



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**PERIFERNÍ FUNKCIONALIZACE POLYDENTÁTNÍCH
SCHIFFOVÝCH LIGANDŮ PRO PŘÍPRAVU BIOLOGICKY
AKTIVNÍCH KOMPLEXŮ FE(III) A CO(III)**

PERIPHERAL FUNCTIONALIZATION OF POLYDENTATE SCHIFF LIGANDS FOR PREPARATION OF
BIOLOGICALLY ACTIVE FE(III) AND CO(III) COMPLEXES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Lucie Kotásková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ivan Nemeč, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1487/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Lucie Kotásková**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Ivan Nemeč, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Periferní funkcionalizace polydentátních Schiffových ligandů pro přípravu biologicky aktivních komplexů Fe(III) a Co(III)

Zadání diplomové práce:

1. Literární rešerše na téma bioaktivních koordinačních sloučenin kobaltitých, železitých a jejich hetero–bimetalických sloučenin.
2. Příprava 3–substituovaných derivátů salicylaldehydu, kde substituující skupinou je radikál anebo organická část schopná koordinace.
3. Příprava odvozených polydentátních Schiffových bazí a jejich mono– a hetero–bimetalických komplexů.
4. Charakterizace všech připravených látek dostupnými analytickými metodami.

Termín odevzdání diplomové práce: 29.5.2020:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Lucie Kotásková
student(ka)

Ing. Ivan Nemeč, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá přípravou periferně funkcionalizovanými polydentátními Schiffovými ligandy, vhodnými pro koordinaci kovů, jakými jsou Fe(III) nebo Co(III). Sloučeniny, vzniklé touto funkcionalizací za použití organické molekuly nebo stabilního organického radikálu, poskytují koordinační místo pro další centrální atom. Sloučeniny byly syntetizovány za účelem jejich potenciální biologické aktivity. Byla připravena série organických ligandů, které byly dále podrobeny koordinačním reakcím s vybranými přechodnými kovy. Připravené sloučeniny byly charakterizovány nukleární magnetickou rezonancí, hmotnostní spektrometrií, elektronovou paramagnetickou rezonancí a rentgenovou strukturní analýzou.

Abstract

Diploma thesis deals with preparation of peripherally functionalized polydentate Schiff ligands, suitable for metal coordination, such as Fe(III) or Co(III). The compounds, formed by this functionalization using organic molecule or stable organic radical, provide coordination site for another central atom. The compounds were synthesized for their potential biological activity. The organic ligands series was prepared, and these ligands were submitted to coordination reactions with selected transition metals. The prepared compounds were characterized by nuclear magnetic resonance, mass spectrometry, electron paramagnetic resonance and X-ray structure analysis.

Klíčová slova

Fe(III) a Co(III) komplexy, Schiffovy ligandy, organické radikály, biologická aktivita.

Keywords

Fe(III) and Co(III) complexes, Schiff ligands, organic radicals, biological activity.

KOTÁSKOVÁ, L. *Periferní funkcionalizace polydentálních Schiffových ligandů pro přípravu biologicky aktivních komplexů Fe(III) a Co(III)*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2020. 100 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Ivan Nemeč, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

Lucie Kotásková

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu diplomové práce Ing. Ivanu Nemcovi, Ph.D. za odborné vedení, rady a připomínky a také za interpretaci molekulových struktur. Ráda bych poděkovala Ing. Pawlu Jewulovi, Ph.D. za rady a pomoc při organických syntézách a rovněž za provedení NMR spektroskopie. Také bych chtěla poděkovat doc. Petrovi Szolcsányimu, Ph.D. a Ing. Dárii Nitrayové za odborné vedení při syntéze radikálových sloučenin, dále pak doc. Ing. Jánú Moncol'ovi, Ph.D. za provedení rentgenové strukturní analýzy a Dr Oleksii Lagutovi za fitování a interpretaci EPR dat.

OBSAH

1 ÚVOD.....	7
2 TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1 Biologické systémy v lidském těle obsahující železo či kobalt	8
2.1.1 Role železa v biologických systémech lidského těla	8
2.1.1.1 Hemové proteiny	8
2.1.1.2 Proteiny s Fe/S centry	13
2.1.2 Role kobaltu v biologických systémech lidského těla.....	14
2.1.2.1 Vitamín B ₁₂	15
2.2 Bioaktivní komplexní sloučeniny Fe ^{III} a Co ^{III}	16
2.2.1 Současný stav výzkumu bioaktivních jednojaderných Fe ^{III} komplexů	17
2.2.1.1 Ferroceniové soli	17
2.2.1.2 Fe ^{III} komplexy s dithiokarbazátovým ligandem	20
2.2.1.3 Fotosenzibilizátory pro fotodynamickou terapii	21
2.2.2 Současný stav výzkumu bioaktivních jednojaderných Co ^{III} komplexů.....	23
2.2.2.1 Co ^{III} komplexy s dithiokarbazátovým ligandem	23
2.2.2.2 Co ^{III} komplexy se semikarbazonovým ligandem	24
2.2.2.3 Co ^{III} komplexy s terpyridinovým ligandem	25
2.2.2.4 Co ^{III} komplexy se Schiffovou bází	26
2.2.3 Co ^{III} komplexy – systémy dopravující léčivo	27
2.2.4 Heterobimetalické komplexní sloučeniny	31
2.2.4.1 Komplexní sloučeniny Fe ^{III} -Co ^{III}	31
2.2.4.2 Komplexní sloučeniny Fe ^{III} a dalšího kovu.....	32
2.2.4.3 Komplexní sloučeniny Co ^{III} a dalšího kovu	33
2.3 Radikálová chemie	34
2.3.1 Bioaktivní radikálové sloučeniny	35
2.3.2 Elektronová paramagnetická rezonance	36
2.4 Shrnutí teoretické části vzhledem k cílům diplomové práce.....	38
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	39
3.1 Použité chemikálie a přístroje	39
3.1.1 Použité chemikálie.....	39
3.1.2 Použité instrumentální metody a přístroje	40
3.2 Příprava sloučenin	41
3.2.1 Příprava prekurzorů	41

3.2.2	Příprava látek pro substituci prekurzorů.....	42
3.2.3	Sušení rozpouštědel	43
3.2.4	Příprava ligandů – periferní funkcionalizace aldehydů	44
3.2.4.1	Pz-sal	44
3.2.4.2	Benzim-sal.....	45
3.2.4.3	Bpyma-sal.....	45
3.2.4.4	Bpya-sal.....	46
3.2.4.5	Pybzim-sal	46
3.2.4.6	Py ₂ dap-sal ₂	48
3.2.5	Příprava ligandů – substituce radikálem.....	48
3.2.5.1	TEMPO-sal ₂	49
3.2.5.2	TEMPO ₂ -sal	49
3.2.5.3	PROXYL-sal ₂	50
3.2.5.4	PROXYL-TEMPO-sal	51
3.2.6	Příprava komplexních sloučenin	51
3.2.6.1	Komplexy Schiffovýchází odvozených od symetrických aminů	52
3.2.6.2	Komplexy Schiffovýchází odvozených od asymetrických aminů ..	56
3.2.6.3	Další komplexní sloučeniny	57
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	58
4.1	Syntéza	59
4.2	Charakterizace	64
4.2.1	¹ H NMR spektroskopie.....	64
4.2.2	Charakterizace pomocí LC-MS a MS.....	70
4.2.3	EPR spektroskopie.....	74
4.2.4	Rentgenostrukturní analýza	75
5	ZÁVĚR.....	79
6	POUŽITÁ LITERATURA	81
7	SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	98

1 ÚVOD

Léčba nádorových onemocnění je neustále dynamicky se vyvíjející oblastí medicíny. Jedním ze způsobů léčby je chemoterapie, která spočívá v podávání chemické látky do organismu. Vpravují se tzv. cytostatika – látky ničící neregulovatelně rostoucí a dělící se buňky (nádory) [1]. Mnohá cytostatika však vykazují různé nežádoucí a vedlejší účinky, s časem se stávají rezistentními vůči nádorovým buňkám či nedokážou tumor zcela zničit, jen pouze zastavit nebo zmírnit jeho bujení [2]. Z těchto důvodů se stále vyvíjejí nová cytostatika za účelem bezpečnější a účinnější terapie. S objevem účinků cisplatin v 2. polovině 20. století [3] se předpokládalo, že komplexní sloučeniny s centrálním atomem přechodného kovu se mohou stát účinnými léčivy při léčbě onkologických onemocnění. Již několik desítek let se vyvíjejí a testují nejrozličnější sloučeniny, kromě již zmiňované cisplatin (a jejích derivátů – oxaliplatin, karboplatin, nedaplatin) [4] to jsou sloučeniny ruthenia NAMI-A a KP1010/1339 [5, 6], titanu [6], železa [7] či dalších platinových kovů [8], avšak také sloučeniny kobaltu, vykazující antibakteriální a antivirotické účinky [9], zlata, z nichž nejznámějším zástupcem je auranofin, používaný při léčbě revmatoidní artritidy [10] a mnohé další.

Teoretická část diplomové práce se v první řadě zabývá biologickými systémy obsahující centrální atom železa nebo kobaltu, běžně se vyskytující v lidském organismu. Dále jsou předmětem zájmu vybrané komplexní sloučeniny železa a kobaltu a jejich biologické účinky [7, 9]. Některé z těchto sloučenin nevykazují jen protinádorové účinky, ale také antibakteriální, antimykotické, antivirotické, antianemické či antimalarické účinky [11]. Rovněž jsou diskutovány jejich heterobimetalické analogy, u kterých obecně byla prokázána zvýšená biologická aktivita díky kooperaci dvou odlišných kovů a také lépe odolávají buněčné rezistenci, a to právě díky kombinaci odlišných mechanismů účinků každého z kovů [12]. Nakonec jsou v rámci teoretické části komentovány vybrané radikálové sloučeniny (stabilní organické radikály) a jejich biologické účinky [13, 14].

Cílem experimentální části je příprava ligandů vycházejících z chlormethylovaného salicylaldehydového prekurzoru, který je periferně substituován vybranými aminy (organickými molekulami nebo radikálovými sloučeninami). Následně tyto prekurzory byly převedeny reakcí s aminy na polydentátní Schiffovy báze a tyto byly použity ke komplexním reakcím s vybranými přechodnými kovy. Všechny připravené sloučeniny byly charakterizovány dostupnými analytickými metodami (NMR, LC-MS, EPR, rentgenostrukturní analýza).

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Biologické systémy v lidském těle obsahující železo či kobalt

V lidském těle se nachází mnoho proteinových komplexů, jejichž prostetické skupiny obsahují centrální kov. Významnou roli hrají především proteiny s centrálním atomem železa, přičemž mezi nejznámější zástupce patří hem obsahující proteiny, které díky redoxně aktivního kovového centra jsou schopny přenosu elektronů, nezbytného při krátkodobých přeměnách energie v organismu. Další velmi důležitou funkcí je vycytávání, přenos a skladování kyslíku. Společně s vitamínem B₁₂ (kde centrálním atomem je kobalt – viz kapitola 2.1.2) jsou proteinové komplexy železa jedny z klíčových metabolitů a za jejich studium bylo uděleno několik Nobelových cen:

- H. Fischer: studie hemových systémů (1930),
- J. C. Kendrew, M. F. Perutz: RTG struktura myoglobinu a hemoglobinu (1962),
- D. Crowfoot-Hodgkinová: RTG struktura vitamínu B₁₂ a derivátů (1964),
- R. B. Woodward: syntéza přírodních produktů zahrnujících vitamín B₁₂ a chlorofyl (1965),
- J. Deisenhofer, R. Huber, H. Michel: RTG struktura hem a chlorofyl obsahujících fotosyntetických center bakterií (1988) [15].

2.1.1 Role železa v biologických systémech lidského těla

Železo je důležitým mikrobiogenním prvkem a v lidském těle dospělého jedince se vyskytuje v množství 3–4 g. Doporučená denní dávka je asi 8–18 mg pro dospělého člověka, u dítěte pak 0,27–11 mg. Nejvyšší zastoupení železa obsahují potraviny jako jsou hovězí maso, vnitřnosti, luštěniny, listová zelenina, houby či jahody. Při nedostatku železa dochází k poruchám krevtvorby a tím ke vzniku anémie či poruchám imunitního systému [15].

Mezi nejznámější zástupce železo obsahujících systémů patří bezesporu hemoglobin, myoglobin či cytochromy, ale rovněž zde zahrnujeme i proteiny neobsahující hem, a to ferritin, Fe/S proteiny a mnohé další. Přičemž nejvyšší procentuální zastoupení železa nacházíme v hemoglobinu, ferritinu, méně pak v myoglobinu a enzymech (cytochromy, peroxidázy apod.) [16].

2.1.1.1 Hemové proteiny

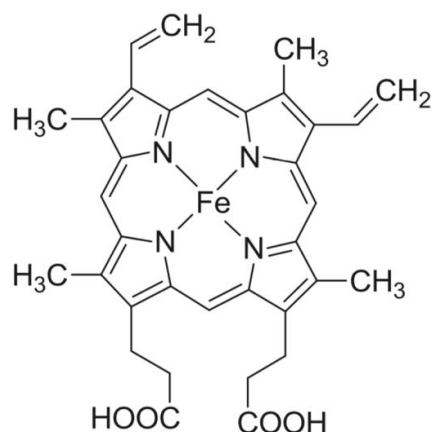
Jak již bylo zmíněno, nejvýznamnějšími zástupci jsou hemové proteiny. Hemy obsahují tetrapyrrolový makrocyklus s N-donorovými atomy, který je po deprotonizaci schopen vázat kovový ion a poskytuje tak vhodné koordinační místo (nejen) pro atom železa, ovšem je nutno připomenout, že atom železa vystupuje nejčastěji v oxidačních stavech +II nebo +III a zároveň se může nacházet ve vysokospinovém (HS) či nízkospinovém stavu (LS). Tyto stavy lze pozorovat u centrálních atomů s elektronovou konfigurací d^4-d^7 , u těchto atomů je možné dvojí uspořádání d-elektronů. V oktaedrickém krystalovém poli se orbitály štěpí na dvě hladiny – t_{2g} a e_g . Způsob uspořádání elektronů v orbitalech určuje poměr síly ligandového pole (Δ , energie nutná k překonání energetického rozdílu mezi oběma hladinami) a párovací energie π . Pokud $\Delta > \pi$, je stabilnější LS, pokud $\Delta < \pi$, je stabilnější HS. HS a LS stavy pozorujeme i u Fe(III) a Fe(II). V oktaedrickém nízkospinovém uspořádání budou d-elektrony Fe(III) uspořádány do

hladin t_{2g}^5 a e_g^0 a ve vysokospinovém uspořádání t_{2g}^3 a e_g^2 . Tedy počet nepárových elektronů pro LS je jeden, pro HS pět, z toho plyne, že spinová čísla mají hodnoty $S = 1/2$ pro LS a $S = 5/2$. Pro Fe(II) v oktaedrickém nízkospinovém uspořádání jsou d-elektrony uspořádány do hladin t_{2g}^6 a e_g^0 , zatímco ve vysokospinovém uspořádání t_{2g}^4 a e_g^2 . Počet nepárových elektronů pak pro LS je nula ($S = 0$) a pro HS jsou čtyři ($S = 2$) [17]. Tyto faktory ovlivňují velikost iontového poloměru železa, a proto nejsou všechny jeho formy vhodné pro koordinaci tetrapyrrolového cyklu (viz Tabulka 1).

Tabulka 1: Velikosti iontových poloměrů kationtů železa a jejich možnost začlenění do tetrapyrrolového cyklu (převzato a upraveno z [15])

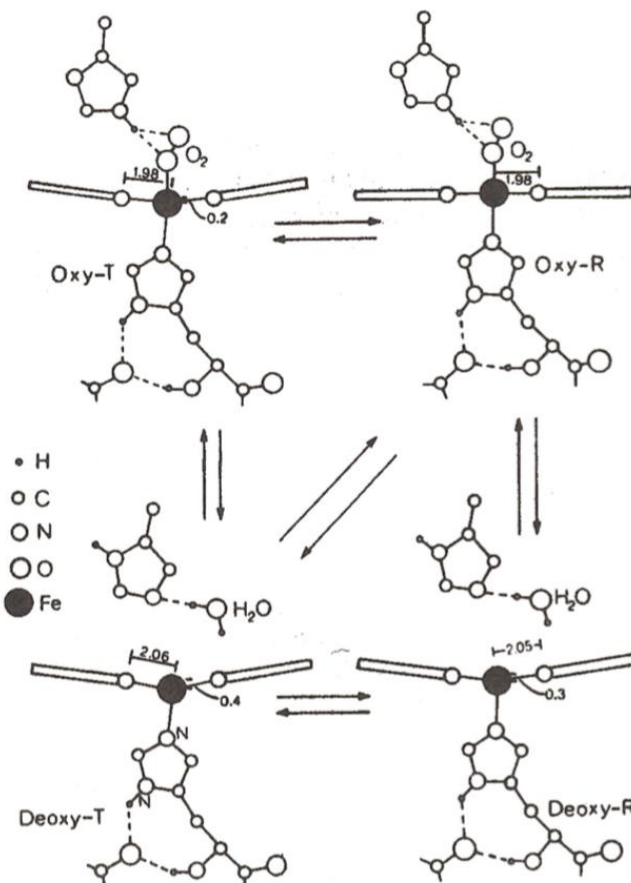
	Konfigurace	Iontový poloměr [pm]	Vhodnost pro koordinaci
Fe ²⁺	vysokospinová	78	příliš velký
Fe ²⁺	nízkospinová	61	vhodný
Fe ³⁺	vysokospinová	65	vhodný
Fe ³⁺	nízkospinová	55	malý

Bezesporu nejvýznamnějším a snad také nejznámějším hemovým proteinem je **hemoglobin** (Hb). Jedná se o transportní metaloprotein a právě v tomto proteinu se nachází nejvyšší podíl železa v těle (až 70 %). Ve své struktuře disponuje čtyřmi podjednotkami – 2×141 a 2×146 aminokyselin (globin), jedná se tedy o tetramer s celkovou molekulovou hmotností 64,5 kDa. Dva α - a dva β -peptidové řetězce formují kvartérní strukturu Hb, přičemž deoxyhemový systém není planární, avšak mírně prohnutý kvůli interakcím s okolním proteinem. Molekula obsahuje prostetickou skupinu – hem (Obrázek 1) a na každém atomu železa dvě axiální koordinační místa, přičemž jedno je vždy obsazeno proximálním histidinem a druhé je volné pro molekulu kyslíku. Vzhledem k přítomnosti tetrapyrrolového makrocyklu, který obsahuje systém konjugovaných dvojných vazeb, dokáže tato molekula absorbovat světlo z viditelné oblasti spektra. Chybějící absorbované oblasti vlnových délek viditelného světla odpovídají komplementární barvě, v tomto případě se jedná o barvu červenou. Deoxyhemoglobin má tmavě červenou barvu, oxyhemoglobin světle červenou [15, 16, 18].



Obrázek 1: Struktura hemové jednotky – prostetická skupina hemoglobinu [15]

Funkcí hemoglobinu je absorpce kyslíku v plicích a přenos krevním řečištěm do celého organismu. Sloučenina je tetramerem, tedy obsahuje čtyři hemová centra, na která jsou navázány atomy kyslíku vazbou o nepříliš vysoké vazebné energii. Efektivní přenos kyslíku je zajištěn kooperativním systémem vazby čtyř molekul kyslíku, tedy při navázání další molekuly kyslíku vzrůstá afinita zatím neobsazených hemových skupin ke kyslíku. Tyto změny jsou spuštěny koordinací kyslíku na hemové jednotky. Každý ze čtyř proteinových řetězců (spojené k sobě elektrostatickými interakcemi) vykazuje geometrickou změnu své struktury, jakmile je kyslík koordinován. Tato geometrická transformace se přenáší na další jednotky a vede ke konformační změně kvartérní struktury. Existují dva modely: „napnutá“ (tense, T, která vykazuje nízkou afinitu ke kyslíku) a „volná“ (relaxed, R, vykazující vysokou afinitu ke kyslíku) a tyto modely popisují allosterické chování tetramerního proteinu. Z toho vyplývá, že poslední hemová jednotka má přibližně 300× vyšší afinitu než první. Hb vykazuje sigmoidální saturační křivku (Obrázek 3) a to je způsobeno interakcemi mezi čtyřmi hemovými jednotkami.



Obrázek 2: T a R formy hemoglobin a jejich rozdíly v prostorovém uspořádání [15]

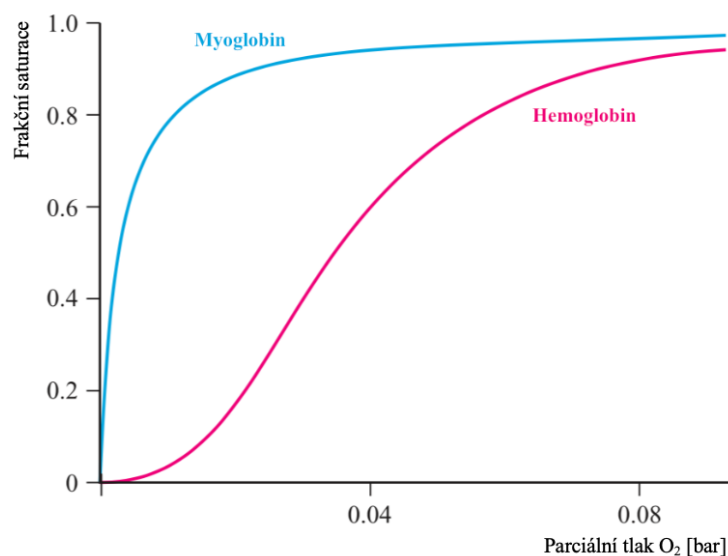
Hemový systém může existovat ve čtyřech odlišných stavech, a to deoxy nebo oxy formě a dále pak v T nebo R formě. T forma zejména charakterizuje sterickou interakcí proximálního histidinu s porfyrinovým kruhem, a proto upřednostňuje ohýbání porfyrinu, což můžeme pozorovat u neplanární deoxy formy. Počáteční navázání kyslíku na význačně vypouklou T formu vede k ne zcela kompletně planární oxy T formě a zároveň dochází ke zmenšení vzdálenosti mezi železem a dusíkem porfyrinu, dříve, než začne relaxace na planární oxy R

formu s nataženou Fe–N vazbou. Uvolnění kyslíku z oxy R formy vede k prohnutí porfyrinového cyklu (deoxy R forma). Zbytky distální aminokyseliny jsou ovlivněny těmito geometrickými změnami, a díky těmto změnám mohou ovlivnit interakce v Hb. Jakmile je R forma kompletně nasycena kyslíkem, vykazuje mnohem kompaktnější kvartérní strukturu než T forma a vyšší stupeň hydratace. Obrázek 2 naznačuje T a R formy oxy a deoxy formy hemoglobinu a také znázorňuje vazebné délky Fe–N pro jednotlivé stavy. Změny ve vazebných délkách souvisí se spinovými stavy (viz dále), vazebná délka se zkracuje při přechodu z vysokospinového do nízkospinového stavu. Souvisí to s obsazením orbitalu e_g dvěma nepárovými elektrony (pro Fe^{II} ve vysokospinovém stavu), zatímco v nízkospinovém stavu není tento orbital obsazen [15, 19].

Za zmínku také stojí jev, kdy sigmoidální saturační křivku ovlivňuje pH, nazýváme ho Bohrovým efektem. Je založen na faktu, že navázání CO_2 na terminální aminové skupiny hemoglobinu snižuje schopnost vázat kyslík, a tak je oxyhemoglobin silnější Lewisova kyselina než deoxyhemoglobin. Proto se Hb chová jako transportní protein pro kyslík a CO_2 [18].

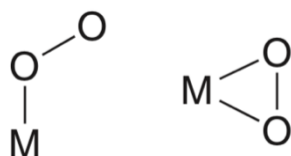
Kyslík vázaný na Hb vystupuje jako π -akceptorový ligand, tedy i ostatní ligandy tohoto typu se mohou na železo vázat. Mezi ně patří oxid uhelnatý, přičemž vzniká tzv. karboxyhemoglobin, a právě toto je principem toxicity při expozici tomuto plynu. Jiným příkladem může být kyanidový anion, ovšem tento ligand upřednostňuje vyšší oxidační stav železa, než v jakém se železo vyskytuje v deoxy formě. Proto se váže na Fe^{III} v cytochromech [18].

Hemovým proteinem fungujícím na stejném principu jako Hb, avšak strukturně odlišným je **myoglobin** (Mb). V těle připadá asi 6 % železa na molekuly Mb a na rozdíl od Hb, váže a přenáší kyslík ve svalových buňkách. Jedná se o monomer a je tedy schopen přenášet pouze jedinou molekulu kyslíku, ale jeho afinita ke kyslíku je mnohem vyšší než afinita Hb. Pro transport kyslíku mimo svalové buňky je však upřednostňován Hb, protože jeho afinita ke kyslíku je nízká při nízkém parciálním tlaku kyslíku a vysoká při vysokém parciálním tlaku kyslíku, což znázorňuje Obrázek 3 [20].



Obrázek 3: Saturační křivky pro hemoglobin a myoglobin (upraveno z [16])

Důležitý je také popis oxidačních a spinových stavů železa před a po koordinaci kyslíku. V deoxy formě Hb i Mb se nachází vysokospinový Fe^{II} se čtyřmi nepárovými elektrony ($S = 2$), sudý počet nepárových elektronů podporuje nespínově inhibované navázání kyslíku v tripletovém stavu ($S = 1$). Oxy forma je diamagnetická ($S = 0$), kde kyslík je koordinován ve formě „end-on“ a není v lineárním uspořádání, a to kvůli volnému elektronovému páru na koordinujícím se atomu kyslíku. Pro vratně navázaný kyslík je tato koordinace mnohem vhodnější (aby došlo k rychlé výměně), než „side-on“ koordinace (Obrázek 4).



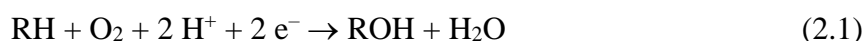
Obrázek 4: Vybrané možnosti koordinace kyslíku na kov – „end on“ (vlevo), „side on“ (vpravo), upraveno z [15]

V myoglobinu kvůli prostorovým omezením skrze proteinové prostředí a také skrze tvorbu vodíkových můstků s distálním histidinem nastává o dost příznivější rovnovážná situace pro navázání mnohem slabšího π -akceptoru. Oxidační stav centrálního kovu není zcela jednoznačný kvůli povaze koordinovaného kyslíku a tento oxidační stav může být popsán dvěma způsoby – dle Paulinga nebo Weisse. Zatímco Paulingova teorie je založena na tvorbě nízkospinového Fe^{II} s koordinovaným singletovým kyslíkem, přičemž obě tyto entity jsou diamagnetické a vazba bude zprostředkována skrze σ -akceptor/ π -donor (kov) a σ -donor/ π -akceptor ligandu. Dle Weisse se však bude přenášet jeden elektron z kovu na ligand v základním stavu a bude se tedy vytvářet nízkospinový Fe^{III} ($S = 1/2$) a superoxidový anion ($S = 1/2$). Pozorovaný diamagnetismus bude způsoben silnou antiferomagnetickou interakcí. Tyto dvě teorie lze rozlišit na základě porovnání vlnočtů O–O vibrací získaných měřením Ramanovy spektroskopie. Pro Weissovu teorii předpokládající vznik vazby $\text{Fe}^{\text{III}}\text{--O}_2^-$ činila hodnota vlnočtu $\nu_{\text{O-O}} = 1107 \text{ cm}^{-1}$ (což odpovídá rozmezí vlnočtů $1100\text{--}1150 \text{ cm}^{-1}$ typických pro superoxid). Pro Paulingovu teorii předpokládající vznik vazby $\text{Fe}^{\text{II}}\text{--O}_2$ činila hodnota vlnočtu $\nu_{\text{O-O}} = 1556 \text{ cm}^{-1}$ [21, 22]. Pomocí rentgenové absorpční spektrometrie bylo prokázáno, že Weissův model dominuje pro oxyhemoglobin ve formě roztoku, kdežto Paulingova teorie je charakterističtější pro krystalický Hb [15, 23].

