

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

**Přírodovědecká fakulta
Katedra anorganické chemie**



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**Modelové organokovové sloučeniny ruthenia
s 2'-hydroxychalkony:
příprava a charakterizace**

Vypracoval:

Anna Havlíčková

Vedoucí práce:

doc. PhamDr. Ján Vančo, Ph.D.

Studijní obor:

1407R022-00 Bioanorganická chemie

Studijní program:

B1407 Chemie

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci napsala zcela samostatně pod odborným vedením doc. PhamDr. Jána Vanča, Ph.D. a použila zdrojů uvedených v seznamu literatury.

V Olomouci dne

.....

Vlastnoruční podpis

Chtěla bych tímto poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce doc. PhamDr. Jánů Vančovi, Ph.D. za odborné rady, pomoc při vypracování této práce a za naměření hmotnostních spekter. Dále bych chtěla poděkovat prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D. za umožnění vypracování této práce na Katedře anorganické chemie a za provedení monokrystalové rentgenové strukturní analýzy, Mgr. Jakubu Hutýrovi za věcné připomínky a rady, Mgr. Aleně Klanicové, Ph.D. za změření infračervených spekter, Pavle Richterové za provedení elementární analýzy a RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. a Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za naměření NMR spekter.

Abstrakt

Komplexní sloučeniny ruthenia jsou široce studovanými látkami nejen díky jejich katalytickým vlastnostem, ale našly svoje uplatnění i jako biologicky aktivní látky. Například komplexy Ru^{III} obsahující indazol a imidazol (NAMI-A, KP1019 a NKP-1339), které vykazují slibné protinádorové a antimetastatické aktivity a vstoupily již do fáze klinických testů. Polosandwichové komplexy ruthenia $[\text{Ru}(p\text{-cym})(\text{XY})\text{Z}]$, kde XY jsou mono- nebo bidentátní ligandy (*N,N*-; *N,O*-; *O,O*-) a Z je např. chlorido- ligand, byly a jsou nadále tématem studia pro řady vědců, díky jejich široké škále biologických vlastností. Zejména se jedná o jejich antimetastatické a cytotoxické účinky vůči řadě nádorových buněčných linií. V roce 2001 byl připraven polosandwichový komplex, s velmi slibnou protinádorovou aktivitou *in vivo*, pod názvem RAPTA-C. Navíc byla připravena velká řada sloučenin s bidentátními *O,O*-ligandy, u kterých byly taktéž pozorovány různé biologické aktivity. Mezi slibné *O,O*-ligandy patří také skupina chalkonů, přírodních látek, které plní funkce barviv a ochranných látek a vyskytují se zejména v nadzemních částech rostlin. Dlouhodobé studie ukázaly, že různé deriváty chalkonů vykazují také zajímavé biologické vlastnosti, zejména antioxidační, cytotoxické, antimikrobiální, antiprotozoální, antiulcerozní, antihistaminové a protizánětlivé účinky. Z výše uvedených důvodů byla experimentální část této práce zaměřena na syntézu polosandwichových komplexních sloučenin Ru^{II} obecného složení $[\text{Ru}(p\text{-cym})(\text{L})\text{Cl}]$, přičemž *p-cym* = *p-cymen* a L = deprotonizovaný 2'-hydroxychalkon. Bylo nasyntetizováno celkem pět derivátů 2'-hydroxychalkonů, které byly použity jako výchozí látky k syntézám polosandwichových komplexních sloučenin Ru^{II} a byly dále charakterizovány dostupnými fyzikálně-chemickými metodami. Potíže se vznikem směsí s různorodým složením nakonec zabránily připravit chemické individua s kýženým složením. Vybraný produkt, charakterizovaný vhodnými analytickými technikami, přitom obsahoval cca 30 % komplexu $[\text{Ru}(p\text{-cym})(\text{L}_4)\text{Cl}]$, kde L_4 = deprotonizovaný 2'-hydroxy-3,4,5-trimethoxychalkon.

Klíčová slova: Chalkony, syntéza, polosandwichové komplexy, ruthenium, biologická aktivita, charakterizace

Abstract

Ruthenium complexes have been intensively studied not only for their catalytic properties, but have been also found useful as biologically active compounds. For example, Ru^{III} complexes containing indazole and imidazole ligands (designated as NAMI-A, KP1019 and NKP-1339) have shown promising antitumor and antimetastatic activities and they have entered the phase of clinical trials. Half-sandwich complexes of ruthenium with the general formula [Ru(*p*-cym)(XY)Z], where XY are mono- or bidentate ligands (*N,N*-; *N,O*-; *O,O*-) and Z is chlorido-ligand, are still subject of study for many scientists, because of their wide range of biological properties. In particular, antimetastatic and cytotoxic effects against a number of tumor cell lines were studied. In 2001, a very promising half-sandwich compound was prepared with significant antitumor activity *in vivo* – abbreviated as RAPTA-C. Moreover, a large number of compounds with bidentate coordinated *O,O*-ligands have been studied showing various biological activities. One of the promising groups of *O,O*-ligands is represented by chalcones, a group of naturally occurring compounds in aerial parts of plants as colorants and chemoprotective agents. Long-term studies have shown that different derivatives of chalcones have interesting biological properties, in particular: antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, antiprotozoal, antiulcerous, anti-inflammatory and antihistaminic effects. Inspired by the above mentioned facts, the experimental section of this work was dedicated to the synthesis of half-sandwich Ru^{II} complexes with the general composition [Ru(*p*-cym)(L)Cl], where *p*-cym = *p*-cymen and L = deprotonated 2'-hydroxychalcone derivative. During the solution of my synthetic project, I successfully prepared 5 chalcone derivatives and characterized them by means of selected physical and chemical methods. Faced with the difficulties connected with the formation of the product mixtures with varying composition, I was ultimately unable to prepare the chemical individuals with the desired composition. The selected product, characterized by suitable analytical techniques, contained about 30% of the complex with the desired composition [Ru(*p*-cym)(L₄)Cl], where L₄ = deprotonated 2'-hydroxy-3,4,5-trimethoxychalcone.

Keywords: Chalcones, synthesis, half-sandwich complexes, ruthenium, biological activity, characterization.

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1 <i>Chalkony</i>	9
2.1.1 Obecná charakteristika	9
2.1.2 Syntéza chalkonů.....	10
2.1.3 Biologická aktivita.....	11
2.2 <i>Polosandwichové komplexy</i>	14
2.2.1 Historie	14
2.2.2 Chemické složení.....	15
2.2.3 Biologická aktivita.....	17
2.2.3.1 Komplexy Ru ^{III} obsahující indazol a imidazol.....	17
2.2.3.2 Ru ^{II} polosandwichové látky.....	18
2.2.3.3 Ru komplexy s chalkonovým ligandem	20
2.2.3.4 Polosandwichové komplexy Ru ^{II} s chalkonovým ligandem	23
2.2.3.5 Polosandwichové komplexy Ru ^{II} s bidentátními <i>O,O</i> -ligandy.....	23
2.2.3.6 Vícejaderné Ru ^{II} komplexy	28
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	30
3.1 <i>Materiály a přístroje</i>	30
3.2 <i>Syntéza 2'-hydroxychalkonů</i>	31
3.3 <i>Syntéza komplexních sloučenin ruthenia s 2'-hydroxychalkony</i>	32
3.3.1 Syntéza [Ru(<i>p</i> -cym)Cl ₂] ₂	32
3.3.2 Syntéza komplexů s předpokládaným složením [Ru(<i>p</i> -cym)(L)Cl]	33
4. VÝSLEDKY A DISKUSE	36
4.1 <i>Deriváty 2'-hydroxychalkonů</i>	36
4.2 <i>NMR spektroskopie derivátů 2'-hydroxychalkonů</i>	37

<i>4.3 Organokovové sloučeniny Ru^{II} s 2'-hydroxychalkony</i>	41
<i>4.4 IR spektroskopie ligandu HL₄ a komplexu 4</i>	42
<i>4.5 MS spektrometrie a stabilita komplexu 4</i>	43
<i>4.6 NMR spektroskopie komplexu 4</i>	46
<i>4.7 Monokrystalová rentgenová strukturní analýza</i>	48
5. ZÁVĚR	51
6. SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	53
7. CITOVANÁ LITERATURA	55

1. ÚVOD

Objev a výzkum protinádorové aktivity *cisplatin* (*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]) [1], [2] podněcoval vědce ke zkoumání dalších možných sloučenin na bázi protinádorových látek, zejména komplexů přechodných kovů s menšími vedlejšími účinky a širším rozsahem protinádorové aktivity, než je *cisplatin*. Mezi takové přechodné kovy patří např. ruthenium, rhodium, osmium, iridium, zlato, kobalt, zinek a měď. [3], [4], [5], [6], [7]

Komplexní sloučeniny ruthenia mají velký význam jako potenciální protirakovinné látky z důvodu jejich slabé toxicity a slibné účinnosti proti nádorovým buňkám. [8], [9] Organokovové sloučeniny ruthenia, nesoucí *p*-cymen koordinovaný jako π -ligand s dalšími mono- či bidentátními ligandy, jsou považovány za nadějně látky pro léčbu rakoviny. Komplexní chemie ruthenia je dobře rozvinutá, a to zejména s aminovými a iminovými ligandy. Komplexy nesoucí *N,N*- a *N,O*-bidentátní ligandy [Ru(*p*-cym)(XY)Cl]Z, kde (XY) = ethylendiamin, piperazin, 1,2-diaminobenzen, bipyridin a Z je obvykle PF₆, vykazovaly cytotoxicitu srovnatelnou s *cisplatinou* v řadě buněčných linií. Jsou známé i sloučeniny ruthenia s *O,O*-bidentátními ligandy (např. deriváty acetylacetonu, 1,1-cyklobutandikarboxylát, oxalát, nebo malonát). [10], [11], [12], [13]

Chalkony (1,3-diaryl-2-propen-1-ony) jsou důležitou skupinou látek vyskytujících se v přírodě, které v závislosti na substituci arylových kruhů, vykazují určitou biologickou aktivitu. [14] Chalkony a jejich deriváty jsou hojně používány jako ligandy pro přípravu komplexních sloučenin přechodných kovů, zvláště různé 2'-hydroxychalkony, které slouží jako *O,O*-bidentátní donorové ligandy. Studie komplexních sloučenin některých iontů přechodných kovů (Cu^{II}, Ni^{II}, Zn^{II}, Co^{II}, Pd^{II}, Pt^{II}) s 2'-hydroxychalkony vedly ke stabilním sloučeninám. [15], [16], [17], [18]

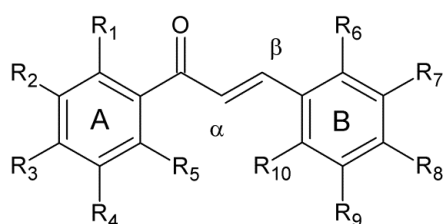
Cílem této bakalářské práce je vypracovat literární rešerši zaměřenou na biologicky zajímavé deriváty 2'-hydroxychalkonů a komplexních sloučenin ruthenia. Dále se pokusit syntetizovat, dle postupů uvedených v odborné literatuře, modelové organokovové sloučeniny Ru^{II} s vybranými deriváty 2'-hydroxychalkonů obecného složení [Ru(*p*-cym)(L)Cl]. Posledním cílem je připravené látky charakterizovat vhodnými dostupnými analytickými metodami ve spolupráci se zaměstnanci Katedry anorganické chemie PřF UP.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Chalkony

2.1.1 Obecná charakteristika

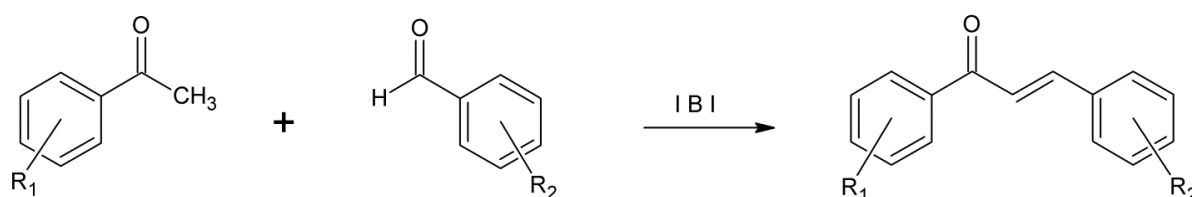
Chalkony (1,3-diaryl-2-propen-1-ony) patří do skupiny organických látek, které mají otevřený řetězec skládající se z α,β -nenasyceného karbonylového systému spolu se dvěma aromatickými jádry, která jsou spojena pomocí tří uhlíkových atomů (obrázek 1). S mnoha jednoduchými chalkony, které nemají na aromatickém kruhu -OH a -OCH₃ skupinu, se v přírodě neseťkáme. Deriváty těchto látek se vyskytují v rostlinách, ovoci a zelenině. Jsou prekurzorem v biosyntéze flavonoidů – enzymatická cyklizace 2'-hydroxychalkonů vede ke vzniku flavononů a následně k velkému množství flavonoidových skupin včetně flavonů, flavonolů, dihydroflavonolů, auronů ((2Z)-2-benzyliden-1-benzofuran-3(2H)-on) a isoflavonů. [16], [19], [20], [21] Důležité jsou chalkony také pro pigmentaci květin, díky které přitahují opylovače. Tyto látky hrají roli v obraně proti patogenům a hmyzu. Mohou existovat v *cis*- nebo *trans*- izomerní formě, přičemž *trans*- izomer je termodynamicky stabilnější. Přírodní chalkony mají na arylových kruzích připojeny zejména hydroxylové, methoxylové a alkenylové funkční skupiny. Kromě toho, syntetické deriváty chalkonů mohou obsahovat jeden nebo více substituentů na arylových kruzích, jako jsou halogeno-, nitro-, acetamido-, amino-, nitril- skupiny, karboxylové skupiny, různé heterocykly, fenyl apod. Zmíněné funkční skupiny ovlivňují určitý stupeň biologické aktivity. Taktéž α,β -nenasycený systém je považován za hlavní farmakofor, jelikož při úplné redukci nebo částečné modifikaci této skupiny dochází ke ztrátě bioaktivity. [15], [19], [22], [23], [24], [25] Dlouhodobé vědecké studie ukázaly, že chalkony vykazují zajímavé biologické vlastnosti, zejména antioxidační, cytotoxické, protirakovinné, antimikrobiální, antiprotozoální, antiulcerozní, antihistaminové a protizánětlivé účinky. V dnešní době jsou některé chalkony testovány v mnoha studiích vůči virovým onemocněním, kardiovaskulárním chorobám, bolestem, gastritidě a rakovině žaludku. [22], [26], [27]



Obrázek 1: Obecný chemický strukturní vzorec chalkonů [19].

2.1.2 Syntéza chalkonů

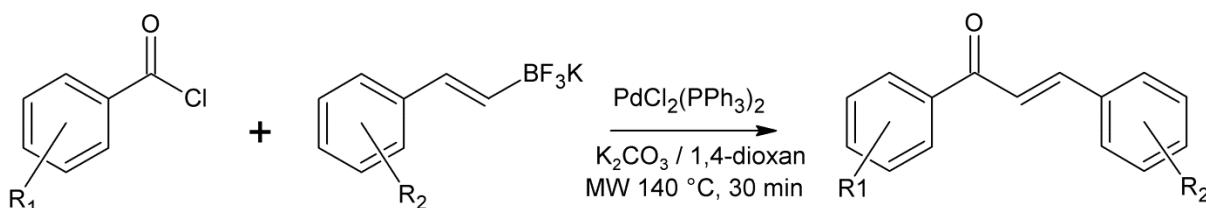
Chalkony lze obecně syntetizovat pomocí Claisen–Schmidtovy kondenzace v přítomnosti kyseliny, nebo báze (obrázek 2). Mezi silné báze, které se používají při této kondenzaci, patří zejména KOH, NaOH, Ba(OH)₂ a LiHMDS (bis(trimethylsilyl)amid lithný). Lze použít i několik Lewisových kyselin, jako jsou např. B₂O₃ a AlCl₃. [28], [29], [30], [31] Výtěžnost reakcí se obvykle pohybuje do 90 %.



Obrázek 2: Syntéza chalkonů Claisen–Schmidtovou kondenzací acetofenonu a benzaldehydu v přítomnosti báze | B | [28].

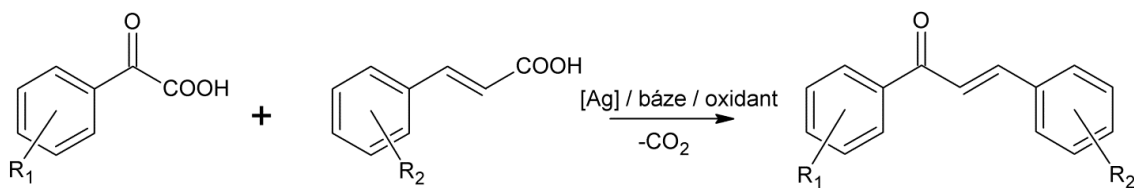
Další metoda, používaná k syntéze chalkonů, je Suzuki coupling mezi benzoylchloridem a kyselinou fenylvinylboronovou. Chalkony byly také připraveny v dobrém výtěžku pomocí Makaiyamovy aldolové kondenzace, ve které necyklické ketony a benzaldehydy reagovaly v přítomnosti jodidu samaritého a trimethylsilylchloridu. [32]

Styryltrifluoroboritan draselný je činidlo, které se uplatňuje v cross–couplingových reakcích. Tato látka je univerzální, netoxická, není citlivá na vlhkost a má dlouhou dobu skladovatelnosti. V tomto případě jde o katalytický systém s použitím paladnatého katalyzátoru umožňující úspěšnou cross–couplingovou reakci mezi styryltrifluoroboritanem draselným a benzoylchloridem za vzniku chalkonů. Reakce probíhá v jednom kroku pod mikrovlnným ohřevem (obrázek 3). [33]



Obrázek 3: Syntéza chalkonů pomocí cross–couplingové reakce styryltrifluoroboritanu draselného a benzoylchloridu [33].

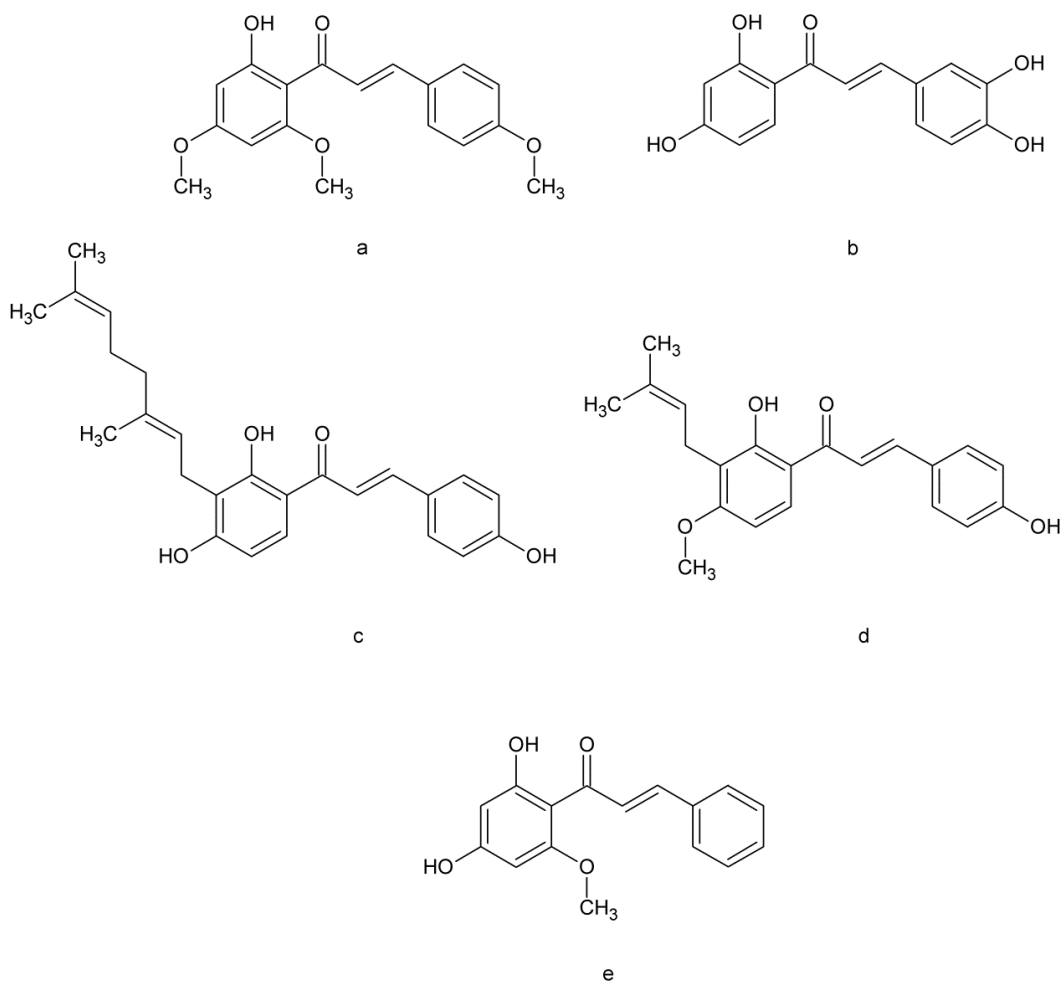
Dále lze chalkony a jejich deriváty připravit dvojitou dekarboxylační reakcí katalyzovanou pomocí stříbrné soli s α -ketokyselinou (2-oxo-2-fenyloctová kyselina) a kyselinou skořicovou ve vodě. Jako oxidační činidlo bylo použito $K_2S_2O_8$, $Na_2S_2O_8$ nebo $(NH_4)_2S_2O_8$. Katalyzátorem byl $AgNO_3$ a bázi K_2CO_3 . Důležitou součástí reakce bylo rozpouštědlo, kterým byla voda, případně směs CH_3CN/H_2O v poměru 1:1. Celá směs byla zahřívána na teplotu $50\text{ }^\circ\text{C}$ (některé deriváty chalkonů na $100\text{ }^\circ\text{C}$) pod inertní atmosférou po dobu 24 hodin (obrázek 4). [34]



Obrázek 4: Syntéza chalkonů z α -ketokyseliny a kyseliny skořicové [34].

