

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**Tantal jako centrální atom biologicky perspektivních
komplexů?**

Autor: Přemysl Lexa

Studijní program: Chemie pro víceoborové studium (učitelství)

Studijní obor: Chemie - Biologie v ochraně životního prostředí

Typ studia: Prezenční

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

Termín odevzdání: 29. 4. 2016

Já, Přemysl Lexa, prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci sepsal samostatně pod odborným dohledem doc. Mgr. Pavla Štarhy, Ph.D. Veškerou použitou literaturu jsem uvedl na konci práce. Souhlasím, aby byla má bakalářská práce přístupná v knihovně Katedry anorganické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

Poděkování

Rád bych poděkoval doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za odborné vedení při vypracování mé bakalářské práce a za pomoc s interpretací a zpracováním získaných výsledků. Poděkovat také tímto chci Pavle Richterové za provedení C, H, N elementární analýzy Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za provedení NMR spektroskopie, Mgr. Aleně Klanicové, Ph.D. za provedení FTIR spektroskopie a RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení hmotnostní spektrometrie. Dále bych velmi rád poděkoval Prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D., vedoucímu Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, za možnost vypracování této bakalářské práce na Katedře anorganické chemie.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Přemysl Lexa
Název práce: Tantal jako centrální atom biologicky perspektivních komplexů?
Typ práce: Bakalářská
Pracoviště: Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
Rok obhajoby: 2016

Abstrakt: Byla provedena literární rešerše biologicky aktivních bioanorganických sloučenin, se zaměřením na komplexy tantalu a dalších prvků V.B. skupiny periodického systému. Bylo zjištěno, že sloučeniny tantalu nebyly doposud téměř studovány pro svoji biologickou aktivitu. Byla připravena série elektroneutrálních komplexů tantalu o složení $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{O}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{O})\text{Cl}_2]$ (**1–3**) a $[\text{Ta}(\text{O}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{O})_2\text{Cl}_2]$ (**4**), které se liší strukturním typem a počtem chloro ligandů; Cp^* = 1,2,3,4,5-pentamethylcyklopentadienyl, $\text{HO}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{OH}$ = pyridin-2,6-dikarboxylová kyselina (H_2dpa), 2-hydroxyfenylsalicylaldimin nebo 2-hydroxy-3-ethoxyfenylsalicylaldimin. Použité $\text{O}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{O}$ dianionty se v komplexech koordinují jako tridentátní *O,N,O*-donorové ligandy. Komplexy byly charakterizovány užitím elementární analýzy, hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem v pozitivním módu (ESI+), infračervenou, ^1H NMR a ^{13}C NMR spektroskopii. U vybraného komplexu $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{dpa})\text{Cl}_2]$ (**1**) byla kombinací ^1H NMR spektroskopie a ESI+ hmotnostní spektrometrie studována hydrolytická stabilita ve vodu obsahujících rozpouštědlech. Výsledky poukazují na téměř okamžitou hydrolyzu Ta–Cl vazeb, přičemž ligandy Cp^* a dpa se za použitých podmínek z komplexu **1** neuvolňovaly. Z těchto výsledků vyplývá, že studované polosendvičové komplexy tantalu jsou perspektivními látkami pro následné biologické studium (např. protinádorové aktivity).

Klíčová slova: Tantal, 1,2,3,4,5-pentamethylcyklopentadienyl, Schiffovy báze, syntéza, charakterizace
Počet stran: 41
Jazyk: Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Přemysl Lexa
Title: Tantalum as the central atom of biologically prospective 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: 2016

Abstract: The literature research of biologically active bioinorganic compounds, focusing on complex of tantalum and other Group 5 elements, was performed. It has been found out, that tantalum compounds, including complexes, have not been systematically studied for their biological activity. In this work, a series of electroneutral complexes of tantalum of the composition $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{O}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{O})\text{Cl}_2]$ (**1–3**) and $[\text{Ta}(\text{O}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{O})_2\text{Cl}_2]$ (**4**) was prepared. Prepared complexes **1–3** and **4** differ in structural type and in number of chlorido ligands; $\text{Cp}^* = 1,2,3,4,5\text{-pentamethylcyclopentadienyl}$, $\text{HO}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{OH} = \text{pyridine-2,6-dicarboxylic acid (H}_2\text{dpa)}$, 2-hydroxyphenylsalicylaldimine or 2-hydroxy-3-ethoxy-phenylsalicylaldimine. The used $\text{O}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{O}$ dianions are tridentate-coordinated as *O,N,O*-donor ligands within the studied complexes **1–4**. Prepared compounds were characterised by C, H, N elemental analysis, mass spectrometry with positive electrospray ionization mode (ESI+), infrared, ^1H NMR and ^{13}C NMR spectroscopies. Aqueous chemistry of the representative complex $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{dpa})\text{Cl}_2]$ (**1**) was studied by a combination of ^1H NMR and ESI+ mass spectrometry and the obtained results indicated a rapid hydrolysis of the Ta–Cl bonds, while both the Cp^* and dpa ligands did not release from the structure of **1** under the used experimental conditions. These finding showed that the prepared half-sandwich Ta(V) complexes are perspective substances for further studies of biological activity (e.g. antitumor activity).

Keywords: Tantalum, 1,2,3,4,5-pentamethylcyclopentadienyl, Schiff base, synthesis, characterization
Number of pages: 41
Language: Czech

OBSAH

1. Úvod a cíl bakalářské práce	7
2. Teoretická část	8
2.1. Biologicky aktivní komplexy vybraných přechodných kovů	8
2.1.1. Biologicky aktivní komplexy platiny	8
2.1.2. Biologicky aktivní komplexy zlata	12
2.1.3. Biologicky aktivní komplexy ruthenia	14
2.1.4. Biologicky aktivní komplexy jiných kovů	16
2.2. Bioanorganická chemie prvků V.B skupiny PSP	17
2.2.1. Vanad	17
2.2.2. Niob	19
2.3. Tantal	20
2.3.1. Obecné vlastnosti	20
2.3.2. Koordinační chemie	21
2.3.3. Biologické a katalytické vlastnosti tantalu	22
3. Experimentální část	26
3.1. Chemikálie a přístroje	26
3.2. Syntéza	26
3.3. Studium roztokové stability komplexu 1	31
4. Diskuze a výsledky	32
5. Závěr	28
6. Použitá literatura	39

1. ÚVOD A CÍL BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

V lidském organismu hrají kovy nebo jejich sloučeniny velmi důležitou a nezastupitelnou roli. Ať už je to například železo, které je součástí hemoglobinu, nebo zinek nacházející se v některých metaloenzymech, je zřejmé, že bez přítomnosti kovů by lidský organismus nemohl fungovat. Zároveň je však velice důležité, aby byl organismus schopen správně regulovat koncentraci těchto kovů, protože jejich nedostatečná či nadbytečná koncentrace v těle má vysoce negativní účinky a způsobuje toxicitu.

Využití kovů v medicíně není otázkou pouze současnosti. Již v antice lidé využívali např. arsen, zlato nebo stříbro k léčení různých nemocí. Pravděpodobně prvním léčivem obsahujícím kov byl Salvarsan se dvěma atomy arsenu, který byl připraven německým chemikem Paulem Ehrlichem a používal se před objevem penicilinu k léčbě syfilis.¹ Ovšem značného zájmu se léčiva založená na sloučeninách kovů dočkala až v posledních desetiletích. Od doby, kdy byla prokázána účinnost cisplatiny a jejích analogů vůči zhoubným nádorům, je studium a syntéza sloučenin kovů s potenciální biologickou aktivitou v popředí zájmu bioanorganických a medicínálních vědců po celém světě. Kromě komplexů platiny byly popsány protinádorově aktivní komplexy mnoha dalších přechodných kovů, jako je Ru, Au, Ir, Os, Ti nebo V.² Zajímavé je, že v případě tantalu byla prozatím publikována pouze jedna publikace popisující biologické (protinádorové) účinky jeho komplexů.³

Cíle této bakalářské práce jsou:

1. Vypracování literární rešerše týkající se biologicky aktivních komplexů přechodných kovů, s důrazem kladeným na biologickou aktivitu tantalu a jeho sloučenin.
2. Příprava a zvolení vhodného postupu pro syntézu potenciálně biologicky aktivních komplexů tantalu
3. Charakterizace připravených koordinačních sloučenin tantalu vhodnými analytickými technikami.

2. TEORETICKÁ ČÁST

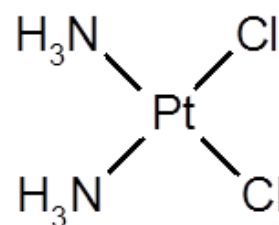
2.1. Biologicky aktivní komplexy vybraných přechodných kovů

Velký rozvoj bioanorganické chemie nastal ve druhé polovině 20. století, kdy byly poprvé objeveny protinádorové účinky cisplatiny. Vědci po celém světě přicházeli s novými sloučeninami platiny, které by našly využití v chemoterapii. Naprostá většina z nich zůstala v zapomnění, ale objevily se i takové, které své místo v onkologické léčbě nachází doposud.²

Problémy, které s sebou léčba nesla, byla cytotoxicita nejen pro nádorové buňky, ale také pro buňky zdravé. Cílem tedy bylo – a dodnes zůstává – najít látku, která by předčila účinky cisplatiny, ale zároveň by minimálně zatěžovala organismus. Postupně se tento zájem přesunul i ke sloučeninám, jejichž centrálním atomem nemusí být pouze platina. V současné době známe mnoho sloučenin různých přechodných kovů, které procházejí klinickými testy nebo vykazují velice slibné výsledky při testech *in vitro*, a to nejen proti nádorům, ale také jako antiparazitika, antidiabetika a jiné. Jsou jimi například komplexy ruthenia, vanadu, iridia, palladia, zinku, zlata atd. V následujícím textu je pro představu popsána biologická aktivita některých komplexních sloučenin vybraných přechodných prvků.

2.1.1. Biologicky aktivní komplexy platiny

Komplexní sloučeniny, jejichž centrálním atomem je platina, jsou v současné době nejvyužívanějšími léčivy na bázi komplexů přechodných kovů (tzv. metaloterapeutika) a současně také nejvyužívanějšími chemoterapeutiky v protinádorové léčbě. Nejznámější a nejlépe prostudovanou látkou je cisplatina, což je chemicky *cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex, *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] (obrázek 1).^{1,2} Tato velmi jednoduchá koordinační sloučenina je tvořena centrálním Pt(II) iontem, na



Obrázek 1: Strukturální vzorec cisplatiny

němž jsou navázány dvě molekuly NH₃, představující tzv. nosné (neodstupující, z angl. *carrier ligands*) skupiny, a dva chloridové ionty, které mohou být nahrazeny jinými ligandy, a proto je nazýváme jako odstupující ligandy (z angl. *leaving groups*). Protinádorové účinky této látky byly objeveny Prof. Barnettem Rosenbergem, který zjistil, že sloučeniny platiny vznikající při elektrolýze na platinových elektrodách, inhibují buněčné dělení bakterie *Escherichia coli* v roztoku. Vzniklé látky, kterých bylo v roztoku kromě cisplatiny detekováno více, byly důkladně zkoumány, avšak nejvýraznější biologické účinky vykazoval právě komplex *cis*-[Pt(NH₃)₂(Cl)₂]. Přestože byla cisplatina objevena již na začátku 60. let 20. století, klinického testování se dočkala až roku 1971 a v roce 1978 pak byla schválena jako chemoterapeutikum pro léčbu rakoviny varlat a vaječnicků. Dodnes je tato sloučenina nejvyužívanější chemoterapeutikum sloužícím především pro léčbu rakoviny vaječnicků a varlat, močového měchýře, malých plicních nádorů, rakoviny krku a hlavy. Při včasné diagnostice rakoviny varlat je pravděpodobnost vyléčení cisplatinou až 90%.

Přes všechna pozitiva cisplatiny, existují i mnohá negativa spojení s její klinickou aplikací v onkologické praxi. Jedním z nich je toxicita nejen pro nádorové, ale stejně tak i pro

buňky, což způsobuje nefrotoxicitu, nevolnost, zvracení, hepatotoxicitu, poškození močového měchýře i srdeční komplikace.^{1,2,4} Dalším problémem je přirozená rezistence některých nádorových buněk vůči cisplatině. Jiné nádorové buňky si zase svou rezistenci vytvoří po aplikaci léčiva (tzv. získaná rezistence). Cisplatina tak může být použita pouze pro některé typy nádorů. Tyto důvody podněcují snahu vědců o vytvoření nových, vysoce účinných protinádorových léčiv, která však budou vykazovat mnohem menší nebo nejlépe nulové degenerativní vlastnosti pro zdravé tkáně a zároveň bude zvýšena jejich odolnost vůči rezistenci nádorů. Tato snaha již vedla k vytvoření tisíců nových sloučenin s potenciálními biologicky aktivními účinky, ať už na bázi platiny nebo jiných přechodných kovů, jakými jsou například ruthenium, zlato nebo palladium. Bohužel, pouze nepatrná část z těchto nově vzniklých sloučenin se dočkala klinického testování či finálního uvedení do klinické praxe. Ty látky, které se staly běžnou součástí chemoterapie spolu s cisplatinou, jsou jejími přímými analogy. Jsou to například celosvětově používané deriváty cisplatiny karboplatina (diammin-(1,1'-cyklobutandikarboxylato)platnatý komplex) a oxaliplatina (1*R*,2*R*-diaminocyklohexanoxalatoplatnatý komplex), nebo nedaplatina (*cis*-diammin-glykolatoplatnatý komplex), jehož použití je omezeno na některé státy v Asii.^{1,2}