Komplexy železa a porfyriu jsou rovněž zahrnuty v dalších biochemických procesích jako je elektronový transport, jedná se například o dýchací řetězec nebo fotosyntézu. Zde se uplatňují **cytochromy**, které se zapojují do vratných redoxních změn díky změnám oxidačních stavů železa (Fe^{II} a Fe^{III}). Dle typu prostetické skupiny a tvaru absorpčního spektra je dělíme na cytochromy *a*, *b*, *c* a *d*. V dýchacím řetězci se nachází systém komplexů I–IV, tyto komplexy pumpují přes mitochondriální membránu protony, což vede v syntéze ATP. Komplexy III a IV jsou tvořeny cytochromy *c*, přičemž komplex III přijímá od koenzymu Q dva elektrony, cytochrom *c* se redukuje (zde působí enzym CoQH_2 -cytochrom-*c*-oxidoreduktáza), dva protony se pumpují a komplex III odevzdává dva elektrony komplexu IV. Komplex IV tyto protony přenáší na kyslík za vzniku vody a uvolňuje se energie pro přenos čtyř protonů, přičemž cytochrom *c* se oxiduje (zde působí enzym cytochrom-*c*-oxidáza). CoQH_2 -cytochrom-*c*-oxidoreduktáza se jinak také nazývá cytochrom *bc₁* komplex, protože se skládá z cytochromu

b_{562} , cytochromu b_{566} , cytochromu c_1 a Rieskeho proteinu, což je protein obsahující FeS centrum. Cytochrom- c -oxidáza se skládá ze dvou hemů a (a , a_3) a dvou měďnatých center [24].

Dalším zástupcem cytochromů je **cytochrom P-450**, pigment vykazující v redukované formě v komplexu s karbonylovou skupinou absorpční maximum při 450 nm, tzv. Soretův pík. Cytochrom P-450 je membránově vázaný protein, jehož prostetickou skupinou je hemová jednotka, uplatňuje se při redoxních reakcích a chová se jako monooxygenáza. Využívá tedy kyslík k oxidaci mnoha lipofilních látek jako jsou steroidy či xenobiotika, tělo se takto detoxifikuje a využívá přitom kooperace s redukujícím činidly (NADPH, flaviny nebo FeS proteiny) a P-450 reduktázou. Obecně tuto oxidaci popisuje rovnice (2.1).



Strukturně se hem P-450 příliš neliší od hemu Hb a dalších hemoproteinů, avšak jeho zvláštností je přítomnost thiolové funkční skupiny v axiální poloze hemu (zatímco Hb obsahuje histidin). Thiolová skupina mění elektronovou hustotu konjugovaného systému π -vazeb, čímž dochází k tvorbě centra s dostatkem elektronů pro aktivaci kyslíku [25].

Dalšími hemoproteiny jsou **peroxidázy** a **katalázy**, které obdobně jako cytochromy oxidují substrát, avšak pomocí peroxidu vodíku za vzniku radikálového kationtu. Peroxid vodíku může být produkován jako nežádoucí meziprodukt při nekompletní redukci kyslíku při dýchání (jen 80 % kyslíku je kompletně zredukováno), a proto peroxidázy částečně fungují jako detoxifikační enzymy. Peroxidázy oxidují mnoho látek jako jsou mastné kyseliny, fenoly, aminy, xenobiotika atd. Peroxidázy se rovněž uplatňují při dalších procesech. Jedná se například o oxidaci jodidového aniontu na jód a následnou jodaci tyrosinu thyreoperoxidázou za vzniku thyroxinu nebo oxidaci cytochromu c cytochrom- c -peroxidázou. Nejprostudovanějším zástupcem peroxidáz je křenová peroxidáza, mající mnohem menší molekulovou hmotnost (asi 40 kDa) než klasické hem obsahující katalázy (260 kDa) [15].

Hemoproteiny se využívají také při katalytické transformaci částečně redukováných sloučenin dusíku. Konkrétně to jsou oxid dusnatý nebo dusitý anion a jejich vazba na železo je možná pomocí koordinace elektronového páru a π -zpětné donace z Fe^{II} ležící v nízkoenergetických orbitalech nenasycených ligandů. Zahrnujeme sem například dusitany, dusičnany či nitroprussidový anion $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$ sloužící jako vazodilatátory a užívající se proti akutnímu vysokému krevnímu tlaku a angina pectoris. Vaskulární relaxace může být způsobena akumulací cyklického guanosin monofosfátu (cGMP) a předpokládá se, že guanylát cykláza je stimulována navázáním svého hemu s oxidem dusnatým ($\cdot\text{N}=\text{O}$). Oxid dusnatý nepůsobí jen jako vazodilatační nebo cytotoxické činidlo, ale také jako neurotransmitter v mozku. Lze jej (ale také například i oxid uhelnatý či sirovodík) zařadit do skupiny látek nazývajících se „gasotransmitery“. Jedná se o malé molekuly v plynném stavu, které ovlivňují přenašeče informací (posly, mediátory), penetrují do membrán a navazují se na receptory, čímž indukují specifické odpovědi [15, 25].

2.1.1.2 Proteiny s Fe/S centry

Fe/S centra hrají důležitou roli při fotosyntéze, buněčném dýchání, fixaci dusíku, metabolismu H_2 nebo NO_2^- , protože díky nim dochází k přenosu elektronů (obdobně jako cytochromy) a

rovněž jsou obvykle aktivními místy enzymů. Řadíme sem **ferredoxiny**, **rubredoxiny** nebo **Rieskeho proteiny**. Mohou se vyskytovat buď samostatně jako klastry, komplexy se třemi a více centrálními atomy spojenými vazbou kov-kov nebo mohou interagovat s dalšími prostetickými skupinami jako je jiný centrální kov (Ni, Mo, V, hem-Fe) či flaviny. Fe/S proteiny se navazují skrze atom železa na atom síry v cysteinu, který je vázán na protein, zatímco vícejaderná Fe/S centra vážou síru v oxidačním stavu $-II$. V klastrech jsou atomy železa obklopeny čtyřmi atomy síry a tvoří uspořádání deformovaného tetraedru. Fe/S centra obsahují například fumarát reduktáza, NADH dehydrogenáza, sukcinátdehydrogenáza atd.

Jak již bylo zmíněno, **ferredoxiny** můžeme strukturně klasifikovat jako klastry a do této skupiny zahrnujeme [2Fe-2S], [4Fe-4S], [3Fe-4S] centra. První zmiňovaná skupina obsahuje dvě centra s atomy železa, kdy každé je koordinováno dvěma cysteinovými postranními řetězci proteinu a dvěma sdílenými atomy síry v sulfidické formě (jedná se o můstkové uspořádání). S [3Fe-4S] a [4Fe-4S] centry se setkáváme u bakterií a zajímavostí je, že některé [4Fe-4S] klastry mají vyšší redoxní potenciál než jiné. Nazýváme je ferredoxiny s vysokým potenciálem (z angl. *high potential iron-sulfur proteins*) a působí v anaerobním elektronovém řetězci [16, 25].

Některá [2Fe-2S] centra vykazují neobvyklé spektroskopické vlastnosti a relativně vysoké redoxní potenciály. Tyto systémy nazýváme **Rieskeho centra** a jsou součástí komplexů membránových proteinů mitochondrie obsahující cytochromy (př. *bc₁*-komplexy). Rieskeho centra obsahují dvě odlišná Fe centra, protože mají nesymetrická okolí – koordinace histidinu, který je neutrální a jeho donorovým atomem je dusík. Rieskeho centra se uplatňují v kombinaci s cytochromem *b* při rozdělování toku elektronů v intramembránovém elektronovém transportním řetězci. Komplex III přebírá od ubichinolu (redukováný koenzym Q₁₀) elektrony, tento mechanismus nazýváme Q cyklus. Obecně se jedná o přenos elektronů z ubichinolu, kdy v prvním cyklu je elektron přenesen na Rieskeho protein. Výsledkem je přenos elektronů v Q cyklu na cytochrom *c*, který je dále transportuje do komplexu IV [18].

Posledním ze skupiny Fe/S proteinů jsou **rubredoxiny** vyskytující se u bakterií a stejně jako výše zmínění zástupci se podílejí na přenosu elektronů. Strukturně se však liší v absenci anorganické síry, tedy atom železa je přímo vázán na atomy síry cysteinů. Jsou aktivním místem mnoha enzymů jako je superoxid reduktáza nebo rubredoxin-NAD⁺ reduktáza [15].

Jiným zástupcem je **ribonukleotid reduktáza** (RR), jedná se o poměrně velký protein s molekulovou hmotností asi 200 kDa. Tento enzym na rozdíl od ostatních předchozích příkladů ve své struktuře neobsahuje porfyrinový cyklus nebo S-donorový ligand. RR katalyzuje přeměnu ribonukleotidu na 2'-deoxyribonukleotid, jedná se o velmi důležitý krok při syntéze DNA. Při přeměně se využívá dithiolu, který se oxiduje a tímto způsobem jsou získány elektrony pro katalýzu. Nejprostudovanějším enzymem tohoto typu je RR izolovaná z *Escherichia coli* [18, 26].

2.1.2 Role kobaltu v biologických systémech lidského těla

Kobalt patří mezi esenciální stopové prvky, v lidském těle dospělého jedince se ho nachází asi 2 mg. Doporučená denní dávka je 0,002 4 mg pro dospělého člověka, u dítěte 0,000 4 mg. Kobalt je nejvíce obsažen ve vnitřnostech či listové zelenině, jeho deficit vede ke vzniku

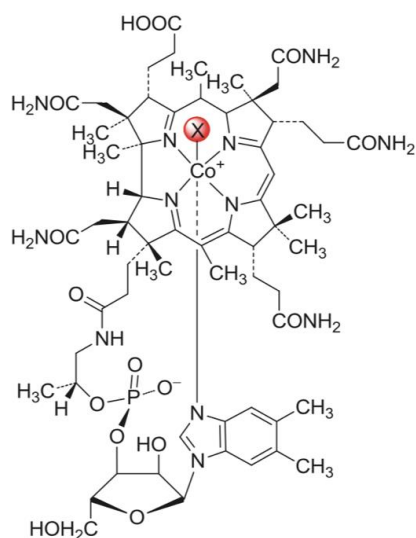
perniciózní anémie, nechutenství či zpomalení růstu. Kobalt je součástí vitamínu B₁₂, důležitého metabolitu zajišťujícího řadu biologických funkcí [27].

2.1.2.1 Vitamín B₁₂

Vitamín B₁₂ (kobalamin) je molekula o molekulové hmotnosti asi 1 350 Da, která je vysoce reaktivní pouze v kombinaci s odpovídajícím apoenzymem. Zvláštní je, že centrálním kovem koenzymu B₁₂ je právě kobalt, vzhledem k tomu, že je poměrně vzácně se vyskytujícím přechodným kovem z první řady 3d prvků v zemské kůře i mořské vodě. Také corrinový cyklus je velmi specifický, je o uhlík kratší než porfyrinový, a přestože jsou i tyto kobalt obsahující systémy stabilní, nejsou pro napodobení funkce koenzymu B₁₂ vhodné.

Vitamín B₁₂ je nezbytný pro správnou krvetvorbu, v dětském věku zajišťuje vývoj centrální nervové soustavy, podílí se na transmethylačních procesech a aktivuje funkci jiných enzymů. Na rozdíl od mikroorganismů, které jsou schopny vitamín B₁₂ syntetizovat, jej člověk musí přijímat z potravy, především je obsažen ve vnitřnostech, rybím mase nebo žloutku. Nedostatek tohoto vitamínu se projevuje obdobně jako nedostatek kobaltu. Ovšem sekundárně může tento deficit ovlivňovat také funkci folátového cyklu, nezbytného pro správnou syntézu dusíkatých bází a tím i DNA a RNA [28, 29].

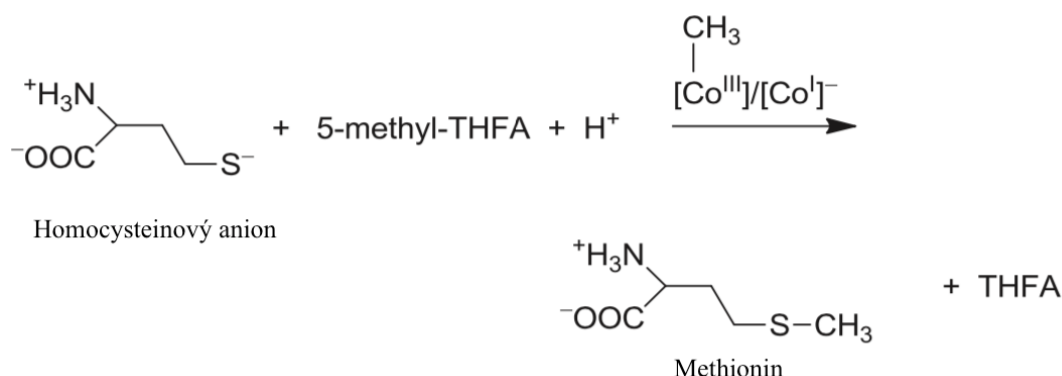
Jak již bylo zmíněno, vitamín B₁₂ (Obrázek 5) obsahuje ve své struktuře corrinový cyklus, který skrze své atomy dusíků zajišťuje čtyři koordinační místa pro centrální atom kobaltu, páté koordinační místo je obsazeno dimethylbenzimidazolyl nukleotidem a šesté (fungující jako reaktivní centrum) je obsazeno různými ligandy. Může se jednat o kyanido, hydroxido, methanido skupinu nebo o 5'-deoxyadenosin. Kyanokobalamin a hydroxykobalamin bývají enzymaticky aktivovány na methyl- nebo 5'-deoxyadenosylkobalamin.



Obrázek 5: Struktura vitamínu B₁₂, kde X = -CN, -OH, -CH₃ nebo 5'-deoxyadenosin [15]

Vitamín B₁₂ funguje jako koenzym a aktivuje tak funkci některých enzymů, konkrétně se jedná o izomerázy, methyltransferázy a dehalogenázy. Savci disponují dvěma typy B₁₂-dependentních enzymů. První skupinou jsou **methylkobalamin-dependentní methyltransferázy**, kam řadíme methionin syntázu (MetH). Jak už název napovídá, využívá

formy vitamínu B₁₂, kde na kobalt je vázána methylová skupina, tj. methylkobalamin. MetH katalyzuje přeměnu homocysteinu na methionin (Obrázek 6) a deficit MetH zapříčiní hromadění homocysteinu v těle.



Obrázek 6: Schéma přeměny homocysteinu na methionin pomocí methylkobalaminu. THFA = kyselina tetrahydrofolová, (upraveno z [15])

Druhou skupinou jsou **adenosylkobalamin-dependentní izomerázy**, které vykazují vysokou alkylační aktivitu a jako nejvýznamnějšího zástupce můžeme uvést methylmalonyl-CoA mutázu (MCM). Tato skupina využívá formu vitamínu B₁₂, kde na kobalt je navázán 5'-deoxyadenosyl a jedná se tedy o 5'-deoxyadenosylkobalamin (koenzym B₁₂). MCM katalyzuje přeměnu methylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA a v případě nedostatku tohoto enzymu se hromadí v těle kyselina methylmalonová, která je ve větší míře vylučována močí. Dále se MCM také podílí na metabolismu valinu, threoninu a mastných kyselin s lichým počtem uhlíků [15, 28].

Mezi B₁₂-dependentní enzymy rovněž řadíme i B₁₂-dependentní reduktivní dehalogenázy, které hrají důležitou roli při odstraňování halogenů z alifatických nebo aromatických sloučenin, avšak tento typ enzymů se vyskytuje jen u bakterií [15].

2.2 Bioaktivní komplexní sloučeniny Fe^{III} a Co^{III}

Jeden z nejvýznamnějších objevů v oblasti léčby nádorových onemocnění byl objev účinků cisplatinu (*cis*-diamin-dichloridoplatinatý komplex) Barnettem Rosenbergem v 60. letech 20. století [3]. Přestože cisplatina vykazuje celou řadu nežádoucích účinků a mnohé nádorové buňky jsou vůči ní rezistentní, dodnes se používá při chemoterapiích (kombinovaně s radioterapií) a v mnoha vědeckých publikacích se cisplatina stává referenčním materiálem při biologickém testování nových sloučenin. Cytostatické účinky komplexů platinových kovů, zejména platiny a ruthenia [4, 30], jsou nesporné, avšak studium tohoto typu sloučenin v minulosti částečně upozadil studium biologické aktivity komplexních sloučenin dalších přechodných kovů, jakými jsou například Os [31], Ir [32] nebo Rh [8].

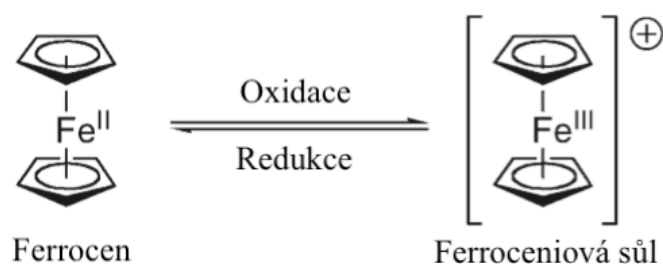
Je již známo, že léčba nádorových onemocnění není výsadou pouze komplexů platinových kovů a můžeme mezi bioaktivní sloučeniny zařadit mimo jiné i komplexy železa a kobaltu. Železo i kobalt patří mezi biologicky důležité prvky vyskytující se v lidském těle, jsou výrazně méně toxické než jiné přechodné kovy, dobře tolerovány tělními buňkami, a proto jejich komplexní sloučeniny jsou vhodnou alternativou k již známým léčivům obsahující ve své struktuře kov [33]. V literatuře je častěji popsána bioaktivita komplexů těchto kovů

v oxidačním stavu +II, v tomto stavu se stávají aktivní formou léčiva, což souvisí s jejich kinetickou stabilitou a rozpustností při fyziologickém pH. Vzhledem k tomu, že komplexy kobaltu s centrálním kovem v oxidačním stavu +III jsou kineticky inertní, mohou sloužit také jako nosiče pro selektivní dopravu léčiv a jejich následná redukce vede k tvorbě aktivního léčiva, které dále působí proti nádorovým buňkám (kapitola 2.2.3) [34]. Některé z těchto bioaktivních komplexů budou diskutovány v následujících kapitolách (2.2.1 a 2.2.2) a rovněž jejich heterobimetalické komplexní sloučeniny (2.2.4).

2.2.1 Současný stav výzkumu bioaktivních jednojaderných Fe^{III} komplexů

2.2.1.1 Ferroceniové soli

Prvotní studie komplexů železa se soustředily především na výzkum derivátů ferrocenu. Nesubstituovaný ferrocen kvůli své špatné rozpustnosti není nijak biologicky účinný, avšak po jeho vnesení do biologického systému se oxiduje a v tomto stavu je již biologicky aktivní. Železo v molekule ferrocenu vystupuje v oxidačním stavu +II, ovšem jednoelektronovou oxidací vytváří stabilní ferroceniový kation (Obrázek 7), který je stabilní na vzduchu a rozpustný ve vodě. V této soli železo disponuje oxidačním stavem +III a tato redoxní reakce je vratná pro většinu derivátů ferrocenu [35, 36]. Již v 80. letech minulého století byly studovány antineoplastické účinky ferroceniových solí, avšak mechanismus účinku nebyl zcela znám. Konkrétně ferrocenium pikrát a ferrocenium trichloroacetát vykazovaly stoprocentní účinky léčby Ehrlichova ascitického tumoru u myši s LD₅₀ 340 mg/kg, resp. 400 mg/kg. Tyto výsledky byly srovnávány s doposud známými cytostatiky a bylo zjištěno, že výše zmínované ferroceniové soli jsou čtyřikrát účinnější než cisplatina a téměř dvakrát účinnější než titanocen dichlorid [37]. Později se podařilo objasnit mechanismus účinku ferroceniových solí. Potvrdilo se, že účinky nejsou vyvolány interkalací soli do molekuly DNA, avšak její schopností generovat hydroxylové radikály, které způsobují oxidativní poškození DNA [38].



Obrázek 7: Reverzibilní redoxní reakce mezi ferrocenem a ferroceniovou solí (upraveno z [35])

Je nutno dodat, že v teoretické části budou diskutovány i ferroceny, vzhledem k tomu, že se u jejich mechanismu účinku může předpokládat oxidace na Fe(III). Kromě výše zmíněných ferroceniových solí je biologicky aktivní rovněž celá řada derivátů ferrocenu s různými postranními řetězci [39], heterobimetalické sloučeniny ferrocenu [39–41] a také byla pozornost zaměřena na tzv. *drug delivery* systémy v konjugaci s ferrocenem. Studováno bylo také mnoho přírodních látek, ať už rostlinné, bakteriální či plísňové povahy konjugované s ferrocenem [42]. U těchto strukturně rozmanitých a obsáhlých skupin látek byla prokázána protinádorová aktivita, rovněž se potvrdily antimalarické a antianemické účinky či působení vůči HIV, plísňovým a bakteriálním infekcím [11, 43, 44]. Také byly sledovány odlišné mechanismy

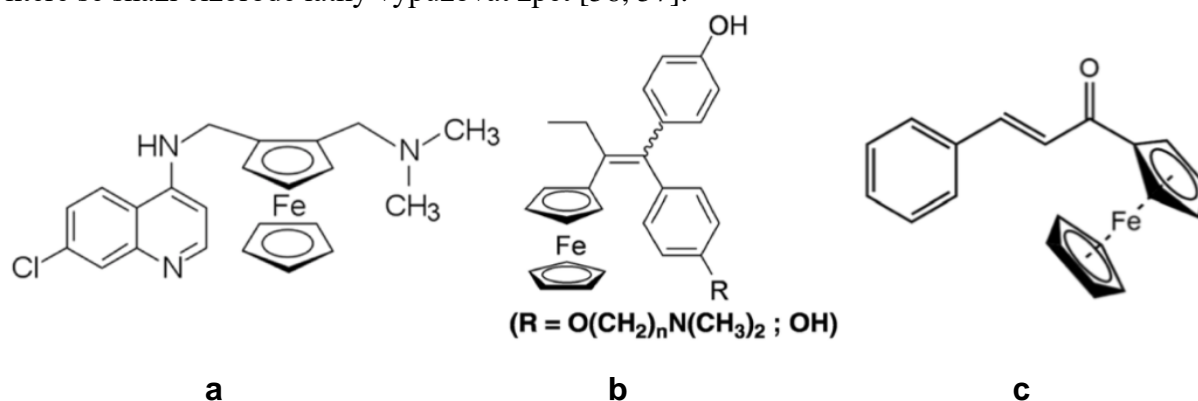
účinků na rozdíl od cisplatiny, která vytváří kovalentní vazbu s atomy dusíku guaninu či adeninu [45], konkrétně se jedná o apoptózu nádorových buněk způsobenou ochranou telomeru před telomerázou a/nebo snížením aktivity telomerázy, dále alkylace DNA či interkalace cyklopentadienylových kruhů do molekuly DNA. Interkalací je myšlena inkorporace elektronově deficientních, planárních aromatických kruhů mezi báze DNA, stabilizují se nekovalentní interakce pomocí π - π dipól-dipól interakcí, což způsobí rozmotání a natažení vláken DNA, aby se prostorově přizpůsobila interkalačnímu činidlu. Interkalace je možným řešením, jak obejít opravný mechanismus, který vede k rezistenci cisplatiny a jejích analogů [46, 47].

Celá řada ferrocenylových derivátů byla studována pro jejich biologické účinky. Ferrochin (Obrázek 8a), který v roce 2015 vstoupil do 2. fáze klinického testování, vykazuje značné antimalarické a také cytostatické účinky, především vůči karcinomu prostaty ($IC_{50} = 6 \mu M$). Klonogenní testy potvrdily úplnou ztrátu schopnosti přežití nádorových buněk po ošetření ferrochinem a po obarvení přeživších kolonií bylo na první pohled zřejmé, že tento účinek výrazně převyšuje účinky chlorochinu, se kterým byl ferrochin při testování srovnáván. Pokles množství živých nádorových buněk byl způsoben zastavením proliferace nežli buněčnou smrtí, a proto v dalším kroku bylo studii buněčného cyklu pomocí průtokové cytometrie zjištěno, že ferrochin blokuje cyklus v G_0/G_1 fázi. Ferrochin v organismu působí více než 20 dní, aniž by byl ovlivněn přijímanou potravou a dávka, ve které je ferrochin organismem tolerován se pohybuje okolo 1 600 mg. Tyto poznatky předpovídají, že by mohl být úspěšný i v nadcházejícím testování. Ferrochin se zaměřuje na mnoho biologických cílů jako jsou kinázy, mitochondrie a mnoho dalších, ovšem mechanismus účinku nebyl zcela vysvětlen a bude předmětem dalších studií [48].

Rozsáhlou studovanou skupinou jsou také ferrocenyly substituované tamoxifenem či hydroxytamoxifenem, tzv. ferrocifeny (Obrázek 8b). Tyto sloučeniny byly studovány již na konci minulého století a na základě výzkumu byly zařazeny mezi selektivní modulátory estrogenového receptoru. Tyto modulátory se navazují na estrogenový receptor a v závislosti na tkáni, ve které působí, se chovají jako agonisté nebo antagonisté. V prsní tkáni modulátory působí jako antagonisté a vzhledem k tomu, že estrogen ovlivňuje růst některých nádorů prsu, jsou modulátory využívány při protinádorové léčbě [49]. V závislosti na koncentraci ferrocifenu v biologickém médiu se liší jeho účinky vůči nádorovým buňkám, při nižších koncentracích dochází k interakcím se zmiňovaným estrogenovým receptorem, při vyšších koncentracích vyvolávají ferrocifeny apoptózu či indukují Fentonovu reakci [50]. V průběhu let bylo provedeno několik studií a připraveny různě modifikované ferrocifeny, které byly testovány na buňkách rakoviny prsu. Některé z nich vykazovaly dobré cytostatické účinky [51, 52], a to také vůči jiným buněčným liniím [53].

Obsáhlou skupinou jsou ferrocenyly s postranními řetězci zvanými chalkony (Obrázek 8c). Z chemického hlediska se jedná o 1,3-diarylprop-2-en-1-on, přičemž arylové kruhy jsou vesměs substituovány různými funkčními skupinami a tyto kruhy jsou spojeny prop-2-enovým ramenem. Eventuálně může být chalkon zacyklen v místě ramene a pak se jedná o flavony, příp. isoflavony. Chalkon poskytuje několik koordinačních míst pro kov, a proto mnohé varianty komplexů s různými centrálními atomy již byly syntetizovány. Nepřeberné množství

sloučenin z této skupiny látek bylo rovněž sledováno pro jejich biologické účinky. Mezi ně patří i sloučeniny, kde chalkon či flavon je periferně modifikován molekulou ferrocenu a u několika z těchto látek se potvrdila cytotoxická aktivita. Ze studií vyplývá, že větší cytostatické účinky mají flavonové sloučeniny, u kterých je arylový kruh substituován halogenidy, příp. doplněn o hydroxylovou skupinu než jejich chalkonové analogy. Testování probíhalo na buněčné linii rakoviny melanomu u myši a nejlepší výsledek vykazoval flavon substituován v polohách 3- a 5- atomy chlóru ($IC_{50} = 12 \mu M$) [54, 55]. Jedním z posledních výzkumů bylo testování antibakteriální aktivity u série chalkonových derivátů ferrocenu s různě dlouhými postranními alkylovými řetězci (methyl až decyl). Bylo zjištěno, že testované sloučeniny jsou aktivnější vůči grampozitivním bakteriím, což souvisí s délkou alkylového řetězce a rovněž se strukturou membrán bakterií. Sloučeniny sice obsahují ve struktuře alkylový řetězec, který zvyšuje lipofilitu chalkonů, ty ovšem při testování byly rozpuštěny v dimethylsulfoxidu, který je amfipatický a dovoluje tak chalkonu se dostat přes peptidoglykanovou vrstvu. Předpokládá se, že alkylový řetězec je zachycen v buněčné membráně, zatímco ferrocenyl, který je mnohem menší než řetězec, se dostává do cytoplazmy bakterie. Membrána gramnegativních bakterií je složitější, obecně tento typ bakterií odmítá veškeré vnější toxiny a pro chalkon je obtížné se dostat přes všechny jeho vrstvy, navíc gramnegativní bakterie disponují kaskádou procesů, které se snaží cizorodé látky vypuzovat zpět [56, 57].



