

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



**Polosendvičové komplexy platinových kovů s vybranými
deriváty 8-hydroxychinolinu**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Radka Stejskalová
Studijní obor:	Bioanorganická chemie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
Rok:	2024

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Olomouci dne 29. 4. 2024

.....*Stejskalová*.....

Radka Stejskalová

Ráda bych poděkovala panu doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce, za cenné připomínky při jejím vypracovávání a za pomoc při měření analytickými metodami a interpretaci jejich výsledků. Dále bych ráda poděkovala studentům a zaměstnancům katedry anorganické chemie za příjemné pracovní prostředí a ochotný přístup. Zejména bych ráda poděkovala panu Mgr. Ondřeji Bártovi, Ph.D. za rady při sloupcové chromatografii a paní Pavle Richterové za provedení elementárních analýz.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Radka Stejskalová
Název práce	Polosendvičové komplexy platinových kovů s vybranými deriváty 8-hydroxychinolinu
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Katedra anorganické chemie
Vedoucí práce	doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2024

Abstrakt

Cílem mé bakalářské práce byla příprava a charakterizace polosendvičových komplexů ruthenia, osmia, rhodia a iridia s vybranými N,O-donorovými ligandy odvozenými od 8-hydroxychinolinu. Jako základ bakalářské práce byla vypracována literární rešerše na toto téma. V experimentální části byly provedeny syntézy polosendvičových komplexů obecného složení $[M(\eta^{5/6}\text{-ar})Cl(L)]$, kde ar = derivát benzenu např. p-cymen pro Ru a Os komplexy, resp. pentamethylcyklopentadien pro Rh a Ir komplexy. Byly provedeny pokusy o přípravu pokročilých derivátů 8-hydroxychinolinu nesoucích biologicky aktivní substituent a jejich polosendvičových komplexů. Byl také prozkoumán vliv substituce chloridového ligandu za fosfinový P-donorový ligand 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan (PTA) na rozpustnost komplexů ve vodném prostředí. Připravené komplexní sloučeniny byly charakterizovány relevantními analytickými technikami (elementární analýza, ^1H NMR spektroskopie, hmotnostní spektrometrie, infračervená spektroskopie).

Klíčová slova	Ruthenium, rhodium, osmium, iridium, polosendvičové komplexy, 8-hydroxychinolin, syntéza
Počet stran	49
Jazyk	Český

Bibliografic identification

Autor's first name and surname	Radka Stejskalová
Title	Half-sandwich complexes of platinum metals with selected derivatives of 8-hydroxyquinoline
Type of thesis	Bachelor
Department	Department of anorganic chemistry
Supervisor	doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
The year of presentation	2024

Abstract

The aim of my bachelor thesis was preparation and characterization of half-sandwich complexes of ruthenium, osmium, rhodium and iridium with selected N,O-donor ligands derived from 8-hydroxyquinoline. A literature search on this topic was carried out as a basis for the bachelor thesis. In the experimental part half-sandwich complexes of the general composition $[M(\eta^{5/6}\text{-ar})Cl(L)]$, where ar = benzene derivative e.g. p-cymene for Ru and Os complexes, or pentamethylcyclopentadiene for Rh and Ir complexes, were synthesized. Attempts to prepare advanced derivatives of 8-hydroxyquinoline bearing biologically active substituent and their half-sandwich complexes were made. The effect of replacement of the chlorido ligand by the phosphine P-donor ligand 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane (PTA) on the solubility of the complexes was also investigated. The prepared coordination complex compounds were characterized by relevant analytical techniques (elemental analysis, ^1H NMR spectroscopy, mass spectrometry, infrared spectroscopy)

Keywords	Ruthenium, rhodium, osmium, iridium, half-sandwich complexes, 8-hydroxyquinolin, synthesis
Number of pages	49
Language	Czech

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1 Prvky VIII. B vedlejší podskupiny	9
2.1.1 Ruthenium a osmium	9
2.1.2 Rhodium a iridium	10
2.2 Využití sloučenin kovů v bioanorganické chemii	10
2.2.1 Klinicky významné sloučeniny ruthenia	12
2.3 8-Hydroxychinolin	13
2.3.1 Antibakteriální aktivita 8-hydroxychinolinu	14
2.3.2 Protinádorová aktivita 8-hydroxychinolinu	15
2.4 8-Hydroxychinolin-2-karboxamidy	16
2.4.1 Antivirová aktivita proti viru ptačí chřipky	16
2.4.2 Antibakteriální aktivita proti střevní bakterii <i>Desulfovibrio piger</i> Vib-7	17
2.4.3 Antimykobakteriální aktivita	18
2.4.4 8-Hydroxy-N-(4-sulfamoylfenyl)chinolin-2-karboxamidy	20
2.5 Koordinační sloučeniny s 8-hydroxychinolinem a jeho deriváty	21
2.5.1 Polosendvičové komplexy s 8-hydroxychinolinem	22
2.5.1.1 Polosendvičové komplexy ruthenia a osmia	23
2.5.1.2 Polosendvičové komplexy rhodia a iridia	24
2.6 Rozpustnost a lipofilita	25
2.6.1 Rozpustnost polosendvičových sloučenin	25
2.6.2 1,3,5-Triaza-7-fosfaadamantan (PTA)	26
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	28
3.1 Použité chemikálie a metody	28
3.2 Příprava výchozích sloučenin	29
3.3 Příprava chloro komplexů	30
3.4 Příprava PTA komplexů	32
4. VÝSLEDKY A DISKUSE	34
5. ZÁVĚR	45
6. POUŽITÁ LITERATURA	46
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	49

CÍLE PRÁCE

1. Vypracování literární rešerše na téma polosendvičových koordinačních sloučenin Ru, Rh, Os a Ir, se zaměřením na antimikrobiálně a protinádorově aktivní komplexy.
2. Příprava série polosendvičových komplexů Ru, Rh, Ir, Os s ligandy na bázi 8-hydroxychinolinu, včetně přípravy pokročilých derivátů 8-hydroxychinolinu nesoucích biologicky aktivní substituent a jejich polosendvičových koordinačních sloučenin.
3. Charakterizace připravených koordinačních sloučenin relevantními analytickými technikami (elementární analýza, hmotnostní spektrometrie, ^1H NMR spektroskopie, infračervená spektroskopie).
4. Interpretace získaných výsledků.

1. ÚVOD

Chemoterapie se začala využívat k léčbě rakoviny počátkem 20. století. Prvních úspěchů se dosáhlo v 60. letech 20. století, kdy se pomocí chemoterapie podařilo vyléčit akutní dětskou leukémii a pokročilé stádium Hodgkinova lymfomu. Nejvýznamnějším objevem v tomto směru byl bezesporu objev *cis*-diammin-dichloroplatinatého komplexu, známého jako cisplatina, která byla schválena FDA pro klinickou praxi v roce 1978. Komplexy na bázi platiny jsou nejvyužívanější chemoterapeutika po celém světě, jejich aplikace má však několik nedostatků, jako jsou např. toxicita způsobená nízkou selektivitou léčiva a rezistence některých typů nádorů. Ve snaze obejít tyto vedlejší účinky bylo připraveno mnoho analogů cisplatin. V dnešní době již není pozornost věnována pouze platině, ale i jiným přechodným prvkům, jejichž sloučeniny by vykazovaly méně vedlejších účinků a lepší aktivitu a mohly by potenciálně cisplatinu nahradit. Jako nejúčinnější alternativou cisplatin se ukázaly být sloučeniny ruthenia, které jsou málo toxické a vykazují poměrně dobrou selektivitu k nádorovým buňkám. Příkladem takovýchto sloučenin, které dokonce vstoupily do fáze klinických testů, jsou koordinační sloučeniny NAMI-A, KP1019, IT-139, sloučeniny typu RAPTA a RAED. Aktuálně se jeví jako slibné i komplexy na bázi zbylých platinových kovů (Rh, Pd, Os, Ir), které se liší mechanismem účinku oproti používaným chemoterapeutikům na bázi platiny, což by mohlo vyřešit problém nádorové rezistence. [1,2]

V posledních letech se potýkáme také s problémem bakteriální rezistence. Šíření těchto bakteriálních kmenů rezistentních vůči konvenčním antibiotikům představuje hrozbu pro veřejné zdraví. Některé kmeny se staly rezistentní vůči více antibiotikům a chemoterapeutikům a takovéto kmeny označujeme termínem „multirezistentní“. Je proto důležité pracovat na vývoji nových léčiv, které budou obsahovat látky účinné proti těmto rezistentním kmenům a mohly by nahradit stávající antibiotika. Jednou z perspektivních možností v této oblasti jsou koordinační sloučeniny na bázi vybraných d-prvků, jako jsou výše zmíněné Ru, Rh, Os a Ir [3]

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Prvky VIII. B vedlejší podskupiny

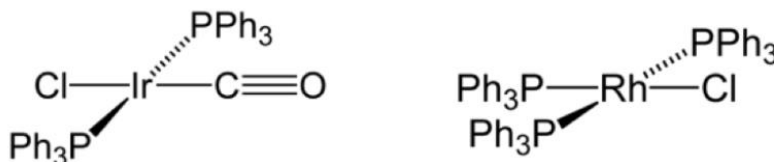
VIII. B vedlejší podskupina periodické soustavy prvků se skládá ze tří triád, kam patří triáda železa (Fe, Co, Ni), triáda lehkých platinových kovů (Ru, Rh, Pd) a triáda těžkých platinových kovů (Os, Ir, Pt). Všechny prvky patří mezi typické přechodné kovy s plošně centrovanou krychlovou mřížkou (kromě šesterečného Co, Ru a Os). Jsou bílé až šedobílé, mají výrazné kovové vlastnosti a vysoké teploty tání a varu. Všechny mohou tvořit různé slitiny a intermetalické sloučeniny. Rozpouštějí vodík a používají se jako hydrogenační katalyzátory. Je pro ně typické vystupovat v různých oxidačních stavech. Tvoří koordinační sloučeniny a karbonyly, ve kterých vystupují v oxidačním stavu 0. Jejich sloučeniny obsahují často nepárové elektrony, a proto bývají paramagnetické. Absorpce světla ve viditelné oblasti (d-d přechody) podmiňuje zbarvení některých sloučenin. V triádě železa jsou si prvky podobné spíše horizontálně, zatímco u platinových kovů pozorujeme podobnost prvků vertikálně (Ru a Os, Rh a Ir, Pd a Pt). Oxidační stav VIII, který odpovídá číslu skupiny, je známý pouze u osmia, ruthenia a platiny, čímž se tato podskupina liší od jiných. [4]

2.1.1 Ruthenium a osmium

Oba kovy lze rozpustit ve směsi HCl a oxidačních činidel a v roztavených zásadách. S kyslíkem reaguje práškové osmium při 298 K na těkavý OsO_4 . Kovové ruthenium se pasivuje vrstvou netěkavého RuO_2 a reaguje s kyslíkem jen při teplotách nad 870 K. Ruthenium a osmium mohou ve svých sloučeninách vystupovat v oxidačních stavech od -II až VIII. Nejdůležitější jsou oxidační stavy IV, VI a VIII. Důležitými sloučeninami v oxidačním stavu VIII jsou žluté, tetraedrické, těkavé oxidy RuO_4 a OsO_4 . Oba oxidy jsou prudce jedovaté. OsO_4 se používá v organických syntézách a k barvení biologických vzorků. Halogenidy ve vyšších oxidačních stavech jsou známy pouze hnědý RuF_6 a žlutý OsF_6 . V oxidačním stavu III můžeme zmínit RuCl_3 a OsCl_3 které slouží jako výchozí látky pro přípravu dalších sloučenin ruthenia a osmia. [4,5].

2.1.2 Rhodium a iridium

Tyto kovy nejsou nijak reaktivní, s kyslíkem a halogeny reagují až za vysokých teplot. Nerozpustíme je ani v lučavce královské, ale jsou rozpustné v roztavených alkáliích. Jejich počet oxidačních stavů a stabilita nejvyšších oxidačních stavů je nižší než u ruthenia a osmia. Ve sloučeninách mohou vystupovat v oxidačních stavech od $-I$ až VI . Nejvýznamnější je oxidační stav III , což odpovídá elektronové konfiguraci d^6 , která je nízkospinová, a takovéto komplexy jsou tedy diamagnetické a kineticky inertní. V oxidačním stavu VI se kovy vyskytují pouze jako černý RhF_6 a žlutý IrF_6 , které jsou tepelně nestálé a odštěpením fluoru za tepla vznikají tmavě červený RuF_5 a žlutý OsF_5 . Černé oxidy RhO_2 a IrO_2 , kde jsou kovy v oxidačním stavu IV , mají strukturu rutilu a ve vodě jsou nerozpustné. Z halogenidů Rh v oxidačním stavu III je nejznámější $RhCl_3$. Sloučeniny v oxidačním stavu I vznikají často spontánně redukcí $RhCl_3 \cdot 3H_2O$, resp. $K_2[IrCl_6]$, v přítomnosti π -akceptorových ligandů (CO , PR_3 atd.). Nejvýznamnější z těchto sloučenin jsou čtvercově planární červený Wilkinsonův katalyzátor $[RhCl(PPh_3)_3]$ a žlutý Vaskův komplex $[IrCl(CO)(PPh_3)_2]$ (Obr. 1), využívané v průmyslových syntézách. Oxidační stav 0 je stabilizován vazbou kov-kov v karbonylech. IrF_6 je výchozí látkou pro $[Ir(CO)_6]^{3+}$, což je dosud jediný příklad binárního karbonylu kovu s nábojem $+III$. [4,5]



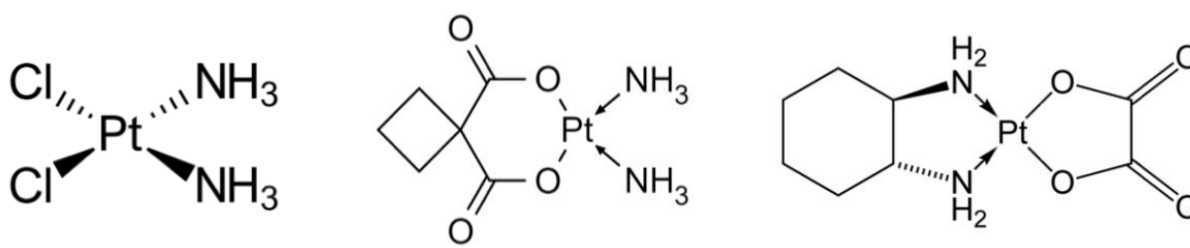
Obr. 1 Vaskův komplex (vlevo) a Wilkinsonův katalyzátor (vpravo)

Dostupné z [2]

2.2 Využití sloučenin kovů v bioanorganické chemii

Léčiva na bázi kovů jsou již několik let úspěšně využívána k léčbě a diagnostice řady onemocnění. Komplexy zlata v oxidačním stavu $+I$ se v klinické praxi využívají k léčbě revmatoidní artritidy. Nejznámějším antirevmatikem na bázi zlata je komplex Auranofin, který je zároveň zkoumán jako potenciální chemoterapeutikum. Další využití mají koordinační sloučeniny na bázi gadolinia, které se využívají jako kontrastní látky pro magnetické rezonanční zobrazování (například gadodiamid hydrát (Omniscan)) [6]. Nejvýznamnějšími chemoterapeutiky jsou sloučeniny na bázi platiny. V roce 1965 Rosenberg a kol. zkoumali, jak na bakterie působí elektrické pole. Pozorovali inhibici replikace buněk bakterií kmene

Escherichia coli mezi platinovými elektrodami a domnívali se, že za inhibici může elektrický proud. Záhy bylo zjištěno, že ve vzorku vzniká *cis*-diammin-dichloroplatnatý komplex (**cisplatina**) (Obr. 2), který má zmíněný inhibiční účinek. Cisplatina byla první sloučenina s protinádorovým účinkem na bázi platinových kovů, která se dostala do fáze klinického testování. Zajímavé je, že protinádorovou aktivitu vykazuje pouze *cis*-izomer, nikoliv jeho *trans*-analog. [7] Cisplatina byla schválena FDA v roce 1978 a je nyní aktivně celosvětově využívána v klinické praxi při léčbě hlavně rakoviny vaječníků, prsu, varlat, plic, hlavy a krku. Navzdory velkému úspěchu cisplatiny v klinické praxi má její léčba několik nežádoucích vedlejších účinků, například toxicita pro nenádorové buňky, přirozená nebo získaná rezistence nádorových buněk a nízká rozpustnost ve fyziologických roztocích. Ve snaze obejít tyto vedlejší účinky bylo připraveno mnoho analogů cisplatiny, jako například **karboplatina** (diammin-1,1-cyklobutandikarboxylatoplatnatý komplex) a **oxaliplatina** (oxalato-*trans*-1,2-diaminocyklohexanplatnatý komplex) (Obr. 2). Žádný analog cisplatiny však nevykazoval vyšší cytotoxickou aktivitu než samotná cisplatina. [8]



