

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



**Polosendvičové komplexy s vybranými
N,N-donorovými azo ligandy**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Roman Malěř
Studijní obor: Biologie a chemie pro vzdělávání
Typ studia: Prezenční
Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph. D.

Olomouc 2023

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

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

V Olomouci dne 28. 4. 2023

.....

Jméno a příjmení
(podpis)

Chtěl bych zde poděkovat panu doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za odborné vedení a připomínky při vypracovávání této bakalářské práce a za pomoc při měření a interpretaci analytických technik. Dále chci poděkovat kolektivu studentů a zaměstnanců katedry anorganické chemie za příjemné pracovní prostředí.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Roman Malěř
Název práce:	Polosendvičové komplexy s vybranými N,N-donorovými azo ligandy
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph. D.
Rok obhajoby práce:	2023

Abstrakt:

Cílem bakalářské práce byla příprava a charakterizace polosendvičových komplexů platinových kovů ruthenia, rhodia, osmia a iridia s vybranými bidentátními N,N-donorovými ligandy, které ve své struktuře obsahují azo vazbu. Jako základ bakalářské práce byla vypracována literární rešerše biologicky aktivních komplexů platinových kovů. Teoretická část tak obsahuje historický a současný přehled nejznámějších protinádorově aktivních komplexů platinových kovů. V experimentální části byla připravena série polosendvičových komplexů založených na bidentátním N,N-donorovém azo ligandu odvozeném od benzimidazolu (aza2) s obecným vzorcem $[M(\eta^5\text{-Cp}^x)\text{Cl(aza2)}]^+$, kde Cp^x symbolizuje tři různé deriváty cyklopentadienu a $M = \text{Ir}$ nebo Rh . Připravené komplexy byly podrobeny řadě analytických metod s důrazem na ^1H NMR spektroskopii, RP-HPLC chromatografii a hmotnostní spektrometrii (ionizace elektrosprejem v pozitivním módu, ESI+). Pokusy o přípravu analogických sloučenin Ru nebo Os nebyly úspěšné, protože při reakcích docházelo k okamžité degradaci vznikajících komplexů.

Klíčová slova:	ruthenium, osmium, rhodium, iridium, polosendvičové komplexy, organokovové sloučeniny, syntéza, charakterizace
Počet stran:	45
Jazyk:	čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Roman Maléř

Title: Half-sandwich complexes with selected N,N-donor azo ligands

Type of thesis: Bachelor

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

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

Year of presentation: 2023

Abstract:

The aim of the bachelor thesis was the preparation and characterization of half-sandwich complexes of the platinum metals ruthenium, rhodium, osmium and iridium with selected bidentate N,N-donor ligands containing an azo bond in their structure. A literature search of biologically active platinum metal complexes was carried out as a basis for the bachelor thesis. Thus, the theoretical part contains a review of the best-known anticancer active platinum metal complexes. In the experimental part, a series of half-sandwich complexes based on a bidentate N,N-donor azo ligand derived from benzimidazole (aza2) with the general formula $[M(\eta^5\text{-Cp}^x)\text{Cl}(\text{aza}2)]^+$, where Cp^x symbolizes three different cyclopentadienyl derivatives and $M = \text{Ir}$ or Rh , was prepared. The prepared complexes were characterized by relevant analytical techniques, such as ^1H NMR, RP-HPLC chromatography and mass spectrometry (positive mode electrospray ionization, ESI+). Attempts to prepare analogous Ru or Os compounds were unsuccessful because the reactions resulted in immediate degradation of the complexes formed.

Keywords: ruthenium, osmium, rhodium, iridium, half-sandwich complexes, organometallic compounds, synthesis, characterization

Number of pages: 45

Language: Czech

Obsah

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Rhodium a iridium.....	8
2.1.1	Výskyt a využití.....	8
2.1.2	Rhodium a iridium v oxidačním stavu +III	8
2.1.3	Rhodium a iridium v oxidačním stavu 0 až +II	9
2.1.4	Rhodium a iridium v oxidačním stavu +IV až +VI.....	9
2.2	Biologicky aktivní komplexy platinových kovů	10
2.3	Protinádorové aktivní komplexy platiny	10
2.3.1	Cisplatina.....	10
2.3.2	Druhá generace léčiv na bázi platiny.....	11
2.3.3	Třetí generace léčiv na bázi platiny	11
2.3.4	Mechanismus účinku cisplatiny	12
2.3.5	Rezistence nádorových buněk vůči účinkům cisplatiny	13
2.4	Protinádorové aktivní komplexy ostatních platinových kovů	14
2.5	Biologicky aktivní komplexy ruthenia	14
2.5.1	Interakce komplexů na bázi ruthenia s biomolekulami	16
2.6	Biologicky aktivní komplexy osmia.....	17
2.7	Biologicky aktivní komplexy palladia.....	18
2.8	Polosendvičové komplexy rhodia a iridia	18
2.8.1	Iridium	19
2.8.2	Rhodium	21
3	PRAKTICKÁ ČÁST.....	23
3.1	Použité chemikálie a přístroje	23
3.2	Příprava sloučenin	23
3.2.1	Příprava výchozích dimerních sloučenin.....	23
3.2.2	Příprava vlastních komplexů	24
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	27
5	ZÁVĚR.....	37
6	POUŽITÁ LITERATURA	38
7	SEZNAM OBRÁZKŮ	43

1 ÚVOD

Rakovina a její léčba jsou v dnešní době předmětem mnoha vědeckých výzkumů. Již začátkem 20. století se projeví snahy o zkonkretizování chemických látek, které by mohly ovlivnit vývoj nádorového onemocnění v těle, případně jej vyléčit. Oficiálně od této doby mluvíme o vizi chemoterapie jako léčebném prostředku pro boj s rakovinou. Následovalo více či méně úspěšných výzkumů. Teprve v 60. letech 20. století došlo ke značnému průlomů, kdy se pomocí chemoterapie podařilo vyléčit akutní dětskou leukémii a pokročilé stádium Hodgkinova lymfomu. V letech 1974–1978 Lawrence Einhorn s výzkumným týmem zahájil řadu studií, které vedly ke zvýšení míry vyléčení metastazujícího karcinomu varlat z původních 10 % na 60 % za použití kombinace cisplatinu, vinblastinu a bleomycinu [1].

Komplexy platiny jsou světově nejpoužívanější protirakovinná chemoterapeutika, avšak nesou s sebou řadu nedostatků. Na základě toho se dnes vědečtí pracovníci snaží najít nová léčiva na bázi jiných přechodných kovů s lepšími vlastnostmi a méně vedlejšími účinky. Lepšími vlastnostmi myslíme zejména vyšší aktivitu, lepší selektivitu (tzn. nižší toxicitu) a schopnost účinněji zabíjet rakovinné buňky, které jsou rezistentní vůči konvenčním chemoterapeutikům. V návaznosti na tuto myšlenku vzniklo mnoho komplexů např. ruthenia, ale i jiných přechodných prvků, které následně prošly klinickými studii na pacientech s onkologickým onemocněním. Aktuálně se velké naděje vkládají do komplexů na bázi rhodia a iridia, které mají silné antiproliferační účinky vůči lidským nádorovým buňkám a jiný mechanismus biologického účinku v porovnání s používanými chemoterapeutiky [2,3].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Rhodium a iridium

Rhodium a iridium jsou přechodné kovy VIII. B skupiny. Rhodium společně s rutheniem a palladiem patří do skupiny tzv. lehkých platinových kovů. Iridium patří naopak do skupiny tzv. těžkých platinových kovů, a to společně s osmiem a platinou. Na rozdíl od prvků triády železa jsou to ušlechtilé kovy s větší hustotou. Rhodium a iridium leží ve stejné skupině, od čehož se odvíjí i značně podobné chemické vlastnosti. Elektronová konfigurace rhodia je $[_{36}\text{Kr}]: 4d^8 5s^1$, iridium má elektronovou konfiguraci $[_{54}\text{Xe}]: 4f^{14} 5d^7 6s^2$.

2.1.1 Výskyt a využití

Rhodium a iridium jsou ve volné přírodě dostupné pouze v malém množství a ročně se získá jen několik tun těchto kovů. Rhodium je ve volné podobě vzácné a je získáváno spíše z rud jako vedlejší produkt při rafinaci mědi a niklu. Objevení rhodia se pojí s objevem palladia v roce 1803, jejichž objevitelem byl Wollaston. Rhodium dostalo svůj název z řečtiny podle růžově červené barvy řady svých sloučenin. Jedná se o kov odolný vůči oxidaci. Tenkou vrstvou rhodia (případně slitiny rhodia s iridiem) se pokrývají optická vlákna, zrcadla či odrazky v autech. Zcela zásadní využití nachází jako katalyzátor v organické syntéze pro výrobu kyseliny octové nebo společně v kombinaci s platinou a palladiem jako autokatalyzátor pro odstranění škodlivých látek z výfukových plynů. V menším měřítku se používá také k výrobě šperků nebo pokovování méně ušlechtilých kovů. Iridium bylo objeveno roku 1804 Tennantem, a to současně s osmiem, jelikož se v přírodě vyskytují společně jako osmiridium. Jedná se o nejvíce rezistentní kov vůči korozi, který známe. Díky své pevnosti a odolnosti se využívá např. na výrobu strojních dílů (ložiska) a reflektorů v RTG teleskopech. Soli iridia jsou také využívány pro výrobu kyseliny octové a často nahrazují rhodium jako katalyzátor [4,5].

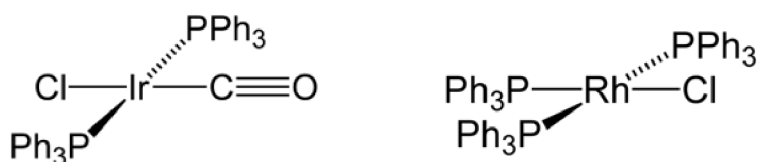
2.1.2 Rhodium a iridium v oxidačním stavu +III

Oba přechodné kovy jsou značně chemicky odolné a reagují s kyslíkem nebo halogeny teprve za vyšších teplot. Takřka nereagují ani s lučavkou královskou, pouze s roztavenými alkáliemi. Oproti sousedním platinovým kovům, Ru a Os, dosahují menšího počtu oxidačních stavů a jsou stabilnější spíše v nižších oxidačních číslech. Jediným stálým oxidem rhodia je Rh_2O_3 vznikajícím žiháním RhCl_3 v proudu kyslíku. Ir_2O_3 syntetizujeme tavením $\text{K}_2[\text{IrCl}_6]$ s Na_2CO_3 , ze kterého oxidací vzniká IrO_2 . Působením alkalických hydroxidů na roztoky Rh^{III} a Ir^{III} sloučenin vznikají hydratované oxidy $\text{Rh}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a $\text{Ir}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, které se chovají jako báze

a reakcí s kyselinami dávají soli rhodité a iridité, které jsou v daném oxidačním stavu toxické. Pro koordinační chemii jsou podstatné oxidační stupně Rh^{III} a Ir^{III} , které tvoří diamagnetické a kineticky inertní oktaedrické nízkospinové d^6 komplexy. Důležitými výchozími látkami pro další syntézu komplexů jsou hydratované halogenidy $\text{RhCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ a $\text{IrCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, které byly použity i v této bakalářské práci. Rh^{III} a Ir^{III} ionty tvoří komplexy s N-, O-, P- i S-donorovými ligandy. Velmi zajímavým z hlediska vzniku je komplex $[\text{Ir}(\text{bpy})_2(\text{bpy-C,N})]^{2+}$, u kterého proběhla eliminace protonu na jednom ze tří koordinovaných 2,2'-bipyridylů v poloze 6 za vzniku C,N-koordinovaného záporně nabitého ligandu $(\text{bpy-C,N})^-$ [4,6,7].

2.1.3 Rhodium a iridium v oxidačním stavu 0 až +II

Jednojaderných komplexů rhodia a iridia v oxidačním stavu +II je málo. Jsou známy čtvercové paramagnetické komplexy $[\text{RhCl}_2\text{L}_2]$ ($\text{L} = \text{PR}_3$) a dimery $[\text{Rh}_2(\mu\text{-L})_4]$ ($\text{L} = \text{RCO}_2^-$), ale analogické sloučeniny Ir^{II} jsou vzácné. Nejlépe prostudovány jsou dimerní karboxylato komplexy obsahující jednoduchou vazbu kov-kov – např. $[\text{Rh}_2(\mu\text{-ac})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$; ac = acetato. Sloučeniny v oxidačním stavu +I jsou stabilizovány π -akceptorovými ligandy (fosfany). Mezi nejznámější patří Wilkinsonův katalyzátor $[\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3]$ a Vaskův komplex $[\text{IrCl}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$, které mají čtvercovou strukturu. Využívají se v homogenní katalýze při oxidačně-adičních reakcích, ve kterých se atom M^{I} oxiduje na M^{III} . Oxidační stav 0 můžeme pozorovat v karbonylech. Jedná se o sloučeniny typu $[\text{M}_4(\text{CO})_{12}]$ ($\text{M} = \text{Rh}, \text{Ir}$) [6,7].



Obrázek 1: Vaskův komplex (vlevo) a Wilkinsonův katalyzátor (vpravo)

2.1.4 Rhodium a iridium v oxidačním stavu +IV až +VI

Oxidační stav +VI je možný pouze ve formě oktaedrických fluoridů RhF_6 a IrF_6 . Jedná se o těkavé a velmi reaktivní sloučeniny s oxidačními vlastnostmi. Oxidační stav +V je možné získat redukcí hexafluoridů, kdy vznikají pentafluoridy RhF_5 a IrF_5 s tetramerní strukturou. Je známo také několik hydridových komplexů Ir^{V} , např. $[\text{IrH}_5(\text{PMe}_3)_2]$. Jedinými jednoduchými halogenidy v oxidačním stavu +IV jsou nestálé fluoridy. Známe také ve vodě nerozpustné oxidy IrO_2 a RhO_2 se strukturou rutilu. V tomto oxidačním stavu lze připravit sérii paramagnetických

nízko-spinových d^5 aniontů $[\text{RhX}_6]^{2-}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}$) a $[\text{IrX}_6]^{2-}$ ($X = \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}$). Zmíněné komplexy rhodia se v nadbytku vody hydrolyzují na RhO_2 [6,7].

2.2 Biologicky aktivní komplexy platinových kovů

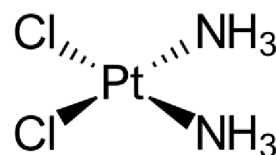
Spojení kovů s léčbou rakoviny vyžaduje značné znalosti z vědeckých odvětví typu bioanorganické chemie, patologie, farmakologie či onkologie. Pro tyto účely se využívají vlastnosti přechodných kovů jako je jejich aktivita v oxidačně-redukčních procesech, variabilní koordinační chemie a reaktivita s biologicky relevantními substráty v lidském organismu. Díky širokým možnostem struktury komplexů a použití různých ligandů došlo během posledních desítek let ke vzniku široké škály komplexních sloučenin s různou mírou cytotoxické aktivity a různými farmakologickými parametry [8]. Již r. 1931 Collier a Kraus aplikovali jednorázově určité dávky různých sloučenin přechodných kovů do těla myši s Ehrlichovým myším karcinomem a pozorovali dopad těchto částic na růst karcinomu. Většina sloučenin bylo neaktivních, výjimkou byly $\text{K}_2\text{Mn}(\text{SO}_4)_2$ a hydrát $\text{Cs}_2[\text{Ru}^{\text{IV}}\text{Cl}_6]$ [9]. Jedná se údajně o první výzkumy poukazující na protirakovinnou aktivitu kovových anorganických solí a komplexů.

V následujícím textu se budeme zabírat protinádorově aktivními komplexy platinových kovů – platinou, rutheniem, osmiem, rhodiem, iridiem a palladiem.