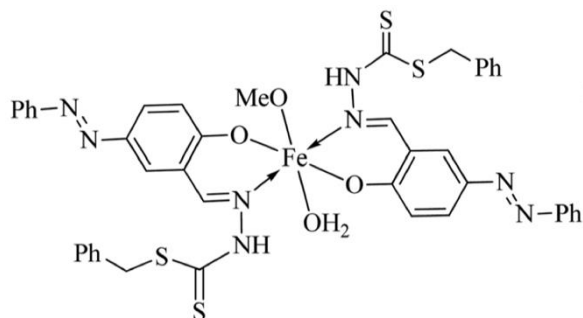
Obrázek 8: Strukturální vzorec: a) ferrochinu [48], b) ferrocifenu [50], c) ferrocenyl chalkonu [56]

Série ferrocenylů s akrylamidovým ramenem byla testována na B16–B10 a A549 buněčných liniích. Ferrocenyl s akrylamidovým a fenylovým zbytkem vykazoval nejvyšší aktivitu ($IC_{50} = 0,17 \mu M$) u B16–B10 a navíc byla prokázána indukce apoptózy u testovaných buněk. Při testování na A549 měla nejvyšší účinky obdobná sloučenina, avšak substituovaná v poloze 3-methylovou skupinou na fenylovém kruhu ($IC_{50} = 2,1 \mu M$) [58]. Předmětem zájmu jsou rovněž ferrocenylы substituované fenylothiomocovinovým ramenem. Komplexy byly připraveny v různých substitučních pozicích a biologické testování odhalilo, že sloučeniny substituované v *para* poloze jsou účinnější než ty, které jsou substituované v poloze *meta*, pravděpodobně díky rozšířenější delokalizaci elektronů a minimálnímu sterickému bránění. Komplexy se testovaly na buněčných liniích MCF-7 a MCF-10A (buňky bez karcinomu). Komplexy sice disponovaly menší aktivitou v porovnání s cisplatinou, ale naopak byly méně toxické vůči MCF-10A [59].

Ferrocenylové sloučeniny s heterocyklickými periferními substituenty jako například tetrahydropyrazolopyrazolon disponují značnou antioxidační aktivitou (více než 5× vyšší než běžně používaný antioxidant Trolox, ve vodě rozpustný analog vitamínu E) [60]. Ferrocenylové deriváty se substituentem thiazolidin-4-on byly sledovány pro jejich antibakteriální i antimykotické účinky. Konkrétně sloučeniny, které byly rozšířeny o naftalenový kruh a alifatický řetězec, vykazovaly širokospektrální účinky napříč různým rodům bakterií a hub, jejich aktivita bohužel nebyla srovnatelná s látkami podávanými v medicínské praxi [61]. Další skupinou jsou mimo jiné také ferrocenyly substituované 1,3,4-thiadiazolylpyrazolinem, kde pyrazol byl dále modifikován furanem nebo dichlorobenzenem. Právě tyto dvě sloučeniny prokazovaly svou antimykotickou aktivitu vůči houbám rodu *Pythium* a *Gibberella* [62].

2.2.1.2 Fe^{III} komplexy s dithiokarbazátovým ligandem

Deriváty odvozené od kyseliny dithiokarbazové byly již v minulosti studovány pro své protinádorové [63], protiplísňové a antibakteriální vlastnosti [64]. Také u nich byly sledovány účinky při léčbě américké dysentrie (infekční onemocnění střeva) [65]. Této skupině látek je stále věnována značná pozornost, protože jejich vlastnosti lze upravit zavedením různých substituentů [66]. Studován byl také komplex $[Fe^{III}(OH_2)(OMe)(Hhpd-bal-sbdt)_2]$, Obrázek 9, u něhož byla sledována aktivita absorpce glukózy a tato aktivita byla studována i na jeho analogu, ovšem s centrálním atomem Co(III) – viz 2.2.2.1. Komplex ve své ligandové sféře obsahoval ligand s ONS donorovými atomy, 2-hydroxy-5-(fenyldiazonyl)benzaldehyd (Hhpd-bal) a *S*-benzylidithiokarbazát (sbdt). Komplex byl podroben protinádorovým a cytotoxickým zkouškám na HeLa buněčné linii použitím testu viability a metabolické aktivity těchto buněk (barvení trypanovou modří a MTT test). MTT test je založen na aktivitě sukcinátdehydrogenázy, která je schopna redukovat žlutou tetrazoliovou sůl (MTT) na fialový nerozpustný formazan. Pro jeho rozpuštění se používá izopropanol, aby byla vytvořena homogenní směs, vhodná pro měření absorbance. Platí, že čím je aktivita enzymu vyšší, tím více MTT je redukováno a tím je vyšší absorbance [67]. U HeLa buněk byl komplex testován při odlišných koncentracích (0,05–10 μ M) a jako kontrola byly použity neléčené HeLa buňky. MTT test prokázal značnou antiproliferační aktivitu komplexu, viabilita buněk se pohybovala okolo 30 % a 17 % při koncentracích 5 μ M a 10 μ M a hodnota IC_{50} činila 4,6 μ M. Test za pomoci barvení trypanovou modří rovněž potvrdil lepší výsledky pro již výše zmíněné koncentrace komplexu, ovšem viabilita buněk se pohybovala okolo 49 % pro 5 μ M a 25 % pro 10 μ M. Obecně komplex vykazoval lepší antiproliferační účinky než cisplatina ($IC_{50} = 6,85$ μ M) a 5-fluorouracil ($IC_{50} = 73$ μ M). MTT test byl také použit při testování bezpečnostního profilu komplexu na zdravých HEK-293 buňkách, jehož výsledky byly poněkud překvapující, protože více než 80 % buněk přežilo po ošetření komplexem (10 μ M). Po provedení výpočtů cytotoxické koncentrace (CC_{50}) a indexu selektivity (SI, podíl CC_{50} a IC_{50}) byly získány velmi vysoké hodnoty – 412,68 μ M a 89,52, což je zásadní pro klinické testování komplexu a tyto hodnoty rovněž predikují nízkou cytotoxicitu vůči zdravým buňkám. Komplex byl studován rovněž na absorpci glukózy pomocí 2-NBDG (2-deoxy-2-((7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino)-D-glukóza) na HepG2 buňkách a jako kontrola byly použity neléčené HepG2 buňky a jako standard metformin. Absorpce glukózy komplexem se pohybovala lehce nad 80 %, což bylo srovnatelné s metforminem [33].

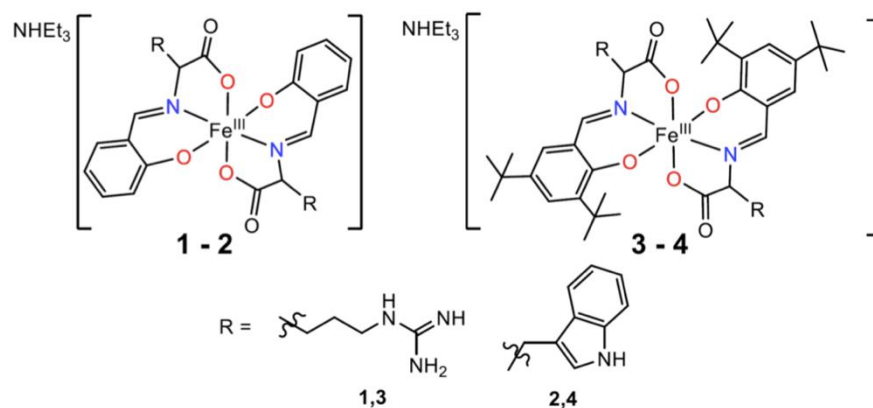


Obrázek 9: Strukturální vzorec studovaného komplexu $[Fe^{III}(OH_2)(OMe)(Hhpd\text{-}bal\text{-}sbdt)_2]$ [33]

2.2.1.3 Fotosenzibilizátory pro fotodynamickou terapii

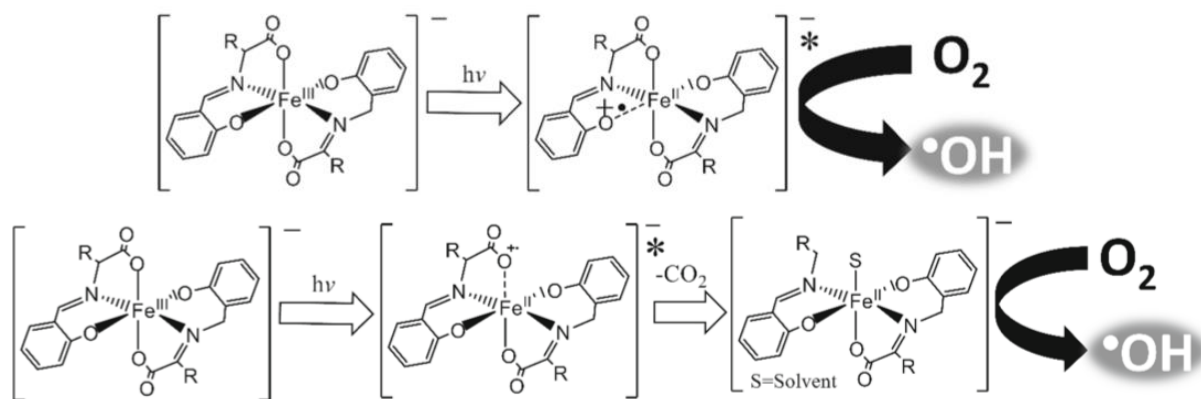
Vedle klasické chemoterapie se při léčbě nádorových onemocnění využívá také fotodynamická terapie (PDT). Mezi její největší výhody patří její selektivita vůči nádorům, minimum vedlejších účinků, šetrnost a v porovnání s ostatními metodami i neinvazivnost a rovněž ji lze kombinovat s jinými formami léčby. Uplatňuje se v počátečních fázích onemocnění a také v případech, kdy tumor nelze odstranit operativně. PDT způsobuje buněčnou smrt kombinací fotosenzibilizátoru (PS), viditelného světla a molekulárního kyslíku. PDT obecně funguje na principu účinků světlem aktivovaného fotosenzibilizátoru, který se akumuluje v nádorových buňkách a následně je vystaven viditelnému světlu o vhodné vlnové délce (vesměs se jedná o světlo z červené oblasti spektra, protože penetruje hlouběji do tkání, používá se také blízké infračervené záření [68]). PS se absorpcí světla excituje a přebytek energie je emitován a přenesen na molekulární kyslík. Dochází k tvorbě singletní formy kyslíku, což je velmi reaktivní částice, existuje v řádu nanosekund a ihned reaguje s molekulami ve svém okolí. Takto dochází k narušení biologicky důležitých komponent (např. DNA, lipidová membrána apod.), což vede k apoptóze či nekróze. Tento jev je v lidském organismu nežádoucí, ovšem při PDT zcela nezbytný. Nevýhodou PDT je její obtížné použití při klinickém testování a nedostatek vhodných PS [69, 70].

Prvním testovaným PS byl porfimer sodný (prodáván pod komerčním názvem Photofrin®), v průběhu let se vyvíjely nové, selektivnější a účinnější PS s nižším počtem vedlejších účinků. Takovými PS je i série Fe(III) komplexů, jejichž ligandová sféra obsahuje Schiffovy ligandy odvozeny od aminokyselin, konkrétně argininu a tryptofanu (Obrázek 10). Jejich fotocytotoxicita byla studována za použití MTT testu na jaterních nádorových buňkách, HeLa buňkách, MCF-7 a MCF-10, a to bez i s použitím světla. Poslední jmenovaná buněčná linie byla použita jako kontrola ke sledování specifity studovaných komplexů. Všechny komplexy vykazovaly zanedbatelnou cytotoxicitu bez ozáření viditelným světlem, ovšem po ozáření byl pozorován značný nárůst aktivity, a to především vůči jaterní nádorové buněčné linii ($IC_{50} = 1 \mu M$). Nejúčinnějším komplexem byl komplex s tryptofanovým zbytkem a terc-butylovými skupinami.



Obrázek 10: Strukturální vzorce Fe(III) fotosenzibilátorů [71]

Kromě cytotoxických testů bylo u zmíněných komplexů sledováno generování reaktivních forem kyslíku (ROS, z anglického *reactive oxygen species*) za použití 2', 7'-dichlorofluorescein diacetátu, který je vpraven do buňky, zde je esterázami deacetylován. Po oxidaci generovanými ROS je vytvořen 2', 7'-dichlorofluorescein emitující zelené světlo [72]. Testování bylo prováděno za pomoci průtokové cytometrie a sledování posunu v intenzitě fluorescence udávalo množství generovaného ROS. Obecně čím vyšší posun byl sledován, tím vyšší množství dichlorofluoresceinu bylo zoxidováno a tím generováno více ROS. Gelovou elektroforézou byla studována schopnost komplexů štěpit plazmidovou DNA (SC pUC18 DNA), avšak v přítomnosti tzv. „lapačů hydroxylových radikálů“ (dimethylsulfoxid, jodid draselný a mannitol) bylo pozorováno snížení této schopnosti, což nasvědčuje, že komplexy generují hydroxylový radikál (Obrázek 11).



Obrázek 11: Mechanismus generování hydroxylového radikálu Fe(III) fotosenzibilizátory indukci světlem [71]

Generování hydroxylového radikálu bylo studováno pomocí UV-VIS spektrometrie, přičemž studované komplexy hydroxylovaly benzoovou kyselinu na salicylát, což bylo prokázáno přítomností pásu při 520 nm. Zajímavé bylo pozorování pásu až při 550 nm u komplexu s tryptofanovým zbytkem a terc-butylovými skupinami. Pás, sledovaný při této vlnové délce, je charakteristický pro katecholát, což vede k závěru, že zmíněným komplexem bylo generováno větší množství hydroxylového radikálu. Poslední test poukázal na způsob buněčné smrti, byl proveden barvením fluorescein izothiokyanátem a propidium jodidem. Test se prováděl na MCF-7 buněčné linii, ta byla ošetřena komplexem s tryptofanovým zbytkem a terc-butylovými skupinami a po dobu jedné hodiny vystavena záření. Část populace buněk

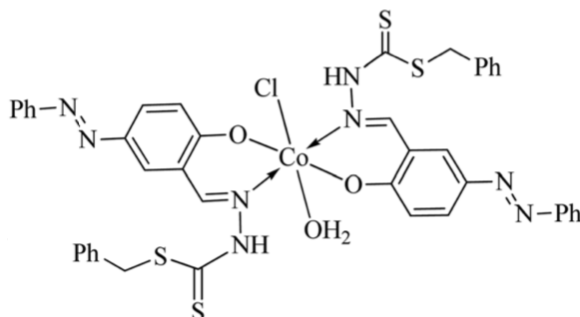
(konkrétně 42 %) se dostalo do apoptotické fáze bez výraznějších nekrotických populací, čímž byla potvrzena buněčná smrt apoptózou [71].

2.2.2 Současný stav výzkumu bioaktivních jednojaderných Co^{III} komplexů

Mnoho komplexních sloučenin s centrálním atomem kobaltu v oxidačním stavu +III bylo studováno pro jejich antibakteriální, antivirotické či protinádorové účinky, avšak neexistuje mnoho sloučenin tohoto typu, které by se rozšířely v klinickém testování používaly [73]. Jedinou takovou komplexní sloučeninou je DoxovirTM. Jedná se o komplex Schiffovy báze odvozené od acetylacetonu a ethylendiaminu, který má v obou axiálních polohách koordinován 2-methylimidazol. Tato sloučenina byla testována již na konci minulého století a je to jediná sloučenina, která dosáhla klinických studií při testování vůči viru *Herpes simplex* typu I. Na centrální atom kobaltu je koordinován histidinový zbytek proteinu viru. Tato koordinace je zásadní pro následné narušení replikace viru, komplex vytváří stabilní adukty přes dusík již zmiňovaného imidazolu, čímž je nahrazen 2-methylimidazol [74].

2.2.2.1 Co^{III} komplexy s dithiokarbazátovým ligandem

Paralelně s komplexem [Co^{III}(OH₂)(Cl)(Hhpd-bal-sbdt)₂] byl také testován jeho Fe^{III} analog, jehož výsledky testování byly komentovány již v kapitole 2.2.1.2. Strukturně se jedná o v podstatě identické látky, pouze -OCH₃ skupina u Fe^{III} komplexu byla nahrazena chloridovým aniontem pro Co^{III} komplex. Studium protinádorových účinků a také bezpečnostního profilu probíhalo obdobně, avšak zjištěné hodnoty se poněkud lišily. Při MTT testování na HeLa buněčné linii byly výsledky srovnatelné s Fe^{III} komplexem, viabilita buněk se pohybovala okolo 30 % a 15 % při koncentracích 5 μM a 10 μM a hodnota IC₅₀ činila 4,7 μM. Antiproliferační test barvením trypanovou modří pro Co^{III} komplex již poukazoval na o něco lepší účinky než zmiňovaný Fe^{III} komplex, zejména viabilita buněk při koncentraci 5 μM, která se pohybovala okolo 42 %. Stejně jako Fe^{III} analog, i Co^{III} komplex vykazoval lepší antiproliferační účinky než cisplatina a 5-fluorouracil, které sloužily jako srovnávací materiál při testování. Dále byla testována toxicita na zdravých HEK-293 buňkách, opět jako u Fe^{III} komplexu, i zde bylo prokázáno, že více než 80 % buněk přežilo po ošetření komplexem (10 μM). Byly zjištěny hodnoty cytotoxické koncentrace CC₅₀ = 473,17 μM a indexu selektivity SI = 100,67. Tyto hodnoty jsou vyšší než pro Fe^{III} komplex, a tedy Co^{III} má ještě lepší předpoklady pro následné *in vivo* testování a vstup do klinických studií. Na závěr byla sledována absorpce glukózy pomocí 2-NBDG na HepG2 buňkách, která činila 90 %, což je o více než 4 % lepší hodnota než pro standard, kterým byl metformin [33].

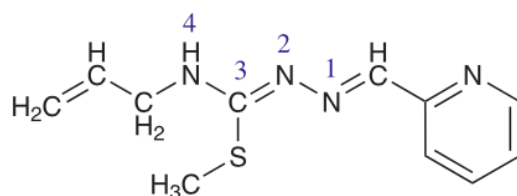


Obrázek 12: Strukturní vzorec komplexu [Co^{III}(OH₂)(Cl)(Hhpd-bal-sbdt)₂] [33]

2.2.2.2 Co^{III} komplexy se semikarbazonovým ligandem

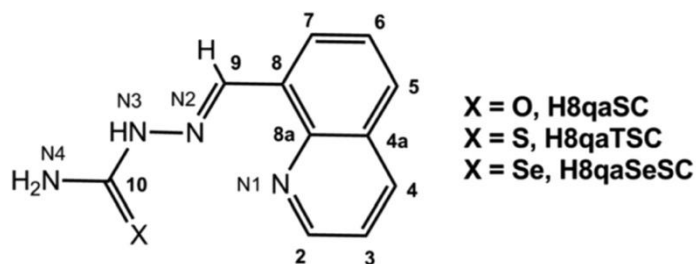
Značná pozornost se při studiu bioaktivních Co^{III} komplexů věnuje sloučeninám s isothiosemikarbazonovou ligandovou sférou. Byly studovány komplexy, ve kterých isothiosemikarbazon obsahoval ve své struktuře 2-hydroxybenzaldehydový zbytek. Tyto komplexy nevykazovaly uspokojující výsledky při antibakteriálních a protiplísňových testech, na druhou stranu byla u nich zjištěna značná antioxidační aktivita, a to až 47–67× vyšší než u Troloxu [75].

Jednou z nejnovějších studií bioaktivních Co^{III} komplexů je příprava a testování komplexů s isothiosemikarbazonovými ligandy, ovšem zde byl 2-hydroxybenzaldehydový zbytek nahrazen 2-formylpyridinem, což vedlo ke zvýšení antibakteriální aktivity zmiňovaných Co^{III} komplexů. Konkrétně $[Co(LA)_2]NO_3$, kde LA = isothiosemikarbazon (Obrázek 13) obstál při antimikrobiálním testování konkrétně proti *Staphylococcus aureus*, přičemž byl asi 13× účinnější než Furacilin (také se používá označení Nitrofurantoin a jedná se o antibakteriální agens používané v běžné medicínské praxi). Dále pak komplex $[Co(LA)_2]Cl$ vykazoval značnou aktivitu vůči kvasinkám rodu *Candida albicans*, a to více než 10× vyšší než běžně používané antimykotikum Nystatin. Obecně se dá říci, že oba zmiňované Co^{III} komplexy jsou 2–8× aktivnější vůči gramnegativním bakteriím (především *Escherichia coli*), než jejich analogy s isothiosemikarbazonovým ligandem obsahující 2-hydroxybenzaldehydový zbytek. Testována byla také protinádorová aktivita a komplex $[Co(LA)_2]Cl$ projevoval významnou aktivitu vůči HeLa buněčné linii ($IC_{50} = 2,1 \mu M$). Zároveň oba kobaltité komplexy obstály při testech cytotoxického efektu na zdravých buňkách ($IC_{50} = >100 \mu M$) [76].



Obrázek 13: Isothiosemikarbazonový ligand HLA. Co^{III} se koordinuje na dusík pyridinu, N1 a N4 [76]

Studovány byly také Co^{III} komplexy se selenosemikarbazonovým či thiosemikarbazonovým ligandem (Obrázek 14) V publikaci zaměřené na testování tohoto typu sloučenin byl také studován Co^{II} komplex, ovšem s O-donorovým semikarbazonem (H8qaSC). Testování probíhalo na vybraných buněčných liniích, studovalo se IC_{50} jak pro zmiňované komplexy, tak pro jednotlivé ligandy a ze získaných hodnot bylo zjištěno, že nejúčinnější je komplex Co^{II} , dále Co^{III} se selenosemikarbazonovým ligandem (H8qaSeSC) a jako poslední komplex Co^{III} s thiosemikarbazonovým ligandem (H8qaTSC). Co^{III} komplex se selenosemikarbazonovým ligandem měl nepatrně vyšší účinky než zmiňovaný Co^{II} komplex pro buněčné linie MDA-MB-361 (buňky rakoviny prsu) a K562 (chronická myeloidní leukémie), avšak tyto účinky byly zhruba 2× nižší než pro cisplatinu [77].



Obrázek 14: Strukturální vzorec semikarbazonu s donorovými atomy kyslíku, síry nebo selenu [77]

2.2.2.3 Co^{III} komplexy s terpyridinovým ligandem

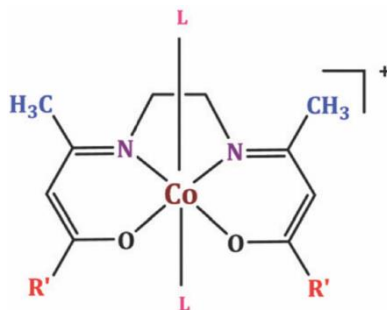
Komplexy tohoto typu s různými centrálními atomy byly v minulosti předmětem zájmu mnoha publikací [78, 79], protože tato skupina látek má vysokou afinitu vůči telomerázové kvadruplexové DNA, které je uskupeno z několik nad sebou umístěných systémů čtyř guaninových bází [80]. Co^{III} komplexy s terpyridinovým ligandem nejsou příliš prozkoumanou oblastí, avšak prvotní studie tohoto systému již nastíněny jsou. Konkrétně se jedná o komplex s ligandem *N,N*-diethyl(terpyridinyl)anilínem (Obrázek 15), který byl testován na celé řadě buněčných linií, jmenovitě HeLa, A549, T-24 (lidské buňky rakoviny močového měchýře), MGC80-3 (mucinózní žaludeční adenokarcinom), HepG2, SK-OV-3 (vaječníkový sérový cystadenokarcinom) a na zdravých HL-7702 (lidské jaterní buňky). Testována byla protinádorová aktivita, která se prokázala u všech studovaných linií s výjimkou A549. Stanovené hodnoty IC_{50} byly prokazatelně nižší ve srovnání s cisplatinou. Zejména pro buněčnou linii T-24 ($\text{IC}_{50} = 0,52 \mu\text{M}$), kdy aktivita komplexu byla 34,6× vyšší než pro cisplatinu. Dále se sledovaly cytostatické účinky samotného ligandu bez přítomnosti centrálního atomu. Tyto hodnoty však poukazovaly na velmi nízké účinky, čímž byl potvrzen synergický efekt Co^{III} a ligandu po vzniku komplexu. Z testů na zdravých buňkách bylo zjištěno, že studovaný komplex je selektivní na T-24 buněčnou linii, což bylo prokázáno z měření indexu selektivity, kdy komplex měl 67,8× vyšší toxicitu vůči zmiňované linii než na zdravých buňkách. V rámci studie bylo provedeno také srovnání s komplexy odlišných centrálních atomů (konkrétně Zn^{II} , Ni^{II} , Mn^{II} a Pt^{II}) s identickým ligandem. Co^{III} komplex vykazoval nejvyšší cytotoxicitu ze všech uvedených komplexů vůči všem buněčným liniím opět kromě A549.

Vzhledem k vysoké selektivitě komplexu k buňkám T-24, byl na této buněčné linii studován mechanismus účinku. Klíčovým faktorem pro apoptózu je mimo jiné úbytek potenciálu mitochondriální membrány, který byl sledován pomocí fluorescenční sondy. Výsledkem bylo pozorování zvýšené fluorescence, čímž se potvrdilo, že mechanismem účinku je právě apoptóza. Toto zjištění bylo podpořeno o další testování, konkrétně se sledovalo generování ROS blízko DNA, což vede k jejímu narušení a tím i apoptóze nebo sledováním nárůstu intracelulární Ca^{2+} , které rovněž vede k narušení potenciálu mitochondriální membrány. Studoval se vliv na buněčný cyklus, který Co^{III} komplex zastavoval v G1 fázi a na rozdíl od ostatních komplexů s terpyridinovým ligandem (Zn^{II} a Ni^{II}) bylo toto zastavení indukováno při nižších koncentracích aplikovaného Co^{III} komplexu, což naznačuje, že kobalt hraje v této skupině sloučenin klíčovou roli [81].

Potvrzena byla také značná cytotoxicita proti buněčné linii A549 a zdravých VERO buňkách (epiteliální jaterní buňky opice) a síla cytotoxicity korespondovala s výsledky studií vazby komplexů na DNA, tedy nejúčinnější byl komplex $[\text{Co}(\text{Ph-acacen})(\text{DA})_2](\text{ClO}_4)$. Po 24 hodinách od aplikace komplexu byla stanovena čtyřnásobně vyšší aktivita než pro cisplatinu, ovšem po 72 hodinách už byly účinky srovnatelné. Komplexy vůči zdravým buňkám toxické nebyly. V neposlední řadě bylo kombinací metod prokázáno, že komplexy indukují v nádorových buňkách apoptózu.

Čím se však tato série Co^{III} komplexů liší od dříve publikovaných, je v jejich antiangiogenetické aktivitě. Angiogeneze je pojem pro růst cév z již existujících a její potlačení v nádorových buňkách brání růstu celého tumoru. Pro zjištění angiogenetických účinků se používá tzv. CAM test (z anglického *chorioallantoic membrane*, chorioalantoidální membrána). Tato membrána (používá se kuřecí) vytváří přirozené prostředí pro růst cév a používá se při *in vivo* testování [88]. CAM byla ošetřena komplexy a po uplynutí 6 hodin bylo patrné, že růst cév byl značně potlačen a opět komplexy obsahující fenylové funkční skupiny měly tento účinek největší [87].