Obr. 2 Strukturální vzorec cisplatiny (vlevo), karboplatiny (uprostřed) a oxaliplatiny (vpravo)

Dostupné z [2]

Při hledání látek s protinádorovou aktivitou, které by obsahovaly jiné kovy než platinu, byly první sloučeniny navrženy podobně jako cisplatina, obsahovaly tedy ve své struktuře různé aminy a chlorido ligandy. Rozdílná koordinační chemie Pt vs. Ru, Rh, Os, a Ir vedla ke vzniku vysoce protinádorově aktivních komplexů, které mají jiný mechanismus účinku oproti sloučeninám na bázi platiny. Některé z těchto sloučenin jsou v současné době klinicky zkoumány jako potenciální metaloléčiva pro léčbu různých typů rakoviny. Příkladem takovýchto sloučenin je například komplex Ru(III) IT-139, který je testován na pacientech trpících rakovinou a vykazuje dobré terapeutické výsledky a pouze mírné vedlejší účinky. Jako nejslibnější se tak ukázaly sloučeniny ruthenia. Kromě výše zmíněných strukturálních typů Ru komplexů patří k nejstudovanějším skupinám komplexů tohoto kovu polosendvičové ruthenate

komplexy. Ruthenium je považováno za atraktivní alternativu k cisplatině zejména proto, že mnoho ruthenatých a ruthenitých sloučenin není příliš toxických a některé sloučeniny se ukázaly být poměrně selektivní pro nádorové buňky. Předpokládá se, že důvodem menší toxicity sloučenin ruthenia ve srovnání se sloučeninami platiny, je jeho schopnost napodobovat železo při vazbě na biologické molekuly, jako je albumin a transferin. Vzhledem k tomu, že rychle se dělící rakovinné buňky mají větší nároky na železo, dochází k nadměrné expresi transferinových receptorů, což umožňuje účinnější doručení léčiv na bázi ruthenia do rakovinných buněk. [1,2,6]

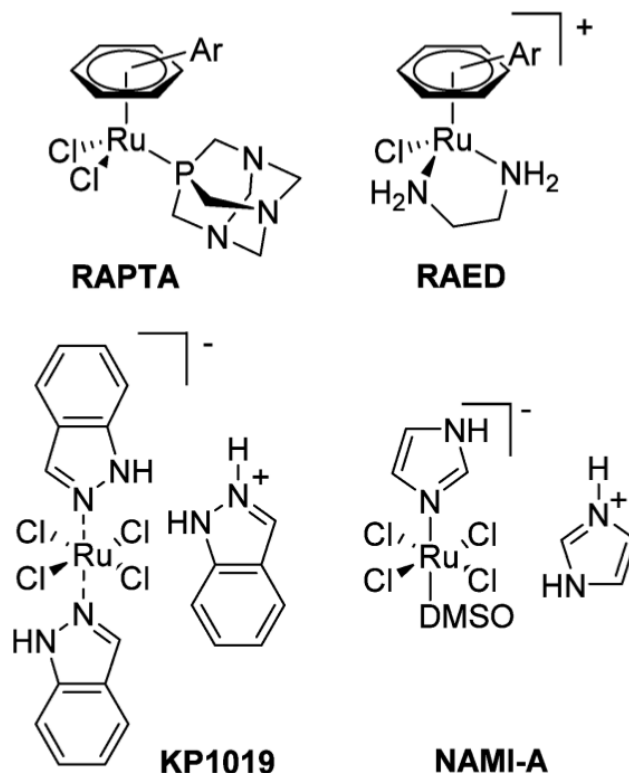
2.2.1 Klinicky významné sloučeniny ruthenia

Ruthenium ve svých sloučeninách vystupuje v oxidačních stavech od $-II$ po $VIII$, což mu umožňuje tvořit širokou škálu stabilních koordinačních sloučenin. [4] Ruthenaté komplexy mohou tvořit oktaedrické komplexy na rozdíl od koordinačních sloučenin platnatých, které jsou čtvercové. [2] Pozoruhodné výsledky poskytovaly sloučeniny **NAMI-A** imidazolium *trans*-[tetrachloro(1H-imidazol)(S-dimethyl sulfoxid)ruthenitý komplex]; NAMI = Novel Anti-Tumor Metastasis Inhibitor a **KP1019** indazolium *trans*-[tetrachloro-bis(1H-indazol)ruthenitý komplex] (Obr. 3). KP1019 bylo studováno i jako jeho sodná sůl NKP1339 (novější název **IT-139**), která je lépe rozpustná ve vodě a má vysoký potenciál použití v kombinované léčbě. NAMI-A je aktivní proti metastázujícím tumorům a vykazuje pozoruhodnou selektivitu. Sloučenina NAMI-A byla první chemoterapeutikum ruthenia, které se dostalo do klinických studií. [7] První fáze klinických studií odhalily slibnou protinádorovou aktivitu sloučenin KP1019 a NKP1339 doprovázenou pouze mírnými vedlejšími účinky. [8]

Navzdory odlišným protinádorovým aktivitám těchto sloučenin se zdá, že jejich účinnost spočívá v aktivaci sloučeniny redukcí v prostředí tumoru, kde je nízký obsah kyslíku, z $Ru(III)$ na jeho aktivnější formu $Ru(II)$ tzv. “activation-by-reduction”. Redukcí kovu dojde ke snížení π -akceptorového charakteru kovu a to zvýší labilitu π -donorových ligandů. Molekula pak snáze podléhá hydrolýze, což zvyšuje její aktivitu. [9]

Studovány byly také polosendvičové sloučeniny ruthenia, kde koordinovaný arenový ligand stabilizuje Ru v oxidačním stavu $+II$. Prostudovány byly zejména dva typy sloučenin, a to **RAPTA** [$Ru(\eta^6\text{-arene})(PTA)X_2$], kde PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfoadamantan a **RAED** [$Ru(\eta^6\text{-arene})(en)Cl$]⁺, kde en = ethylendiamin. (Obr. 3). Tyto sloučeniny vykazují cytotoxicitu proti

řadě rakovinných buněčných linií. Studie *in vivo* ukázaly, že sloučenina $[\text{Ru}(\eta^6\text{-bifeny})(\text{en})\text{Cl}]^+$ je aktivní proti rakovině prsu a redukuje rozvoj a růst plicních metastází. [8,10]



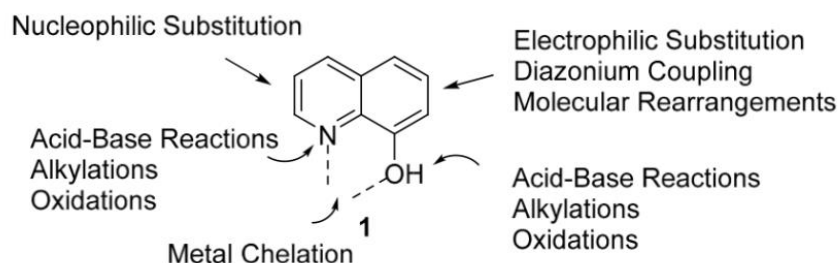
Obr. 3 Komplexy Ru s protinádorovými účinky

Dostupné z [10]

2.3 8-Hydroxychinolin

Privilegované struktury se často využívají jako stavební kameny léčiv a jejich koordinací s kovovými centry je možné zlepšit jejich biologickou aktivitu. Jednou z privilegovaných struktur je i 8-HQ (chinolin-8-ol), který je díky svým chelatačním vlastnostem schopen tvořit stabilní komplexy prostřednictvím bidentátní koordinace. Sloučeniny, které obsahují 8-HQ, vykazují širokou škálu antimikrobiálních (např. antibakteriální, antifungální, antivirovou) a protinádorových aktivit. Z chemického pohledu je 8-HQ bicyklická sloučenina, složená z pyridinového kruhu a fenolu s hydroxylovou skupinou v poloze 8 (Obr. 4). Díky fenolovým vlastnostem podléhá molekula mnoha chemickým reakcím a strukturním modifikacím (Obr. 4).

[3]



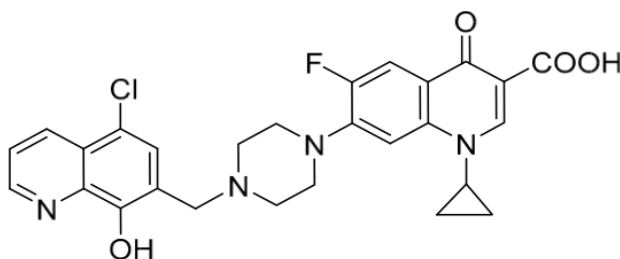
Obr. 4 Strukturní vzorec 8-hydroxychinolinu a jeho reakce

Dostupné z [3]

2.3.1 Antibakteriální aktivita 8-hydroxychinolinu

V posledních letech se potýkáme s problémem bakteriální rezistence vůči konvenčním antibiotikům, který představuje hrozbu pro veřejné zdraví, a je proto nezbytné syntetizovat nové sloučeniny, které by mohly nahradit antibiotika a účinně bojovat proti rezistentním kmenům bakterií. [3]

Byla připravena řada derivátů 5-amino-7-bromochinolin-8-yl sulfonátu, u nichž byla testována jejich antibakteriální aktivita ve srovnání se standardním antibiotikem Amoksiklavem. Deriváty s arylovou skupinou vykazovaly silnou aktivitu, např. sloučenina, kde jako arylová skupina vystupoval bifenyl, vykazovala silnou aktivitu proti bakterii *Staphylococcus aureus*. Dále byl prováděn výzkum hybridních sloučenin. Jednou z připravených sloučenin byl např. 5-chlor-8-hydroxychinolin-ciprofloxacinu (Obr. 5), který byl připraven Mannichovou reakcí. Hybrid byl testován proti bakteriím *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococci faecalis* a *Enterococcus faecium*.

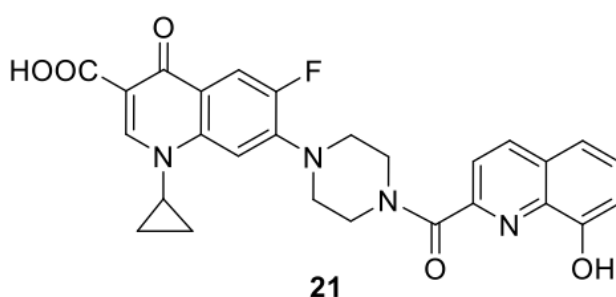


Obr. 5 Strukturní vzorec 5-chlor-8-hydroxychinolin-ciprofloxacinu. Dostupné z [3]

Výsledky ukázaly, že hybrid vykazoval významnou aktivitu proti rezistentním bakteriím, a má tedy potenciál být dále zkoumán. Hodnoty minimální inhibiční koncentrace byly nižší než u standardního léčiva ciproflaxinu, nicméně autoři se domnívají, že zavedení chinolového

skeletu by mohlo být účinným způsobem, jak tyto sloučeniny modifikovat na novou třídu širokospektrých antibakteriálních látek se specifickým způsobem účinku. [3]

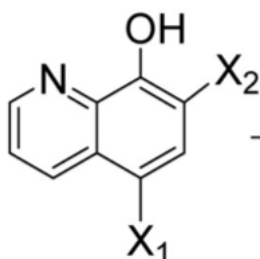
Byla připravena druhá hybridní sloučenina spojením HL¹ a ciprofloxacinu (Obr. 6) a byla testována její antibakteriální aktivita proti několika gramnegativním a grampozitivním bakteriím včetně patogenních bakterií přítomných v nemocničním prostředí, jejichž léčba je obtížná (např. *Staphylococcus aureus*). Výsledky ukázaly, že tento hybrid vykazuje silnější antibakteriální aktivitu proti *Staphylococcus aureus* než standardní léčivo. Při vývoji nových léčiv proti rezistentním bakteriím by tak mohl být 8-HQ významným základním kamenem těchto sloučenin. [3]



Obr. 6 Strukturální vzorec 5-chlor-8-hydroxychinolin-ciprofloxacinu. Dostupné z [3]

2.3.2 Protinádorová aktivita 8-hydroxychinolinu

Derivát 8-HQ 5-chlor-7-jodchinolin-8-ol (cliochinol) (Obr. 7) je chelátor kovů mědi, zinku a železa a vykazuje protirakovinnou aktivitu *in vitro* i *in vivo* díky své schopnosti působit jako ionofor přechodného kovu. Snadno prochází přes hematoencefalitickou bariéru. Indukuje apoptózu rakovinných buněk krve a snižuje tvorbu metastází buněk cholangiokarcinomu. Z podobných studií vyplývá, že cliochinol zabraňuje aktivitě proteazomu, a indukuje tak buněčnou smrt leukemických a myelomových buněk. Vykazuje též potenciál pro léčbu Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby. [10]

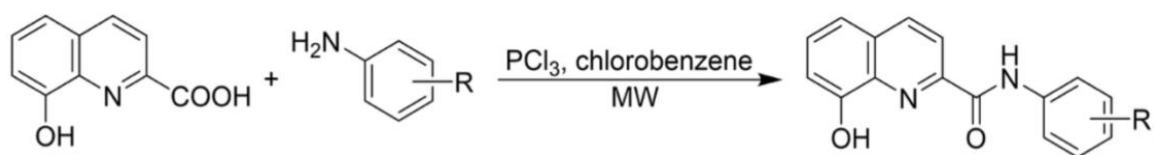


Obr. 7 Strukturální vzorec cliochinolu, kde X₁ = Cl, X₂ = I. Dostupné z [10]

2.4 8-Hydroxychinolin-2-karboxamidy

2.4.1 Antivirová aktivita proti viru ptačí chřipky

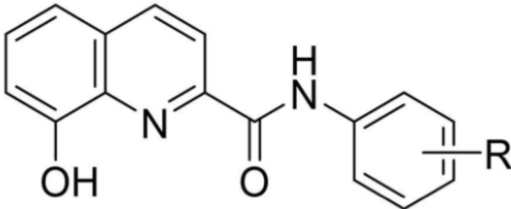
Chřipkové onemocnění způsobené infekcí patogenním virem ptačí chřipky (H5N1) je jedním z nejničivějších virových onemocnění po celém světě, které se přenáší ze zvířete na člověka. V současné době se pro léčbu této infekce používají pouze dvě třídy antivirotik (blokátory iontových kanálů M2 a inhibitory neuraminidázy), přičemž jejich užívání je omezeno nízkou účinností a rychlým vznikem rezistence virových kmenů. Mikrovlánnou syntézou byla připravena série třiceti dvou mono-, di- a tri-kruhově substituovaných 8-hydroxychinolin-2-karboxamidů, u nichž byla stanovena jejich lipofilita a elektronové vlastnosti. Pomocí adenokarcinomových lidských alveolárních bazálních epitelových buněk (A549) byl proveden *in vitro* screening cytotoxicity a sloučeniny, které byly stanoveny jako netoxické, byly dále testovány na jejich aktivitu proti viru H5N1. Inhibiční aktivita těchto sloučenin závisí na poloze halogenových substituentů na anilidovém kruhu, lipofilitě a elektronových vlastnostech jednotlivých substituentů. Deriváty byly připraveny kondenzací HL¹ aktivované PCl₃ s anilinem se substituovaným fenylovým kruhem v chlorbenzenu (Obr. 8). [11]



Obr. 8 Reakční schéma kruhově substituovaných 8-hydroxychinolin-2-karboxanilidů 1-32

Dostupné z [11]

Mezi mono-substituovanými sloučeninami svou aktivitou proti viru H5N1 vynikala např. sloučenina 21 a 13 (Obr. 9) jejichž aktivita byla pozoruhodná a cytotoxicita nevýznamná. Na základě informací o elektronových vlastnostech mono substituovaných sloučenin lze konstatovat, že antivirová aktivita je pozitivně ovlivněna zvyšujícími se elektron-odtahujícími vlastnostmi substituentů na anilidovém kruhu a zvyšující se lipofilitou. Mezi di- a tri-substituovanými 8-hydroxychinolin-2-karboxamidy vykazovaly vysokou inhibici růstu H5N1 a současně nízkou toxicitu sloučeniny č. 24, 27, 28 a 32 (Obr. 9). Z této studie vyplývá, že rozhodujícím faktorem ovlivňujícím antivirovou aktivitu a cytotoxicitu se jeví poloha substituentů na anilidovém kruhu. [11]