2.3 Protinádorové aktivní komplexy platiny

2.3.1 Cisplatina

Komplexy platiny, zejména cisplatina, jsou neznámějšími protirakovinnými léčivými. Jedná se o velmi rozsáhlou skupinu sloučenin, z nichž se pouze malá část dostala do stádia klinických studií a pouze pár z nich je v dnešní době schváleno pro léčbu určitých typů rakovin [8]. Prvotní objevení účinku cisplatiny souvisí s výzkumem Rosenberga na začátku 60. let 20. století, který zkoumal



Obrázek 2: Cisplatina

působení elektrického pole na růst bakterií mezi platinovými elektrodami. Pozoroval inhibici replikace buněk *Escherichia coli*, což bylo zdánlivě přisuzováno účinkům elektrického proudu. Teprve posléze bylo zjištěno, že za inhibicí stojí v roztoku vznikající *cis*-diamminodichloridoplatnatý komplex *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ (cisplatina). Jedná se o první protinádorově aktivní látku na bázi platinových kovů, u které proběhly klinické studie [10]. Od 70. let 20. století se cisplatina používá zejména pro léčbu rakoviny vaječníků, plic, varlat, hlavy, krku a také metastázující rakoviny prsou, to pod komerčními názvy *cisplatinol*® a *platinosin*®. Je na

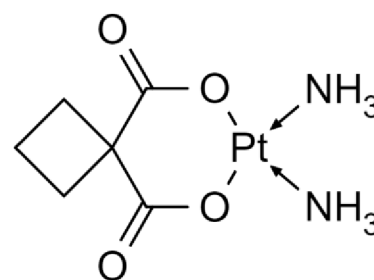
místě zmínit, že žádanou antiproliferační aktivitu vykazuje zejména *cis*-izomer, *trans*-analog je biologicky téměř neaktivní.

Cisplatinu provází i nežádoucí vlastnosti – nízká rozpustnost ve fyziologických roztocích, značné vedlejší účinky na pacientech, nezanedbatelná nefrotoxicita a toxicita pro trávicí trakt a vrozená nebo získaná rezistence některých typů nádorů vůči tomuto léčivu (např. kolorektální karcinomy) [8].

2.3.2 Druhá generace léčiv na bázi platiny

V závislosti na těchto nežádoucích specifikách cisplatiny se objevily snahy o syntézu jejích analogů na bázi platiny. Vědci začali přisuzovat odstupující skupině klíčovou roli. Například v případě ClO_4^- a NO_3^- byla prokázána toxicita pro lidský organismus, středně labilní Cl^- a Br^- vykazovaly značné protirakovinné účinky, kdežto I^- , N_3^- a SCN^- nejevily žádné známky protirakovinné aktivity.

Na základě této hypotézy byly vytvořeny komplexy na bázi méně labilních iontů (např. různé bidentátní karboxylátové dianionty). V polovině 80. let 20. století byla představena karboplatina (*cis*-diammin-1,1-cyklobutandikarboxylatoplatnatý komplex). Karboplatina se ukázala o něco šetrnější s podobnou účinností jako cisplatinu pouze při vyšších koncentracích, přičemž účinek se dostavuje pomaleji. Velmi efektivně se používá v kombinované léčbě rakoviny vaječnicků [8,11].

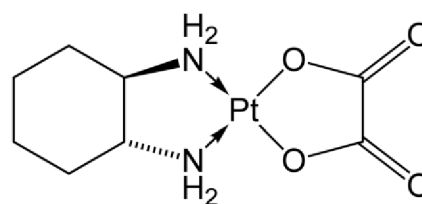


Obrázek 3: Karboplatina

2.3.3 Třetí generace léčiv na bázi platiny

Zcela stěžejním pro vývoj těchto chemoterapeutik na bázi platiny bylo zjištění mechanismu rezistence nádorů vůči lékům na bázi platiny (např. cisplatině), což dalo možnost vzniku novým formám Pt(II) komplexů obsahujících ve své struktuře jiné N-donorové tzv. nosné ligandy, jako např. chirální aminy. Jako odstupující

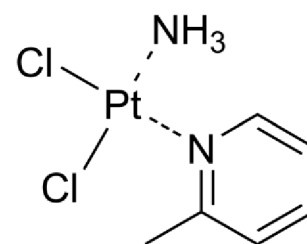
ligandy (z angl. *leaving groups*) byly používány především dikarboxylátové ionty. Velmi známou se stala oxaliplatinu (*cis*-oxalato-*trans*-1,2-diaminocyklohexanplatnatý komplex), která se jako kombinované chemoterapeutikum používá pro léčbu karcinomu tlustého střeva. Zdála



Obrázek 4: Oxaliplatinu

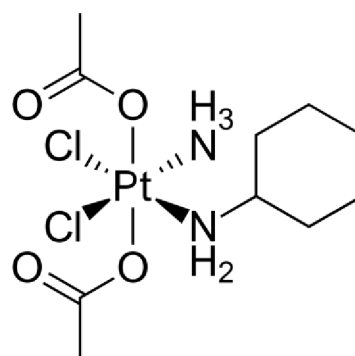
se být méně vystavená rezistenčním účinkům a během klinických studií prokázala obdivuhodnou účinnost v kombinaci s 5-fluorouracilem a leukovorinem.

V návaznosti vznikaly další typy Pt(II) komplexů, které se lišily id výše uvedených léčiv na bázi platiny. Patří sem např. pikoplatina (*cis*-amindichlorido-2-methylpyridinplatnatý komplex) s vysokou aktivitou vůči rakovinným buňkám rezistentním vůči cisplatině a karboplatině. Výhodou tohoto léku oproti předchozím je možnost podání intravenózně i perorálně, zejména v kombinaci s paclitaxelem.



Obrázek 5: Pikoplatina

Známým protinádorově aktivním komplexem na bázi platiny, tentokrát ovšem Pt(IV), je satraplatina, která se může podávat perorálně, přičemž byl prokázán značný odklon od progresivního průběhu nemoci. Klinické studie se satraplatinou a pikoplatinou odhalily podobnou toxickou dávku jako u karboplatiny bez známky nefrotoxicity či neurotoxicity. Poslední sloučenina, kterou zmíním je cisplatině příbuzná nedaplatina (*cis*-diammin-glykolatoplatnatý komplex), která byla schválena v Japonsku pro léčbu rakoviny hlavy, krku, vaječníků a plic [8,11].

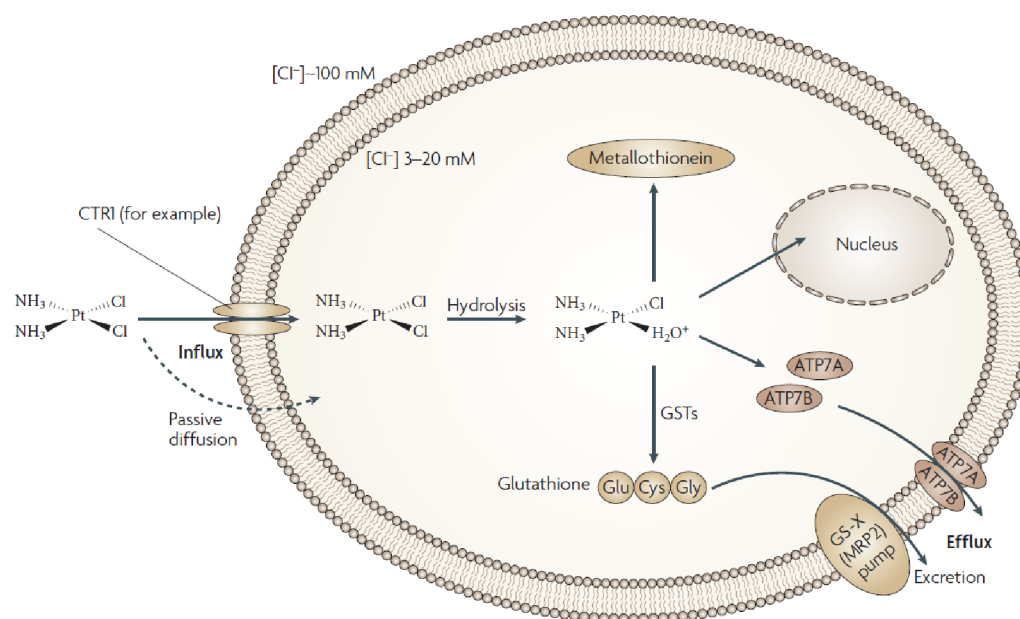


Obrázek 6: Satraplatina

2.3.4 Mechanismus účinku cisplatiny

Cisplatin a její analogy selektivně a trvale inhibují syntézu deoxyribonukleové kyseliny (DNA) buněk nehledě v jaké fázi buněčného cyklu jsou. Ušetřena je pouze ribonukleová kyselina (RNA) a syntéza některých proteinů [10]. Tato kapitola je velmi podstatná, protože právě pro vytvoření kompletní představy syntézy efektivnějších chemoterapeutik je nutná obecná znalost mechanismu účinku cisplatiny a vzniku rezistence na tato léčiva. Cisplatin působí intracelulárně. Do buňky se dostane pomocí transportérů (např. copper transporter 1, zkr. CTR1) nebo pasivně (difuzí). Hydrolyzou chloridových skupin cisplatiny tvoří svou chemicky reaktivní formu (tj. diammin-diaqua komplex), díky čemuž se aktivovaná cisplatin kovalentně váže na DNA – vzniká DNA adukt. Daná vazba cisplatiny na DNA způsobuje její deformaci, což nastartuje signálně-transdukční dráhy a činnost speciálních proteinů (např. MAPK8 nebo MAPK14), které zajišťují kontrolu růstu, diferenciaci a stresu buněk. V důsledku může dojít k zabránění replikace a transkripce deoxyribonukleové kyseliny,

zastavení buňky v G2 fázi buněčného cyklu a navození programované buněčné smrti (tzv. apoptózy) [11].



Obrázek 7: Obecné schéma mechanismu účinku a interakcí cisplatiny s buněčným prostředím

2.3.5 Rezistence nádorových buněk vůči účinkům cisplatiny

Jak bylo zmíněno, tak léčiva na bázi platiny se velmi často potýkají s rezistencí nádorových buněk vůči jejich účinku. Mluvíme o základních dvou typech rezistence – získaná (častá u pacientů s rakovinou vaječníků) a vrozená (častá u pacientů s rakovinou kolorekta nebo prostaty). Na základě mechanismu účinku popsaného výše může být rezistence způsobena buď nedostatkem CTR1 transportérů, a tím pádem se nedostatečné množství cisplatiny dostane do cílové buňky, nebo že ve výsledku nenastane buněčná smrt. Rezistentní buňky velmi často vykazují pleomorfní fenotyp obsahující změněné dráhy pro příjem léčiva, rozpoznání poškozené DNA a apoptózu [11]. Kelland uvádí čtyři možné strategie, jakým způsobem se může těmto rezistenčním účinkům předejít:

- 1.) syntézou nových a upravených léčiv
- 2.) úpravou způsobu dodání léčiv k rakovinným buňkám
- 3.) podáním léčiv společně s modulátory
- 4.) kombinací léčiv společně s molekulárně cílenými léčivy.

Předložená bakalářská práce spadá do první zmíněné strategie vývoje nových protinádorově aktivních sloučenin platinových kovů.

2.4 Protinádorové aktivní komplexy ostatních platinových kovů

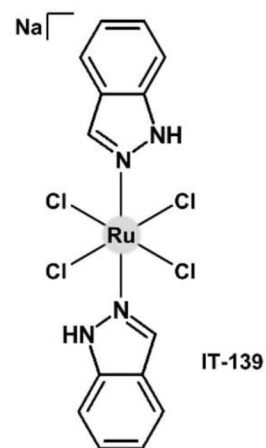
Žádná ze zmíněných alternativ cisplatiny nejevila takovou cytotoxickou aktivitu a efektivitu jako cisplatina sama. Mimo jiné léčbu provázely i značné vedlejší účinky společně s častou rezistencí, což dalo vznik dalším chemoterapeutikům na bázi komplexů jiných přechodných prvků nacházejících se v periodické soustavě prvků poblíž platiny (zlato, stříbro a ostatní platinové kovy) [8]. Již krátce po objevu protinádorových účinků cisplatiny byly chemoterapeutika nejprve na bázi ruthenia, později i osmia, navrženy pro léčbu rakoviny podobným způsobem jako komplexy platiny (tzn. za použití am(m)in a chlorido ligandů). U těchto neplatinových komplexů se předpokládalo, že cílí taktéž na molekulu DNA, jako tomu bylo u cisplatiny, avšak v následujících desítkách let bylo prokázáno, že protirakovinné účinky neplatinových chemoterapeutik (např. na bázi ruthenia) působí odlišným mechanismem účinku [12].

2.5 Biologicky aktivní komplexy ruthenia

Ruthenium může díky schopnosti tvořit stabilní oxidační stavy od -II až +VIII tvořit širokou škálu koordinačních sloučenin. Na rozdíl od platnatých komplexů, které jsou limitovány svou čtvercovou geometrií, mohou komplexy ruthenia tvořit oktaedrické struktury, což umožňuje navázání více organických ligandů [8,13]. Rosenberg se svým výzkumným týmem pozorovali sloučeninu [*trans*-Ru(NH₃)₄Cl(OH)]Cl [14], od které se odvíjely další studie (zpočátku se zmíněnými aminy a chlorido ligandy). Netrvalo dlouho a vědci začali soustředit svou pozornost na mechanismus účinku a interakce s buněčnými molekulami. Clark našel důkaz, že *trans*-[Ru(NH₃)₅Cl]Cl₂ může být redukován glutationem (GSH), případně mikrozomálními enzymy [15]. Bylo poprvé poukázáno na novou hypotézu aktivace Ru^{III+} komplexů – tzv. „activation-by-reduction“ hypotéza. Hypotéza je založena na faktu, že neaktivní Ru^{III+} komplexy jsou v reduktivním vnitrobuněčném prostředí redukovány na biologicky aktivní komplexy Ru^{II+}. Redukce v daném případě způsobuje snížení π -akceptorového charakteru kovu, a tím dochází k zvýšení lability π -donorových ligandů. Výsledkem je snazší hydrolýza takové molekuly a tím i její aktivace [12].

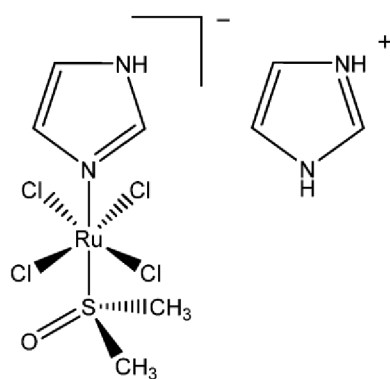
Jedna z nejúspěšnějších skupin Ru^{III} chemoterapeutik jsou komplexy obsahující ve své struktuře imidazol nebo indazol. Právě komplexy obsahující dusíkaté heterocyklické ligandy se staly zásadními pro následující rozvoj. Keppler byl jedním z prvních, kdo publikoval tento typ sloučenin. Jednalo se o KP418 (H₂Im){*trans*-[RuCl₄(HIm)₂]}, kde HIm je imidazol, vykazující

poměrně vysokou inhibici růstu nádorových buněk v těle myši, avšak na úkor rapidního úbytku tělesné hmotnosti a s 10 % úmrtností. Znatelný ústup vedlejších účinků přišel s látkou označovanou jako KP1019 o vzorci $(\text{H}_2\text{Ind})\{\text{trans}-[\text{RuCl}_4(\text{HInd})_2]\}$, kde HInd je indazol [16]. Posledním chemoterapeutikem této řady, které zde bude zmíněno, je IT-139, $\text{Na}\{\text{trans}-[\text{RuCl}_4(\text{HInd})_2]\}$ (zastarale NKP-1339) s vysokým potenciálem v kombinované léčbě, případně jako samotné léčivo v boji s rakovinou tlustého střeva. K roku 2017 bylo IT-139 stále v první fázi klinických studií s vysokou protinádorovou aktivitou a unikátním mechanismem účinku [12].