2.1.3 Biologická aktivita

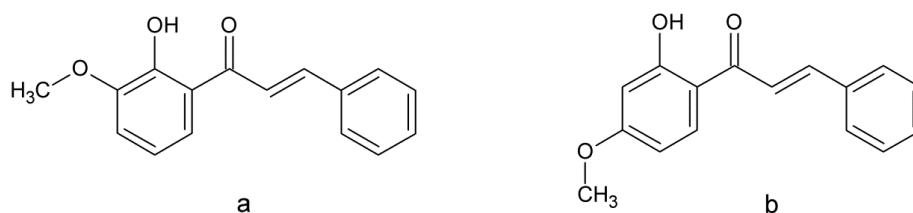
Zkušenosti naznačují, že konzumace ovoce, zeleniny, obilovin, luštěnin apod. by mohla souviset s nižším výskytem rakoviny a jiných chronických nemocí. Těto skutečnosti mohou částečně přispívat i látky ze skupiny aromatických ketonů – chalkonů, které jsou v malém množství obsaženy v těchto rostlinách. [24], [31], [35], [36] Jedny z nejvýznamnějších chalkonů vyskytujících se v těchto rostlinách jsou flavokawin (2'-hydroxy-4,4',6'-trimethoxydihydrochalkon), butein (3,4,2',4'-tetrahydroxychalkon), xanthoangelol (2',4,4'-trihydroxy-3'-geranylchalkon), 4-hydroxyderricin (2',4-dihydroxy-4'-methoxy-3'-prenylchalkon), kardamonin (2',4'-dihydroxy-6'-methoxychalkon) (obrázek 5) a 2',4'-dihydroxychalkon. [35]



Obrázek 5: Chemické strukturální vzorce (a) flavokawinu, (b) buteinu, (c) xanthoangelolu, (d) 4-hydroxyderricinu, (e) kardamoninu. [35]

V závislosti na substituci arylových kruhů vykazují chalkony řadu různých biologických vlastností. [37] Důležitou a velmi významnou skupinou takovýchto derivátů jsou 2'-hydroxychalkony. Bylo zjištěno, že hydroxychalkony izolované z americké kapradiny, *Pityrogramma calomelanos* z čeledi křídelnicovité, mají zajímavé cytotoxické účinky. Chalkony s méně hydroxy- skupinami na kruhu A nebo B (obrázek 1), vykazovaly větší aktivitu ve srovnání s chalkony, které obsahovaly více hydroxylových skupin na těchto kruzích. Tento rozdíl byl přičítán kyselosti fenolických hydroxylových skupin. [38] Obecně lze konstatovat, že jsou 2'-hydroxychalkony široce distribuovány v rostlinách. Hydroxy- skupina v pozici 2' byla identifikována jako důležitý substituent na A kruhu pro zvýšení protizánětlivé a antibakteriální aktivity chalkonů. Kromě již zmíněné slibné aktivity je tato 2'-hydroxy- skupina nutná i pro cyklizaci chalkonů za vzniku flavonů v přítomnosti UV záření. [39]

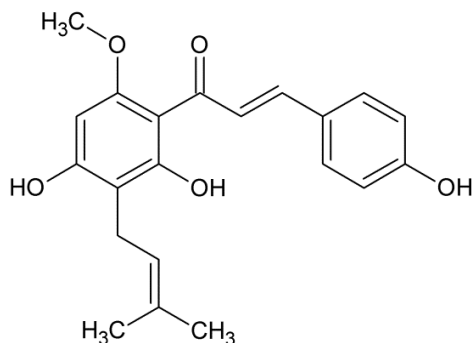
Jedním z příkladů mohou být 2'-hydroxychalkony obsahující různý počet methoxy-skupin na aromatickém kruhu B. Tyto látky byly testovány na inhibici buněčného růstu HepG2 buněk (hepatocelulární karcinom) a bylo zjištěno, že vykazují slibné výsledky. [38] Další deriváty chalkonů obsahující 2'-hydroxy-skupinu, uvedené na obrázku 6, byly testovány z hlediska jejich cytotoxicity vůči lidským nádorovým buněčným liniím karcinomu nosohltanu (KB), multi-rezistentnímu derivátu (KB-VCR) a buněčným liniím karcinomu plic (A549). Derivát 3'-methoxy-2'-hydroxychalkon (6a) prokazoval výraznou aktivitu vůči A549 ($IC_{50} = 0,6 \mu M$). (IC_{50} je hodnota označující koncentraci, která způsobuje pokles biologické aktivity na polovinu). Druhý derivát 4'-methoxy-2'-hydroxychalkon (6b) vykazoval cytotoxické účinky vůči KB ($IC_{50} = 2,0 \mu M$) i KB-VCR ($IC_{50} = 2,0 \mu M$). [40]



Obrázek 6: Chemické struktury:

(a) 3'-methoxy-2'-hydroxychalkonu, (b) 4'-methoxy-2'-hydroxychalkonu [40].

Xanthohumol ((E)-1-[2,4-dihydroxy-6-methoxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-on) (obrázek 7) je jedním z nejznámějších prenylovaných chalkonů, který je obsažen např. ve chmelu a v posledních letech je hojně zkoumanou látkou. [41], [42], [43] Byla syntetizována řada takovýchto derivátů s různou substitucí na arylových kruzích (hydroxy-, methoxy-, prenyl-). Bylo zjištěno, že tyto látky chrání játra proti poškození chemoterapeutiky. Dobré výsledky vykazovaly deriváty chalkonů mající navázány hydroxy-skupiny. [44], [45], [46]



Obrázek 7: Chemický strukturní vzorec xanthohumolu [44].

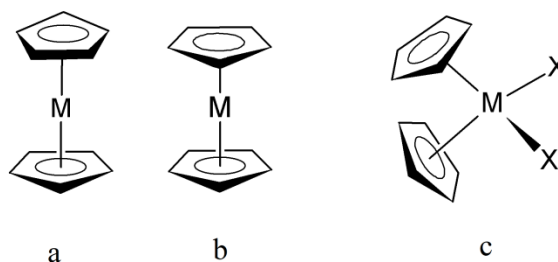
Vzhledem k protizánětlivým účinkům chalkonů, byly studovány také 2',5'-dihydroxychalkony, které se ukázaly jako potenciální chemické látky v oblasti medicíny. Bylo zjištěno, že 2',3-dihydroxychalkon, 4-chloro-2',5'-dihydroxychalkon a 2',5'-dihydroxychalkon prokázaly inhibiční efekty na otok tlapky vyvolaný polymyxinem B (indukovaný otok) u testovaných myší. [47] Deriváty chalkonů obsahující fluoro-, chloro-, bromo-, jodo- a hydroxy- skupinu v pozici 2' na A kruhu ovlivnily příjem glukosy v modelové buňce. Byly testovány deriváty chalkonů se substituovanými skupinami na A kruhu, tak i ty, které tyto substituenty nemají. Bylo zjištěno, že velký význam má právě substituce na A kruhu, která podporuje buněčnou spotřebu glukosy. Řada takovýchto chalkonů je proto dále studována pro svoji potenciální anti-diabetickou aktivitu. [48]

2.2 Polosandwichové komplexy

2.2.1 Historie

Polosandwichové komplexy se řadí mezi organokovové sloučeniny, které obsahují přímou vazbu mezi kovem a uhlíkem. V roce 1951 P. Pauson a S. A. Miller nezávisle na sobě syntetizovali ferrocen a přibližně o rok později G. Wilkinson podal zprávu o jeho struktuře. [49], [50], [51] Tento metallocen obsahuje dva cyklopentadienidy(-1) koordinované jako π -ligandy. Díky této symetrické struktuře jsou jmenované sloučeniny často uváděny jako sandwichové komplexy. Sloučeniny s jedním aromatickým kruhem jsou známé pod názvem polosandwichové metalloceny.

Strukturně lze komplexy s bis-cyklopentadienidy(-1) rozdělit do dvou skupin. A sice „klasické“, které mají oba π -vazebné ligandy rovnoběžné a „lomené“ metalloceny obsahující mimo kruh ještě další ligand vázaný přímo na kov (např. chlor). Centrálním kovem u tohoto typu sloučenin jsou především titan, zirkonium, vanad, niob a molybden. Klasické metalloceny obsahují ve své struktuře jako centrální kov např. železo a kobalt se střídavým uspořádáním bis-cyklopentadienidů(-1). Také mohou mít uspořádání zákrytové, které je typické pro ruthenium (obrázek 8). Všechny jmenované komplexy našly uplatnění v chemii a byla také testována jejich biologická aktivita. [52]



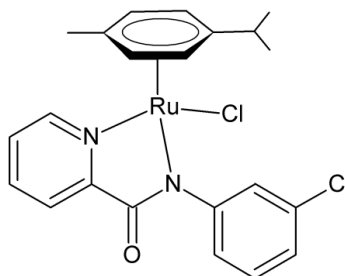
Obrázek 8: Struktury metallocenů [52].

(a) střídavé uspořádání, (b) zákrytové uspořádání, (c) „lomené“ uspořádání.

2.2.2 Chemické složení

Hlavní motiv polosandwichových komplexů tvoří centrální atomy, kterými mohou být různé kovy, a na něj koordinované π -ligandy. Asi nejznámější je cyklopentadienid(-1) (Cp) ($\text{Cp} = \eta^5\text{-C}_5\text{H}_5^-$). Vytváří velmi pevnou vazbu s centrálním atomem. Byla nasyntetizována celá řada komplexů obecného typu $[\text{MCpL}_n]$ ($n = 2, 3$ nebo 4 ; $\text{M} = \text{kov}$). Druhou nejčastější skupinou jsou arenové ligandy. Ty se obvykle vážou k přechodným nízkovalemtním kovům. Jsou reaktivnější než cyklopentadienidy(-1) a také snadněji podléhají substitučním reakcím. Jsou známy i cyklobutadienidy(-1), η^7 -cykloheptatrienidy(-1) a η^8 -cyklooktatraenidy(-2). [53]

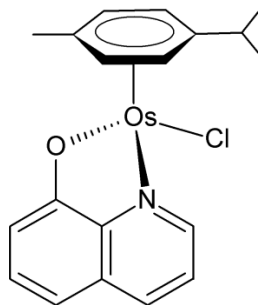
Studují se komplexní sloučeniny, které obsahují ruthenium, rhodium a iridium, jelikož v posledních letech byla u řady takovýchto látek testována možná protirakovinná aktivita se slibnými výsledky. Jedním z mnoha příkladů lze uvést polosandwichové komplexy těchto tří kovů obsahující picolinamidové ligandy s vazbou (N,N -) (obrázek 9) nebo chinolinamidové ligandy. [54]



Obrázek 9: Chemický strukturní vzorec Ru^{II} komplexu s picolinamidovým ligandem [54].

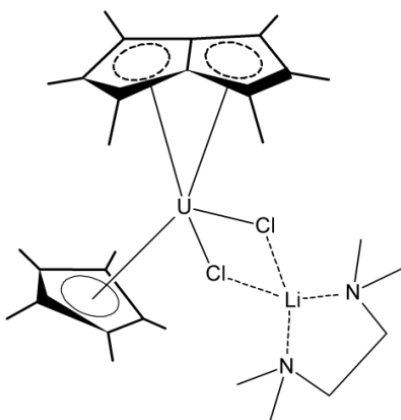
Zajímavým kovem, který je vhodný jako centrální atom v těchto typech komplexních sloučenin v rámci VIII. B skupiny je také osmium. Zkoumaly se například arenové sloučeniny

Os^{II} s obecným vzorcem [Os(η^6 -aren)(*N,O*)Cl] obsahující *N,O*-chelátové ligandy s primárním aminem, nebo pyridinem jako *N*-donorem a karboxylovou či aryloxidovou skupinu jako *O*-donor. Komplex na obrázku 10 byl testován vůči buněčným liniím karcinomu plic (IC₅₀= 60 μ M) a vaječníku (A2780) (IC₅₀= 15,2 μ M). [55]



Obrázek 10: Struktura komplexu Os^{II} s deprotonizovaným 8-hydroxyquinolinem [55].

Studovanou polosandwichovou látkou s přechodným kovem, která se často označuje jako cymantren, je komplex [MnCp(CO)₃] a jeho deriváty. [56], [57], [58] Dále byly připraveny mono- a bis-cyklopentadienidové(-1) hydrazidové sloučeniny titanu. [59] Dalším kovem vystupujícím v polosandwichových komplexech jako centrální atom může být také niob. [60] Jsou známy též polosandwichové komplexy s η^7 -cykloheptatrienidovými(-1) anionty, kde přechodné kovy IV. B a VI. B skupiny a vanad vystupují jako centrální atomy. [61], [62], [63], [64], [65] Od objevení uranocenu [U(COT)₂] (COT = cyklooktatraenid(-2)), [66] se v organouranové chemii začal více studovat tento typ sloučeniny, díky němuž bylo nasyntetizováno mnoho polosandwichových a smíšených sandwichových derivátů. Jedněmi z nich jsou nové permethylpentalenové komplexy U^{IV} a jeho deriváty (obrázek 11). [67]



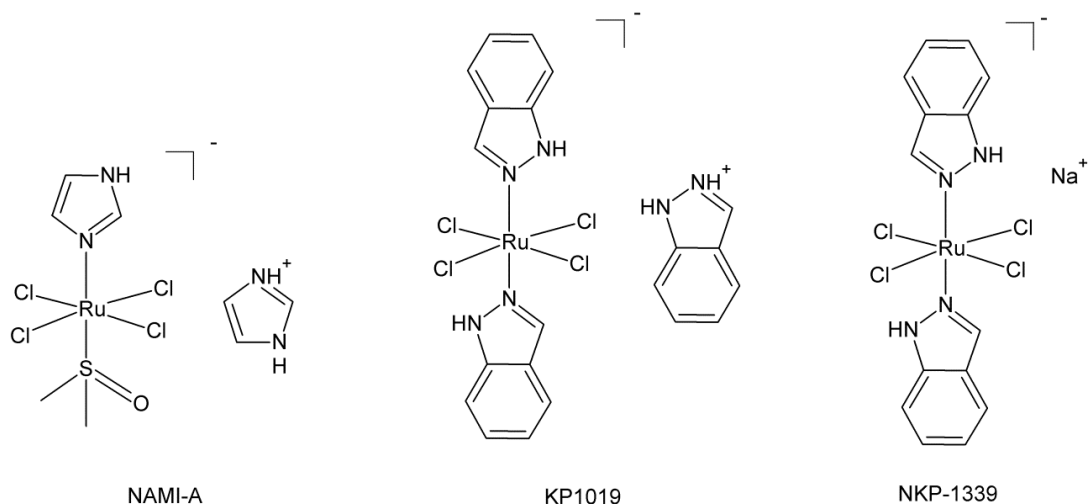
Obrázek 11: Permethylpentalenový komplex U^{IV} [67].

2.2.3 Biologická aktivita

Komplexy ruthenia, které jsou používány jako katalyzátory pro chemické reakce, se též ukázaly jako slibné látky vykazující protinádorovou aktivitu. Je známo mnoho sloučenin ruthenia s různou strukturou i vlastnostmi. Například koordinační sloučeniny, které při interakci s biologickým cílem ztrácejí ligand. Známé jsou vícejaderné komplexní sloučeniny schopné interkalace do DNA. [68] Nebo také organokovové látky, jejichž navázání na nádorovou buňku vede k tvorbě reaktivních forem kyslíku (ROS) a tím dochází k chemické modifikaci molekuly v buňce. [69], [70]

2.2.3.1 Komplexy Ru^{III} obsahující indazol a imidazol

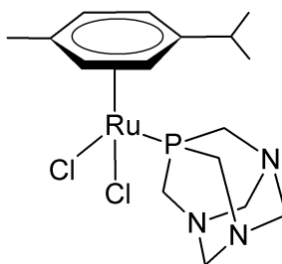
V posledních letech byla prozkoumána řada sloučenin ruthenia pro jejich schopnost inhibovat růst nádorových buněk. Hlavní důraz byl kladen na interakci mezi aktivními komplexy ruthenia s jejich možným biologickým cílem – DNA, RNA, transferrin, albumin a cytochrom c. Důležitý vědecký průlom se odráží v objevení tří nejslibnějších Ru^{III} komplexů. Jedná se o NAMI-A, KP1019 a NKP-1339 (obrázek 12), které díky své aktivitě vstoupily do klinických testů. Hlavní účinek NAMI-A je zastavit šíření nádorových buněk do dalších částí těla, což je proces zvaný metastáza. Sloučenina byla shledána účinná vůči rakovinné buněčné linii karcinomu plic. KP1019 je studována vůči buněčným liniím kolorektálního karcinomu (kolorektální karcinom = nádorové onemocnění tlustého střeva a konečníku). [8], [69]



Obrázek 12: Chemické struktury Ru^{III} komplexů obsahující indazol a imidazol [8].

2.2.3.2 Ru^{II} polosandwichové látky

Organokovové sloučeniny jsou obecně považovány za toxické a nestabilní. Na vzduchu a ve vodě podléhají rozkladu. Je však nutno zmínit, že existuje stále větší počet takovýchto komplexních sloučenin, které jsou stabilní, ve vodě rozpustné, využívané v průmyslové katalýze a jsou důležitým tématem pro studium biologicky aktivních látek. Arenové komplexy ruthenia a jejich protinádorové a antimetastatické vlastnosti byly studovány Dysonem a Sadlerem et al. [9], [71], [72], [73] V roce 2001 byla pozorována protinádorová aktivita u komplexu ruthenia, známém pod názvem RAPTA-C (obrázek 13). [74] Ačkoliv RAPTA-C vykazuje pouze nízkou aktivitu *in vitro*, je naopak aktivní *in vivo*. Hlavním důvodem, proč jsou arenové komplexy ruthenia dostatečně aktivní, je jejich amfifilní vlastnost za předpokladu, že arenový ligand je hydrofobní a kovové centrum je naopak hydrofilní. [8], [9], [75]

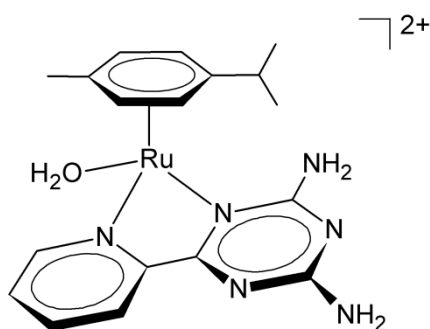


Obrázek 13: RAPTA-C [8].

Během posledního desetiletí arenové komplexy ruthenia přitáhly pozornost díky své strukturní rozmanitosti. [76], [77] Tyto arenové π -ligandy (např. *p*-cymen) jsou silně vázány na centrální atom a jsou relativně inertní vůči substitučním reakcím. Tři zbývající koordinační místa na rutheniu mohou obsadit další ligandy. Organokovové sloučeniny ruthenia, které obsahují vázaný aren jako π -ligand a různé mono- nebo bidentátní ligandy, jsou považovány za slibné kandidáty pro studium jejich možné cytotoxicity. [78] Například komplex typu $[\text{Ru}(\text{aren})(\text{en})\text{Cl}]^+$ (en = ethylendiamin) vykazoval vysoký účinek protinádorové aktivity vůči různým rakovinným buněčným liniím. Cytotoxická aktivita mnoha arenových komplexů ruthenia obecně souvisí se zvýšenou afinitou k DNA. Tato afinita však závisí na konkrétním typu ligandu obsaženém v komplexu. Různé typy ligandů jsou proto stále vyvíjeny a studovány v kombinaci s těmito komplexy ruthenia pro zlepšení jejich vlastností

k navázání se na DNA, taktéž aby bylo dosaženo slibné biologické aktivity a maximalizace jejich účinnosti jako terapeutické látky. [71], [79], [80]

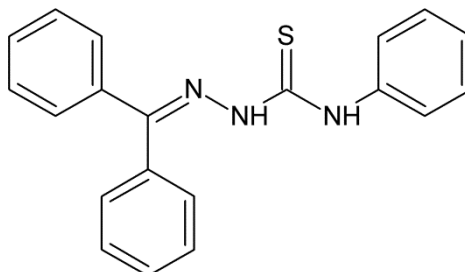
Polosandwichové organokovové komplexy Ru^{II} s obecným vzorcem $[\text{Ru}(\text{aren})\text{XYZ}]^{0/+}$ mají různou aktivitu vzhledem k typu ligandům, které se vážou na centrální kov. [13], [81], [82] Pokud X, Y a Z jsou monodentátní ligandy, sloučeniny vykazují nízkou cytotoxicitu kvůli rychlé hydrolyze a slabé afinitě na DNA [83] (ačkoliv výjimku tvoří již zmíněný RAPTA-C), která se zvyšuje s velikostí arenů. Ztráta cytotoxicity se objevuje i v komplexech, kde X, Y jsou 1,10-fenanthrolin nebo 2,2'-bipyridin. V případě 2,2'-bipyridinu může být jeho aktivita obnovena 3,3'-hydroxylací aromatických kruhů. [84] Použití jiného π -akceptorového chelatačního ligandu, hydroxy- nebo *N,N*-dimethylfenylazopyridinu (Z je jodid), vede k hydrolyticky inertním komplexům, jenž dokážou inhibovat rakovinné buňky jiným způsobem. Tím může být oxidace glutathionu a produkce ROS. [85] Příkladem polosandwichových komplexů ruthenia s cytotoxickými účinky mohou být Ru^{II} arenové aqua-komplexy s 2,4-diamino-6-(2-pyridyl)-1,3,5-triazinovým ligandem. Nejslibnější výsledky byly pozorovány u ruthenatého aqua-komplexu na obrázku 14. Studie *in vitro* naznačily zajímavé cytotoxické účinky vůči rakovinným buněčným liniím karcinomu vaječníku (A2780) ($\text{IC}_{50} = 6,58 \mu\text{M}$). Navíc bylo zjištěno, že sloučenina byla méně toxická vůči plicním fibroblastům (MRC-5) než *cisplatin*. [86]



Obrázek 14: Chemická struktura Ru^{II} arenového aqua-komplexu [86].