Téměř paralelně s výše zmíněnými komplexy byly rovněž studovány Co^{III} komplexy, avšak obsahující Schiffovy báze *salen* (vzniklá reakcí salicylaldehydu a ethylendiaminu) či *salophen* (vzniklá reakcí salicylaldehydu a *o*-fenylendiaminu) a v axiálních polohách mají koordinovaný dodecylamin. Látky prošly mnoha testy shodnými s těmi u výše zmíněných komplexů a obecně se dá konstatovat, že komplex obsahující ligand *salophen* vykazoval lepší výsledky při antiangiogenetických i protinádorových testech a také u něj byla zjištěna vyšší vazebná afinita k DNA [86].



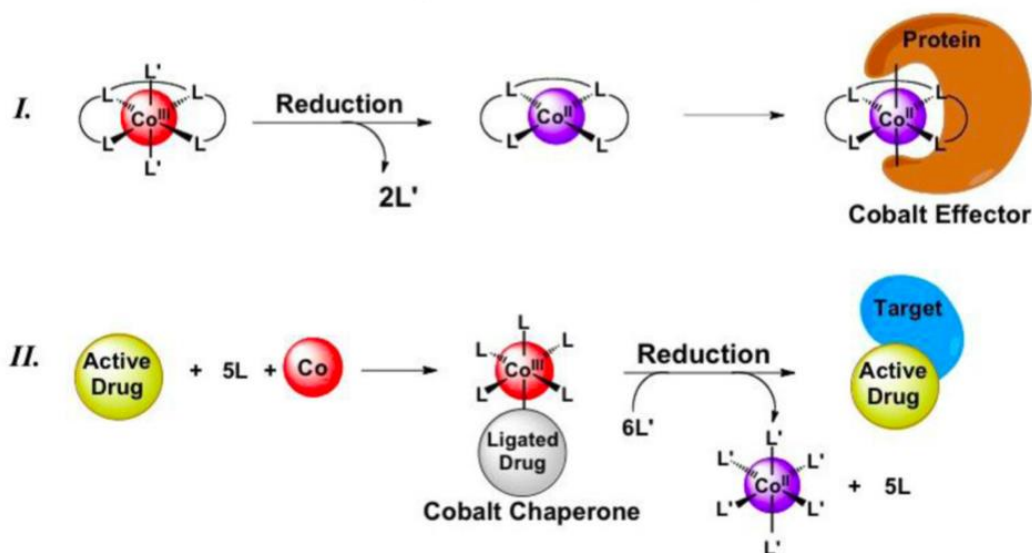
Obrázek 16: Strukturální vzorec Co^{III} komplexů se Schiffovou bází. $R' = -\text{CH}_3$; $L = \text{heptylamin}$, $R' = -\text{CH}_3$; $L = \text{dodecylamin}$, $R' = -\text{C}_6\text{H}_5$; $L = \text{heptylamin}$, $R' = -\text{C}_6\text{H}_5$; $L = \text{dodecylamin}$. [87]

2.2.3 Co^{III} komplexy – systémy dopravující léčivo

Již byl komentován způsob působení $\text{Co}(\text{III})$ komplexů reagujících na výměnu ligandu, zde řadíme například DoxovirTM, kde dochází k substituci 2-methylbenzimidazolu za histidinový zbytek proteinu viru. Tato kapitola se zabývá jiným mechanismem působení – bioreduktivními $\text{Co}(\text{III})$ komplexy.

Při chemoterapii často dochází k nežádoucím vedlejším účinkům, léčivo nemusí selektivně interagovat s žádanou buňkou, tyto účinky mohou být eliminovány aplikací proléčiva. Používají se jako tzv. systémy dopravující léčivo (*drug delivery systems*). Proléčivo je schopno inaktivovat léčivo a specificky jej dopravit do určitého cíle. Tento způsob umožňuje zlepšení

terapeutických účinků [89]. Proléčivo se po podání metabolizuje na farmakologicky aktivní formu, jednou z forem metabolizace kromě například ionizujícího záření nebo světla je redukující prostředí uvnitř buňky díky nízkému redoxnímu potenciálu cytosolu (nádorové buňky mají často nízký parciální tlak kyslíku než buňky zdravé). Vhodnými proléčivy jsou Co(III) komplexy, protože jejich redoxní potenciál může být laděn modifikací ligandové sféry (–0,2 V až –0,4 V) a tyto hodnoty jsou blízké hodnotě potenciálu cytosolu a tudíž může dojít k redukci. Další důležitou vlastností komplexů kobaltu je rozdíl v lability mezi Co(III) a Co(II) komplexem. Kobaltité komplexy (d^6) jsou inertní, zatímco kobaltnaté komplexy (d^7 , vysokospinové) jsou labilní a velmi rychle podléhají substituci ligandu. Obrázek 17: Redukcí aktivované komplexy kobaltu a jejich mechanismy působení: I. uvolnění efektoru, II. hypoxií řízený děj [34] naznačuje dva způsoby mechanismu působení: I. uvolnění bioaktivního kobaltnatého komplexu – efektoru (sloučeniny, selektivně se vážící na proteinový komplex, ovlivňující jeho biologickou funkci, přestože není jeho součástí), II. uvolnění malé molekuly (léčiva), které bylo koordinací na Co(III) deaktivováno, jedná se o hypoxií řízený děj [34, 90].



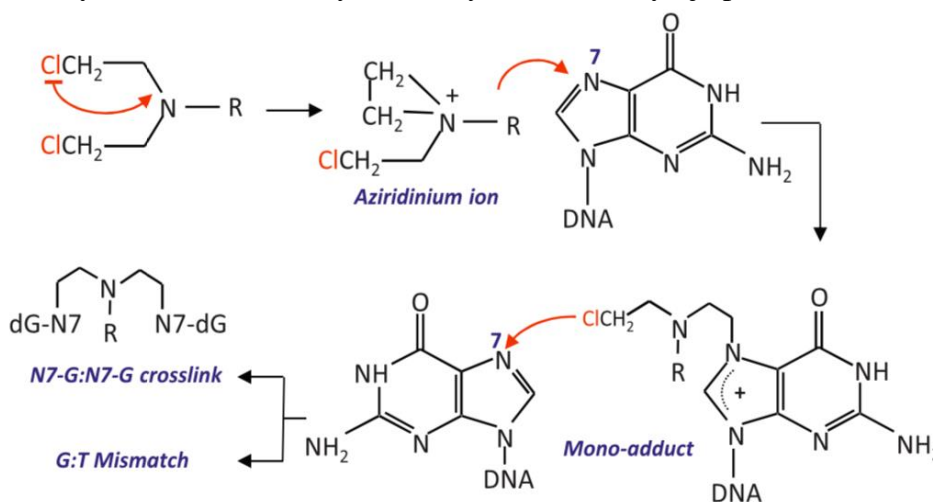
Obrázek 17: Redukcí aktivované komplexy kobaltu a jejich mechanismy působení: I. uvolnění efektoru, II. hypoxií řízený děj [34]

Studovaným efektozem byl komplex $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{LB})_2]\text{ClO}_4$, kde LB = 2,4-dijodo-6-((pyridin-2-ylmethylamino)methyl)fenol. Sledována byla jeho interakce s 26S proteazomem a byla potvrzena inhibice tohoto proteinového komplexu. Spolu s Co(III) komplexem byl studován i vliv Co(II) analogu a překvapivě se ukázalo, že inhibice proteinu je výraznější než komplexu Co(II). Je to vysvětlováno intracelulární redukcí Co(III) komplexu za vzniku Co(II) komplexu a s tím spojenou disociací ligandu a interakcí s proteazomem [91].

Intenzivněji studovaným mechanismem účinku je redukce Co(III) komplexů v hypoxickém prostředí. Hypoxie je stav, kdy buňka nemá dostatek přísunu kyslíku (má nízký parciální tlak) a má zvýšené hladiny redukčních činidel a enzymů reduktáz. Tyto podmínky jsou charakteristické pro pevné tumory, velmi zřídka se objevují u zdravých buněk. Pro cílenou dopravu léčiv jsou hypoxické buňky vhodnými cíli, protože vlivem hypoxie se stávají rezistentními vůči chemoterapeutikům nebo radioterapii. Organické proléčivo navázáno na Co(III) je deaktivováno blokováním aktivního místa nebo koordinací na volný elektronový pár, takto

je získáno inertní prolečivo. V hypoxickém prostředí je Co(III) redukováno na Co(II) a skrze ligandovou výměnu je uvolněno léčivo. Ve zdravých buňkách by tedy docházelo k reoxidaci na neaktivní Co(III) prolečivo, avšak v hypoxických buňkách dochází k vratné oxidaci velmi pomalu a uvolněné léčivo může v místě svého působení účinkovat [92, 93]. Tímto léčivem je celá řada sloučenin, například inhibitor matrixové metaloproteinázy marimastat či tzv. *mustard agents*.

Mustard agents (dusíkaté yperity) jsou sloučeniny s obecným vzorcem $(XC_2H_2C_2H_2)_2NR$ obsahující ve své struktuře dvě β -haloalkylová ramena (často chlorethylamin) [94], R představuje většinou organickou molekulu, případně vodík. Tyto sloučeniny byly použity jako cytostatika již ve 40. letech minulého století [95]. Po redukcí Co(III) komplexu se dusíkatý yperit uvolní a vytvoří se aziridiniový ion, který následně alkyluje purinové báze DNA.



Obrázek 18: Mechanismus účinku dusíkatých yperitů s naznačením tvorby aziridiniového iontu [96]

Byla popsána celá řada Co(III) komplexů s tímto koordinovaným typem sloučenin. Často se jedná o Co(III) komplexy s acetylacetonátovým či tropolonátovým (2-hydroxy-2,4,6-cykloheptatrien-1-on) ligandem. Na tyto komplexy jsou koordinovány dusíkaté yperity, bis(2-chloroethyl)amin, *N,N'*-bis(2-chloroethyl)ethylendiamin, *N,N*-bis(2-chloroethyl)ethylendiamin nebo *N,N*-bis(2-chloroethyl)diethylentriamin, ale i aziridiniový ion či jiné organické molekuly [97–100]. Výrazné účinky vykazoval komplex $[Co(DCE)(Meacac)_2]ClO_4$, DCE = *N,N*-bis(2-chloroethyl)ethylendiamin, který byl testován na ovariálních fibroblastových buňkách Křečka čínskému a bylo zjištěno, že hypoxická selektivita byla 20,3× vyšší u buněk kultivovaných v hypoxickém prostředí než při aerobních podmínkách [101].

Co(III) komplexy mohou být použity také pro tvorbu komplexu s marimastatem (patřící do skupiny hydroxamových kyselin). Marimastat je inhibitor matrixových metaloproteináz (MMP). MMP štěpí bílkoviny extracelulární matrix a jsou důležité při regeneraci tkání, tvorbě jizev, ale také se podílejí na chorobných stavech, jakými jsou artritida či metastázy nádorů. MMP mají ve své katalytické doméně atom Zn(II), který je vázán na tři histidinové zbytky proteinu a další dvě koordinační místa jsou volná pro aktivovanou formu substrátu. V nádorových buňkách jsou MMP nadměrně exprimovány a jejich inhibice může být vyvolána právě marimastatem. Jedná se o léčivo, které již vstoupilo do třetí fáze klinického testování,

avšak výsledky nebyly v porovnání s jinými inhibitory MMP příliš povzbudivé. Proto byl navržen odlišný způsob dopravení marimastatu do nádorových buněk, a to pomocí Co(III) komplexu v hypoxickém prostředí. Byl studován komplex $[\text{Co}(\text{mmst})(\text{tpa})]\text{ClO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, kde mmst = marimastat, tpa = tris(2-methylpyridin)amin. Na závěr této studie bylo zjištěno, že komplex $[\text{Co}(\text{mmst})(\text{tpa})]\text{ClO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ vykazoval lepší účinky inhibice růstu tumoru než samotný marimastat. Přestože byly inhibiční účinky marimastatu prokázány již dříve [Hidalgo], tato studie tyto výsledky nepotvrdila. Není rovněž známo, že by inhibiční účinky vykazoval Co(III)-tpa komplex či tpa ligand. Autoři tyto odlišné výsledky vysvětlují na základě odlišného způsobu vyhodnocování získaných dat [103].

DNA interkalátory jsou další skupinou látek, které byly použity v systému s Co(III) komplexem k jejich cílené dopravě. Aktivita byla studována pro komplexy Co(III)-cyclen (cyclen = 1,4,7,10-tetraazacyklododekan) s ligandem 1-(chloromethyl)-5-hydroxy-3-(5,6,7-trimethoxyindol-2-ylkarbonyl)-2,3-dihydro-1*H*-pyrrolo[3,2-*f*]chinolin uvolňujícím se v hypoxickém prostředí, buď ionizujícím zářením nebo buněčnými enzymy. Tento ligand byl vybrán z důvodu tvorby stabilnějších chelátů přechodných kovů s vhodnými pomocnými ligandy jako je právě cyclen. Uvolňující se ligand (cytotoxin) vykazoval dobré výsledky při testování na lidském adenokarcinomu plic – $\text{IC}_{50} = 0,06 \text{ nM}$. Také se potvrdilo, že proléčivo je méně toxické než uvolňující se cytotoxin. Proléčivo také vykazuje hypoxickou buněčnou selektivní toxicitu než při aerobních podmínkách, hypoxický cytotoxický poměr (poměr hodnot IC_{50} v aerobních a hypoxických podmínkách) činil 7,5. Tato toxicita byla navýšena záměnou 5,6,7-trimethoxy skupiny za dimethylaminoethanol (hypoxický cytotoxický poměr činil 41) [93, 104].

Pro objasnění aktivačního procesu byly použity fluorofory, které jsou bioaktivní, schopny mimikovat vazbu cytotoxinů a jejich fluorescence je po koordinaci na Co(III) zhasána. Po jejich uvolnění z Co(III) komplexu je opět jejich fluorescence pozorována. Byly studovány komplexy $[\text{Co}(\text{c343})_2(\text{cyclam})]\text{ClO}_4$, cyclam = 1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan, c343H = kumarin-343 a $[\text{Co}(\text{c343ha})(\text{tpa})]\text{ClO}_4$, c343haH₂ = kumarin-343 hydroxamová kyselina, tpa = tris(2-methylpyridin)amin. Po přidání redukčních činidel (askorbát, příp. cystein) bylo pozorováno částečné navrácení fluorescence, což je v souladu s předpokladem, že mechanismus procesu funguje skrze ligandovou výměnu, zatímco askorbát, příp. cystein se navazují na komplex kobaltu. Studium bylo prováděno v aerobních i anaerobních podmínkách. Při aerobních podmínkách by fluorescence měla být značně pomalejší, protože komplex bude ihned zpětně oxidován. Toto ale při studii pozorováno nebylo, což znamená, že hladina kyslíku neovlivňuje rychlost uvolňování ligandu z komplexu a tím je opět potvrzen mechanismus pomocí ligandové výměny. Komplexy byly studovány na buněčné linii A2780, cytotoxicita komplexů byla vyšší než pro samotný kumarin, z čehož plyne, že Co(III) komplex dodáním kumarinu do buňky zvyšuje jeho schopnost buňky zabít [105]. Také byl sledován vliv Co(III)-tpa komplexu na způsob dopravy kurkuminu do buněk. Kurkumin vázaný na komplex kobaltu byl v buňce rovnoměrně distribuován, zatímco volný kurkumin se v buňce hromadil po okrajích buňky [106].

2.2.4 Heterobimetalické komplexní sloučeniny

Heterobimetalické sloučeniny se v průběhu let staly důležitou skupinou látek se zajímavými vlastnostmi, protože dokážou využít kombinace vlastností jednotlivých kovů. Přestože je syntéza těchto látek obtížnější než u jejich jednojaderných či homometalických analogů, našly tyto komplexy své využití při homogenní katalýze díky kooperativnímu efektu kovů s odlišnými elektronovými a koordinačními vlastnostmi, ale také na poli medicínského výzkumu. Heterobimetalické komplexy působí díky dvěma odlišným kovům různými mechanismy a cílí na odlišné složky biologických systémů, čímž se zvyšuje jejich účinnost. Testováním již prošla celá řada komplexů, jako příklad lze uvést optická terapeutická činidla $\text{Re}^{\text{I}}\text{-Au}^{\text{I}}$ [107], luminiscenční sondy $\text{Au}^{\text{I}}\text{-Ru}^{\text{II}}$ [108] či $\text{Pt}^{\text{IV}}\text{-Ru}^{\text{II}}$ komplexy s protinádorovými účinky [109], jednou z nedávných publikací je studie zabývající se komplexy $\text{Ti}^{\text{IV}}\text{-Au}^{\text{I}}$, u které byla zjištěna značná protinádorová aktivita vůči světlobuněčnému renálnímu karcinomu [110].

Kromě katalýzy či medicínských aplikací se některé heterobimetalické komplexy železa či kobaltu používají jako ochranné vrstvy pro různé materiály jako je například ocel [111], avšak velké množství těchto komplexů se také používá jako magnetické materiály, které nacházejí své uplatnění jako molekulové přepínače, paměťové jednotky či optické displeje. Zejména magnetochemie Fe^{III} komplexů je velmi zajímavá, a proto se tyto látky staly předmětem zájmu mnoha vědeckých skupin. Bylo syntetizováno rozmanité množství heterobimetalických sloučenin tohoto typu, u kterých byly sledovány jejich magnetické vlastnosti [112, 115]. Zahrnujeme zde i látky vykazující křížení spinových stavů. Komplexy Fe^{III} tvoří podstatnou část těchto látek a mezi nimi také jejich $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Co}^{\text{III}}$ komplexy [116].

2.2.4.1 Komplexní sloučeniny $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Co}^{\text{III}}$

Jedním z mála komplexů tohoto typu je komplex $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-Co}^{\text{III}}$ se Schiffovými ligandy a kyanidovým aniontem jako můstkem mezi kovy, u kterého sice nebyly sledovány biologické účinky, avšak tato sloučenina může být použita jako stavební blok pro analogy pruské modři (PBA) [117].

PBA jsou sloučeniny mající rozličné mechanické, elektrochemické a spektrochemické vlastnosti s obecným vzorcem $\text{M}^{\text{A}}_a[\text{M}^{\text{B}}(\text{CN})_b]_c$, kde kovy (jedním z nich je vždy Fe) mají odlišná oxidační čísla. Byly již publikovány analogy s některými přechodnými kovy a tyto látky nacházejí své uplatnění mimo jiné jako biosenzory, zejména pak glukózové biosenzory. Obecně se jedná o elektrodu, která může být tvořena z platiny, skelného uhlíku, uhlíku, TiO_2 či grafitu a na něj je elektrochemicky deponován PBA ve formě filmu. PBA je ještě chráněno vrstvou polymeru, aby nedocházelo k solubilizaci PBA při vyšších pH. Na elektrodu se imobilizuje enzym, v tomto případě glukóza oxidáza, přeměňující glukózu na glukolakton, přičemž zároveň dochází k redukci kyslíku na peroxid vodíku. Množství glukózy se pak stanovuje detekcí uvolněného peroxidu vodíku, a proto se tento typ biosenzorů používá při testování krve diabetických pacientů [118, 119].

Je potřeba také zmínit medicínské využití samotné pruské (berlínské) modři $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$. Pruská modř se používá jako antidotum pro thalné a cesné ionty, tato léčba spočívá v tzv. teorii tvrdých a měkkých kyselin a bází. Pruská modř obsahuje kyanidové anionty, které jsou měkkými bázemi, mají tedy vysokou afinitu k měkkým kyselinám, jakými jsou i thalné (cesné)

ionty. Pruská modř ionty naváže, vytvoří se stabilní produkt s pevnou kovalentní vazbou, produkt je vylučován z organismu a takto dochází k detoxifikaci [120].

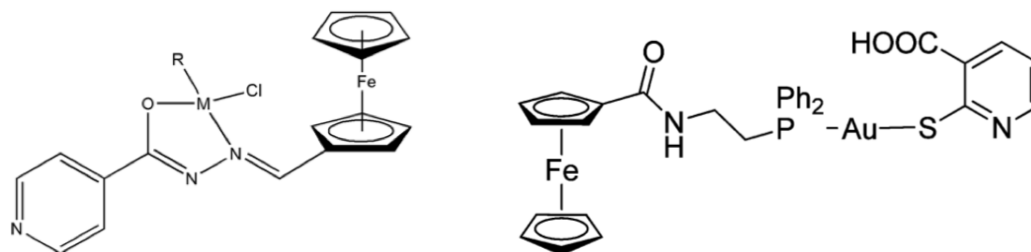
2.2.4.2 Komplexní sloučeniny Fe^{III} a dalšího kovu

V této kapitole bude diskutováno pouze několik vybraných zástupců tohoto typu sloučenin, kde jedním z centrálních atomů je Fe^{III} a druhým centrální atom ze skupiny přechodných prvků. Jsou však také zmíněny i železité heterobimetalické komplexy s lanthanoidy. Obsáhlejší skupinu tvoří heterobimetalické komplexní sloučeniny obsahující ve své struktuře ferrocen.

Studovány byly ferrocenyly se Schiffovými ligandy odvozenými od salicylaldehydu a hydrazinu s centrálními atomy zinku, niklu, mědi a kobaltu. Kobalt byl na rozdíl od ostatních kovů hexakoordinovaný (navíc byly koordinovány dvě molekuly vody), všechny ostatní kovy byly tetrakoordinované. Komplexy byly testovány na MCF-7 buněčné linii a závěrem bylo, že komplex ferrocenyly se Zn^{II} vykazoval biologickou aktivitu srovnatelnou s cisplatinou a všechny další komplexy měly tuto aktivitu nižší [39]. Připraven byl také komplex ferrocenyly s trikarbonyl methylcyklopentadienylmanganem, ovšem výsledky studované antimalarické a antibakteriální aktivity nedosahovaly takových hodnot jako u látek používaných v medicínské praxi [121].

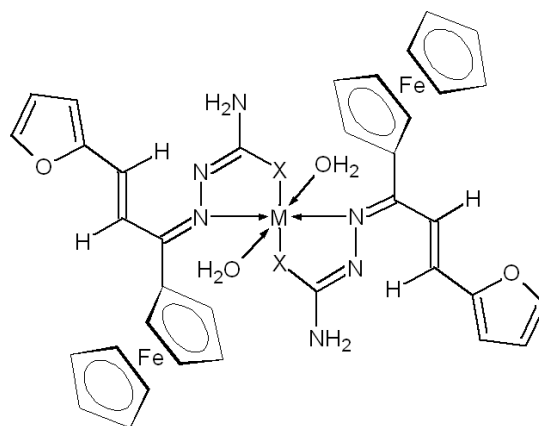
Studovány byly heterobimetalické komplexy Fe^{III} s platinovými kovy (M), příkladem můžeme uvést komplexy s obecnými vzorci $[M^{II}(\text{Trop})(\text{dppf})](PF_6)$ a $[M^{II}(\text{Hino})(\text{dppf})](PF_6)$ s ligandy 1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen (dppf), tropolon (HTrop), hinokitiol (HHino) a kde $M = Pd, Pt$. Z této série komplexů vykazovaly velmi slibné účinky vůči *Trypanosoma brucei* Fe-Pd komplexy, avšak Fe-Pt komplexy byly mnohem méně cytotoxické než v medicínské praxi používaný Nifurtimox [41]. Syntetizovány a testovány byly i mnohé další sloučeniny obsahující platinový kov, například komplexy ferrocenu s isonikotinyllovým ligandem a centrálními atomy Ir, Ru a Rh (Obrázek 19: Strukturní vzorec komplexu Fe-M, kde $M = Ir, Rh$; $R = \text{pentamethylcyklopentadienyl}$ nebo $M = Ru$; $R = p\text{-cymen}$ (vlevo) [Stringer] a strukturní vzorec Fe-Au komplexu s ligandy amido-fosfinem a 2-merkaptonikotinovou kyselinou (vpravo) [40]), avšak testování nepřineslo uspokojivé výsledky [122].

Také testování heterobimetalických komplexů ferrocenylů s amido-fosfinovými ligandy a centrálním atomem zlata přineslo pozitivní výsledky. Především pak komplex s 2-merkaptonikotinovou kyselinou (Obrázek 19: Strukturní vzorec komplexu Fe-M, kde $M = Ir, Rh$; $R = \text{pentamethylcyklopentadienyl}$ nebo $M = Ru$; $R = p\text{-cymen}$ (vlevo) [Stringer] a strukturní vzorec Fe-Au komplexu s ligandy amido-fosfinem a 2-merkaptonikotinovou kyselinou (vpravo) [40]) vykazoval téměř 13× vyšší aktivitu než Auranofin (testováno na embryonálních fibroblastech myši) a dále 2× vyšší protinádorovou aktivitu na buněčné linii A549 a HepG2 než cisplatina [40].



Obrázek 19: Strukturální vzorec komplexu $Fe-M$, kde $M = Ir, Rh$; $R = \text{pentamethylcyklopentadienyl}$ nebo $M = Ru$; $R = p\text{-cymen}$ (vlevo) [Stringer] a strukturální vzorec $Fe-Au$ komplexu s ligandy amido-fosfinem a 2-merkaptopyridinovou kyselinou (vpravo) [40]

Komplexní sloučeniny obsahující Fe -lanthanoid slouží jako kontrastní látky pro magnetickou rezonanci, a to například komplex $Fe^{III}-Gd^{III}$, konkrétně $[Fe(NTA)]_2-[Gd-DTPA(HTA)_2]$, kde NTA = nitrilotrioctová kyselina, DTPA = diethylentriamin- N,N,N',N'',N''' -pentaoctová kyselina, HTA = bis(3-hydroxytyramid) [123], ovšem některé komplexy byly studovány i pro jejich antibakteriální účinky. Zde lze zmínit sérii komplexů ferrocenylů s chalkonovými rameny a Schiffovými bázemi, u kterých byla sledována vyšší antibakteriální aktivita vůči kmenu *Staphylococcus aureus* než pro tetracyklin, a to konkrétně u komplexu ferrocenylu s Nd^{III} . Mimo Nd^{III} byly připraveny z této série analogické sloučeniny s Bi^{III} , tento komplex rovněž oproti tetracyklinu vykazoval lepší antibakteriální účinky vůči kmenu *Staphylococcus aureus*. Také se testovala protinádorová aktivita u buněčné linie A549 a nejlepší výsledky vykazoval komplex ferrocenylu a Cd^{II} , který byl prakticky zcela netoxický vůči zdravým buňkám (Obrázek 20) [124].



Obrázek 20: Strukturální vzorec komplexu $Fe-M$, kde $M = Bi^{III}$, $X = O$; $M = Cd^{II}, Nd^{III}$, $X = S$ (upraveno z [124])

2.2.4.3 Komplexní sloučeniny Co^{III} a dalšího kovu

Komplexních sloučenin této podskupiny heterobimetalických komplexů, které by vykazovaly biologické účinky, je velmi málo. Avšak můžeme zde zařadit konjugáty vitamínu B_{12} s některými kovy. Menší podskupinu těchto konjugátů tvoří radiofarmaka, konkrétně se jedná například o kyanokobalamin tvořící heterobimetalický komplex skrze kyanidovou skupinu s radioaktivně značeným metastabilním izotopem ^{99m}Tc , koordinační sféru doplňují tři molekuly karbonylů a zbytek pak dva donorové atomy kyseliny pikolinové (případně

dipikolinové) [125]. Obdobným komplexem, mající vysokou akumulaci schopnost v nádorových buňkách, je opět komplex kyanokobalamin-^{99m}Tc, ovšem zde vystupuje jako můstkový ligand mezi Tc a kobalaminem (4-amido-butyl)pyridin-2-yl-methyl-aminoocetová kyselina, která však je navázána na jeden z postranních řetězců corrinového cyklu kobalaminu. Látka byla testována a tato studie prováděná na pacientech potvrdila její schopnost selektivního zobrazování nádorů napříč širokému spektru různých nádorových tkání, navíc vykazuje nízkou absorpci ledvinami [126]. Komplex byl také studován pro jeho účinky vůči *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*, na které se váže skrze specifické receptory a může tak fungovat jako selektivní radiofarmaceutikum pro zobrazování infekcí [127].