Obrázek 8: IT-139

Kromě komplexů s N-donorovými ligandy vznikaly také komplexy s S-donorovými ligandy, které byly studovány pro svou biologickou aktivitu. Známé sloučeninu $(\text{H}_2\text{Im})\{\text{trans}-[\text{RuCl}_4(\text{DMSO})(\text{HIm})]\}$ (NAMI-A; NAMI = Novel Anti-Tumor

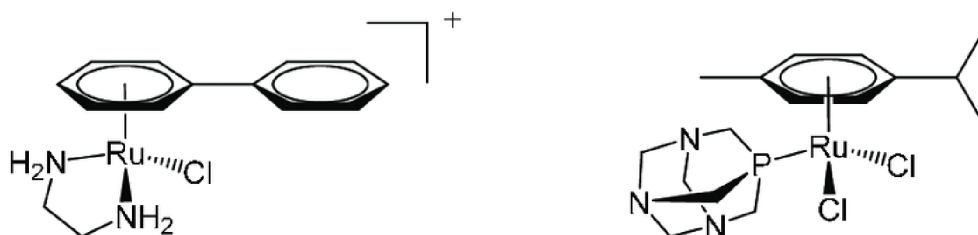


Obrázek 9: NAMI-A

Metastasis Inhibitor), kde kombinace dimethylsulfoxidu (DMSO) s imidazolem (HIm) způsobila zvýšení stability, dobrou rozpustnost a nezanedbatelnou inhibici spontánních metastáz oproti starším analogům, ale s žádným výrazným dopadem na primární nádor [17]. V případě NAMI-A se jedná o první chemoterapeutikum ruthenia, které bylo podrobeno klinickým studiím. Původně bylo jeho využití zamýšleno pro léčbu rakoviny plic v kombinaci s gemcitabinem. Studie byly ukončeny roku 2004 v první fázi [12].

Zatím jsem zmiňoval pouze Ru^{III} komplexy, pro jejichž aktivaci byla nutná redukce na oxidační stav Ru^{II} . Paralelně se vznikem této teorie o aktivaci komplexů se vědci snažili vyvinout komplexy v oxidačním stavu +II se záměrem přeskočit tento aktivační krok. S druhým mocenstvím se pojí slibná biologická aktivita a zároveň poměrně vysoká nestabilita, která se značně snížila použitím N-heterocyklů jako ligandů [12]. Reedijk jako první nasynthetizoval chirální komplex $[\text{Ru}(\text{azpy})_2\text{Cl}_2]$, kde azpy je 2-fenylazopyridin [18]. Předmětem dalších studií byl záměr komplexy Ru^{II} zkombinovat s organickými ligandy, obecně η^6 -areny, za vzniku tzv. organokovových polosendvičových sloučenin [8]. Dyson představil sloučeninu pod zkratkou RAPTA-C se vzorcem $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{pta})\text{Cl}_2]$, kde pcym je *p*-cymen a pta je 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan, prokazující degradaci DNA a rozpustnost ve vodě při nižších hodnotách pH [19]. Analogem k této sloučenině je RAPTA-T, která má ve své struktuře η^6 -koordinovaný toluen. Podobně jako

NAMI-A působí i RAPTA-C na plicní metastáze, ale neovlivňuje primární nádor. Vzhledem k rychlé hydrolyze RAPTA-C vzniklo několik derivátů těchto sloučenin s odstupujícími bidentátními dikarboxylato ligandy [12]. Dalšími byly organokovové komplexy na bázi diaminů, např. $[\text{Ru}(\eta^6\text{-bip})(\text{en})\text{Cl}]\text{PF}_6$ pod zkratkou RM175, kde en je 1,2-ethylen-diamin a bip je bifenyl. Zmíněný komplex sice nejevil křížovou rezistenci *in vivo* vzhledem k cisplatině, ale jeho aktivita byla poloviční, zhruba odpovídající karboplatině [20].



Obrázek 10: RM175 (vlevo) a RAPTA-C (vpravo)

2.5.1 Interakce komplexů na bázi ruthenia s biomolekulami

Účinek chemoterapeutik na bázi komplexů platinových kovů byl podobný jako v případě komplexů platiny samotné, tudíž se dlouhou dobu předpokládalo, že komplexy ruthenia působí obdobným mechanismem. V posledních dekáдах studie ukazují, že DNA nemusí být nutně jedinou cílovou molekulou těchto chemoterapeutik. Velmi často totiž komplexy platinových kovů tvoří koordinační vazby i s různými buněčnými proteiny a dalšími biomolekulami. Navzdory široké škále biofyzikálních a analytických metod je problematika mechanismu účinku těchto léčiv stále otevřená s mnoha otázkami [12]. Například u KP1019 bylo zjištěno, že tvoří koordinační vazby s proteiny a hydrofobně interaguje s HSA (Human serum albumin) za postupného vzniku koordinační vazby [21].

Dalším zajímavým léčivem je NAMI-A, které je jako Ru^{III} komplex společně s ostatními analogy aktivován redukcí, což pomáhá cílit na rakovinné buňky, protože hypoxické prostředí takovéto buňky podporuje redukcí kovového centra, čímž vzniká antiproliferační selektivita pro rakovinné buňky v porovnání s buňkami zdravými [22]. Právě hypoxické prostředí nádorů je zodpovědné za vyšší tvorbu reaktivní formy Ru^{II} , která se pevně váže na proteiny, což v důsledku zapříčiní buněčnou smrt [23]. U RAPTA-C byla pozorována zástava buněčného cyklu v G2 a M-fázi navozením apoptózy skrze mitochondriální dráhu a regulaci terminální kinázy. Novější studie také poukazovaly na tvorbu specifických aduktů s histonovými proteiny nukleosomů [24].

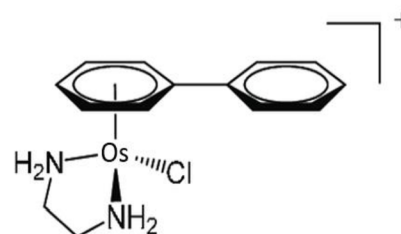
RM175 obsahuje ve své struktuře arenový substituent, který zajišťuje hydrofobní charakter umožňující difúzi skrze lipofilní cytoplazmatickou membránu buňky. Po proniknutí se před případným navázáním na DNA a ostatní proteiny aktivuje hydrolýzou monodentátně vázaného chlorido ligandu, čímž dojde ke zprostředkování volného místa pro vznik kovalentní vazby s N7 dusíkem guaninu na molekule DNA [25]. RM175 bylo podrobeno reakcemi s biologickými nukleofily typu cystein, methionin, histidin a cytochrom C, u kterých byla prokázána tvorba aduktů, avšak blíže se nepředpokládá, že jsou primárními cíli [26]. V dalších studiích se zkoumala interakce RM175 s glutathionem (GSH), který se podílí na detoxifikaci buňky. Ukázalo se, že GSH není schopný, na rozdíl od cisplatin, RM175 účinně vychytávat [27].

2.6 Biologicky aktivní komplexy osmia

Vznik prvních biologicky aktivních komplexů osmia byl úzce spjatý s výše zmiňovanými chemoterapeutiky ruthenia, zejména RAPTA-C, RM175, NAMI-A a KP1019. Typickou vlastností komplexních sloučenin osmia je nižší kinetická labilita, jejíž důsledkem je snížená, až dokonce potlačená, schopnost hydrolýzy vazby Os-Cl. Pokud k hydrolýze dojde, dané adukty bývají ve fyziologických podmínkách často neaktivní [12].

Analog NAMI-A obsahující ve struktuře osmium se jevil poměrně inertní a stabilní vůči hydrolýze ve vodném i fyziologickém prostředí [28]. *In vitro* studie poukázaly obecně na nižší míru cytotoxicity, ale v případě rakoviny tlustého střeva a prsou tomu bylo naopak v porovnání s NAMI-A [29]. Analogem KP1019, avšak v oxidačním stavu Os(IV), se stal *trans*-[Os(HInd)₂Cl₄], kde HInd je indazol. Koordinační vazba zmíněného ligandu k osmiu vykazovala pozoruhodnou stabilizaci díky tautomerii 2H-indazolu a byla prokázána podobná antiproliferační aktivita v případě rakovinných buněk vaječníků jako u KP1019. Na druhou stranu ale byla pozorovaná snížená schopnost hydrolýzy ve vodném prostředí [30].

Analogem RM175 byl komplex osmia vystupující pod zkratkou AFAP51, který vykazoval vyšší hydrolytickou stabilitu v porovnání s mateřským Ru(II) komplexem [31]. Navzdory těmto zjištěním prokázal tento Os(II) komplex schopnost tvořit vazby s DNA a projevil příznivou cytotoxickou aktivitu vůči nádorovým buňkám vaječníků vykazující rezistenci vůči cisplatině [32]. V dalších *in vitro*

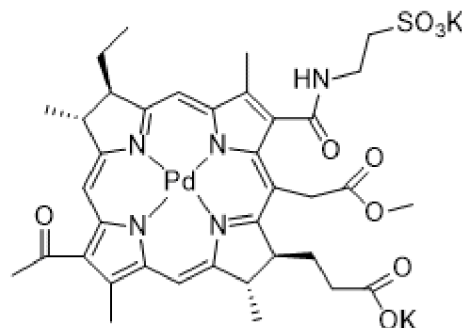


Obrázek 11: AFAP51

studiích byla pozorována zvýšená aktivita vůči buňkám rakoviny prsou v porovnání s RM175, ale *in vivo* se jevil jako neaktivní [33].

2.7 Biologicky aktivní komplexy palladia

Palladium je prvek, který se nachází v 10. skupině PSP společně s niklem a platinou. Palladium jako takové upřednostňuje odlišnou elektronovou konfiguraci než platina (d^{10}), čímž se u organopalladnatých komplexů objevuje vyšší termodynamický potenciál pro reduktivní eliminaci, než tomu je u organoplatnatých komplexů [34]. Jelikož palladium není hlavním předmětem této bakalářské



Obrázek 12: WST-11

práce, bude u něj zmíněn pouze jeden pozoruhodný komplex vyskytující se pod zkratkou WST-11, také nazýván padeliporfin, který je již k dnešnímu dni schválen k léčbě v onkologické praxi pro léčbu rakoviny prostaty. Jedná se o palladiem substituovaný derivát bakteriochlorofylu. Svoji proliferační aktivitu vykazuje zejména, když je nádor vystavován laserovému záření za tvorby ROS. Tato metoda léčby nádoru má zkratku VTP (z angl. Vascular-Targeted Photodynamic Therapy) [35].

2.8 Polosendvičové komplexy rhodia a iridia

S polosendvičovými komplexy jsme se mohli setkat již výše v řadě biologicky aktivních komplexů osmia a ruthenia. Jedná se obecně o organokovové sloučeniny, které mají ve své struktuře centrální kovový atom, na který je navázán jeden aromatický ligand. V případě komplexů ruthenia a osmia se jedná o ligand arenový, u rhodia a iridia pak jde o záporně nabitý arenový ligand. Tento typ komplexů má své přednosti z hlediska svých farmakologických vlastností. Jedná se převážně o rozpustnost, stabilitu a míru lipofilního charakteru. Nejčastěji studované polosendvičové Rh(III) a Ir(III) komplexy zahrnují ve své struktuře, vedle zmíněného arenového ligandu, ještě bidentátní ligand a monodentátní ligand (velmi často chloridový), který je důležitý pro hydrolytickou aktivaci a interakce s biomolekulami. Jedním z používaných bidentátních N,N-ligandů jsou deriváty benzimidazolu [2]. Benzimidazol (bzim) a jeho deriváty jsou jedny z nejběžněji používaných aromatických heterocyklů v USA používající se např. pro léčbu vysokého krevního tlaku [36] a zejména substituované bzim deriváty v poloze 2 vykazovaly náznaky protirakovinné aktivity [37]. Azoskupina navázaná na

heterocyklické systémy se ukázala jako vysoce biologicky aktivní, zejména v rámci interakcí s širokou škálou biomolekul [2].

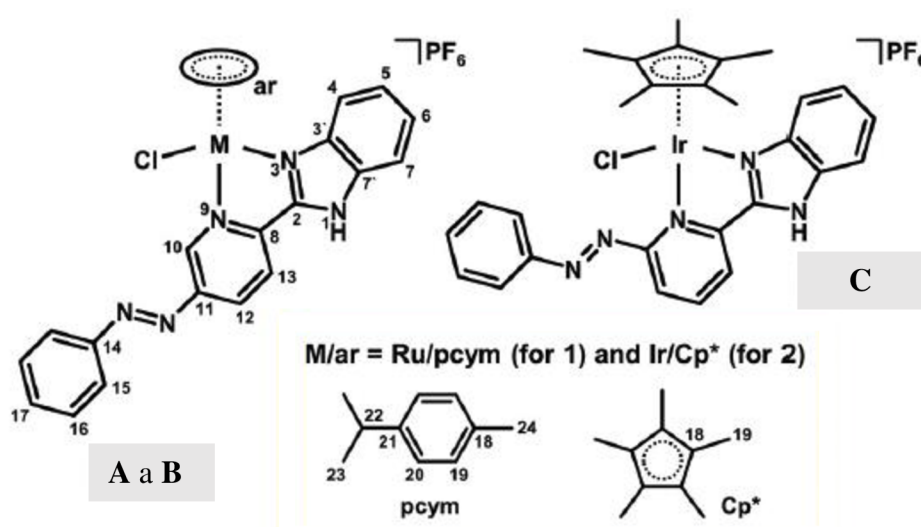
Polosendvičové komplexní sloučeniny mají značně vyšší potenciál v boji proti mnoha typům rakovinných buněk než cisplatina. Jejich mechanismus účinku není opět zcela prozkoumán, ale předpokládá se, že tyto látky míří jak na DNA, tak také interagují s biomolekulami v lidských nádorových buňkách [38]. Obecně se chovají jako biokatalyzátory - např. Ir^{III} a Rh^{III} komplexy katalyzují redukci NAD⁺ na NADH za vzniku Ir-H částice [39]. Na základě této interakce může dále docházet k produkci H₂O₂ a reaktivních forem kyslíku (ROS). Tyto komplexy by tedy mohly fungovat jako katalytické léky a mohou být velmi efektivní protirakovinná léčiva se slibnými bioorganickými interakcemi typu inhibice enzymů, produkce ROS, oxidace purinů a fotoaktivace [38]. Právě produkce Ir-H aduktů může být inhibována v přítomnosti GSH za oxidace GSH na GSSG, což navozuje redoxní metabolismus buňky. Bylo také zjištěno, že GSH působí na dvojnou vazbu mezi dusíky azopyridinového ligandu, což se zdá být klíčovým mechanismem pro jeho aktivaci [40]. Velmi zajímavým zjištěním byla skutečnost, že Ir/NADH systém dokáže redukovat pyruvát na laktát při absenci laktátu dehydrogenázy, což je enzym přirozeně katalyzující tuto reakci [41].

2.8.1 Iridium

První sloučeniny iridia byly vyvinuty a testovány již krátce po objevu cisplatiny, a to především v oxidačním stavu +I [42]. Jako takové nabývaly obecný vzorec [Ir(chel)(L-L)], kde chel byl pyridinalimin (N-N-R) nebo acetylaceton a L-L byl 1,5-hexadien nebo 1,5-cyklooktadien [43]. V dnešních výzkumech se velmi nadějnými strukturami jeví pentamethylcyklopentadienylové polosendvičové Ir(III) komplexy obsahující ve struktuře zpravidla bidentátní dusíkatý heterocyklický ligand (L). Tento komplex můžeme obecně znázornit vzorcem [Ir(η^5 -Cp*)(L)Z], kde L ligand zvyšuje stabilitu komplexu a Z je odstupující skupina, nejčastěji chloro ligand. Negativně nabitý Cp* ligand vázaný k centrálnímu atomu π -vazbou ovlivňuje stabilitu ostatních ligandů modifikacemi elektronové hustoty na centrálním atomu, interakci s biomolekulami a případně zvyšovat jeho hydrofobní charakter, a tudíž i absorpci celého komplexu do buňky [38]. Pentamethylcyklopentadienylový kruh bývá velmi často rozšířen o fenyl či bifenyl, což může značně zpomalit hydrolyzu a naopak zvýšit její rozsah. Pokud by hydrolyza proběhla příliš rychle, mohl by komplex podléhat různým vedlejším redoxním reakcím, čímž by se snížil účinek tohoto potenciálního léčiva v boji s rakovinou. Obecně se chloridový ligand rychle hydrolyzuje, proto vznikly i jiné analogy s jodidovým ligandem. Komplexy, ve kterých se nachází místo chloro ligandu jodidový

odstupující ligand, se jeví v případě lidské rakoviny plic účinnější než cisplatina a není pozorována křížová rezistence [40].