Comp.	R	log k	$\sigma_{(Ar)}$ ^(a)	% inhibition \pm SD	
				A549 tox.	H5N1 in A549
1 ^(b)	H	0.2389	0.6	1.1 \pm 3.8	-93.9 \pm 14.3
2 ^(b)	2-OCH ₃	0.2556	0.11	8.7 \pm 1.9	-20.0 \pm 0.0
3 ^(b)	3-OCH ₃	0.2729	0.66	28.5 \pm 4.2	-8.3 \pm 13.7
4 ^(b)	4-OCH ₃	0.1962	0.36	6.0 \pm 3.6	15.0 \pm 0.0
5 ^(b)	2-CH ₃	0.1877	0.59	21.1 \pm 5.5	-42.9 \pm 1.6
6 ^(b)	3-CH ₃	0.4106	0.48	28.2 \pm 6.9	2.5 \pm 10.6
7 ^(b)	4-CH ₃	0.2947	0.46	6.7 \pm 3.3	20.0 \pm 35.4
8 ^(b)	2-F	0.1708	1.02	17.7 \pm 2.5	-94.0 \pm 26.3
9 ^(b)	3-F	0.3826	0.82	44.2 \pm 1.6	17.5 \pm 10.6
10 ^(b)	4-F	0.3579	0.62	34.9 \pm 2.0	35.0 \pm 7.1
11 ^(b)	2-Cl	0.3998	1.05	33.5 \pm 5.4	20.0 \pm 21.2
12 ^(b)	3-Cl	0.5754	0.85	17.6 \pm 4.9	-52.5 \pm 53.0
13 ^(b)	4-Cl	0.5509	0.75	12.9 \pm 4.6	37.5 \pm 31.8
14 ^(b)	2-Br	0.4841	0.97	15.9 \pm 1.2	7.5 \pm 38.9
15 ^(b)	3-Br	0.6196	0.86	10.7 \pm 7.1	-17.5 \pm 10.6
16 ^(b)	4-Br	0.6185	0.74	5.0 \pm 6.8	0.0 \pm 7.1
17 ^(b)	2-CF ₃	0.3544	0.91	27.8 \pm 2.4	-7.5 \pm 10.6
18 ^(b)	3-CF ₃	0.6918	0.89	9.8 \pm 3.4	-70.0 \pm 56.6
19 ^(b)	4-CF ₃	0.7409	0.95	17.8 \pm 0.7	22.5 \pm 3.5
20 ^(b)	2-NO ₂	0.5684	1.12	26.7 \pm 2.8	-160.0 \pm 21.2
21 ^(b)	3-NO ₂	0.4140	1.09	4.0 \pm 7.0	85.0 \pm 3.8
22 ^(b)	4-NO ₂	0.4708	1.14	12.4 \pm 4.5	-120.0 \pm 99.0
23	2,4-Cl	0.7402	1.12	2.7 \pm 1.4	-82.0 \pm 34.1
24	3,4-Cl	0.8775	1.19	-11.0 \pm 8.6	62.6 \pm 2.7
25	3,5-Cl	1.0225	1.11	13.7 \pm 4.0	12.1 \pm 17.2
26	2,4,6-Cl	0.4652	1.48	-12.5 \pm 8.3	-151.9 \pm 30.6
27	3,4,5-Cl	1.2562	1.46	2.4 \pm 1.3	79.3 \pm 1.5
28	3-Cl-2-F	1.4382	1.27	9.7 \pm 3.3	91.2 \pm 2.1
29	3-Cl-4-F	0.6444	1.25	5.6 \pm 2.2	-140.8 \pm 36.0
30	5-Cl-2-F	0.4843	1.27	17.3 \pm 2.4	-11.5 \pm 3.9
31	4-Cl-2-F	0.4884	1.17	67.4 \pm 0.7 ^(c)	-
32	2,4-NO ₂	-0.2129	1.66	10.8 \pm 4.4	33.1 \pm 17.8

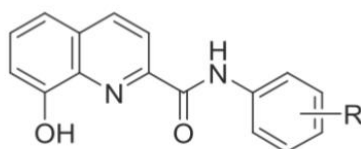
Obr. 9 Přehled připravených sloučenin 1-32

Dostupné z [11]

2.4.2 Antibakteriální aktivita proti střevní bakterii *Desulfovibrio piger* Vib-7

Druhy bakterií rodu *Desulfovibrio* patří mezi sulfát-redukující bakterie (SRB), které se nachází v tlustém střevě zdravých lidí i zvířat. Hlavním metabolitem těchto bakterií je sirovodík, který se může podílet na iniciaci zánětlivých střevních onemocnění (IBD), jako je například ulcerózní kolitida. Při ulcerózní kolitidě byla předepisována antibiotika, která však byla z velké části neúčinná, a je proto nezbytné studovat nové antibakteriální látky cílené na bakterie způsobující tyto druhy onemocnění.

Ve studii z roku 2017 byla připravena série dvaadvaceti derivátů 8-hydroxychinolin-2-karboxanilidů se substituovaným fenylovým kruhem. Při testování antibakteriální aktivity těchto sloučenin bylo jako standard použito standardní léčivo ciprofloxacin. Nejaktivnější sloučeniny byly 7b, 2b, 3b a 7c (Obr. 10). Aktivita těchto sloučenin byla dvakrát vyšší než aktivita ciprofloxacinu. [12]



Compounds	R ¹	log <i>k</i> ^a	σ^b	MIC ₉₀ [μ M]	IC ₅₀ [μ M]	MBC [μ M]
1	H	0.7600	0	23	12	25
2a	2-OCH ₃	0.7935	-0.28	28	17	28
2b	3-OCH ₃	0.8164	0.12	17	11	20
2c	4-OCH ₃	0.7129	-0.27	557	380	557
3a	2-CH ₃	0.6944	-0.17	44	15	48
3b	3-CH ₃	0.9686	-0.07	23	10	23
3c	4-CH ₃	0.9521	-0.17	75	40	80
4a	2-F	0.6806	0.06	90	50	95
4b	3-F	0.9420	0.34	45	20	50
4c	4-F	0.8598	0.06	60	28	60
5a	2-Cl	0.9566	0.22	120	95	123
5b	3-Cl	1.1718	0.37	50	20	55
5c	4-Cl	1.1543	0.23	480	330	486
6a	2-Br	1.0536	0.22	150	103	150
6b	3-Br	1.2357	0.39	33	18	35
6c	4-Br	1.2347	0.23	337	225	340
7a	2-CF ₃	0.9147	0.51	48	35	50
7b	3-CF ₃	1.3206	0.43	17	10	20
7c	4-CF ₃	1.3653	0.51	20	10	22
8a	2-NO ₂	1.1277	0.77	197	134	202
8b	3-NO ₂	0.9845	0.71	237	218	240
8c	4-NO ₂	1.0495	0.78	223	165	225
CPX	-	-	-	45	28	45

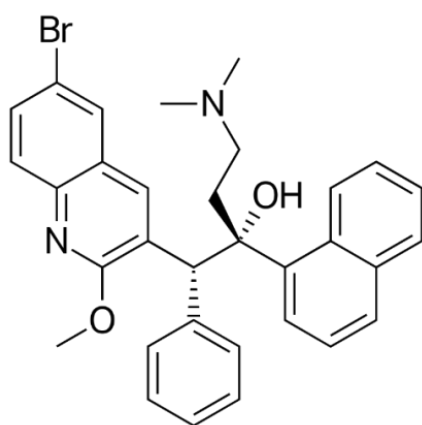
Obr. 10 Přehled připravených sloučenin 1-8c

Dostupné z [12]

2.4.3 Antimykobakteriální aktivita

Mycobacterium tuberculosis je patogen, který způsobuje onemocnění tuberkulózu (TBC). Multirezistentní kmeny TBC (MDR-TB) jsou celosvětovým problémem, přičemž hrozbu představují i netuberkulózní mykobakterie (NTB), jako například *Mycobacterium avium*, které

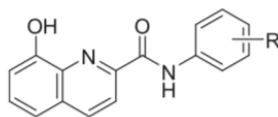
způsobují širokou škálu onemocnění (např. plicní onemocnění). V souvislosti s výskytem MDR-TB a NTB je třeba objevovat nové sloučeniny s mykobakteriální aktivitou, účinné proti rezistentním kmenům. Deriváty 8-HQ byly uznány za slibné antimykobakteriální látky. Příkladem nejznámějšího derivátu chinolinu účinného proti TBC je bedaquilin (SirturoTM) (Obr. 11), který je odvozený od 2-HQ, a který byl v roce 2012 schválen FDA pro léčbu MDR-TB. Bylo zjištěno, že anti-TB sloučeniny vykazují různé mechanismy účinku, a to díky bidentátním chelatačním vlastnostem 8-HQ. [13]



Obr. 11 Strukturní vzorec bedaquilidinu (SirturoTM)

Dostupné z Wikipedia

Ve studii z roku 2017 byla pomocí mikrovlnné syntézy připravena řada dvaadvaceti 8-hydroxychinolin-2-karboxanilidů se substituovaným fenylovým kruhem (Obr. 12), u kterých byla testována jejich antimykobakteriální aktivita proti *Mycobacterium tuberculosis H37Ra*, *Mykobakterium avium complex* a *M. avium subsp. Paratuberculosis*. Jejich aktivita byla porovnána se standardním léčivem rifampicinem. Nejúspěšnější byly sloučeniny 8-hydroxy-N-[3-(trifluormethyl)fenyl] (7b) a 8-hydroxy-N-[4-(trifluormethyl)fenyl] (7c) s MIC = 24 IM proti všem třem testovaným mykobakteriálním kmenům. Aktivita derivátů 3-methoxyfenyl (2b) a 3-methylfenyl (3b) proti *M. avium subsp. Paratuberculosis* byla asi 4krát vyšší než u rifampicinu. Všechny sloučeniny mají vysokou lipofilitu a mohou tak prostupovat hydrofobní buněčnou stěnou mykobakterií. Všechny sloučeniny byly podrobeny testu cytotoxicity vůči buňkám THP-1 a u všech byla prokázána zanedbatelná toxicita až do koncentrace 30 IM. Z těchto výsledků lze konstatovat, že testované anilidy lze považovat za látky s vysokým potenciálem využití jako antimykobakteriální látky. [13]



Compd	R	Log k	Log P^a	σ^a	MIC [μ M]			IC ₅₀ [μ M]
					MT	MAC	MAP	
1	H	0.7600	2.55	0	30	30	30	>30
2a	2-OCH ₃	0.7935	2.67	-0.28	27	51	51	>30
2b	3-OCH ₃	0.8164	2.61	0.12	27	27	27	>30
2c	4-OCH ₃	0.7129	2.51	-0.27	849	425	849	>30
3a	2-CH ₃	0.6944	2.90	-0.17	29	54	29	>30
3b	3-CH ₃	0.9686	2.90	-0.07	29	29	29	>30
3c	4-CH ₃	0.9521	2.90	-0.17	29	54	29	>30
4a	2-F	0.6806	2.59	0.06	28	53	28	>30
4b	3-F	0.9420	2.76	0.34	53	53	53	>30
4c	4-F	0.8598	2.59	0.06	53	53	53	>30
5a	2-Cl	0.9566	3.07	0.22	27	837	27	>30
5b	3-Cl	1.1718	3.28	0.37	50	50	50	>30
5c	4-Cl	1.1543	3.05	0.23	837	50	837	>30
6a	2-Br	1.0536	3.16	0.22	23	729	23	>30
6b	3-Br	1.2357	3.31	0.39	44	44	44	>30
6c	4-Br	1.2347	3.19	0.23	729	44	729	>30
7a	2-CF ₃	0.9147	3.36	0.51	24	752	24	>30
7b	3-CF ₃	1.3206	3.44	0.43	24	24	24	>30
7c	4-CF ₃	1.3653	3.27	0.51	24	24	24	>30
8a	2-NO ₂	1.1277	2.73	0.77	97	808	97	>30
8b	3-NO ₂	0.9845	2.56	0.71	26	808	808	>30
8c	4-NO ₂	1.0495	2.45	0.78	26	808	404	>30
RIF	-	-	-	-	10	10	109	-

Obr. 12 Přehled připravených sloučenin 1-8c

Dostupné z [13]

2.4.4 8-Hydroxy-N-(4-sulfamoylfenyl)chinolin-2-karboxamidy

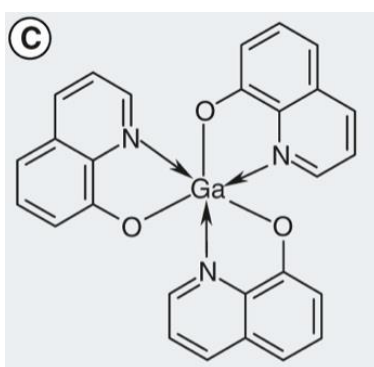
Sulfonamidy představují významnou třídu biologicky aktivních látek. Antibakteriální sulfonamidy mají uplatnění v chemoterapii buď samostatné, nebo kombinované s jinými léčivy. Již několik let jsou známy svou inhibiční aktivitou mnoha izoform CA (carbonic anhydrase). Sulfonamidy, které inhibují zinkový enzym karboanhydrázu (EC, 4.2.1.1) se využívají jako diuretika, antiepileptika, antiglaukomová a protinádorová léčiva. V deprotonovaném stavu se váže na kovový ion v aktivním místě a právě tento způsob vazby způsobuje inhibiční účinek. Přibližně 20 sloučenin se již několik let používá v klinické praxi. [14,15]

Byla připravena série 8-substituovaných-N-(4-sulfamoylfenyl)chinolin-2-karboxamidů, připravených reakcí 8-hydroxy-N-(4-sulfamoylfenyl)chinolin-2-karboxamidu s alkylovými nebo benzylovými halogeny. U sloučenin byla testována jejich CA inhibiční aktivita proti čtyřem hCA izoformám, hCA I, hCA II, hCA IV a hCA IX. Kromě izoformy hCA IX vykazovaly připraveno sloučeniny střední až vysoké inhibiční aktivity proti zbylým třem izoformám CA. [15]

2.5 Koordinační sloučeniny s 8-hydroxychinolinem a jeho deriváty

8-HQ je příkladem privilegované struktury, které mohou být využity jako stavební kameny některých léčiv. Tyto struktury jsou schopny koordinace na kovová centra, čímž lze v některých případech zlepšit jejich biologickou aktivitu (viz výše). [3]

Příkladem komplexu, obsahujícího 8-HQ, který je ve fázi klinických testů, je například tris(8-chinoláto)galitý komplex (KP46) (Obr. 13), jehož centrálním kovem, na který se chinolin koordinuje, je gallium. V současné době je KP46 v klinických studiích testováno jako perorální sloučenina. Uvádí se, že má rozdělovací koeficient n-oktanol : voda, hodnotu log P 0,88, což představuje hydrofilní/lipofilní rovnováhu, která by měla při perorálním podání podporovat přiměřenou membránovou propustnost. Vysoká termodynamická stabilita, kinetická stabilita a vypořádaná stabilita v roztoku i po několik hodin naznačují, že by perorálně absorbovaný KP46 mohl místo rychlého uvolnění gallia na transferin v krevním oběhu takto činit až v kyselém prostředí nádoru. Studie provedené na zvířecích modelech nádorů potvrdily inhibici nádorů *in vivo*. V klinické studii fáze I/II perorálního podávání pacientům zasažených rakovinou (ledvin, vaječnicků, žaludku a příušní žlázy) bylo zjištěno, že lék je dobře snášen v rozmezí dávek 30 až 480 mg/m² denně po dobu 14 dnů. Nebyla pozorována toxicita léčiva, která by limitovala dávku. Odpověď na léčbu byla zaznamenána u tří ze čtyř pacientů s karcinomem ledvin. Nádorové buňky rakoviny ledvin při léčbě běžně nereagují na konvenční chemoterapii, proto je aktivita KP46 tolik pozoruhodná a měla by být dále zkoumána. Kombinace KP46 a platinových léčiv působí také synergicky na inhibici proliferace buněčných rakovinných linií rakoviny vaječnicků a tlustého střeva *in vitro*. [16]