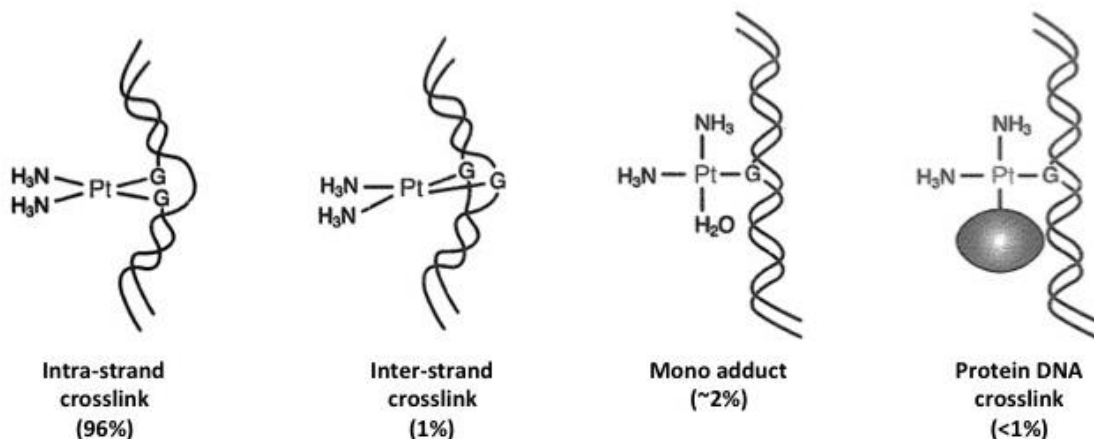
Karboplatina, která bývá označována jako "léčivo druhé generace", je stejně jako cisplatinou tvořena centrálním Pt(II) iontem, na němž jsou navázány dvě molekuly NH₃. Rozdílnost spočívá v absenci chloridových iontů. Místo nich je ve struktuře karboplatiny odstupující skupinou bidentátní 1,1'-cyklobutandikarboxylátový dianion (cbdc). Bylo prokázáno, že karboplatina má menší vedlejší účinky na lidský organismus, než je tomu u cisplatinu a vykazuje mnohem menší toxicitu pro ledviny a nervovou soustavu. Díky chelátově vázanému cbdc ligandu je karboplatina stabilnější sloučeninou než cisplatinou. Tento fakt má za následek menší schopnost vázat se na bílkoviny, a tak se ve velké míře vylučuje v moči v nezměněném stavu. Karboplatina nachází využití zejména v léčbě nádorových onemocnění hlavy, krku a jícnu. Toto léčivo však vykazuje účinek pro stejné typy nádorů jako cisplatinou, s čímž je spojena i rezistence stejných nádorů jako vůči cisplatině (tzv. křížová rezistence).^{2,5,6}

Dalším klinicky používaným derivátem cisplatinu je oxaliplatina, což je vůdčí představitel léčiv třetí generace. Tato látka vykazuje, na rozdíl od cisplatinu a karboplatinu, účinnost proti kolorektálnímu karcinomu (především v klinicky používané kombinaci s 5-fluorouracilem a leucovorinem).⁶ Velkým pozitivem tohoto léčiva je možnost léčit nádory, které jsou rezistentní, a tedy neléčitelné, vůči účinkům cisplatinu nebo karboplatinu, a to z důvodu absence křížové rezistence s těmito léčivy. V protinádorové léčbě se nicméně

oxaliplatina často používá v kombinaci s cisplatinou nebo karboplatinou. Oxaliplatina nevykazuje tak vysokou nefrotoxicitu jako cisplatinu, ale způsobuje neuropatii, která vede k pocitu chladu. Tyto příznaky však po vysazení léčiva postupně odeznívají.^{2,7}

Nedaplatina je léčivo využívané jako chemoterapeutikum pro léčbu pacientů s rakovinou krku, hlavy, prostaty, plic, jícnu a vaječníků. Nedaplatina je více rozpustná ve vodě a zároveň méně toxická než cisplatinu.² Na druhou stranu, s ní však vykazuje křížovou rezistenci (podobně jako karboplatina). Při použití nedaplatiny byla prokázána trombocytopenie (snížení počtu krevních destiček) a leukopenie (snížení počtu bílých krvinek).^{2,8}

Mechanismus účinku protinádorových léčiv na bázi platiny si je navzájem velmi podobný. Nejprostudovanější je pro cisplatinu, pro kterou bylo zjištěno, že po vstupu do buňky jsou v důsledku nízké koncentrace chloridových iontů v intracelulární tekutině z komplexu odštěpeny dva chloridové ionty, které podléhají hydrolytické substituci. Takto vzniklé, kladně nabitě formy mono- nebo di-aqua komplexů mohou reagovat s nukleofilními místy na DNA, RNA nebo proteinech. Při těchto interakcích molekula nebo molekuly vody oddisociují a platnatý komplex se tak může navázat např. na N7 dusík guaninu nebo adeninu na cílové molekule jaderné DNA. Nejčastější způsob platinace DNA probíhá asi z 96% vnitřetěžcovou formou (tzv. intra-strand crosslink). V prvním kroku se jedna aktivovaná část komplexu naváže na purinovou bázi, nejčastěji guanin, ležící na jednom z vláken DNA. V dalším kroku se druhá aktivovaná část naváže na guanin nebo adenin ležící na tomtéž vlákně DNA, čímž vznikají adukt 1,2-GG resp. 1,2-AG, což má za následek změnu sekundární struktury DNA, jež vede k omezení schopnosti její další replikace, a tím k apoptóze buňky (obrázek 2). Existují i další způsoby vazby cisplatinu na DNA (např. meziřetěžcové formy (tzv. inter-strand crosslink) mezi dvěma guaninovými nukleobázemi nacházejícími se na odlišných vláknech dvoušroubovice jaderné DNA), jsou však mnohem méně pravděpodobné, než výše zmíněná vnitřetěžcová forma.



Obrázek 2: Možnosti vazby cisplatiny na DNA (převzato z [9])

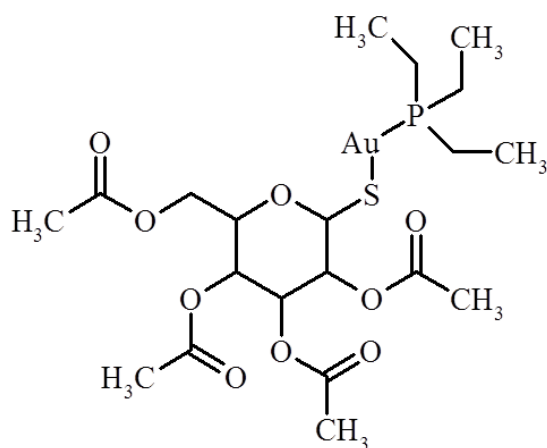
Ve stručnosti zde ještě budou zmíněny další klinicky používané nebo vysoce perspektivní klinicky testované protinádorové komplexy na bázi platiny. Mezi klinicky používané látky patří lobaplatina, jejíž systematický název je [SP-4-2-(1*R-trans*)](1,2-bisaminomethylcyklobutan-*N,N'*)[hydroxypropaonato(2-)-O,O']platnatý komplex. Je analogem oxalipaltiny a jedná se tedy o cytostatikum třetí generace.¹⁰ Lobaplatina je v Číně používána pro léčbu myeloidní leukemie, malých plicních nádorů a nevyoperovatelných prsních nádorů.^{6,11} Heptaplatina, *cis*-malonato[(4*R,5R*)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxan]platnatý komplex je klinicky účinná při léčbě nádorů rezistentních vůči cisplatiny (např. pro léčbu rakoviny žaludku). Její nespornou výhodou je také minimální toxicita vůči zdravým tkáním a poměrně vysoká stabilita v roztoku.^{2,8,11} Pikoplatina (též AMD473, ZD473) se od cisplatiny liší v náhradě jednoho NH₃ ligandu za 2-methylpyridin (α -pikolin, odtud její pojmenování). V klinických studiích vykazuje aktivitu proti nádorovým liniím rezistentním vůči cisplatině.^{6,8} Odlišnými látkami od výše zmíněných jednojaderných platnatých komplexů jsou polynukleární komplexy platiny (obsahující dvě nebo tři aktivní koordinační platnatá centra) a platičité komplexy. Vícejaderné komplexy, jejichž vůdčím představitelem je trinukleární komplex s označením BBR3464 tvoří odlišné adukty s DNA, jako například 1,4- nebo 1,6-vnitrořetězcovou formu. Tento komplex vykazoval aktivitu vůči mnoha nádorům včetně těch, které jsou rezistentní vůči cisplatině.^{6,12,13} Satraplatina, jejíž systematický název je bis-acetato-ammin-dichloro(cyklohexylamin)platičítý komplex, známý též pod označením JM216, je klinicky studovaný představitelem Pt(IV) komplexů. Je potencionálním léčivem pro rakoviny prostaty nebo plic, navíc lze tuto látku užívat perorálně.^{2,12} Omezením její klinické perspektivy nicméně je podobný mechanismus účinku jako u cisplatiny.^{6,12}

2.1.2. Biologicky aktivní komplexy zlata

Již ve starověku byly zlatu přisuzovány léčivé účinky. Ke konci 19. století byla sloučenina $\text{Na}[\text{AuCl}_4]$ předepisována na léčbu syfilis a chronického alkoholismu. Antibakteriální aktivita zlatných sloučenin vůči *Mycobacterium tuberculosis complex* objevená Robertem Kochem vedla na začátku 20. století k jejich použití pro léčbu tuberkulózy. Později se sloučeniny zlata začaly využívat i pro léčbu revmatické artritidy, jelikož byl zastáván názor, že tato

nemoc je také bakteriálního původu.^{2,6,14} I když je dnes známo, že revmatoidní artritida je autoimunitní onemocnění, při němž dochází k poškození synoviální tkáně (kloubní výstelky) kloubu, jsou komplexy zlata i v dnešní době používané pro léčbu artritidy.¹⁵ Prvními takovými látkami byly zlatné Au(I) thioláty, jako například aurothioglukosa, aurothiomalát disodný nebo bis(thiosulfato)zlatnan trisodný.^{14,16} Tyto látky byly podávány injekčně do pacientova svalu.² V roce 1985 byla připravena látka (2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-glukopyranosyl)(triethylfosfin) zlatný komplex, neboli Auranofin (obrázek 3). Tato sloučenina má vysoce efektivní lineární vazbu P–Au–S. Výhodou této látky oproti dříve používaným je její rozpustnost v tucích namísto ve vodě (lipofilita). To umožňuje podávat pacientům toto léčivo orálně, kdy se poté látka vstřebává ve střevech. Zmíněná lipofilita má také za následek rozdílný průběh metabolismu Auranofinu v porovnání s jinými léčivy na bázi zlata. Oproti předchozím sloučeninám nedochází při léčbě artritidy Auranofinem k vedlejším účinkům, jakými jsou bledá kůže, kovová chuť v ústech nebo zvracení. Tato látka také vykazuje výraznou biologickou aktivitu vůči kosmopolitnímu parazitu *Entamoeba histolytica* způsobujícím amebózu, který má na svědomí okolo 70 000 úmrtí ročně. Auranofin je také potencionální inhibitor grampozitivních bakterií, které jsou rezistentní vůči antibiotikům, jako je například *Staphylococcus aureus*, který způsobuje záněty kůže, ale i život ohrožující sepse (otrava krve) a následné selhávání orgánů. Auranofin je také možným antimalarikem. Bylo zjištěno, že silně inhibuje růst parazita *Plasmodium falciparum*, který malárii způsobuje, tím že přímo inhibuje thioredoxin reduktázu.^{6,16,17}

Zmíněný enzym thioredoxin reduktáza také hraje významnou roli v proliferaci nádorových buněk mnoha rakovinných linní. V případě Auranofinu se předpokládá, že



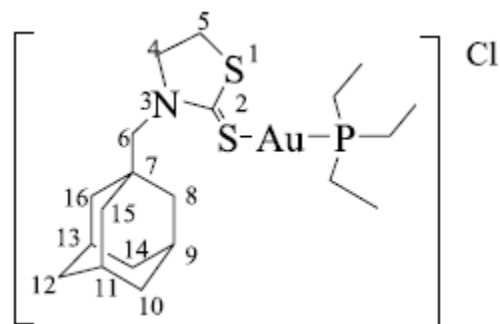
Obrázek 3: Strukturální vzorec Auranofinu

významnou protinádorovou aktivitu hraje fosfinový ligand. Toto potvrzuje fakt, že u difosfinového můstkového komplexu $[\text{ClAu}(\text{PPh}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{PPh}_2)\text{AuCl}]$ zjištěna biologická aktivita téměř srovnatelná s aktivitou *cisplatin*y. Při pokusech nahradit fosfinové ligandy jinými, bylo zaznamenáno snížení aktivity daného komplexu. Auranofin však při testech *in vivo* na laboratorních myších neprokázal přílišnou protinádorovou aktivitu, pouze proti nádorovým buňkám leukémie P388. Přesto bylo zjištění jeho protinádorové aktivity – alespoň pro leukémii P388 – začátkem pro studium a přípravu nových komplexních sloučenin odvozených od Auranofinu, které by mohly být potenciálními chemoterapeutiky.^{1,16,18}

Příkladem může být série devíti zlatných komplexů $[\text{Au}(\text{L}^2)(\text{PPh}_3)]$, kde L^2 představuje *N*-donorové ligandy mono- a disubstituovaných derivátů hypoxanthinu.¹⁴ Hypoxanthin je považován za slibný inhibitor cyklin-dependentních kináz, které hrají důležitou roli v regulaci buněčného cyklu a DNA reparačního proteinu *O*6-alkylguanine-DNA-alkyltransferasy.^{19,20} Tyto komplexy vykazují vyšší protinádorovou aktivitu než cisplatina, a to proti MCF7 (karcinom prsu), HOS (osteosarkom), A549 (karcinom plic), HeLa (karcinom děložního čípku), A2780 (karcinom vaječníku), A2780R (cisplatina-rezistentní karcinom vaječníku), 22Rv1 (karcinom prostaty), G-361 (maligní melanom) a THP-1 (leukémie) lidským rakovinným buněčným liniím. Sedm z devíti připravených komplexů také vykazovalo schopnost ovlivnění buněčného cyklu u THP-1 nádorové linie. Zároveň tyto látky projevovaly schopnost omezovat produkci cytokinů TNF- α a IL-1 β na stejné úrovni jako Auranofin, avšak s menší toxicitou.¹⁴

Dalším příkladem může být série čtyř zlatných komplexních sloučenin s ligandy odvozenými od adamantanu, 1,3-thiazolidinu nebo 1,3,4-oxadiazolinu v kombinaci s *P*-donorovým triethylfosfinem nebo triphenylfosfinem (obrázek 4). Všechny čtyři komplexy vykazovaly větší efektivitu a selektivitu *in vivo* na laboratorních myších než cisplatina, a to vůči buněčné linii melanomu (B16-F10), karcinomu tlustého střeva (CT26-WT) a adenokarcinomu prsu (4T1).²¹

Potenciální protinádorovou třídu léčiv představují také zlatité komplexní sloučeniny. Tyto čtvercově planární sloučeniny – izostrukturální a izoelektrické s Pt(II) komplexy, jako je cisplatina – jsou ovšem poměrně