Ruiz-Sánchez a kol. publikovali studii zabývající se konjugáty kyanokobalaminu s Pt^{II} fungujícími jako proléčiva (B₁₂-CN-Pt^{II}), určená k cílené dopravě k rychle se dělícím buňkám, kde Pt^{II} je navázáno skrze dusík kyanidové skupiny, která slouží jako můstkový ligand mezi oběma systémy. Po aplikaci B₁₂-CN-Pt^{II} do organismu dochází pomocí adenosylace k přeměně kobalaminu na adenosylkobalamin (Co^{III} se redukuje na Co^{II}) a během toho se uvolňuje Pt^{II} komplex. Tyto Pt^{II} komplexy jsou strukturně příbuzné cisplatině, avšak obsahují ve své struktuře kyanid. Jejich reaktivita se testovala na nukleotidech, jakožto modelech pro vazbu cisplatinu (a jejích analogů) na DNA, konkrétně na 2'-deoxyadenosin. Potvrdil se vznik aduktu, v nadbytku 2'-deoxyadenosinu pak bi-aduktů, což nasvědčuje, že tyto systémy (obdobně jako cisplatinu) cílí na molekuly DNA. Systémy B₁₂-CN-Pt^{II} byly podrobeny dalšímu testování cytotoxicity a výsledky odhalily, že nejsou zcela srovnatelné s těmi pro cisplatinu. Je nutno ale brát v úvahu, že toxicita konjugátů souvisí s jejich koncentrací v intracelulárním prostoru, jejichž schopnost vniku do buňky může být mnohem nižší než pro cisplatinu. S tím souvisí i množství konjugátů navázaných na transkobalamin II (transportní protein pro kobalamin), protože konjugáty nenavázané na tento protein se do buňky nedostanou. Také se potvrdilo, že s přidávkem transkobalaminu II se zvýšila i cytotoxicita konjugátů [128, 129].

Za zmínku stojí i luminiscenční sondy se strukturním vzorcem [Co(bpy)₂(ODHIP)Zn]⁵⁺ s 2,2'-bipyridylovým (bpy) a dihydroxyimidazo-fenantrolinovým (ODHIP) ligandem. Bylo prokázáno, že jednojaderný Co^{III} komplex luminiscenční vlastnosti nemá, avšak po jeho koordinaci se Zn^{II} se stává luminiscenčním činidlem, přičemž právě množství Zn^{II} bylo limitujícím faktorem intenzity emise, tedy s rostoucím množstvím Zn^{II} intenzita vzrůstala [130].

2.3 Radikálová chemie

Za zakladatele radikálové chemie se považuje americký chemik ukrajinského původu Moses Gomberg, který v roce 1900 izoloval první radikálovou sloučeninu – trifenylmethyl radikál [131]. Na jeho práci dále navázal německý chemik Wilhelm Schlenk. Jeho jméno je spojováno se Schlenkovou baňkou či Schlenkovou linkou používaných při zacházení s látkami citlivými na vlhkost či vzduch, jakými jsou právě mimo jiné i radikálové sloučeniny.

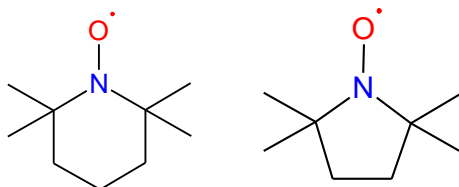
IUPAC (z anglického *International Union of Pure and Applied Chemistry*, Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii) definuje pojem radikál jako molekulární entitu mající nepárový elektron, který je značen tečkou a pokud je to možné, ve vzorci by tato tečka měla být umístěna u atomu s nejvyšší spinovou hustotou [132]. Radikál se tvoří při homolytickém štěpení vazby

a radikálové reakce můžeme rozdělit na radikálovou substituci a adici, přičemž tyto reakce jsou, co se týče mechanismu, rozděleny do třech fází – iniciace, propagace a terminace [133].

Radikály jsou součástí mnoha procesů, jejich transformace je spojená například se stabilizací plastů, kaučuků, prevencí oxidační degradace potravin a léčiv, dále pak při biochemických procesích radikály vznikají jako meziprodukty, konkrétně při syntéze prostaglandinů, degradaci lipidů peroxidem či transportu elektronů. Obecně však jsou radikály získávány pomocí redoxních reakcí, ionizujícího záření, teplem, elektrickým výbojem nebo elektrolýzou [134].

Mnoho radikálů je nestabilních a mají velmi krátký poločas živostnosti, takovým příkladem mohou být reaktivní formy kyslíku, kam zahrnujeme superoxid, peroxy, hydroperoxy a hydroxylový radikál. Tyto velmi reaktivní entity (díky nepárovému elektronu) ihned reagují s okolními molekulami, jakými jsou lipidy, aminokyseliny, proteiny, nukleotidy, koenzymy a mnohé další, čímž narušují jejich struktury, a to vede ke vzniku patologických jevů v organismech. Reaktivní formy kyslíku (případně i dusíku) musejí být v těle vychytávány tzv. antioxidanty, kterými jsou například vitamíny nebo karotenoidy.

Mezi stabilní radikály zařazujeme především organické radikály a velkou skupinu tvoří *N*-oxyly. Prvním izolovaným stabilním radikálem byl 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl, známý pod zkratkou TEMPO a izolovali jej v roce 1960 Lebedev a Kazarnovskii [135]. Další významným *N*-oxylem je 2,2,5,5-tetramethylpyrrolidin-1-oxyl (PROXYL) Tyto látky slouží jako markery biologických systémů pro elektronovou paramagnetickou rezonanci nebo reagenty při organických syntézách [134] a (nejen) jejich stabilita je dána třemi základními parametry – přítomností skupin poskytujících elektrony (alkyly, hydroxyly či aminy), delokalizací a sterickým bráněním v okolí radikálu [136].



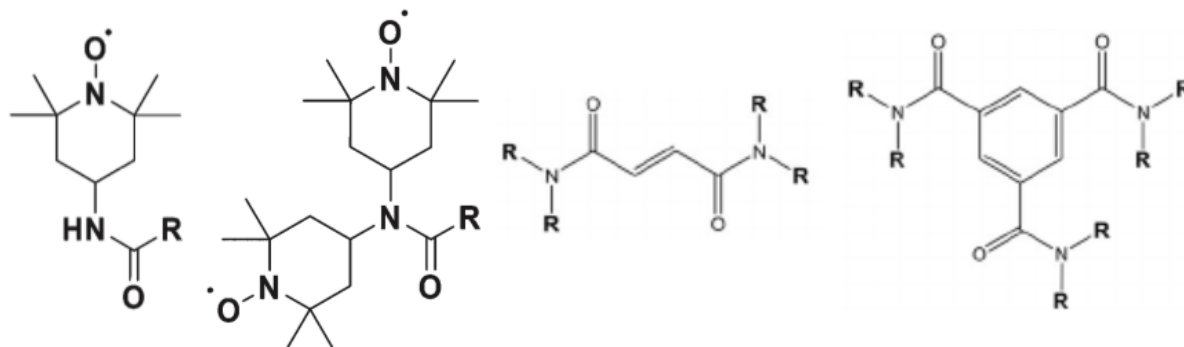
Obrázek 21: Strukturální vzorec TEMPO (vlevo) a PROXYL (vpravo)

2.3.1 Bioaktivní radikálové sloučeniny

Jednou z biologicky aktivních sloučenin je 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (TEMPOL). Jedná se o antioxidant, permeabilní přes membránu, kumulující se v cytosolu, schopný napodobit aktivitu superoxid dismutázy. Bylo prokázáno, že zmírňuje nefrotoxicitu u krys, vyvolanou při podávání gentamicinu (aminoglykosidové antibiotikum používané na léčbu infekcí produkující ROS). Samotná sloučenina neměla na nefrototoxicitu vliv, avšak po aplikaci v kombinaci s gentamicinem se snížily hladiny močovinného dusíku v krvi a sérového kreatininu, jejichž zvýšené hladiny nefrotoxicitu indukují [13]. Podobná studie byla provedena při testování vlivu na nefrotoxicitu způsobenou vankomycinem (glykopeptidové antibiotikum aktivní vůči grampozitivním bakteriím), avšak zde TEMPOL žádnou aktivitu nevykazoval [137]. U lidských lymfocytů TEMPOL snižuje frekvenci výskytu chromozomálních aberací a záměn chromatidů vyvolaných cisplatinou [14]. TEMPOL v kombinaci s cisplatinou snižuje proliferaci nádorových buněk vaječníků a také se potvrdila zvýšená indukce apoptózy [138].

Poslední studie naznačují, že TEMPOL má slibné protizánětlivé účinky vůči nefrotoxické vyvolané cisplatinou [139]. TEMPOL byl také aplikován při léčbě alopecie (vypadávání vlasů), která je následkem radioterapie. TEMPOL se jeví jako vhodný kandidát pro léčbu alopecie, nevstřebává se do krve a vlasy testovaných pacientů znovu začínaly narůstat po aplikaci vrstvy TEMPOL v podobě ethanolického roztoku před každým ozařováním [140].

Testovány pro své antibakteriální a antimykotické účinky byly mono- a biradikály odvozené od PROXYL nebo TEMPO. Biradikály byly propojeny amidovou skupinou, která byla různě substituována (Obrázek 22: Strukturální vzorce biologicky aktivních monoradikálů ($R = H, CH_3$), biradikálů ($R = CH_3, CF_3$) [141], tetradikálu ($R = TEMPO$) a hexaradikálu ($R = TEMPO$)). Lepší výsledky byly prokázány u biradikálů odvozených od TEMPO, které výrazně inhibovaly růst bakterií kmenu *Staphylococcus sp.* Pozorován byl trend v nárůstu inhibice (cca o 9 %) vůči *Staphylococcus epidermidis* u sloučenin, které byly na amidové skupině substituovány skupinami odebírající elektrony ($-CF_3$). Testované sloučeniny nebyly aktivní vůči kvasinkám ani plísním [141]. Aktivní proti *Staphylococcus sp.* byly i tetradikál a hexaradikál, opět odvozeny od TEMPO [142]. TEMPO radikály s isothiokyanátovou či isoselenokyanátovou skupinou naopak vykazují značnou antimykotickou aktivitu [143]. Komplexní sloučeniny Pt^{II} s deriváty odvozenými od TEMPO byly již studovány pro svou biologickou aktivitu [144] a rovněž byly připraveny komplexní sloučeniny Co^{II} , Cu^{II} a Nd^{III} s ligandovou sférou 4-amino-TEMPO a 1,1,1,5,5,5-hexafluoroacetylacetonátem, avšak u tohoto typu komplexů nebyla biologická aktivita studována [145].



Obrázek 22: Strukturální vzorce biologicky aktivních monoradikálů ($R = H, CH_3$), biradikálů ($R = CH_3, CF_3$) [141], tetradikálu ($R = TEMPO$) a hexaradikálu ($R = TEMPO$) [142]

2.3.2 Elektronová paramagnetická rezonance

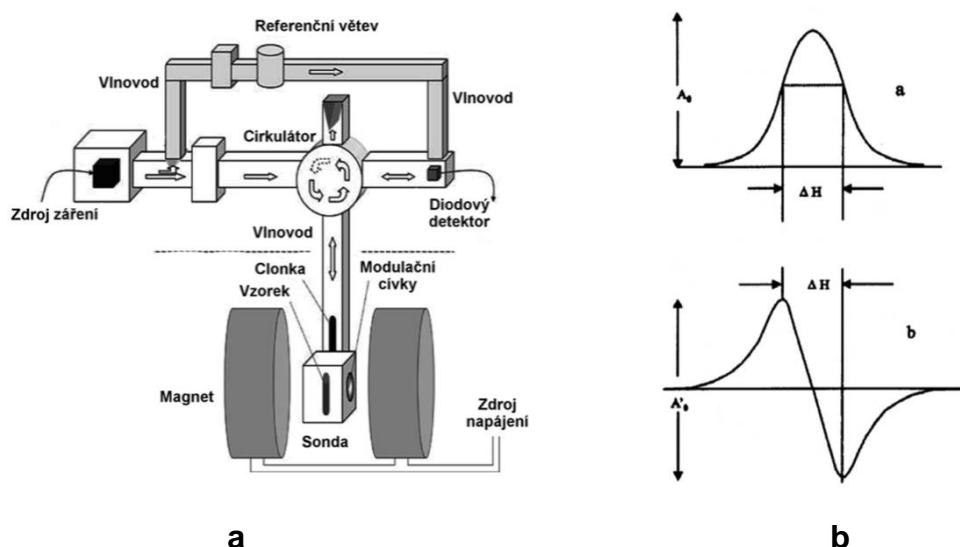
Elektronová paramagnetická rezonance (EPR) je spektroskopická metoda zcela zásadní pro radikálové sloučeniny, protože se zabývá mikrovlnnými přechody mezi energetickými stavy nepárových elektronů se spinem a orbitálním momentem hybnosti. Cílem je kromě potvrzení přítomnosti tohoto typu látek také získat informace o intramolekulárních přenosech, termodynamice a mechanismu výměny spinů. První EPR experimenty provedl v roce 1944 ruský fyzik Jevgenij Zavojskij a také se mu podařilo získat první EPR spektra, konkrétně látek $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $MnSO_4 \cdot H_2O$. EPR se uplatňuje v řadě odvětví, mimo jiné i v biologii při detekci antioxidantů, zjišťování struktury proteinů a metaloproteinů (pomocí spinových značek) [146], ale také jako zobrazovací metoda při detekci kyslíku v mozkové tkáni [147].

Energetická hladina nepárového elektronu zkoumané látky je vlivem vnějšího magnetického pole o indukci B rozštěpena na hladiny (Zeemanův jev) a zároveň je vystavena elektromagnetickému záření o frekvenci $h\nu$, která je rovna rozdílu energetických hladin. Při přechodech mezi Zeemanovsky rozštěpenými hladinami dochází k absorpci nebo emisi fotonu, jehož energie je dána rovnicí (2.2). EPR je založena na měření absorpce tohoto záření při přechodech mezi hladinami, a to buď v závislosti na frekvenci záření nebo magnetické indukci. Tato absorpce bude efektivní jen v případě, že bude splněna rezonanční podmínka (která v tomto případě platí pro systémy s $m_s = \pm 1/2$):

$$\Delta E = h\nu = m_s g_e \mu_B B \quad (2.2)$$

Kde h je Planckova konstanta ($6,626 \times 10^{-34}$ J·s), m_s sekundární spinové kvantové číslo (nabývá hodnot $-s$ až $+s$ jdoucí po jedné, s je spinové kvantové číslo), g_e g-faktor (2,002 32 – pro volný elektron), μ_B Bohrov magneton ($9,274 \times 10^{-24}$ J·T⁻¹) [146].

Schéma instrumentace EPR spektrometru znázorňuje Obrázek 23a. Zdrojem je klystronová trubice, jedná se o zkumavku s vyhřívanou katodou, ze které jsou vyzařovány elektrony přes anodu a odráženy od katody zpět k anodě, čímž je vytvářeno záření a jeho frekvence je dána napětím umístěným na klystron. Vlnovod je dutá mosazná trubice sloužící k přenosu záření ke vzorku a detektoru, zatímco cirkulátor zajišťuje, aby se záření nedostalo zpět ke zdroji. Mezi dvěma magnety je umístěna dutina pro vzorek, často se používá dutina pro dva vzorky, přičemž jedna z nich slouží pro referenční materiál.



Obrázek 23: a) Instrumentace EPR spektrometru [148], b) EPR absorpční křivka (nahore) a její první derivace (dole) [146]

Vzorek je v plynném, kapalném nebo pevném skupenství umístěn do křemenné kapiláry. Dutina se vzorkem je umístěna v prostoru s největší intenzitou magnetického pole, kde dochází k interakci. Magnety po stranách vzorku vytvářejí stabilní pole, kterého je dosahováno pomocí napájení a opatrnými změnami intenzity pole se získává EPR spektrum. Modulační cívky umístěné okolo dutiny vytvářejí malé oscilující magnetické pole, čímž se zlepšuje detekce

signálu (výsledný signál je první derivací absorpčního signálu – Obrázek 23b) a ten je detekován pomocí krystalového polovodičového detektoru [149].

2.4 Shrnutí teoretické části vzhledem k cílům diplomové práce

Cílem experimentální části této diplomové práce je příprava potenciálně biologicky aktivních sloučenin se zaměřením na komplexy Fe(III) a Co(III). U tohoto typu sloučenin již byla v minulosti prokázána značná biologická aktivita, především pak u Fe(III) komplexů [33, 48, 50, 56], v menší míře pro Co(III) komplexy, což pravděpodobně souvisí s jejich kinetickou stabilitou [81, 87]. Proto jsou Co(III) komplexy používány jako tzv. systémy dopravující léčivo, což je zcela zásadní pro pevné tumory s hypoxickým prostředím, rezistentními vůči chemoterapeutikům i radioterapii [90, 92]. Byla však také potvrzena biologická aktivita pro Co(III) komplex s pentadentátní Schiffovou bází odvozenou od kondenzace naftaldehydu s *N*-(2-aminoethyl)-1,3-propandiaminem vůči karcinomu vaječníku [150] a tato práce byla inspirací pro přípravu nových Co(III) a Fe(III) komplexních sloučenin odvozených od Schiffovýchází.

V teoretické části je zmíněna antimikrobiální i protinádorová aktivita radikálových sloučenin odvozených od TEMPO [141, 142]. Z tohoto důvodu byla jedním z cílů experimentální části příprava periferně funkcionalizovaných sloučenin tímto typem radikálových sloučenin, následně tyto ligandy navázat na centrální atom Co(III) a pomocí elektronové paramagnetické rezonance (EPR) studovat jejich interakce a šíření v tkáních.

Funkcionalizace byla také prováděna vybranými organickými substituenty, jejichž zavedení do molekuly může vést k vazbě s receptory (za účelem jejich inhibice) nebo jinak interagovat s biomolekulami. Rovněž tato substituce vede k vytvoření vhodného koordinačního místa pro další centrální atom a lze tak připravit heterobimetalické komplexní sloučeniny. V teoretické části je sice vzpomenuáno několik případů biologicky aktivních heterobimetalických sloučenin Fe(III) nebo Co(III) a dalšího kovu [39, 41, 128], avšak tato část výzkumu je značně upozaděna v porovnání s jejich jednojadernými analogy či heterobimetalickými komplexy ostatních kovů, zejména pak platinových kovů [107, 109].

V rešerši jsou také popsány výsledky biologických testování některých komplexů Fe(III) i Co(III) odvozených od Schiffovýchází, byla potvrzena jejich protinádorová či antimikrobiální aktivita [86, 87], ale také způsobilost jejich použití jako fotosenzibilizátorů pro fotodynamickou terapii [71]. Z těchto důvodů byly připravené periferně substituované deriváty salicylaldehydu použity na přípravu polydentátních Schiffovýchází ligandů, které byly využity pro přípravu komplexních sloučenin Fe(III) a Co(III).

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem experimentální části diplomové práce bylo připravit sérii ligandů vzniklých periferní substituací výchozího prekursoru. Těmito prekuzory byly methylchlorované salicylaldehydy, u kterých se substituoval atom chlóru, a to organickou molekulou či organickou radikálovou skupinou. Je nutno dodat, že přestože většina těchto substituujících látek byly komerční produkty, některé organické reaktanty byly v rámci diplomové práce připraveny. Takto připravené ligandy byly dále podrobeny reakcím s primárními aminy za vzniku polydentálních Schiffových bází, vhodných pro následné koordinační reakce s vybranými přechodnými kovy, konkrétně atomy železa a kobaltu v oxidačních stavech +III. Navíc byly připraveny některé typy Ni^{II} komplexů, především pak komplexní sloučeniny s radikálovými ligandy. Nikl byl vybrán pro jeho chemickou podobnost s železem a kobaltem, které jsou ale z hlediska oxidačně-redukčních reakcí aktivnější, což je pro radikálové sloučeniny nežádoucí. Připravené sloučeniny byly analyzovány pomocí dostupných analytických metod jako jsou ¹H NMR, LC-MS, EPR, RTG analýza.

3.1 Použité chemikálie a přístroje

3.1.1 Použité chemikálie

Pro chemickou syntézu byly použity následující chemikálie: 5-methylsalicylaldehyd, 5-chlorosalicylaldehyd, paraformaldehyd, kyselina chlorovodíková (35%), kyselina sírová (96%), bis(2-chloroethyl)amin hydrochlorid, 2,2'-(iminodiethan-1,2-diyl)bisftalimid, *N,N,N',N'*-tetraethyldiethylentriamin, benzimidazol, 5,6-dimethylbenzimidazol, 2-fenylimidazol, pyridin-4-amin, K₂CO₃, KI, 2-pikolyamin, 2-pikolylnkarbaldehyd, MgSO₄ (bezvodý), NaBH₄, NaHCO₃, 1,10-fenanthrolin-5,6-dion, imidazol-2-karbaldehyd, kovový sodík, benzofenon, NaOH, bis(2-pyridyl)amin, pyrazol, 2-(pyridin-2-yl)-1*H*-benzimidazol, 4-amino-TEMPO, bis(TEMPO)amin, 3-amino-PROXYL, (PROXYL-TEMPO)amin, bis(3-aminopropyl)amin, 3,3'-diamino-*N*-methylpropylamin, triethyltetramin, *N*-(2-aminoethyl)-1,3-propandiamin, propan-1,3-diamin, Na₂SO₄ (bezvodý), FeCl₃·6H₂O, FeCl₃, CoCl₂·6H₂O, Ni(CH₃COO)₂·4H₂O, tetrafenylboritan sodný, pyridin. Výše uvedené sloučeniny byly zakoupeny od společností Sigma-Aldrich, Lachner, Acros Organics, Tokyo Chemical Industry a Alfa Aesar. Rozpouštědla methanol (MeOH), tetrahydrofuran (THF), triethylamin (Et₃N), diizopropylethylamin (DIPEA), dichloromethan (CH₂Cl₂), chloroform (CHCl₃), acetonitril (ACN), ethylacetát (AcOEt), hexan, diethylether (Et₂O), kyselina octová (99%), NH₃ (koncentrovaný roztok), izopropanol, dimethylformamid (DMF), dimethylsulfoxid (DMSO) byla zakoupena společností Lachner a Penta. Deuterovaný chloroform (CDCl₃) pro ¹H NMR spektroskopii byl zakoupen od firmy Eurisotop. Pro přečišťování připravených sloučenin sloupcovou chromatografií byl použit silikagel 60–200 μm od společnosti VWR Chemicals a TLC destičky (Alugram Sil G/UV od společnosti BDL). Pro vysušování rozpouštědel byla použita molekulová síta Molsic 3Å/1,0–1,5 mm od společnosti Tek Metal San.

3.1.2 Použité instrumentální metody a přístroje

Elektronová paramagnetická rezonance

Princip, instrumentace i využití elektronové paramagnetické rezonance, jakožto stěžejní instrumentální metody pro analýzu radikálových sloučenin, byl již komentován v kapitole 2.3.2. Vzorky byly měřeny v pevné fázi při laboratorní teplotě na přístroji společnosti Joel Ltd., s elektromagnetem JM-PE-3. Spektra byla vyhodnocována v programu EasySpin [151].

Nukleární magnetická rezonance

Principiálně shodná metoda s EPR je nukleární magnetická rezonance (NMR). Odlišují se v tom, že EPR využívá interakce magnetického pole s nepárovými elektrony, zatímco NMR s jádry atomů. Díky tomu lze pomocí NMR studovat většinu organických molekul a biomolekul. Jádra atomů jsou radiofrekvenčním pulzem excitována a následně se sleduje jejich deexcitace. Získáváme signál, tzv. FID (z angl. *free induction decay*), který je následně Fourierovou transformací převeden z časové do frekvenční domény. V NMR spektru sledujeme především chemické posuny signálů (dány chemickým okolím měřeného jádra) a intenzitu signálů (po integraci získáváme počet jader). Štěpení signálu v ^1H NMR spektrech je definováno jako s (singlet), d (dublet), t (triplet), m (multiplet), dd (dublet dubletů), ddd (dublet dubletu dubletů). ^1H NMR spektroskopie byla provedena na přístroji 500 MHz NMR spektrometr Bruker Avance NEO. Všechny měřené vzorky byly rozpuštěny v deuterovaném chloroformu (CDCl_3) a měřené při teplotě 300 K. Spektra byla upravována a vyhodnocována v programech TopSpin a MestreNova.

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí

Chromatografie je separační metoda založená na rozdělování jednotlivých frakcí látky mezi mobilní a stacionární fázi. Na rozdíl od klasické sloupcové chromatografie je součástí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) vysokoúčinná pumpa, zajišťující kontinuální průtok mobilní fáze (organické rozpouštědlo nebo jejich směsi), jako stacionární fáze se běžně používá silikagel. Separované složky látky jsou dále analyzovány pomocí hmotnostní spektrometrie. Hmotnostní spektrometrie je metoda založená na převedení molekul na ionty. Tyto ionty jsou dále rozlišovány na základě jejich odlišeného poměru hmotnosti a náboje (m/z) [152]. Molekuly jsou převedeny na ionty pomocí různých ionizačních technik, zde pro měření komplexních sloučenin bylo použito měkké ionizační techniky – elektrosprejové ionizace (ESI). Vzorky byly měřeny pomocí UHPLC-MS (Dionex/Thermo Scientific) hmotnostního spektrometru s 3D iontovou pastí a zdroji pro ionizaci za atmosférického tlaku (ESI a APCI). Spektra byla vyhodnocována v programu MestreNova.

Rentgenostrukturní analýza

Rentgenostrukturní analýza spočívá v dopadu monochromatického rentgenového paprsku na monokrystal dané látky. Jakmile paprsek na monokrystal dopadá, dochází k jeho difrakci na atomech uložených v rovinách krystalu. Výsledkem je difrakční diagram, který je získán měřením intenzity a polohy difrakcí vůči vzdálenosti krystalu od detektoru a otočení krystalu kolem troch anebo čtyřech os. Ze sesbíraných difrakcí je možné určit symetrii krystalového uspořádání a nejmenší opakující se jednotku, tzv. Bravaisovu základní buňku. Řešením

fázového problému je pak možné získat mapu elektronové hustoty a z ní lze vyřešit polohy atomů a úhly, které svírají vazby mezi nimi. Pro popis trojrozměrné struktury měřené látky, je nutno sbírat soubory difrakčních diagramů ve všech možných orientacích [153]. Molekulové struktury byly určovány na čtyřkruhovém difraktometru Gemini R (Oxford Diffraction). Parametry struktur byly vyhodnocovány v programu Mercury [154].

3.2 Příprava sloučenin

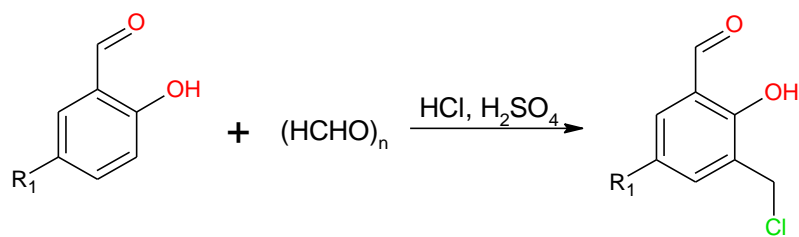
3.2.1 Příprava prekurzorů

Vzhledem k záměru použít na přípravu Fe(III) a Co(III) komplexů periferně substituované polydentátní Schiffovy báze jako ligandy, bylo nezbytné připravit výchozí sloučeniny, díky kterým mohla být periferní substituce na ligand zavedena. Vzhledem k tomu, že Schiffovy báze vznikají reakcí mezi aldehydy a aminy, a také k předpokládané struktuře komplexů, byl za hlavní prekurzor byl zvolen 3-(chloromethyl)-5-methylsalicylaldehyd (**1a**), na jehož chloromethylovou skupinu je možné substituční reakcí zavést vhodné periferní substituenty. Syntéza **1a** vychází z 5-methylsalicylaldehydu – komerčně dostupné látky, vhodné pro následnou chlormethylaci. Sloučenina **1a** byla připravena smícháním 5-methylsalicylaldehydu (38 mmol; 5 g), paraformaldehydu (55 mmol; 1,65 g) a 35 % kyseliny chlorovodíkové (0,38 mol; 24,12 ml). Dále bylo do směsi přidáno 6 kapek 96 % kyseliny sírové jako katalyzátoru. Reakční směs byla zahřívána 4 hodiny na olejové lázni při 70 °C pod zpětným chladičem. Po uplynutí této doby byla směs ochlazená na laboratorní teplotu, doplněna 100 ml demineralizované H₂O a extrahována 3×100 ml CH₂Cl₂. Organická fáze byla následně vysušena nad bezvodým Na₂SO₄ a odpařena na rotační vakuové odparce (RVO), za vzniku bílé pevné látky (*m* = 6,74 g; 99,9 %) [155]. Čistota vzniklé sloučeniny byla potvrzena ¹H NMR spektroskopii. Produkt je rozpustný v CHCl₃, MeOH, THF.

¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 2,37 (s, 3H), 4,68 (s, 2H), 7,35 (d, 1H), 7,48 (d, 1H), 9,87 (s, 1H), 11,26 (s, 1H)

Obdobně jako sloučenina **1a** byl připraven i 3-(chloromethyl)-5-chlorosalicylaldehyd (**1b**) [155], a to smícháním 5-chlorosalicylaldehydu (19,16 mmol; 3 g), paraformaldehydu (27,64 mmol; 0,83 g) a 35 % kyseliny chlorovodíkové (0,39 mol; 12,15 ml). Jako katalyzátor byly použity 2 kapky 96 % kyseliny sírové. Reakční směs se zahřívala pod zpětným chladičem po dobu 4 hodin při teplotě 70 °C na olejové lázni. Následně byla reakční směs doplněna 60 ml demineralizované H₂O, následně byla extrahována 3×50 ml CH₂Cl₂. Organická fáze byla přesušena nad bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Výsledkem byla bílá pevná látka (*m* = 2,69 g; 68,5 %). Čistota produktu byla ověřena ¹H NMR spektroskopii. Produkt je rozpustný v CHCl₃, MeOH, THF.

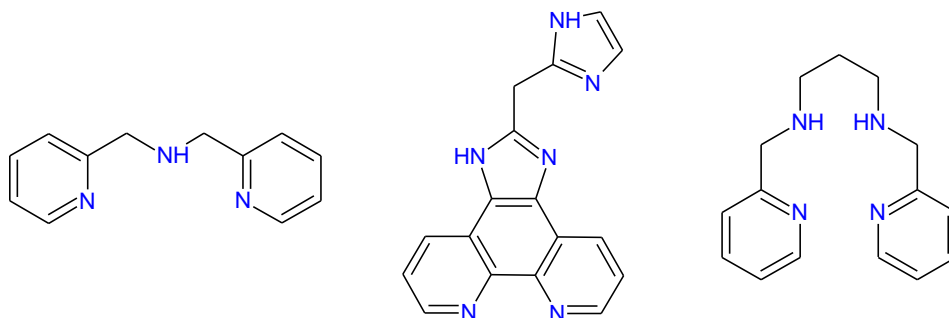
¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 6,96 (dd, 1H), 4,68 (s, 2H), 7,47 (dd, 1H), 7,54 (dd, 1H), 9,85 (s, 1H), 10,91 (s, 1H)



Obrázek 24: Reakční schéma přípravy sloučenin **1a** ($R_1 = \text{CH}_3$) a **1b** ($R_1 = \text{Cl}$)

3.2.2 Příprava látek pro substituci prekurzorů

Většina substituujících molekul použitých pro přípravu ligandů byly komerčně dostupné látky, avšak byly rovněž vyzkoušeny přípravy tří látek, a to konkrétně *N,N*-bis(2-pyridylmethyl)aminu (**2**), 2-(2-methylimidazol)imidazo[4,5-*f*]-[1,10]fenanthrolinu (**3**) a *N,N'*-bis(pyridin-2-ylmethyl)propan-1,3-diaminu (**4**) (viz Obrázek 25). Tyto sloučeniny byly vybrány z důvodu přítomnosti NH skupin ve svých strukturách, které po deprotonaci vytvoří nukleofilní entitu, která bude atakovat elektrofilní molekulu prekurzoru **1a** nebo **1b** (odstupuje atom chlóru).



Obrázek 25: Strukturální vzorce sloučenin **2b**, **3** a **4**.

Sloučenina **2** byla připravena rozpuštěním 2-pikolylylaminu (50 mmol; 5,41 g) ve 100 ml methanolu a do tohoto roztoku byl přidán 2-pikolylylkarbaldehyd (50 mmol; 5,35 g) [156]. Vznikl světle žlutý čirý roztok, který se míchal dva dny. Do směsi byly přidány dvě lžičky MgSO_4 a reakční směs byla hodinu ponechána zahřívání pod zpětným chladičem. Poté byl po lžičkách postupně za stálého míchání a chlazení (cca $-5\text{ }^\circ\text{C}$) ve směsi ledu a chloridu sodného přidáván NaBH_4 (100 mmol; 3,78 g), směs se nechala hodinu míchat za laboratorní teploty. Vzniklá směs byla zbavena rozpouštědla na RVO, doplněna 100 ml demineralizované vody a neutralizována pomocí 32 % kyseliny chlorovodíkové do neutrálního pH. Následně byla směs extrahována $3 \times 200\text{ ml CH}_2\text{Cl}_2$, organická fáze přesušena nad bezvodým MgSO_4 a zbavena rozpouštědla na RVO. Výsledkem byla oranžová olejovitá velmi viskózní kapalina (**2a**, $m = 8,27\text{ g}$; 83,0 %). $^1\text{H NMR}$ spektroskopie potvrdila přítomnost mnoha nečistot, proto bylo nutno produkt přechistit sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 95 % CHCl_3 /5 % MeOH). Byla izolována tmavě oranžová olejovitá kapalina (**2b**, $m = 4,62\text{ g}$; 46,4 %). Analýza $^1\text{H NMR}$ spektra potvrdila dostatečné přečištění a možnosti použít produkt do dalších reakcí. Produkt je rozpustný v CHCl_3 a MeOH.

$R_F = 0,35$ (90 % CHCl_3 /10 % MeOH)

^1H NMR (CDCl_3): δ ppm 3,93 (s, 4H), 7,09–7,11 (ddd, 2H), 7,30–7,31 (dd, 2H), 7,57–7,60 (ddd, 2H), 8,50–8,51 (ddd, 2H)

Sloučenina **3** byla připravena smícháním 1,10-fenanthrolin-5,6-dionu (2 mmol; 0,42 g), imidazol-2-karbaldehydu (2 mmol; 0,19 g) a octanu amonného (40 mmol; 3,08 g) v 30 ml 99 % kyseliny octové. Všechny reakční komponenty se zahřívaly po dobu 2 hodin pod zpětným chladičem. Během několika minut se barva reakční směsi změnila ze žluté na oranžovou až do hnědočervené barvy, po uplynutí reakční doby byla směs sytě zelená. Poté byla směs ochlazená na laboratorní teplotu a doplněna 60 ml demineralizované H_2O . Směs se dále neutralizovala po kapkách koncentrovaným roztokem NH_3 na $\text{pH} \approx 6$. Vyloučená sraženina se zfiltrovala za sníženého tlaku použitím skleněné frity, promyla se demineralizovanou H_2O . Výsledkem byla pevná látka zelené barvy (**3a**, $m = 0,41$ g; 67,9 %). Dle analogického postupu z dříve publikovaného článku [157] bylo nutno vzniklý produkt přechistit sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 95 % CHCl_3 /5 % MeOH). Byla izolována tmavě žlutá pevná látka (**3b**, $m = 0,37$ g; 61,2 %). Analýza ^1H NMR spektra potvrdila přítomnost signálů charakteristických pouze pro reaktant 1,10-fenanthrolin-5,6-dion. Produkt je rozpustný v CHCl_3 a MeOH.

$R_F = 0,17$ (95 % CHCl_3 /5 % MeOH)

^1H NMR (CDCl_3): δ ppm 7,88–7,91 (dd, 2H), 9,34–9,37 (dd, 2H), 9,76–9,78 (dd, 2H)

Sloučenina **4** byla připravena analogickým postupem, který byl již publikován dříve [158], avšak namísto ethan-1,2-diaminu byl použit propan-1,3-diamin. Do 100 ml baňky s kulatým dnem byl umístěn pyridin-2-karbaldehyd (31 mmol; 3,32 g) rozpuštěný v 30 ml methanolu, do této směsi byl přidán propan-1,3-diamin (15,5 mmol; 1,15 g) za vzniku růžového čirého roztoku, reakční směs byla míchána po dobu 1 hodiny a chlazená směsí ledu a NaCl (asi -5 °C). Po uplynutí této doby byl do směsi postupně přidáván NaBH_4 (31 mmol; 1,17 g), již při prvních přidávcích NaBH_4 měnil roztok barvu do žluta a po přidání veškerého podílu byla reakce míchána další hodinu. Poté byla po kapkách směs neutralizována 6M HCl (cca 15 ml) do $\text{pH} \approx 2$. Směs byla poté alkalizována pomocí NaOH na $\text{pH} \approx 10$, extrahována 6×50 ml CH_2Cl_2 , přesušena nad bezvodým MgSO_4 , zfiltrována a rozpouštědlo bylo odstraněno na RVO. Výsledkem byla světle žlutá kapalina (**4**, $m = 2,44$ g; 58,2 %). Látka nebyla přečišťována, byla ihned použita do následující reakce (viz 3.2.4.6).

3.2.3 Sušení rozpouštědel

Pomocí internetové databáze Reaxys byl nalezen postup přípravy analogických sloučenin, připravených periferní substitucí prekursoru [159, 160] a tyto reakční podmínky byly napodobeny pro ligandy (kromě série **5**), jejichž syntéza je popsána v následujících kapitolách. Specifita reakcí spočívala v bezvodých podmínkách, bylo tedy nutno používat rozpouštědla zbavená vody, rovněž bylo nezbytné veškeré používané laboratorní sklo zbavit vlhkosti, syntézy probíhaly v inertní atmosféře.

Jako reakční prostředí byl použit tetrahydrofuran (THF). Asi 300 ml THF se nalilo do baňky s kulatým dnem o objemu 500 ml a postupně se k němu přidával na malé kousky (asi $0,5 \times 0,5$ cm) nakrájený kovový sodík. U tohoto kroku je vždy nutná zvýšená opatrnost, jelikož sodík reaguje velmi exotermicky už se vzdušnou vlhkostí, proto se doporučuje mít po ruce malé množství izopropanolu, jehož reakce se sodíkem je o poznání pomalejší. Takto se nechal THF

pomocí sodíku sušit po dobu 24 hodin a následně se do směsi přidal benzofenon jako indikátor. Následovala destilace v inertní atmosféře argonu, přičemž destilace byla ukončena, jakmile přestával být sodík v baňce pod hladinou THF. Takto předestilovaný THF byl jímán do připravené baňky s aktivovanými molekulovými sítí.

Další z používaných rozpouštědel byl triethylamin (Et_3N), který však sloužil k deprotonizaci než jako reakční prostředí. Cca 400 ml Et_3N bylo umístěno do Schlenkovy baňky, napojil se na přívod dusíku pro udržení inertních podmínek. Do Et_3N bylo umístěno několik kousků kovového sodíku nakrájeného na velikost asi $0,5 \times 0,5$ cm. Takto se Et_3N ponechal dalších 24 hodin a následovalo předestilování již suchého Et_3N , aby se amin zbavil případných sodíkových reziduí. Pro zajištění inertního prostředí po celou dobu destilace bylo nutno mít všechny komponenty destilační aparatury suché, a proto se umístily do pece (100°C) na 24 hodin. Při skládání destilační aparatury postupujeme od Schlenkovy baňky (do které se umístilo několik lžiček NaOH), přes chladič až k nástavci, na který byla umístěna baňka s přesušeným Et_3N . Po celou dobu aparaturou prochází proud dusíku k zajištění inertního prostředí. Po sestavení aparatury, regulaci proudu dusíku a zahájení chlazení proudem vody byl zapnut ohřev (90°C) a byla zahájena samotná destilace. Jako v případě THF i u Et_3N se destilace ukončí v momentě, kdy sodík již není v aminu ponořen. Na závěr se baňka s vysušeným aminem nechá asi 20 minut profukovat dusíkem a následně se baňka pečlivě uzavře skleněným špuntem.

3.2.4 Příprava ligandů – periferní funkcionalizace aldehydů

Pro prvotní substituční reakce výchozích prekurzorů bylo vybráno několik sekundárních aminů vhodných pro případnou následnou koordinaci kovu – bis(2-chloroethyl)amin hydrochlorid (**5a**), 2,2'-(iminodiethan-1,2-diyl)bisftalimid (**5b**), *N,N,N',N'*-tetraethyldiethylentriamin (**5c**), benzimidazol (**5d**), 5,6-dimethylbenzimidazol (**5e**), 2-fenylimidazol (**5f**) a primární amin pyridin-4-amin (**5g**). Všechny tyto aminy byly podrobeny reakci s **1a** (1,09 mmol; 0,2 g) v molárním poměru 1:1, šestinásobku uhličitanu draselného a 0,6 násobku jodidu draselného. Jodid draselný slouží k substituci chloridu molekuly **1a**, čímž se pak stává lépe odstupující skupinou (Finkelsteinova reakce) a uhličitan draselný jakožto slabá báze deprotonuje amin. Jako rozpouštědlo byl zvolen acetonitril, reakce probíhaly za konstantního míchání bez nebo s ohřevem po dobu čtyř dní. Následně byly reakční směsi zpracovány filtrací za sníženého tlaku za pomoci skleněné frity, promyty malým množstvím methanolu a diethyletheru. Získané produkty **5a–g** byly pevné látky vesměs světle žluté barvy s výtěžky $>100\%$. Proto byly krystalizovány z acetonu a jejich struktura a čistota byla zkoumaná ^1H NMR spektroskopií. Produkty jsou vesměs rozpustné v CHCl_3 a MeOH.

Výše uvedené experimenty nevedly k žádaným výsledkům, a proto na základě již dříve publikovaných příprav analogických sloučenin [159, 160], byl postup upraven. Následující reakce probíhaly v prostředí inertní atmosféry dusíku nebo argonu a za použití bezvodých rozpouštědel.

3.2.4.1 *Pz-sal*

Pz-sal, systematicky: 5-methyl-3-[(1*H*-pyrazol-1-yl)methyl]salicylaldehyd (**6**) byl připraven rozpuštěním sloučeniny **1a** (8,2 mmol; 1,515 g) v 15 ml suchého THF a tato směs byla

umístěna do předem vysušené kulaté baňky, a to v prostředí dusíkové atmosféry a uzavřena septem. Stejným způsobem byl do další kulaté baňky umístěn pyrazol (8,2 mmol; 0,558 g) a suchý Et₃N (16,4 mmol; 2,29 ml) v 10 ml suchého THF. Směs pyrazolu s aminem byla pomocí injekční stříkačky přikapávána po kapkách do směsi aldehydu. Ihned při přikapávání byla pozorována změna zbarvení z bezbarvé na světle žlutou, rovněž se vylučovala sraženina bílé barvy (Et₃NH⁺Cl⁻). Po smíchání veškerého objemu byla směs ponechána míchání při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin. Následně se směs zfiltrovala za sníženého tlaku s použitím skleněné frity, aby se separoval vzniklý hydrochlorid. Izolovaný filtrát žluté barvy byl odpařen na RVO. Výsledkem byla žlutá pevná látka (**6**, *m* = 1,58 g; 88,8 %). Analýzou ¹H NMR spekter bylo potvrzeno, že připravená látka je čistá. Produkt je rozpustný v CHCl₃ a MeOH.

¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 2,29 (s, 3H), 5,35 (s, 2H), 6,26–6,28 (t, 1H), 7,18–7,19 (dd, 1H), 7,30–7,31 (dd, 1H), 7,53–7,54 (dd, 2H), 9,86 (s, 1H)

3.2.4.2 Benzim-sal

Benzim-sal, systematicky: 3-[(1*H*-benzimidazol-1-yl)methyl]-5-methylsalicylaldehyd (**7**) vznikl rozpuštěním sloučeniny **1a** (8,2 mmol; 1,515 g) v 15 ml suchého THF a tato směs byla umístěna do předem vysušené kulaté baňky, opět v prostředí dusíkové atmosféry a uzavřena septem. Obdobně byl do další kulaté baňky umístěn benzimidazol (8,2 mmol; 0,969 g) a suchý Et₃N (16,4 mmol; 2,29 ml) v 10 ml suchého THF. Zde bylo nutno přidat 1 ml suchého methanolu, protože benzimidazol se zcela v THF nerozpouštěl. Směs benzimidazolu a aminu byla po kapkách přikapávána k aldehydu. Při přikapávání byla ihned pozorována změna zbarvení ze světle žluté na tmavě žlutou až světle oranžovou, rovněž se vylučovala bílá pevná látka (Et₃NH⁺Cl⁻). Směs se míchala 24 hodin, poté se zfiltrovala za sníženého tlaku pomocí skleněné frity a filtrát byl odpařen na RVO. Výsledkem byla žlutý lepivý produkt (**7a**, *m* = 2,7 g; >100 %), který byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 97 % CH₂Cl₂/3 % MeOH). Byla izolována žlutá pevná látka (**7b**, *m* = 10 mg; 0,5 %). Analýzou ¹H NMR spekter bylo potvrzeno, že izolovaná látka je čistá. Produkt je rozpustný v CHCl₃ a MeOH. Pro získání vyššího výtěžku bylo nutno látku pečlivěji a za upravených podmínek znovu přečistit sloupcovou chromatografií. Takto byl izolován další podíl **7c** (0,13 g; 7,0 %) a ¹H NMR spektroskopie potvrdila čistotu produktu.

R_F = 0,47 (95 % CH₂Cl₂/5 % MeOH) pro **7b** i **7c**

¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 2,25 (s, 3H), 5,38 (s, 2H), 7,07 (s, 1H), 7,37–7,32 (m, 3H), 7,41 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 9,87 (s, 1H), 11,31 (s, 1H)

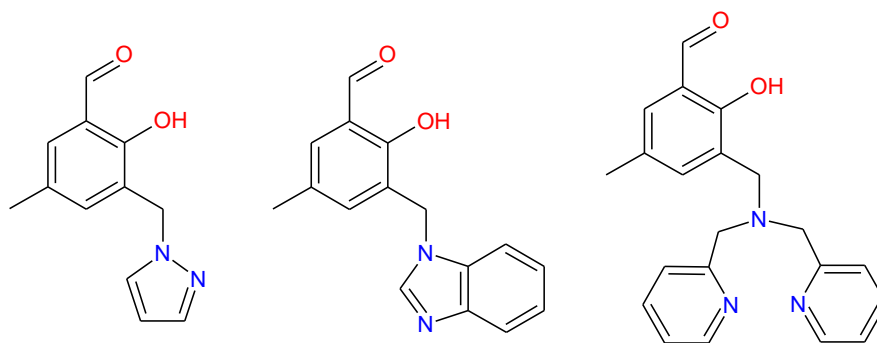
3.2.4.3 Bpyma-sal

Bpyma-sal, systematicky: 3-({bis[(pyridin-2-yl)methyl]amino}methyl)-5-methylsalicylaldehyd (**8**) vznikl rozpuštěním sloučeniny **1a** (0,55 mmol; 0,1 g) v 10 ml suchého THF, postup je obdobný jako při přípravě sloučeniny **6**. V další baňce byla rozpuštěna sloučenina **2** (0,55 mmol; 0,11 g) spolu se suchým Et₃N (0,55 mmol; 0,15 ml) v 8 ml THF. Ihned při přikapávání směsi aminů do roztoku aldehydu byla pozorována změna zbarvení z bezbarvé na světle žlutou, rovněž se vylučovala bílá pevná látka (Et₃NH⁺Cl⁻). Směs byla ponechána na míchání dva dny. Zpracování produktu probíhalo obdobně jako u sloučeniny **6**.

Byla izolována oranžovožlutá viskózní kapalina (**8a**, $m = 0,33$ g; >100 %). Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 95 % CHCl₃/5 % MeOH). Byla izolována žlutá pevná látka (**8b**, $m = 60$ mg; 31,8 %). Analýzou ¹H NMR spektra byla potvrzena její čistota. Produkt je rozpustný v CHCl₃ a MeOH.

R_F = 0,29 (95 % CHCl₃/5 % MeOH)

¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 2,31 (s, 3H), 3,85 (s, 2H), 3,94 (s, 4H), 7,22 (t, 2H), 7,31–7,32 (dd, 2H), 7,43–7,44 (dd, 2H), 7,49 (s, 1H), 7,68–7,71 (t, 2H), 10,48 (s, 1H)



Obrázek 26: Strukturální vzorce sloučenin **6**, **7b** a **8b**

3.2.4.4 Bpya-sal

Bpya-sal, systematicky: 3-([bis(pyridin-2-yl)amino]methyl)-5-methylsalicyl aldehyd (**9**) vznikl reakcí sloučeniny **1a** (1,1 mmol; 0,2 g) rozpuštěné ve 2 ml suchého THF. Do této směsi byla přikapávána směs bis(2-pyridyl)aminu (1,1 mmol; 0,19 g) a suchého Et₃N (2,2 mmol; 0,3 ml) ve 2 ml suchého THF. Ihned po prvních přídavicích byla pozorována změna zbarvení z bezbarvé na sytě žlutou barvu, rovněž se vylučovala sraženina bílé barvy (Et₃NH⁺Cl⁻). Reakční směs byla doplněna dalšími 9 ml THF a takto míchána 24 hodin, poté bylo provedeno TLC a reakce byla ukončena. Vzniklý hydrochlorid byl separován za sníženého tlaku pomocí skleněné frity, izolovaný filtrát sytě žluté barvy byl zbaven rozpouštědla na RVO. Byl izolován pevný produkt žluté barvy ($m = 0,5$ g; >100 %). Sloučenina byla přečištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 95 % CHCl₃/5 % MeOH). Byly izolovány dvě frakce – žlutý lepivý produkt (**9a**, $m = 0,1$ g; 28,8 %) a zelenožlutý lepivý produkt (**9b**, $m = 0,26$ g; 74,9 %). Z analýz ¹H NMR spekter bylo potvrzeno, že produkt **9a** neodpovídal předpokládanému složení a u produktu **9b** se nepodařilo přiřadit vodíky jednoho z pyridinových kruhů. Produkt **9b** byl proto také analyzován pomocí MS, která potvrdila přítomnost produktu **9b**^c (viz Obrázek 27). Produkty jsou rozpustné v CHCl₃ a MeOH.

R_F = 0,63 (50 % CHCl₃/50 % MeOH) pro **9a**; 0,71 (50 % CHCl₃/50 % MeOH) pro **9b**

¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 2,19 (s, 3H), 5,54 (s, 2H), 6,85–6,88 (t, 1H), 7,06–7,08 (d, 1H), 7,30–7,32 (dd, 2H), 7,75–7,78 (t, 1H), 8,31–8,32 (d, 1H), 9,83 (s, 1H), 11,22 (s, 1H) (pro **9b**)

3.2.4.5 Pybzim-sal

Postup A: *pybzim-sal*, systematicky: 5-methyl-3-([2-(pyridin-2-yl)-1H-benzimidazol-1-yl]methyl)salicylaldehyd (**10**) vznikl reakcí sloučeniny **1a** (0,31 mmol; 0,06 g) rozpuštěné v 1 ml suchého THF, k této směsi byla po kapkách přidávána směs 2-(pyridin-2-yl)-1H-benzimidazolu (0,31 mmol; 0,06 g) a suchého Et₃N (0,6 mmol; 0,08 ml) v 1 ml suchého THF.

Při přikapávání byla pozorována změna zbarvení z bezbarvé na sytě žlutou, rovněž se vylučovala sraženina bílé barvy ($\text{Et}_3\text{NH}^+\text{Cl}^-$). Reakční směs byla míchána po dobu 24 hodin, poté byla zfiltrována za sníženého tlaku pomocí skleněné frity. Filtrát byl zbaven rozpouštědla na rotační vakuové odparce za vzniku bílého pevného produktu ($m = 68 \text{ mg}$; 61,8 %). Vzhledem k tomu, že produkty těchto reakcí mají žluté zbarvení, ale izolovat se podařilo bílou pevnou látku (možná přítomnost $\text{Et}_3\text{NH}^+\text{Cl}^-$), produkt pravděpodobně získán nebyl, což se později prokázalo pomocí ^1H NMR spektroskopie. Ve spektru byly nalezeny signály pro již zmiňovaný hydrochlorid, naopak intenzita signálů vodíků methylenové skupiny byla velmi nízká a také intenzity vodíků aromatických jader neodpovídaly předpokládanému složení. Reakce proto byla stejným způsobem zopakována a rovněž byla vyzkoušena za upravených podmínek.

Postup B: Příprava sloučeniny **10** byla zopakována, avšak reakční podmínky se lišily v použití deprotonizačního činidla. Místo Et_3N bylo použito K_2CO_3 (1,81 mmol; 0,25 g) a KI (0,18 mmol; 0,03 g). Oba tyto reaktanty byly smíchány společně s 2-(pyridin-2-yl)-1*H*-benzimidazolem (0,31 mmol; 0,06 g) a rozpuštěny v 5 ml suchého THF v inertní atmosféře, v další baňce za obdobných podmínek byla v 1 ml suchého THF rozpuštěna sloučenina **1a** (0,31 mmol; 0,06 g). Vzhledem k tomu, že směs aminu a deprotonizačních činidel nebyla homogenní směsí (K_2CO_3 se nerozpustilo), bylo nutno do této směsi pomocí injekční stříkačky přikapávat roztok sloučeniny **1a**. Při přikapávání však nebyla pozorována typická změna zbarvení do žluta, která byla sledována u všech ostatních reakcí tohoto typu, reakční směs během čtyřhodinového míchání pouze lehce ztmavla do světle oranžova. Po 24 hodinách míchání reakční směs ztmavla do sytější oranžové barvy a po provedení kontrolního TLC byla směs ponechána na míchání další dva dny. Po uplynutí této doby směs zežloutla a vzhledem k tomu, že provedené TLC bylo shodné s předchozím, byla reakce ukončena a zpracována (viz zpracování sloučeniny **6**), produkt však byl promyt malým množstvím acetonu, byl izolován žlutý pevný produkt (**10a**, $m = 0,17 \text{ g}$; >100 %). Sloučenina byla přečištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 60 % AcOEt/40 % hexan; AcOEt = ethylacetát). Byla izolována žlutá pevná látka (**10b**, $m = 30 \text{ mg}$; 26,9 %). Analýzou ^1H NMR spektra bylo zjištěno, že sloučenina **10b** odpovídala předpokládanému složení. Produkt je rozpustný v CHCl_3 a MeOH.

Postup C: Sloučenina **10** byla připravena obdobně jako v případě postupu B, avšak kromě pozměněných navážek – 2,66 mmol; 0,49 g (**1a**), 2,66 mmol; 0,52 g (*pybzim*), 15,99 mmol; 2,21 g (K_2CO_3), 1,63 mmol; 0,27 g (KI), reakce probíhala v 10 ml THF, přičemž postup byl zcela stejný, směs se však po dobu 24 hodin zahřívala pod zpětným chladičem na olejové lázni při 80 °C a pod proudem argonu. Byla pozorována lehká změna zbarvení ze světle žluté do oranžové barvy, po 8 hodinách bylo provedeno kontrolní TLC, ze kterého bylo patrné, že je nutno směs ponechat dál reagovat. Na noc byl vypnut ohřev, ponechán proud argonu a po dalších 20 hodinách míchání bylo opět provedeno kontrolní TLC, které naznačilo, že reakce může být již ukončena. Směs byla zpracována jako v případě postupu B (**10c**, $m = 0,98 \text{ g}$; >100 %). Analýza ^1H NMR spektra prokázala mnoho nečistot, proto bylo nutno produkt dále přečistit sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 98 % CH_2Cl_2 /2 % MeOH). Byly izolovány dvě frakce – žlutá pevná látka (**10d**, $m = 0,13 \text{ g}$; 14,3 %) a světle žlutá pevná látka (**10e**, $m = 0,43 \text{ g}$; 47,2 %). Obě frakce byly analyzovány ^1H NMR spektroskopii a bylo zjištěno,

že látka **10d** odpovídá předpokládanému složení, avšak ve spektru se nacházelo mnoho nečistot, látka **10e** předpokládanému složení neodpovídala. Obě látky jsou rozpustné v CHCl₃ a MeOH.