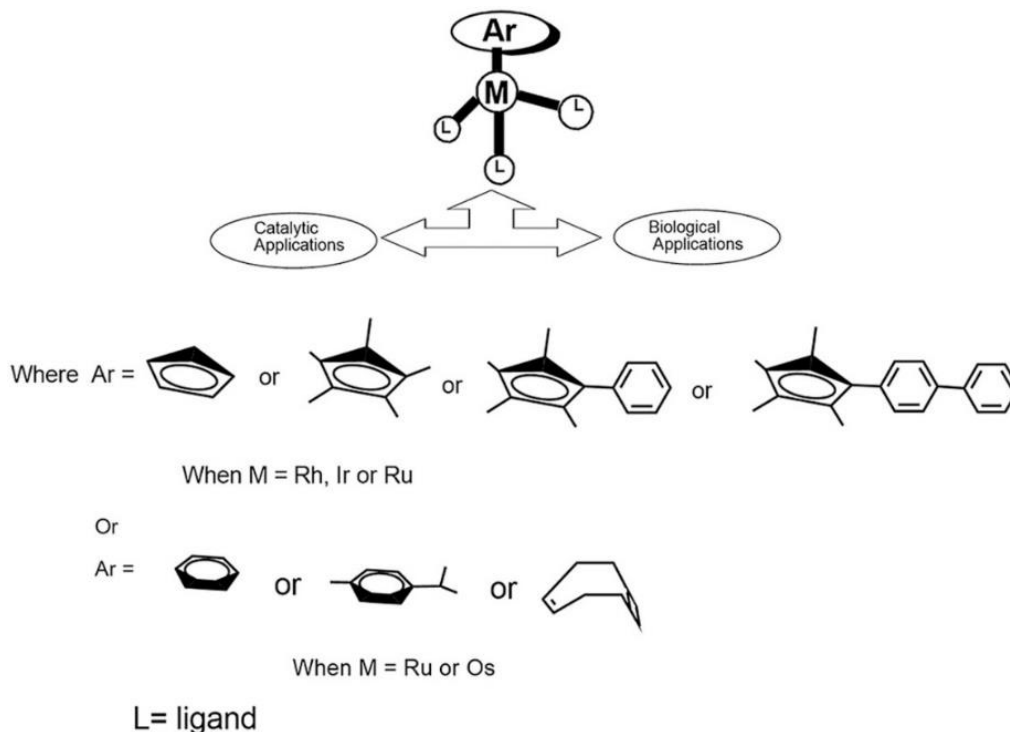
Obr. 13 Strukturální vzorec sloučeniny KP46

Dostupné z [16]

2.5.1 Polosendvičové komplexy s 8-hydroxychinolinem

Polosendvičové komplexy platinových kovů slouží jako vynikající prekurzory a nacházejí široké uplatnění v biologických a katalytických aplikacích. Tvoří stabilní komplexy s nejrůznějšími ligandy. Jejich syntéza probíhá za mírných reakčních podmínek a výtěžky syntéz bývají většinou vysoké. Mnoho komplexů vykazuje dobré antiproliferační vlastnosti, které jsou srovnatelné, nebo dokonce lepší než u komplexů platiny. Proto stále roste zájem o jejich biologické využití jako protinádorových látek a byly též studovány za účelem vývoje nových typů antimikrobiálních látek, které mohou překonat mechanismy bakteriální rezistence vyvinuté vůči současné řadě léčiv. Bylo zjištěno, že komplexy byly aktivnější než samotné ligandy. Je zřejmé, že je potřeba zkoumat polosendvičové komplexy osmia, protože výzkumných prací o osmiu je jen velmi málo. [1]

Polosendvičové komplexy ve své struktuře obsahují bidentátní ligand a chloro ligand jako odstupující skupinu (Obr. 14). Tyto komponenty ovlivňují rozpustnost, lipofilitu, celkový náboj a reaktivitu komplexu a mají silný vliv na antiproliferační vlastnosti. Bidentátní ligandy jsou typicky N,N; N,O; O,S; nebo O,O-donorové chelatační sloučeniny. Jako bidentátní ligand můžeme použít například N,O-donorový ligand 8-HQ, který má dobré terapeutické účinky. [1]

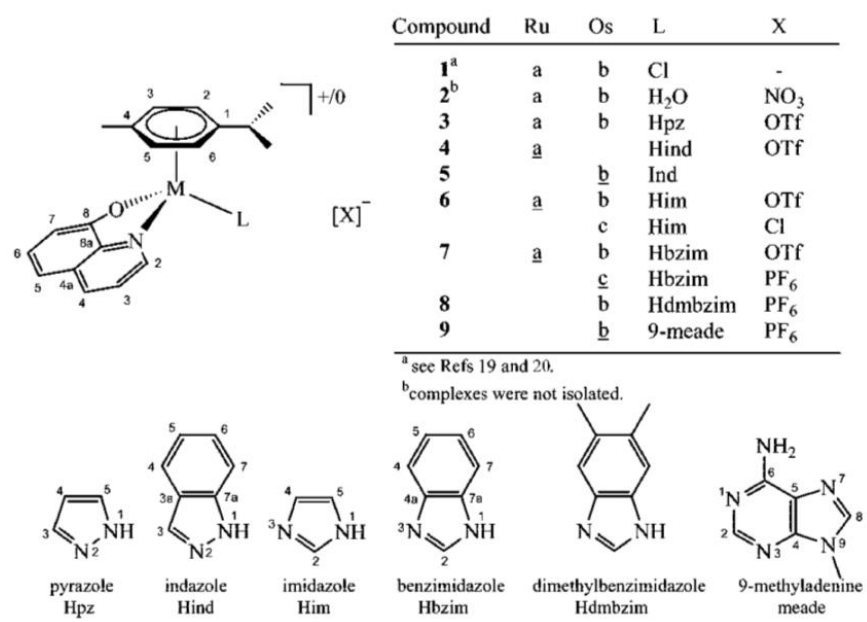


Obr. 14 Schéma polosendvičových sloučenin

Dostupné z [1]

2.5.1.1 Polosendvičové komplexy ruthenia a osmia

Bylo připraveno několik komplexů obecného vzorce $[M(\eta^6\text{-pcym})(\text{oxin})(\text{hazol})]X$, kde $M = \text{Ru}, \text{Os}$, oxin = deprotonovaný 8-HQ a hazol = azolový heterocyclus (Obr. 15). Vědci se inspirovali komplexy ruthenia (KP1019 a NAMI-A) (Obr. 3) a komplexem gallia (KP46) (Obr. 14). Jako arenový ligand byl použit p-cymen, jehož koordinační uspořádání stabilizuje kovový ion v nízkém oxidačním stavu a jako chelatační ligand zvolili 8-HQ, který byl použit v KP46, s cílem zabránit tak nežádoucím reakcím hydrolyzy. V šestém koordinačním místě byly navázány azolové heterocykly, které byly použity jako ligandy ve strukturách sloučenin KP1019 a NAMI-A (Obr. 15). [16,17]



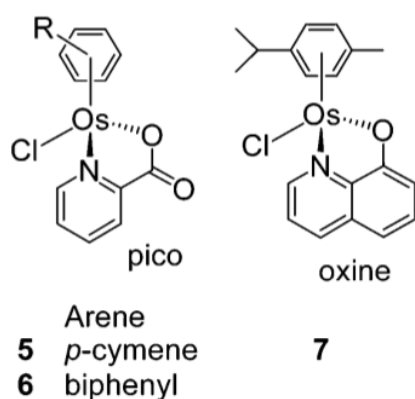
Obr. 15 Připravené sloučeniny. Dostupné z [16]

Cílem studie bylo připravit komplexy, které by snadno pronikaly buněčnou membránou a zároveň byly dostatečně rozpustné ve vodě. Z těchto důvodů byly vybrány azolové heterocykly lišící se rozpustností ve vodě a lipofilitou. Komplexy osmia se ukázaly o něco méně rozpustné než sloučeniny ruthenia. Antiproliferační aktivita komplexů vůči nádorovým buňkám *in vitro* byla testována proti lidským buněčným liniím CH1 (karcinom vaječníku) a SW480 (karcinom tlustého střeva) pomocí testu MTT (kolorimetrický test pro hodnocení buněčné metabolické aktivity). [17]

Obecně vykazovaly komplexy v nízkých mikromolárních koncentracích u obou buněčných linií dobrou antiproliferační aktivitu. Komplexy ruthenia, které obsahovaly azolový ligand

vykazovaly vyšší antiproliferační aktivitu než chloridový analog a také vyšší aktivitu než aqua komplex, přestože hůře vyměnitelné azolové ligandy by měly být méně výhodné pro koordinaci s cílovými molekulami. Mezi jednotlivými komplexy osmia nebyly rozdíly výrazné, a nebyly tak z nich patrné rozdíly mezi strukturou a aktivitou. Komplexy ruthenia i osmia s oxinem a azolovým heterocyklem jako pomocným ligandem, jsou vysoce cytotoxické u lidských nádorových buněčných linií SW480 a CH1 s hodnotami IC50 v rozmezí 3,3 až 9,4 μM , a proto by měly být dále testovány jako potenciální protinádorová léčiva. [17]

Dále byly připraveny komplexy obecného vzoru $[\text{Os}(\eta^6\text{-aren})(\text{XY})\text{Cl}]$, kde aren = *p*-cymen a XY = N,O-donorové ligandy: (1) glycinát, (2) L-alaninát, (3) α -aminobutyrát, (4) β -alaninát, (5) pikolinát, (7) 8-hydroxychinolinát. Cílem bylo navrhnout komplexy osmia cytotoxické vůči nádorovým buňkám. Komplexy 5, 6 a 7 (Obr. 16) vykazovaly aktivitu vůči lidským rakovinným buňkám plic A549 a rakovinným buňkám vaječníků A2780 srovnatelnou s aktivitou karboplatiny. Komplexy 1-4 byly neaktivní. [18]



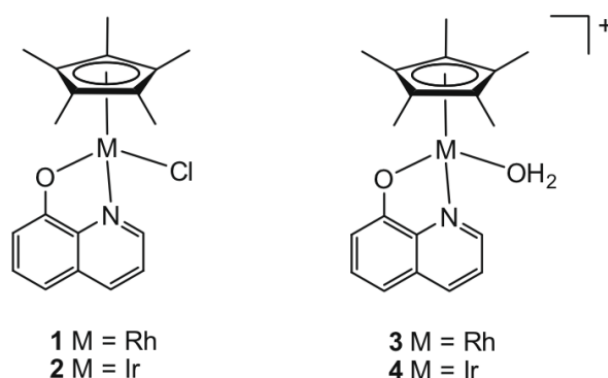
Obr. 16 Polosendvičové komplexy osmia 5-7

Dostupné z [18]

2.5.1.2 Polosendvičové komplexy rhodia a iridia

Byly připraveny neutrální chloro komplexy $[\text{M}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}^1)\text{Cl}]$ a kationtové aqua komplexy $[\text{M}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\eta^2\text{-L}^1)(\text{H}_2\text{O})]^+$ (Obr. 17). Neutrální chloro komplexy byly připraveny reakcí dvojjaderných komplexů $[\text{M}(\mu\text{-Cl})(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}]_2$ ($\text{M} = \text{Rh}, \text{Ir}$) s oxinátém draselným v chloroformu za pokojové teploty. Oba komplexy byly vysráženy pomocí diethyletheru a přečištěny chromatografií na tenké vrstvě. Vzniklé žluto-oranžové krystaly byly rozpustné v DCM a chloroformu. Kationtové aqua komplexy byly syntetizovány reakcí připravených

chloro komplexů s tetrafluoroboranem stříbrným ve vodném roztoku. Kationtové komplexy byly izolovány jako soli tetrafluoroboranu, které vytvořily oranžově-červené krystaly rozpustné ve vodě, methanolu, acetonu a acetonitrilu. V této studii nebyla zkoumána biologická aktivita připravených komplexů, pouze jejich krystalová struktura. [19]



Obr. 17 Chloro komplex (vlevo) a aqua komplex (vpravo) Ru a Ir

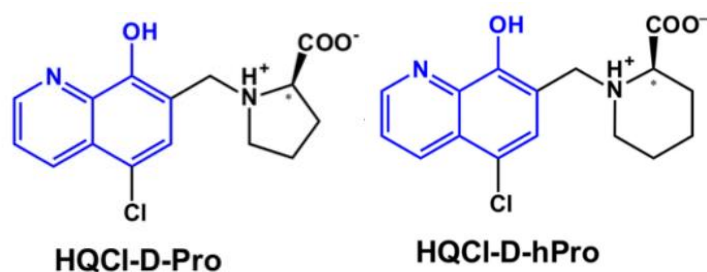
Dostupné z [19]

2.6 Rozpustnost a lipofilita

Organokovové komplexy, na které je vázaný ligand 8-HQ, nejsou dobře rozpustné ve vodě, což je vlastnost nezbytná pro další farmakologický vývoj. Protože aby bylo možné podávat léky intravenózně, musí být dostatečně rozpustné ve vodném prostředí. Rozpustnost komplexů závisí na kovovém iontu, typu ligandů a protianiontu. Léčivo také potřebuje vhodnou lipofilitu, aby mohlo prostoupit buněčnou membránou, která je lipofilní. Je tedy důležitá rovnováha mezi rozpustností a lipofilitou. [20]

2.6.1 Rozpustnost polosendvičových sloučenin

Některé polosendvičové komplexy s 8-HQ se ukázaly jako poměrně slibné, obecně však trpí špatnou rozpustností ve vodě. Z tohoto důvodu byly syntetizovány dva nové 8-hydroxychinolin-D-prolin a 8-hydroxychinolin-D-homoprolin hybridy (HQCl-D-Pro, HQCl-D-hPro) (Obr. 18) a jejich polosendvičové komplexy RuCym a RhCp* s cílem získat selektivní protinádorové sloučeniny se zvýšenou rozpustností ve vodě. [21]



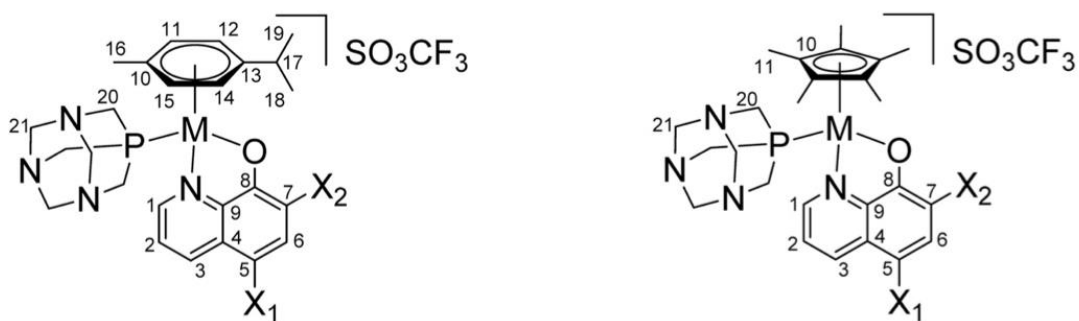
Obr. 18 Strukturální vzorce hybridů 8-HQCl-D-Pro a HQCl-D-hPro

Dostupné z [21]

Volné deriváty i jejich komplexy vykazovaly vynikající rozpustnost ve vodě díky své zwitterionové struktuře. Komplexy byly v široké škále pH velmi stabilní a ve fyziologickém pH nevykazovaly známky disociace. Volné deriváty a jejich RhCp* komplexy vykazovaly významnou cytotoxicitu vůči testovaným lidským buněčným liniím adenokarcinomu tlustého střeva (Colo-205 a Colo-320). Komplexy RuCym byly neaktivní, zřejmě kvůli jejich náchylnosti ke ztrátě arenového kruhu. Komplexy RhCp* vykazovaly zvýšenou selektivitu vůči citlivým nádorovým buňkám oproti nenádorovým buňkám lidských plicních fibroblastů, nevykazovaly však selektivní toxicitu vůči MDR. Přítomnost další methylenové části v ligandu HQCl-D-hPro se ukázala jako výhodná pro protinádorový účinek, protože jeho komplex RhCp* byl cytotoxičtější než komplex HQCl-D-Pro. Komplexy RhCp* a RuCym 8-hydroxychinolin-D-aminokyselin mají poměrně vysokou stabilitu v roztoku na základě údajů získaných z UV/VIS a ¹H NMR spektroskopie. Metody UV/VIS spektroskopie, kapilární elektroforéza a cirkulární dichroismus prokázaly silnou vazbu komplexů na lidský albumin (HSA) a calf-thymus (ct-DNA), ale schopnost štěpit DNA nebyla prokázána. [21]

2.6.2 1,3,5-Triaza-7-fosfaadamantan (PTA)

Byla připravena řada M^{II/III}(cym/Cp*) (cym: M = Ru, Os; Cp*: M = Rh, Ir) komplexů s ligandy na bázi 8-HQ nebo cliochinolu, ve kterých byl chloro ligand nahrazen za 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan (PTA) (Obr. 19). Syntézy byly popsány jako snadné s dobrými až velmi dobrými výtěžky. Studie ukázaly, že zavedený PTA významně zvýšil rozpustnost ve vodě všech připravených komplexů. PTA totiž obsahuje více atomů dusíku, které mohou být snadno protonizovány. Komplexy obsahující PTA ligandy mají obecně nízkou cytotoxicitu. Antiproliferační aktivita komplexů byla dokonce vyšší než u RAPTA-C [Ru(η^6 -pcym)(PTA)Cl]. [20]



Obr. 19 Strukturní vzorce připravených komplexů obsahující PTA

Dostupné z [20]

Byla také připravena řada Ru(II) arenových sloučenin, kde jako ligand vystupoval kurkumin a jeho deriváty a chloro ligand byl nahrazen PTA pro lepší rozpustnost ve vodě. Byla testována jejich protinádorová aktivita proti lidským rakovinným buňkám vaječníku A2780 a A2780cisR variantě, která je rezistentní vůči cisplatině. Výsledky cytotoxicity byly porovnány s aktivitou cisplatinu. Všechny komplexy inhibovaly růst rakovinných buněk i v nízkých mikromolárních koncentracích a byly dokonce účinnější než cisplatina. [22]

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie a metody

Chemikálie 8-hydroxychinolin-2-karboxylová kyselina (HL¹), N-fenyl-8-hydroxychinolin-2-karboxamid (HL²), N-(2-fluor-fenyl)-8-hydroxychinolin-2-karboxamid (HL³), [Os(μ-Cl)(η⁶-pcym)Cl]₂, [Rh(μ-Cl)(η⁵-Cp*)Cl]₂, [Ir(μ-Cl)(η⁵-Cp*)Cl]₂, dichlormethan (DCM), triethylamin (TEA), bezvodý síran hořečnatý, hexan, hydrát chloridu ruthenitého, methanol, α-terpinen (1-methyl-4-(propan-2-yl)cyklohexa-1,3-dien), dimethylformamid, 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium tetrafluoroborate (TBTU), sulfanilamid, ethylacetát (EtOAc), AgSO₃CF₃, 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan (PTA), 99,8 % DMSO-*d*₆ byly zakoupeny od komerčních dodavatelů Sigma-Aldrich s.r.o.; Thermo Fisher Scientific; Acros Organics B.V.B.A; VWR International; Apollo Scientific; Lach-Ner, s.r.o.; DEUTERO. Výchozí dvojjaderné komplexy osmia, rhodia a iridia byly poskytnuty vedoucím práce, stejně jako HL² a HL³.