Obrázek 4: Strukturální vzorec komplexu $[\text{Au}(\text{L}^1)(\text{PPh}_3)]$, kde L^1 = adamantan-azole, převzato z literatury [17]

nestabilní ve fyziologickém prostředí, jsou citlivé na světlo a v buňce často dochází k redukci Au(III) na Au(I). Snaha o vytvoření stabilních zlatitých komplexů vedla např. k vytvoření série komplexů s vícedentátními ligandy, jmenovitě $[\text{Au}(\text{phen})\text{Cl}_2]\text{Cl}$, $[\text{Au}(\text{terpy})\text{Cl}]\text{Cl}_2$, $[\text{AuCl}(\text{dien})]\text{Cl}_2$, $[\text{Au}(\text{cyclam})](\text{ClO}_4)_2\text{Cl}$ a $[\text{Au}(\text{en})_2]\text{Cl}_2$, u kterých byla prokázána jejich stabilita ve fyziologickém prostředí a některé z nich vykázaly i uspokojuvounou protinádorovou aktivitu; phen = fenanthrolin, terpy = terpyridin, dien = diethylentriamin, cyclam = ... a en = ethylendiamin.¹⁶

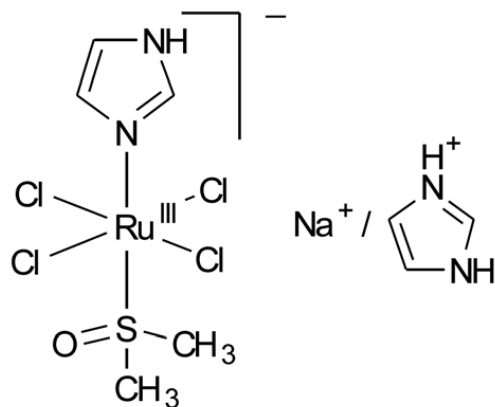
Zajímavým zjištěním v oblasti biologicky aktivních komplexů zlata byl fakt, že jednoduchý komplex $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$, vznikající biotransformací při chrysoterapii (označení pro léčbu pomocí sloučenin zlata) Auranofinem, dokáže inhibovat proliferaci viru HIV, který způsobuje AIDS. Při chrysoterapii bylo u pacientů nakažených virem HIV zanaménáno zvýšení počtu CD4^+ lymfocytů, které hrají významnou roli v imunitním systému. Virus HIV však počet těchto buněk snižuje. Při pětíměsíční terapii pomocí Auranofinu byl prokázán nárůst počtu CD4^+ lymfocytů z $160/\text{mm}^3$ na $390\text{--}400/\text{mm}^3$. Je tedy zřejmé, že některé sloučeniny zlata mohou mít pozitivní efekt také při léčbě viru HIV.^{6,22}

2.1.3 Biologicky aktivní komplexy ruthenia

Přestože ruthenium může existovat v oxidačním od 0 až po +VIII, potenciálně nejaktivnější a zároveň nejstabilnější ve vodných roztocích jsou komplexy s oxidačním stavem ruthenia +II a +III.² Některé komplexy ruthenia jsou schopné přímo atakovat a léčit nádor, zatímco jiné mohou zabraňovat šíření již vzniklých nádorů do jiných částí organismu (tzv. antimetastatická aktivita).⁶ Některé sloučeniny ruthenia měli tendence shromažďovat se v nádorové tkáni, což vedlo k hlubšímu bádání biologických vlastností jeho sloučenin. Navíc bylo zjištěno, že komplexy *fac*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_3\text{Cl}_3]$ a $[\text{RuCl}_2(\text{DMSO})_4]$ způsobují vláknitý růst bakterií *Escherichia coli*. Při dalším zkoumání byla objevena protinádorová aktivita *fac*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_3\text{Cl}_3]$ proti sarkomu EMT-6 u myší, avšak z důvodu velmi špatné rozpustnosti ve vodném prostředí byl tento komplex z budoucích testů vyřazen. Snaha o vytvoření vysoce biologicky aktivní látky se všemi farmakologicky potřebnými parametry, jako je dobrá rozpustnost, stabilita ve vodném prostředí atd., vedla k vytvoření *trans*-(imH) $[\text{RuCl}_4(\text{im})_2]$ (KP418), která posloužila jako výchozí látka pro sloučeniny KP1019 *trans*-(indH) $[\text{RuCl}_4(\text{ind})_2]$, NKP-1339 *trans*-Na $[\text{RuCl}_4(\text{ind})_2]$ (ind = indazole), NAMI *trans*-Na $[\text{RuCl}_4(\text{DMSO})(\text{im})]$ a NAMI-A *trans*-(imH) $[\text{RuCl}_4(\text{DMSO})(\text{im})]$ (im = imidazol, DMSO = dimethyl sulfoxid).^{5,21} Předpokládá se, že jsou tyto Ru(III) komplexy po aplikaci ve

fyziologickém prostředí zredukovány, a tím zároveň i zaktivovány, na formu s rutheniem v oxidačním stavu +II.^{23,24}

NAMI-A, je oktaedrický anionický komplex, s centrálním atomem ruthenia v oxidačním stavu +III, který byl jako první sloučenina ruthenia zařazen do klinického testování. *N*-donorový imidazolový ligand je vůči *S*-koordinovanému DMSO v *trans*-poloze a zbylými ligandy jsou čtyři chloridové anionty. Komplex NAMI-A je ve fyziologickém prostředí poměrně nestabilní a k jeho aktivaci tak může dojít náhradou chloridových ligandů za molekuly vody.^{6,25} Tato látka vykazuje vysokou efektivitu



Obrázek 5: Strukturální vzorec NAMI-A, převzato z [23]

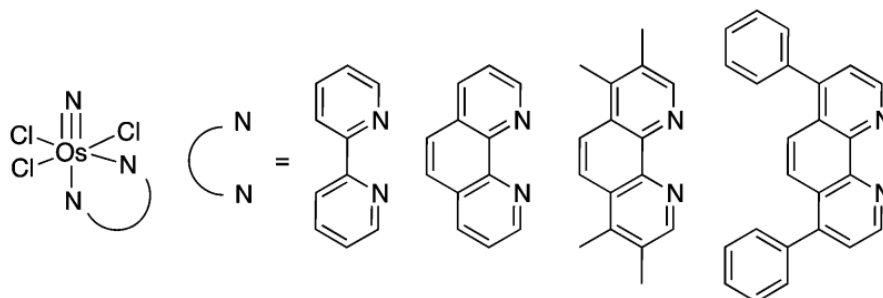
zejména vůči metastázím v již pokročilých stádiích rakoviny. Přesto, že tato látka vytváří adukty s DNA s mnohem menší efektivností, než například cisplatina, její efektivita je vysoká. Některé studie NAMI-A zaznamenaly její zásah do vzájemného působení nádorových buněk a mikroprostředí, ve kterém se tyto buňky nacházejí. Tento fakt může naznačovat, že dochází k interakci NAMI-A s buněčnou membránou nádoru a nikoliv jeho DNA. Tato látka vykazuje poměrně nízkou toxicitu a nyní se nachází v druhé fázi klinického testování.^{12,26}

Komplex NKP-1339, je sodným analogem látky KP1019. Obě tyto sloučeniny, syntetizované výzkumným týmem Prof. Kepplera ve Vídni, vykazují slibné protinádorové účinky. Látka NKP-1339 je oproti komplexu KP1019 lépe rozpustná ve vodě. Aplikace obou těchto látek probíhala v klinických studiích nitrožilním způsobem. Bylo prokázáno, že tyto látky se, po aplikaci do krevního řečiště, naváží na sérové proteiny albumin a transferin, které v těle fungují, mimo jiné funkce, jako účinné nosiče některých komplexních sloučenin při cíleném transportu léčiv.^{27,28} Mechanismus účinku KP1019 a NKP-1339 není primárně spjatý s tvorbou aduktů s DNA, ale jejich interakcí s intracelulárními proteiny v nádorové buňce. KP-1019 se ukázal jako aktivní vůči primárním nádorům, a to i těm, které jsou rezistentní vůči konvenční chemoterapii léčivý na bázi platiny. *In vivo* studie na laboratorních myších prokázaly aktivitu této látky proti karcinomu tlustého střeva MAC15A, který je rezistentní vůči cisplatině. Tento karcinom je svými biologickými vlastnostmi velmi podobný karcinomu tlustého střeva u lidí. Výhodou těchto látek je také jejich nízká toxicita pro organismus. V současné době jsou látky ve druhé fázi klinického testování.^{23,28}

Další skupinou látek, které jsou studovány pro jejich biologicky aktivní vlastnosti, jsou organokovové polosendvičové komplexní sloučeniny ruthenia s oxidačním stavem +II. Za první látku tohoto charakteru, která vykazuje protinádorovou aktivitu, je považován komplex s označením RAPTA-C o složení $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cym})(\text{PTA})\text{Cl}_2]$ ($p\text{-cym} = p\text{-cymen}$, $\text{PTA} = 1,3,5\text{-triazia-7-phosphatricyclo-[3.3.1.1]dekan}$), jehož analogy jsou později studované komplexy $[(\eta^6\text{-C}_6\text{H}_6)\text{Ru}(\text{L}^3)\text{Cl}_2]$ ($\text{L}^3 = \text{metronidazol}$, neboli $1\text{-}\beta\text{-hydroxyethyl-2-methyl-5-nitroimidazol}$) nebo $[\text{Ru}(p\text{-cym})(o\text{-pda})\text{Cl}]\text{PF}_6$ ($o\text{-pda} = 1,4\text{-phenylendiammin}$), který byl testován *in vitro* proti různým nádorovým liniím způsobujícím rakovinu prsu.^{6,29,30} Výsledky ukázaly, že tato látka by mohla být potenciálním léčivem proti metastázujícím prsním nádorům a to s minimální toxicitou pro zdravou tkáň.

2.1.4 Biologicky aktivní komplexy jiných kovů

Zajímavými komplexními sloučeninami, které vykazují protinádorovou aktivitu, jsou sloučeniny osmia, které se nachází v oxidačním stavu +VI. Jedná se o elektroneutrální nitrido komplexy s obecným vzorcem $[\text{OsN}(\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}_3]$, kdy jako bidentátní ligandy vystupují 2,2'-bipyridin, 1,10-fenantrolin, 3,4,7,8-tetramethyl-1,10-fenantrolin a 4,7-diphenyl-1,10-fenantrolin. Mechanismus účinku těchto komplexů spočívá v aktivaci proteinu p53, ovlivnění buněčného cyklu a následnými změnami DNA, vedoucími k apoptóze nádorových buněk.³¹



Obrázek 6: Obecný strukturální vzorec Os(VI) komplexů s různými bidentátními ligandy, převzato z [31]

Complex	A549 (lung)	HeLa (cervical)	A2780 (ovarian)	A2780/ CP70 (ovarian)	MRC-5 (lung normal)
1	6.11 ± 0.87	9.24 ± 0.58	3.80 ± 0.21	3.94 ± 1.75	21.57 ± 4.85
2	7.86 ± 1.41	6.95 ± 0.53	1.99 ± 0.23	2.96 ± 0.23	16.59 ± 3.61
3	14.89 ± 1.63	6.34 ± 0.52	7.97 ± 1.41	3.91 ± 0.26	17.19 ± 2.16
4	1.97 ± 0.02	2.86 ± 0.51	3.36 ± 0.09	3.40 ± 0.28	8.45 ± 1.21
cisplatin	3.59 ± 0.92	2.83 ± 0.06	1.41 ± 0.37	10.28 ± 1.50	11.14 ± 1.33

Obrázek 7: Hodnoty IC_{50} [$\mu\text{g/ml}$] komplexů osmia o složení $[\text{OsN}(\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}_3]$ proti pěti lidským nádorovým liniím; převzato z [31]

Oblast metaloterapeutik dnes není otázkou pouze sloučenin platinových kovů. Postupně jsou objevovány nové komplexy, jejichž centrálními atomy jsou prvky z různých skupin přechodných prvků nebo i p-prvků. Již ve 30. letech 20. století byly popsány terapeutické vlastnosti tartrátu gallitého ($\text{Ga}_2(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6)_3$). Tato sloučenina vykazovala schopnost likvidovat buňky syfilis. Při dávce 225 mg/kg byl úspěšně zlikvidován parazit *Trypanosoma evansi*, jenž způsobuje onemocnění velkých savců zvané surra. Postupem času byly objeveny sloučeniny gallia mající různé biologické vlastnosti, a to včetně protinádorových. Příkladem mohou být protinádorově aktivní komplexní sloučeniny gallia s chelatujícími ligandy jako je malonát (ma) nebo 8-hydroxychinolin (qui). Komplex $[\text{Ga}(\text{ma})_3]$ dosáhl druhé fázi klinického testování proti rakovině močového měchýře, lymfomům a mnohačetnému myelomu, ale klinické testy byly předčasně ukončeny. $[\text{Ga}(\text{qui})_3]$, byl při testech na krysách účinný proti Walkerovu karcinosarkomu 256. Také byl efektivní vůči plicním nádorům, které vykazují rezistenci vůči mnoha chemoterapeutikům. Tato sloučenina úspěšně absolvovala I. fázi klinických testů.^{2,6}

Další skupinou biologicky aktivních látek jsou sloučeniny arsenu. Například oxid arsenitý, As_2O_3 , obecně považován za velice toxický, byl v roce 2000 v USA schválen jako chemoterapeutikum pro léčbu akutní promyelotické leukemie a nyní je navíc ve druhé fázi klinického testování proti plicním a jiným nádorům. S-dimethylarsino-glutathion, známý pod názvem Darinaparsin, může být ukázkou další klinicky používané sloučeniny arsenu schválenou pro léčbu periferního T-lymfomu.^{6,32}

2.2. Bioanorganická chemie prvků V.B skupiny PSP

Bioanorganická chemie vanadu a niobu se dočkala pozornosti především díky jejich oxo- a peroxy-sloučeninám, které vykazovaly nějrůznější biologické aktivity, jako například insulin-napodobující vlastnoti popsané pro zmíněné sloučeniny vanadu.³³ V následujícím textu budou popsány různé druhy biologických aktivit sloučenin těchto dvou prvků.