V předešlých studiích vykazovaly komplexy obsahující fenylo-azopyridinové ligandy zajímavé interakce s buněčnými antioxidanty, např. glutationem (GSH) [44]. Na základě toho začalo značně přibývat komplexů struktury $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{N},\text{N})\text{Cl}]^+$, kde N,N jsou chelatující bidentátní ligandy jako silné π -akceptory. V souvislosti s předloženou bakalářskou prací zde zmíníme sérii komplexů $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{aza3})]\text{PF}_6$ (**A**), $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}(\text{aza3})]\text{PF}_6$ (**B**) a $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$ (**C**), kde aza2/3 je 2- $\{n\text{-}[(E)\text{-fenyldiazenyl}]\text{pyridin-2-yl}\}$ -1H-benzimidazol vystupující jako bidentátní N-donorový ligand (pro aza3 $n = 5$ a pro aza2 $n = 6$).



Obrázek 13: Obecné strukturní vzorce pro polosendvičové komplexy **A**, **B** a **C**

Poloha azo skupiny zde byla navržena tím způsobem, aby zasahovala mimo chelatující kruh ligandu za předpokladu, že bude lépe přístupná pro interakce s biomolekulami. Můžeme podle pozice azo skupiny rozlišit u sloučenin **B** a **C** dva izomery. Bylo pozorováno, že sloučenina **C** se jevila jako stabilnější než izomer **B** a komplex **A**. Poloha azo skupiny tudíž zastává nezaměnitelnou roli v dopadu na konečné vlastnosti komplexu, ať už se jedná o hydrolýzu či vlastnosti v rozpouštědle. Byly sledovány interakce komplexu **C** s BSA, GSH a samozřejmě NADH. Poprvé v případě polosendvičových komplexů byly studovány také interakce s kyselinou askorbovou (ASA). Výsledkem reakce sloučeniny **C** s ASA byla redukce azo skupiny a oxidace ASA na DHA (dehydroaskorbát). K podobnému výsledku vedla i reakce s NADH za vzniku NAD^+ . Nicméně při reakci s GSH došlo k rozložení původního komplexu za vzniku Ir^{II} a uvolnění ligandu aza2, jako redoxně aktivní částice, což způsobilo redukcí

komplexů byla taktéž pozorována *in vitro* aktivita srovnatelná s cisplatinou (zejména v případě rakoviny močového měchýře) [8].

Roku 2006 byly syntetizovány první komplexy v oxidačním stavu +III obsahující ve své struktuře arenylový ligand. Jedná se o komplex $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{pta})\text{Cl}_2]$ strukturálně připomínající sloučeninu RAPTA-C [47]. Vědci se snažili od této sloučeniny odvodit nové analogy, které by mohly jevit vyšší aktivitu, ale mnohdy se opak stával pravdou. Průlom nastal až o pár let později, kdy Sheldrick s výzkumným týmem vytvořil komplex s bidentátním ligandem polypyridilu (pp) ve sloučenině $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{pp})\text{Cl}]\text{CF}_3\text{SO}_3$ a její analogy s S-donorovými ligandy místo Cl^- . Tyto sloučeniny vykazovaly nadějně míry aktivity vůči rakoviny prsou a tlustého střeva [48], na jejichž základě vznikly komplexy s ligandy 2-(1*H*-pyrazol-3-yl)benzothiazol (pbbt) a 3-(2-pyridyl)-5-(4-pyridyl)-1,2,4-triazol (ppt) [3]. Za zmínku stojí $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{bph}})(\text{py})(\text{bqui})]\text{NO}_3$, kde bqui je benzochinolin a py je pyridin, který měl vyšší aktivitu než cisplatina, avšak jeho možnost akumulace v A549 nádorových buňkách byla několikrát nižší [49]. Nyní se opět vrátíme ke komplexu analogickým svým ligandem pta sloučenině RAPTA-C, a to $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{pta})(\text{hq})]\text{CF}_3\text{SO}_3$, kde hq je hydroxychinolin. Tento komplex prokázal v boji s rakovinou kolorekta, plic a tlustého střeva vyšší účinnost než samotná RAPTA-C s rutheniem nebo osmiem [50]. V recentních článcích vznikají komplexy $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{pta})(\text{cur})]\text{CF}_3\text{SO}_3$ obsahující ve své struktuře kurkumin (cu) jako ligand [51] nebo také jodido komplexy $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{dpa})\text{I}]\text{PF}_6$, kde dpa je 2,2'-dipyridylamin, prokazující značnou cytotoxicitu [52].

Rhodium se na základě svých vysokých hodnot protirakovinné aktivity vyrovnává svým Ru(II), Os(II) a Ir(III) sousedním platinovým prvkům, ne-li je ve svých vlastnostech předbíhá, tudíž se jedná o ideální centrální atom pro další studia. Do roku 2023 stále nevyšla žádná studie přesně objasňující účinek zmíněných protirakovinných léčiv na bázi polosendvičových komplexů platinových kovů, což dává prostor mnoha vědeckým asociacím se o tento mechanismus zajímat. Neustále se syntetizují nové komplexy, na kterých se testují různé interakce s buněčnými organely a biomolekulami. Například výše zmíněný komplex $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{pp})\text{Cl}]\text{CF}_3\text{SO}_3$ působil na mitochondrie a zahajoval apoptózu doprovázenou vysokou koncentrací ROS v leukemických buňkách Jurkat [53]. Působením na mitochondriální organely a zvýšení tvorba ROS byla pozorována i u ostatních organokovových komplexů rhodia. Samozřejmě se setkáváme i s případy, kdy určité komplexy cílí na molekulu DNA, což má za výsledek apoptózu buňky. Nicméně se předpokládá, že dochází k odlišnému způsobu navázání, než dochází u ruthenia a osmia [3]. Komplexy typu $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^x)(\text{L})\text{Cl}]\text{PF}_6$ v buňce katalyzují redukci NAD^+ na NADH a pyruvátu na laktát za vzniku Rh-H aduktů [54].

3 PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Použité chemikálie a přístroje

Chemikálie: hydrát chloridu rhoditého a iriditého ($\text{RhCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$; $\text{IrCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), 1,2,3,4,5-pentamethyl-1,3-cyklopentadien, 1-fenyl-2,3,4,5-tetramethyl-2,4-cyklopentadien, 1-bifenyl-2,3,4,5-tetramethyl-2,4-cyklopentadien, dimery typu: $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Os}$ nebo Ru) nebo $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-Cp}^x)\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Rh}$ nebo Ir ; $\text{Cp}^x = \text{Cp}^*$, Cp^{Ph} nebo Cp^{bPh}), 2-{6-[(*E*)-fenyldiazenyl]pyridin-2-yl}-1*H*-benzimidazol, NH_4PF_6 , methanol, hexan, diethylether, dichlormethan.

Hmotnostní spektrometrie MeOH nebo MeCN roztoků studovaných látek byla provedena v přístroji LCQ Fleet (Thermo Scientific) pomocí ionizace elektrosprejem v pozitivním (ESI^+) módu. Následně byla hmotnostní spektra interpretována programem QualBrowser (verze 2.0.7, Thermo Fischer Scientific).

Vysokoučinná kapalinová chromatografie na obrácené (reverzní) fázi (RP-HPLC) spojená s ESI^+ hmotnostní spektrometrií byla provedena na zařízení UHPLC-MS (Dionex/Thermo Fisher Scientific) za použití kolony s C18 stacionární fází (velikost pórů 5 μm , 120 Å, 2,1 \times 50 mm). Jako mobilní fáze byla použita směs 0,1% kyseliny mravenčí v H_2O (A) a MeCN (B) s gradienty 20 % B ($t = 0$ min), 80 % B ($t = 15$ min), 80 % B ($t = 20$ min), 20 % B ($t = 21$ min) a 20 % B ($t = 30$ min) po dobu 30 min (průtok 0,4 ml min^{-1}). Vlnová délka detekce byla 254 nm.

Infračervené spektrum bylo naměřeno pomocí přístroje Nexus 670 FT-IR (Thermo Nicolet) v rozsahu vlnočtů 400 – 4000 cm^{-1} s využitím techniky ART.

^1H NMR spektroskopie byla provedena na 400 MHz NMR spektrometru firmy Varian. Látky byly rozpuštěny v $\text{DMSO-}d_6$ nebo v $\text{DMF-}d_7$.

3.2 Příprava sloučenin

Obsahem dané kapitoly je příprava určitých dimerních sloučenin [55], posléze také obecný postup pro přípravu jednotlivých komplexních sloučenin [2], podle kterých jsem během syntézy postupoval.

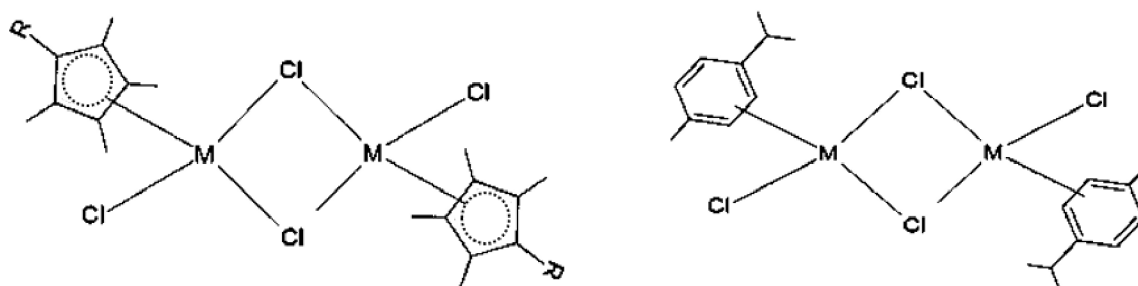
3.2.1 Příprava výchozích dimerních sloučenin

$[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}]_2$ byl připravený rozpuštěním $\text{IrCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (0,50 g) v 10 ml methanolu. Následně byl přidán 1,2,3,4,5-pentamethyl-1,3-cyklopentadien (0,67 ml). Reakce byla prováděna v mikrovlnném syntetizátoru při 140 °C po dobu 5 minut. Po proběhnutí reakce

byl produkt odsát na fritě a promyt hexanem. Připravený dimer tmavě oranžové barvy byl vysušen v exsikátoru pod sníženým tlakem.

$[\text{Rh}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^{\text{Ph}})\text{Cl}]_2$ byl připravený rozpuštěním $\text{RhCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (0,50 g) v 5 ml methanolu. Následně byl přidán 1-fenyl-2,3,4,5-tetramethyl-2,4-cyklopentadien (0,53 ml). Reakce byla opět provedena v mikrovlnném syntetizátoru při 140 °C po dobu 3 minut. Po proběhnutí reakce byl produkt odsán na fritě a promyt hexanem. Oranžově zbarvený produkt byl vysušen v exsikátoru pod sníženým tlakem.

$[\text{Rh}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^{\text{bPh}})\text{Cl}]_2$ byl připravený rozpuštěním $\text{RhCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (0,50 g) v 10 ml methanolu. Následně byl přidán 1-bifenyl-2,3,4,5-tetramethyl-2,4-cyklopentadien (0,78 g). Reakce byla provedena v mikrovlnném syntetizátoru při 140 °C po dobu 3 minut. Po proběhnutí reakce jsem produkt odstředil, promyl methanolem, posléze ethyletherem a nechal vysušit v exsikátoru pod sníženým tlakem.



Obrázek 15: Obecný strukturní vzorec výchozích dimerů vlevo $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^{\text{x}})\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Rh}$ nebo Ir , $\text{R} = \text{CH}_3$, fenylyl nebo bifenyl) a vpravo $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Ru}$ nebo Os)

Další použité dimerní sloučeniny $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Ru}$ nebo Os), $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^{\text{Ph}})\text{Cl}]_2$, $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^{\text{bPh}})\text{Cl}]_2$ a $[\text{Rh}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^{\text{*}})\text{Cl}]_2$ byly poskytnuty vedoucím práce společně s bidentátním aza2 ligandem.

3.2.2 Příprava vlastních komplexů

Obecná příprava komplexů spočívala v reakci 0,05 mmol $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Os}$ nebo Ru) nebo $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-Cp}^{\text{x}})\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Rh}$ nebo Ir ; $\text{Cp}^{\text{x}} = \text{Cp}^{\text{*}}$, Cp^{Ph} nebo Cp^{bPh}) s 0,10 mmol 2-{6-[(*E*)-fenyldiazonyl]pyridin-2-yl}-1*H*-benzimidazolem v 5 ml methanolu. Směs reagovala v mikrovlnném syntetizátoru při 100 °C po dobu 3 minut. Po zreagování byl roztok za tepla zfiltrován, do směsi bylo přidáno 0,25 mmol NH_4PF_6 za stálého míchání a vhánění plynného dusíku až do vysrážení oranžových až červených produktů. Separacími metodami

(odstředěním) byly získány komplexy, které byly promyty (vodou, methanolem a diethyletherem) a vysušeny v exikátoru za sníženého tlaku. Komplex **3** byl již připraven dříve a je součástí článku [2].

[Ru(η^6 -pcym)Cl(aza2)]PF₆ (1) a **[Os(η^6 -pcym)Cl(aza2)]PF₆ (2)** byly připraveny podle syntézy výše, jelikož docházelo k jejich rozpadu a nebyly izolovatelné, tak byly podrobeny pouze hmotnostní spektrometrii a další analytické metody se již na nich neprováděly (viz Výsledky a diskuze).

[Ir(η^5 -Cp*)Cl(aza2)]PF₆ (3): výtěžek: 80,5 % (vypočteno pro C₂₈H₂₈N₅ClPF₆Ir). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ 8,65 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 8,58 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 8,12 (d, $J = 7,0$, 1H), 8,03 (m, 2H), 7,91 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,76 (m, 4H), 7,59 (m, 2H), 1,47 (s, 15H).

[Ir(η^5 -Cp^{Ph})Cl(aza2)]PF₆ (4): výtěžek: 29,5 % (vypočteno pro C₃₃H₃₀N₅ClPF₆Ir). Hmotnostní spektrometrie (ESI+, m/z): 724,1 (724,2; [Ir(Cp^{Ph})(aza2)Cl]⁺), 688,3 (688,2; {[Ir(Cp^{Ph})(aza2)]-H}⁺). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ 8,67 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 8,60 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 8,17 (d, $J = 7,8$, 1H), 8,01 (m, 2H), 7,86 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,75 (m, 5H), 7,52 (m, 4H), 7,15 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,98 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 1,75 (s, 3H), 1,41 (s, 9H). FTIR ($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): 522, 537, 557, 693, 705, 717, 739, 753, 765, 814, 840, 878, 1004, 1104, 1150, 1186, 1233, 1278, 1314, 1334, 1388, 1430, 1454, 1482, 1499, 1560, 1594, 1606, 2778, 2927, 2973, 3055, 3461, 3528, 3600, 3651.