Elementární analýza (C,H,N) byla provedena na elementárním analyzátoru Flash 2000 CHNS (Thermo Scientific).

Hmotnostní spektrometrie roztoků studovaných látek v methanolu byla provedena na 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).

¹H NMR spektroskopie byla provedena na 400 MHz spektrometrech Varian a JEOL. Vzorky pro NMR experimenty byly rozpuštěny v 99,8 % DMSO-*d*₆ a analyzovány při laboratorní teplotě (ca. 300 K). Štěpení signálu v ¹H NMR spektrech je definované jako s = singlet, d = dublet, t = triplet, br = široký signál, m = multiplet.

Infračervená spektroskopie byla měřena pomocí přístroje Nexus 670 FT-IR (Thermo Nicolet) v rozsahu vlnočtů 400-4000 cm⁻¹ s využitím techniky ART.

HPLC. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází (RP-HPLC) spojená s ESI+ hmotnostním spektrometrem byla provedena na zařízení UHPLC-MS (Dionex/Thermo Fisher Scientific) s kolonou Acclaim 120 (stacionární fáze C18; velikost pórů 5 μm, 120 Å, 2,1 × 50 mm). Jako mobilní fáze byla použita směs MeCN (A) a 0,1% kyseliny mravenčí v H₂O (B) s gradienty 20 % A (t = 0 min), 80 % A (t = 15 min), 80 % A (t = 20 min), 20 % A (t = 21 min)

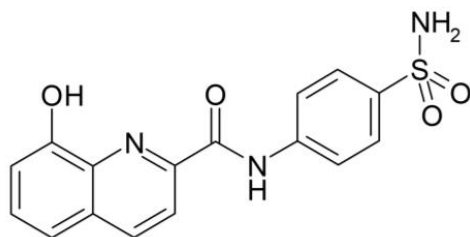
a 20 % A ($t = 30$ min) po dobu 30 min (průtok 0,4 ml min⁻¹). Vlnová délka detekce byla 254 nm.

3.2 Příprava výchozích sloučenin

[Ru(μ -Cl)(η^6 -pcym)Cl]₂ byl připraven z hydrátu chloridu ruthenitého (5 mmol, 1 g), methanolu (5 ml) a α -terpinenu (1,9 ml). Reakce probíhala v mikrovlnném syntetizátoru při 140 °C po dobu 5 minut. Po proběhnutí reakce byla na fritě odsána sraženina nezreagovaného chloridu ruthenitého a promyta methanolem. Nadbytek rozpouštědla byl následně vyfoukán dusíkem. Zbylý produkt byl několik dní ponechán v lednici pod parafilmem. Připravený dimer ruthenia byl odsán na fritě při vakuu a promyt hexanem a byl vysušen v exsikátoru. Matečný louh byl opět vyfoukán dusíkem pro případ, že by z něj vykryštovala ještě část produktu. Připravený produkt měl červenou barvu.

8-hydroxy-*N*-(4-sulfamoylphenyl)chinolin-2-karboxamid (HL⁴) byl připraven rozpuštěním HL¹ (1 mmol, 189 mg) v dimethylformamidu (25,3 mmol, 2 ml) a ochlazením na 0 °C. K takto připravené směsi bylo přidáno TBTU (1,5 mmol, 428 mg) a roztok byl míchán při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Následně byl při teplotě 0 °C přidán sulfanilamid (1,1 mmol, 182 mg) a TEA (3 mmol, 421,6 μ l). Reakční směs byla přes noc ponechána na magnetické míchačce při pokojové teplotě. Po přidání vody a ochlazení ledem se z reakční směsi vysrážel pevný béžový produkt, který byl odfiltrován přes fritu a vysušen v exsikátoru za sníženého tlaku. Průběh reakce byl kontrolován pomocí chromatografie na tenké vrstvě (TLC). Jako mobilní fáze byla použita směs EtOAc a hexanu v poměru 3:2. Závěrečná TLC kontrola ukázala v produktu nezreagované výchozí reaktanty, které byly úspěšně odstraněny pomocí sloupcové chromatografie za použití stejné mobilní fáze. Následná čistota produktu byla potvrzena ¹NMR spektroskopii.

8-hydroxy-*N*-(4-sulfamoylphenyl)chinolin-2-karboxamid (**HL⁴**): *Anal.* Vyp. pro C₁₆H₁₃N₃O₄S: C, 56,0; H, 3,8; N, 12,2; S, 9,3; nalezeno C, 55,8; H, 4,1; N, 12,3; S, 9,0 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 K, ppm): 11,35 (s, 1H), 10,38 (s, 1H), 8,57 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 8,25 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 8,05 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,87 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,59 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,28 (s, 2H), 7,21 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H). FTIR (ν_{ATR} , cm⁻¹): 3418, 3279, 3190, 2921, 2851, 1678, 1589, 1529, 1506, 1467, 1400, 1335, 1311, 1232, 1157, 1146, 539.



3.3 Příprava chloro komplexů

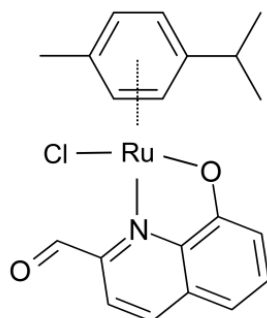
Byly provedeny syntézy základní sady čtyř polosendvičových komplexů pro Ru, Os, Rh a Ir s HL¹. Následně byl syntetizován komplex ruthenia s HL² a sada čtyř komplexů pro Ru, Os, Rh a Ir s HL³. Všechny tyto komplexy byly syntetizovány dle stejného postupu.

Postup:

Komplexy byly syntetizovány z HL¹ (0,12 mmol, 22,704 mg), HL² (0,1 mmol, 26,4 mg), nebo HL³ (0,1 mmol, 28,2 mg), které byly rozpuštěné v přiměřeném množství DCM. K roztoku byl přidán TEA (0,12 mmol, 16,9 μ l), aby došlo k deprotonizaci OH skupiny chinolinu v poloze 8. Po 10 minutách byl přidán dimer $[M(\mu\text{-Cl})(\eta^{5/6}\text{-ar})\text{Cl}]_2$, kde M = Ru (0,05 mmol, 30,62 mg); M = Os (0,05 mmol, 39,54 mg); M = Rh (0,05 mmol, 30,90 mg); M = Ir (0,05 mmol, 39,83 mg). Reakce probíhala v mikrovlnném syntetizátoru při 100°C po dobu 3 minut, nebo za laboratorní teploty mícháním přes noc. Po skončení reakce byla reakční směs přefiltrována přes filtrační papír. Následně byla do roztoku přidána destilovaná voda, čímž došlo k oddělení dvou nemísitelných fází. Oddělením vodné fáze (horní) došlo k odstranění amoniové soli. Tento postup byl opakován třikrát. Reakční směs byla vysušena bezvodým síranem hořečnatým a následně přefiltrována přes filtrační papír. Zbylý síran hořečnatý byl promyt přiměřeným množstvím DCM. Následně byl plynným dusíkem odstraněn přebytek DCM. Přidáním hexanu došlo k vysrážení produktu. Produkt byl izolován centrifugací a následným odpipetováním hexanu a vysušen v exsikátoru za sníženého tlaku. Ačkoli syntéz bylo provedeno více, analytická data jsou uvedena pouze pro sloučeniny izolované v dostatečné čistotě.

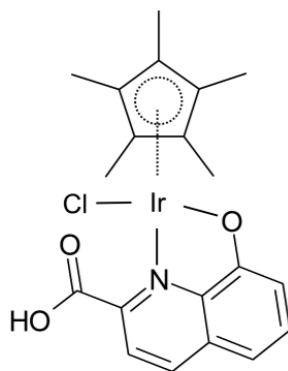
Komplex $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{HL}^1)\text{Cl}]$ (komplex **1**): *Anal.* Vyp. pro $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NClO}_2\text{Ru}$: C, 54,2; H, 4,6; N, 3,2; nalezeno C, 54,3; H, 4,5; N, 3,3 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 K, ppm): 10,50 (s, 1H), 8,37 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,94 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,43 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,88 (dd, *J* = 19,3, 8,1 Hz, 2H), 5,90 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 5,76 (m, 2H), 5,57 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 2,38 (m, 1H), 2,12 (s, 3H), 0,86 (dd, *J* = 12,2, 6,8 Hz, 6H). ESI+ MS (MeOH; *m/z*): 465,8 (vypočteno 466,0 pro

{[Ru(pcy_m)(L^{1ald})Cl]+Na}⁺, 440,0 (vypočteno 440,0 pro {[Ru(pcy_m)(L^{1ald})]+CH₃OH}⁺), 408,0 (vypočteno 408,1 pro [Ru(pcy_m)(L^{1ald})]⁺). FTIR (ν_{ATR}, cm⁻¹): 3058,2969, 2874, 1682, 1589, 1549, 1453, 1365, 1342, 1231, 1171, 1105, 871, 829, 749, 738, 598.



[Ru(η⁶-pcym)Cl(L^{1ald})] (1)

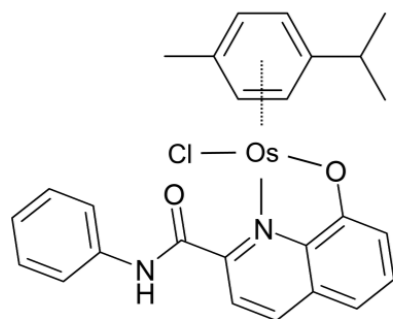
Komplex [Ir(η⁵-Cp*)(HL¹)Cl] (komplex 2): *Anal. Vyp.* pro C₂₀H₂₁NCIO₂Ir: C, 44,9; H, 4,0; N, 2,6; nalezeno C, 45,1; H, 4,2; N, 2,5 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 K, ppm): 8,52 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 8,28 (d, *J* = 8,2 Hz, 5H), 8,10 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,68 (d, *J* = 8,2 Hz, 5H), 7,59 (m, 2H), 7,49 (bs, 2H), 7,30 (t, *J* = 7,8 Hz, 5H), 7,16 (bs, 2H), 6,89 (m, 10H), 1,60 (s, 30H), 1,53 (s, 75H). ESI+ MS (MeOH; *m/z*): 516,1 (vypočteno 516,1 pro [Ir(Cp*)(HL¹)]⁺). FTIR (ν_{ATR}, cm⁻¹): 3596, 3210, 3073, 3042, 2963, 2922, 1664, 1510, 1452, 1343, 1235, 1196, 1169, 1096, 1032, 874, 827, 799, 766, 737, 545, 459.



[Ir(η⁵-Cp*)(L¹)] (2)

Komplex [Os(η⁶-pcym)(HL²)Cl] (komplex 4): *Anal. Vyp.* pro C₂₀H₂₁NCIO₂Ir: C, 48,79; H, 3,8; N, 3,0; nalezeno C, 48,9; H, 3,8; N, 2,7 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 K, ppm): 9,76 (s, 1H), 8,39 (m, 2H), 7,69 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,33 (m, 4H), 7,07 (m, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H),

6,82 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,11 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 6,02 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 5,22 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 2,28 (sep, $J = 6,8$ Hz, 1H), 1,98 (s, 3H), 0,81 (m, 6H). ESI+ MS (MeOH; m/z): 607,2 (vypočteno 607,1 pro $[\text{Os}(\text{pcym})(\text{HL}^2)]^+$). FTIR (ν_{ATR} , cm^{-1}): 3855, 3736, 3727, 3630, 3241, 3060, 2966, 2869, 2363, 2347, 1671, 1595, 1555, 1535, 1446, 1375, 1351, 1112, 836, 770.



$[\text{Os}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{L}^2)]$ (**4**)

3.4 Příprava PTA komplexů

$[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{HL}^1)(\text{PTA})]\text{CF}_3\text{SO}_3$

Postup č. 1

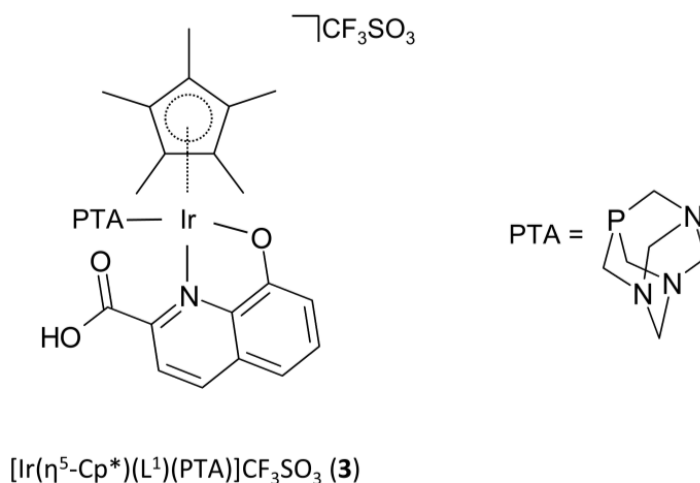
HL^1 (0,1 mmol, 36,8 mg) byla rozpuštěna ve 4 ml methanolu a následně byl přidán TEA (0,12 mmol, 16,9 μl). Reakční směs byla ponechána 15 minut na magnetické míchačce za laboratorní teploty. Následně byl přidán dimer $[\text{Ru}(\mu\text{-Cl})(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}]_2$ (0,05 mmol, 30,6 mg) a 3 ml methanolu, aby byl doplněn vhodný objem rozpouštědla pro mikrovlnnou syntézu. Reakce proběhla v mikrovlnném syntetizátoru při 100°C po dobu 3 minut. Po ukončení reakce měl roztok tmavě žluto-hnědou barvu. K roztoku byl přidán AgSO_3CF_3 (0,1 mmol, 25,7 mg). Reakční směs byla ponechána po 1 hodinu na magnetické míchačce při laboratorní teplotě. Poté byla ze směsi odfiltrována sraženina AgCl pomocí filtračního papíru. K filtrátu byl přidán 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan (PTA) (0,01 mmol, 15,7 mg). Reakční směs byla ponechána 24 hodin na magnetické míchačce za laboratorní teploty. Kvůli přítomnosti stříbra byla reakční nádoba obalená alobalem. Methanol byl odpařen na rotační vakuové odparce a zbylý produkt byl následně rozpuštěn v cca 8 ml DCM. Do takto připraveného roztoku byl následně přidáván hexan, dokud se z něj nevysrážela tmavě červená sraženina, která byla následně pomocí centrifugy oddělena a vysušena v exsikátoru za sníženého tlaku.