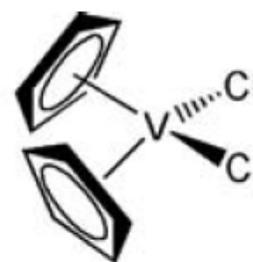
2.2.1. Vanad

První zmínka o využití vanadu v medicíně pochází z konce 19. století, kdy francouzský lékař B. Lyonnet popsal schopnost vanadičnanu sodného, Na_3VO_4 , snižovat krevní cukr u pacientů trpících diabetem. V 80. letech 20. století byla při pokusech na laboratorních myších zjištěna schopnost iontů VO_4^{3-} a VO^{2+} oxidovat glukózu přímo v tukové

tkáni testovaných zvířat, přičemž vanadičnan sodný byl dokonce schopen kontrolovat krevní cukr. Tyto poznatky vedly k vytvoření mnoha nových komplexních sloučenin vanadu, kde oxidační stav vanadu je +IV a +V.^{1,2}

V živých organismech se vanad nachází v nízkých koncentracích. V lidském těle je tohoto prvku celkově pouze kolem 100 µg, ale jeho funkce zatím nebyla zcela objasněna.⁶ Nicméně bylo prokázáno, že důležitou roli zastupuje vanad jako kofaktor v molekule nitrogenázy při fixaci vzdušného dusíku u několika rodů bakterií a sinic. Také je důležitou součástí enzymů haloperoxidáz závislých na vanadu, které se nacházejí v řasách, houbách a bakteriích.³⁴ Ve fyziologickém prostředí se anion VO_4^{3-} vyskytuje převážně ve formě iontů $[\text{HVO}_4]^{2-}$ nebo $[\text{H}_2\text{VO}_4]^-$, popřípadě jako kation VO^{2+} (v závislosti na pH). Vanad poměrně snadno přechází mezi svými oxidačními stavy +IV a +V. Za aerobních podmínek je V(IV) oxidován na V(V), přičemž V(V) je v buňce redukován látkami jakými jsou například NADH, glutathion nebo oligopeptidy obsahující cystein. Vanad ve formě $[\text{H}_2\text{VO}_4]^-$ také může hrát významnou roli jako regulátor fosfát-metabilizujících enzymů v léčbě diabetu. Při klinickém testování na zvířatech komplexy bis-(ethylmaltolato)oxovanadičitý (BEOV) a bis-(maltolato)oxovanadičitý (BMOV) po podání vykazovaly schopnost stabilizace hladiny glukózy při hyperglykemii a stejně tak zvýšení hladiny glukózy v krvi po utlumení funkce β -buněk pankreatu.^{6,35} Přestože látka BMOV podstoupila 2. fázi klinického testování, vykazovala bohužel negativní účinky na ledviny. Látka BBOV při *in vivo* testech vykazovala menší toxicitu než BMOV.³² Výhodou použití komplexních sloučenin vanadu, oproti inzulínu, je jejich orální užívání a také to, že tato léčiva vykazují aktivitu jak pro diabetes melitus I. typu, tak pro diabetes melitus II. typu.⁶

Syntéza nových, potencionálně biologicky aktivních sloučenin vanadu se zaměřuje především na vanad ve formě solí VO_4^{3-} a VO^{2+} , komplexy vanadu a peroxidu vodíku a komplexy obsahující chelatující ligandy.^{2,6} Kromě antidiabetických vlastností, některé komplexní sloučeniny vanadu vykazují také protinádorovou aktivitu. Köpf-Maier a Köpf poprvé poukázali na protinádorovou aktivitu tzv. dichloridu vanadocenu, tedy bis(η^5 -cyklopentadienyl)-dichlorovanadičitého komplexu ($[\text{V}(\eta^5\text{-Cp})_2\text{Cl}_2]$), proti Ehrlichovu ascitu (pojem ascites označuje nahromadění tekutin v podbřišní dutině), který zároveň vykazoval menší vedlejší účinky a toxicitu pro zdravé buňky než cisplatin. Podobnost mezi $[\text{H}_2\text{VO}_4]^-$ a $[\text{HPO}_4]^{2-}$ ionty ve fyziologickém prostředí pravděpodobně hraje významnou roli při degeneraci nádorových



Obrázek 8: Strukturální vzorec vanadocen dichloridu, převzato z [6]

buněk komplexem $[V(\eta^5\text{-Cp})_2\text{Cl}_2]$, a to z důvodu inhibice tyrosinofosfatázy, která vede ke zvýšení fosforylace tyrosinových částí proteinů, a tím postupně – přes další signální dráhy – k aktivaci genů tlumících buněčné dělení v nádorových buňkách. Dá se tedy předpokládat, že deriváty $[V(\eta^5\text{-Cp})_2\text{Cl}_2]$ budou mít slibné protinádorové účinky.⁶ Příkladem může být komplex $[V(\eta^5\text{-Cp})_2(\text{L}^4)]\text{OTf}$; $\text{L}^4 = 1,10$ fenantrolin-5-amin a $\text{OTf} =$ trifluoromethansulfonate. Při *in vitro* testech proti čtrnácti odlišným nádorovým liniím tato látka nejúčinněji působila proti akutní lymfoblastické leukemii (MOLT-4) a lymfocytické leukemii (Jurkat). Účinnost této látky byla až dvacetinásobná, oproti výše zmíněnému dichloridu vanadocenu. Pro srovnání byla použita také cisplatina. Výsledky ukázaly, že uvedený komplex vanadu $[V(\eta^5\text{-Cp})_2(\text{L}^4)]\text{OTf}$ vykazuje stejnou efektivitu proti použitým nádorovým buňkám jako cisplatina. Navíc, v prvních 24 hodinách po aplikaci látky došlo ve srovnání s cisplatinou k proliferaci většího počtu nádorových buněk.³⁶

Některé sloučeniny vanadu také vykazují *in vitro* antiparazitární aktivitu vůči *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei*, *Leishmania* spp. nebo *Entamoeba histolytica*. Tito paraziti způsobují vážná onemocnění, například Chagasovu chorobu nebo spavou nemoc, která je rozšířená především na Africkém kontinentu. Vzhledem k tomu, že proti spavé nemoci existují pouze čtyři léky, a to Pentamidine, Suramin, Melarsopol a Eflornithine, které vykazují některé nežádoucí vedlejší účinky a jejich použití je částečně omezeno např. stádiem, ve kterém se parazit v danou chvíli nachází, je snahou vědců vyvinout nové a efektivnější léčiva, kterými mohou být i komplexy na bázi vanadu.³⁷

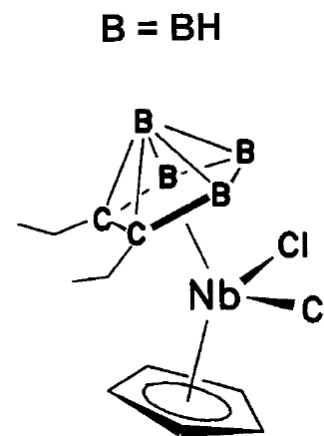
Z výše uvedených literárních poznatků je zřejmé, že některé sloučeniny vanadu by perspektivně mohly najít využití v mnoha odvětvích humánní medicíny, ať už jako protinádorová chemoterapeutika, antidiabetika nebo antiparazitika.

2.2.2 Niob

Přestože niob nachází využití zejména v řadě korozivzdorných ocelí nebo ve slitinách se zirkoniem jako supravodič, jsou známy i některé jeho biologicky aktivní sloučeniny. Antimikrobiální aktivitu například proti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* nebo *Aspergillus niger* vykazovala série dvoujaderných komplexů obecného vzorce $[\text{NbO}(\text{L}^5)(\text{L}^6)]_2(\text{L}^6)$, kde $\text{L}^5 =$ trimeprazin tartrát (TMT), isothipendyl hydrochlorid (IPH), fluphenazin dihydrochlorid (FPH), imipramin hydrochlorid (IMH) a desipramin hydrochlorid (DMH), a $\text{L}^6 =$ tartrát.³³ Stejně jako vanad vytváří i niob bis(η^5 -cyklopentadienyl)-dichloroniobičitý komplex, $[\text{Nb}(\eta^5\text{-Cp})_2\text{Cl}_2]$ (též niobocen). Tato látka byla při testech

schopna inhibovat topoizomerázu II, která hraje důležitou roli v metabolických procesech DNA.

Inhibice topoizomerázy II využívají některá protinádorová činidla používaná v praxi.^{38,39} Aktivitu $[\text{Nb}(\eta^5\text{-Cp})_2\text{Cl}_2]$ lze zvýšit náhradou cyklopentadienylových nebo chloro ligandů v rámci analogických metallocenů niobu. Některé takové látky, kde byly ligandy Cp nahrazeny methoxybenzylými ligandy, vykazovaly vyšší biologickou aktivitu proti akutní lymfoblastické leukemii (MOLT-4) než samotný niobocen. Příkladem může být srovnání aktivity látek $[\text{Nb}(\eta^5\text{-Cp})_2\text{Cl}_2]$ a $[\text{Nb}(\eta^5\text{-Cp}^x)_2\text{Cl}_2]$, kdy hodnoty v IC_{50} se pro tyto komplexy rovnaly $49 \pm 5 \mu\text{M}$ resp. $14 \pm 1 \mu\text{M}$ vůči zmíněné MOLT-4 línii; $\text{Cp}^x = 2,4$ -dimethoxybenzyl substituovaný cyklopentadien.⁴⁰ U



Obrázek 9: Strukturální vzorec protinádorově aktivního komplexu niobu, převzato z [3]

jedenáctivrcholového niobatrikarbadekaboranyl monohalidového komplexu byla prokázána protinádorová aktivita vůči myši a lidské leukémii, růstu lymfomu a také pozastavení vzniku karcinomu dělohy HeLa.⁴¹ Taktéž byla prokázána protinádorová aktivita metallokarboranového komplexu $[(\text{Nb}(\eta^5\text{-Cp})(\text{L}^7)\text{Cl}_2)]$; $\text{L}^7 = \text{Et}_2\text{C}_2\text{B}_4\text{H}_4$.³ Bylo také zjištěno, že sloučeniny niobu obsahující polyoxometaláty, jsou schopné inhibovat HIV-1 proteazu, která má důležitou funkci ve vývoji viru HIV.⁴²

2.3 Tantal

2.3.1 Obecné vlastnosti

Tento kov byl objeven v roce 1802 švédským chemikem Andersem Gustafem Ekebergem ve dvou nerostech vytěžených v Kimito ve Finsku a v Ytterby ve Švédsku.^{43,44} Tantal (jméno dostal po Tantalovi, který byl podle řecké báje v podsvětí sužován žizní) je těžký, poměrně tvrdý, platinově šedý, lesklý kov, který vyniká vysokou tažností rostoucí s jeho čistotou. V přírodě se tantal vyskytuje společně s niobem v minerálu kolumbitu, $(\text{Fe},\text{Mn})(\text{NbTa})_2\text{O}_6$, který v závislosti na obsahu zmíněných prvků V.B skupiny PSP nazýváme tantalit (s vyšším podílem tantalu než niobu) resp. niobit (s vyšším podílem niobu). Mezi jeho nejvýznamnější naleziště patří centrální Afrika, Austrálie, Jižní Amerika nebo Asie. Těžba však probíhala i ve Skandinávii a jeho výskyt je tak prakticky na všech kontinentech. Získávání tantalu se provádí zahříváním těchto rud se zásadami, kdy vznikají polyniobičnany a polytantaličnany, které poté se zředěnými kyselinami poskytují Nb_2O_5 a

Ta₂O₅. Tyto oxidy jsou posléze děleny na základě zásaditějšího charakteru tantalu, kdy reagují ve vodném roztoku se směsí HF a KF za vzniku směsi K₂[NbF₅O] a K₂[TaF₇]. Poté se od sebe tyto sloučeniny oddělí na základě rozdílných rozpustností. Dalším způsobem v procesu výroby tantalu je frakční extrakce z vodného roztoku HF do methyl(isobutyl)ketonu.

Tantal se vyznačuje velmi vysokou teplotou tání a neobyčejnou odolností vůči korozi při působení vzduchu a vody, způsobenou pasivací pomocí povrchové vrstvy oxidu. Nereaguje s neoxidujícími kyselinami a za normálních podmínek reaguje jen s několika činidly, jako jsou HF nebo směs HF/HNO₃. Za vysokých teplot reaguje s O₂, s halogeny, s většinou ostatních nekovů a také s roztavenými zásadami. Používá se do korozivzdorných slitin, jako jsou například konstrukční materiály v chemickém průmyslu a díky své inertnosti je často využíván pro výrobu chirurgických nástrojů a endoprotéz. Tantal se také stal nedílnou součástí elektronických součástek, zejména kondenzátorů pro mobilní telefony a počítače.^{43,44}



Obrázek 10: Tantal; převzato z [46]

2.3.2. Koordinační chemie

Tantal vytváří koordinační sloučeniny s oxidačním číslem od -I až po +V a s koordinačním číslem 6, 7 a 8.^{43,44,45} Koordinační geometrie komplexních sloučenin tantalu s koordinačním číslem 6 je různorodá. Převážná většina komplexů obsahujících jednoduché ligandy, jejichž donorovými atomy jsou O, N, S nebo P, tvoří oktaedrické komplexy typu [TaX₅L]. Existuje však malá skupina komplexů s elektronovou konfigurací kovu d⁰ a d¹, jejichž centrální atom leží v centru pravidelného trigonálního prizmatického uspořádání (D_{3h}) nebo deformovaného trigonálního prizmatu (C_{3v}). Příkladem pravidelného trigonálního uspořádání může být [TaMe₆]⁻, zatímco [TaPh₆]⁻ nebo (AsPh₄)[Ta(L⁸)₃] mají tvar deformovaného trigonálního prizmatu. Společnou charakteristikou ligandů tvořících tyto komplexy je absence π-donorových nebo π-akceptorových vlastností, jsou pouze σ-donory. Komplexy tantalu s koordinačním číslem 7 mohou mít tvar trigonálního prizmatu s přidaným vrcholem, oktaedru s přidaným vrcholem nebo pentagonální bipyramidy. Komplex [TaF₇]²⁻ (d⁰) je příkladem trigonálního prizmatu s přidaným vrcholem. Oktaedr s přidaným vrcholem tvoří např. komplex [TaCl₄(PMe₃)₃] (d¹). Komplexem s koordinačním číslem 8 je například

$\text{Na}_3[\text{TaF}_8]$ (d^0), který zaujímá tvar tetragonálního antiprizmatu. Méně častým tvarem koordinačního okolí může být tvar hexagonální bipyramidy, který se vyskytuje v komplexech obsahujících šestivazný makrocyclický ligand.