R_F = 0,37 (60 % AcOEt/40 % hexan) pro **10b**; 0,26 (98 % CH₂Cl₂/2 % MeOH) pro **10d**; 0,25 (98 % CH₂Cl₂/2 % MeOH) pro **10e**

¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 2,10 (s, 3H), 6,18 (s, 2H), 6,90 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,28–7,34 (m, 3H), 7,37–7,38 (dd, 1H), 7,86–7,87 (dd, 2H), 8,42–8,47 (dd, 1H), 8,60–8,64 (dd, 1H), 9,89 (s, 1H), 11,34 (s, 1H) (pro **10b**)

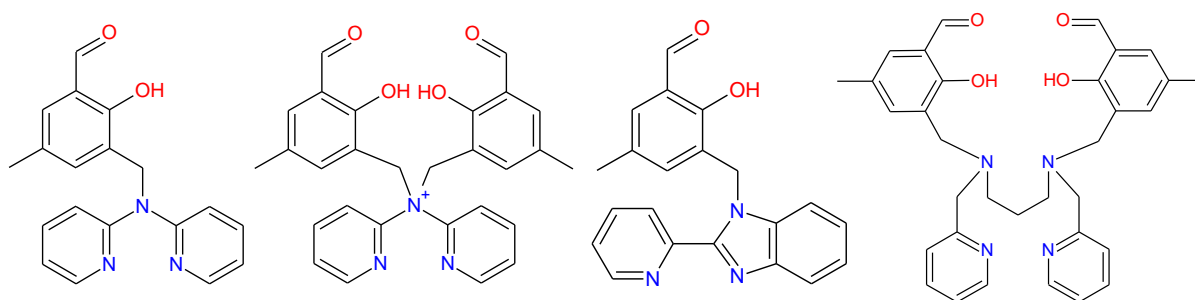
¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 2,10 (s, 3H), 6,18 (s, 2H), 6,90 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,28–7,39 (m, 5H), 7,86–7,87 (dd, 2H), 8,45–8,47 (d, 1H), 8,60–8,61 (d, 1H), 9,89 (s, 1H), 11,35 (s, 1H) (pro **10d**)

3.2.4.6 Py₂dap-sal₂

Py₂dap-sal₂, systematicky: *N,N'*-bis(5-methyl-3-formylsalicylaldehyd)-*N,N'*-bis-(pyridin-2-ylmethyl)propan-1,3-diamin (**11**) byl připraven na základě již dříve publikovaného postupu [Firmo]. Látka **1a** (5 mmol; 0,91 g) byla společně s látkou **5** (2,5 mmol; 0,63 g) rozpuštěna ve 20 ml CH₂Cl₂, poté byl po kapkách přidán Et₃N (5 mmol; 0,5 g) směs byla míchána při laboratorní teplotě 24 hodin. Po uplynutí této doby byla směs promyta 3×30 ml nasyceného roztoku NaHCO₃, organická fáze byla přesušena nad bezvodým MgSO₄, zfiltrována a zbavena rozpouštědla na RVO. Výsledkem byla žlutá velmi viskózní kapalina (**11**, *m* = 0,97 g; 71,4 %). Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 95 % CH₂Cl₂/5 % MeOH), byly izolovány dvě frakce – obě žluté viskózní látky (**11a**, *m* = 70 mg; 8,9 % a **11b**, *m* = 0,52 g; 65,8 %). Analýzou ¹H NMR spekter byla potvrzena čistota obou izolovaných frakcí.

R_F = 0,37 (95 % CH₂Cl₂/5 % MeOH) pro **11a**; 0,40 (95 % CH₂Cl₂/5 % MeOH) pro **11b**

¹H NMR (CDCl₃): δ ppm 1,80–1,83 (quintet, 2H), 2,23 (s, 6H), 2,51–2,54 (t, 4H), 3,68 (s, 4H), 3,76 (s, 4H), 7,11 (d, 2H), 7,15–7,24 (m, 4H), 7,36 (d, 2H), 7,61–7,64 (ddd, 2H), 8,50–8,52 (ddd, 2H), 8,60–8,64 (dd, 1H), 10,25 (s, 1H) (pro **11b**)



Obrázek 27: Strukturální vzorce sloučenin **9b**, **9b'**, **10b** a **11b**

3.2.5 Příprava ligandů – substituce radikálem

Byla provedena série reakcí periferně substituující sloučeninu **1a** vybranými organickými stabilními radikály, konkrétně reakce s 4-amino-TEMPO (**12**), bis(TEMPO)amin (**13**), 3-amino-PROXYL (**14**), a (PROXYL-TEMPO)amin (**15**). Všechny reakce za použití bezvodých rozpouštědel a v inertní atmosféře argonu.

3.2.5.1 TEMPO-sal₂

Postup A: TEMPO-sal₂, systematicky: 4-{{3-(5-methylsalicylaldehyd) methyl}amino}-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (**12**) byl připraven rozpuštěním 4-amino-TEMPO (1,08 mmol; 0,1867 g) v 0,19 ml diisopropylethylaminu (DIPEA; 1,09 mmol; 0,14 g) v baňce s kulatým dnem a v přítomnosti argonu. Do této směsi byl po kapkách za stálého míchání přidáván roztok **1a** (1,08 mmol; 0,2 g) v 3,6 ml THF. Po přidávání se začala vylučovat červenooranžová sraženina, která se postupně rozpouštěla s dalšími přídatky aldehydu. Po přidání veškerého podílu aldehydu vznikl čirý červený roztok, a proto byla směs napojena na předem vysušený a argonem profoukaný chladič a po dobu 2 hodin se směs zahřívala při 60 °C. Ani po uplynutí této doby směs nevykazovala žádné změny a byla zaslána na LC-MS analýzu, která potvrdila, že 0,5 ekvivalentu 4-amino-TEMPO nezreagovalo, a proto byla reakce optimalizována.

Postup B: Do reakční směsi připravené postupem A byl přidán 1 ekvivalent **1a** (1,08 mmol; 0,2 g), 50 µl DIPEA (0,29 mmol; 37,1 mg) a po rysku, kde ulpěla reakční směs, byl doplněn THF. Směs po startu míchání měla opět červenou barvu a roztok byl čirý. Reakční směs se míchala 24 hodin v inertní atmosféře argonu, provedlo se TLC a reakce byla ukončena. Produkt byl extrahován 5×10 ml AcOEt, přesušen nad bezvodým Na₂SO₄ a zbaven rozpouštědla na RVO (**12a**, *m* = 586,5 mg; >100 %). Tato červená olejovitá látka byla ponechána dva dny při nízkých teplotách pro případnou krystalizaci, avšak po uplynutí této doby nebyla krystalizace pozorována, proto byla látka opět rozpuštěna v minimálním množství AcOEt a ponechána difúzní krystalizaci v soustavě s hexanem. Po asi 9 dnech byly v matečném roztoku pozorovány krystaly, které byly izolovány. Tyto lepivé krystaly červené barvy byly rozdrčeny přes filtrační papíry a vzniklý prášek byl promyt 3×3 ml Et₂O. Podíly byly dekantovány do původního matečného roztoku, který byl zbaven rozpouštědla na RVO (**12b**, *m* = 419,7 mg; 85,1 %). Produkt byl zaslán na LC-MS analýzu, která potvrdila nutnost jeho přečištění sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 75 % hexan/25 % AcOEt). Byla izolována červená pevná krystalická látka (**12c**, *m* = 95,4 mg; 19,3 %), která je rozpustná v AcOEt a MeOH.

R_F = 0,64 (50 % AcOEt/50 % hexan) pro **12c**

m/z = 468,26 [M+H]⁺ (vypočítáno), 468,20 [M+H]⁺ (naměřeno)

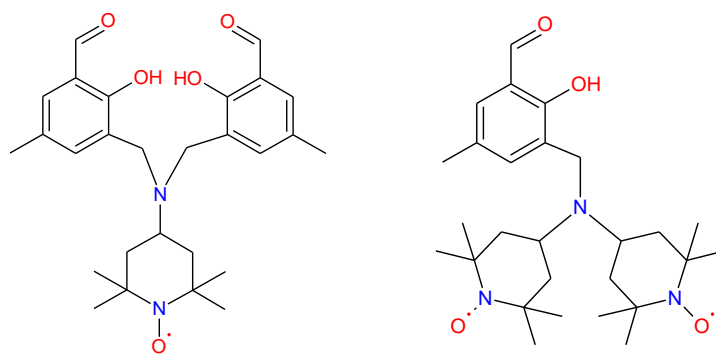
3.2.5.2 TEMPO₂-sal

TEMPO-sal₂, systematicky: 4-{{3-(5-methyl-salicylaldehyd) methyl}amino}bis-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl) (**13**) byl připraven rozpuštěním bis-TEMPO-aminu (1,09 mmol; 0,3548 g), DIPEA (1,09 mmol; 0,14 g) ve 2 ml THF v inertním prostředí argonu, do této směsi byl za stálého míchání přikapáván roztok **1a** v 1 ml THF. Ihned při prvních přídatcích se začala vylučovat červenooranžová sraženina a nerozpustila se ani během reakce, která trvala 4 hodiny. Z provedené LC-MS analýzy bylo zjištěno, že je nutná separace přítomného DIPEA hydrochloridu, proto byla směs filtrována, aby se separoval vzniklý DIPEA hydrochlorid, směs se odpařila na RVO a byl izolován červenooranžový pevný produkt. Separovaný hydrochlorid byl promyt Et₂O a po každém přídatku ultrazvukován a dekantován, dokud matečný roztok nad hydrochloridem nebyl čirý (cca 4×5 ml Et₂O), etherický roztok byl přidán k izolovanému

produktu a odpařen na RVO (**13a**, $m = 358,9$ mg; 69,7 %). Hydrochlorid byl dále na filtru promyt CH_2Cl_2 a roztok odpařen na RVO, tato frakce byla přečištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 66,7 % hexan/33,3 % AcOEt). **13a** byl rozpuštěn ve 2 ml AcOEt a ponechán na difúzní krystalizaci s hexanem, po dvou dnech krystalizace byly izolovány červené krystaly (**13b**, $m = 145$ mg; 28,2 %). Látka je rozpustná v AcOEt a MeOH.

$R_F = 0,59$ (66,7 % hexan/33,3 % AcOEt) pro **13a**

$m/z = 474,33$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (vypočítáno), 474,20 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (naměřeno)



Obrázek 28: Strukturní vzorce sloučenin **12c** a **13b**

3.2.5.3 PROXYL- sal_2

PROXYL- sal_2 , systematicky: 3-[[3-(5-methylsalicylaldehyd) methyl]amino]-2,2,5,5-tetramethylpyrrolidin-1-oxyl (**14**) byl připraven rozpuštěním 3-amino-PROXYL (1,27 mmol; 0,2 g), DIPEA (1,27 mmol; 0,16 g) ve 2 ml THF. K této směsi bylo za stálého míchání v argonové atmosféře přidáván roztok **1a** (2,55 mmol; 0,47 g) ve 2,2 ml THF za vzniku čirého červeného roztoku. Takto se směs nechala míchat přes noc a vzhledem k tomu, že se nezačala vylučovat sraženina, byla reakční směs zahřívána pod zpětným chladičem při teplotě 60 °C a v argonové atmosféře. Po dvou dnech byla provedena TLC kontrola, reakce byla ukončena, směs odpařena na RVO. Směs byla rozpuštěna ve 3 ml H_2O a extrahována 3×15 ml AcOEt. Opět byla provedena TLC kontrola, která naznačila nutnost zopakování extrakce stejným způsobem. AcOEt fáze byly slity, promyty nasyceným vodným roztokem NaCl, vysušené nad bezvodým Na_2SO_4 , zfiltrovány a rozpouštědlo odpařeno na RVO za vzniku sytě červeného oleje (**14a**, $m = 803,4$ mg; >100 %), který byl nadále uchován při 0 °C. Vodná fáze byla dále extrahována 3×15 ml CH_2Cl_2 , extrakt byl přesušen nad bezvodým Na_2SO_4 , filtrován a odpařen na RVO za vzniku bílých krystalů s lehce zeleným zabarvením (**14b**, $m = 93,2$ mg; 16,2 %), které byly nadále uchovány při 0 °C. **14a** a **14b** byly zaslány na LC-MS analýzy, z nichž vyplynulo, že **14a** je směsí finálního di-substituovaného produktu, mono-substituovaného produktu a zbytku DIPEA, **14b** je směsí monosubstituovaného produktu a DIPEA hydrochloridu, což se potvrdilo přidávkem H_2O , které krystaly rozpustilo. Při laboratorní teplotě byla pozorována začínající krystalizace **14a**, proto se látka rozpustila v minimálním množství CH_2Cl_2 a zahájila se difúzní krystalizace s hexanem, což se ukázalo jako neúčinné. Byla tedy zvolena jiná varianta přečištění – sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 85 % hexan/15 % AcOEt). Byla izolována oranžovožlutá olejovitá kapalina a z provedené LC-MS analýzy bylo zjištěno, že byla izolována čistá látka (**14c**, $m = 156,27$ mg; 27,4 %), která je rozpustná v AcOEt, CH_2Cl_2 a MeOH.

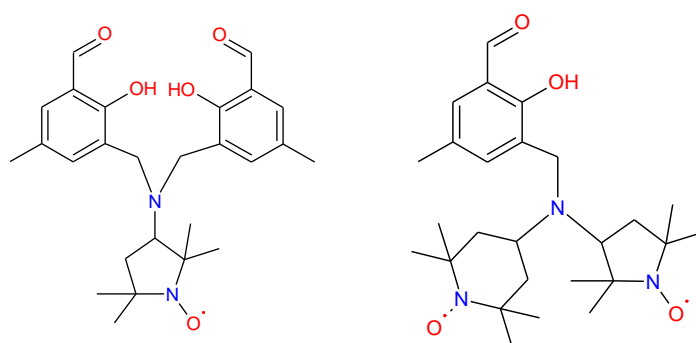
$R_F = 0,62$ (50 % hexan/50 % AcOEt) pro **14c**

$m/z = 454,25$ $[M+H]^+$ (vypočítáno), 454,20 $[M+H]^+$ (naměřeno)

3.2.5.4 PROXYL-TEMPO-sal

PROXYL-TEMPO-sal, systematicky: {[3-(5-methylsalicylaldehyd) methyl]amino}N-(1-oxid-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl)-N-(1-oxid-2,2,5,5-tetramethylpyrolidin-3-yl) (**15**) byl připraven rozpuštěním (PROXYL-TEMPO)aminu (0,38 mmol; 0,1179 g), DIPEA (0,38 mmol; 48,93 mg) ve 2 mol THF. Do této směsi byl za stálého míchání a v inertním prostředí argonu přisypán **1a** (0,38 mmol; 69,9 mg) a míchána 24 hodin. Výsledkem byla zakalená červenooranžová směs, která byla zpracována obdobně jako v případě sloučeniny **13**. Po odpaření rozpouštědla etherického roztoku byl izolován produkt **15a** ($m = 94,8$ mg; 54,5 %) a po odpaření rozpouštědla z CH_2Cl_2 roztoku byl izolován produkt **15b** ($m = 92,7$ mg; 53,3 %). Oba izolované produkty byly přečištěny sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: 80 % hexan/20 % AcOEt pro **15a**, 66,7 % hexan/33,3 % AcOEt pro **15b**). Po přečištění **15a** byla izolována tmavě červená velmi viskózní kapalina (**15c**, $m = 75,6$ mg; 43,5 %), přečištění látky **15b** nebylo úspěšné. Sloučenina **15c** byla analyzována pomocí LC-MS, avšak získaná data nepotvrdila přítomnost produktu.

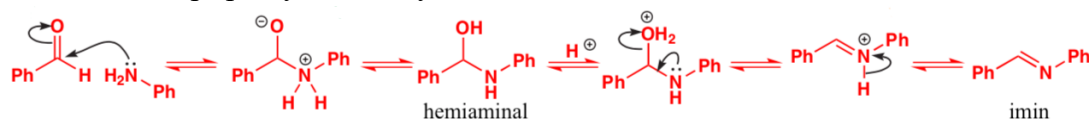
$R_F = 0,41$ (66,7 % hexan/33,3 % AcOEt) pro **15c**



Obrázek 29: Strukturální vzorec **14c** a předpokládaný strukturální vzorec **15c**

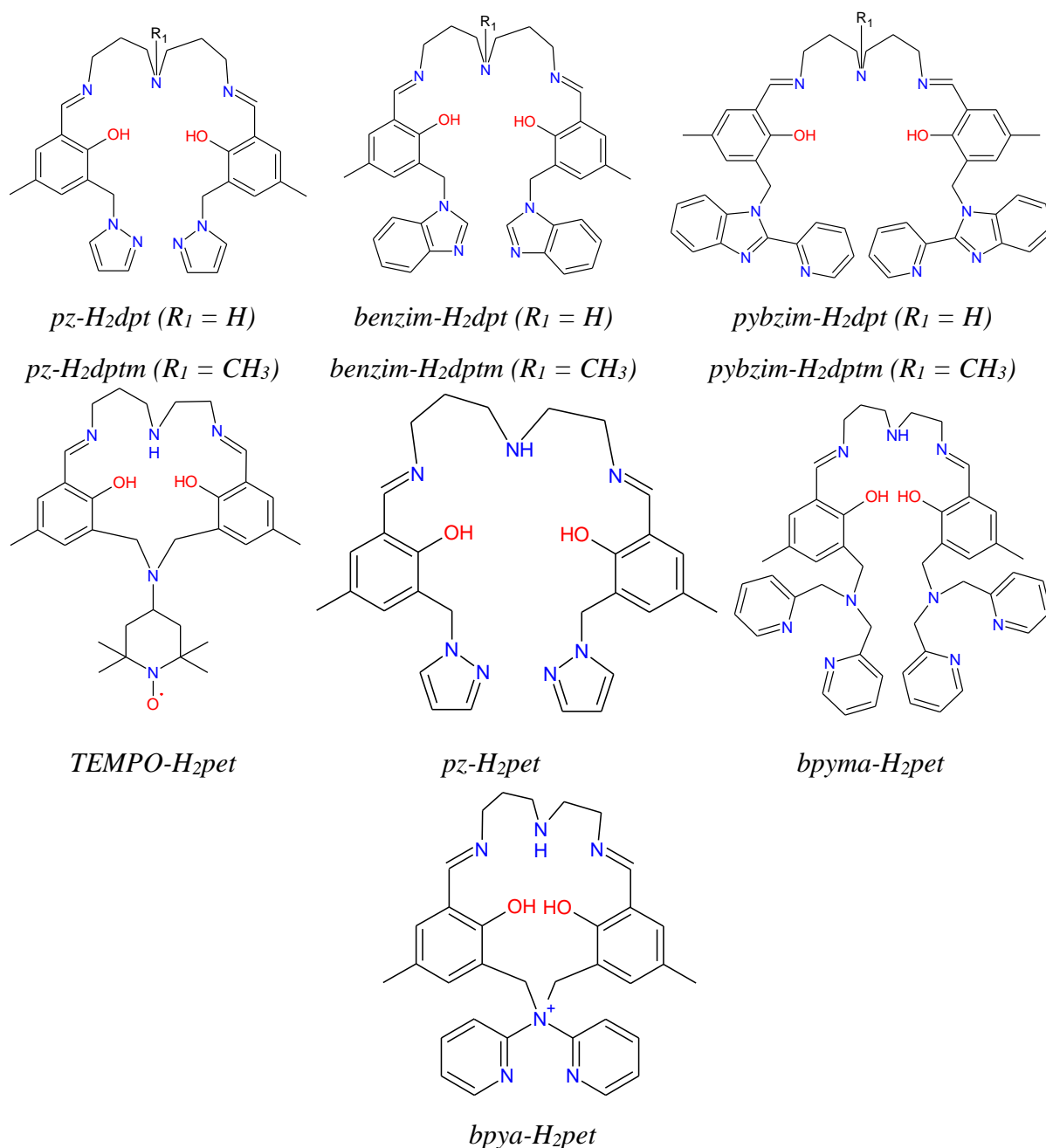
3.2.6 Příprava komplexních sloučenin

Komplexní sloučeniny byly připraveny *in situ*, za použití „symetrických“¹ nebo „asymetrických“ primárních aminů, čímž po reakci s **1** vznikaly polydentátní Schiffovy báze (v této práci značené jako LC), vhodné pro koordinaci kovů. Schiffovy báze (iminy) vznikají reakcí aldehydu nebo ketonu s primárními aminy, v prvním kroku dochází k nukleofilní adici, kdy amin atakuje aldehyd (keton) za vzniku meziproduktu (hemiaminalu), následuje dehydratace a vzniká imin. Dále byla také připravena komplexní sloučenina koordinací Fe^{III} na ligand **11b**, a to bez přípravy Schiffovy báze.



Obrázek 30: Mechanismus vzniku iminů (Schiffových bází) [161]

¹ Symetrické aminy = bis(3-aminopropyl)amin (*dpt*), 3,3'-diamino-*N*-metyldipropylamin (*dptm*) a triethylentetramin (*teta*), asymetrický amin = *N*-(2-aminoethyl)-1,3-propandiamin (*pet*)



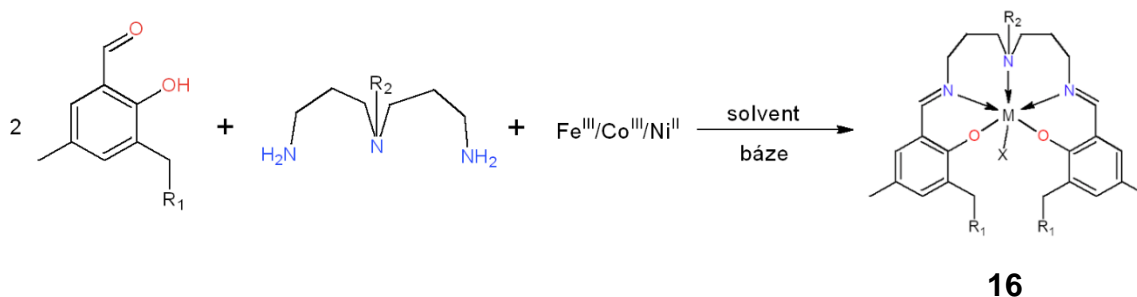
Obrázek 31: Seznam *in situ* připravených Schiffových ligandů

3.2.6.1 Komplexy Schiffových bází odvozených od symetrických aminů

Příprava koordinačních sloučenin byla prováděna reakcí ligandu (0,46 mmol), příslušného kovu (0,23 mmol), aminu (0,23 mmol) a případně báze (0,46 mmol). Pro přípravu komplexních sloučenin Schiffových bází odvozených od symetrických aminů byly vybrány tři symetrické primární aminy – bis(3-aminopropyl)amin (*dpt*), 3,3'-diamino-*N*-metyldipropylamin (*dptm*) a triethylentetramin (*teta*). Pro koordinaci byly použity $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $FeCl_3$, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, $Co(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ nebo $Ni(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$. Při přípravě Fe^{III} a Co^{III} (použití $CoCl_2 \cdot 6H_2O$) komplexů bylo použito báze pro deprotonaci hydroxylových skupin ligandu. Obecně

komplexní sloučeniny byly připravovány rozpuštěním reaktantů v příslušném rozpouštědle a po kapkách pomalu přidávány postupně v pořadí aldehyd-kov-amin-(báze). Po ukončení reakcí byly vzniklé reakční směsi filtrovány do dvou uzavřených a dále perforovaných vialek, přičemž jedna byla umístěna do digestoře na volnou krystalizaci a druhá do uzavřené nádoby s Et₂O a ponechána difúzní krystalizaci. Následující reakční schémata popisují jednotlivé typy provedených koordinačních reakcí, Tabulka 2 pak popisuje parametry provedených reakcí.

Obrázek 32 znázorňuje reakční schéma koordinačních reakcí izolovaných ligandů s Fe^{III}, Co^{III} nebo Ni^{II} a primárními aminy *dpt* nebo *dptm*. Při přípravě Fe^{III} a Co^{III} komplexů byla použita báze Et₃N nebo pyridin (**16i**). Prvotní reakce s prekurzorem **1a** byly prováděny v prostředí methanolu (cca 10 ml, reakce **16a–c**), míchány při laboratorní teplotě, případně zahřívány pod zpětným chladičem při teplotě varu reakční směsi. Objem rozpouštědla byl dále snížen na 5–6 ml (**16d, f, j–l**), aby byly reakční směsi koncentrovanější a podpořila se tak jejich následná krystalizace. Tyto reakce nevedly k uspokojivým výsledkům, proto bylo změněno používané rozpouštědlo a dále již byla využívána směs MeOH/ACN (1:1, v:v) – reakce **16e, g–i, o–r**. Pro přípravu kationtových komplexů (**16h, ch, o–r**) byla reakční směs po ukončení reakce filtrována do methanolického roztoku tetrafenylboritanu sodného. Vzniklé [Fe(LC)](BPh₄) komplexy vlivem objemnějšího aniontu lépe krystalizují. Příprava kationtových komplexů vedla k izolaci produktů ve formě zeleného (**16p**), žlutého (**16r**) a černých (**16h, 16ch, 16o** a **16q**) prášků, které byly následně analyzovány pomocí MS. Komplexy **16h** a **16ch** byly získány volnou krystalizací a následně rekrystalizovány z acetonitrilu, zatímco komplexy **16o–16r** byly izolovány ihned po ukončení reakce.



Obrázek 32: Reakční schéma přípravy komplexních sloučenin Schiffových bází odvozených od aminů *dpt* ($R_2 = H$) nebo *dptm* ($R_2 = CH_3$) s předpokládaným složením $[M(LC)X]$, kde $M = Fe^{III}$, Co^{III} nebo Ni^{II} , $X = Cl$ nebo CH_3COO^- pro neutrální komplexy nebo $[M(LC)(X)]^+$, kde $M = Fe^{III}$, Co^{III} , $X = CH_3OH$ pro iontové komplexy. LC představuje příslušnou Schiffovu bázi (viz Obrázek 31). **16a**: $R_1 = Cl$, $R_2 = H$, $M = Fe^{III}$, $X = Cl$; **16b**: $R_1 = Cl$, $R_2 = H$; $M = Ni^{II}$, $X = CH_3COO^-$; **16c**: $R_1 = Cl$, $R_2 = CH_3$, $M = Ni^{II}$, $X = CH_3COO^-$; **16d** a **16e**: $R_1 = pz$, $R_2 = CH_3$, $M = Ni^{II}$, $X = CH_3COO^-$; **16f** a **16g**: $R_1 = pz$, $R_2 = H$, $M = Ni^{II}$, $X = CH_3COO^-$; **16h**: $R_1 = pz$, $R_2 = H$, $M = Fe^{III}$, $X = CH_3OH$; **16ch**: $R_1 = pz$, $R_2 = CH_3$, $M = Fe^{III}$, $X = CH_3OH$; **16i**: $R_1 = pz$, $R_2 = H$, $M = Fe^{III}$, $X = py$; **16j**: $R_1 = bpya$, $R_2 = CH_3$, $M = Co^{III}$, $X = Cl$; **16k**: $R_1 = bpyma$, $R_2 = CH_3$, $M = Co^{III}$, $X = Cl$; **16l**: $R_1 = pz$, $R_2 = CH_3$, $M = Co^{III}$, $X = Cl$; **16m**: $R_1 = bpyma$, $R_2 = CH_3$, $M = Co^{III}$, $X = CH_3COO^-$; **16n**: $R_1 = bpyma$, $R_2 = H$, $M = Co^{III}$, $X = CH_3COO^-$; **16o**: $R_1 = pybzim$, $R_2 = CH_3$, $M = Fe^{III}$,

$X = CH_3OH$; **16p**: $R_1 = pybzim$, $R_2 = CH_3$, $M = Co^{III}$, $X = CH_3OH$; **16q**: $R_1 = benzim$, $R_2 = CH_3$, $M = Fe^{III}$, $X = CH_3OH$; **16r**: $R_1 = benzim$, $R_2 = CH_3$, $M = Co^{III}$, $X = CH_3OH$.