[Ir(η^5 -Cp^{bPh})Cl(aza2)]PF₆ (5): výtěžek 46,3 % (vypočteno pro C₃₉H₃₄N₅ClPF₆Ir). Hmotnostní spektrometrie (ESI+, m/z): 800,2 (800,2; [Ir(Cp^{bPh})(aza2)Cl]⁺), 764,3 (764,2; {[Ir(Cp^{bPh})(aza2)]-H}⁺). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ 8,68 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 8,60 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 8,16 (d, $J = 7,8$, 1H), 8,00 (m, 2H), 7,86 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,76 (m, 9H), 7,47 (m, 4H), 7,16 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,07 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,44 (s, 9H). FTIR ($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): 435, 480, 500, 557, 690, 738, 751, 765, 811, 842, 943, 1001, 1028, 1087, 1106, 1148, 1187, 1198, 1233, 1274, 1299, 1313, 1329, 1388, 1426, 1453, 1483, 1524, 1558, 1591, 1606, 1927, 2776, 2918, 2973, 3060, 3406, 3599, 3631, 3651, 3678, 3737.

[Rh(η^5 -Cp*)Cl(aza2)]PF₆ (6): výtěžek: 87,2 % (vypočteno pro C₂₈H₂₈N₅ClPF₆Rh). Hmotnostní spektrometrie (ESI+, m/z): 571,9 (572,1; [Rh(Cp*) (aza2)Cl]⁺), 536,0 (536,1; {[Rh(Cp*) (aza2)]-H}⁺). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ 8,63 (m, 2H), 8,15 (dd, $J = 7,0, 2,4$, 1H), 8,08 (m, 2H), 7,91 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,79 (m, 4H), 7,57 (m, 1H), 7,28 (m, 1H), 1,47 (s, 15H). FTIR ($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): 439, 557, 688, 739, 750, 764, 774, 815, 836, 1018, 1080, 1150, 1197, 1232, 1298, 1325, 1380, 1420, 1443, 1478, 1567, 1605, 2767, 2919, 2992, 3056, 3408, 3493, 3622.

[Rh(η^5 -Cp^{Ph})Cl(aza2)]PF₆ (7): výtěžek: 58,3 % (vypočteno pro C₃₃H₃₀N₅ClPF₆Rh).
Hmotnostní spektrometrie (ESI⁺, *m/z*): 633,9 (634,1; [Rh(Cp^{Ph})(aza2)Cl]⁺), 598,1 (598,2; {[Rh(Cp^{Ph})(aza2)]-H}⁺). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ 8,67 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,60 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 8,17 (d, *J* = 7,8, 1H), 8,01 (m, 2H), 7,86 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,75 (m, 5H), 7,52 (m, 4H), 7,15 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 1,75 (s, 3H), 1,41 (s, 9H). FTIR ($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): 409, 434, 460, 503, 517, 533, 556, 574, 586, 611, 647, 665, 694, 707, 740, 752, 767, 836, 876, 941, 1006, 1093, 1151, 1186, 1230, 1298, 1314, 1326, 1386, 1425, 1453, 1476, 1593, 1603, 2769, 2928, 2972, 3059, 3364, 3649.

[Rh(η^5 -Cp^{bPh})Cl(aza2)]PF₆ (8): výtěžek: 22,7 % (vypočteno pro C₃₉H₃₄N₅ClPF₆Rh).
Hmotnostní spektrometrie (ESI⁺, *m/z*): 709,9 (710,2; [Rh(Cp^{bPh})(aza2)Cl]⁺), 674,1 (674,2; {[Rh(Cp^{bPh})(aza2)]-H}⁺). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ 8,68 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 8,60 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 8,16 (d, *J* = 7,8, 1H), 8,00 (m, 2H), 7,86 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,76 (m, 9H), 7,47 (m, 4H), 7,16 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,07 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,44 (s, 9H). FTIR ($\nu_{\text{ATR}}/\text{cm}^{-1}$): 435, 529, 556, 590, 611, 634, 691, 734, 750, 765, 811, 828, 943, 1001, 1085, 1106, 1148, 1197, 1232, 1280, 1299, 1313, 1327, 1387, 1425, 1453, 1479, 1563, 1594, 1921, 1981, 2324, 2776, 2919, 3059, 3374, 3599.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Bakalářská práce navazuje na nedávno zveřejněný článek pracovníků katedry anorganické chemie Univerzity Palackého, který pojednává o sérii tří komplexů $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{aza3})]\text{PF}_6$, $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}(\text{aza3})]\text{PF}_6$ a $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$, kde aza3 a aza2 jsou 2- $\{n\text{-}[(E)\text{-phenyldiazenyl}]\text{pyridin-2-yl}\}$ -1*H*-benzimidazole lišící se v poloze azo skupiny ($n = 5, 6$). Tyto komplexy přinesly zajímavé výsledky při zkoumání jejich interakcí s biomolekulami a prokázaly jistou úroveň antiproliferativní aktivity. Cílem bakalářské práce bylo vytvořit sérii polosendvičových komplexů platinových kovů podle výše zmíněných syntetických postupů s obecným vzorcem $[\text{M}(\eta^{5/6}\text{-ar})\text{Cl}(\text{aza2})]^+$ obsahujícím N,N-donorovým azo ligand odvozený od 2-pyridin-1*H*-benzimidazolu (aza2). Jako centrální atom (M) byly zvoleny platinové kovy ruthenium a iridium jako tomu bylo ve zmíněném článku a pro úplnost se série doplnila o osmium a rhodium, které jsou schopné tvořit strukturně podobné sloučeniny. Pro osmium a ruthenium jsem jako ar použil derivát benzenu, *p*-cymen, a pro rhodium a iridium ar značí 1,2,3,4,5-pentamethyl-1,3-cyklopentadienyl (Cp^*) a jeho modifikované struktury o fenyly (Cp^{Ph}) nebo bifenyly (Cp^{bPh}). Nasyntetizované komplexy (viz Tabulka 1) byly dle situace podrobeny vhodným analytickým metodám.

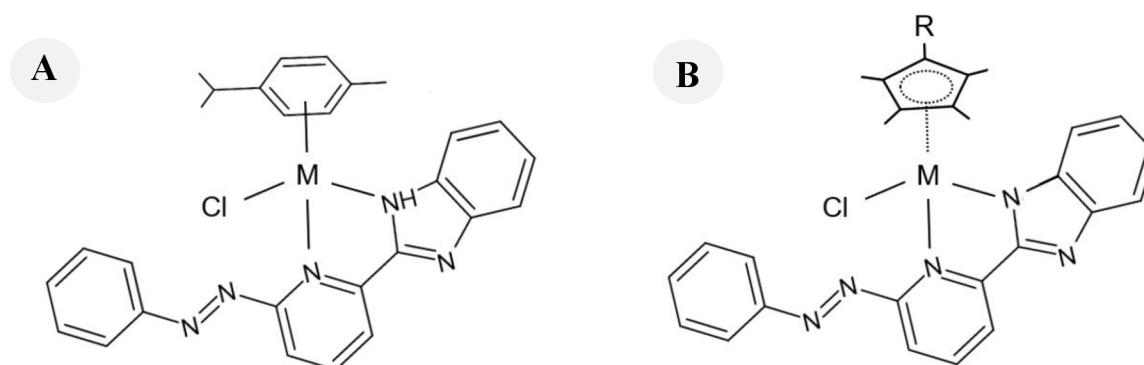
Tabulka 1: Přehled připravených $[\text{M}(\eta^{5/6}\text{-ar})\text{Cl}(\text{aza2})]^+$ komplexů

Komplex	Strukturní vzorec	M	ar
(1)	$[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$	Ru	pcym
(2)	$[\text{Os}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$	Os	pcym
(3)	$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$	Ir	Cp^*
(4)	$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{Ph}})\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$	Ir	Cp^{Ph}
(5)	$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{bPh}})\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$	Ir	Cp^{bPh}
(6)	$[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$	Rh	Cp^*
(7)	$[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{Ph}})\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$	Rh	Cp^{Ph}
(8)	$[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{bPh}})\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$	Rh	Cp^{bPh}

Komplex (1) a (2) si jsou velmi podobné svou strukturou a ukázaly nám také podobné výsledky. Po zreagování dimeru $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Os}$ nebo Ru) s ligandem 2- $\{6\text{-}[(E)\text{-fenyldiazenyl}]\text{pyridin-2-yl}\}$ -1*H*-benzimidazolem jsme pozorovali zelené zbarvení roztoku, což pro polosendvičové Ru(II) a Os(II) sloučeniny není typické a obecně indikuje

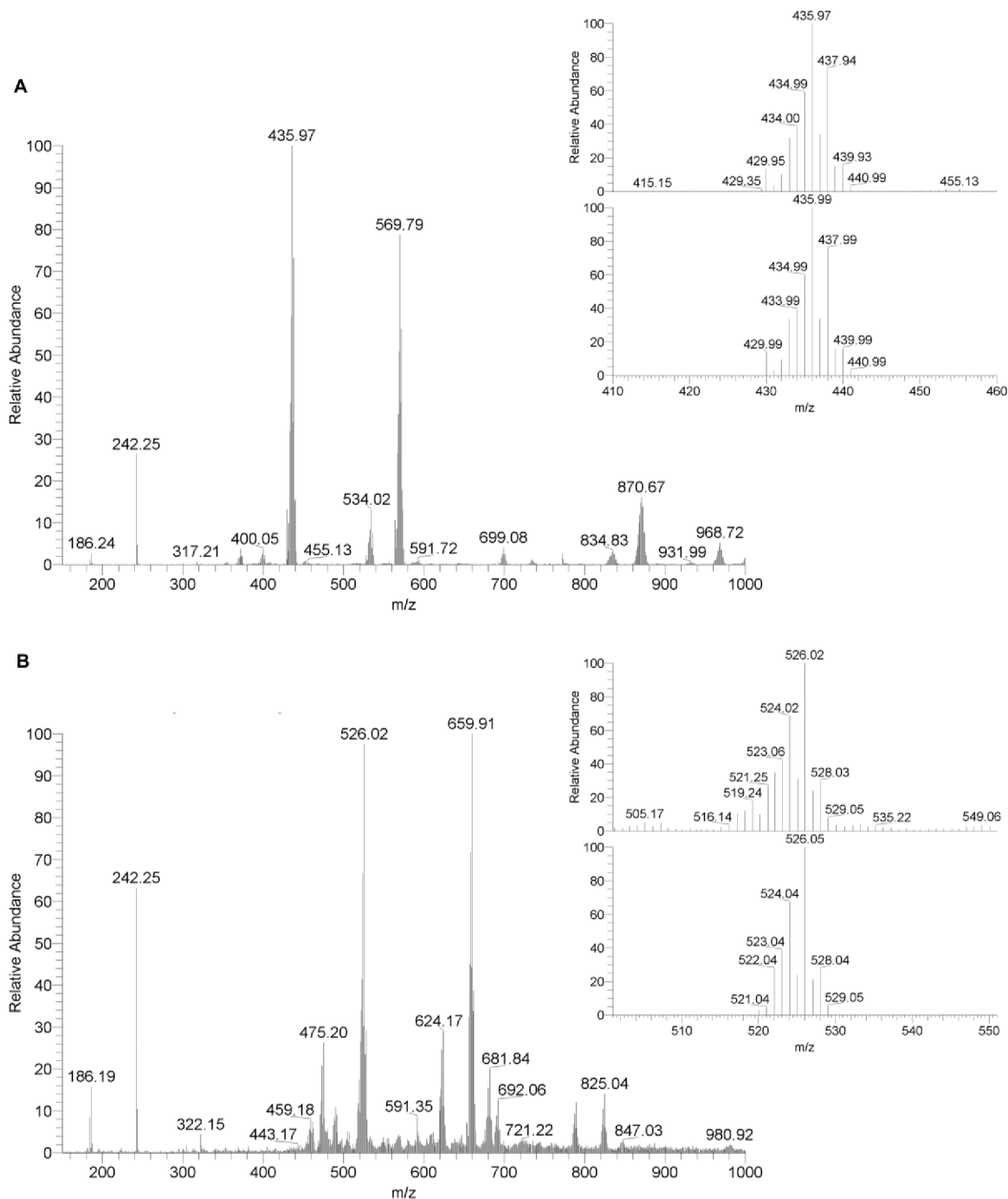
nežádoucí oxidaci Ru(II) a Os(II), které jsou typicky oranžové, na oxidační stav +III. Toto bylo pozorováno i po úpravách syntetických podmínek - komplexy **1** a **2** tedy nebyly připraveny. Následně provedli analýzu hmotnostním spektrometrem (viz níže).

U komplexů **3–8** jsme se s danou situací nesetkali. Byla úspěšně nasyntetizována série šesti produktů, které jsme podrobili všem analytickým metodám a výsledky okomentovali níže. Během reakce jsme u těchto komplexů nepozorovali žádné komplikace, po zreagování dimeru s ligandem v mikrovlnném syntetizátoru se jednalo vesměs o oranžové až červené roztoky, které byly přefiltrovány a následně byl přidán NH₄PF₆ došlo k precipitaci sraženiny oranžové až oranžovo-červené barvy, po čemž jsme následně provedli promývací (promytí vodou, methanolem a diethyletherem) a vysušovací metody (exikátor za sníženého tlaku).



Obrázek 16: Obecné strukturální vzorce studovaných komplexů **1** ($M = Ru$) a **2** ($M = Os$) (vzorec A), a komplexům **3–5** ($M = Ir$, $R = CH_3$ pro **3**, fenyl pro **4**, bifenyl pro **5**) a **6–8** ($M = Rh$, $R = CH_3$ pro **6**, fenyl pro **7**, bifenyl pro **8**) (vzorec B).

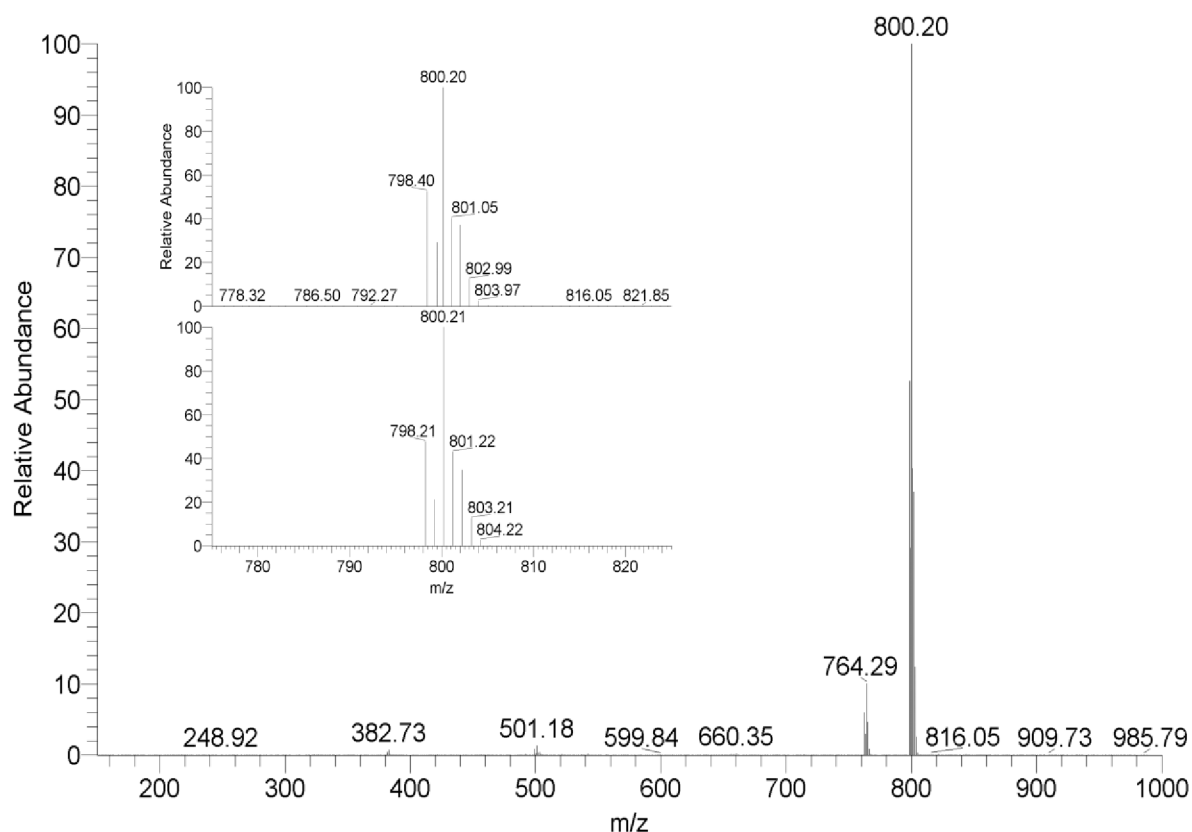
Komplex **1** a **2** byly analyzovány hmotnostní spektrometrií, kde jsme detekovali nežádoucí rozpad produktu, což i na základě zbarvení přisuzujeme zoxidování Ru(II) a Os(II) na oxidační stav +III. Pro komplexy **1** a **2** byly společně s očekávanými signály komplexního kationtu [M(pcy)(aza2)Cl]⁺ detekovány také signály produktu rozpadu, konkrétně částic [M(aza2)Cl]⁺ (Ru – 436,0, Os – 526,0; viz Obrázek 17), které vznikají odštěpením arenového ligandu (pcym) ze vzniklého komplexního kationtu.