Tantal, stejně jako prvky nacházející se ve stejné části periodické tabulky, má v nižších oxidačních stavech tendence vytvářet vazbu kov-kov. Příkladem takové sloučeniny může být komplex $[\{\text{TaCl}_2(\text{Me}_2\text{S})\}_2(\mu\text{-Cl})_2(\mu\text{-Me}_2\text{S})]$ (d^2).^{43,44}

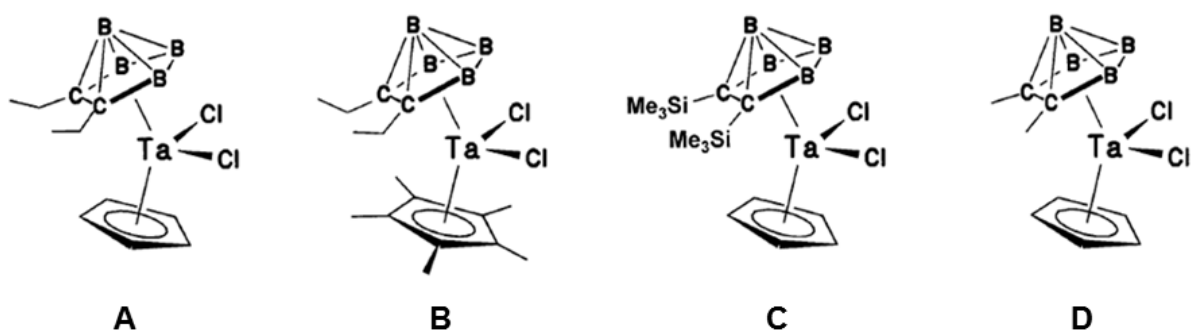
2.2.3. Biologické a katalytické vlastnosti tantalu

Biologie a biologická aktivita tantalu a jeho sloučenin není doposud příliš probádaná. Při studiích *in vivo*, kdy byly studovány reakce a vstřebávání tantalu i oxidu tantaličného (Ta_2O_5) v dýchacím a trávicím ústrojí, byla zjištěna pouze minimální absorpce těchto látek. Po několikaletém působení těchto sloučenin na dýchací a trávicí soustavu, bylo zjištěno minimální množství absorbovaného tantalu v plicích (325 ppm), pouze 1 ppm v krvi a 3 ppb v moči. Toto souvisí s velmi malou rozpustností a inertností těchto látek ve fyziologickém prostředí. Při injekčním podání roztoku s ^{182}Ta zvířatům, bylo zjištěno, že v těle zůstalo pouze 15% podané dávky a zbytek byl velice rychle vyloučen. Největší nahromadění tantalu (okolo 40% z nevyložené dávky) bylo pozorováno v kostech. *In vitro* studie s rozpustným ^{182}Ta nezaznamenaly žádné vytvoření specifické vazby tantal-protein. V lidských plicích se rozpuštěný ^{182}Ta hromadí zejména v cytosolu buňky. Při podání práškového tantalu bylo zjištěno, že částice velikosti 50 μm jsou transportovány pomocí lymfatického systému, a to pravděpodobně pomocí makrofágů, které tyto částice fagocytují. Při implantaci tantalu – ve formě plátů, sítí nebo tyčinek – do měkké tkáně zvířat nebo člověka, byla zaznamenána reakce této tkáně, kdy vytvořila tenkou membránu okolo částice, aniž by byl současně vytvořen zánět. Tento jev byl také pozorován u titanu a jeho slitin, stejně tak i u zirkonia, platiny nebo niobu. Tvorba této membrány byla pozorována také při implantaci například v oblasti cerebrálního kortexu. Vzácně se však vytvořily velice vážné abscesy, což mohlo být způsobeno vznikajícím zánětem.⁴⁷ Amorfni Ta_2O_5 ve formě tenké vrstvy vykazoval dobré antimikrobiální vlastnosti vůči gram-negativním a gram-pozitivním bakteriím, jako jsou *Staphylococcus aureus* a *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Tohoto poznatku může být využito při prevenci proti zánětům v osseointegraci (implantace předem zhotoveného implantátu přímo do kosti pacienta).⁴⁸ Nanočástice oxidu tantalu (TaO_x) mohou být také využity ve fototermální terapii, kdy se tyto nanočástice specificky naváží na nádorové buňky, poté jsou osvětleny a tuto světelnou energii přemění na tepelnou, čímž poškodí nádorové buňky.^{49,50} Mnohé sloučeniny přechodných kovů nacházejí využití jako katalyzátory, např.

v organické chemii. Některé komplexy ruthenia mohou katalyzovat redukci ketonu, jiné komplexy iridia zase katalyzují hydrogenaci iminů nebo dvojných vazeb u alkenů. V dnešní době je ovšem v oblasti bioanorganické chemie již dobře známé, že těchto vlastností katalyzátorů na bázi komplexů přechodných kovů je možné využít také pro katalýzu některých vnitrobuněčných pochodů, vedoucích v konečném důsledku např. k apoptóze nebo inhibici proliferace nádorových buněk.^{51,52,53} Je tedy možné, na základě uvedeného, předpokládat, že i komplexy, které taktéž vystupují jako katalyzátory mnoha typů reakcí v organické syntéze, mohou tuto svoji katalytickou aktivitu přenést do biologického prostředí a působit tak např. na nádorové buňky.

Stejně jako výše zmíněné metalloceny vanadu a niobu, existují podobné látky na bázi tantalu. Nicméně, doposud jedinými komplexy tantalu studovanými pro jejich biologickou aktivitu, jsou metalokarborany tantalu, konkrétně pseudotetraedrické komplexy obecného složení $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^x)(\eta^5\text{-karb})\text{Cl}_2]$ (označení **A–D** viz. obrázek **X**), kde Cp^x = pentametylcyklopentadienyl (Cp) nebo 1,2,3,4,5-pentametylcyklopentadienyl (Cp^*), a karb = substituovaný karboran $\text{nido-R}_2\text{C}_2\text{B}_4\text{H}_2^{2-}$ (R = methyl, ethyl nebo trimethylsilyl) (obrázek 11).³ Karboranové anionty, vystupující v těchto sloučeninách jako η^5 -ligandy, jsou isoelektrické a prakticky stejně velké, jako cyklopentadienylový ligand.³

Tyto látky vykazovaly protinádorovou aktivitu proti mnoha rozdílným nádorovým liniím. Například komplexy **C**, **D** vykazovaly efektivitu vůči myší leukémii L1210. Látka **D** také liniím lymfomu HuT-78, HeLa-S³ karcinomu děložního čípku nebo prsnímu nádoru MCF7. Vůči mnoha jiným nádorovým liniím však byly tyto sloučeniny neefektivní. Výsledky testování cytotoxicity jsou v hodnotách IC_{50} [$\mu\text{g/ml}$] uvedeny v obrázku **11**, přičemž autory stanovené množství, které bylo považováno za důkaz inhibice nádorových buněk, bylo 4 $\mu\text{g/ml}$.



	L1210 leukemia	P388 leukemia	Tmolt ₃ leukemia	Tmolt ₄ leukemia	HI-60 leukemia	HuT-78 lymphoma	THP-1 acute monocytic leukemia	HeLa-S ³ uterine carcinoma
A	3.33	3.71	3.37	3.51	2.97	1.38	3.67	2.95
B	3.27	3.86	3.33	2.17	4.56	3.82	2.71	2.72
C	2.12	3.89	2.59	4.52	4.27	4.99	4.87	2.34
D	1.51	4.07	4.59	3.57	3.41	2.34	4.87	2.95
Standards								
6-MP	2.43	2.04	0.43	2.67	6.36	1.63	3.34	2.12
Ara-C	2.07	0.79	1.29	2.36	3.90	2.50	2.54	2.13
HU	2.67	1.30	4.47	6.68	5.22	3.87		1.96

	KB Nasopharynx	Colon SW480	Lung A549	Lung MB9812	HeLa solid uterine	Melanoma Sk-Mel2	HCT-8 ileum	MCF7 breast	Caki kidney	Saos-2 bone	A431 skin	Glioma U-87-MG
A	9.56	8.94	7.99	7.16	7.06	7.53	7.81	11.54	7.65	9.09	6.77	5.48
B	8.00	8.91	7.13	7.09	7.62	3.94	5.59	5.60	6.29	6.46	10.48	6.32
C	6.61	8.38	7.11	5.28	6.51	4.27	6.04	2.88	5.82	5.51	9.39	6.59
D	9.02	9.90	7.12	9.53	7.91	3.78	7.61	2.99	6.37	11.90	10.13	7.30
Standards												
6-MP	5.74	3.61	4.71	4.29	5.61	6.86	1.15	8.84	9.35	7.16	9.13	4.46
Ara-C	2.84	3.42	5.62	6.16	4.74	10.53	2.54	12.45	1.38	13.97	0.86	1.88
HU	5.27	7.33	8.89	7.18	8.12		1.77				2.87	2.27

Obrázek 11: Strukturální vzorce (nahore) a výsledky testování cytotoxicity $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^x)(\eta^5\text{-karb})\text{Cl}_2]$ komplexů vůči suspendovaným (uprostřed) a solidním (dole) nádorovým liniím; $\text{Cp}^x = \text{pentametylcyklopentadienyl (Cp)}$ nebo $1,2,3,4,5\text{-pentametylcyklopentadienyl (Cp}^*)$, $\text{karb} = \textit{nido}\text{-R}_2\text{C}_2\text{B}_4\text{H}_2^{2-}$ ($\text{R} = \text{methyl, ethyl nebo trimethylsilyl}$). Převzato z literatury [3]

Mechanismus účinku těchto látek pravděpodobně zahrnuje inhibici enzymu dihydrofolátreduktázy, který je nezbytný pro syntézu nukleových bází a také pro opravy nukleových kyselin. Tento krok tedy vede k potlačení syntézy RNA a DNA. Bylo zjištěno, že kromě dihydrofolátreduktázy, tyto látky inhibují aktivitu enzymů PRPP amidotransferázy, IMP dehydrogenázy, které hrají důležitou roli v metabolismu purinových bází, a karbamoylfosfátsyntázy spolu s aspartáttranskarbamoylasy, které jsou významné v metabolismu pyrimidinových bází. Stejně tak inhibují DNA-polymerázu α , která je důležitá při replikaci DNA, dále nukleosidkinázu a ribonukleosidreduktázu. Tyto děje ve výsledku

vedou až k buněčné smrti.³ Tyto výsledky mohou být důkazem toho, že koordinační sloučeniny tantalu v sobě skrývají vysoký biologický potenciál a výraznou perspektivu směrem k následným biologickým studiím

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Chemikálie a přístroje

Chemikálie a rozpouštědla potřebné k syntézám byly hydrid draselný (KH), 1,2,3,4,5-pentamethylcyklopentadien (Cp^*H), trimethylsilylchlorid (TMSCl), chlorid tantalický (TaCl_5) 1,2,3,4,5-pentamethylcyklopentadienyl-tetrachlorotantalický komplex ($[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_4]$), pyridin-2,6-dikarboxylová kyselina (H_2dpa), tetrahydrofuran (THF), dichlormethan, toluen a methanol byly zakoupeny ze společností Sigma-Aldrich s.r.o., VWR International s.r.o. a Litolab s.r.o. Schiffovy báze 2-hydroxyfenylsalicylaldimin (H_2salaph) a 2-hydroxy3-ethoxyfenylsalicylaldimin ($\text{H}_2\text{3e-salaph}$) byly poskytnuty Ing. Ivanem Nemcem, Ph.D.

Elementární analýza byla provedena na elementárním analyzátoru Flash 2000 CHNS (Thermo Scientific). Infračervená spektroskopie byla provedena ATR technikou na spektrometru Nexus 670 FT-IR (Thermo Nicolet) ve střední infračervené oblasti ($400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$). Hmotnostní spektra v pozitivním (ESI+) ionizačním módu byla pro komplexu rozpuštěné v methanolu zaznamenána na přístroji LCQ Fleet (Thermo Scientific). ^1H (pro **1–4**) a ^{13}C NMR (pro **1, 2** a H_2dpa včetně 2D experimentů ^1H - ^1H gs-COSY, ^1H - ^{13}C gs-HMQC a ^1H - ^{13}C gs-HMBC (COSY = correlation spectroscopy, HMQC = heteronuclear multiple quantum coherence, HMBC = heteronuclear multiple bond coherence) spektroskopie byla provedena na přístroji JNM-ECA600II (JEOL) při ^1H NMR frekvenci 600 MHz a při teplotě $25\text{ }^\circ\text{C}$. Studované komplexy byly rozpuštěné v CDCl_3 nebo $\text{DMSO-}d_6$. Jak ^1H tak i ^{13}C NMR spektra byly kalibrovány vůči residuálním signálům použitého rozpouštědla, tedy 7,26 ppm pro ^1H NMR v CDCl_3 , 2,50 ppm pro ^1H NMR v $\text{DMSO-}d_6$ a 39,5 ppm pro ^{13}C NMR v $\text{DMSO-}d_6$. Štěpení vodíkových signálů je definované jako s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvadruplet a m = multiplet.

3.2. Syntéza

Syntéza $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_4]$

*Syntéza KCp^**

640 mg (0,016 mol) KH bylo rozsuspendováno ve 40 ml THF a ochlazeno na $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Následně bylo za uvedené teploty po kapkách přidáno 2,5 ml (0,016 mol) vychlazeného 1,2,3,4,5-pentamethylcyklopentadienu (Cp^*H). Po přidání byla zvýšena teplota směsi na teplotu okolí, při které byla reakční směs míchána 20 minut. Následně byla reakční směs zahřata na $70\text{ }^\circ\text{C}$ a při této teplotě byla míchána po dobu 2 hodin (Schéma 1). Výsledný

šedobílý produkt byl odizolován centrifugací a následně několikrát promyt hexanem (3 × 5 ml).