Postup č. 2

$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{HL}^1)(\text{PTA})]\text{CF}_3\text{SO}_3$

Připravený komplex **2** (0,054 mmol, 30 mg) byl rozpuštěn v acetonitrilu. Do roztoku byl přidán triflát stříbrný (0,057 mmol, 14,57 mg) a takto připravená reakční směs byla ponechána na magnetické míchačce po 1 hodinu za laboratorní teploty. Reakční směs byla přefiltrována přes filtrační papír, aby došlo k oddělení sraženiny chloridu stříbrného. K filtrátu byl přidán 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan (0,057 mmol, 8,91 mg) a směs byla ponechána na magnetické míchačce po 24 hodin za laboratorní teploty. Po 24 hodinách byla směs zcentrifugována a na rotační vakuové odparce byl odpařen zbytek rozpouštědla. Krystalový prášek byl rozpuštěn v DCM, který byl následně vyfoukán dusíkem. Po přidání hexanu došlo k vysrážení oranžové sraženiny, která byla izolována centrifugací a vysušena v exsikátoru za sníženého tlaku.

Komplex $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{HL}^1)(\text{PTA})]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (komplex **3**): FTIR (vATR, cm^{-1}): ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300 K, ppm): 8,40 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,80 (bs, 1H), 7,39 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,94 (m, 2H), 4,39 (m, 4H), 4,24 (m, 4H), 3,91 (m, 4H), 1,54 (s, 15H). ESI+ MS (MeOH; m/z): 695,1 (vypočteno 695,2 pro $\{[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{HL}^1)(\text{PTA})]-\text{H}^++\text{Na}^+\}^+$), 673,1 (vypočteno 673,2 pro $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{HL}^1)(\text{PTA})]^+$), 516,2 (vypočteno 516,1 pro $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{HL}^1)]^+$). 1622, 1591, 1553, 1449, 1432, 1364, 1321, 1279, 1256, 1148, 1109, 1029, 949, 818, 745, 637, 580, 516, 483.



4. VÝSLEDKY A DISKUSE

Z literatury je známa biologická aktivita polosendvičových komplexů s 8-HQ a jeho deriváty, a proto bylo téma polosendvičových sloučenin s deriváty 8-HQ vybráno pro tuto bakalářskou práci. Předpokládalo se, že komplexy s 8-hydroxychinolin-2-karboxylovou kyselinou budou analogické. Řada syntéz bohužel nevedla k žádoucím produktům a musela být opakována a optimalizována (délkou reakční doby, reakční teplotou, množstvím výchozích reaktantů,...).

Nejdříve byly učiněny pokusy o přípravu Ru, Os, Rh a Ir komplexů s HL¹, které měly sloužit pro srovnání s komplexy derivátů této kyseliny. Produkty byly často špatně izolovatelné a z tohoto důvodu měly nízké výtěžky. Některé syntézy byly několikrát opakovány a byly provedeny pokusy o optimalizaci reakčních podmínek. Lepších výsledků dosahovaly sloučeniny, které byly vícekrát promyty destilovanou vodou, zřejmě tedy do vodné fáze přecházela část nežádoucích vedlejších produktů. Zelená barva vodné fáze u syntéz komplexu ruthenia naznačuje, že docházelo k oxidaci ruthenia z oxidačního stavu +II na +III. Chemicky čistá individua se podařilo připravit pouze pro Ru (komplex **1**) a Ir (komplex **2**), které byly následně použity pro další syntézy.

Byly provedeny pokusy o nahrazení chloro ligandu v komplexech **1** a **2** P-donorovým ligandem 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantanem (PTA). Z literatury je známo, že PTA zvyšuje rozpustnost látek ve vodném prostředí, což je klíčová vlastnost látek pro aplikaci ve fyziologickém prostředí. Pokus o přípravu komplexu Ru s ligandem PTA byl neúspěšný, proto byl druhý pokus proveden podle jiného postupu. Oba postupy byly čerpány z literatury. [20] Komplex s Ir byl připraven jako chemicky čistá látka, což bylo prokázáno na výsledcích hmotnostní spektrometrie a ¹H NMR spektroskopie. Potvrzena byla zvýšená rozpustnost ve vodném prostředí u obou připravených komplexů.

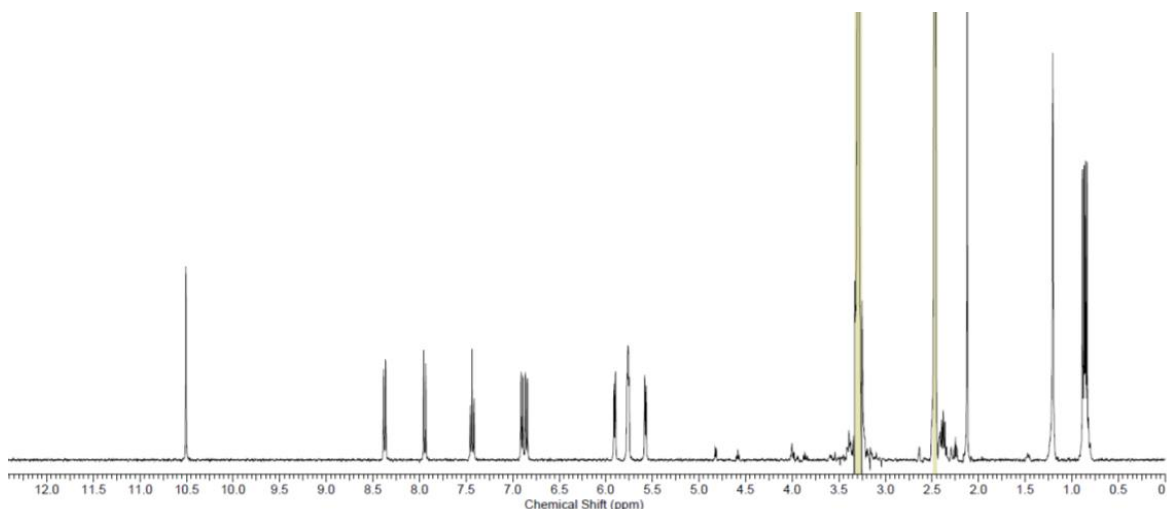
Jako modelové deriváty pro další syntézy byly vybrány karboxamidy HL² a HL³. Chemicky čistá látka se podařila připravit pouze Os(II) komplex s HL³. U ostatních produktů byly ve spektrech nalezeny nečistoty a z důvodu malých výtěžků nebyly provedeny pokusy o čištění.

Dále byl připraven nový derivát HL¹ nesoucí přes peptidickou vazbu biologicky aktivní substituent, kterým bylo antibiotikum sulfanilamid (HL⁴). Při prvním pokusu o tuto syntézu odhalila TLC přítomnost výchozích reaktantů, a proto byl produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie. Čistota takto přečištěného produktu byla následně potvrzena pomocí spektroskopie. Při druhém pokusu o tuto syntézu byl reakční čas prodloužen z jedné noci na dvě a průběh reakce byl sledován pomocí TLC kontroly. Již po 1 hodině byl viditelný vznikající

produkt. Produkt byl hůře izolovatelný než při první syntéze, ale nebylo třeba čištění, díky čemuž byl získán i větší výtěžek a mohl tak být použit pro další syntézu s dvojjaderným komplexem iridia. Produkt této syntézy bohužel nevykazoval potřebnou čistotu a kvůli nedostatku času pokus nebyl opakován.

Všechny produkty byly analyzovány primárně pomocí ESI+ hmotnostní spektrometrie, následně HPLC, ¹NMR spektroskopie, elementární analýzy a FTIR spektroskopie. V několika případech byl vznik požadovaného produktu prokázán hmotnostní spektrometrií, ale na HPLC a/nebo ¹H NMR spektroskopii byla identifikovaná směs. Pokusy o čištění nebyly z důvodu nízkých výtěžků provedeny, výjimkou byl organický derivát HL⁴ se sulfanilamidem (viz výše).

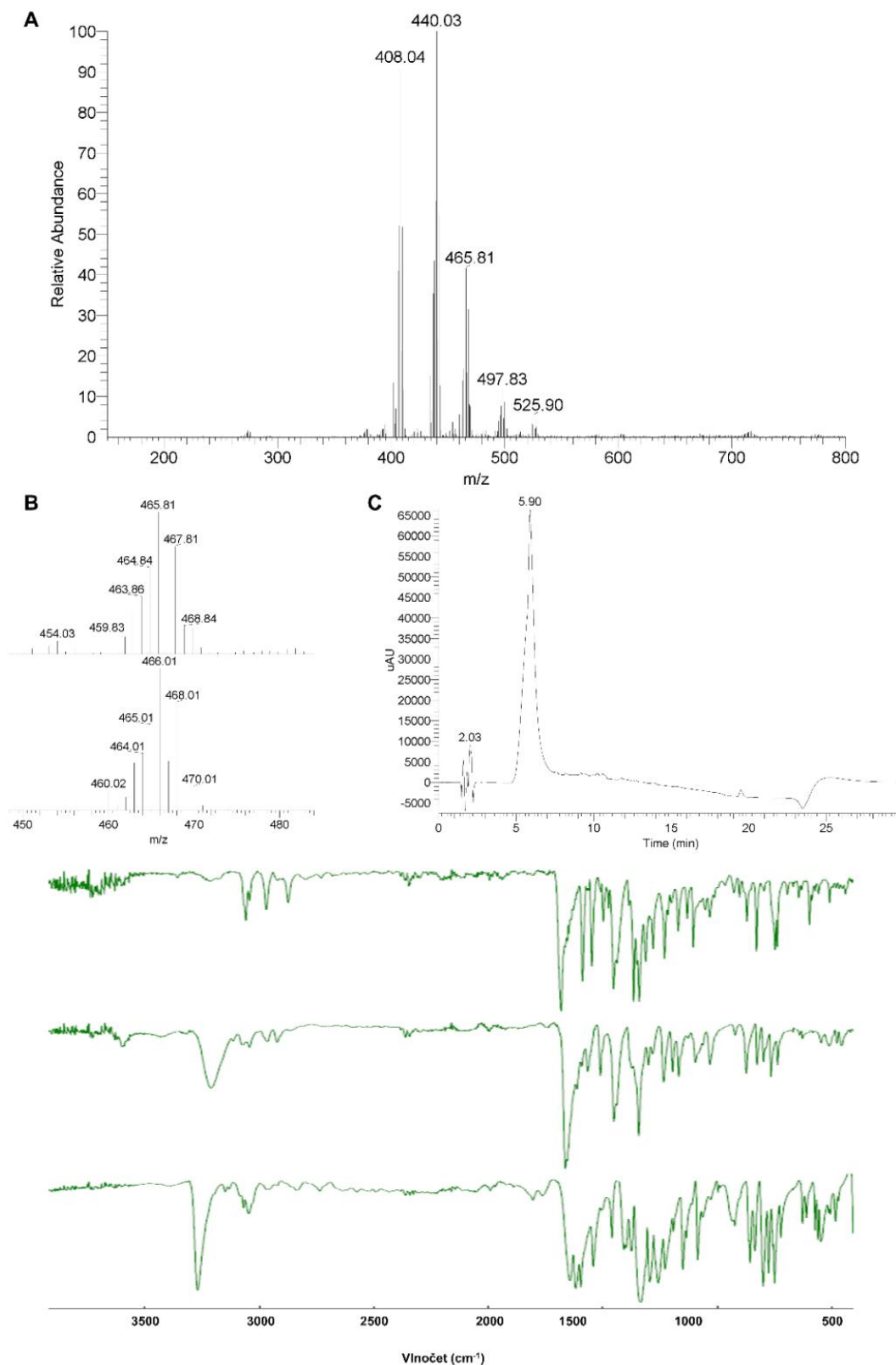
(1) $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}^{\text{ald}})\text{Cl}]$



Obrázek 20: ^1H NMR spektrum komplexu $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}^{\text{ald}})\text{Cl}]$ (**1**; rozpuštěno v $\text{DMSO-}d_6$).

Produkt reakce Ru-dimeru a HL^1 byl identifikován jako komplex $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}^{\text{ald}})\text{Cl}]$ (komplex **1**), který ovšem neobsahuje původní 8-hydroxychinolin-2-karboxylát (L^1), ale jeho redukovanou formu v podobě aldehydu (tj. L^{ald}). Na tuto skutečnost poukazují především výsledky hmotnostní spektrometrie, kdy byly detekovány tři částice obsahující L^{ald} , avšak ani jedna částice s L^1 (Obr. 21). Stejně tak i ^1H NMR signál detekovaný při 10,50 ppm ve formě ostrého singletu s odpovídající integrální intenzitou poukazuje na redukcí karboxylové skupiny na aldehyd. Tento signál navíc nebyl detekován u komplexu **2** (viz níže).

Další rozdíly mezi komplexy **1** (s $-\text{CHO}$ skupinou) a **2** (s $-\text{COOH}$ skupinou) byly pozorovány pomocí infračervené (FT-IR) spektroskopie. Díky této metodě a porovnání komplexů **1** a **2** s výchozí karboxylovou kyselinou HL^1 bylo nepřímě prokázáno, že u Ru(II) komplexu **1** skutečně dochází k redukcí $-\text{COOH}$ skupiny na aldehyd. Poukazuje na to především absence vibrace $-\text{OH}$ skupiny karboxylové skupiny ($\nu = 3285 \text{ cm}^{-1}$ pro volnou HL^1) ve spektru komplexu **1**, která naopak byla detekována ve spektru komplexu **2** ($\nu = 3210 \text{ cm}^{-1}$). Podobně i v oblasti mezi 1650 až 1700 cm^{-1} došlo ke změnám, které odpovídají popsané redukcí.



Obrázek 21: (A) ESI+ hmotnostní spektrum komplexu $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}^{\text{ald}})\text{Cl}]$ (**1**; rozpuštěn v methanolu), zobrazeno společně s detailem izotopového rozložení píku částice $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L}^{\text{ald}})\text{Cl}]+\text{Na}\}^+$ (**B**) a výsledkem HPLC analýzy čistoty produktu (**C**). Dále je zobrazeno porovnání infračervených spekter komplexů **1**, **2** a volné HL^1 (**D**).

Na přítomnost redoxních procesů při průběhu reakce Ru-dimeru s HL¹ pak poukazovalo i zbarvení reakční směsi, ze které byly při izolaci a čištění produktu destilovanou vodou odstraněny neidentifikované zeleně zbarvené vedlejší produkty, které nepřímo prokazují oxidaci části ruthenatých iontů do oxidačního stavu +III. I přesto, že nebyl připraven požadovaný produkt s karboxylovou skupinou, lze tuto reakci považovat za úspěšnou, protože i aldehydová skupina je zajímavým reakčním centrem pro následné substituce produktu získaného opakovaně v odpovídající čistotě (viz výsledky HPLC). Tyto pokusy však nebyly v rámci řešení bakalářské práce provedeny.