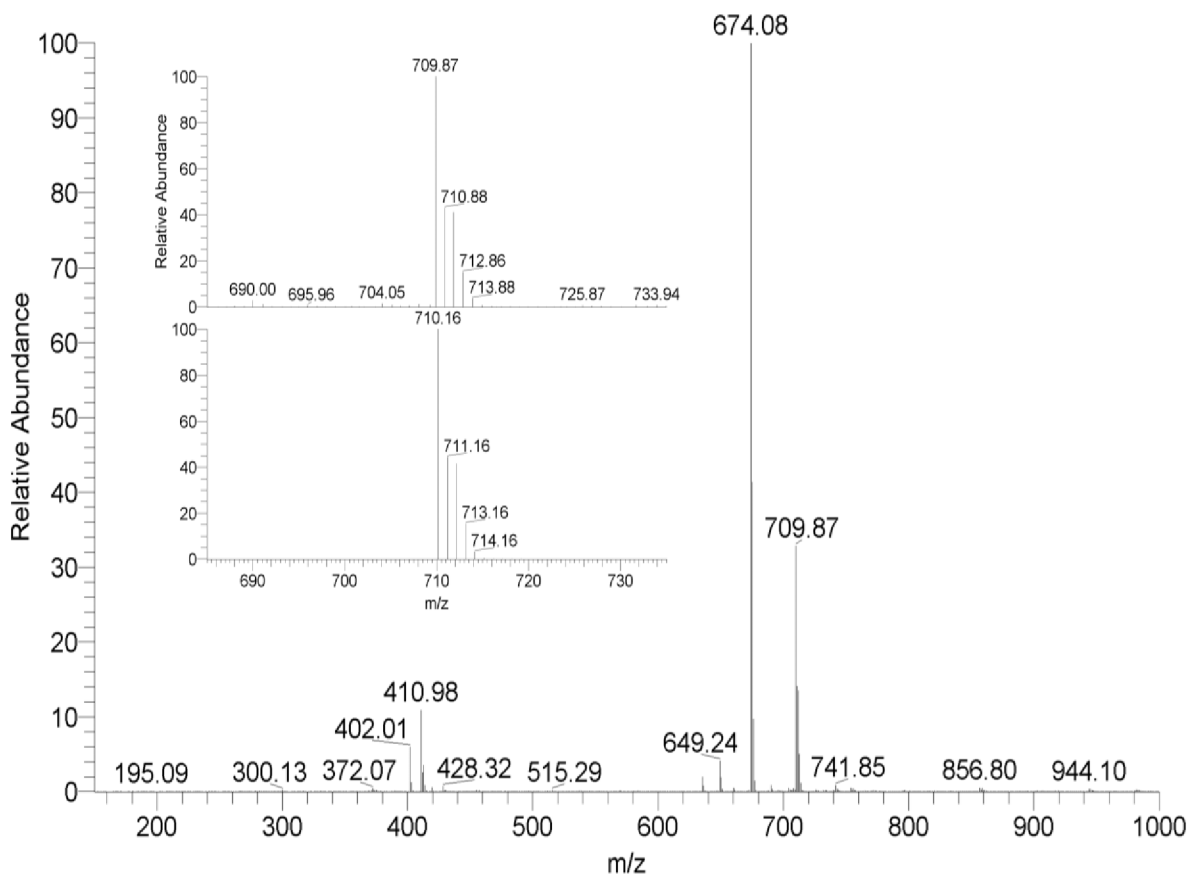
Obrázek 17: ESI+ hmotnostní spektrum produktů syntéz komplexů $[M(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ ($M = \text{Ru}$ pro **1** (nahore) a Os pro **2** (dole) s dominantními píky částic $[M(\text{pcym})(\text{aza}2)\text{Cl}]^+$ a $[M(\text{aza}2)\text{Cl}]^+$; ESI+ = ionizace elektrosprejem v kladném módu. Vložená spektra - detail signálů částic $[M(\text{aza}2)\text{Cl}]^+$ bez pcym ligandů, prokazující shodu experimentálních a teoreticky vypočtených hodnot izotopového rozložení daných částic.

Komplexy **3–8** byly mimo hmotnostní spektrometrii také podrobeny ostatním analytickým metodám typu HPLC, FTIR a NMR pro potvrzení složení a kvůli informacím o

jejich čistotě. Výsledky hmotnostní spektrometrie jsou z obecného pohledu stejné pro všechny připravené Rh(III) a Ir(III) komplexy. Obecně byla vyhodnocena pouze v kladném módu za použití tzv. ESI+ (ionizace sprejem). Na hmotnostních spektrech Rh(III) a Ir(III) komplexů nebyl detekován pík, který by byl přiřaditelný částici bez arenového ligandu (Cp^x), která by odpovídala situaci u syntéz Ru(II) a Os(II) komplexů. Ve spektrech jsme tak mohli pozorovat typické dominantní píky komplexních kationtů studovaných komplexů. Jednalo se o $[M(Cp^x)(aza2)Cl]^+$ a jejich fragmenty o složení $\{[M(Cp^x)(aza2)]-H\}^+$, které vznikají odštěpením chloro ligandu přítomného v komplexech **3–8**. Daný jev také provází odštěpení H^+ z důvodu zachování náboje, tudíž je hmota lehčí o molekulu HCl ($M_r = 36,456$). Přiřazení získaných komplexů k jednotlivým píkům bylo provedeno na základě porovnání experimentálních a teoreticky vypočtených hodnot m/z a izotopového rozložení daných částic.



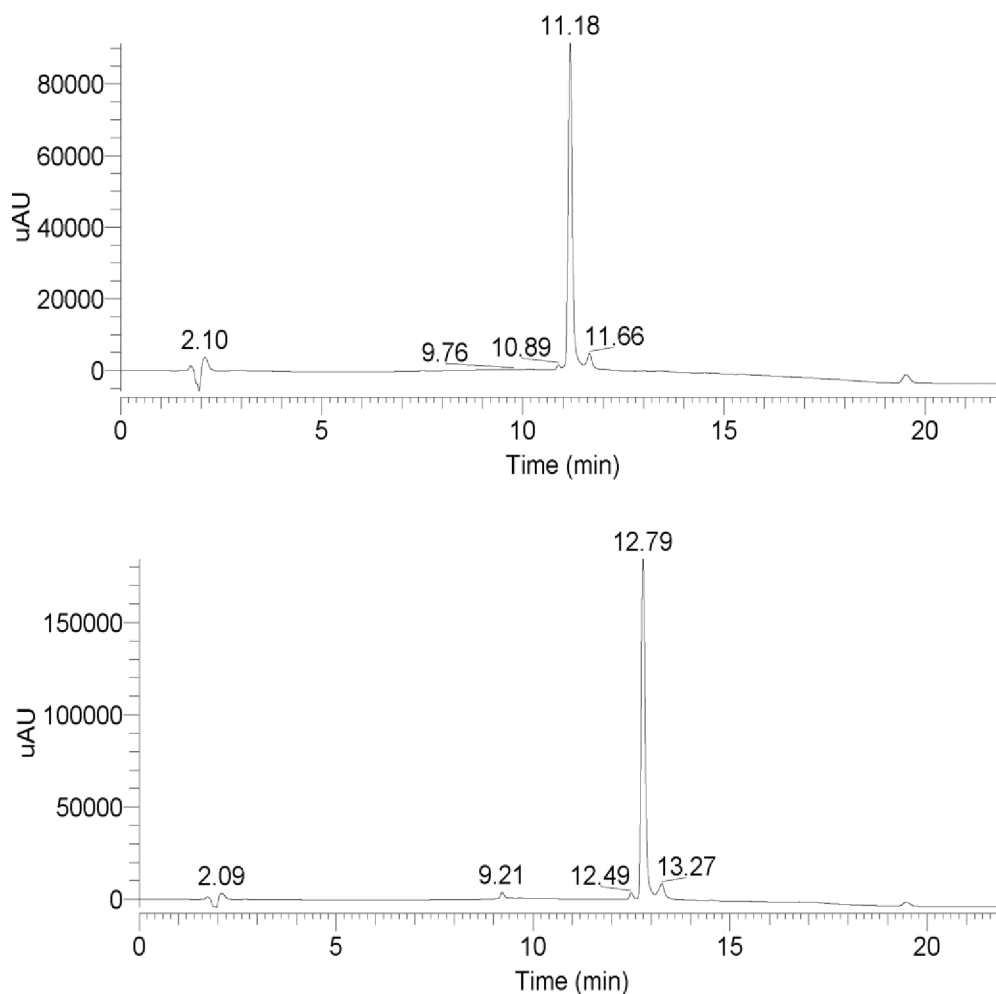
Obrázek 18: ESI+ hmotnostní spektrum komplexu $[Ir(\eta^5-Cp^{bph})Cl(aza_2)]PF_6$ (**5**) s detailem signálů komplexních kationtů $[Ir(Cp^{bph})(aza_2)Cl]^+$ prokazující shodu experimentálních a teoreticky vypočtených hodnot izotopového rozložení daných částic.



Obrázek 19: ESI+ hmotnostní spektrum komplexu $[Rh(\eta^5-Cp^{bph})Cl(aza2)]PF_6$ (**8**) s detailem signálů komplexních kationtů $[Rh(Cp^{bph})(aza2)Cl]^+$ prokazující shodu experimentálních a teoreticky vypočtených hodnot izotopového rozložení daných částic.

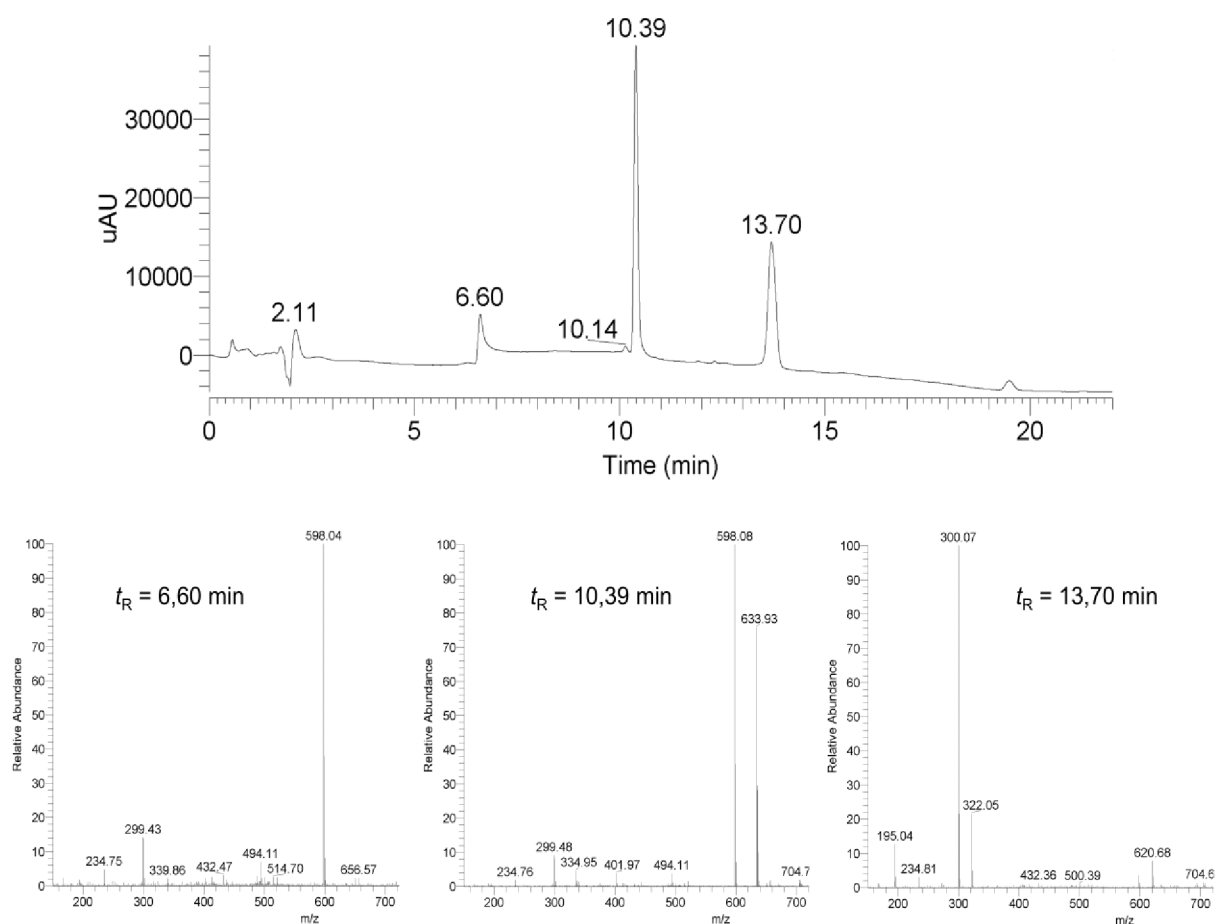
Další analytickou metodou prováděnou za účelem studia připravených komplexů Rh(III) a Ir(III) byla vysokoúčinná kapalinová chromatografie, tzv. HPLC (z angl. High-Performance Liquid Chromatography) na reverzní fázi (RP, z angl. reverse phase). RP-HPLC byla provedena v dynamické mobilní fázi tvořené směsí 0,1 % HCOOH ve vodě (A) a acetonitrilu (B), a to v poměru od 20 % B do 80 % B.

Výsledky prokázaly >95 % čistotu v případě Ir(III) komplexů, kde byl na chromatogramu detekovatelný jeden dominantní signál (viz Obrázek 20) odpovídající jednotlivým komplexům, což bylo souběžně prokázáno hmotnostní spektrometrií. Z výsledků můžeme odvodit, že mírou substituce cyklopentadienylového kruhu Ir(III) komplexů roste jejich lipofilita, což může mít velmi pozitivní vliv na jejich biologickou aktivitu, konkrétně mluvíme o možnosti snáze vstupovat do cílových nádorových buněk skrze lipofilní cytoplazmatickou membránu.