Thiosemikarbazony (TSC) (obrázek 15) dosáhly značné pozornosti díky farmakologickým účinkům. Arenové polosandwichové komplexy ruthenia s bidentátními *S*, *N*- donorovými TSC ligandy a 9-antracenyl-TSC deriváty byly dále testovány *in vitro* na jejich antiproliferační aktivitu vůči rakovinným buněčným liniím karcinomu žaludku (SGC-7901) ($\text{IC}_{50} = 17,0 \mu\text{M}$), karcinomu jater (BEL-7404) ($\text{IC}_{50} = 17,1 \mu\text{M}$)

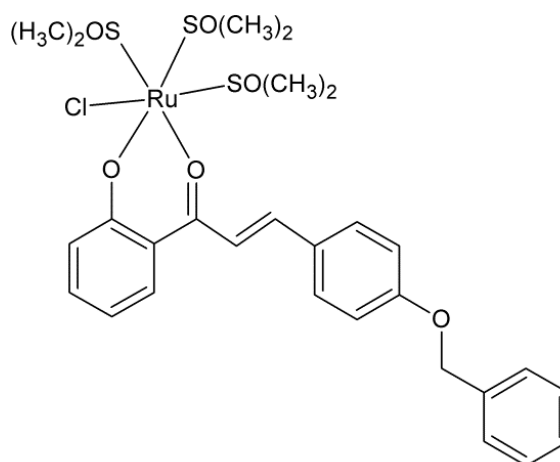
a embryonálním buňkám ledvin (HEK-293T). Některé sloučeniny měly ve srovnání s *cisplatinou* srovnatelné hodnoty IC_{50} . [75]



Obrázek 15: Chemický strukturální vzorec hydrazinkarbothioamidu [75].

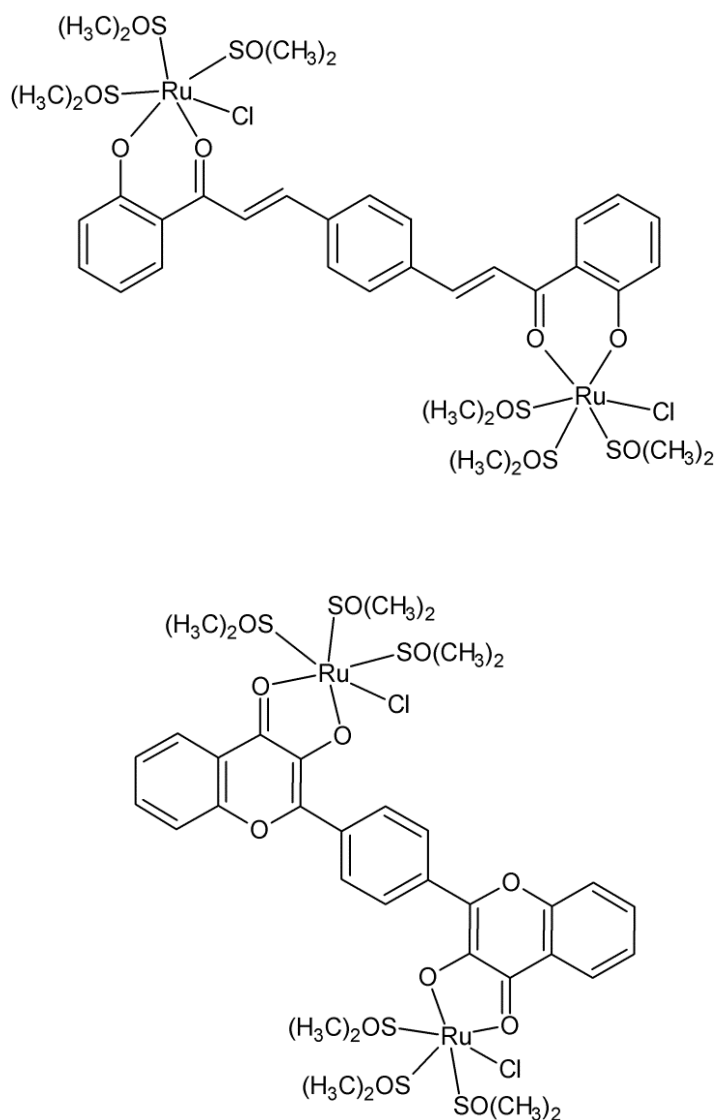
2.2.3.3 Ru komplexy s chalconovým ligandem

Studie komplexace 2'-hydroxychalkonů s některými přechodnými kovovými ionty (Cu^{II} , Pt^{II} , Pd^{II} , Co^{II} , Ni^{II}) vedly k syntéze stabilních sloučenin. [16], [18] Bylo také připraveno a charakterizováno několik komplexů s přechodným kovovým iontem Ru^{II} . Tyto komplexy byly získány reakcí *cis*- $RuCl_2(DMSO)_2$ ($DMSO$ = dimethylsulfoxid) s vhodnými 2'-hydroxychalkony s obecným chemickým vzorcem $[RuL_2(DMSO)_2]$ (L = deprotonizovaný 2'-hydroxychalkon). Dále byly připraveny komplexní sloučeniny Ru^{II} s chalkony a flavonoidy, které byly poté testovány *in vitro* vůči buněčným liniím Daltonova lymfomu ($IC_{50} = 0,319 \mu M$) (obrázek 16). [87]



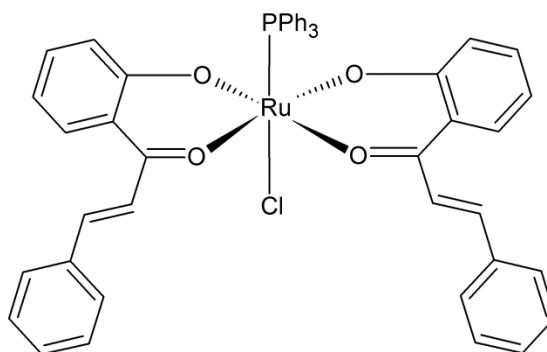
Obrázek 16: Komplex Ru^{II} s chalconovým ligandem [87].

Dalším z příkladů mohou být komplexy Ru^{II} s obecným chemickým vzorcem $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{PPh}_3)(\text{L})(\text{B})]$, kde L je deprotonovaný 2'-hydroxychalkon a B je PPh_3 , pyridin, nebo piperidin. Tyto sloučeniny byly použity jako katalyzátory pro aerobní oxidaci alkoholů a taktéž byly provedeny studie *in vitro* vůči různým bakteriím a plísním. Výsledky ukázaly, že komplexy jsou toxickejší než samotné ligandy. [88] Také byly připraveny binukleární Ru^{II} komplexy s bis-chalkony a bis-flavonoly (obrázek 17), u nichž bylo studováno fotoštěpení DNA a inhibice topoisomerázy I. Komplex s bis-chalkonovým ligandem má vysoce konjugovanou strukturu, což mu umožňuje interkalaci s DNA do malého žlábků. V druhém případě komplex obsahující bis-flavonol upřednostňuje vazbu do velkého žlábků. [89]



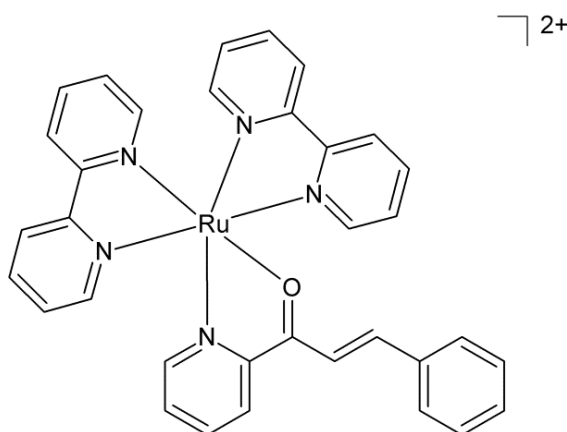
Obrázek 17: Binukleární Ru^{II} komplexy s bis-chalkonem a bis-flavonolem [89].

Byly připraveny i oktaedrické Ru^{III} komplexy typu [RuX(EPh₃)(L)₂] (X = Cl, Br; E = P, As; L = deprotonizovaný 2'-hydroxychalkon) (obrázek 18) vykazující katalytickou aktivitu při oxidaci primárních a sekundárních alkoholů na jejich odpovídající aldehydy a ketony v přítomnosti NMO (*N*-methylmorfolin-*N*-oxid). [90]



Obrázek 18: Chemický strukturální vzorec Ru^{III} komplexu typu [RuCl(PPh₃)(L)₂]. [90]
(L = deprotonizovaný 2'-hydroxychalkon).

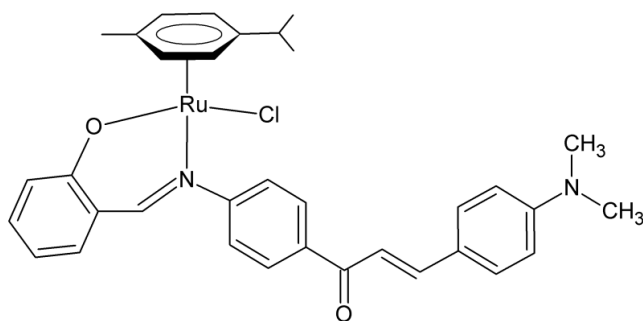
Dalším z příkladů jsou polypyridylové komplexy Ru^{II} a Ru^{III} obsahující 2,6-(2'-benzimidazolyl)-pyridin [91], nebo chalkon jako koligand, u kterých byla testována jejich cytotoxicita na osmi rakovinných buněčných liniích a anti-HIV aktivita. Nejslibnější protinádorovou aktivitu vykazoval komplex na obrázku 19 vůči ileocekální adenokarcinom (HCT-8) (IC₅₀ = 1,0 μM) (ileocekální oblast = oblast přechodu tenkého a tlustého střeva) a adenokarcinomu vaječníku (IC₅₀ = 4,1 μM). Anti-HIV účinky vykazoval pouze komplex s pyridinovým ligandem, ne však s chalkonovým. [92]



Obrázek 19: Polypyridylový komplex ruthenia [92].

2.2.3.4 Polosandwichové komplexy Ru^{II} s chalkonovým ligandem

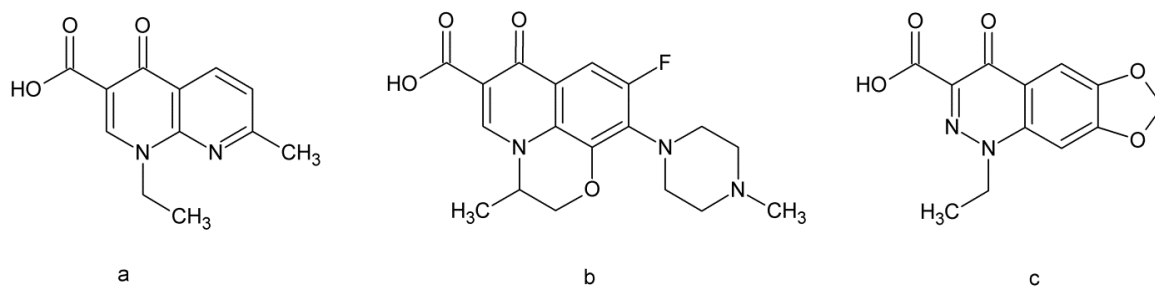
Byla syntetizována arenová sloučenina Ru^{II} s bidentátním *N,O*-chalkonovým ligandem (obrázek 20) a dále studována pro její možnou biologickou aktivitu. Výsledky studie ukázaly, že komplex vykazoval nízkou aktivitu vůči chronické myeloidní leukémii (K-562) (IC₅₀ = 53,25 μM). [93]



Obrázek 20: Arenový komplex Ru^{II} s bidentátním *N,O*-chalkonovým ligandem [93].

2.2.3.5 Polosandwichové komplexy Ru^{II} s bidentátními *O,O*-ligandy

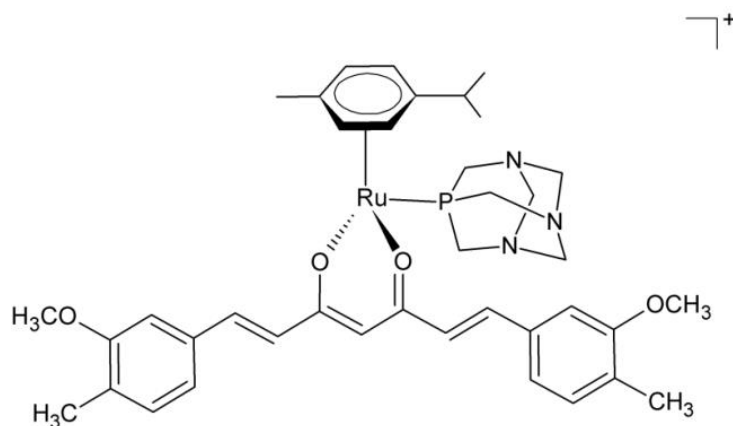
Komplexní sloučeniny nesoucí *N,N*-chelátové ligandy prokázaly cytotoxicitu srovnatelnou s *cispatinou* v řadě buněčných linií [12], [71]. Byla zkoumána i biologická aktivita u *O,O*- a *S,O*-ligandů koordinovaných na kovová centra Ru^{II}. [94], [95] Deriváty chinolonů jsou reprezentovány zejména syntetickými antibakteriálními látkami, které jsou využívány v klinické praxi (např. kyselina nalidixová (1-ethyl-7-methyl-4-oxo-[1,8]naftyridin-3-karboxylová kyselina), ofloxacin (9-fluoro-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-3,7-dihydro-2H-[1,4]oxazino[2,3,4-ij]chinolin-6-karboxylová kyselina), cinoxacin (1-ethyl-6,7-methylenedioxy-4(1H)-oxochinolin-3-karboxylová kyselina)) (obrázek 21). [96]



Obrázek 21: Chemické strukturní vzorce (a) kyseliny nalidixové, (b) ofloxacinu, (c) cinoxacinu.

Jsou vhodné jako ligandy obsahující *O,O*-chelátový motiv. Navíc bylo prokázáno, že tyto látky i jejich deriváty vykazují inhibiční vlastnosti na rakovinné buňky. Stejně tak arenové komplexy Ru^{II} s těmito deriváty chinolonů byly připraveny a dále studovány *in vitro* vůči několika nádorovým buněčným liniím. Slibné výsledky vykazoval komplex Ru^{II} s deprotonovaným ofloxacinem vůči rakovinným buněčným liniím karcinomu vaječníku (IC₅₀ = 18 μM), který vykazoval vyšší účinky než samotný ligand (IC₅₀ > 320 μM). [97]

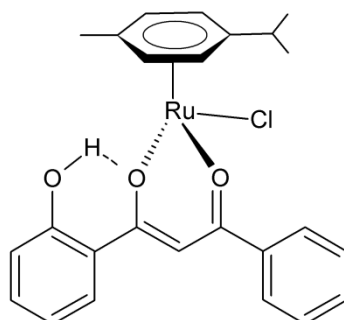
Byly studovány arenové komplexy Ru^{II} s kurkuminovými ligandy (obrázek 22). Kurkumin ((1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)hepta-1,6-dien-3,5-dion) je bioaktivní látka extrahována z oddenků kurkumy (indický šafrán), který vykazuje zajímavé léčivé vlastnosti. Byl studován jako chemoterapeutická látka, a prokázal také protizánětlivé a antioxidantní účinky. Ovšem kurkumin je nestálý a nerozpustný ve vodě. U syntetizovaných ve vodě rozpustných komplexů se studovala jejich antiproliferační aktivita *in vitro* vůči rakovinné buněčné linii karcinomu vaječníku (A2780) (IC₅₀ = 0,14 μM) a ledvinovým buňkám (HEK293) (IC₅₀ = 2,0 μM). Tyto látky ukázaly slibnou inhibici růstu nádorových buněk, dokonce jsou některé účinnější než *cisplatina* (IC₅₀ = 1,5 μM vůči A2780; IC₅₀ = 7,3 μM vůči HEK293) a jsou méně toxické na zdravé ledvinové buňky. [98], [99]



Obrázek 22: Příklad arenového komplexu s kurkuminovým ligandem [98].

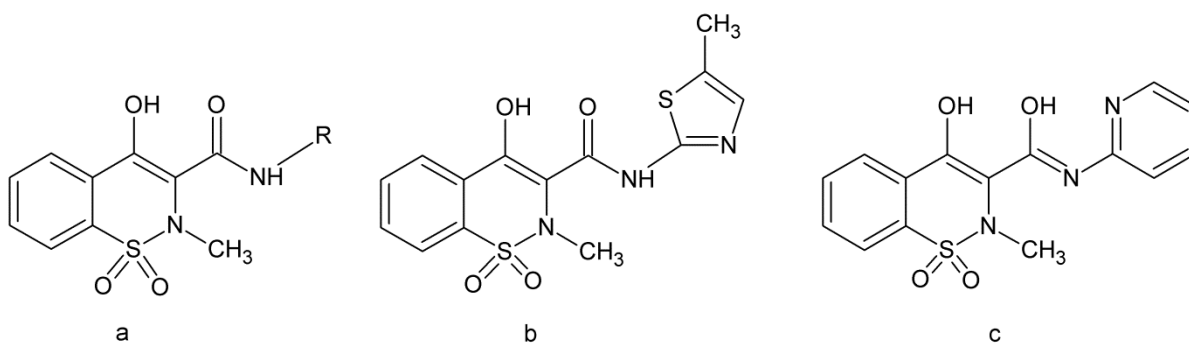
Další polosandwichové komplexy ruthenia s bidentátními *O,O*-ligandy byly studovány z hlediska jejich možné protinádorové aktivity. Jedná se o arenový komplex Ru^{II} s deprotonovaným *ortho*-hydroxydibenzoylmethanem (HDBH) s obecným chemickým složením [Ru(*p*-cym)(HDB)Cl] (obrázek 23). Cytotoxické účinky vůči A2780 měly slibné výsledky (IC₅₀ = 13,9 μM) a taktéž vůči HEK293 (IC₅₀ = 9,1 μM). Menší cytotoxické účinky vykazoval samotný ligand (IC₅₀ = 57,5 μM vůči A2780; IC₅₀ = 11,6 μM vůči HEK293)

a vyšší cytotoxické účinky oproti komplexu Ru^{II} byly zaznamenány u *cisplatin*y ($\text{IC}_{50} = 1,0 \mu\text{M}$ vůči A2788; $\text{IC}_{50} = 7,3 \mu\text{M}$ vůči HEK293). [100]



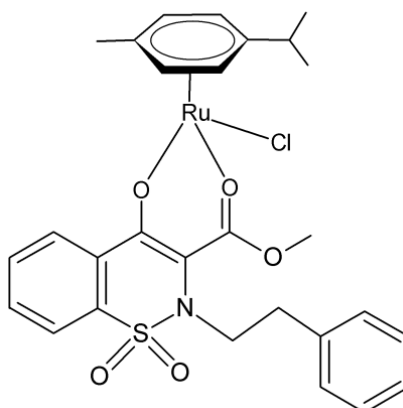
Obrázek 23: Arenový komplex Ru^{II} s obecným chemickým složením $[\text{Ru}(p\text{-cym})(\text{HDB})\text{Cl}]$. Ortho-hydroxydibenzoylmethan (HDBH) [100].

