of Organometallic Specific Estrogen Receptor Modulators (SERMs), the Ferrocifens and Hydroxyferrocifens: Evidence for an Antiproliferative Effect of Hydroxyferrocifens on both Hormone-Dependent and Hormone-Independent Breast Cancer Cell Lines. *Chem. Euro. J*. **2003**, *9*, 5223–5236.

20. MILACIC, V., D. Fregona a Q. Dou: Gold complexes as prospective metal-based anticancer drugs. *Histol. Histopathol*. **2007**, *23*, 101-108.

21. TIEKINK, E: Anti-cancer potential of gold complexes. *Inflammopharm*. **2008** ,*16*, 138–142.

22. REHDER, D, J. Pessoa a kol.: In vitro study of the insulin-mimetic behaviour of vanadium(IV, V) coordination compounds. *J. Biol. Inorg. Chem*. **2002**, *7*, 384-396.

23. SAKURAI, H. a K. Tsuchiya: Insulin-Mimetic Action of Vanadyl Complexes. *J. Clin. Biochem. Nutt*. **1990**, *8*, 193-200.

24. WEBER, D. a K. Griendling: The Yin/Yang of superoxide dismutase mimetics: potential cardiovascular therapies? *Brit. J. Pharm*. **2003**, *139*, 1059–1060.

25. GAUAAN, P., M. Trova a kol.: Superoxide dismutase mimetics: synthesis and structure–activity relationship study of MnTBAP analogues. *Bioorg. Med. Chem*. **2002**, *10*, 3013-3021.

26. BAKER, K., C. Marcus a kol.: Synthetic combined superoxide dismutase/catalase mimetics are protective as a delayed treatment in a rat stroke model: a key role for reactive oxygen species in ischemic brain injury. *J. Pharm. Exp. Ther*. **1998**, *10*, 215-221.

27. ASTON, K., N. Rath a kol.: Computer-Aided Design (CAD) of Mn(II) Complexes: Superoxide Dismutase Mimetics with Catalytic Activity Exceeding the Native Enzyme. *Inor. Chem*. **2001**, *40*, 1779–1789.

28. CUZZOCREA, S., E. Mazzon a kol.: Superoxide: a key player in hypertension. *Faseb J*. **2004**, *18*, 94-101.

29. BALLA, V. a S. Bodhak a kol.: Porous Tantalum Structures for Bone Implants: Fabrication, Mechanical and In vitro Biological Properties. *Acta Biomater*. **2010**, *6*, 3349–3359.

30. GEE, E. a R. Jordan a kol.: Current evidence and future directions for research into the use of tantalum in soft tissue re-attachment surgery. *J. Mater. Chem. B*. **2016**, *4*, 1020-1034.

31. JIN, Y. a X. Ma a kol.: A tantalum oxide-based core/shell nanoparticle for triple-modality image-guided chemo-thermal synergetic therapy of esophageal carcinoma. *Can. Lett*. **2017**, *397*, 61-71.

32. STACPOOLE, P: The pharmacology of dichloroacetate. *Metabol. Clin. and Exp*. **1989**, *38*, 1124–1144.

33. GATENBY, R. a R. Gillien: Why do cancers have high aerobic glycolysis?. *Nat. Rev. Cancer*. **2004**, *4*, 891–899.

34. PLAS, D. a C. Thompson: Cell metabolism in the regulation of programmed cell death. *Trends Endocrinol. Metab.* **2002**, *13*, 75–78.

35. SEMENZA, G., P. Roth a kol.: Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 23757–23763.

36. KIM, J., I. Tchernyshyov a kol.: HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell. Metab.* **2006**, *3*, 177-185

37. ANDERSSON, B., V. Janson a kol.: Induction of apoptosis by intracellular potassium ion depletion: using the fluorescent dye PBFI in a 96-well plate method in cultured lung cancer cells. *Toxicol. In Vitro*, **2006**, *20*, 986–994.

38. REMILLARD, C. a J. Yuan: Activation of $K^+$ channels: an essential pathway in programmed cell death. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **2004**, *286*, L49–L67.