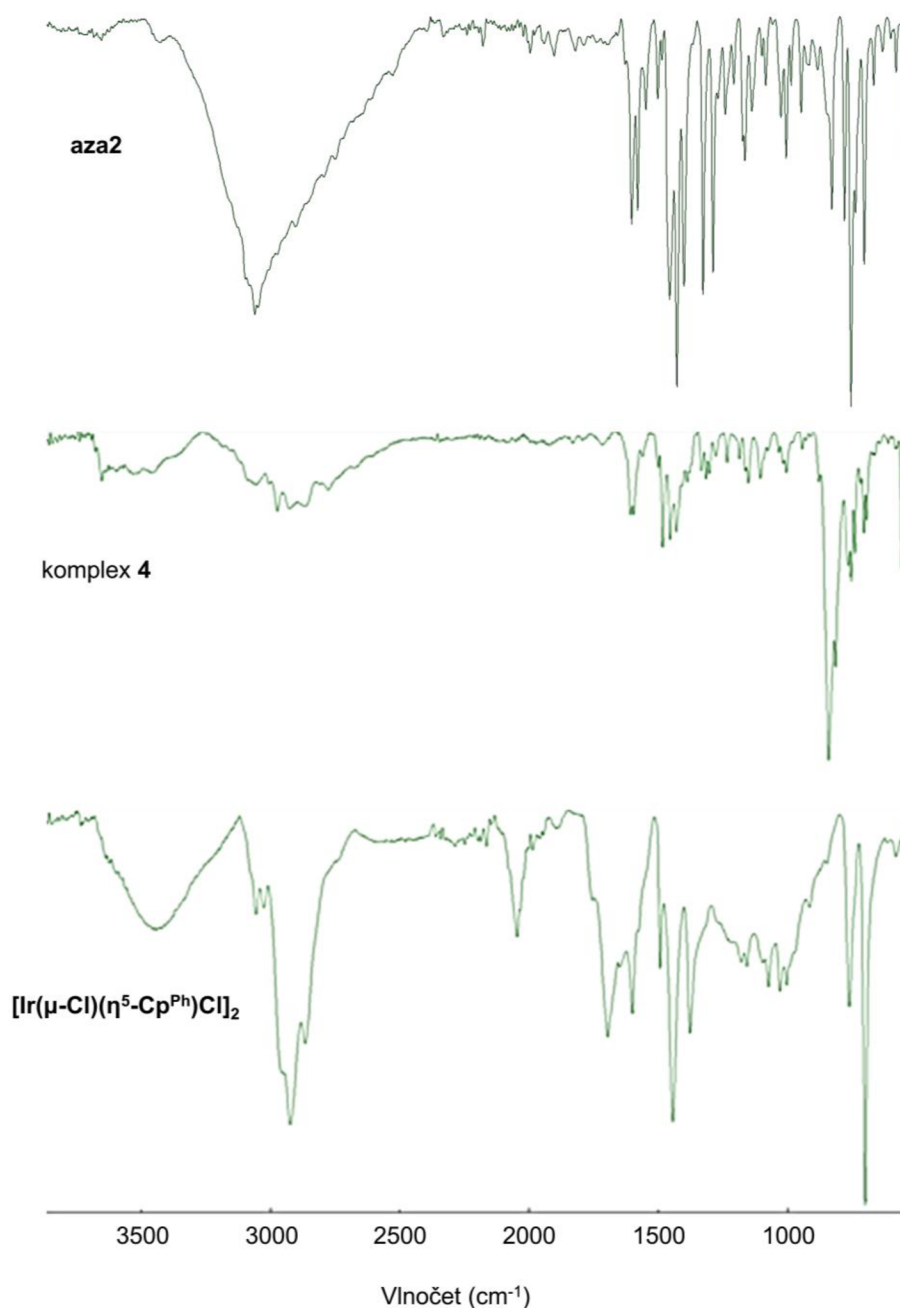
Obrázek 20: RP-HPLC chromatogram komplexů $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{Ph})\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$ (**4**, nahoře) a $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{bPh})\text{Cl}(\text{aza2})]\text{PF}_6$ (**5**, dole).

U Rh(III) komplexů byla situace zcela odlišná. Byly zpravidla detekovány tři dominantní signály, které lze díky provedené hmotnostní spektrometrii přiřadit volnému ligandu aza2 (hmotnostní spektrum neobsahuje signály komplexních částic), studovanému komplexu (hmotnostní spektrum obsahuje signály částic $[\text{Rh}(\text{Cp}^x)(\text{aza2})\text{Cl}]^+$ a $\{[\text{Rh}(\text{Cp}^x)(\text{aza2})\text{-H}]^+\}$ a jeho hydrolyzované formě (hmotnostní spektrum obsahuje pouze signál $\{[\text{Rh}(\text{Cp}^x)(\text{aza2})\text{-H}]^+\}$) (viz Obrázek 21). Retenční časy jednotlivých Rh(III) komplexu také poukazují na nárůst lipofility s velikostí jejich cyklopentadienylového kruhu ($t_R = 8,59$ min pro komplex **6**, 10,39 min pro komplex **7** a 11,97 min pro komplex **8**). Volný ligand byl detekován přibližně při hodnotě $t_R = 13,5$ min.



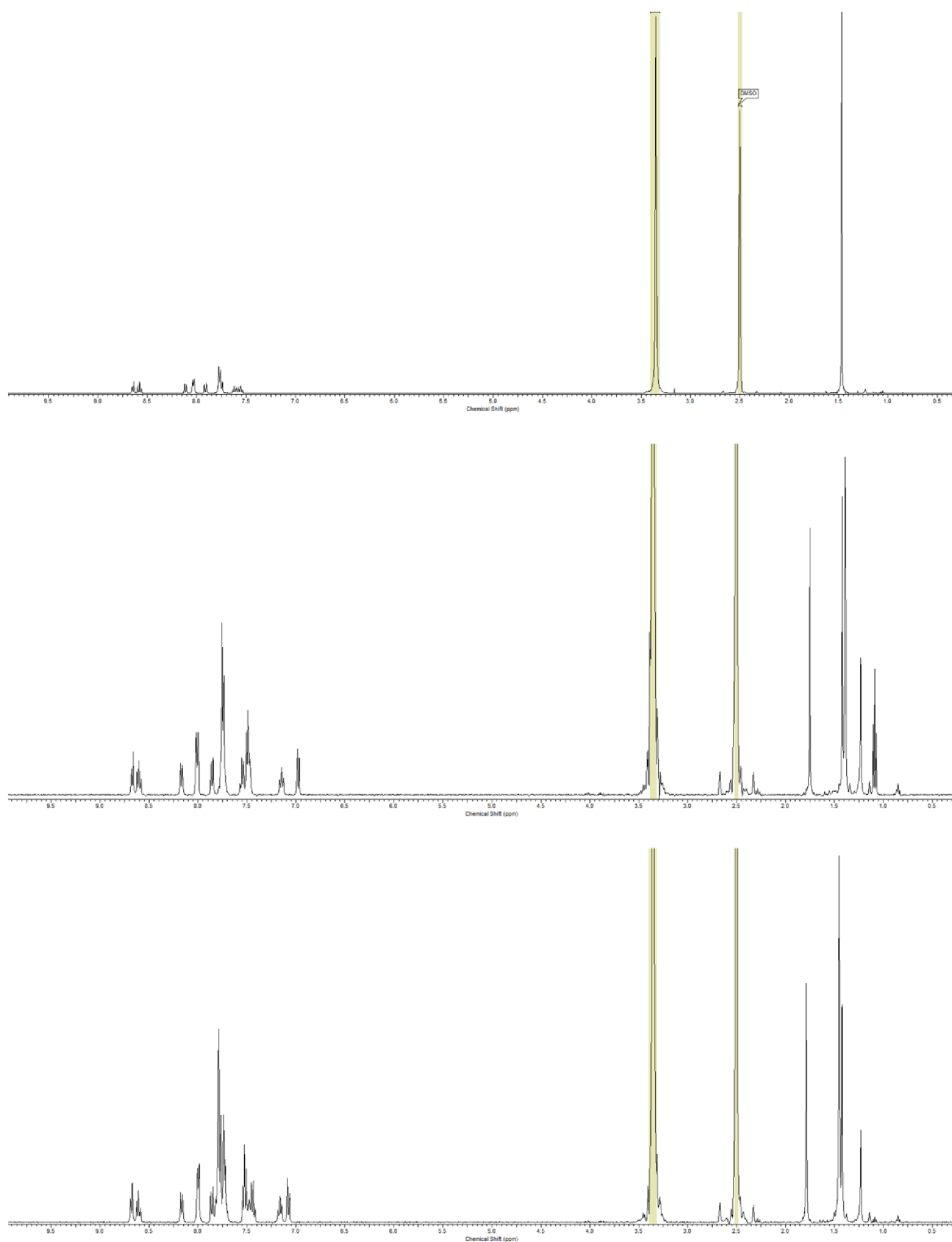
Obrázek 21: RP-HPLC chromatogram komplexu $[Rh(\eta^5-Cp^{Ph})Cl(aza2)]PF_6$ (7, nahoře) a ESI+ hmotnostní spektra jednotlivých HPLC signálů. Píky v hmotnostních spektrech jsou: 300,1 – $\{aza2+H\}^+$; 598,1 – $\{[Rh(Cp^{Ph}(aza2)]-H)^+\}$; 633,9 – $[Rh(Cp^{Ph})Cl(aza2)]^+$.

Další analytickou metodou byla infračervená spektroskopie provedena pro všechny výchozí sloučeniny a produkty syntéz Rh(III) a Ir(III) sloučenin. Ve spektrech komplexů byly detekovány charakteristické vibrace výchozích sloučenin – tj. daného dimeru i benzimidazolového ligandu aza2 (viz Obrázek 22). Ve spektrech komplexů 3–8 je pak ještě přítomný vysoce intenzivní pík vibrací PF_6^- aniontu (ca. 835 a 555 cm^{-1}).



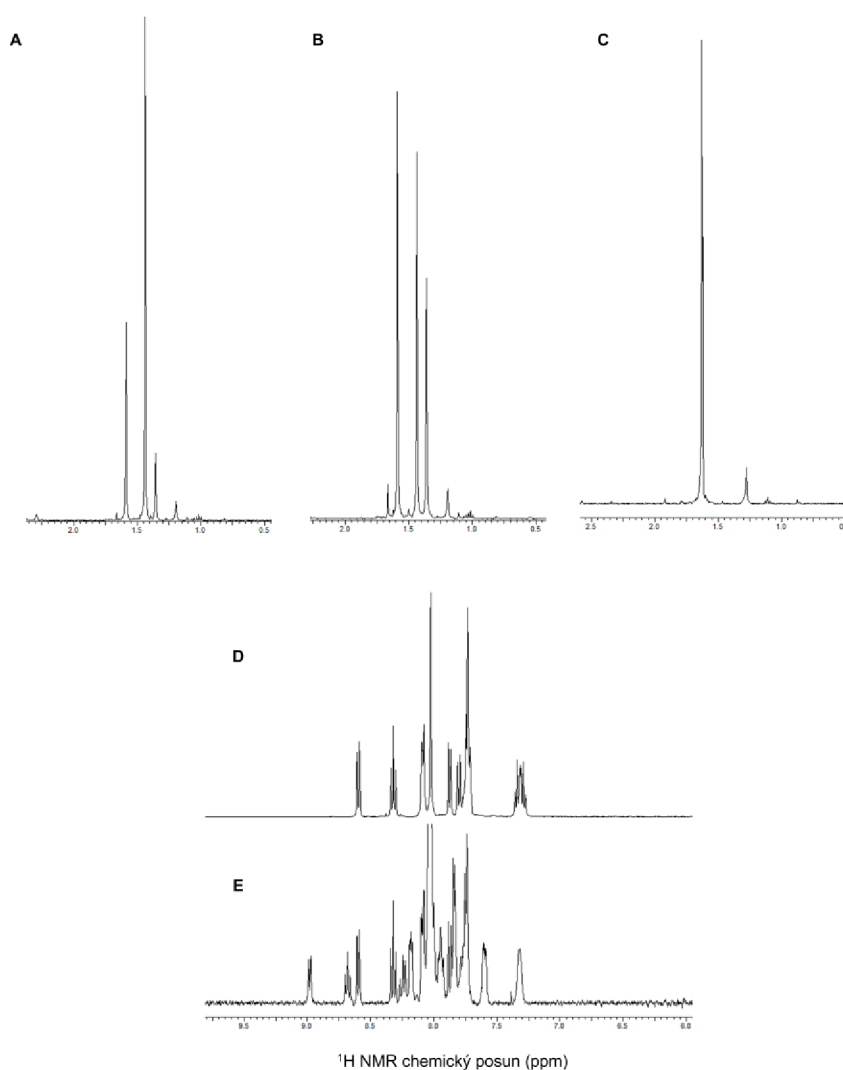
Obrázek 22: Porovnání FTIR spekter aza2 (nahore), komplexu **4** (uprostřed) a dimeru $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^{\text{Ph}})\text{Cl}]_2$ (dole).

Poslední metodou, z hlediska určení struktury a čistoty produktů zcela zásadní, byla nukleární magnetická rezonance. ^1H NMR spektra komplexu **3–8** byla měřena v DMSO- d_6 . Spektra získaná z měření Ir(III) komplexů jednoznačně prokázala jejich složení, protože v nich byly detekovány signály všech vodíkových atomů. Spektrum komplexu **3** odpovídalo spektru publikovaném v článku [2]. Spektra komplexů **4** a **5** se od spektra komplexu **3** samozřejmě lišila, protože obsahují více signálů v aromatické i alifatické části spektra, což je způsobeno substitucí Cp-kruhu aromatickým substituentem.



Obrázek 23: ^1H NMR spektra iriditých komplexů **3** (nahore), **4** (uprostřed) a **5** (dole); měřeno v $\text{DMSO-}d_6$.

U Rh(III) komplexů byla opět, stejně jako u RP-HPLC, situace složitější. ^1H NMR spektra komplexů **6–8** (měřeno v $\text{DMSO-}d_6$) neodpovídala počtem signálů analogickým Ir(III) komplexům **3–5**. Bylo pozorováno více signálů cyklopentadienylových ligandů, což poukazuje na více částic s tímto ligandem. Zajímavé bylo, že počet těchto signálů (částic) byl vyšší v $\text{DMSO-}d_6$ než v $\text{DMF-}d_7$ (viz Obrázek 24). Toto poukazuje na vliv rozpouštědla (DMSO) na stabilitu těchto látek. Porovnáním spekter Rh(III) komplexů a volného ligandu aza2 (měřeno v $\text{DMF-}d_7$) pak bylo zjištěno, že analyzovaný roztok obsahuje volný ligand aza2 (Obrázek 24). Ten zde může být jako pozůstatek syntézy (nedostatečné promytí) nebo to může být produkt rozpadu těchto látek v roztoku.



Obrázek 24: ^1H NMR spektra Rh(III) komplexu **6** měřeno v $\text{DMSO-}d_6$ v čase 0 h (čerstvý roztok A) a po 24 h (B), a $\text{DMF-}d_7$ (čerstvý roztok; C). Porovnání části spekter volného aza2 (D) a komplexu **6** (E) prokazuje přítomnost volného ligandu aza2 (D a E); v $\text{DMF-}d_7$.