Oxicamy (1,2-benzothiazin-3-karboxamidy) jsou skupinou NSAID (nesteroidní protizánětlivé léky). Zejména meloxicam (4-hydroxy-2-methyl-N-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2H-1,2-benzothiazin-3-carboxamid-1,1-dioxid) a piroxicam (4-hydroxy-2-methyl-N-(2-pyridinyl)-2H-1,2-benzothiazin-3-carboxamid-1,1-dioxid) mají široké uplatnění v medicíně u řady zánětlivých a revmatických onemocnění (obrázek 24). [101], [102]



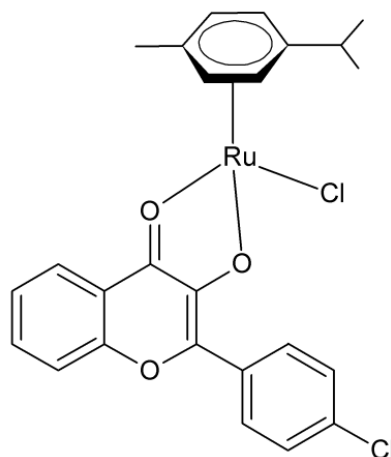
Obrázek 24: Chemické strukturní vzorce (a) oxycamu, (b) meloxicamu, (c) piroxicamu [103].

Proto se začalo uvažovat o přípravě sloučenin nesoucí bioaktivní oxycam s organokovovým $\text{Ru}^{\text{II}}(\eta^6\text{-}p\text{-cymen})$ fragmentem známým pro jeho protirakovinné účinky. Výsledkem byla syntéza čtyř Ru^{II} arenových komplexů nesoucích *O,O*-bidentátní ligandy a *in vitro* studie vůči karcinomu tlustého střeva (HCT116) a adenokarcinomu prsu (MDA-MB-231). Ukázalo se, že cytotoxicita byla závislá na lipofilitě sloučenin. Nejvíce lipofilní komplex je zobrazen na obrázku 25. Jeho aktivita byla nejvyšší vůči buňkám HCT116 ($\text{IC}_{50} = 80 \mu\text{M}$). [103]



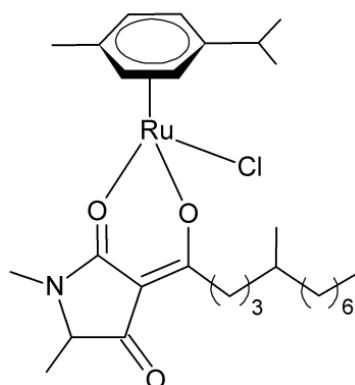
Obrázek 25: Komplexní sloučenina Ru^{II} s derivátem oxicamu [103].

Dále byly připraveny polosandwichové komplexy Ru^{II} nesoucí bioaktivní deprotonovaný 3-hydroxyflavonový ligand s cílem studovat jejich cytotoxické účinky *in vitro*. Protirakovinná aktivita byla stanovena u několika rakovinných buněčných linií. Komplex na obrázku 26 prokázal slibné účinky proti karcinomu vaječníku (IC₅₀ = 0,86 μM). [95]



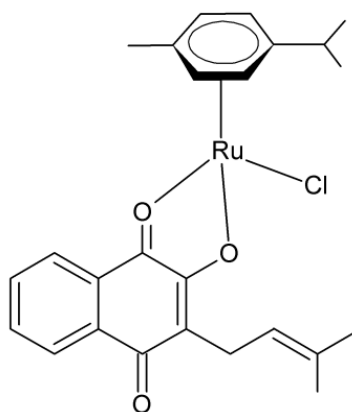
Obrázek 26: Ru^{II} komplex s deprotonovaným 3-hydroxyflavonovým ligandem [95].

Melophlin C ((2S)-3-hydroxy-1,2-dimethyl-4-(5-methyldodecanoyl)-2H-pyrrol-5-on) byl izolován z mořské houby a dále zkoumán pro svoji bioaktivitu. [104] Byla připravena polosandwichová komplexní sloučenina Ru^{II} obsahující tento bidentátní *O,O*-ligand (obrázek 27) a studována aktivita na třech rakovinných buněčných liniích. Největší cytotoxické účinky prokázal komplex u nádorové buněčné linie karcinomu ledvin (A-498) (IC₅₀ = 1,0 μM). Samotný melophlin C vykazoval nižší účinky (IC₅₀ = 3,7 μM) [105]



Obrázek 27: Polosandwichový komplex Ru^{II} s melophlinem C [105].

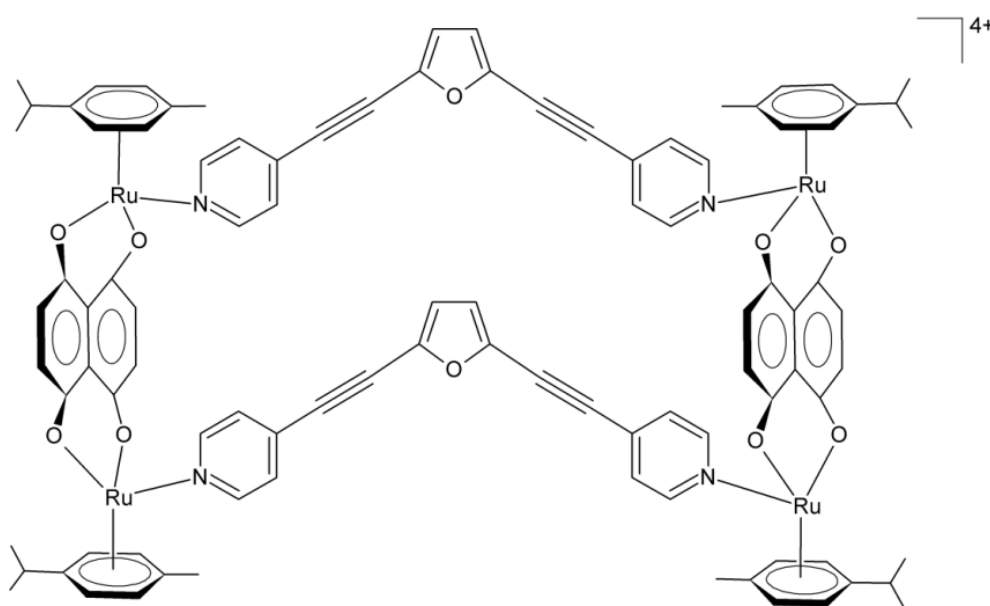
Je známá i komplexní sloučenina Ru^{II} s deprotonizovaným lapacholem (2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinon) (obrázek 28), která byla testována na několika liniích nádorových buněk. Lapachol samotný vykazuje antibiotické a protirakovinné účinky a byl zařazen do klinických testů. [106] Proto byly připraveny sloučeniny obsahující bioaktivní lapachol a organokovovou skupinu pro možné cytotoxické účinky. Studie ukázaly, že samotný ligand (lapachol) vykazuje nižší cytotoxickou aktivitu vůči nádorové buněčné linii karcinomu tlustého střeva (SW480) ($\text{IC}_{50} = 5,5 \mu\text{M}$) než komplexní sloučenina ruthenia s tímto ligandem ($\text{IC}_{50} = 4,1 \mu\text{M}$). Komplexní sloučenina $[\text{Ru}(p\text{-cym})(\text{L})\text{Cl}]$ (L = deprotonizovaný lapachol) je v porovnání s *cisplatinou* méně aktivní ($\text{IC}_{50} = 3,3 \mu\text{M}$). [107]



Obrázek 28: Komplexní sloučenina Ru^{II} s deprotonizovaným lapacholem [107].

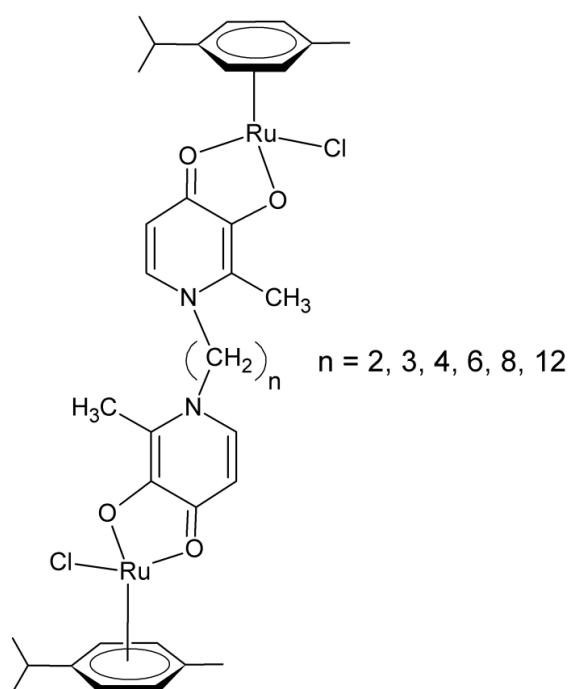
2.2.3.6 Vícejaderné Ru^{II} komplexy

Studie ukázaly, že i supramolekulární sloučeniny ruthenia vykazují biologickou aktivitu. Byly nasyntetizovány arenové supramolekulární komplexy ruthenia se zaměřením na potenciální protinádorovou aktivitu. Studie *in vitro* a *in vivo* vůči střevní nádorové buněčné linii (HCT-15) ($IC_{50} = 27 \mu M$) a rakovinné buněčné linii karcinomu žaludku (AGS) ($IC_{50} = 23 \mu M$) naznačily, že tyto látky inhibovaly růst nádorových buněčných linií, zvláště pak komplex na obrázku 29. [70]



Obrázek 29: Arenový supramolekulární komplex ruthenia [70].

Dále to mohou být dvoujaderné arenové komplexy Ru^{II}, obsahující deprotonizovaný bis(pyridino)alkanový můstkující ligand, které byly testovány vůči mnoha buněčným liniím (obrázek 30). Antiproliferační aktivita byla prokázána u SW480 ($IC_{50} = 76 \mu M$ pro $n = 2$; $IC_{50} = 0,29 \mu M$ pro $n = 12$) a u buněk A2780 ($IC_{50} = 84 \mu M$ pro $n = 2$; $IC_{50} = 1,5 \mu M$ pro $n = 12$). Studie naznačily, že s délkou alkanového řetězce (n) se zvyšují cytotoxické účinky. Čím delší je řetězec, tím je komplex hydrofobnější, což přispívá ke zvýšení transportu komplexu do buněk a tím zvýšení jeho antiproliferačních vlastností. [108]



Obrázek 30: Dvoujaderný Ru^{II} arenový komplex:

1,2-Bis{chlorido[3-(oxo- κO)-2-methyl-4(1*H*)pyridinonato- $\kappa O4$](*p*-cym)ruthenium(II)}ethan
kde $n = 2$ [108].

Z výše uvedeného lze konstatovat, že i když nebyly prostudovány všechny existující publikované články, komplexních sloučenin ruthenia, ať už klasických nebo polosandwichových, je v odborné literatuře zmíněna spousta. Sloučeniny mají rozmanitou strukturu, vlastnosti a cytotoxické účinky vůči široké škále nádorových buněčných linií. Z tohoto důvodu je v této práci zahrnuto několik podkapitol zaměřených na zajímavé zástupce s podobnou chemickou strukturou. Především je literární rešerše zaměřena na komplexní sloučeniny ruthenia s bidentátními *O,O*-donorovými ligandy, které byly převážně testovány vůči rakovinným buněčným liniím karcinomu vaječníku, plic, tlustého střeva a prsu. Jelikož studie komplexních sloučenin některých iontů přechodných kovů (Cu^{II}, Ni^{II}, Zn^{II}, Co^{II},) s 2'-hydroxychalkony vedly ke stabilním sloučeninám, byla experimentální část práce zaměřena na možnost synergie vlastností přechodného kovu (Ru) a ligandů (chalkony), jež patří do skupiny biologicky aktivních látek, se snahou připravit komplexní sloučeniny obecného složení [Ru(*p*-cym)(L)Cl], kde *p*-cym = *p*-cymen a L = deprotonizovaný 2'-hydroxychalkon.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Materiály a přístroje

Materiály:

2'-hydroxyacetofenon (99,00%) (VWR Chemicals), 2'-hydroxy-4'-methoxyacetofenon (99,00%) (VWR Chemicals), 4-methoxybenzaldehyd (98,00%) (Sigma-Aldrich Chemistry), 2-hydroxy-5-nitrobenzaldehyd (99,00%) (Sigma-Aldrich Chemistry), 4-(dimethylamino)-benzaldehyd (100%) (Sigma-Aldrich Chemistry), 3,4,5-trimethoxybenzaldehyd (98,00%) (Sigma-Aldrich Chemistry), hydroxid sodný (100%) (Sigma-Aldrich Chemistry), α -terpinen (90,00%) (Sigma-Aldrich Chemistry), chlorid ruthenitý hydrát (35,00-40,00%) (VWR Chemicals), *n*-hexan (99,00%) (PENTA s.r.o), kyselina chlorovodíková (35,00%) (PENTA s.r.o), ethanol (96,00%) (PENTA s.r.o), methanol (99,97%) (PENTA s.r.o), ethylacetát (99,96%) (PENTA s.r.o), dichlormethan (99,96%) (PENTA s.r.o), chloroform (99,87%) (PENTA s.r.o), diethylether (99,70%) (PENTA s.r.o), acetonitril (99,80%) (PENTA s.r.o), bis(trimethylsilyl)amid sodný (95,00%) (Acros Organics), bis(trimethylsilyl)amid lithný (97,00%) (Acros Organics).

Přístroje:

- 400 MHz NMR spektrometr firmy Varian pro měření spekter vysokého rozlišení vzorků v roztoku
- C, H, N, S chemická analýza prvků - Thermo Scientific Flash 2000 Analyzátor
- FT-IR spektrometr ThermoNicolet Nexus 670 (transmisní, ATR, DRIFT techniky) s FT-Ramanovým modulem Nicolet NXR 9650 s NXE Genie germaniovým detektorem
- HPLC s vícedetektorovou detekcí (DAD spektrálním detektorem + hmotnostním spektrometrem s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS) Agilent 1260 + Agilent ICP-MS 7700x
- Mikrovlnný reakční systém Monowave 300 (Anton Paar) - reaktor pro mikrovlnnou syntézu se širokým rozsahem provozních podmínek (300 °C, 30 bar)
- Monokrystalový difraktometr Oxford Diffraction Xcalibur2 vybavený CCD detektorem Sapphire2 určený k měření v rozsahu teplot 300-90 K

3.2 Syntéza 2'-hydroxychalkonů

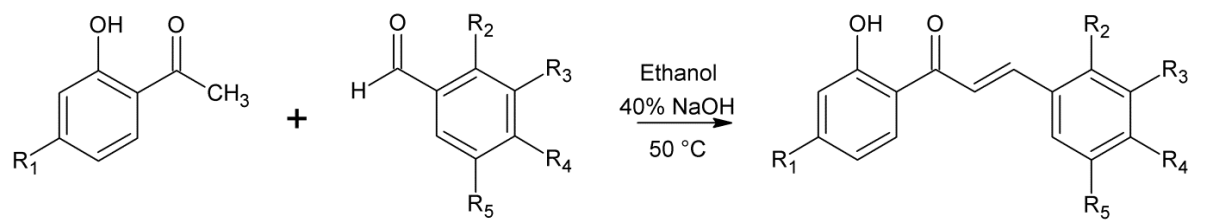
Bylo připraveno pět derivátů 2'-hydroxychalkonů (tabulka 1), které byly dále použity jako bidentátní *O,O*-ligandy k syntéze polosandwichových Ru^{II} komplexů:

2-hydroxy-5-nitro-4'-methoxy-2'-hydroxychalkon (**HL**₁), 4,4'-dimethoxy-2'-hydroxychalkon (**HL**₂), 4-(dimethylamino)-2'-hydroxychalkon (**HL**₃), 3,4,5-trimethoxy-2'-hydroxychalkon (**HL**₄), 4-methoxy-2'-hydroxychalkon (**HL**₅).

Při syntézách těchto ligandů byl použit postup dle publikovaných článků [10], [109], [110]. Tyto postupy byly podle potřeby modifikovány. Zmíněné deriváty 2'-hydroxychalkonů byly připraveny Claisen–Schmidtovou kondenzací, v níž reagoval derivát acetofenonu s derivátem benzaldehydu v přítomnosti báze. Syntézy všech pěti ligandů byly takřka totožné. Navážky výchozích látek byly vypočítány pro teoretický výtěžek 3 mmol produktu. Nejprve byl rozpuštěn příslušný derivát acetofenonu (2'-hydroxyacetofenon 0,36 ml; 2'-hydroxy-4'-methoxyacetofenon 0,50 g) ve 20 ml ethanolu, ke kterému bylo přidáno 1,6 ml 40% roztoku NaOH. Roztok byl důkladně míchán deset minut. Poté byl k roztoku pomalu přidán příslušný derivát benzaldehydu (2-hydroxy-5-nitrobenzaldehyd 0,50 g; 4-methoxy-benzaldehyd 0,33 ml; 4-(dimethylamino)-benzaldehyd 0,48 g; 3,4,5-trimethoxybenzaldehyd 0,60 g). Takto připravený roztok byl zahříván pod zpětným chladičem za současného míchání na teplotu 50 °C po dobu 16 hodin. Dále byl roztok ochlazen, byla k němu přidána studená destilovaná voda (zhruba 20 ml) a roztok byl neutralizován 1M HCl. Vzniklá sraženina byla zfiltrována a nakonec důkladně promyta destilovanou vodou (5x5 ml) a byla vysušena v exsikátoru nad vakuem. Všechna rozpouštědla byla využita v komerční podobě.

HL₁: Tmavě žlutý prášek. Výtěžnost 62 %, **HL**₂: Žlutý prášek. Výtěžnost 50 %, **HL**₃: Fialové krystalky. Výtěžnost 65 %, **HL**₄: Světle žluté jehličky. Výtěžnost 48 %, **HL**₅: Oranžový prášek. Výtěžnost 70 %.

Tabulka 1: Obecný postup syntézy vybraných derivátů 2'-hydroxychalkonů **HL₁-HL₅** s vybranými substitučními skupinami na arylových kruzích [26].

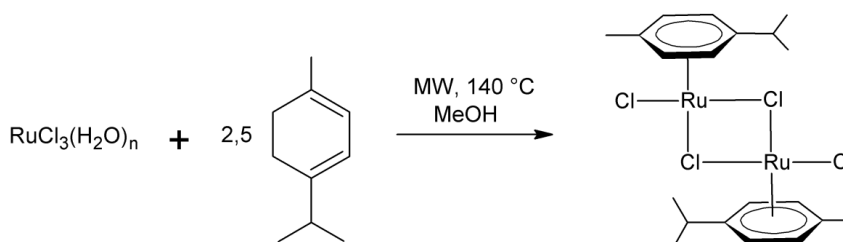


Ligand	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
HL ₁	OCH ₃	OH	H	H	NO ₂
HL ₂	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H
HL ₃	H	H	H	N(CH ₃) ₂	H
HL ₄	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
HL ₅	H	H	H	OCH ₃	H

3.3 Syntéza komplexních sloučenin ruthenia s 2'-hydroxychalkony

3.3.1 Syntéza [Ru(*p*-cym)Cl₂]₂

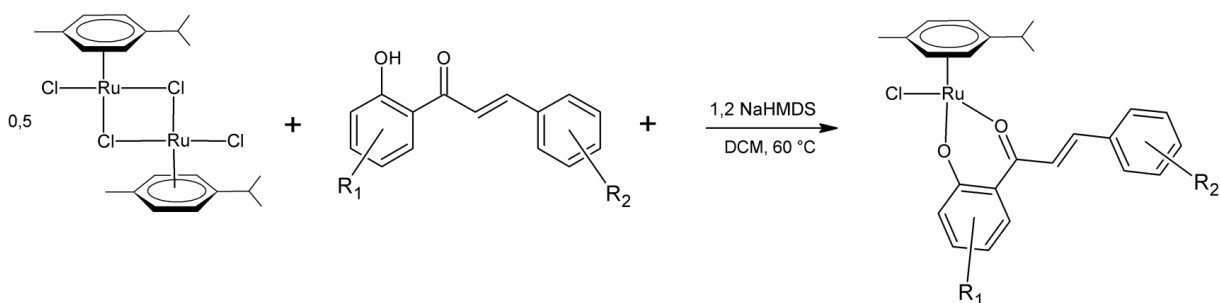
Při syntéze [Ru(*p*-cym)Cl₂]₂ byl navržen postup dle článku [111]. Nejprve byl RuCl₃·xH₂O (*x* ≈ 3) (2,0 mmol; 0,50 g) důkladně rozpuštěn v 5 ml methanolu ve vialce určené do reaktoru pro mikrovlnnou syntézu. Poté byl přidán α -terpinen (5,7 mmol; 0,94 ml). Takto připravený roztok byl vložen do mikrovlnného reakčního systému, míchán a současně zahříván na teplotu 140 °C po dobu 2 minut (obrázek 31). Dále byla provedena 5x extrakce pomocí *n*-hexanu, za účelem odstranit případně nezreagovaný zbytek α -terpinenu z roztoku. Nakonec byl čistý methanolický roztok produktu zahuštěn ke krystalizaci. Výsledný dimer [Ru(*p*-cym)Cl₂]₂, ve formě tmavě červených krystalů, byl izolován filtrací a byl dále použit jako výchozí látka k syntéze komplexů. Výtěžnost reakce byla 59 %.



Obrázek 31: Postup syntézy [Ru(*p*-cym)Cl₂]₂ [111].