39. WANG, H., Y. Zhang a kol.: HERG $K^+$ channel, a regulator of tumor cell apoptosis and proliferation. *Cancer Res*. **2002**, *62*, 4843–4848.

40. YU, S., C. Yeh a kol.: Mediation of neuronal apoptosis by enhancement of outward potassium current. *Science* **1997**, *278*, 114–117.

41. CAOUETTE, D., C. Dongmo a kol.: Hydrogen peroxide modulates the Kv1.5 channel expressed in a mammalian cell line. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2003**, *368*, 479–486.

42. BONNET, S., S. Archer a kol.: A Mitochondria-$K^+$ Channel Axis Is Suppressed in Cancer and Its Normalization Promotes Apoptosis and Inhibits Cancer Growth. *Can. Cell*. **2007**, *11*, 37–51.

43. DHAR, S. a S. Lippard: Mitaplatin, a potent fusion of cisplatin and the orphan drug dichloroacetate. *PNAS*. **2009**, *106*, 22199 –22204.

44. ZAJAC, J., H. Kostrhunova a kol.: Potentiation of mitochondrial dysfunction in tumor cells by conjugates of metabolic modulator dichloroacetate with a Pt(IV) derivative of oxaliplatin. *J. Inorg. Biochem*. **2016**, *156*, 89–97.

45. SU, J., X. Li a kol.: Phase 1 study of valproic acid in pediatric patients with refractory solid or cns tumors: A children's oncology group report. *Clin. Cancer Res.* **2011**, *17*, 589–597.

46. WHELER, J., F. Janku a kol.: Phase I study of anti-vegf monoclonal antibody bevacizumab and histone deacetylase inhibitor valproic acid in patients with advanced cancers. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2014**, *73*, 495–501.

47. CHU, B., M. Karpenko a kol.: Phase i study of 5-aza-2'-deoxycytidine in combination with valproic acid in non-small-cell lung cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2013**, *71*, 115–121.

48. IWAHASHI, S., T. Utsunomiya a kol.: Effects of valproic acid in combination with s-1 on advanced pancreatobiliary tract cancers: Clinical study phases I/II. *Anticancer Res.* **2014**, *34*, 5187–5191.

49. ROTH, S., J. Denu a C. Allis: Histone acetyltransferases. *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, *70*, 81–120.

50. MARKS, P., V. Richon a R. Rifkind: Histone deacetylase inhibitors: Inducers of differentiation or apoptosis of transformed cells. *J. Natl. Cancer Inst.* **2000**, *92*, 1210–1216.

51. GRIDELLI, C., A. Rossi a P. Maione: The potential role of histone deacetylase inhibitors in the treatment of non-small-cell lung cancer. *Critic. Rev. Oncol./Hematol*. **2008**, *68*, 29-36.

52. BOLDEN, J., M. Peart a R. Johnstone: Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 769–784.

53. PENG, L. a E. Seto: Deacetylation of nonhistone proteins by HDACs and the implications in cancer. *Handb. Exp. Pharmacol.* **2011**, *206*, 39–56.

54. NOVOHRADSKÝ, V., L. Zerzanková a kol.: Antitumor platinum(IV) derivatives of oxaliplatin with axial valproato ligands. *J. Inorg. Biochem*. **2014**, *140*, 72–79.

55. MITCHELL, J., P. Akarasereenont a kol.: Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci*. **1994**, *90*, 11693-11697.

56. CURCI, A., N. Denora a kol.: Synthesis, characterization, and in vitro cytotoxicity of a Kiteplatin-Ibuprofen Pt(IV) prodrug. *Inorg. Chimi. Acta*. **2018**, *472*, 221-228.

57. KUMAR, S., S. Garg a kol.: Four monomeric copper(II) complexes of non-steroidal anti-inflammatory drug Ibuprofen and N-donor ligands: syntheses, characterization, crystal structures and cytotoxicity studies. *New J. Chem*. **2017**, *16*, 8253-8262.