5 ZÁVĚR

Náplní bakalářské práce bylo vypracování literární rešerše pojednávající o protirakovinných léčivech a komplexech platinových kovů a poskytnutí základního náhledu do problematiky bioanorganické chemie biologicky aktivních komplexních sloučenin. Cílem praktické části bylo provedení syntézy a charakterizace polosendvičových komplexů platinových kovů s obecným vzorcem $[M(\eta^{5/6}\text{-ar})\text{Cl}(\text{aza}2)]^+$ (**1–8**). Komplexy $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ (**1**) a $[\text{Os}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ (**2**), jejichž ligandem byl *p*-cymen (pcym), se jevily jako nestabilní a podléhaly rozpadu (studováno hmotnostní spektrometrií), proto nebyly vyizolovány. Mnohem příznivějšími sloučeninami z hlediska stability se jevily Ir(III) komplexy (**3–5**) s obecnou strukturou $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^x)\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$, jejichž čistotu a stabilitu jsme mohli pozorovat s využitím analytických metod ^1H NMR a HPLC. Z chromatogramů můžeme vyvodit, že mírou substituce Cp^x kruhu Ir(III) komplexů vzrůstá lipofilní charakter těchto sloučenin, což by mohlo mít příznivý dopad na vstup těchto potenciálních léčiv do cílových nádorových buněk. I série Rh(III) komplexů (**6–8**) se vydařila a na hmotnostním spektrometru jsme na základě poměru m/z a izotopového rozložení daných částic pozorovali nasyntetizované produkty. Teprve za využití HPLC a NMR jsme mohli pozorovat jejich nestabilitu resp. znečištění, tudíž že se tyto komplexy pravděpodobně rozpadaly.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] DeVita, V. T. a Chu, E.: A History of Cancer Chemotherapy. *Cancer Research* **2009**, 68(21), 8643–8653.
- [2] Masaryk, L. et al.: Anticancer half-sandwich Ir(III) complex and its interaction with various biomolecules and their mixtures – a case study with ascorbic acid†. *Inorg. Chem. Front.* **2022**, 3758–3770.
- [3] Štarha, P. et al.: Anticancer Half-Sandwich Rhodium(III) Complexes. *Inorganics* **2021**, 9, 26.
- [4] Weller, M. et al.: Inorganic Chemistry. 7. vydání, ..., *Oxford University Press* **2018**.
- [5] Remy, H.: Anorganická chemie: II. díl. 2. vydání, Praha, *SNTL* **1972**.
- [6] Housecroft, C. E. a Sharpe, A. G.: Anorganická chemie. 1. vydání, Praha, *VŠCHT* **2014**.
- [7] Kameníček, J. et al.: Anorganická chemie. 4. vydání, Olomouc, *Univerzita Palackého* **2020**, 278–284.
- [8] Goswami, A. K. a Kostova, I.: Medicinal and Biological Inorganic Chemistry. Berlin, Boston, *De Gruyter* **2022**.
- [9] Collier, W. A. a Krauss, F.: Zur experimentellen Therapie der Tumoren. *Zeitschrift Für Krebsforschung* **1931**, 34(1), 526–530.
- [10] William, C. J. a Whitehouse, J. M.: Cis-platinum: a new anticancer agent. *BMJ* **1979**, 1(6179), 1689–1691.
- [11] Kelland, L.: The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer* **2007**, 7(8), 573–584.
- [12] Meier-Menches, S. M. et al.: Structure–activity relationships for ruthenium and osmium anticancer agents – towards clinical development. *Chemical Society Reviews* **2018**, 47(3), 909–928.
- [13] Coverdale, J. et al.: Designing Ruthenium Anticancer Drugs: What Have We Learnt from the Key Drug Candidates?. *Inorganics* **2019**, 7(3), 31.
- [14] Rosenberg, B. et al.: Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature* **1965**, 205(4972), 698–699.
- [15] Clarke, M. J. et al.: Reduction and Subsequent Binding of Ruthenium Ions Catalyzed by Subcellular Components. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1980**, 12(1), 79–87.
- [16] Seeling, M. H. et al.: Antineoplastic activity of three ruthenium derivatives against chemically induced colorectal carcinoma in rats. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **1992**, 118(3), 195–200.

- [17] Sava, G. et al.: Response of MCA Mammary Carcinoma to Cisplatin and to Na[trans-RuCl₄(DMSO)Im]. *Drug Investigation* **1994**, 8(3), 150–161.
- [18] Reedijk, J. et al.: Strong Differences in the in Vitro Cytotoxicity of Three Isomeric Dichlorobis(2-phenylazopyridine)ruthenium(II) Complexes. *Inorganic Chemistry* **2000**, 39(14), 2966-2967.
- [19] Allardyce, C. S. et al.: [Ru(η⁶-p-cymene)Cl₂(pta)] (pta = 1,3,5-triaza-7-phosphatricyclo[3.3.1.1]decane): a water soluble compound that exhibits pH dependent DNA binding providing selectivity for diseased cells. *Chemical Communications* **2001**, (15), 1396–1397.
- [20] Aird, R. E. et al.: In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer. *British Journal of Cancer* **2002**, 86(10), 1652–1657.
- [21] Cetinbas, N. et al.: Serum-protein interactions with anticancer Ru(III) complexes KP1019 and KP418 characterized by EPR. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2009**, 15(2), 131–145.
- [22] Clarke, M. J.: Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, 232(1-2), 69–93.
- [23] Depenbrock, H. et al.: Preclinical activity of trans-indazolium [tetrachlorobisindazolruthenate(III)] (NSC 666158; IndCR; KP 1019) against tumour colony-forming units and haematopoietic progenitor cells. *European Journal of Cancer* **1997**, 33(14), 2404–2410.
- [24] Wu, B. et al.: Ruthenium Antimetastasis Agent Forms Specific Histone Protein Adducts in the Nucleosome Core. *Chemistry - A European Journal* **2011**, 17(13), 3562–3566.
- [25] Bergamo, A. et al.: In vivo tumour and metastasis reduction and in vitro effects on invasion assays of the ruthenium RM175 and osmium AFAP51 organometallics in the mammary cancer model. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2010**, 104(1), 79–86.
- [26] Wang, F. et al.: Competitive reactions of a ruthenium arene anticancer complex with histidine, cytochrome c and an oligonucleotide. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2005**, 10(2), 147–155.
- [27] Adhireksan, Z. et al.: Ligand substitutions between ruthenium–cymene compounds can control protein versus DNA targeting and anticancer activity. *Nature Communications* **2014**, 5(1).
- [28] Groessl, M. et al.: Structure–Activity Relationships for NAMI-A-type Complexes (HL)[trans-RuCl₄L(S-dmsu)ruthenate(III)] (L = Imidazole, Indazole, 1,2,4-Triazole, 4-

- Amino-1,2,4-triazole, and 1-Methyl-1,2,4-triazole): Aquation, Redox Properties, Protein Binding, and Antiproliferative Activity. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 50(9), 2185–2193.
- [29] Cebrián–Losantos, B. et al.: Osmium NAMI-A Analogues: Synthesis, Structural and Spectroscopic Characterization, and Antiproliferative Properties. *Inorganic Chemistry* **2007**, 46(12), 5023–5033.
- [30] Büchel, G. E. et al.: En Route to Osmium Analogues of KP1019: Synthesis, Structure, Spectroscopic Properties and Antiproliferative Activity of trans-[OsIVCl₄(Hazole)₂]. *Inorganic Chemistry* **2011**, 50(16), 7690–7697.
- [31] Peacock, A. F. A. et al.: Tuning the Reactivity of Osmium(II) and Ruthenium(II) Arene Complexes under Physiological Conditions. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128(5), 1739–1748.
- [32] Kostrhunova, H. et al.: DNA Interactions of Monofunctional Organometallic Osmium(II) Antitumor Complexes in Cell-Free Media. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, 51(12), 3635–3643.
- [33] Bergamo, A. et al.: In vivo tumour and metastasis reduction and in vitro effects on invasion assays of the ruthenium RM175 and osmium AFAP51 organometallics in the mammary cancer model. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2010**, 104(1), 79–86.
- [34] Murahashi, T., a Kurosawa, H.: Organopalladium complexes containing palladium–palladium bonds. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, 231(1-2), 207–228.
- [35] Kawczyk-Krupka, et. al.: Treatment of localized prostate cancer using WST-09 and WST-11 mediated vascular targeted photodynamic therapy—A review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2015**, 12(4), 567–574.
- [36] Vitaku, E. et al.: Analysis of the Structural Diversity, Substitution Patterns, and Frequency of Nitrogen Heterocycles among U.S. FDA Approved Pharmaceuticals. *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 57(24), 10257–10274.
- [37] Refaat, H. M.: Synthesis and anticancer activity of some novel 2-substituted benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, 45(7), 2949–2956.
- [38] Lju, Z. a Sadler, P. J.: Organoiridium Complexes: Anticancer Agents and Catalysts. *Accounts of Chemical Research* **2014**, 47(4), 1174–1185.
- [39] Canivet, J. et al.: Water-Soluble Phenanthroline Complexes of Rhodium, Iridium and Ruthenium for the Regeneration of NADH in the Enzymatic Reduction of Ketones. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2007**, 2007(30), 4736–4742.

- [40] Zhang, W.-Y. et al.: Ligand-centred redox activation of inert organoiridium anticancer catalysts. *Chemical Science* **2020**.
- [41] Betanzos-Lara, S. et al.: Organometallic Ruthenium and Iridium Transfer-Hydrogenation Catalysts Using Coenzyme NADH as a Cofactor. *Angewandte Chemie* **2012**, 124(16), 3963–3966.
- [42] Giraldi, T. et al.: Antitumour action of rhodium (I) and iridium (I) complexes. *Chemico-Biological Interactions* **1978**, 22(2-3), 231–238.
- [43] Sava, G. et al.: Coordination metal complexes of Rh(I), Ir(I) and Ru(II): recent advances on antimetastatic activity on solid mouse tumors. *Inorganica Chimica Acta* **1987**, 137(1-2), 69–71.
- [44] Zhang, X. et al.: Glutathione activation of an organometallic half-sandwich anticancer drug candidate by ligand attack. *Chemical Communications* **2019**, 55, 14602–14605.
- [45] Hughes, R. G. et al.: Synergistic effect of rhodium acetate and arabinosylcytosine on L1210. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* **1972**.
- [46] Pruchnik, F. a Duš, D.; Properties of rhodium (II) complexes having cytostatic activity. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1996**, 61(1), 55–61.
- [47] Dorcier, A. et al.: In Vitro Evaluation of Rhodium and Osmium RAPTA Analogues: The Case for Organometallic Anticancer Drugs Not Based on Ruthenium. *Organometallics* **2006**, 25, 4090–4096.
- [48] Sheldrick, W. S. et al.: Cytotoxic half-sandwich rhodium(III) complexes: Polypyridyl ligand influence on their DNA binding properties and cellular uptake. *J. Organomet. Chem.* **2008**, 693, 2299–2309.
- [49] Zhang, W. Y. et al.: Ligand-Controlled Reactivity and Cytotoxicity of Cyclometalated Rhodium(III) Complexes. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2020**, 2020, 1052–1060.
- [50] Tremlett, W. D. J. et al.: Hydroxyquinoline-derived anticancer organometallics: Introduction of amphiphilic PTA as an ancillary ligand increases their aqueous solubility. *J. Inorg. Biochem.* **2019**, 199, 110768.
- [51] Pettinari, R. et al.: Organometallic rhodium(III) and iridium(III) cyclopentadienyl complexes with curcumin and bisdemethoxycurcumin co-ligands. *Dalton Trans.* **2015**, 44, 20523–20531.
- [52] Štarha, P. et al.: Half-sandwich Ir(III) and Rh(III) 2,2'-dipyridylamine complexes: Synthesis, characterization and in vitro cytotoxicity against the ovarian carcinoma cells. *J. Organomet. Chem.* **2018**, 872, 114–122.

- [53] Geldmacher, Y. et al.: Cellular impact and selectivity of half-sandwich organorhodium(III) anticancer complexes and their organoiridium(III) and trichloridorhodium(III) counterparts. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2012**, 17, 631–646.
- [54] Soldevila-Barreda, J. J.; Half-sandwich rhodium(III) transfer hydrogenation catalysts: Reduction of NAD⁺ and pyruvate, and antiproliferative activity. *J. Inorg. Biochem.* **2015**, 153, 322–333.
- [55] Tönnemann, J. et al.: Efficient and Rapid Synthesis of Chlorido-Bridged Half-Sandwich Complexes of Ruthenium, Rhodium, and Iridium by Microwave Heating. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2013**, 2013(26), 4558–4562.

7 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: *Vaskiv komplex (vlevo) a Wilkinsoniv katalyzátor (vpravo)* (převzato z: Wikipedia)

Obrázek 2: *Cispaltina* (převzato z: Wikipedia)

Obrázek 3: *Karboplatina* (převzato z: Wikipedia)

Obrázek 4: *Oxaliplatina* (převzato z: Wikipedia)

Obrázek 5: *Pikoplatina* (převzato z: Wikipedia)

Obrázek 6: *Satraplatina* (převzato z: Wikipedia)

Obrázek 7: *Obecné schéma mechanismu účinku a interakcí cisplatiny s buněčným prostředím* (převzato z [11])

Obrázek 8: *IT-139* (převzato z [3])

Obrázek 9: *NAMI-A* (převzato z: <https://doi.org/10.1039/C8DT00860D>)

Obrázek 10: *RM-175 (vlevo) a RAPTA-C (vpravo)* (převzato z [13])

Obrázek 11: *AFAP51* (převzato z [13] a upraveno)

Obrázek 12: *WST-11* (převzato z: <https://www.medkoo.com/products/5720>)

Obrázek 13: *Obecné strukturní vzorce pro polosendvičové komplexy A, B a C* (převzato z [2])

Obrázek 14: *Schéma znázorňující interakci Ir(III) komplexu C s NADH, GHS a ASA* (převzato z [2])

Obrázek 15: *Obecný strukturální vzorec výchozích dimerů vlevo $[M(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-Cpx})\text{Cl}]_2$ ($M = \text{Rh}$ nebo Ir , $R = \text{CH}_3$, fenyl nebo bifenyl) a vpravo $[M(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}]_2$ ($M = \text{Ru}$ nebo Os)*

Obrázek 16: *Obecné strukturální vzorce studovaných komplexů. Struktura A odpovídá komplexům 1 ($M = \text{Ru}$) a 2 ($M = \text{Os}$). Struktura B odpovídá komplexům 3 – 5 ($M = \text{Ir}$, $R = \text{CH}_3$ pro 3, fenyl pro 4, bifenyl pro 5) a komplexům 6 – 8 ($M = \text{Rh}$, $R = \text{CH}_3$ pro 6, fenyl pro 7, bifenyl pro 8).*

Obrázek 17: *ESI+ hmotnostní spektrum produktů syntéz komplexů $[M(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ ($M = \text{Ru}$ pro 1 (nahore) a Os pro 2 (dole) s dominantními píky částic $[M(\text{pcym})(\text{aza}2)\text{Cl}]^+$ a $[M(\text{aza}2)\text{Cl}]^+$; ESI+ = ionizace elektrosprejem v kladném módu. Vložená spektra - detail signálů částic $[M(\text{aza}2)\text{Cl}]^+$ bez pcym ligandů, prokazující shodu experimentálních a teoreticky vypočtených hodnot izotopového rozložení daných částic.*

Obrázek 18: *ESI+ hmotnostní spektrum komplexu 5 $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{bph}})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ s detailem signálů komplexních kationtů $[\text{Ir}(\text{Cp}^{\text{bph}})(\text{aza}2)\text{Cl}]^+$ prokazující shodu experimentálních a teoreticky vypočtených hodnot izotopového rozložení daných částic.*

Obrázek 19: *ESI+ hmotnostní spektrum komplexu 8 $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{bph}})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ s detailem signálů komplexních kationtů $[\text{Rh}(\text{Cp}^{\text{bph}})(\text{aza}2)\text{Cl}]^+$ prokazující shodu experimentálních a teoreticky vypočtených hodnot izotopového rozložení daných částic.*

Obrázek 20: *RP-HPLC chromatogram komplexů $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{Ph}})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ (4, nahore) a $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{bPh}})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ (5, dole).*

Obrázek 21: *RP-HPLC chromatogram komplexu $[\text{Rh}(\eta^5\text{-Cp}^{\text{Ph}})\text{Cl}(\text{aza}2)]\text{PF}_6$ (7, nahore) a ESI+ hmotnostní spektra jednotlivých HPLC signálů. Píky v hmotnostních spektrech jsou: 300,1 – $\{\text{aza}2+\text{H}\}^+$; 598,1 – $\{[\text{Rh}(\text{Cp}^{\text{Ph}})(\text{aza}2)]-\text{H}\}^+$; 633,9 – $[\text{Rh}(\text{Cp}^{\text{Ph}})\text{Cl}(\text{aza}2)]^+$.*

Obrázek 22: *Porovnání FTIR spekter aza2 (nahore), komplexu 4 (uprostred) a dimeru $[\text{Ir}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-CpPh})\text{Cl}]_2$ (dole).*

Obrázek 23: *^1H NMR spektra iriditých komplexů 3 (nahore), 4 (uprostred) a 5 (dole); měřeno v DMSO- d_6 .*

Obrázek 24: *^1H NMR spektra Rh(III) komplexu 6 měřeno v DMSO- d_6 v čase 0 h (čerstvý roztok A) a po 24 h (B), a DMF- d_7 (čerstvý roztok; C). Porovnání části spekter volného aza2 (D) a komplexu 6 (E) prokazuje přítomnost volného ligandu aza2 (D a E) byly měřeny v DMF- d_7 .*