3.3.2 Syntéza komplexů s předpokládaným složením [Ru(*p*-cym)(L)Cl]

U syntéz komplexů se vycházelo z publikovaných postupů [10], [13], [112]. Původní postupy nicméně byly upravovány, jelikož se dle nich nepodařilo připravit chemické individuum. To bylo zjištěno z výsledků elementární analýzy, kdy empirické složení připravených vzorků neodpovídalo předpokládaným hodnotám. V případě použití postupu z publikovaného článku, kde se vědci zabývali syntézou a charakterizací organokovových sloučenin Ru^{II} s deriváty acetylacetonu (*O,O*-ligandy) obecného složení [Ru(*p*-cym)(F₃C-acac-Ar)Cl] (Ar = fenyl), [Ru(*p*-cym)LLCl] (LL = 1-benzoylaceton), nebylo možno připravit komplexní sloučeniny Ru^{II} s deprotonizovanými *O,O*-bidentátními 2'-hydroxychalkony. Při syntézách komplexních sloučenin bylo vycházeno z připraveného dimeru [Ru(*p*-cym)Cl₂]₂ a derivátů 2'-hydroxychalkonů (obrázek 32).



Obrázek 32: Obecný postup syntézy komplexů obecného složení [Ru(*p*-cym)(L)Cl], kde L = deprotonizovaný 2'-hydroxychalkon a NaHMDS = |B| = báze.

Nejprve bylo nutno připravit soli ligandů za použití co nejvhodnější báze. Aby mohly 2'-hydroxychalkony sloužit jako bidentátní *O,O*-ligandy, musí dojít k jejich deprotonaci, což bylo řešeno vznikem solí. Jako báze pro přípravu solí ligandů byly postupně použity methoxid sodný, NaOH, triethylamin, LiHMDS (bis(trimethylsilyl)amid lithný) a NaHMDS (bis(trimethylsilyl)amid sodný). Pro syntézu solí byl nakonec použit NaHMDS, jelikož se jedná o silnou bázi, která deprotonuje pouze kyselý vodík na 2'-OH.

V postupu dle literatury pro syntézu komplexů byl v případě rozpouštědla použit methanol. Reakce neposkytovala kýžené produkty, a proto bylo nutno postupy z literatury modifikovat a optimalizovat reakční podmínky. Důvod, proč nebylo možno připravit chemické individuum, by mohl spočívat ve vzdušné vlhkosti, jelikož při použití komerčně dostupného methanolu reakce vedla k izolaci výchozího derivátu 2'-hydroxychalkonu,

což bylo určeno elementární analýzou. Byl učiněn pokus o eliminaci tohoto problému za použití suchého methanolu. Dále se ukázalo, že ani suchý methanol není vhodné rozpouštědlo pro syntézu těchto komplexů, poněvadž po rekrystalizaci produktu z methanolu vykryštalizoval opět čistý ligand, což bylo potvrzeno elementární analýzou. Díky tomu, že se podařilo získat monokrystal ligandu, byla určena i jeho struktura pomocí monokrystalové rentgenové strukturní analýzy. Poté byla vyzkoušena směs methanolu/DCM v poměru 1:1 a směs 10% methanolu v DCM. Ani za těchto podmínek nedošlo ke vzniku požadovaných produktů, a proto byl nakonec použit pouze DCM, ve kterém byl vedlejší produkt (NaCl) nerozpustný a rovnováha reakce se posunula směrem k požadovanému produktu. Výsledné produkty vykazují nízkou polaritu, proto lze předpokládat, že při použití málo polárního prostředí (DCM) bude snáze vznikat produkt, který je ve srovnání s výchozími látkami méně polární. Ukázalo se, že při použití tohoto rozpouštědla vedla syntéza ke vzniku směsi komplexu a výchozího 2'-hydroxychalkonu.

Syntézy byly nejprve prováděny za laboratorní teploty. Produkty po rekrystalizaci však nebyly čisté, a proto bylo navrženo roztok zahřívát pod zpětným chladičem na 60 °C. Reakční doba byla taktéž měněna, pohybovala se od 3 hodin, 6 hodin, 24 hodin až po tři dny. Reakce probíhala v inertní atmosféře pod dusíkem. Dusík nebyl suchý, což opět vedlo k tomu, že výsledný produkt nebyl získán. Proto byla syntéza prováděna pod argonovou atmosférou.

Nakonec bylo potřeba izolovat produkt z roztoku. Komplex byl vysrážen z roztoku pomocí *n*-hexanu, kdy byly poměry objemů roztoku a *n*-hexanu měněny v závislosti na různé substituci na derivátech 2'-hydroxychalkonů. Jestliže derivát 2'-hydroxychalkonu obsahoval polární skupiny, bylo použito menší množství *n*-hexanu (1:2). V případě nepolárních skupin byl použit *n*-hexan ve větším množství (1:15). Sraženina však, podle elementární analýzy, neměla patřičné složení. Byl tedy navržen jiný postup, kdy byl roztok s komplexem odpařen dosucha, na dně nádoby se vytvořila souvislá vrstva, která byla rekrystalizována z acetonitrilu a izolována filtrací.

Vzhledem k výše uvedeným problémům byla nakonec experimentální část soustředěna pouze na přípravu komplexní sloučeniny ruthenia s jedním derivátem 2'-hydroxychalkonu **HL₄** (3,4,5-trimethoxy-2'-hydroxychalkon), jelikož se podařilo získat monokrystal tohoto ligandu, jehož struktura byla stanovena pomocí monokrystalové rentgenové strukturní analýzy. V případě, že by se podařilo připravit chemické individuum a charakterizovat

ho dostupnými analytickými metodami, pokračovalo by se se syntézami ostatních komplexních sloučenin ruthenia s příslušnými nasyntetizvanými deriváty 2'-hydroxychalkonů.

Stručné shrnutí přípravy komplexů: Nejprve bylo třeba připravit sůl ligandů. Byl rozpuštěn 1,0 mmol příslušného ligandu **HL**₁ (0,32 g); **HL**₂ (0,28 g); **HL**₃ (0,27 g); **HL**₄ (0,31 g); **HL**₅ (0,25 g) v 15 ml dichlormethanu (DCM). Poté byl NaHMDS (1,2 mmol; 0,23 g) přidán k 15 ml DCM. Oba roztoky byly smíchány ve dvouhrdlé baňce, nezbytné pro pozdější práci v inertní atmosféře. Takto připravená směs byla zahřívána na 60 °C a současně míchána pod zpětným chladičem 1 hodinu. Pak byl roztok se solí ligandu odpařen dosucha. Dále bylo naváženo potřebné množství [Ru(*p*-cym)Cl₂]₂ (0,5 mmol; 0,31 g), které bylo rozpuštěno v 15 ml DCM. Sůl ligandu byla taktéž rozpuštěna v 15 ml DCM. K roztoku soli ligandu ve dvouhrdlé baňce byl přidán připravený roztok [Ru(*p*-cym)Cl₂]₂. V tomto kroku syntézy byl do baňky přiváděn argon. Opět byl roztok zahříván a současně míchán pod zpětným chladičem na 60 °C 3 hodiny. Tmavě červený roztok byl zfiltrován, aby byl odstraněn NaCl (cca 65 mg). Filtrát byl dán na 1 den do lednice (teplota 8 °C) za účelem vzniku krystalů. Protože nedošlo k vysrážení, byl roztok odpařen na vakuové odparce dosucha. Sraženina byla rekrystalizována z methanolu. Po ochlazení byla vzniklá sraženina (jednalo se o výchozí derivát 2'-hydroxychalkonu) zfiltrována a filtrát, který obsahoval komplex, byl volně odpařen. Vzniklá tmavě červená sraženina komplexu byla rekrystalizována z acetonitrilu a nakonec zfiltrována a promyta diethyletherem.

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

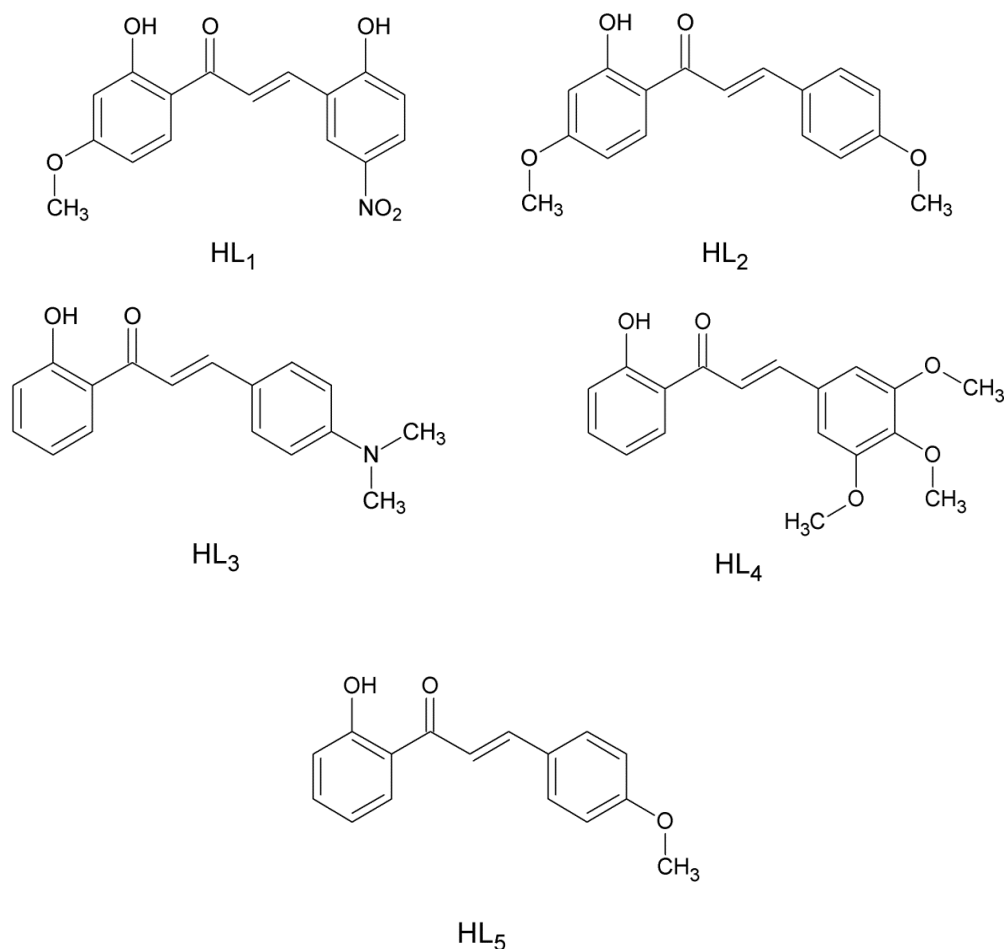
4.1 Deriváty 2'-hydroxychalkonů

U syntéz ligandů bylo postupováno dle článků [10], [109] a [110], které bylo nutno částečně modifikovat, kdy místo míchání roztoku benzaldehydu s acetofenonem za laboratorní teploty na elektromagnetické míchačce byl roztok zahříván a současně míchán po dobu 16 hodin na 50 °C pod zpětným chladičem.

Všech pět připravených derivátů 2'-hydroxychalkonů (obrázek 33) bylo zkontrolováno pomocí TLC (tenkovrstvá chromatografie), zda jsou výsledné produkty čisté a neobsahují nezreagované výchozí látky. Malé množství produktu bylo rozpuštěno v methanolu a byla provedena TLC společně se standardem (s již dříve připravenou čistou látkou), kde mobilní fázi tvořil roztok *n*-hexanu s ethylacetátem v poměru 7:3. Na destičce (silufolu) byla pozorována jedna skvrna ve stejné výšce se standardem a se stejným R_f, což prokázalo čistotu ligandu. Pokud se tak nestalo, byla provedena rekrystalizace z ethanol/voda v poměru 1:1. Další metodou, která byla použita pro zjištění empirického složení a čistoty všech pěti derivátů 2'-hydroxychalkonů, byla elementární analýza. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Elementární složení ligandů (vypočítané / skutečné)

Označení a složení ligandu	N (%)	C (%)	H (%)
HL ₁ (C ₁₆ H ₁₃ NO ₆)	4,5 / 4,4	60,7 / 60,9	4,2 / 4,2
HL ₂ (C ₁₇ H ₁₆ O ₄)	0,0 / 0,0	71,5 / 71,8	5,9 / 5,7
HL ₃ (C ₁₇ H ₁₇ NO ₂)	5,4 / 5,2	76,0 / 76,3	6,9 / 6,4
HL ₄ (C ₁₈ H ₁₈ O ₅)	0,0 / 0,0	68,8 / 68,8	5,6 / 5,8
HL ₅ (C ₁₆ H ₁₄ O ₃)	0,0 / 0,0	75,4 / 75,6	5,7 / 5,6

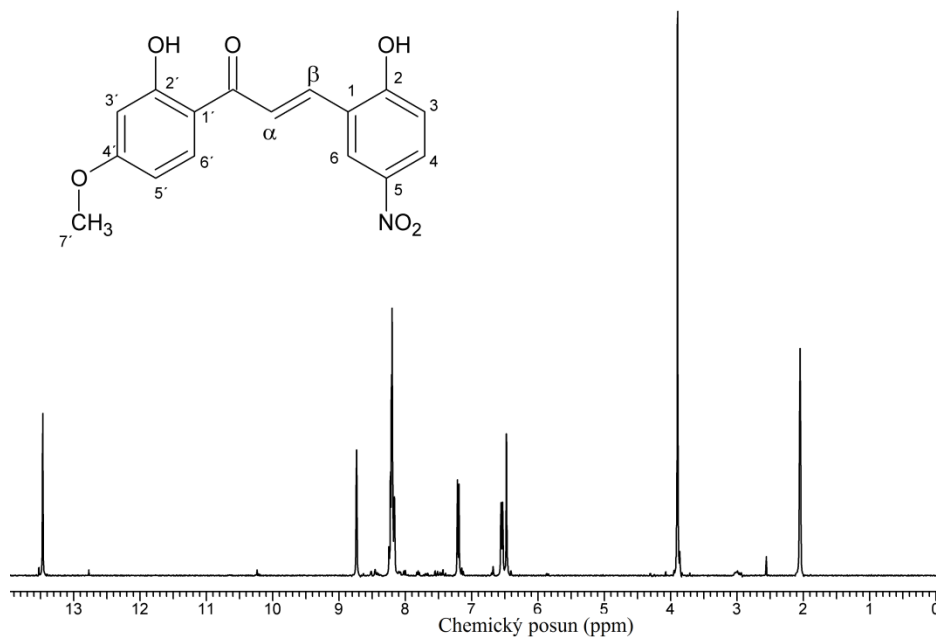


Obrázek 33: Chemické strukturální vzorce připravených derivátů 2'-hydroxychalconů.

4.2 NMR spektroskopie derivátů 2'-hydroxychalconů

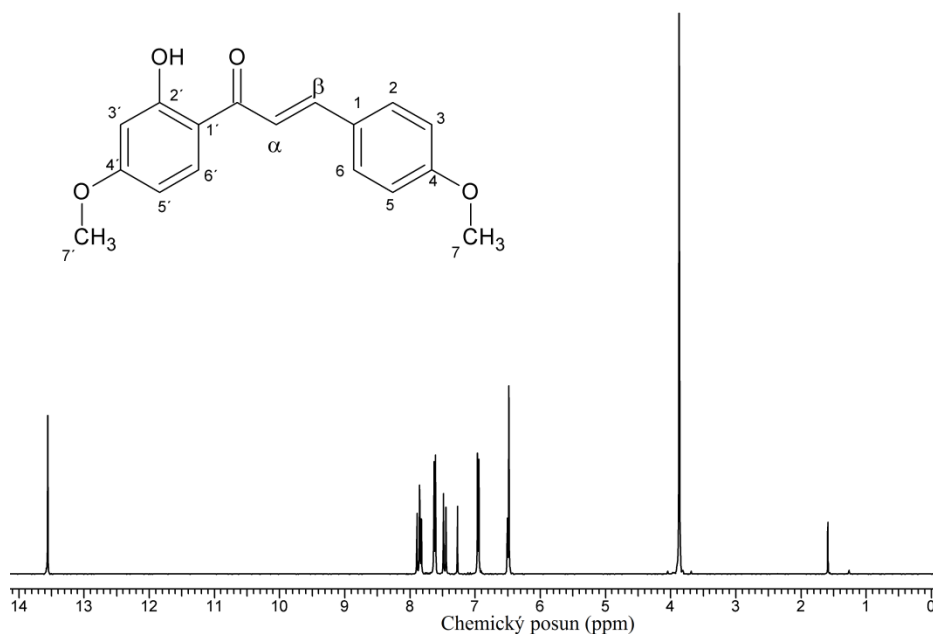
Byly naměřeny ¹H NMR spektra všech pěti derivátů 2'-hydroxychalconů. Vzorek byl rozpuštěn v deuterovaném chloroformu (u **HL₁** v deuterovaném acetonu z důvodu špatné rozpustnosti) a ten byl změřen na 400 MHz NMR spektrometru. Tato metoda prokázala přítomnost nasyntetizovaných ligandů v dostatečné čistotě. Interpretace spekter ligandů byla provedena pomocí článků [113], [114], [115], [116] a [117].

Ve všech ¹H-NMR spektrech bylo pozorováno několik signálů. Největší chemický posun měl vždy vodík na 2'-OH skupině. Signály v oblasti od 9,00 ppm do 5,00 ppm odpovídají aromatickým vodíkům. Dále byl ve spektru zaznamenán signál se 7,27 ppm, který přísluší rozpouštědлу CDCl₃ a v případě spektra **HL₁** signál 2,05 ppm acetonu-*d*₆. Nejméně odstíněné jsou neštěpené signály vodíků methoxy skupin. Spektra jsou zobrazena na obrázcích 34-38.



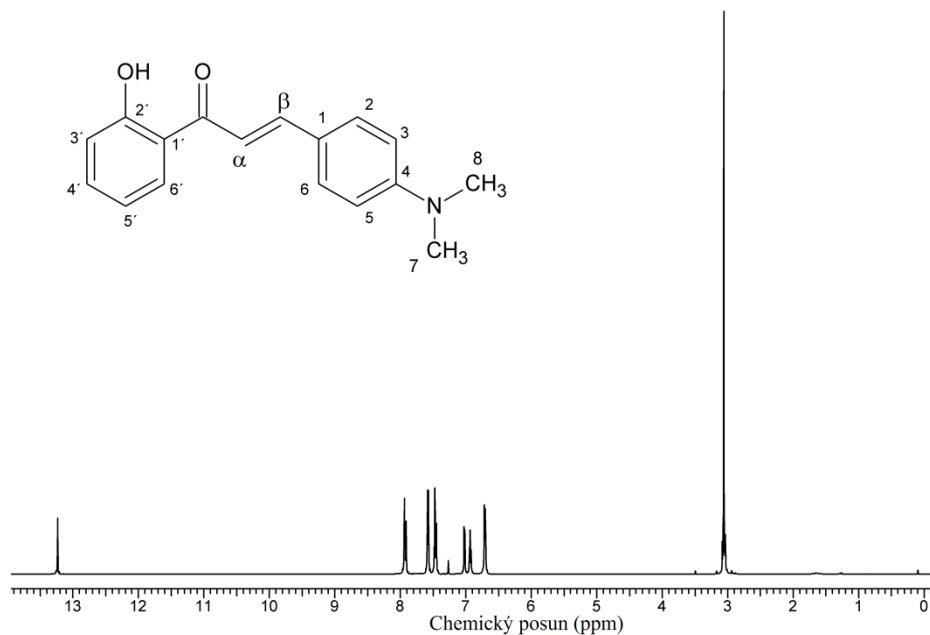
Obrázek 34: ^1H -NMR spektrum **HL₁**.

Popis spektra **HL₁**: ^1H NMR (400 MHz, Aceton-*d*₆, ppm): δ 13,46 (s, 1H, 2'-OH); 8,73 (s, 1H, 2-OH); 8,25 (d, 1H, 6'-H); 8,21 (d, 2H, 4-,6-H); 8,20 (d, 1H, β -H); 8,17 (d, 1H, 3-H); 7,21 (d, 1H, α -H); 6,56 (d, 1H, 5'-H); 6,48 (s, 1H, 3'-H); 3,90 (s, 3H, 7'-H).



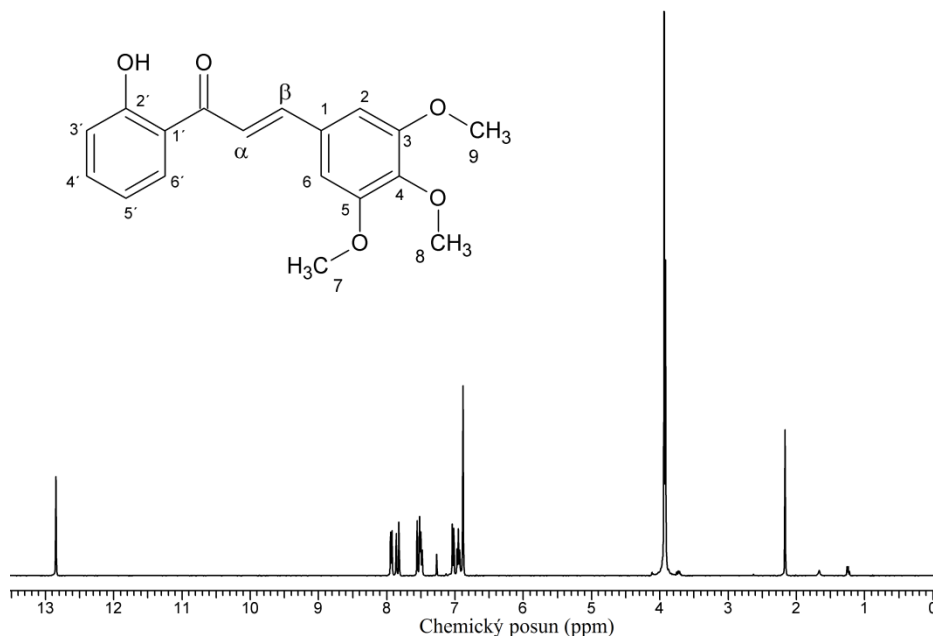
Obrázek 35: ^1H -NMR spektrum **HL₂**.