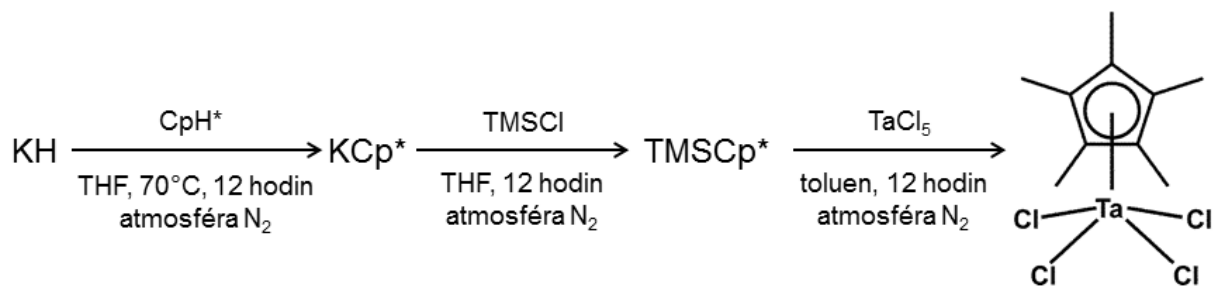


Schéma 1: Schéma syntézy výchozího komplexu $[Ta(\eta^5-Cp^*)Cl_4]$;

$Cp^*H = 1,2,3,4,5$ -pentamethylcyklopentadien, $TMSCl =$ trimethylsilylchlorid

Syntéza $TMSCp^$*

Připravený KCp^* byl rozsuspendován v 50 ml THF a ochlazen na 0 °C. Poté bylo po kapkách přidáno 1,7 ml (0,013 mol) a suspenze se postupně vyčeřila a získala nažloutlou barvu. Po 12 hodinách míchání za pokojové teploty se barva změnila do žluto-oranžové. Reakční směs byla přefiltrována přes fritu a filtrát byl posléze odpařen na rotační vakuové odparce a vyfoukán dusíkem. Tímto vznikl žlutý produkt olejovité konzistence.

Syntéza $[Ta(\eta^5-Cp^)Cl_4]$*

Byly připraveny suspenze 100 mg $TaCl_5$ v 5 ml toluenu a 170 mg $TMSCp^*$ v dalších 5 ml toluenu, které byly odděleně ochlazeny na -20 °C. Roztok $TMSCp^*$ byl po kapkách přidán k suspenzi $TaCl_5$ a vzniklá reakční směs se míchala při pokojové teplotě přes noc. Vzniklá fialová sraženina byla odfiltrována, promyta toluenem a vysušena v exsikátoru pod vakuem.

$[Ta(\eta^5-Cp^*)Cl_4]$: *Anal.* vypočteno pro $TaC_{10}H_{15}Cl_4$: C, 26,2; H, 3,3. Nalezeno: C, 34,8; H, 3,8 %.

Syntéza $[Ta(\eta^5-Cp^*)(dpa)Cl_2]$ (1)

45,8 mg (0,1 mmol) komerčně dostupného $[TaCp^*Cl_4]$ bylo spolu se 17,7 mg (0,1 mmol) pyridin-2,6-dikarboxylové kyseliny vsypáno do vialky pro mikrovlnnou syntézu a rozsuspendováno v 5 ml dichlormethanu (schéma 2). Vzniklá suspenze byla vložena do mikrovlnného syntetizátoru (pro syntézu byl použit mikrovlnný reakční systém Monowave 300 (Anton Paar), kde probíhala syntéza při 140 °C a tlaku ca 12,5 bar po dobu 3 minut. Po

ochlazení na laboratorní teplotu byla vzniklá, jasně žlutá látka pevného skupenství, odizolována filtrací. Produkt byl následně rozpuštěn v toluenu (3 ml), přefiltrována a získaný filtrát byl vyfoukán dusíkem do sucha. Finální produkt byl promyt hexanem (3 ml) a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

[Ta(η^5 -Cp*)(dpa)Cl₂] (**1**): *Anal.* vypočteno pro TaC₁₇H₁₈NO₄Cl₂: C, 37,0; H, 3,3; N, 2,5. Nalezeno: C, 37,2; H, 3,1; N, 2,3 %. ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, ppm): 8,37 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 8,28 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,54 (s, 15H). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, ppm): 166,3, 146,3, 144,1, 131,8, 130,3, 11,9. ESI+ MS (MeOH): 573,9 (vyp. 574,0; 25%; {[Ta(Cp*)(dpa)Cl₂]+Na}⁺), 551,8 (vyp. 552,0; 10%; {[Ta(Cp*)(dpa)Cl₂]+H}⁺), 516,1 (vyp. 516,0; 20%; [Ta(Cp*)(dpa)Cl]⁺), 512,2 (vyp. 512,2; 100%; {[Ta(Cp*)(dpa)]+OCH₃}⁺). IR (ATR/cm⁻¹): 3436w, 3087m, 3051m, 3022w, 3001w, 2961w, 2919w, 2868w, 1760w, 1713s, 1643m, 1603w, 1582w, 1487m, 1469m, 1433m, 1379m, 1337w, 1297s, 1128ms, 1111ms, 1083s, 1035m, 1019m, 914ms, 852w, 835w, 776m, 752m, 677m, 595w, 457w, 439w.

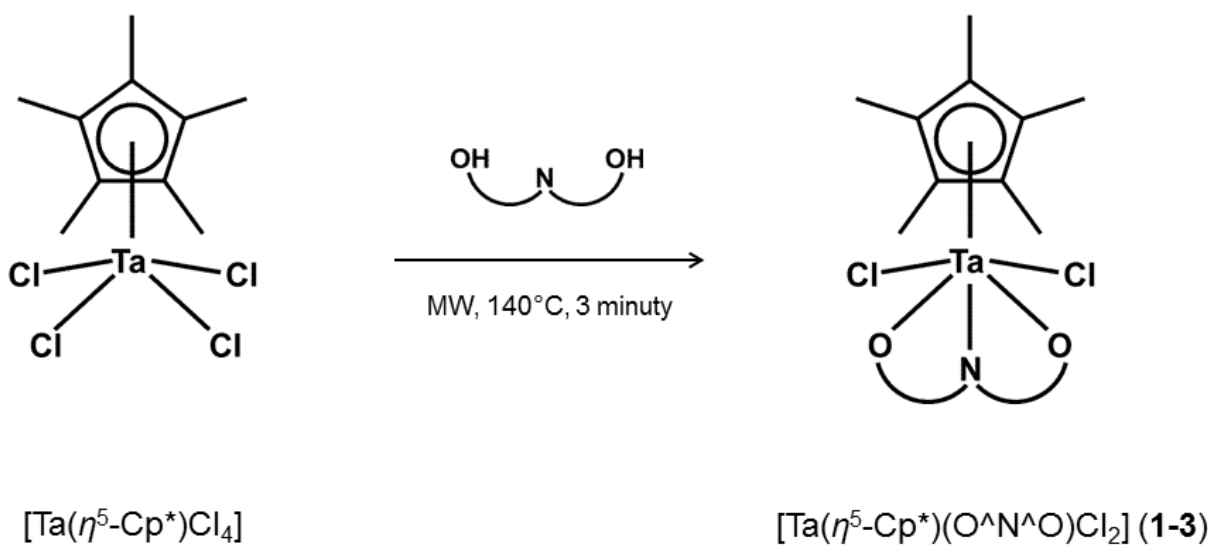


Schéma 2: Syntéza komplexů [Ta(η^5 -Cp*)(N[^]O[^]N)Cl₂] (**1–3**), kdy N[^]O[^]N = dpa (**1**), salaph (**2**) nebo 3e-salaph (**3**)

Syntéza [Ta(η^5 -Cp*)(salaph)Cl₂] (**2**)

[TaCp*Cl₄] (45,8 mg; 0,1 mmol) a 21,3 mg (0,1 mmol) H₂-salaph reagovalo po dobu 3 minut v mikrovlnném syntetizátoru v 5 ml dichlormethanu při teplotě 140 °C (schéma 2). Byla pozorována změna barvy z oranžové na sytě červenou. Po skončení reakce a ochlazení na

laboratorní teplotu se vzniklý prášek oddělil filtrací a byl promyt toluenem. Vzniklý červený produkt byl zbaven zbylého rozpouštědla v exsikátoru pod vakuem.

[Ta(η^5 -Cp*)(salaph)Cl₂] (**2**): *Anal.* vypočteno pro TaC₂₃H₂₄NO₂Cl₂: C, 46,2; H, 4,0; N, 2,3. Nalezeno: C, 46,3; H, 4,0; N, 2,0 %. ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, ppm): 8,25 (s, 1H), 7,33 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,24 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,07 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,79 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,74 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,50 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,46 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 2,35 (s, 15H). ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, ppm): 159,3, 158,6, 153,1, 137,5, 136,6, 134,7, 130,7, 127,2, 122,7, 121,8, 120,7, 118,4, 115,4, 12,0. ESI+ MS (MeOH): 619,8 (vyp. 620,1; 5%; {[Ta(Cp*)(salaph)Cl₂]+Na}⁺), 562,2 (vyp. 562,1; 30%; [Ta(Cp*)(salaph)Cl]⁺), 558,3 (vyp. 558,2; 100%; {[Ta(Cp*)(salaph)]+OCH₃}⁺). IR (ATR/cm⁻¹): 3075w, 2985w, 2917m, 1616s, 1589ms, 1556m, 1476s, 1447ms, 1385ms, 1325w, 1298s, 1254s, 1178w, 1152m, 1122m, 1073w, 1030m, 963w, 942w, 926m, 858ms, 797m, 768ms, 737ms, 642m, 625m, 550m, 532m, 492w, 467w.

Syntéza [Ta(η^5 -Cp*)(3e-salaph)Cl₂] (**3**)

Obdobně jako v případě komplexů **1** a **2**, reagovalo 45,8 mg (0,1 mmol) [TaCp*Cl₄] spolu s 25,7 mg (0,1 mmol) H₂-3e-salaph v mikrovlnném syntetizátoru, a to v 5 ml dichlormethanu, při teplotě 140 °C a po dobu 3 minut. Opět došlo během reakce ke změně barvy z oranžové na sytě červený čirý roztok. Ten byl ochlazen na laboratorní teplotu a vzniklý prášek byl odfiltrován, promyt toluenem a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

[Ta(η^5 -Cp*)(3e-salaph)Cl₂] (**3**): *Anal.* vypočteno pro TaC₂₅H₂₇NO₃Cl₂: C, 46,8; H, 4,2; N, 2,2. Nalezeno: C, 46,8; H, 4,4; N, 1,8%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, ppm): 8,21 (s, 1H), 7,21 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,17 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,05 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,72 (m, 2H), 6,44 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 3,96 (q, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,41 (s, 15H), 1,45 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H). ESI+ MS (MeOH): 606,2 (vyp. 606,1; 25%; [Ta(Cp*)(3e-salaph)Cl]⁺), 602,3 (vyp. 602,2; 100%; {[Ta(Cp*)(3e-salaph)]+OCH₃}⁺), 588,3 (vyp. 588,2; 25%; {[Ta(Cp*)(3e-salaph)]+OH}⁺). IR (ATR/cm⁻¹): 3300w, 3218m, 3022w, 2964m, 2914m, 1672m, 1591m, 1561m, 1534w, 1485ms, 1459ms, 1385m, 1374m, 1338w, 1293m, 1259s, 1183m, 1153w, 1113m, 1083m, 1018m, 916w, 867m, 843m, 784m, 762m, 734m, 695w, 641m, 593m, 543m, 467w, 425w.

Syntéza [Ta(salaph)₂Cl] (**4**)

35,8 mg (0,1 mmol) TaCl₅ a 42,6 mg (0,2 mmol) H₂-salaph bylo rozsuspendováno ve 40 ml toluenu. Poté byla reakční směs umístěna v rekční baňce pod chladič a zahřívána na 100 °C

přes noc. Vzniklý žluto-červený produkt byl odizolován filtrací přes fritu, promyt toluenem a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

[Ta(salaph)₂Cl] (**4**): *Anal.* vypočteno pro C₂₆H₁₈N₂ClO₄Ta: C, 48,9; H, 2,8; N, 4,4 %. Nalezeno: C, 49,3; H, 3,0; N, 4,6 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, ppm): 9,14 (s, 1H), 7,70 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,17 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,99 (m, 3H), 6,90 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H). IR (ATR/cm⁻¹): 3173m, 2928s, 2678s, 2548s, 2165m, 1641s, 1606s, 1580s, 1496ms, 1470s, 1430m, 1359s, 1281s, 1228s, 1161ms, 1119m, 1101m, 1018ms, 991w, 948w, 929w, 889m, 852m, 812m, 775w, 745m, 697m, 637m, 575m, 535m, 506m, 475m

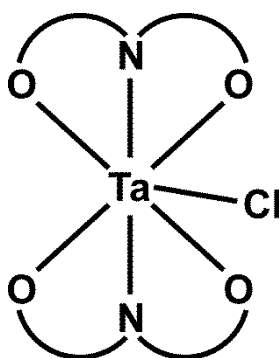


Schéma 3: Obecný strukturní vzorec komplexů

[Ta(O[^]N[^]O)₂Cl] (**4–6**), kdy N[^]O[^]N = salaph (**4**),
3e-salaph (**5**) nebo dpa (**6**)

Syntéza [Ta(3e-salaph)₂Cl] (**5**)

35,8 mg (0,1 mmol) TaCl₅ reagovalo přes noc s 51,4 mg (0,2 mmol) H₂-3e-salaph při 100 °C v 40 ml toluenu. Po ochlazení na laboratorní teplotu byl hnědo-oranžový produkt odfiltrován, promyt toluenem a vysušen (exsikátor pod vakuem).

[Ta(3e-salaph)₂Cl] (**5**): *Anal.* vypočteno pro C₃₀H₂₆N₂ClO₆Ta: C, 49,57; H, 3,61; N, 3,85 %. Nalezeno: C, 21,61; H, 2,19; N, 2,11%.

Syntéza [Ta(dpa)₂Cl] (**6**)

35,8 mg (0,1 mmol) TaCl₅ a 35,4 mg (0,2 mmol) pyridin-2,6-dikarboxylové kyseliny bylo smícháno ve 40 ml methanolu. Po 20 hod míchání při teplotě 50 °C byl vzniklý béžový produkt odizolován filtrací, promyt methanolem a vysušen v exsikátoru pod vakuem.

[Ta(dpa)₂Cl] (**6**): *Anal.* vypočteno pro C₁₄H₆N₂ClO₈Ta: C, 30,76; H, 1,11; N, 5,13 %. Nalezeno: C, 33,36; H, 2,01; N, 5,02%.