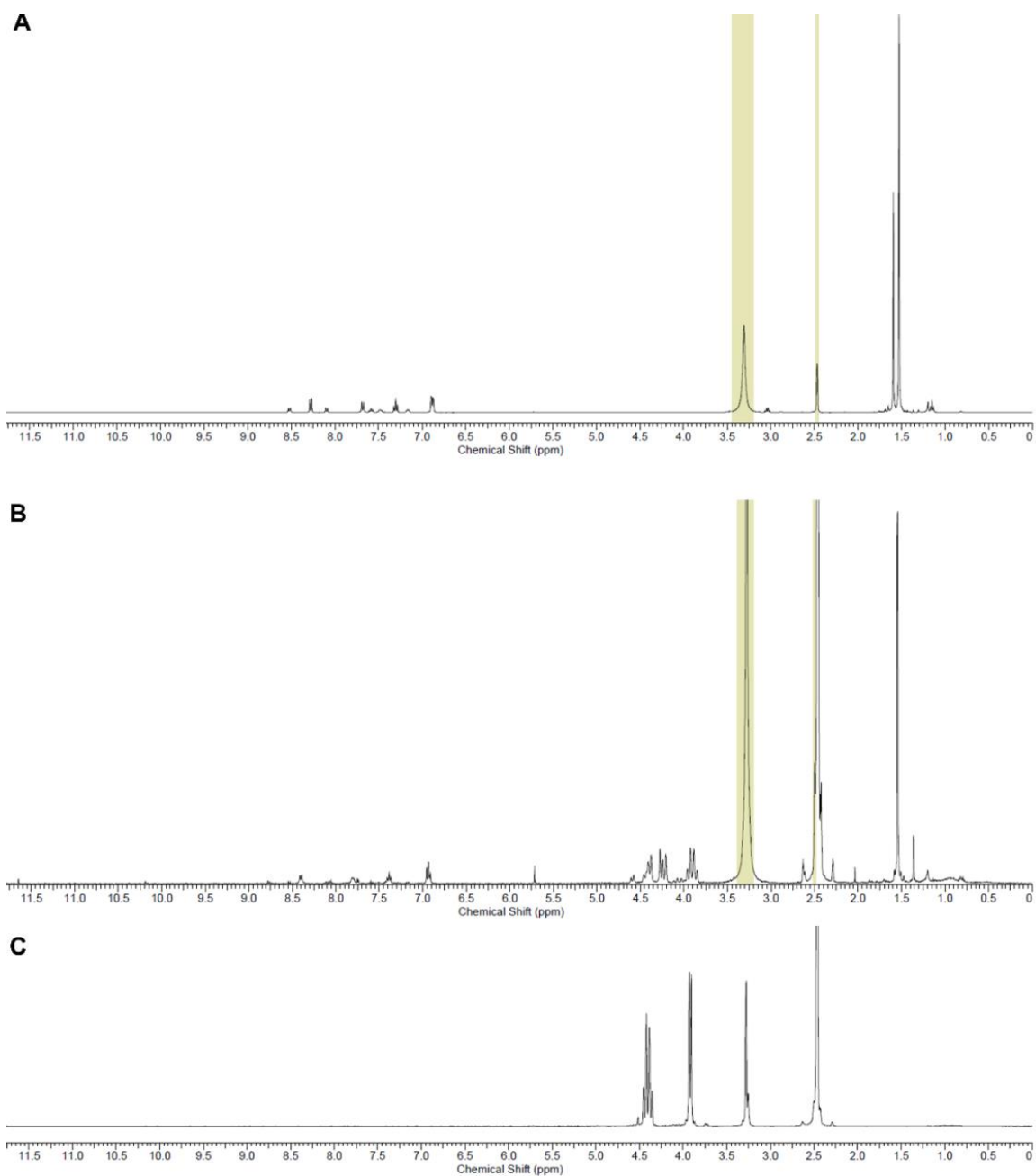
(2) [Ir(η^5 -Cp*)(HL¹)Cl]

Reakcí Ir-dimeru a HL¹ byl připraven komplex **2**, který, na rozdíl od Ru(II) komplexu **1**, obsahoval nezreagovaný karboxyl. Toto bylo prokázáno kombinací analytických technik elementární analýzy, ¹H NMR a ESI+ hmotnostní spektrometrie. V ¹H NMR byly identifikovány pouze signály aromatických –CH skupin HL¹ ligandu (8,52–6,89 ppm) a methylové skupiny Cp* ligandu (1,60 a 1,53 ppm). Výsledky NMR naznačují, že se jedná o dvě formy (isomery) komplexu, neboť ve spektru jsou dvě sady signálů v poměru 2:5 (viz obrázek 22). Odlišné byly i výsledky hmotnostní spektrometrie, kdy spektrum komplexu **2** rozpuštěného v methanolu obsahovalo jeden dominantní signál, jehož hodnota *m/z* a izotopová distribuce odpovídaly částici [Ir(η^5 -Cp*)(HL¹)]⁺, která vzniká ionizací z komplexu **2** odštěpením chloro ligandu.

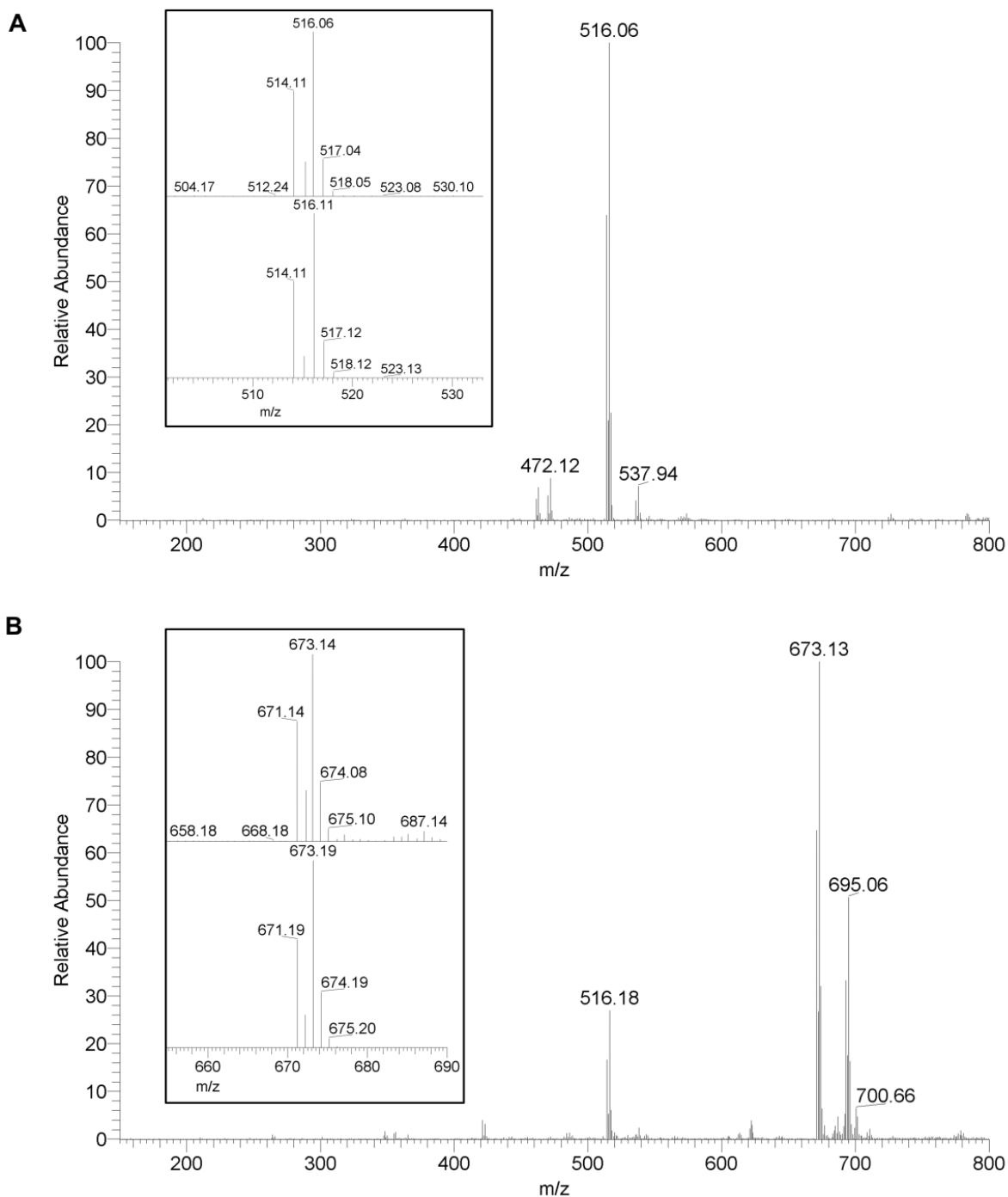
(3) [Ir(η^5 -Cp*)(HL¹)(PTA)]CF₃SO₃

Elektroneutrální komplex **2** byl následně použit k přípravě iontového PTA komplexu (komplex **3**), který namísto chloro ligandu obsahuje PTA ligand. Tento fosfinový ligand se v oblasti biologicky aktivních polosendvičových komplexů často používá pro navýšení rozpustnosti ve vodě a snížení lipofility [20]. Syntéza probíhala tak, že výchozí chloro komplex byl dehalogenován reakcí se stříbrnou solí (triflát stříbrný) a následně byl přidán PTA. Komplex byl velmi dobře izolovatelný z méně polárních rozpouštědel (po přidání hexanu do roztoku komplexu v DCM). Bylo také provedeno kvalitativní zhodnocení rozpustnosti ve vodě, kdy bylo zjištěno, že připravený iontový PTA komplex **3** je na rozdíl od elektroneutrálního komplexu **2** velmi dobře rozpustný ve vodě. Co se jeho charakterizace týká, tak komplex **3** nebyl charakterizován elementární analýzou (kvůli přítomnosti fluoru) a byly použity pouze ¹H NMR, hmotnostní spektrometrie a infračervená spektroskopie. Výsledky použitých

analytických technik jednoznačně prokazují přítomnost PTA ligandu ve struktuře komplexu **3**. Konkrétně byly v hmotnostních spektrech detekovány píky přiřaditelné podle hodnot m/z a izotopového rozložení částicím $\{[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{HL}^1)(\text{PTA})]-\text{H}^++\text{Na}^+\}^+$ a $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{HL}^1)(\text{PTA})]^+$ (obrázek 23).



Obrázek 22: ¹H NMR spektrum komplexů $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{HL}^1)\text{Cl}]$ (**2**; **A**) a $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{HL}^1)(\text{PTA})]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (**3**; **B**) a volného PTA (**C**); sloučeniny byly rozpuštěny v $\text{DMSO-}d_6$.

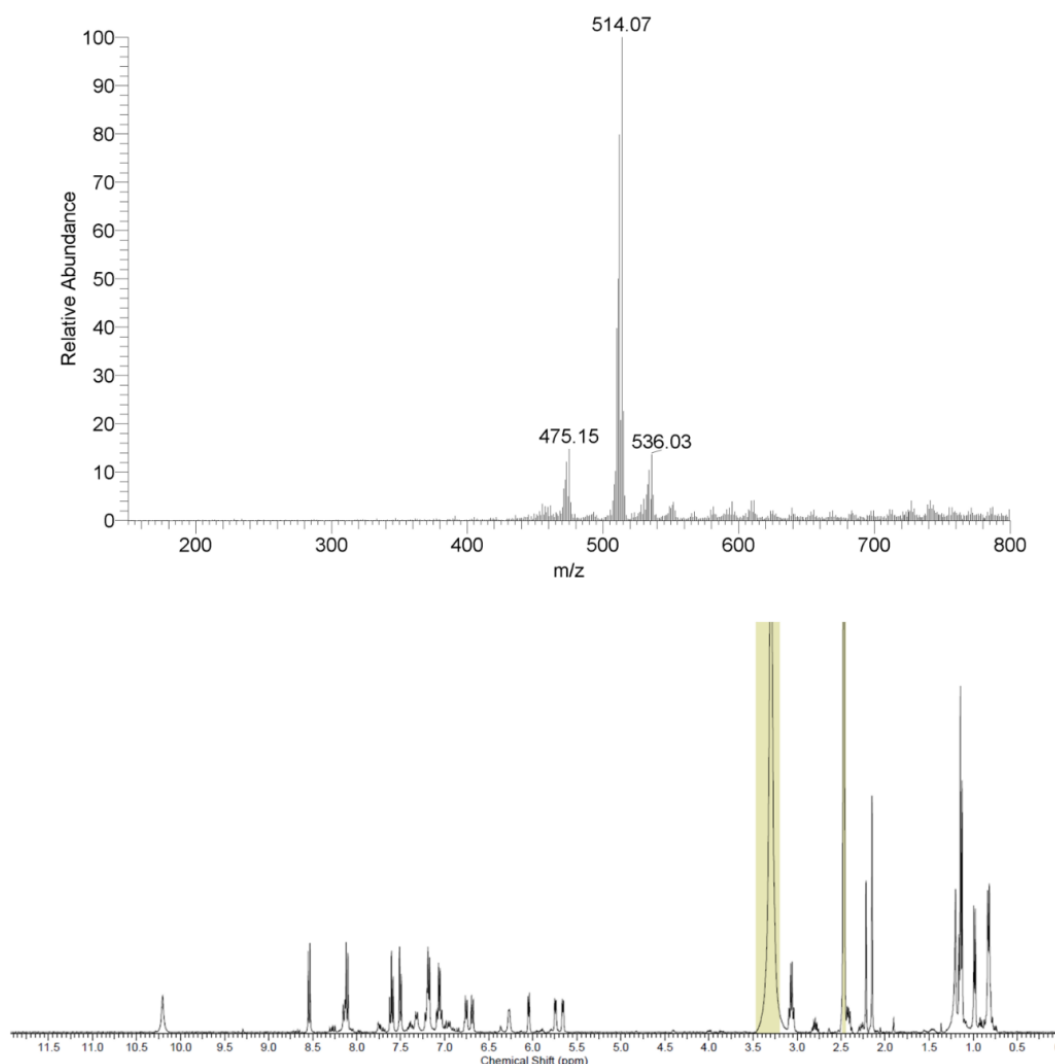


Obrázek 23: ESI+ hmotnostní spektra komplexů $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}^1)\text{Cl}]$ (**2**; **A**) a $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}^1)(\text{PTA})]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (**3**; **B**); zobrazeno společně s detailem izotopového rozložení (vložené detaily) píků částic $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{L}^1)]^+$ (pro **2**) a $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{L}^1)(\text{PTA})]^+$ (pro **3**). Oba komplexy byly rozpuštěny v methanolu.

Vznik fragmentu $[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(\text{L}^1)]^+$ souvisí s odštěpením PTA ligandu ze struktury komplexu **3** vlivem použitých ionizačních podmínek. V ^1H NMR spektru komplexu **3** byly, v porovnání

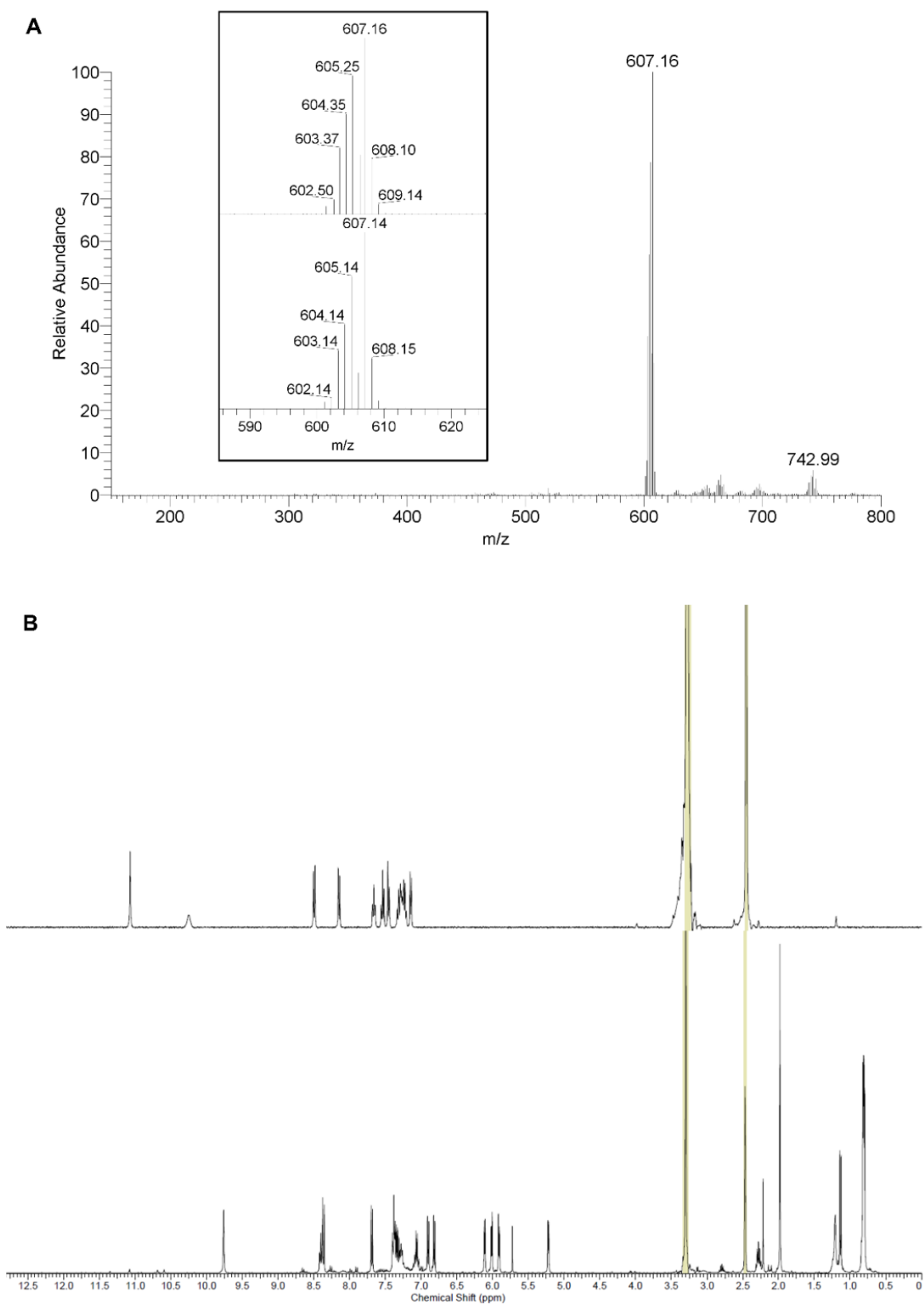
s komplexem **2**, detekovány pouze nepatrné změny v oblastech aromatických –CH skupin hydroxychinolinového skeletu a methylových skupin Cp* ligandu (obrázek 22). Společně s těmito signály byly v ^1H NMR spektru komplexu **3** detekovány nové signály v oblasti 3,90–4,41 ppm, které svojí polohou (tj. hodnotou chemického posunu) odpovídají přidanému PTA ligandu (viz obrázek 22).