Popis spektra **HL₂**: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 13,56 (s, 1H, 2'-OH); 7,89 (d, 1H, β -H); 7,83 (m, 1H, 6'-H); 7,63 (d, 2H, 2-,6-H); 7,49 (d, 1H, α -H); 6,96 (d, 2H, 3-,5-H); 6,51 (m, 2H, 3'-,5'-H); 3,87 (s, 6H, 7,7'-H).



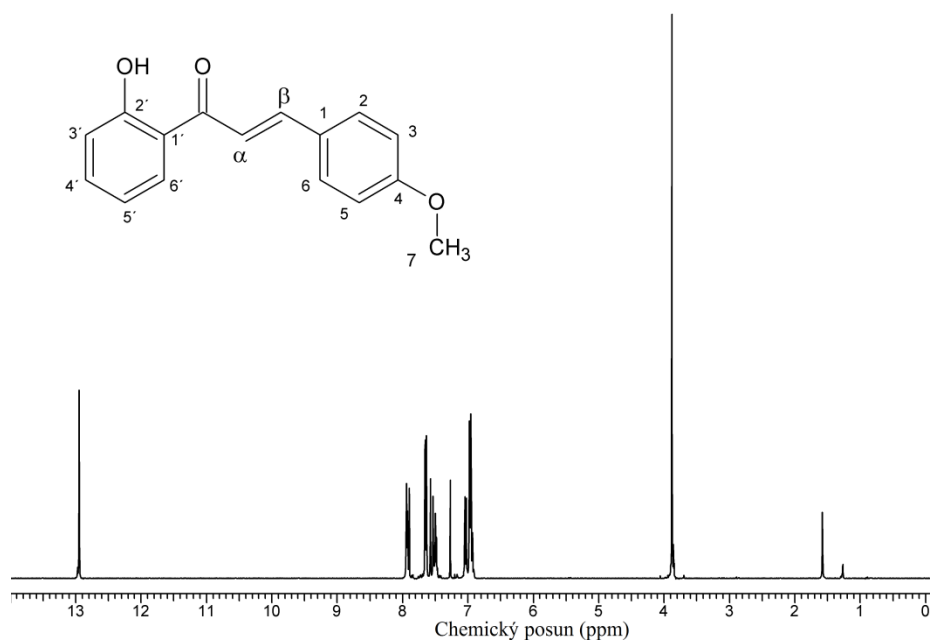
Obrázek 36: ^1H -NMR spektrum **HL₃**.

Popis spektra **HL₃**: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 13,24 (s, 1H, 2'-OH); 7,94 (d, 1H, β -H); 7,91 (m, 1H, 3'-H); 7,58 (m, 2H, 2-,6-H); 7,45 (m, 2H, 3-,5-H); 7,03 (d, 1H, α -H); 6,93 (t, 1H, 5'-H); 6,72 (m, 2H, 4',6'-H,); 3,06 (s, 6H, 7-,8-H).



Obrázek 37: ^1H -NMR spektrum **HL₄**.

Popis spektra **HL₄**: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 12,85 (s, 1H, 2'-OH); 7,94 (d, 1H, 6'-H); 7,86 (d, 1H, β -H); 7,55 (d, 1H, α -H); 7,52 (m, 1H, 4'-H); 7,04 (d, 1H, 3'-H); 6,95 (t, 1H, 5'-H); 6,89 (s, 2H, 2-,6-H,); 3,92 (s, 3H, 8-H); 3,94 (s, 6H, 7-,9-H).

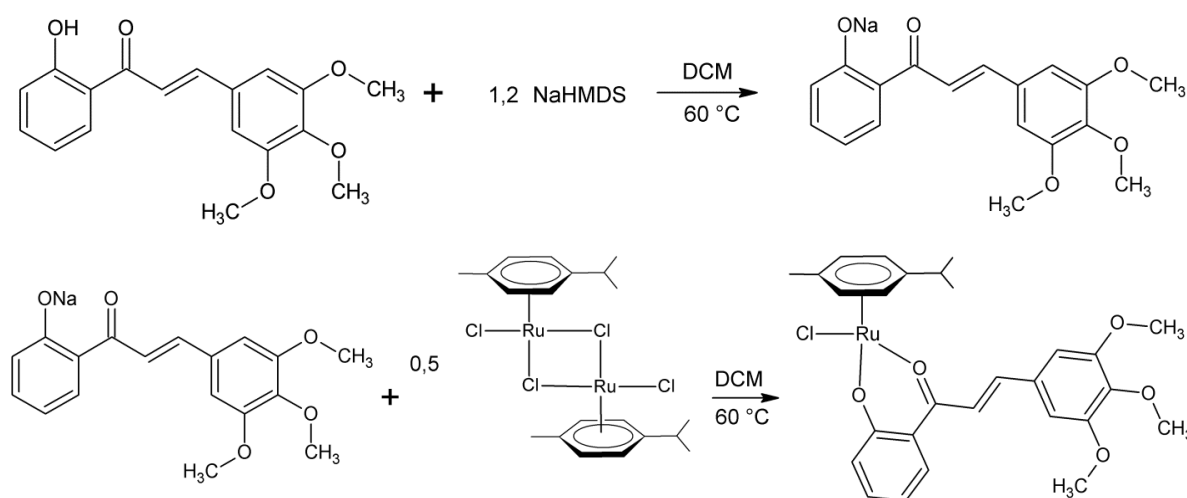


Obrázek 38: ¹H-NMR spektrum **HL₅**.

Popis spektra **HL₅**: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): δ 12,95 (s, 1H, 2'-OH); 7,93 (d, 1H, 6'-H); 7,90 (d, 1H, β-H); 7,66 (d, 2H, 2-,6-H); 7,55 (d, 1H, α-H); 7,50 (m, 1H, 4'-H); 7,03 (d, 1H, 3'-H); 6,98 (d, 2H, 3-,5-H); 6,96 (m, 1H, 5'-H); 3,88 (s, 3H, 7-H).

4.3 Organokovové sloučeniny Ru^{II} s 2'-hydroxychalkony

Podle postupu, který byl zvolen (obrázek 39), se podařilo syntetizovat jednu chemickou látku (červené krystalky, výtěžnost 40 %). Díky výsledkům elementární analýzy (tabulka 3) pro možné složení komplexu Ru^{II} (**4**) s 3,4,5-trimethoxy-2'-hydroxychalkonem (**HL₄**) bylo předpokládáno, že by se mohlo jednat o kýžený produkt. Rozdíly mezi vypočítanými a skutečnými hodnotami byly cca 0,4 %.



Obrázek 39 : Postup syntézy komplexu **4**.

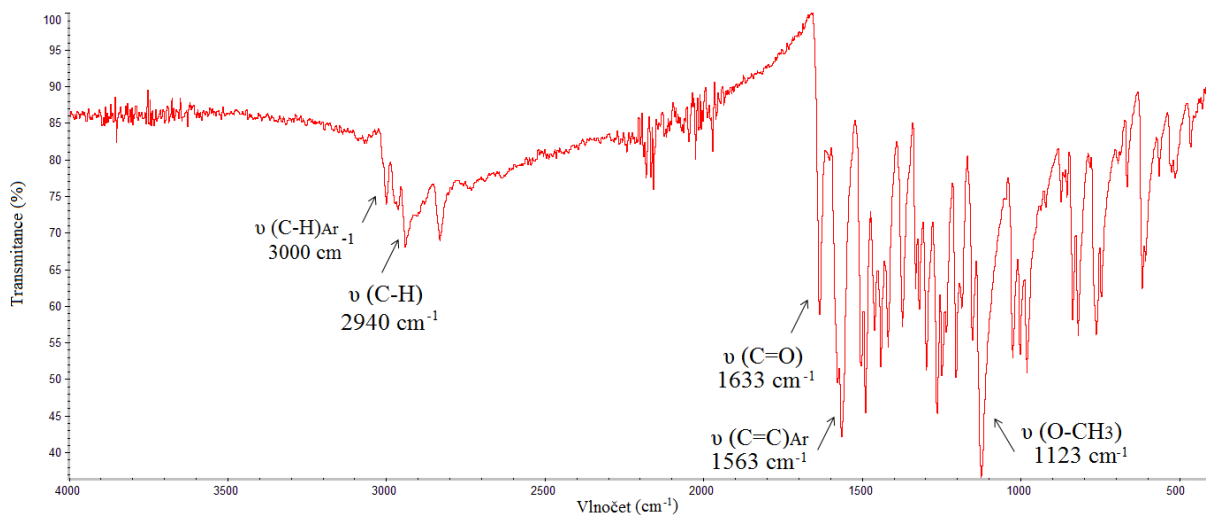
Tabulka 3: Elementární složení komplexu **4** (vypočítané / skutečné).

Složení komplexu 4	N(%)	C(%)	H(%)
4 (C ₂₈ H ₃₀ ClO ₅ Ru)	0,0 / 0,0	57,0 / 57,7	5,6 / 5,2

Výsledek elementární analýzy komplexu **4** naznačuje, že by se mohlo jednat o chemické individuum, a proto byl vzorek podroben další analýze. Byla naměřena IR spektra, NMR spektra a MS spektra. Byla provedena studie stability komplexu **4** v roztocích obsahujících vodu. Díky získanému monokrystalu byla provedena monokrystalová rentgenová strukturní analýza ligandu **HL₄** a komplexu **4**.

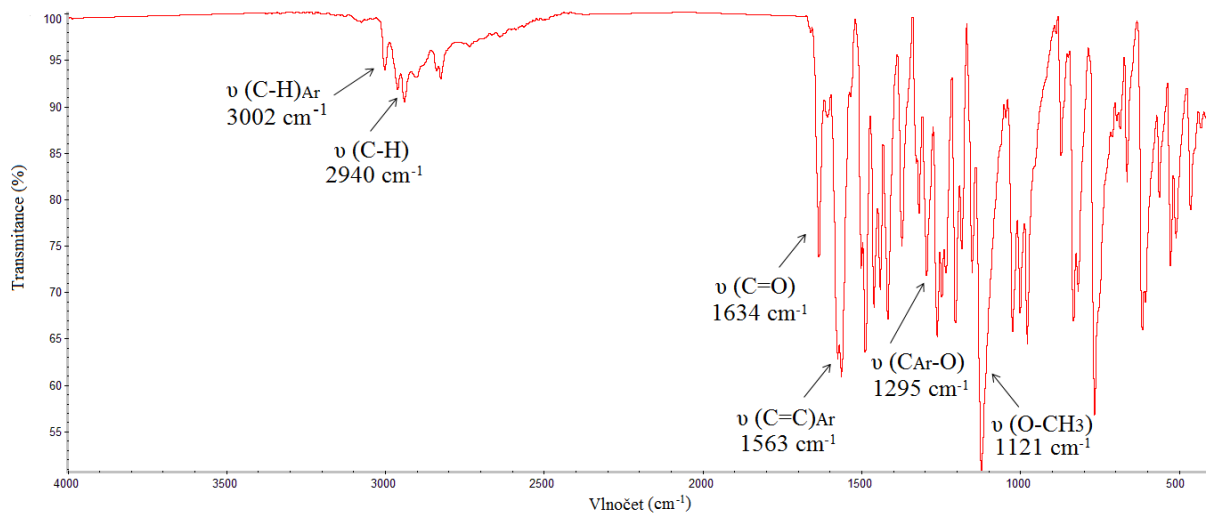
4.4 IR spektroskopie ligandu HL₄ a komplexu 4

IR spektra byla měřena v rozsahu vlnočtů 4000–400cm⁻¹, která jsou uvedena na obrázcích 40 a 41.



Obrázek 40: IR spektrum ligandu HL₄.

Popis IR spektra HL₄ (ATR, cm⁻¹): 616m, 760m, 817m, 979m, 1024m, 1123s (O-CH₃), 1202m, 1247m, 1263s, 1297m (C_{Ar}-O), 1372m, 1417m, 1440m, 1488s, 1563s (C=C)_{Ar}, 1633m (C=O), 2831w, 2940w(C-H), 2962w, 3000w.



Obrázek 41: IR spektrum komplexu 4.

Popis spektra komplexu 4 (ATR, cm⁻¹): 615m, 766s, 832m, 978m, 1023m, 1121s (O-CH₃), 1204m, 1246w, 1261m, 1295w (C_{Ar}-O), 1417m, 1487m, 1563s (C=C)_{Ar}, 1634m (C=O), 2825w, 2940w(C-H), 3002w.

Na obou IR spektrech lze pozorovat vibrační vlničky pro charakteristické absorpční pásy funkčních skupin. V oblasti vlničtů 3000–2850 cm⁻¹ se nachází vibrace vazeb C-H. Oblast 1900–500 cm⁻¹ je charakteristická pro absorpci dvojných vazeb, proto jsou ve spektru zřetelné vazby C=C a C=O. Do části spektra 1400–1250 cm⁻¹ spadá vibrace vazby C-O. V porovnání IR spekter ligandu a komplexu došlo jen k minimálním posunům absorpčních pásů funkčních skupin, a to o 1 až 2 cm⁻¹. Komplexace tedy neměla vliv na charakter IR spektra. Interpretace spekter byla provedena podle článku [118].

4.5 MS spektrometrie a stabilita komplexu 4

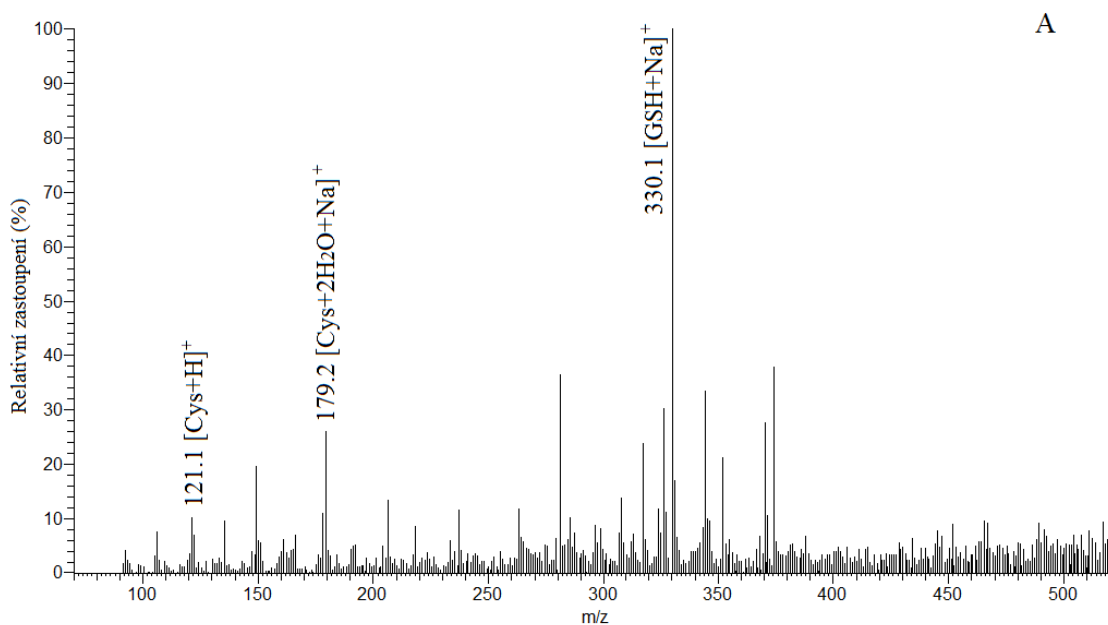
Pro studium stability a dalších možných interakcí s biomolekulami byla měřena ESI+MS spektra v kladném módu pro směsi: obrázek 42(A): L-cystein (290 μM) a L-glutathion (6 μM) ve vodě, obrázek 42(B): komplex 4 (10 μM) v methanolu po 1 hodině, obrázek 42(C): komplex 4 (10 μM) v methanolu po 96 hodinách, obrázek 42(D): systém komplexu 4 s L-cysteinem a L-glutathionem v methanol:voda (1:1)

V hmotnostním spektru (A) vzorku obsahujícího pouze L-cystein a L-glutathion ve vodě byly pozorovány pouze druhy odvozené od těchto sloučenin: [Cys+H]⁺ 121.3 m/z; [Cys+2H₂O+Na]⁺ 179.2 m/z; [GSH+Na]⁺ 330.1 m/z.

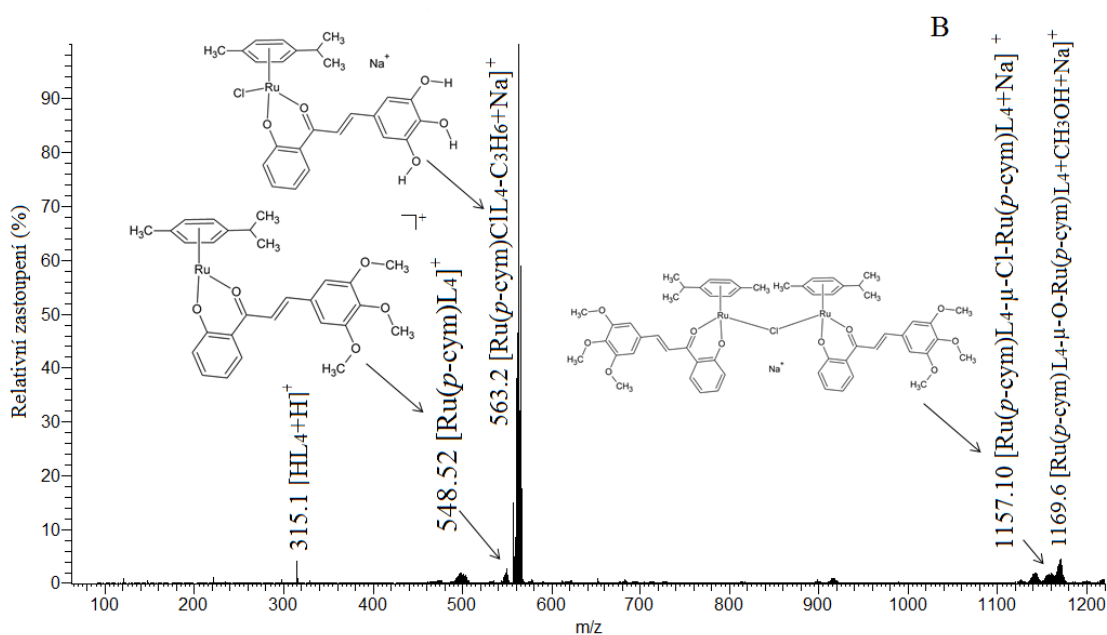
Ve spektru (B) komplexu 4 v methanolu lze identifikovat po jedné hodině následující typy iontových druhů: [HL₄+H]⁺ 315.1 m/z; [Ru(*p*-cym)L₄]⁺ 548.52 m/z; [Ru(*p*-cym)ClL₄-C₃H₆+Na]⁺ 563.2 m/z; [Ru(*p*-cym)L₄-μ-Cl-Ru(*p*-cym)L₄+Na]⁺ 1157,1 m/z; [(Ru(*p*-cym)L₄-μ-O-(Ru(*p*-cym)L₄+CH₃OH+Na)]⁺ 1169.6 m/z. Dále ve spektru (C) komplexu 4 v methanolu lze identifikovat po 96 hodinách další typy iontových druhů: [HL₄+H]⁺ 315.12 m/z; [Ru(*p*-cym)ClL₄-C₃H₆+Na]⁺ 563.10 m/z; [(Ru(*p*-cym)L₄-μ-(OH)₃-(Ru(*p*-cym)L₄+5CH₃OH+Na)]⁺ 756.00 m/z. Je zřejmé, že komplex obsahuje labilně vázaný chlorido- ligand, který podléhá hydrolyze v roztocích obsahujících vodu. V porovnání s oběma spektry (B a C) je patrné, že intenzivnější pík deprotonizovaného ligandu (315,1 m/z) po 96 hodinách naznačuje nestabilitu komplexu v methanolu.