3.3. Studium roztokové stability komplexu 1

Komplex **1** byl vybrán jako reprezentativní příklad pro studium stability připravených látek v roztoku. Asi 2 mg této látky byly rozpuštěny ve směsi 120 μl DMSO- d_6 a 480 μl D₂O. Pro tento roztok byla zaznamenána ¹H NMR spektra, a to na čerstvě připraveném roztoku a následně po 1 a 2 hodinách stání při laboratorní teplotě. Obdobný experiment byl proveden také ESI+ hmotnostní spektrometrií, přičemž komplex **1** byl v tomto případě rozpuštěn ve směsi 20% MeOH/80% H₂O.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

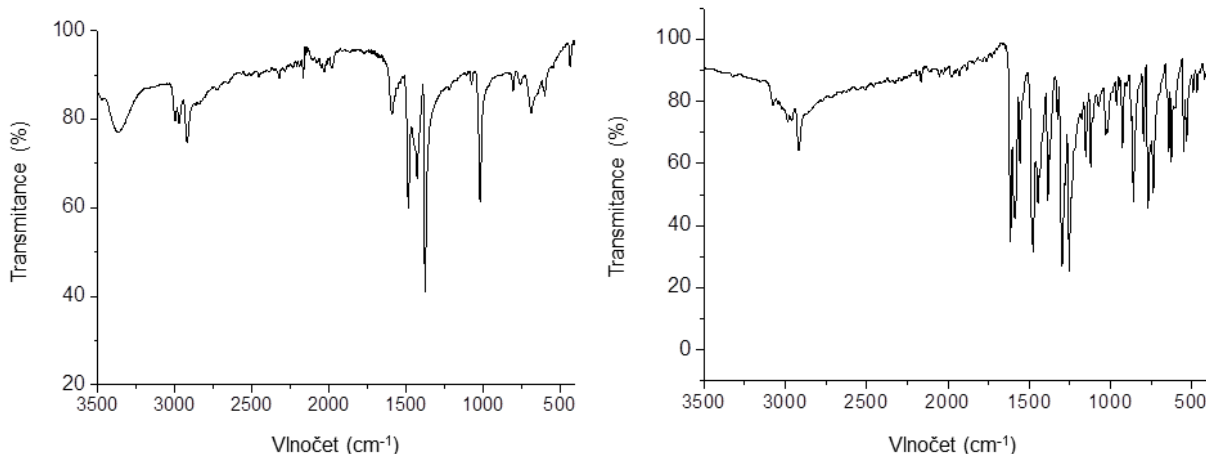
Cílem experimentální části byla syntéza výchozího η^5 -pentamethylcyklopentadienyl-tetrachlorotantalického komplexu, $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_4]$, který je často používanou výchozí sloučeninou pro přípravu polosendvičových komplexních sloučenin tantalu, jejichž příprava a charakterizace byla cílem této práce. Pro přípravu byla použita v literatuře popsána metoda [54], která zahrnovala syntézu cyklopentadienylové draselné soli KCp^* z výchozího 1,2,3,4,5-cyklopentadienu (Cp^*H), a následnou přípravu meziprojektu TMSCp^* (TMS = trimethylsilyl). I když samotné reakce probíhaly striktně pod atmosférou dusíku, některé syntetické kroky (např. filtrace nebo čištění) musely být, při absenci glove-boxu a inert-vakuové linky, provedeny mimo zmíněnou inertní atmosféru, což vedlo k opakované neúspěšné přípravě požadovaného TNSCp^* , způsobené např. samozapálením KCp^* při jeho promývání. Byly provedeny i modifikované syntézy bez izolace a promývání meziprojektů, čímž se podařilo připravit olejovitý žlutě-oranžový TMSCp^* . Nicméně, finální krok přípravy klíčového komplexu tantalu $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_4]$ úspěšný nebyl. tato látka je známá jako oranžová krystalická látka, a jako taková vzniká i syntézou popsanou v použitém literárním zdroji [54]. V případě zde provedených syntéz vznikala látka fialového zbarvení, jejích hodnoty procentového zastoupení uhlíku a vodíku zjištěné elementární analýzou neodpovídaly teoretickým hodnotám této látky.

Pro další syntézy polosendvičových organokovových komplexů tantalu byl tedy použit komerčně dostupný $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_4]$. Jako potenciálně *O,N,O*-tridentální ligandy byly vybrány pyridin-2,6-dikarboxylová kyselina (H_2dpa) a Schiffovy báze 2-hydroxyfenylsalicylaldimin (H_2salaph) a 2-hydroxy3-ethoxyfenylsalicylaldimin ($\text{H}_2\text{3e-salaph}$). Celkem byly připraveny čtyři komplexy tantalu, a to tři polosendvičové dichloro komplexy o složení $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{dpa})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{salaph})\text{Cl}_2]$ (**2**) a $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{3e-salaph})\text{Cl}_2]$ (**3**), a vedle nich ještě jeden chloro komplex odlišného strukturního typu, kterým je $[\text{Ta}(\text{salaph})_2\text{Cl}]$ (**4**). Komplex $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{dpa})\text{Cl}_2]$ (**1**) je znám z literatury [55], nicméně nebyl doposud studován pro svoji biologickou aktivitu. Navíc v této práci popisujeme výrazné zkrácení syntézy této látky použitím mikrovlnného syntetizátoru z 15 hodin na 3 minuty. Obdobně, tedy velmi rychle byly připraveny i komplexy **2** a **3**. Komplexy **4**, **5** a **6** byly oproti předchozím komplexům připraveny odlišným způsobem. Výchozí $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_4]$ byl nahrazen TaCl_5 a ligandy byly přidány v 2 molárním nadbytku oproti TaCl_5 . Z těchto syntéz vedla k požadovanému produktu pouze příprava pro komplex **4**, je zřejmé, že tyto syntézy

ještě budou muset být optimalizovány, aby byla úspěšně připravena celá série monochloro komplexů s použitými tridentátními ligandy (tedy komplexy **4–6** v této práci).

Výsledné produkty poté byly charakterizovány pomocí elementární analýzy, NMR a FTIR spektroskopií a ESI+ hmotnostní spektrometrie. Výsledky elementární analýzy dosahovaly požadované shody (tedy rozdíl do 0,5 %) s teoretickými hodnotami pro komplexy **1–4**, u komplexů **5** a **6** byl zjištěn výrazný rozdíl teoretických a experimentálních hodnot procentového zastoupení C, H a N, což poukazuje na fakt, že tyto syntézy nevedly k chemickým individuím požadovaného složení.

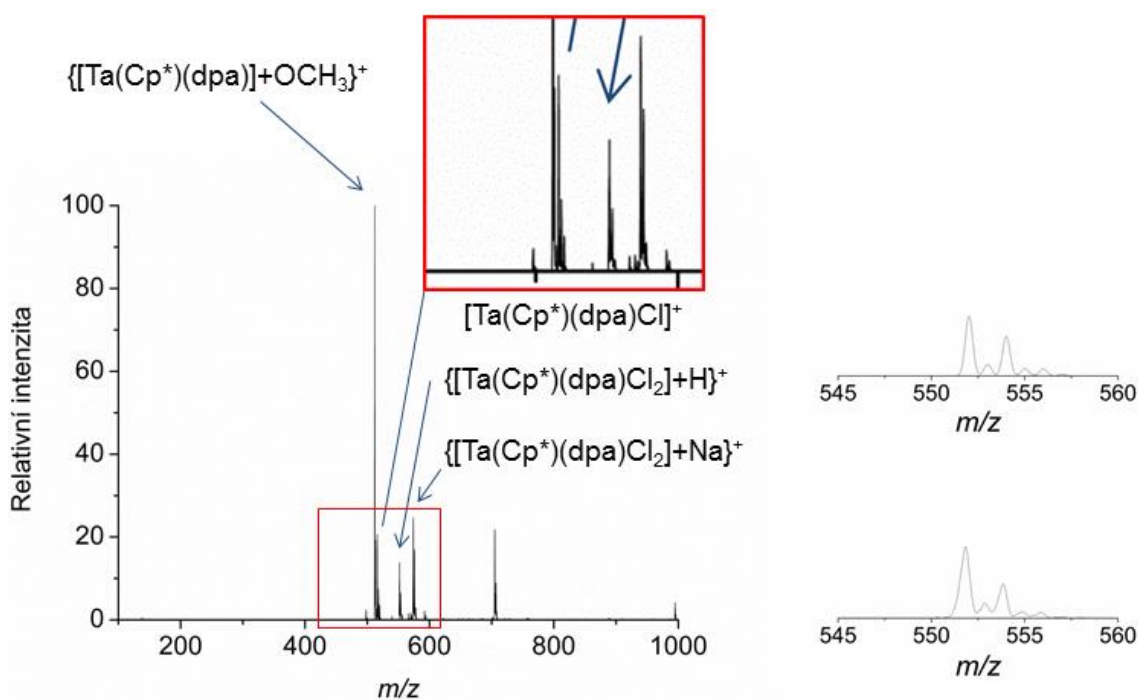
V infračervených spektrech komplexů **1–3** byly detekovány píky charakteristických vibrací použitých tridentátních O^{^-}N^{^+}O ligandů, jako jsou $\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$ detekované při ca 3050 cm^{-1} nebo $\nu(\text{C-N})$ a $\nu(\text{C=C})$, jejichž maxima byla detekována v rozmezí 1550–1610 cm^{-1} .⁵¹ Přítomnost Cp* ligandu v připravených polosendvičových komplexech **1–3** pak prokazují píky při 2920–3000 a ca 1475, 1385 a 1030 cm^{-1} , které byly pozorovány i ve spektru výchozího $[\text{Ta}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_4]$ komplexu (obrázek 12). Data pro komplex **1** korelují s publikovanými hodnotami (1718vs, 1379w, 1300vs, 1130s, 1111m, 1086s, 915s, 780m, 759m, 679w, 594w a 458w) pro tuto látku v publikaci [56].



Obrázek 12: Infračervená spektra (3500–400 cm^{-1} , ART technika) pro výchozí komplex $[\text{Ta}(\text{Cp}^*)\text{Cl}_4]$ (vlevo) a komplex $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{salaph})\text{Cl}_2]$ (**2**; vpravo).

V hmotnostním spektru komplexu **1** (obrázek 13) byl nalezen molekulový pík odpovídající hodnotou m/z a izotopovým rozlišením částici $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{dpa})\text{Cl}_2]+\text{H}\}^+$ při a jeho adukt se sodným iontem, tj. $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{dpa})\text{Cl}_2]+\text{Na}\}^+$. Dále byly detekovány fragmenty $[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{L}^1)\text{Cl}]^+$ a $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{L}^1)]+\text{OCH}_3\}^+$ způsobené ztrátou jednoho resp. dvou chloridových aniontů a případným nahrazením methoxy skupinou. U komplexu **2** byl nalezen

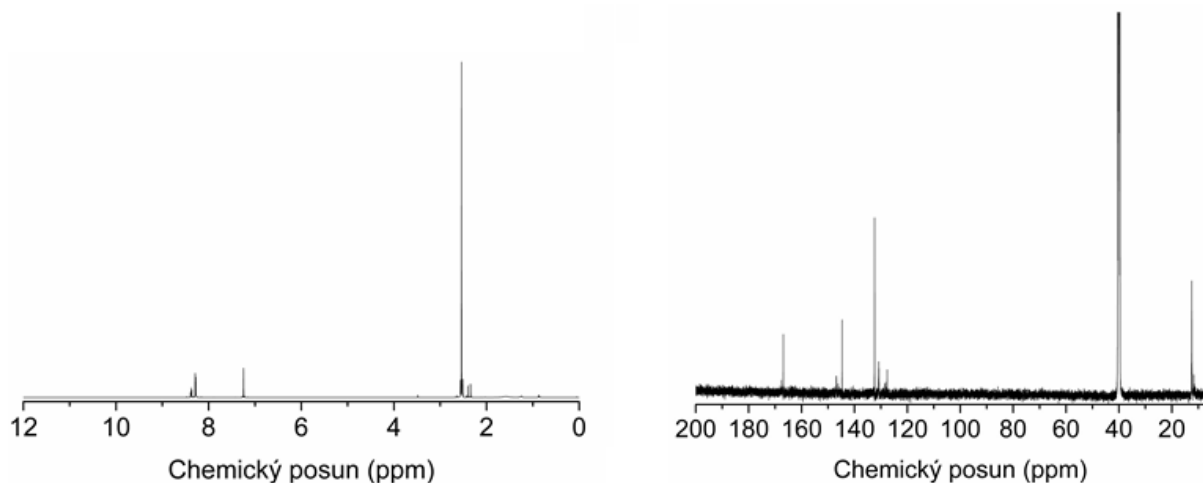
pík $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{salaph})\text{Cl}_2]+\text{Na}\}^+$ a dva fragmenty $[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{salaph})\text{Cl}]^+$, $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{salaph})]+\text{OCH}_3\}^+$ vzniklé podobným mechanismem (tj. dehalogenací) jako je popsáno výše pro **1**. Pro komplex **3** byly, stejně jako u **2**, nalezeny fragmenty $[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(3\text{e-salaph})\text{Cl}]^+$ a $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(3\text{e-salaph})]+\text{OCH}_3\}^+$, a kromě nich ještě fragment $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(3\text{e-salaph})]+\text{OH}\}^+$.



Obrázek 13: ESI+ hmotnostní spektrum komplex **1** (vlevo) s detailem experimentálního (dole) a simulovaného (nahore) izotopového rozložení molekulového píku $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{dpa})\text{Cl}_2]+\text{H}\}^+$ detekovaného při 551,8 m/z .