U dalších provedených syntéz Rh a Os komplexů s HL^1 nebyly izolovány chemicky čisté produkty a nebyly, s ohledem na nízké výtěžky reakcí, provedeny pokusy o čištění surových produktů provedených reakcí. V obou případech byly v hmotnostních spektrech jednoznačně detekovány částice prokazující vznik požadovaných komplexů (např. 514,1 m/z pro $[\text{Os}(\text{pcym})(\text{HL}^1)]^+$), avšak ^1H NMR spektra prokázala, že se nejedná o chemická individua (viz obr. 24 pro syntézu Os komplexu).



Obrázek 24: ESI+ hmotnostní spektrum (nahore) a ^1H NMR spektrum (dole) produktu reakce Os-dimeru a HL^1 .

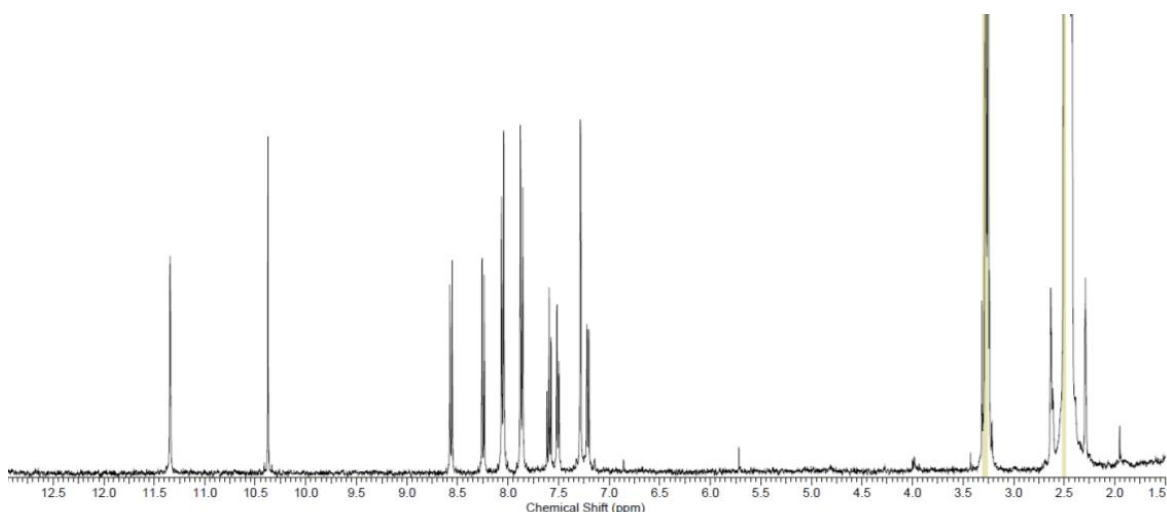
(4) [Os(η^6 -pcym)(HL²)Cl]



Obrázek 25: ESI+ hmotnostní spektrum (nahore) a ¹H NMR spektrum (dole) produktu reakce Os-dimeru a L².

V případě syntéz komplexů s karboxamidovými deriváty 8-HQ byla úspěšná pouze syntéza Os(II) sloučeniny $[\text{Os}(\eta^6\text{-pcym})(\text{HL}^2)\text{Cl}]$ (komplex **4**). Složení této koordinační sloučeniny jednoznačně prokazují výsledky ESI+ hmotnostní spektrometrie, kde byl identifikován dominantní signál částice $[\text{Os}(\eta^6\text{-pcym})(\text{HL}^2)]^+$, která vzniká z komplexu **4** typickým odštěpením chloro ligandu. V ^1H NMR spektru pak byly identifikovány pouze signály HL^1 a pcym , a to v odpovídajícím poměru integrálních intenzit.

(5) 8-hydroxy-*N*-(4-sulfamoylfenyl)chinolin-2-karboxamid (HL^4)

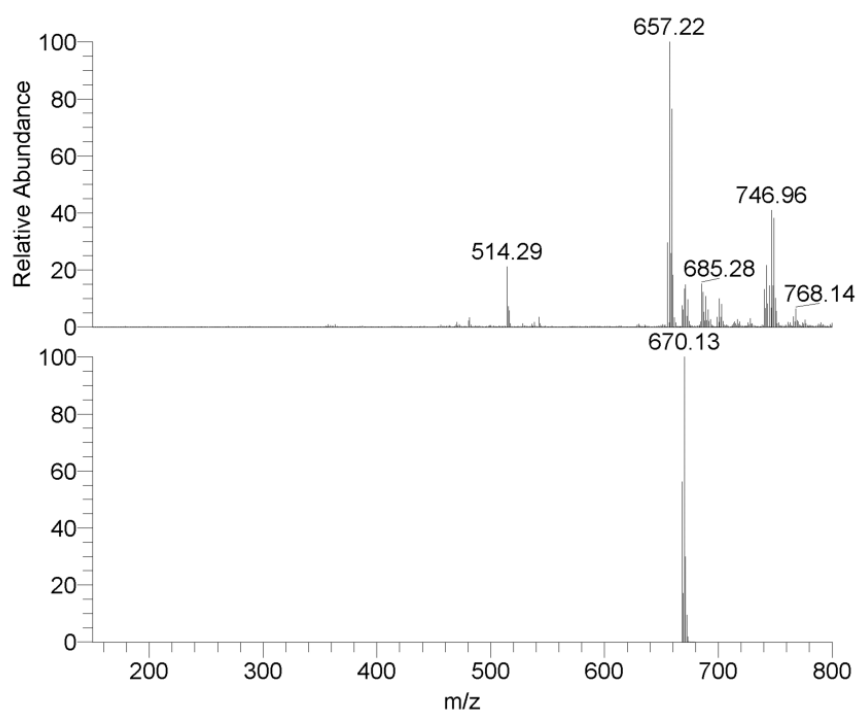


Obrázek 26: ^1H NMR spektrum derivátu 8-hydroxy-*N*-(4-sulfamoylfenyl)chinolin-2-karboxamidu (HL^4 ; rozpuštěno v $\text{DMSO-}d_6$).

Úspěšná příprava a purifikace derivátu HL^4 byla prokázána elementární analýzou a ^1H NMR spektroskopií. V ^1H NMR spektru byly detekovány charakteristické singlety $-\text{OH}$ a $-\text{NH}-$ skupin (11,35 ppm, 10,38 ppm), další singlet (7,28 ppm) s dvojnásobnou integrální intenzitou lze, s ohledem na složení produktu, přiřadit skupině $-\text{NH}_2$. Signály aromatických $-\text{CH}$ vodíkových atomů byly nalezeny při 8,57, 8,25, 7,59, 7,51 a 7,21 ppm (8HQ část HL^4) a při 8,05 a 7,87 ppm (sulfanilamidová část HL^4).

Úspěšná syntéza sulfanilamidového derivátu HL^4 umožnila provedení komplexotvorné reakce. Jako model byl vybrán komplex iridia. Po provedení reakce Ir- dimeru s HL^4 byl izolovaný produkt charakterizován hmotnostní spektrometrií a ^1H NMR spektroskopií. Již

výsledky ESI+ hmotnostní spektrometrie prokázaly, že Ir(III) koordinační sloučenina požadovaného složení nebyla připravena a že při reakci pravděpodobně dochází k degradaci samotného ligandu. Na toto tvrzení poukazuje přítomnost píků, jejichž hodnoty m/z neodpovídají žádným částicím s intaktním ligandem HL⁴ a dokonce byl detekován pík, který má nižší hodnotu m/z (657,2 m/z), než je hodnota vypočtená pro dechlorovaný fragment [Ir(Cp*)(HL⁴)]⁺ (670,1 m/z) (Obr. 27). Rozdíl odpovídá např. odštěpení –NH₂ skupiny sulfanilamidového substituentu, ale toto nebylo prokázáno jinými technikami.



Obrázek 27: ESI+ hmotnostní spektrum produktu reakce Ir-dimeru a HL⁴.

5. ZÁVĚR

V rámci teoretické části byla vypracována literární rešerše zahrnující základní charakteristiku vybraných platinových kovů (Ru, Os, Rh, Ir) a jejich nejběžnějších sloučenin, využití sloučenin těchto kovů v oboru medicínální chemie, antimikrobiální a protinádorovou aktivitu 8-HQ a jeho derivátů a nakonec problematiku polosendvičových sloučenin.

Praktická část se zakládala na přípravě polosendvičových komplexů obecného složení $[M(\eta^{5/6}\text{-ar})Cl(L)]$, kde ar = derivát benzenu např. p-cymen pro Ru a Os komplexy, resp. pentamethylcyklopentadien pro Rh a Ir. Jako ligandy byly vybrány 8-hydroxychinolin-2-karboxylová kyselina (HL^1), N-fenyl-8-hydroxychinolin-2-karboxamid (HL^2) a N-(2-fluorfenyl)-8-hydroxychinolin-2-karboxamid (HL^3). Povedlo se připravit chemicky čisté látky komplexů Ru a Ir s HL^1 (komplex **1** a **2**) a Os s HL^3 (komplex **4**). Ostatní syntézy nebyly z důvodu špatné izolace jejich produktů opakovány a kvůli nízkým výtěžkům nebyly provedeny pokusy o čištění. Komplex **2** byl použit pro další syntézu, kde byl chloro ligand nahrazen 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantanem (PTA) (komplex **3**). Zavedením struktury PTA byla pozorována zvýšená rozpustnost komplexu ve vodě, který je jinak ve vodě téměř nerozpustný. Následně byl také připraven pokročilý derivát 8-hydroxychinolinu, nesoucí biologicky aktivní substituent, kterým bylo antibiotikum sulfanilamid (sloučenina HL^4). Po optimalizaci reakčních podmínek se tento organický derivát podařilo připravit v požadované čistotě i množství. Sloučenina 8-hydroxy-N-(4-sulfamoylfenyl)chinolin-2-karboxamid (HL^4) byla použita do další syntézy, kde byla ponechána reakci s dvojjaderným výchozím komplexem iridia, ale vzniklý produkt nebyl analytickými metodami identifikován jako komplex, který měl reakcí vzniknout a kvůli nedostatku času již pokus nebyl opakován. Všechny produkty byly analyzovány primárně pomocí elementární analýzy, ESI+ hmotnostní spektrometrie, následně HPLC, ^1NMR spektroskopie a FTIR spektroskopie.

6. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] GICHUMBI, Joel M.; FRIEDRICH, Holger B. Half-sandwich complexes of platinum group metals (Ir, Rh, Ru and Os) and some recent biological and catalytic applications. *Journal of Organometallic Chemistry*, 2018, 866: 123-143.
- [2] MALÉŘ, Roman. *Polosendvičové komplexy s vybranými N,N-donorovými azo ligandy*. Bakalářská práce. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2023.
- [3] SAADEH, Haythem A.; SWEIDAN, Kamal A.; MUBARAK, Mohammad S. Recent advances in the synthesis and biological activity of 8-hydroxyquinolines. *Molecules*, 2020, 25.18: 4321.
- [4] KAMENÍČEK, Jiří, et al. *Anorganická chemie*. 4. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009.
- [5] HOUSECROFT, Catherine E.; SHARPE, Alan G. *Anorganická chemie*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014.
- [6] ŠTARHA, Pavel. Multinuclear biologically active Ru, Rh, Os and Ir arene complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, 2021, 431: 213690.
- [7] WILLIAMS, C. J.; WHITEHOUSE, J. M. Cis-platinum: a new anticancer agent. *British Medical Journal*, 1979, 1.6179: 1689.
- [8] MURRAY, Benjamin S., et al. The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors. *Coordination Chemistry Reviews*, 2016, 306: 86-114.
- [9] MEIER-MENCHES, Samuel M., et al. Structure–activity relationships for ruthenium and osmium anticancer agents–towards clinical development. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47.3: 909-928.
- [10] KUBANIK, Mario, et al. Impact of the halogen substitution pattern on the biological activity of organoruthenium 8-hydroxyquinoline anticancer agents. *Organometallics*, 2015, 34.23: 5658-5668.
- [11] KOS, Jiri, et al. 8-Hydroxyquinoline-2-Carboxanilides as antiviral agents against avian influenza virus. *ChemistrySelect*, 2019, 4.15: 4582-4587.

- [12] KUSHKEVYCH, Ivan, et al. Activity of ring-substituted 8-hydroxyquinoline-2-carboxanilides against intestinal sulfate-reducing bacteria *Desulfovibrio piger*. *Medicinal Chemistry Research*, 2018, 27: 278-284.
- [13] KOS, Jiri, et al. Ring-substituted 8-hydroxyquinoline-2-carboxanilides as potential antimycobacterial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2015, 23.15: 4188-4196.
- [14] AGRAWAL, Vijay K., et al. QSAR study on carbonic anhydrase inhibitors: aromatic/heterocyclic sulfonamides containing 8-quinoline-sulfonyl moieties, with topical activity as antiglaucoma agents. *European journal of medicinal chemistry*, 2004, 39.7: 593-600.
- [15] THACKER, Pavitra S., et al. Synthesis and biological evaluation of novel 8-substituted quinoline-2-carboxamides as carbonic anhydrase inhibitors. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 2019, 34.1: 1172-1177.
- [16] CHITAMBAR, Christopher R. Gallium-containing anticancer compounds. *Future medicinal chemistry*, 2012, 4.10: 1257-1272.
- [17] SCHUECKER, Raffael, et al. Water-soluble mixed-ligand ruthenium (II) and osmium (II) arene complexes with high antiproliferative activity. *Organometallics*, 2008, 27.24: 6587-6595.
- [18] PEACOCK, Anna FA; PARSONS, Simon; SADLER, Peter J. Tuning the hydrolytic aqueous chemistry of osmium arene complexes with N, O-chelating ligands to achieve cancer cell cytotoxicity. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129.11: 3348-3357.
- [19] THAI, Trieu-Tien; THERRIEN, Bruno; SÜSS-FINK, Georg. Pentamethylcyclopentadienyl rhodium and iridium complexes containing oxinato ligands. *Inorganic Chemistry Communications*, 2009, 12.8: 806-807.
- [20] TREMLETT, William DJ, et al. Hydroxyquinoline-derived anticancer organometallics: Introduction of amphiphilic PTA as an ancillary ligand increases their aqueous solubility. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2019, 199: 110768.
- [21] PIVARCSIK, Tamás, et al. 8-Hydroxyquinoline-amino acid hybrids and their half-sandwich Rh and Ru complexes: Synthesis, anticancer activities, solution chemistry and interaction with biomolecules. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22.20: 11281.

[22] PETTINARI, Riccardo, et al. Ruthenium (II)–arene RAPTA type complexes containing curcumin and bisdemethoxycurcumin display potent and selective anticancer activity. *Organometallics*, 2014, 33.14: 3709-3715.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CA = carbonic anhydrase

DCM = dichlormethan

HL¹ = 8-hydroxychinolin-2-karboxylová kyselina

HL² = N-fenyl-8-hydroxychinolin-2-karboxamid

HL³ = N-(2-fluor-fenyl)-8-hydroxychinolin-2-karboxamid

HL⁴ = 8-hydroxy-N-(4-sulfamoylfenyl)chinolin-2-karboxamid

MDR = melti-drug-resistance

MTT = 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-difenyl-2H-tetrazolium bromid

NTB = netuberkulózní mykobakterie

PTA = 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan

SRB = sulfát-redukující bakterie

TBC = tuberkulóza

TBTU = 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium tetrafluoroborát

TEA = triethylamin

TLC = chromatografie na tenké vrstvě

8-HQ = 8-hydroxychinolin

2-HQ = 2-hydroxychinolin