V hmotnostní spektrum (D) směsi komplexu 4, L-cysteinu a L-glutathionu v methanol:voda (1:1) lze pozorovat několik píků, které potvrzují schopnost komplexu interagovat s biomolekulami obsahující síru: [Cys+H]⁺ 121.1 m/z; [GSH+Cys+2H₂O-2H]²⁺ 221.2 m/z; [HL₄+H]⁺ 315.1 m/z; [GSH+Na]⁺ 329.2 m/z; [Ru(*p*-cym)+Cys+H]⁺ 356.1 m/z;

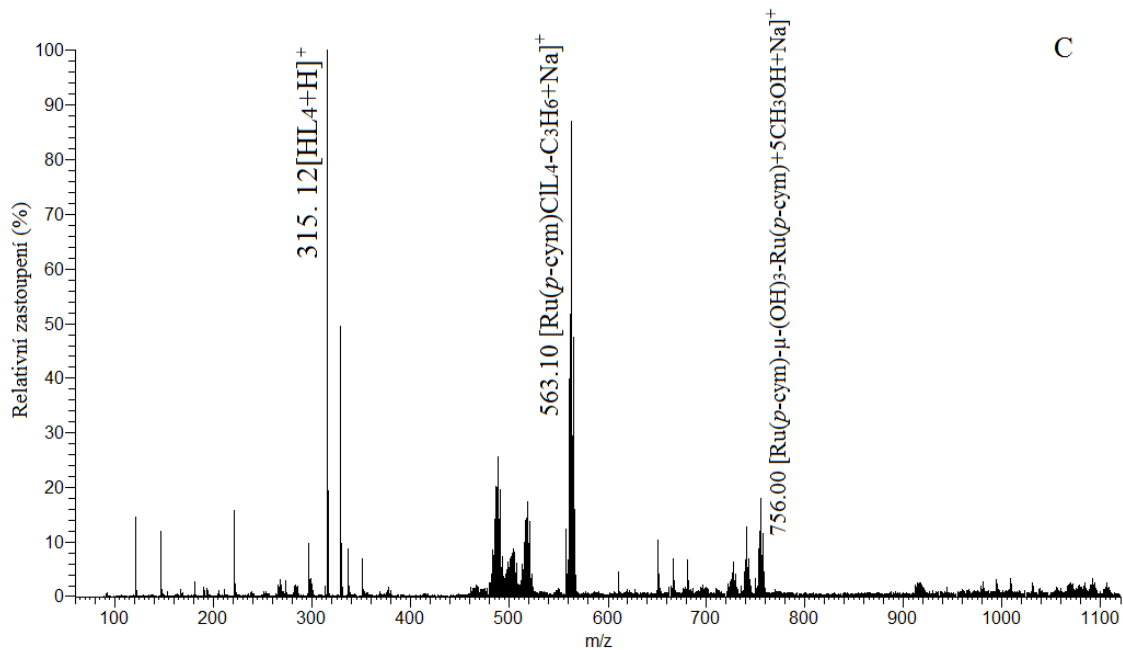
$[\text{Ru}(p\text{-cym)}+\text{Cys}+\text{Na}]^+$ 378.0 m/z; $[\text{GSH}+4\text{CH}_3\text{OH}+\text{Na}]^+$ 458.1 m/z; $[\text{Ru}(p\text{-cym})\text{L}_4+\text{Cys}+3\text{H}_2\text{O}]^+$ 667.1 m/z; $[\text{Ru}(p\text{-cym})\text{ClL}_4+\text{Cys}+2\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ 787.9 m/z; $[\text{Ru}(p\text{-cym})\text{ClL}_4-\text{C}_3\text{H}_6+\text{GSH}+\text{Na}]^+$ 870.8 m/z; $[\text{Ru}(p\text{-cym})\text{H}_2\text{OL}_4-\text{CH}_2+\text{GSH}+\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}]^+$ 892.7 m/z; $[\text{Ru}(p\text{-cym})\text{H}_2\text{OL}_4+\text{GSH}+\text{Cys}+\text{CH}_3\text{OH}+\text{H}]^+$ 1008.8 m/z. Tyto nové iontové druhy s biomolekulami naznačují možnou biologickou aktivitu látek.



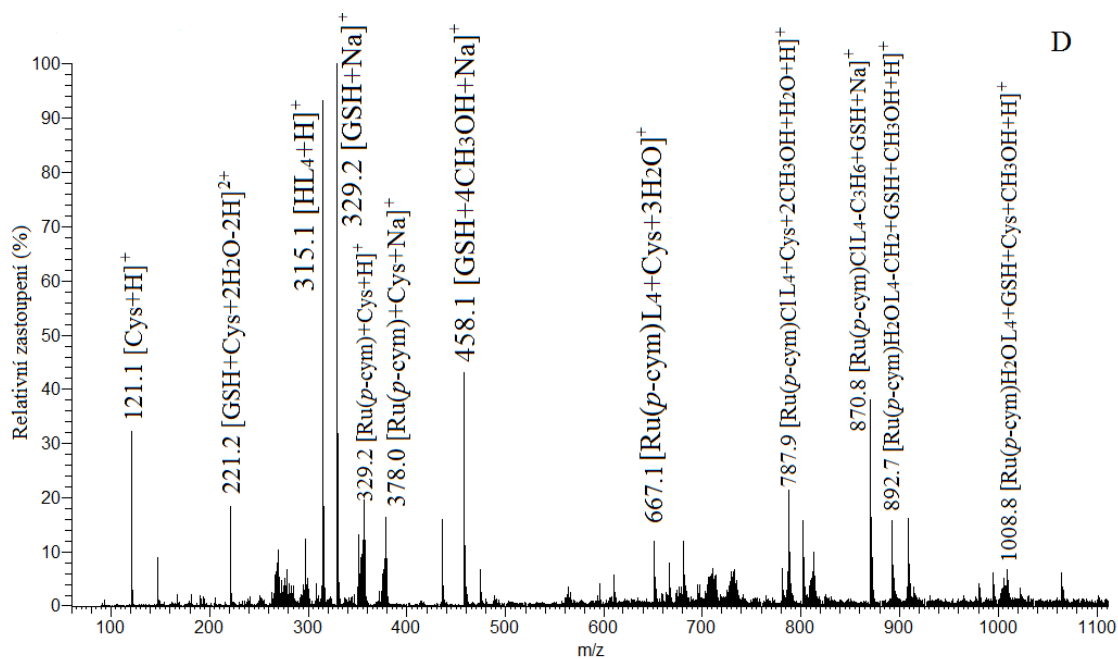
Obrázek 42(A): ESI+MS spektrum: L-cystein (290 μ M) a L-glutathion (6 μ M) ve vodě.



Obrázek 42(B): ESI+MS spektrum: komplex **4** (10 μ M) v methanolu po 1 hodině.



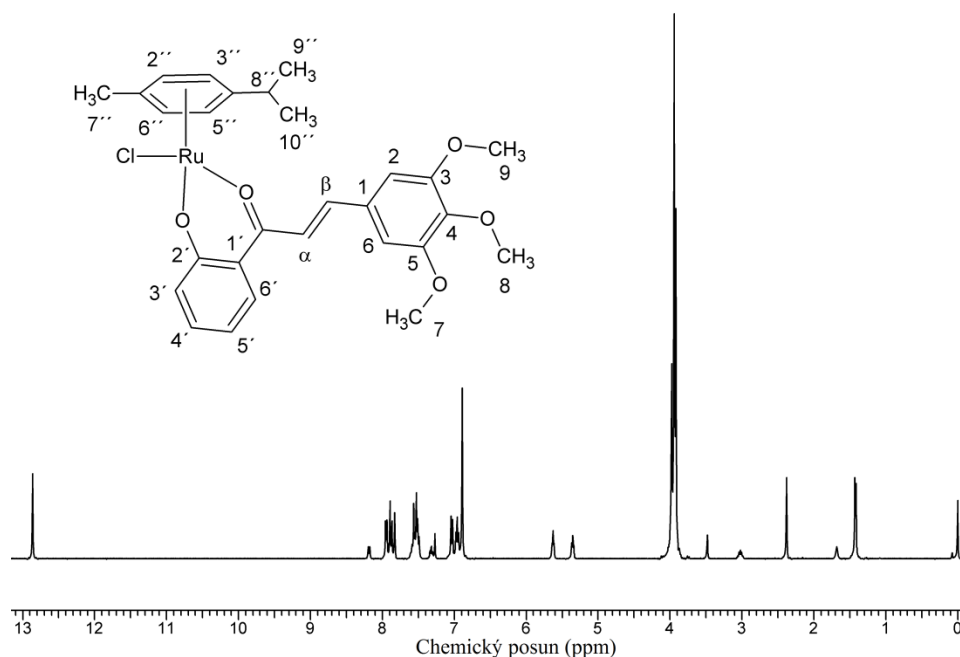
Obrázek 42(C): ESI+MS spektrum: komplex 4 (10 μM) v methanolu po 96 hodinách.



Obrázek 42(D): ESI+MS spektrum: směs komplexu 4 (10 μM) s L-cysteinem (290 μM) a L-glutathionem (6 μM) v methanol:voda (1:1).

4.6 NMR spektroskopie komplexu 4

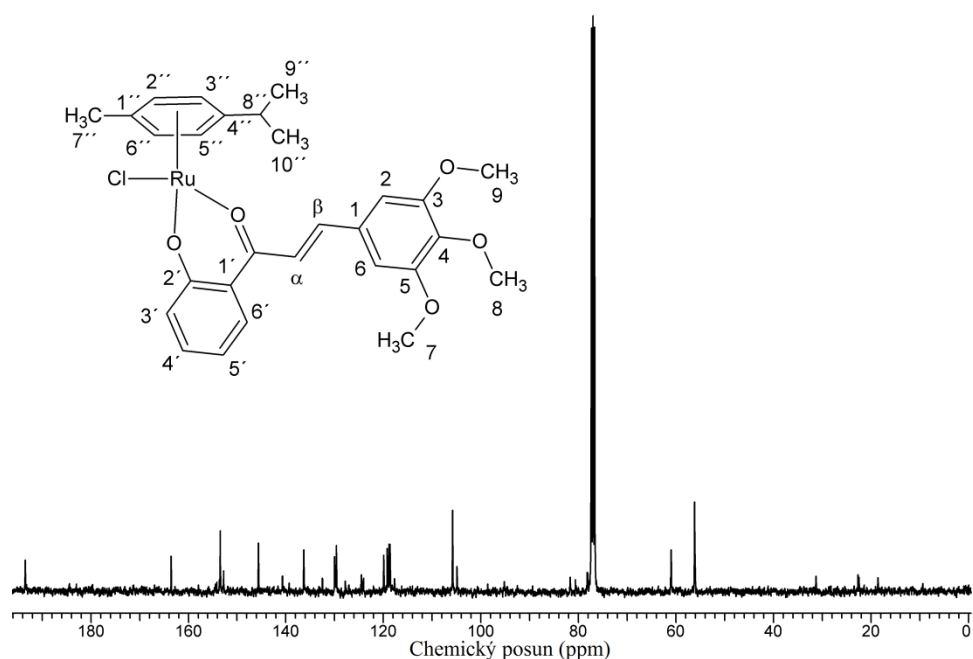
Byla naměřena $^1\text{H-NMR}$ a $^{13}\text{C-NMR}$ spektra komplexu **4** (obrázek 43, 44). V $^1\text{H-NMR}$ spektru lze pozorovat přítomnost chemických posunů jak ligandu **HL₄**, tak *p*-cymenu z komplexu **4**. Chemický posun, v $^1\text{H-NMR}$ spektru, 12,86 ppm odpovídá vodíku na 2'-OH skupině z ligandu. Navíc signály atomů vodíků *p*-cymenu vykazují malou intenzitu. Z čehož plyne, že se jedná o směs ligandu **HL₄** a komplexu **4**. Dle integrálních intenzit lze odhadovat, že komplex **4** je ve směsi oproti ligandu zastoupen z cca 30 %. Signály v oblasti od 4,00 ppm do 1,00 ppm odpovídají alifatickým vodíkům. Signály od 9,00 ppm do 5,00 ppm náleží aromatickým vodíkům. Dále byl ve spektru zaznamenán signál 7,27 ppm, který přísluší rozpouštědлу CDCl_3 . Oproti $^1\text{H-NMR}$ spektru ligandu **HL₄**, byly ve spektru komplexu **4** pozorovány chemické posuny 3,02 ppm; 2,38 ppm a 1,43 ppm odpovídající alifatickým vodíkům a 5,63 ppm a 5,35 ppm náležící aromatickým vodíkům na *p*-cymenu.



Obrázek 43: $^1\text{H-NMR}$ spektrum komplexu **4**.

Popis spektra komplexu **4**: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 12,86 (s, 1H, 2'-OH); 7,96 (m, 1H, 6'-H); 7,87 (m, 1H, β -H); 7,56 (m, 1H, α -H); 7,53 (m, 1H, 4'-H); 7,05 (d, 1H, 3'-H); 6,96 (t, 1H, 5'-H); 6,89 (s, 2H, 2-,6-H); 5,63 (m, 2H, 3"-,5"-H); 5,35 (m, 2H, 2"-,6"-H); 3,98-3,92 (m, 9H, 7-,8-,9-H); 3,94 (s, 6H, 8-,9-H); 3,02 (septet, 1H, 8"-H); 2,38 (s, 3H, 7"-H); 1,43 (m, 6H, 9",10"-H).

V ^{13}C -NMR spektru komplexu **4** byl nejvíce odstíněn karbonylový uhlík s největším chemickým posunem 193,46 ppm. Signál v oblasti 77,00 ppm odpovídá rozpouštědлу CDCl_3 , jedná se o triplet. Ve spektru byly pozorovány signály 61,01 ppm a 56,21 ppm, které přísluší uhlíkům na methoxy skupinách. Nejmenší chemické posuny 31,33 ppm; 22,71 ppm a 18,58 ppm měly alifatické uhlíky na *p*-cymenu. Navíc lze ve spektru pozorovat signály patřící volnému ligandu, což taktéž naznačuje, že se jedná o směs. Interpretace ^1H -NMR a ^{13}C -NMR spekter komplexu **4** byla provedena podle článků [95] a [117].



Obrázek 44: ^{13}C -NMR spektrum komplexu **4**.

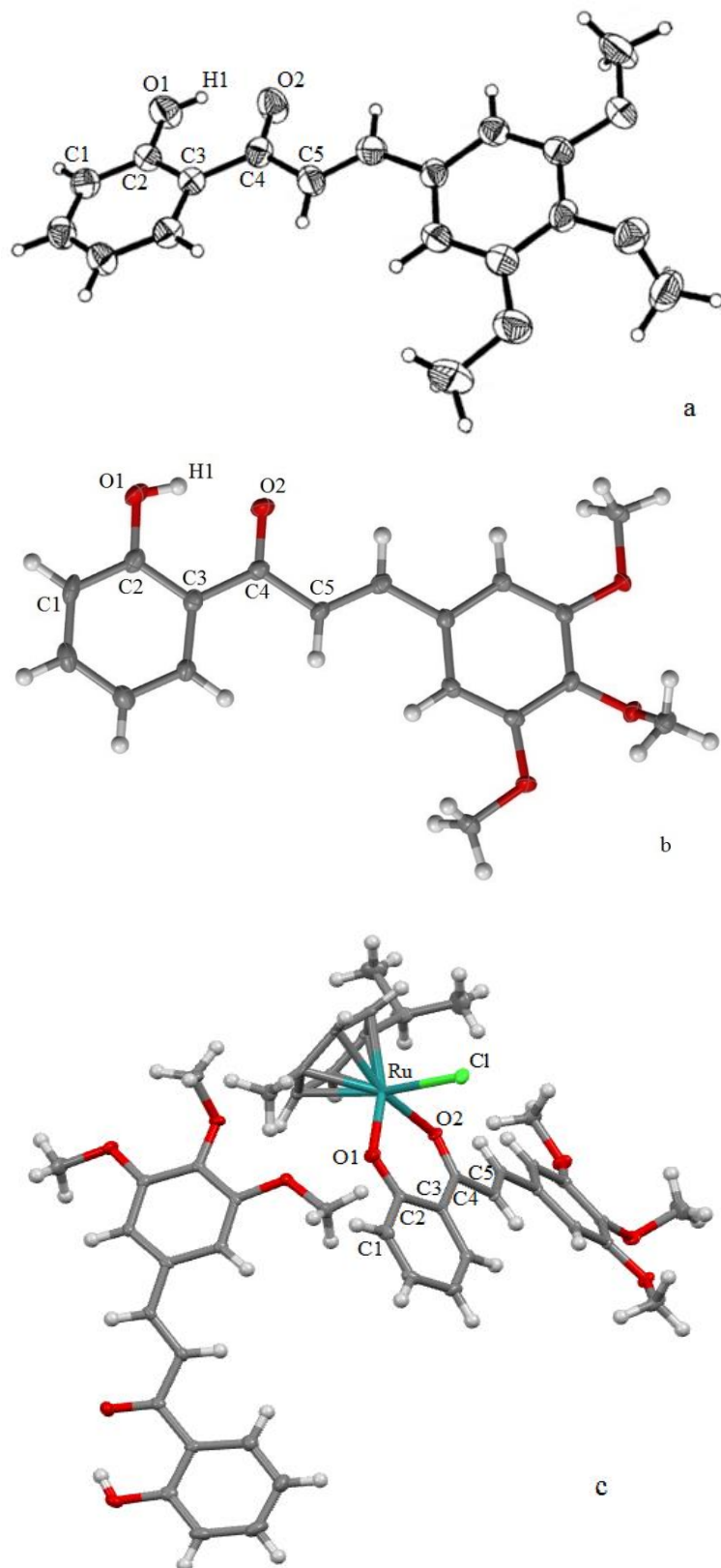
Popis spektra komplexu **4**: ^{13}C -NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm): δ 193,46 (s, 1C, C=O); 163,51 (s, 1C, C2); 153,44 (m, 2C, C3,C5); 145,6 (s, 1C, β -C); 140,68 (s, 1C, C4); 136,33 (s, 1C, C4'); 130,0 (s, 1C, C1); 129,59 (s, 1C, C6'); 119,93 (s, 1C, C1'); 119,18 (m, 1C, α -C); 118,77 (s, 1C, C5'); 118,59 (s, 1C, C3'); 117,7 (s, 1C, C8''); 105,82 (m, 2C, C2,C6); 104,8 (s, 1C, C1''); 95,20 (s, 1C, 4'-H); 80,65 (m, 2C, C2'',C6''); 78,19 (m, 2C, C3'',C5''); 61,01 (s, 1C, C8); 56,21 (s, 2C, C7,C9); 31,33 (s, 1C, C9''); 22,71 (d, 1C, C10''); 18,58 (s, 1C, C7'').

4.7 Monokrystalová rentgenová strukturní analýza

Z reakční směsi se podařilo získat kokrystal komplexu s ligandem (obrázek 45c) pomocí rekrystalizace sraženiny z acetonitrilu za laboratorní teploty. Po rekrystalizaci tohoto vzorku z horkého methanolu a chlazením na 8 °C vykrytalizoval samotný čistý ligand (obrázek 45b). Krystalografické parametry ligandu **HL₄** a komplexu **4** jsou uvedeny v tabulce 4. Velikosti vybraných vazebných délek a úhlů jsou v tabulkách 5 a 6. Jedná se o předběžná názorná data, která nejsou určena k publikaci. Vazebná délka ligandu se po komplexaci mezi C2-O1 zkrátila o 0,064 Å a mezi C4-O2 prodloužila o 0,017 Å. Vazebný úhel ligandu O1-C2-C3 se v komplexní části zvětšil o 5,03°, a taktéž se zvětšil úhel C3-C4-O2 o 4,72°. Molekulová struktura ligandu **HL₄** byla porovnána s již známou strukturou z článku [119] (obrázek 45a). Struktury byly řešeny v programu SHELX-2014 a Diamond, Version 4.

Tabulka 4: Krystalografické parametry ligandu **HL₄** a komplexu **4**

	Ligand HL₄	Komplex 4
Sumární vzorec	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	C ₄₆ H ₄₈ O ₅ RuCl
M _w [g·mol ⁻¹]	314,33	897,39
Barva krystalu	Žlutá	Tmavě červená
Teplota během měření	150 K	120 K
Vlnová délka RTG	0,71073 Å	0,71073 Å
Buňka	Monoklinická	Triklinická
Prostorová grupa	P-2 ₁	P-1
a [Å]	3,9970(5)	10,3314(5)
b [Å]	14,0180(16)	12,9540(7)
c [Å]	13,4745(19)	15,5039(9)
α [°]	90	93,883(3)
β [°]	98,456(4)	94,098(3)
γ [°]	90	100,530(3)
V [Å ³]	746,77(16)	2027,86(19)



Obrázek 45: (a) molekulová štruktúra srovnávacieho ligandu [119], (b) molekulová štruktúra **HL₄**, (c) molekulová štruktúra kokryštalizovaného **HL₄** a komplexu **4**.