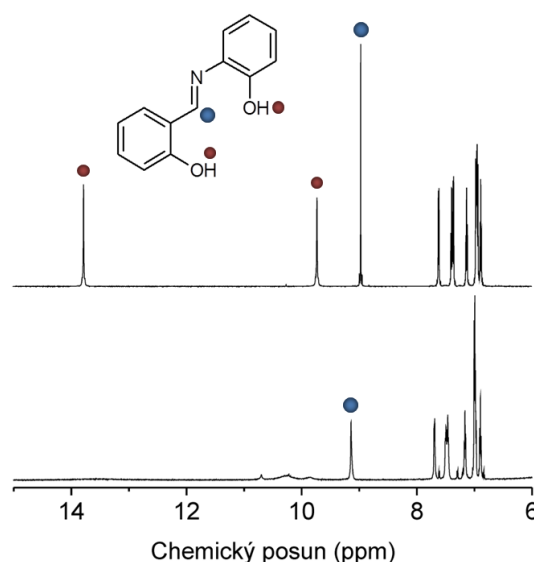
V ^1H NMR spektrech studovaných komplexů **1–4** byly detekovány všechny C–H vodíkové atomy použitých tridentálních ligandů (obrázek 14 a 15). Naopak vodíkové atomy obou O–H skupin, které byly pozorovány ve spektrech jednotlivých ligandů, ve spektrech zmíněných komplexů detekovány nebyly, což poukazuje na proběhlou deprotonizaci a koordinaci přes oba kyslíkové atomy. V ^1H NMR spektrech polosendvičových komplexů **1–3** byly pozorovány signály vodíkových atomů alifatických C–H₃ skupin Cp* ligandu v odpovídajícím poměru integrálních intenzit vůči signálům O[^]N[^]O ligandům. ^{13}C NMR spektra komplexů **1** a **2** obsahovala signály všech uhlíkových atomů těchto látek, včetně

charakteristických signálů karboxylové kyseliny komplexu **1** nebo signálů aliphatických a aromatických uhlíkových atomů obou studovaných komplexů **1** a **2**.



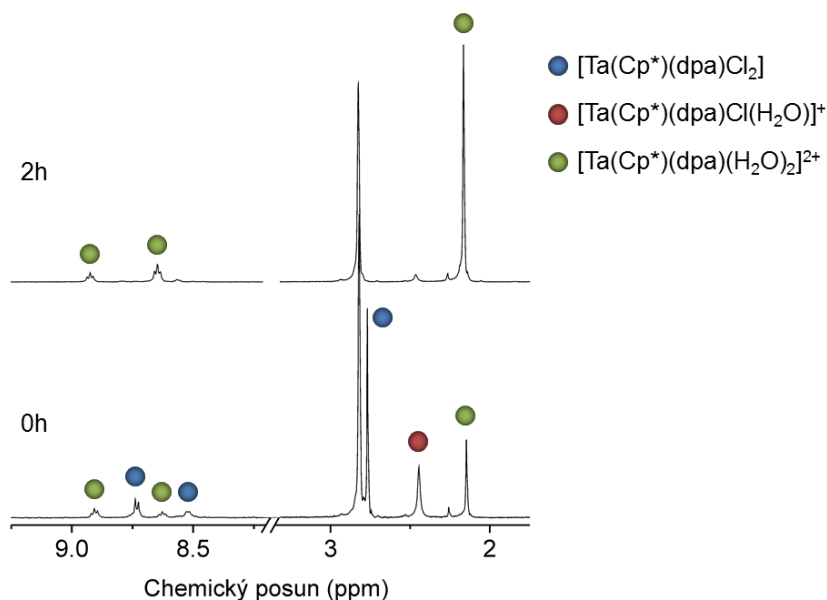
Obrázek 14: ^1H NMR (vlevo) a ^{13}C NMR (vpravo) spektrum komplexu **1**

Výsledky ^1H NMR a ESI+ MS studia roztokové chemie reprezentativního komplexu **1** ukázaly, že tento komplex ve vodném prostředí hydrolyzuje. Nedocházelo k degradaci látky ve smyslu rozpadu a uvolňování Cp^* a/nebo dpa ligandů, pouze k hydrolyze vazby Ta–Cl. Tyto změny ve složení studovaného komplexu se projeví změnami v ^1H NMR spektru, kde byl pozorován pokles intenzity signálu výchozího komplexu **1** (např. Cp^* signál při ca 2,80 ppm) a s tím spojený vznik a nárůst intenzity signálu při ca 2,10 ppm (obrázek 16). Byl také pozorován další signál, pravděpodobně pro monoaquamiziprodukt (ca 2,5 ppm). Již po 2 hod nebyly pozorovány žádné signály výchozího komplexu ani monoaquamiziproduktu, pouze signálu produktu hydrolyzy, kterým pravděpodobně je diaqua komplex. Toto zjištění potvrzují i výsledky ESI+ hmotnostní spektrometrie, protože oproti ESI+ spektrům komplexu **1** rozpuštěném v čistém MeOH obsahovala

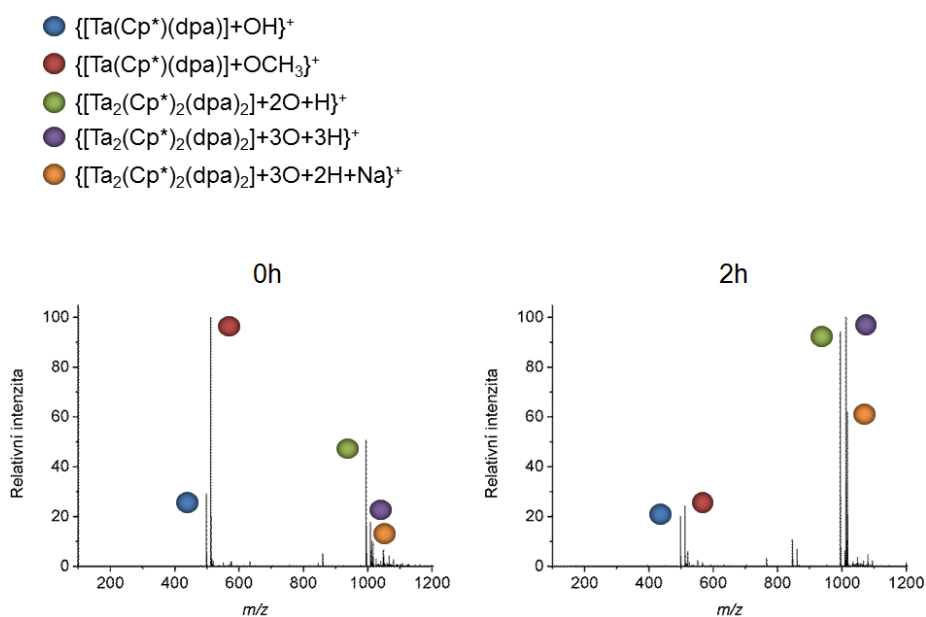


Obrázek 15: ^1H NMR spektra komplexu **4** (dole) a v něm obsaženého H_2 -salaph (nahore)

spektra komplexu **1** rozpuštěného ve směsi 20% MeOH/80% H₂O nové píky, jejichž vznik souvisí s probíhající hydrolyzou. Takovým je např. pík částice $\{[\text{Ta}(\text{Cp}^*)(\text{dpa})+\text{OH}]^+\}$ detekované při 498,2 m/z (obrázek 17).



Obrázek 16: Srovnání ¹H NMR spekter **1** rozpuštěného v 20% DMSO-*d*₆/80 % D₂O v různých časových bodech (0 h a 2 h)



Obrázek 17: Srovnání ESI+ hmotnostních spekter komplexu **1** rozpuštěného ve směsi 20% MeOH/80 % H₂O v různých časových bodech (0 h a 2 h)

Důkaz stability a hydrolytické aktivace je velmi důležitý pro následná studia biologické aktivity (např. protinádorové aktivity), neboť hydrolýza biologicky aktivních komplexů přechodných kovů je obecně chápána jako aktivační krok k dalším biologickým reakcím a interakcím s biomolekulami organismu.

5. ZÁVĚR

Byla vypracována literární rešerše biologicky aktivních sloučenin různých kovů, se zaměřením na prvky V.B skupiny PSP. Pro tantal bylo touto literární rešerší zjištěno, že doposud byly biologicky studované pouze čtyři koordinační sloučeniny tantalu, publikované v rámci jediné takto zaměřené práce. Výsledkem experimentální části této bakalářské práce jsou čtyři komplexy tantalu. Celkem byly připraveny čtyři komplexy tantalu, a to tři polosendvičové komplexy $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{dpa})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{salaph})\text{Cl}_2]$ (**2**) a $[\text{Ta}(\eta^5\text{-Cp}^*)(3\text{e-salaph})\text{Cl}_2]$ (**3**), a jeden chloro komplex o složení $[\text{Ta}(\text{salaph})_2\text{Cl}]$ (**4**). Připravené komplexy obsahují tridentátně koordinované *O,N,O*-donorové ligandy, kterými jsou dianionty pyridin-2,6-dikarboxylové kyseliny (dpa), 2-hydroxyfenylsalicylaldiminu (H_2salaph) nebo 2-hydroxy-3-ethoxy-fenylsalicylaldiminu ($\text{H}_23\text{e-salaph}$). Komplexy byly charakterizovány elementární analýzou, ESI+ hmotnostní spektrometrie, FTIR a NMR spektroskopií. U reprezentativního komplexu **1** bylo ^1H NMR a ESI+ MS studiem zjištěno, že ve vodu obsahujících rozpouštědlech hydrolyzuje, pravděpodobně za vzniku diaqua-komplexní částice. Připravené komplexy představují, s ohledem na výsledky literární rešerše a jejich vlastnosti ve vodu obsahujících rozpouštědlech, perspektivní systémy pro následné biologické studium, např. jejich protinádorové aktivity.

6. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Bertini, I., Gray, H. B., Lippard, S. J., Valentine, J., Eds.: *Metals in Medicine In Bioinorganic Chemistry* University Science Books, Sausalito, 1994. ISBN: 0-935702-57.1
- [2] Gielen M., Tiekink E. R. T.: *Metallotherapeutic Drugs and Metal-based Diagnostic Agents*, Eley, 2005. ISBN: 0-470-86403-6
- [3] Hall I. H. et al., *Applied Organometallic Chemistry* 14 (2000) 108-118
- [4] Příbalová informace, CISPLATIN HOSPIRA 0,5 mg/ml infuzní roztok, TEVA Pharmaceuticals CZ
- [5] Pasetto L. M. et al., *Critical Review Oncology/Hematology* 60 (2006) 59-75
- [6] Dabrowiak J.C.: *Metals in Medicine*, Wiley, 2009. ISBN: 978-0-470-68196-1
- [7] Kelland L. et al., *Nature Review Cancer* 7 (2007) 573-584
- [8] Wheate N. J. et al., *Dalton Transaction* 39 (2010) 8113-8177
- [9] <http://www.conconilab.ca/projects/>
- [10] Jurajda M. et al., *Klinická Onkologie* 25(3) (2012) 184-187
- [11] Liu D. et al., *International Journal of Nanomedicine* 8 (2013) 3309-3319
- [12] Hannon M. J., *Pure and Applied Chemistry* 79 (2007) 2243–2261
- [13] Chen B. et al, *Computational and Theoretical Chemistry* 1074 (2015) 36-49
- [14] Křikavová R. et al., *PLoS ONE* 9(9) (2014)
- [15] Suchý D., *Solen* 7 (2003) 342-347
- [16] Ott I., *Coordination Chemistry Reviews* 253 (2009) 1670-1681
- [17] Thangamani, S. et al. *Scientific Reports* 6 (2016)
- [18] Bindoli A. et al., *Coordination Chemistry Reviews* 253 (2009) 1692-1707
- [19] Abate, A. A. et al., *Expert opinion on investigational drugs* 22(7) (2013) 895-906
- [20] Hellman, L. M. et al., *Nucleic acids research* (2014)
- [21] Garcia A. et al., *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 21 (2016) 275-292
- [22] Fonteh P. N. et al., *Biometals* 23 (2010) 185-196
- [23] Trondl R. et al., *Chemical Science* 5 (2014) 2925
- [24] Groessl M. et al, *Journal of Medicinal Chemistry* 50 (2007) 2185-2193
- [25] Trávníček Z. et al., *Journal Inorganic Biochemistry* 105 (2011) 937–948
- [26] C. Pelillo, et al., *Journal of Inorganic Biochem* (2016) 11
- [27] Li, Hongyan et al., *Trends in pharmacological sciences* 23(5) (2002) 206-209
- [28] Antonarakis E. S. et al., *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 66 (2010) 1-9

- [29] Scolaro C. et al., *Journal of Medicinal Chemistry* 48 (2005) 4161-4171
- [30] Iida J. et al., *Journal of Translational Medicine* 14 (2016)
- [31] Suntharalingam K. et al., *Journal of American Chemical Society* 135 (2013) 14060-14063
- [32] Barry N. P. E. et al., *Chemical Communications* 49 (2013) 5106-5131
- [33] Revanasiddappa H. D. et al., *ISRN Inorganic Chemistry* (2013) 7
- [34] Winter J. M. et al., *Journal of Biological Chemistry* 284 (2009) 18577-18581
- [35] Evangelou A. M. et al., *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 42 (2002) 249-265
- [36] Šebestová L., et al., *Chemico-Biological Interactions* 242 (2015) 61-70
- [37] Pessoa J. C., et al., *Coordination Chemistry Reviews* 301-302 (2015) 24-48
- [38] Mokhsi G. et al., *Journal of Inorganic Biochemistry* 82 (2001) 205-209
- [39] Thakur D. S., *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* 3 (2011) 1173-1181
- [40] Honzíčková I. et al., *Applied Organometallic Chemistry* 28 (2014) 252-258
- [41] Hall I. H. et al., *Journal of Inorganic Biochemistry* 93 (2003) 125-131
- [42] Judd D. A. et al., *Journal of American Chemical Society* 123(5) (2001) 886-897
- [43] Greenwood N. N., Earshaw A. *Chemie prvků I a II*, Informatorium, 1993, IBSN: 978-80-85427-38-7
- [44] Housecroft C. E., Sharpe A. G. *Anorganická chemie*, vydavatelství VŠCHT, 2014, IBSN: 978-80-7080-872-6
- [45] Muck A. *Základy strukturní anorganické chemie*. Academia, 2007, IBSN: 80-200-1326-1
- [46] <http://images-of-elements.com/tantalum.php>
- [48] Black J., *Chemical Materials* 16 (1994) 167-173
- [49] Chang Y. Y. et al., *Surface & Coatings Technology* 259 (2014) 193-198
- [50] Oh H. M. et al., *Journal of the American Chemical Society* 133 (2011) 5508-5515
- [51] Jin Y. et al., *Biomaterials* 35 (2014) 5795-5804
- [52] Soldevila-Barreda J. J. et al., *Nature Communications* (2015)
- [53] Soldevila-Barreda J. J. et al., *Journal of Inorganic Biochemistry* 153 (2015) 322-333
- [54] Tonzetich Z. J. et al., *Inorganica Chimica Acta* 345 (2003) 340-344
- [55] Conde A. et al., *Organometallics* 27 (2008) 6090-6095
- [56] Herchel R. et al., *Inorganic Chemistry* 54 (2015) 8625-8638