Tabulka 5: Vybrané vazebné délky ligandu **HL₄** a komplexu **4**

	Délka vazeb HL₄ (Å)	Délka vazeb známé struktury (Å)	Komplex 4	Délka vazeb (Å)
C2-O1	1,337(1)	1,350(3)	C2-O1	1,286(1)
C4-O2	1,252(1)	1,239(3)	C4-O2	1,256(1)
C2-C3	1,411(1)	-	C2-C3	1,434(1)
C3-C4	1,464(2)	-	C3-C4	1,456(1)
C4-C5	1,468(1)	-	C4-C5	1,481(1)
O1-H1	0,845(1)	0,832(10)	-	-
H1···O2	1,733(2)	1,790(2)	-	-

Tabulka 6: Vybrané vazebné úhly ligandu **HL₄** a komplexu **4**

	Úhel vazeb HL₄ (°)	Úhel vazeb známé struktury (°)	Komplex 4	Úhel vazeb (°)
C1-C2-O1	117,91(7)	-	C1-C2-O1	115,65(6)
O1-C2-C3	121,80(7)	-	O1-C2-C3	126,83(6)
C3-C4-O2	119,94(7)	119,90(3)	C3-C4-O2	124,66(6)
O2-C4-C5	119,31(7)	120,40(3)	O2-C4-C5	116,13(6)
O1-H1···O2	154,83(13)	146,00(3)	C2-O1-Ru	128,96(6)
			C4-O2-Ru	130,05(6)
			O1-Ru-Cl	85,95(3)
			O2-Ru-Cl	84,45(3)

5. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat, na základě odborné literatury (databáze Scifinder, Web of Knowledge, Reaxys a vědeckých publikací dle doporučení školitele), literární rešerši zaměřenou na biologicky zajímavé deriváty 2'-hydroxychalkonů a komplexních sloučenin ruthenia se slibnými biologickými aktivitami. Dle prostudovaných publikací byla do této práce zahrnuta obecná charakterizace a příprava chalkonů a biologická aktivita celkem dvanácti derivátů chalkonů. Dále byla literární rešerše zaměřena na komplexní sloučeniny ruthenia (klasické i organokovové sloučeniny), které vykazují slibnou biologickou aktivitu vůči rakovinným buňkám. V práci bylo popsáno celkem dvacet dva komplexních sloučenin ruthenia. Dva vícejaderné komplexy Ru, tři komplexní sloučeniny Ru^{III} obsahující indazol a imidazol (NAMI-A, KP1019, NKP-1339), dva polosandwichové komplexy Ru s *N,N*- a jeden s *S,N*-bidentátními ligandy, RAPTA-C, šest komplexních sloučenin Ru s chalkony a sedm polosandwichových komplexů Ru s bidentátními *O,O*-ligandy. U všech těchto látek byla prokázána určitá cytotoxicita vůči řadě buněčných nádorových linií (např. A2780, A498, HCT-15, KB) a některé z nich jsou proto testovány v klinické praxi. Literární rešerše je především zaměřena na komplexní sloučeniny ruthenia s bidentátními *O,O*-donorovými ligandy, které byly převážně testovány vůči rakovinným buněčným liniím karcinomu vaječníku, plic, tlustého střeva a prsu.

Dalším cílem této práce bylo připravit organokovové sloučeniny ruthenia obecného složení [Ru(*p*-cym)(L)Cl], dle postupů uvedených v odborné literatuře, kde L jsou vybrané deprotonované deriváty 2'-hydroxychalkonů (bylo jich celkem pět), které byly použity společně s komplexem [Ru(*p*-cym)Cl₂]₂ jako výchozí látky pro syntézu organokovových sloučenin. Již od počátku se u produktů objevovaly problémy s čistotou, kdy výsledky elementární analýzy neodpovídaly požadovanému složení, a proto bylo nutné zavedené postupy z literatury podrobit řadě variací. Zejména výběrem co nejvhodnější báze, úpravou reakčních podmínek (teplota, reakční doba, použité rozpouštědlo, systém otevřený nebo s použitím inertních plynů apod.) a metodami rekrystalizace a purifikace produktů. Přes všechny tyto možnosti byla v pokročilejší fázi pokusů vyselektována jediná látka, na které byly intenzifikovány uvedené variace, zejména z důvodu celkové úspory chemikálií.

Posledním cílem bylo nasyntetizované sloučeniny charakterizovat vhodnými analytickými metodami. Na základě výsledků elementární analýzy byl vyselektován jeden

z produktů, který měl být s největší pravděpodobností chemickým individuem. Ten byl dále charakterizován pomocí IR spektroskopie, NMR spektroskopie, MS spektrometrie, monokrystalové rentgenové strukturní analýzy ve spolupráci se zaměstnanci Katedry anorganické chemie. Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že se nejedná o chemické individuum patřičného složení, ale o směs výchozího ligandu a komplexní sloučeniny očekávaného složení s podílem asi 30 % (na základě analýzy $^1\text{H-NMR}$ spektra).

Definitivním řešením uvedeného problému, které by ale vyžadovalo další časově náročné experimenty, by mohlo spočívat v rozdělení směsi s použitím vhodných preparativních chromatografických metod (např. flash chromatografie nebo preparativní HPLC).

6. SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

A2780	Lidská buněčná linie karcinomu vaječníku
A498	Lidská buněčná linie karcinomu ledvin
A549	Lidská buněčná linie karcinomu plic
AGS	Lidská buněčná linie karcinomu žaludku
BEL-7404	Lidská buněčná linie karcinomu jater
bpy	2,2'-bipyridin
COT	Cyklooktatetraenid(-2)
Cp	Cyklopentadienid(-1) (η^5 -C ₅ H ₅ ⁻)
Cp*	[Me ₅ Cp] (Me = methyl)
Cys	L-cystein
DCM	Dichlormethan
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
dppz	Dipyridofenazin (dipyrido[3,2- <i>a</i> :2',3'- <i>c</i>]fenazin)
en	Ethylendiamin
ESI+MS	Elektrosprejová ionizační hmotnostní spektrometrie
GSH	L-glutathion
HCT-8	Lidská buněčná linie ileocekálního adenokarcinomu
HCT116	Lidská buněčná linie karcinomu tlustého střeva
HCT-15	Střevní nádorová lidská buněčná linie
HDBH	<i>Ortho</i> -hydroxydibenzoylmethan
HEK293	Lidská buněčná linie karcinomu ledvin
HEK-293T	Zdravé embryonální buňky ledvin
HepG2	Lidská buněčná linie hepatocelulárního karcinomu
IC ₅₀	Koncentrace, způsobující pokles biologické aktivity na polovinu
IR	Infračervená (spektroskopie)
K-562	Chronická myeloidní leukémie
KB	Lidská buněčná linie karcinomu nosohltanu
KB-VCR	Multi-rezistentní varianta buněčné linie KB
LiHMDS	Bis(trimethylsilyl)amid lithný

MDA-MB-231	Lidská buněčná linie adenokarcinomu prsu
MRC-5	Lidská buněčná linie plicních fibroblastů
MS	Hmotnostní spektrometrie
NaHMDS	Bis(trimethylsilyl)amid sodný
NMO	<i>N</i> -methylnorfolin- <i>N</i> -oxid
NMR	Nukleární magnetická rezonance
NSAID	Nesteroidní protizánětlivé léky
<i>p</i> -cym	<i>para</i> -cymen
phen	1,10-fenanthrolin
R _f	Retenční faktor
RNA	Ribonukleová kyselina
ROS	Reaktivní formy kyslíku
SGC-7901	Lidská buněčná linie karcinomu žaludku
SW480	Lidská buněčná linie karcinomu tlustého střeva
TSC	Thiosemikarbazon
TLC	Tenkovrstvá chromatografie

7. CITOVANÁ LITERATURA

- [1] Rosenberg. B.: *Plat. Met. Rev.* 15, 42–51, **1971**.
- [2] Alderden R. A., Hall M. D., Hambley T. W.: *J. Chem. Educ.* 83, 728–734, **2006**.
- [3] Santin C., Pelle M., Gandin V., et al.: *Chem. Rev.* 114, 815–862, **2014**.
- [4] Zhang Ch. X., Lippard S. J.: *Curr. Opin. Chem. Biol* 7, 481–489, **2003**.
- [5] Bruijninx P.CA, Sadler P. J.: *Curr. Opin. Chem. Biol* 12, 197–206, **2008**.
- [6] Köpf-Maier P., Köpf H.: *Chem. Rev.* 87, 1137–1152, **1987**.
- [7] Barry N. P. E., Sadler P. J.: *Chem. Commun.* 49, 5106–5131, **2013**.
- [8] Motswainyana W. M., Ajibade P. A.: *Adv. Chem.* 2015, 1–21, **2015**.
- [9] Süss-Fink G.: *Dalton Trans.* 39, 1673–1688, **2010**.
- [10] Seršen S., Kljun J., Kryeziu K., et al.: *J. Med. Chem.* 58, 3984–3996, **2015**.
- [11] Clarke M. J.: *Coord. Chem. Rev.* 236, 209–233, **2003**.
- [12] Moucheron C.: *New J. Chem.* 33, 235–245, **2009**.
- [13] Habtemariam A., Melchart M., Fernandez R., et al.: *J. Med. Chem* 49, 6858–6868, **2006**.
- [14] Batovska D. I., Todorova I. T.: *Current Clinical Pharmacology* 5, 1–29, **2010**.
- [15] Křikavová R., Vančo J., Trávníček Z., Hutýra J., et al.: *J. Inorg. Biochem.* 163, 8–17, **2016**.
- [16] Silva A. M. S., Cavaleiro J. A. S., Tarrago G., Marzin C.: *New J. Chem.*, 329–335, **1999**.
- [17] Mallikarjun K. G.: *E-Journal of Chemistry* 2, 58–61, **2005**.
- [18] K. G. Karamunge, Vibhute Y. B.: *Int. J. Chem. Sci.* 10(1), 490–500, **2012**.
- [19] Kozłowski D., Trouillas P., Calliste C., et al.: *J. Phys. Chem. A* 111, 1138–1145, **2007**.
- [20] Øyvind M. Andersen, Kenneth R. Markham: *Flavonoids*, Taylor & Francis Group, **2006**.
- [21] Jovanovic S. V., Steenken S., et al.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2497–2504, **1996**.
- [22] Dimmock J. R., Elias D.W., Beazely M.A., Kandepu N.M.: *Curr. Med. Chem.* 6, 1125–49, **1999**.

- [23] Rangel L. P., Winter E., Gauthier Ch., et al.: *Drug Design, Development and Therapy* 7, 1043–1052, **2013**.
- [24] Vogel S., Heilmann J.: *J. Nat. Prod.* 71, 1237–1241, **2008**.
- [25] Valdameri G., Gauthier Ch., Terreux R., et al.: *J. Med. Chem.* 55, 3193–3200, **2012**.
- [26] Batovska D. I., Todorova I. T.: *Curr. Clin. Pharmacol.* 5, 1–29, **2010**.
- [27] Gutierrez R. M. P., Ramirez A. M., Saucedo J. V.: *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 9, 237–357, **2015**.
- [28] Singh P., Anand A., Kumar V.: *Eur. J. Med. Chem.* 85, 758–777, **2014**.
- [29] T.A. Dias, et al.: *Eur. J. Med. Chem.* 65, 500–510, **2013**.
- [30] Bandgar B. P., Gawand S. S., et al.: *Bioorg. Med. Chem.* 18, 1364–1370, **2010**.
- [31] Cabrera M., et al.: *Bioorg. Med. Chem.* 15, 3356–3367, **2007**.
- [32] Go M. L., Wu X., Liu X. L.: *Curr. Med. Chem.* 12, 483–499, **2005**.
- [33] Al-Masum M., Ng E., Wai M. Ch.: *Tetrahedron Lett.* 52, 1008–1010, **2011**.
- [34] Zhang N., Yang D., Wei W., Yuan L., et al.: *J. Org. Chem* 80, 3258–3263, **2015**.
- [35] Yadav V. R., Prasad S., Sung B., Aggarwal B. B.: *Int. Immunopharmacol.* 11, 295–309, **2011**.
- [36] Wang H-M., Zhang L., Yang Z-L., et al.: *Eur. J. Med. Chem.* 92, 439–448, **2015**.
- [37] Syam S., Abdelwahab S. I., et al.: *Molecules* 17, 6179–6195, **2012**.
- [38] Echeverria C., Santibanez J. F., Donoso-Tauda O., et al.: *Int. J. Mol. Sci* 10, 221–231, **2009**.
- [39] Niemeyer E. D., Brodbelt J. S.: *J. Nat. Prod.* 76, 1121–1132, **2013**.
- [40] Tatsuzaki J., Bastow K. F., Nakagawa-Goto K., et al.: *J. Nat. Prod.* 69, 1445–1449, **2006**.
- [41] Khupse R. S., Erhardt P. V.: *J. Nat. Prod.* 70, 1507–1509, **2007**.
- [42] Zanol P., Zavatti M.: *J. Ethnopharmacol.* 116, 383–396, **2008**.
- [43] Wen Z., Zhang Y., Wang X., et al.: *Eur. J. Med. Chem.* 133, 227–239, **2017**.
- [44] Zenger K., Dutta S., Wolff H., Genton M. G., Kraus B.: *Toxicol.* 336, 26–33, **2015**.
- [45] Dorn Ch., Kraus B., Motyl M., et al.: *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 205–213, **2010**.
- [46] Stevens J. F., Page J. E.: *Phytochemistry* 65, 1317–1330, **2004**.

- [47] Hsieh H.-K., Lee T.-H., Wang J.-P., et al.: *Pharmacol. Res.* 15, 39–46, **1998**.
- [48] Hsieh Ch.-T., Hsieh T.-J., et al.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22, 3912–3915, **2012**.
- [49] Miller S. A., Tebboth J. A., Tremaine J. F.: *J. Chem. Soc.*, 632–635, **1952**.
- [50] Pauson Peter L.: *J. Organomet. Chem.* 637–639, 3–6, **2001**.
- [51] Vogel G. C., Perry W. D.: *J. Chem. Educ.* 68, 607–608, **1991**.
- [52] Gasser G., Ott I., Metzler-Nolte N.: *J. Med. Chem.* 54, 3–25, **2011**.
- [53] Crabtree R. H.: *The Organometallic Chemistry of the Transition metals*, Wiley-Interscience, **2005**.
- [54] Almodares Z., Lucas S. J., Crossley B. D., et al.: *Inorg. Chem.* 53, 727–736, **2014**.
- [55] Peacock A. F. A., Parsons S., Sadler P. J.: *J. Am. Chem. Soc.* 129, 3348–3357, **2007**.
- [56] Laws D. R., Chong D., Nash K., Rheingold A. L., Geiger W. E.: *J. Am. Chem. Soc.* 130, 9859–9870, **2008**.
- [57] Splith K., Hu W., Schatzschneider U., et al.: *Bioconjugate Chem.* 21, 1288–1296, **2010**.
- [58] Glans L., Hu W., Jöst Ch., et al.: *Dalton Trans.* 41, 6443–6450, **2012**.
- [59] Selby J. D., Feliz M., Schwarz A. D., Clot E., Mountford P.: *Organometallics* 30, 2295–2307, **2011**.
- [60] Ignatov S. K., Rees N. H., Merkoulov A. A., et al.: *Chem. Eur. J.* 14, 296–310, **2008**.
- [61] Roberts K. A. E., Brown N. J., Roberts H. N., et al.: *Polyhedron* 86, 89–97, **2015**.
- [62] N. Kaltsoyannis: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 3727–3730, **1995**.
- [63] Tamm M., Kunst A.: *Organometallics* 24, 3163–3171, **2005**.
- [64] Green M. L. H., Ng D. K. P.: *Chem. Rev.* 95, 439–473, **1995**.
- [65] Matthias Tamm: *Chem. Commun.*, 3089–3100, **2008**.
- [66] Streitwieser A. Jr., Muller-Westerhoff U.: *J. Am. Chem. Soc.*, 90:26, 7364, **1968**.
- [67] Chadwick F. M., O'hare D. M.: *Organometallics* 33, 3768–3774, **2014**.
- [68] Nordell P., Lincoln P.: *J. Am. Chem. Soc.* 127, 9670–9671, **2005**.
- [69] Dobrowiak J. C.: *Metals in Medicine*, Wiley, **2009**.
- [70] Dubey A., Jeong Y. J., Jo J. H., et al.: *Organometallics* 34, 4507–4514, **2015**.
- [71] Chen H., Parkinson J. A., Parsons. S., et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 124, 3064–3082, **2002**.

- [72] Bugarcic T., Nováková O., Halámiková A., et al.: *J. Med. Chem* 51,5310–5319, **2008**.
- [73] Morris R. E., Aird R. E., Murdoch P. S., et al.: *J. Med. Chem.* 44, 3616–3621, **2001**.
- [74] Allardyce C. S., Dyson P. J., Ellis D. J., et al.: *Chem. Commun.*, 1396–1397, **2001**.
- [75] Su W., Qian Q., Li P., Lei X., et al.: *Inorg. Chem.* 52, 12440–12449, **2013**.
- [76] Ang W. H., Dyson P. J.: *Eur. J. Inorg. Chem.*, 4003–4018, **2006**.
- [77] Guerriero A., Oberhauser W.: *Inorg. Chem.* 56, 5514–5518, **2017**.
- [78] Nikolić S., Opsenica D. M., Filipović V., et al.: *Organometallics* 34, 3464–3473, **2015**.
- [79] Ghebreyessus K., Peralta A., Katdare M., et al.: *Inorg. Chim. Acta* 434, 239–251, **2015**.
- [80] Chen H., Parkinson J. A., Morris R. E., Sadler P. J.: *J. Am. Chem. Soc.* 125 (1), 173–186, **2003**.
- [81] Meggers E., Gokcumen G. E. A., et al.: *Dalton Trans.*, 10882–10888, **2009**.
- [82] Dougana S. J., Sadler P. J.: *CHIMIA Int. J. Chem.* 61, 704–715, **2007**.
- [83] Melchart M., Habtemariam A., Novakova O., et al.: *Inorg. Chem.* 46, 8950–8962, **2007**.
- [84] Bugarcic T., Habtemariam A., Stepankova J., et al.: *Inorg. Chem.* 47, 11470–11486, **2008**.
- [85] Alessio E.: *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, Wiley-VCH, **2012**.
- [86] Busto N., Valladolid J., Martínez-Alonso M., et al.: *Inorg. Chem.* 52, 9962–9974, **2013**.
- [87] Prajapati R., Dubey S. K., Gaur R., et al.: *Polyhedron* 29, 1055–1061, **2010**.
- [88] Kaveri M.V., Prabhakaran R., Karvembu R., Natarajan K.: *Spectrochim. Acta, Part A* 61, 2915–2918, **2005**.
- [89] Gaur R., Mishra L.: *RSC Adv.* 3, 12210–12219, **2013**.
- [90] Muthukumar M., Viswanathamurthi P., et al.: *J. Coord. Chem.* 63, 3833–3848, **2010**.
- [91] Mishra L., Sinha R.: *Indian J. Chem., Sec. A*, 39A, 1131–1139, **2000**.
- [92] Mishra L., Sinha R., Itokawa H., et al.: *Bioorg. Med. Chem.* 9, 1667–1671, **2001**.
- [93] Pitchaimani J., Raja M. R. Ch., Sujatha S.: *RSC Adv.* 6, 90982–90992, **2016**.
- [94] Kandioller W., Hartinger Ch. G., Nazarov A. A., et al.: *Organometallics* 28, 4249–4251, **2009**.
- [95] Kurzwernhart A., Kandioller W., et al.: *J. Med. Chem.* 55, 10512–10522, **2012**.
- [96] Oliphant C. M., Green G. M.: *Am. Fam. Physician.* 65(3), 455–465, **2002**.

- [97] Kljun J., Bytzek A. K., Kandioller W., et al.: *Organometallics* 30, 2506–2512, **2011**.
- [98] Pettinari R., Marchetti F., Condello F., et al.: *Organometallics* 33, 3709–3715, **2014**.
- [99] Li. P., Su W., Xiao L., et al.: *Appl. Organometal. Chem*, 1–8, **2016**.
- [100] Pettinari R., Petrini A., et. al.: *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1800–1806 **2017**.
- [101] Amzoiu D.C., Amzoiu E., Popescu F.: *Current Health Sciences Journal* 36, 101–105, **2010**.
- [102] Lombardino J. G., Wiseman E. H.: *Trends in Pharmacological Sciences* 2, 132–135, **1981**.
- [103] Aman F., Hanif M., Siddiqui W. A., et al.: *Organometallics* 33, 5546–5553, **2014**.
- [104] Wang Ch., Wang B., et al.: *J. Nat. Prod.* 66, 51–56, **2003**.
- [105] Biersack B., Diestel R., Jagusch C., et al.: *J. Inorg. Biochem.* 103, 72–76, **2009**.
- [106] Peres R., Santos G., et al.: *Arthritis Research & Therapy*, 1–12, **2017**.
- [107] Kandioller W., Balsano E., et al.: *Chem. Commun.* 49, 3348–3350, **2013**.
- [108] Mendoza-Ferri M. G., Hartinger Ch. G., et al.: *J. Med. Chem.* 52, 916–925, **2009**.
- [109] Jianzhang W., Jianling L., Yuepiao C., et al.: *J. Med. Chem.* 54, 8110–8123, **2011**.
- [110] Choudhary A. N., Juyal V.: *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 3, 125–128, **2011**.
- [111] Tönnemann J., Risse J., Grote Z., et al.: *Eur. J. Inorg. Chem.*, 4558–4562, **2013**.
- [112] Nongbri S. L., Das B., Rao K. M.: *J. Organomet. Chem.* 694, 3881–3891, **2009**.
- [113] Teshima T., Takeishi M., Arai T.: *New J. Chem.* 33, 1393–1401, **2009**.
- [114] Barros A. I. R. N. A., Silva A. M. S., et al.: *Tetrahedron* 60, 6513–6521, **2004**.
- [115] Mewett K. N., Fernandez S. P., et al.: *Bioorg. Med. Chem.* 17, 7156–7173, **2009**.
- [116] Krohn K., Steingrover K., Rao M. S.: *Phytochemistry* 61, 931–936, **2002**.
- [117] Hwang D., Hyun J., Jo G.: *Magn.: Reson. Chem.* 49, 41–45, **2011**.
- [118] Prasad Y. R., Ra A. L., Rambabu R.: *E-Journal of Chemistry* 5, 461–466, **2008**.
- [119] Wu. H, Xu Z., et al.: *Acta Cryst.* 61, 1434–1435, **2005**.