Molekulové píky naměřené hmotnostní spektroskopií u látek izolovaných v mikrokrystalické podobě (MeOH, m/z , 100 %):

16h, $[Fe(pz-dpt)(CH_3OH)]^+$: vypočítáno 612,24 M^+ , naměřeno 581,25 M^+

16ch, $[Fe(pz-dptm)(CH_3OH)]^+$: vypočítáno 627,26 M^+ , naměřeno 595,30 M^+

16o, $[Fe(pybzim-dptm)]^+$: vypočítáno 849,32 M^+ , naměřeno 849,45 M^+

16p, $[Co(pybzim-dptm)]^+$: vypočítáno 852,32 M^+ , naměřeno 852,36 M^+

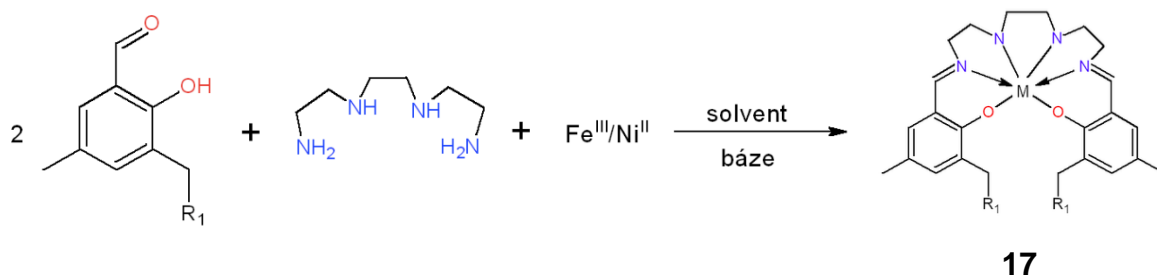
16q, $[Fe(benzim-dptm)]^+$: vypočítáno 695,27 M^+ , naměřeno 695,44 M^+

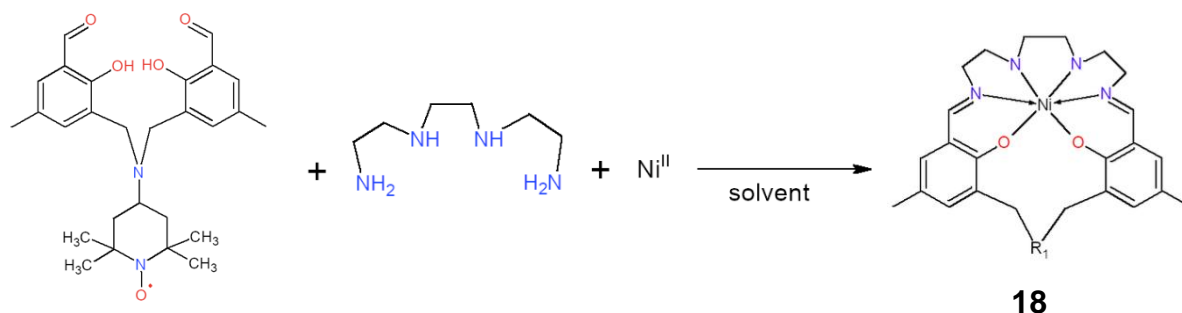
16r, $[Co(benzim-dptm)]^+$: vypočítáno 698,26 M^+ , naměřeno 698,24 M^+

U reakcí **16h**, **ch**, **p–r** se podařilo izolovat produkt. V případě **16h**, **16ch**, **16o** a **16q** byl produkt izolován po volné krystalizaci v digestoři a následně byl rekrystalizován z acetonitrilu. Látky **16p** a **16r** byly izolovány ihned po ukončení reakce ve formě zeleného (**16p**) a žlutého (**16r**) prášku, resp. černých prášků (**16h**, **16ch**, **16o** a **16q**). Pro sloučeniny **16h** ($m = 84$ mg; 60 %), **16ch** ($m = 71$ mg; 41,2 %), **16o** ($m = 36$ mg; 96,8 %), **16p** ($m = 40$ mg; 53,7 %), **16q** ($m = 33$ mg; 71,2 %) a **16r** ($m = 10$ mg; 10,8 %) bylo změřeno MS. Ostatní produkty se nepodařilo izolovat v krystalické či práškové formě.

Obrázek 33 znázorňuje reakční schémata přípravy koordinačních sloučenin Schiffových bází odvozených od aminu *teta*. Byl vybrán tento amin, protože spolu s periferně substituovaným derivátem salicylaldehydu (přičemž amin a aldehyd jsou obsaženy v molárním poměru 1:2) vytvoří kondenzací hexadentátní Schiffovou bázi, která je schopna saturovat koordinační sféru 3d kovů a nepodléhá tak substitučním reakcím na šestém koordinačním místě (což by bylo možné v případě *dpt*, *dptm* a *pet* derivátů). Tyto substituční reakce by potenciálně mohly ohrozit stabilitu radikálového substituentu.

Přípravy komplexů s radikálovými prekurzory (všechny reaktanty byly ve shodných molárních poměrech) byly nejprve provedeny za použití Ni^{II} , který je z chemického hlediska podobný Fe^{II} a Co^{II} , avšak v oxidačním stavu +II velmi stabilní a nepodléhá snadným redoxním reakcím jako železo či kobalt. Přípravy tohoto typu sloučenin nevedly k uspokojivým výsledkům a podmínky těchto reakcí bude potřeba optimalizovat – snížit objem používaného rozpouštědla, případně reakce zahřívát pod zpětným chladičem.





Obrázek 33: Reakční schémata přípravy komplexních sloučenin Schiffových bází odvozených od aminu tetra s předpokládaným složením $[M(LC)]$, kde $M = Fe^{III}$, Ni^{II} . LC představuje příslušnou Schiffovu bázi. **17a**: $R_1 = \text{bis(TEMPO)amin}$, $M = Ni^{II}$; **17b**: $R_1 = \text{pz}$, $M = Ni^{II}$; **17c**: $R_1 = \text{pz}$, $M = Fe^{III}$. **18**: $R_1 = 4\text{-NH}_2\text{-TEMPO}$.

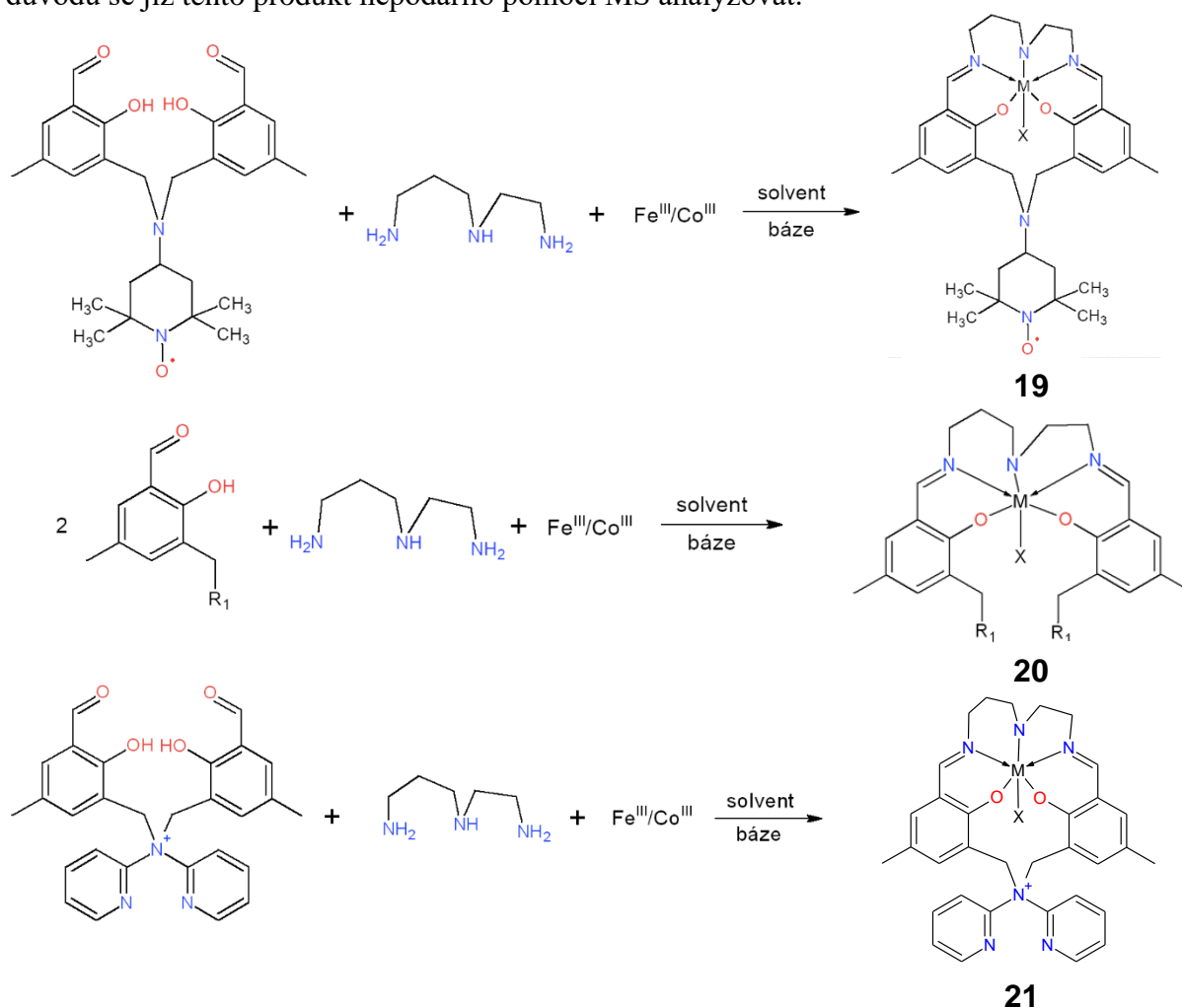
Tabulka 2: Reakční podmínky přípravy sloučenin **16a–r**, **17a–c**, **18**. LT = laboratorní teplota. Zvýrazněny jsou reakce, u kterých se podařilo izolovat produkt.

Sloučenina	Použitá sůl	Rozpouštědlo	Teplota [°C]	Čas [min]
16a	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	10 ml MeOH	LT	30
16b	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	10 ml MeOH	LT reflux, 90	15 + 30
16c	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	10 ml MeOH	LT reflux, 90	15 + 30
16d	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	5 ml MeOH	reflux, 90	20
16e	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	6 ml ACN/MeOH (1:1) + 1 ml MeOH	reflux, 90	35
16f	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	5 ml MeOH	reflux, 90	20
16g	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	6 ml ACN/MeOH (1:1) + 1 ml MeOH	reflux, 90	30
16h	$FeCl_3$	6 ml ACN/MeOH (1:1) + 1 ml MeOH	reflux, 90	30
16ch	$FeCl_3$	6 ml ACN/MeOH (1:1)	reflux, 90	15
16i	$FeCl_3$	6 ml ACN/MeOH (1:1)	reflux, 90	30
16j	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	5 ml MeOH	reflux, 90	30
16k	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	5 ml MeOH	reflux, 90	20
16l	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	5 ml MeOH	reflux, 90	20
16m	$Co(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$	2 ml MeOH	reflux, 90	20
16n	$Co(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$	2 ml MeOH	reflux, 90	20
16o	$FeCl_3$	2 ml ACN/MeOH (1:1) + 2 ml MeOH	reflux, 90	20
16p	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	2 ml ACN/MeOH (1:1) + 2 ml MeOH	reflux, 90	20
16q	$FeCl_3$	2 ml ACN/MeOH (1:1) + 2 ml MeOH	reflux, 90	20
16r	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	2 ml ACN/MeOH (1:1) + 2 ml MeOH	reflux, 90	20

17a	Ni(CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O	10 ml MeOH	LT	120
17b	Ni(CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O	10 ml MeOH	LT	135
17c	FeCl ₃ ·6H ₂ O	10 ml MeOH	reflux, 90	105
18	Ni(CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O	10 ml MeOH	LT	120

3.2.6.2 Komplexy Schiffových bází odvozených od asymetrických aminů

Pro přípravu tohoto typu sloučenin byl jako asymetrický amin byl vybrán *N*-(2-aminoethyl)-1,3-propandiamin (*pet*). Obrázek 34 znázorňuje provedené koordinační reakce. Tabulka 3 popisuje parametry jednotlivých reakcí. Vzhledem k neúspěchu syntéz **17** a **18** byly provedeny pokusy o přípravu radikálových komplexů také s aminem *pet*. Reakce **19a** a **19b** byly připravovány ve shodných molárních poměrech pro všechny reaktanty, reakce probíhaly ve směsi chloroformu a methanolu v minimálním množství rozpouštědla. Tyto reakce nevedly k uspokojivým výsledkům. Série reakcí **20** rovněž nepřinesly uspokojivé výsledky, přestože byly modifikovány reakční časy, použité rozpouštědlo i jeho množství. Reakce **21a** vedla k izolaci produktu **21a** (*m* = 11 mg; 21,1 %), ve formě černého prášku avšak z časových důvodů se již tento produkt nepodařilo pomocí MS analyzovat.



Obrázek 34: Reakční schémata přípravy komplexních sloučenin Schiffových bází odvozených od *pet* s předpokládaným složením [M(LC)X], kde M = Fe^{III}, Co^{III}. X = Cl, CH₃COO⁻ nebo NCS pro neutrální komplexy nebo [M(LC)(X)]⁺, kde M = Fe^{III}, Co^{III}, X = CH₃OH pro iontové

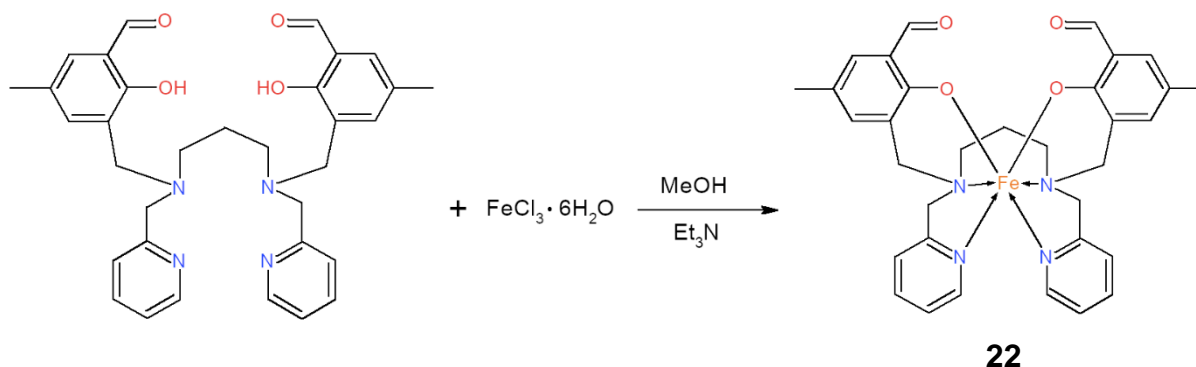
komplexy. LC představuje příslušnou Schiffovu bázi (viz Obrázek 31). **19a**: $M = Fe^{III}$, $X = Cl$; **19b**: $M = Co^{III}$, $X = Cl$. **20a**: $R_1 = pz$, $M = Fe^{III}$, $X = Cl$; **20b**: $R_1 = pz$, $M = Fe^{III}$, $X = CH_3OH$; **20c**: $R_1 = pz$, $M = Fe^{III}$, $X = CH_3OH$; **20d**: $R_1 = pz$, $M = Fe^{III}$, $X = NCS$; **20e**: $M = Fe^{III}$, $R_1 = pz$, $X = Cl$; **20f**: $M = Co^{III}$, $R_1 = bpyma$, $X = CH_3COO^-$; **21a**: $M = Fe^{III}$, $X = Cl$; **21b**: $M = Co^{III}$, $X = Cl$.

Tabulka 3: Reakční podmínky přípravy sloučenin **19a–b**, **20a–f**, **21a–b**. Zvýrazněny jsou reakce, u kterých se podařilo izolovat produkt.

Sloučenina	Použitá sůl	Rozpouštědlo	Teplota [°C]	Čas [min]
19a	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	5 ml $CHCl_3$ + 2 ml MeOH	reflux, 90	10
19b	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	3 ml $CHCl_3$ + 2 ml MeOH	reflux, 90	10
20a	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	10 ml MeOH	reflux, 90	15
20b	$Fe(ClO_4)_2$	4 ml ACN/MeOH (1:1)	reflux, 90	30
20c	$Fe(ClO_4)_2$	5 ml ACN	reflux, 90	60
20d	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	5 ml ACN	reflux, 90	35
20e	$FeCl_3$	5 ml ACN	reflux, 90	20
20f	$Co(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$	2 ml MeOH	reflux, 90	20
21a	$FeCl_3$	2 ml ACN/MeOH (1:1) + 2 ml MeOH	reflux, 90	30
21b	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	2 ml ACN/MeOH (1:1) + 1 ml MeOH	reflux, 90	30

3.2.6.3 Další komplexní sloučeniny

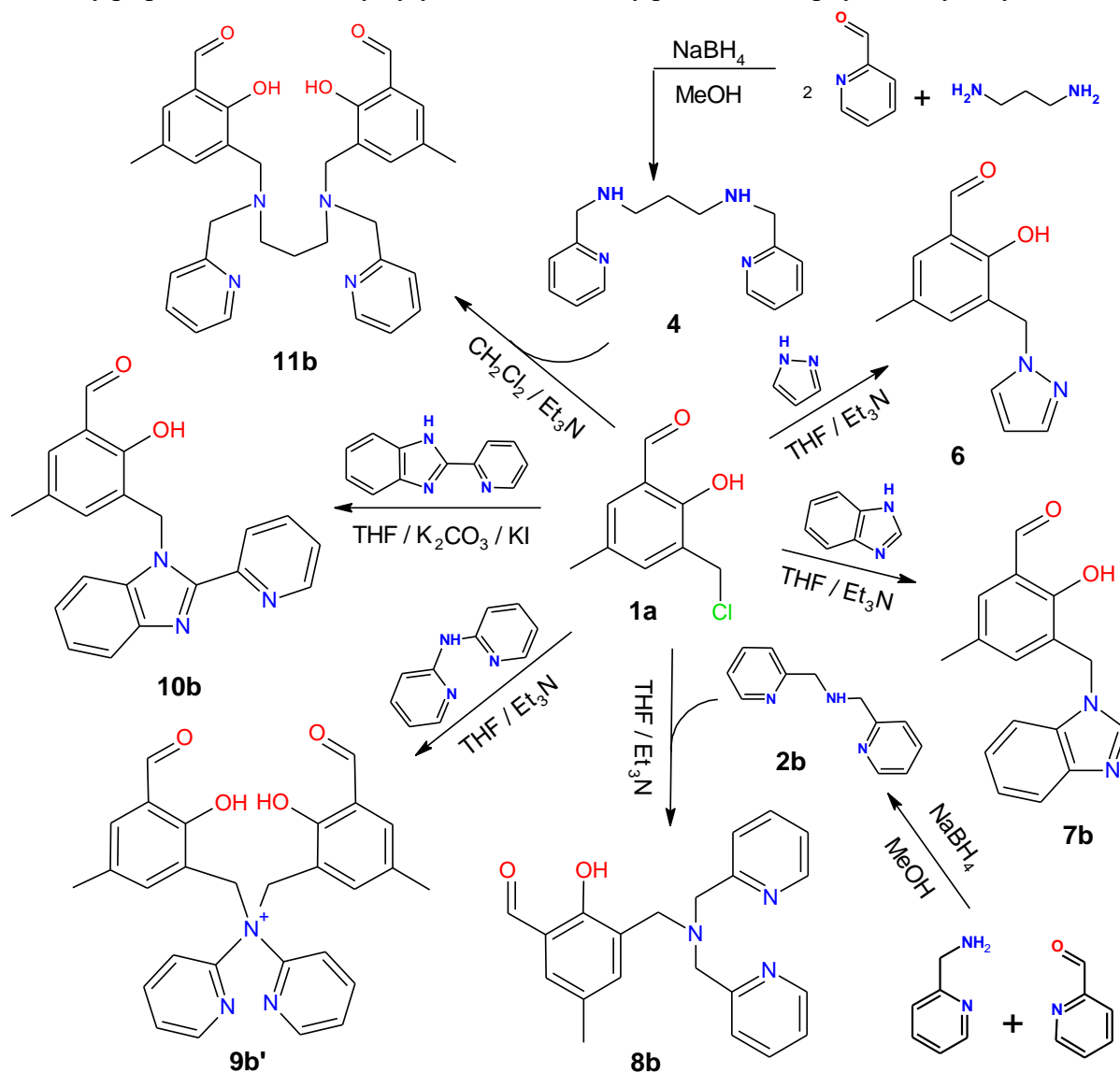
Kromě komplexních sloučenin odvozených od Schiffových bází byla provedena i koordinační reakce, kde jako ligand byla použita sloučenina **11b**. Byla vyzkoušena jediná reakce (**22**) za použití $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ a báze Et_3N , reakce probíhala v cca 7 ml MeOH, byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 2 hodin a následně byla zpracována stejným způsobem jako komplexy odvozené od Schiffových bází. Produktem byl sytě modrý roztok, ze kterého se nepodařilo izolovat finální produkt v pevné formě.



Obrázek 35: Reakční schéma přípravy komplexní sloučeniny **22**

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem experimentální části byla příprava organických ligandů, které byly použity ke koordinačním reakcím s vybranými přechodnými kovy. V prvním kroku byl připraven výchozí prekursor, který byl dále periferně substituován vybranými aminy. Jednalo se o sekundární (často heterocyklické) organické látky nebo organické stabilní radikály. Příprava tohoto typu ligandů probíhala v inertní atmosféře za použití bezvodých rozpouštědel (THF, Et₃N, DIPEA). Vzniklé látky byly přečišťovány sloupcovou chromatografií na silikagelu, obecně byly výsledkem pevné látky žluté barvy (v případě radikálů červenooranžové látky) a jejich čistota byla ověřována především pomocí ¹H NMR spektroskopie a hmotnostní spektrometrie. V dalším kroku byly tyto ligandy použity do koordinačních reakcí s vybranými alifatickými aminy a přechodnými kovy. Tyto reakce byly provedeny *in situ* a následně byla vzniklá sloučenina ponechána difúzní a volné krystalizaci za účelem tvorby krystalických produktů. Všechny připravené sloučeniny byly charakterizovány pomocí dostupných analytických metod.



Obrázek 36: Shrnutí provedených periferních funkcionalizací sloučeniny **1a** za použití organických molekul

4.1 Syntéza

V rámci organické syntézy byla připravena série sloučenin **1–15**, všechny tyto látky byly připravovány v bezvodých rozpouštědlech a v inertní atmosféře argonu nebo dusíku. Sloučeniny byly připravovány z komerčně dostupných látek, výjimkou byly přípravy sloučenin již komentované v kapitole 3.2.2. Kromě sloučenin **1a**, **1b**, sloučenin série **5** a látek **4** a **6** byly všechny ostatní látky přečištěny sloupcovou chromatografií na silikagelu a jako MF byly použity směsi chloroformu (nebo dichloromethanu) s methanolem nebo směs hexanu a ethylacetátu v různých poměrech. Přípravy jednotlivých sloučenin popisují reakční schémata – viz Obrázek 36 a Obrázek 38.

Sloučenina **1a** byla připravována na základě již publikovaného postupu [155]. Látka **1a** vznikla bez obtíží výše uvedeným postupem, který nebyl nijak modifikován. Byla připravena ve vysokém výtěžku (99,85 %) a v dostatečné čistotě, což bylo potvrzeno ¹H NMR spektroskopii (všechny signály byly přiřazeny jednotlivým atomům vodíků) a nebylo tedy nutné přečištění sloupcovou chromatografií, avšak s časem jeho čistota klesala, což bylo pozorováno pomocí TLC. Tento problém byl odstraněn průběžnou rekrystalizací **1a** z ethanolu [158], případně izopropanolu, který má velmi blízkou hodnotu bodu varu jako ethanol. Sloučenina **1b**, lišící se od **1a** substituentem v poloze 5, byla připravována analogickým postupem, avšak reakční čas byl prodloužen na 24 hodin. Po provedení analýzy ¹H NMR spektra bylo potvrzeno, že izolovaná bílá pevná látka je výchozí prekurzor 5-chlorosalicyladehyd. Toto zjištění vede k závěru, že substituent výrazně ovlivňuje chlormethylaci, protože –Cl je substituentem se záporným indukčním efektem odebírajícím elektrony z benzenového jádra, tedy zvyšuje jeho elektrofilitu a tím je výrazně chlormethylace znesnadněna, zatímco methylová skupina má kladný indukční efekt a funguje zcela opačně [162]. Dle literatury [155] by halogenidový anion měl chlormethylaci dokonce inhibovat, přesto se však autorům podařilo provést chlormethylaci 5-bromosalicyladehydu, byť v nižším výtěžku (~40 %) a reakčním čase 6,5 dne. Z časových důvodů se již nepodařilo reakci **1b** za upravených podmínek zopakovat.

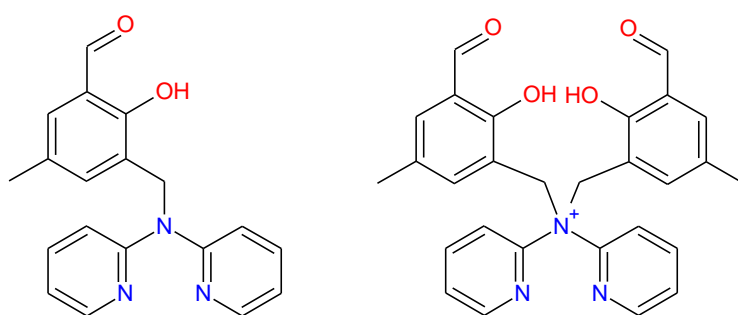
Prekurzor **1a** byl ve většině případů substituován komerčně dostupnými látkami. Připraveny byly také sloučeniny (**2**, **3** a **4**), kterými byl zmiňovaný prekurzor dále substituován. Látka **2a** byla po reakci přečištěna neutralizací a následnou extrakcí, avšak tento způsob nebyl zcela efektivní, což bylo potvrzeno ¹H NMR spektroskopii – ve spektru byly patrné píky, které nebylo možno přiřadit (oblast $\delta = 4,4–5,6$), v aromatické oblasti se rovněž objevovaly nečistoty, proto látka byla přečištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu. Ze získaného spektra bylo zjištěno, že purifikace zcela úspěšná nebyla, avšak hodnoty integrovaných signálů potvrzovaly přítomnost všech vodíků molekuly **2b**. Další připravovanou látkou pro následnou substituci prekurzoru byl **3b**, dle literatury [157] byla látka přečištěna sloupcovou chromatografií a po provedení analýzy ¹H NMR spektra se potvrdilo, že sloučenina **3b** izolována nebyla. Příprava látky **4** byla obdobná jako v již publikovaném článku [158], výsledná sloučenina nebyla přečišťována sloupcovou chromatografií ani analyzována pomocí ¹H NMR spektroskopie a byla ihned použita pro přípravu sloučeniny *py₂dap-sal₂* (**11b**).

Jak již bylo zmíněno, substituční reakce výchozího prekurzoru **1a** probíhaly za inertních podmínek a za použití bezvodých rozpouštědel. Avšak před aplikací těchto reakčních podmínek

byla provedena série reakcí (**5a–g**) v synteticky méně náročných podmínkách za použití nadbytku K_2CO_3 , malého množství KI a jako rozpouštědlo bylo zvoleno ACN. Izolovány byly světle žluté pevné látky, jednalo se o nadbytky nezreagovaného uhličitánu, což se potvrdilo neutralizační reakcí s kyselinou chlorovodíkovou, při které vyvíjející se oxid uhličitý charakteristicky šuměl. Na základě analýz 1H NMR spekter provedených pro všechny látky se potvrdilo, že ani z izolovaných filtrátů a jejich následným zpracováním (rekrytalizace z acetonu, ACN či $CHCl_3$) se nepodařilo získat žádoucí produkty. Na základě těchto poznatků byly pro další reakce vybrány náročnější syntetické podmínky, jak je popsáno níže.

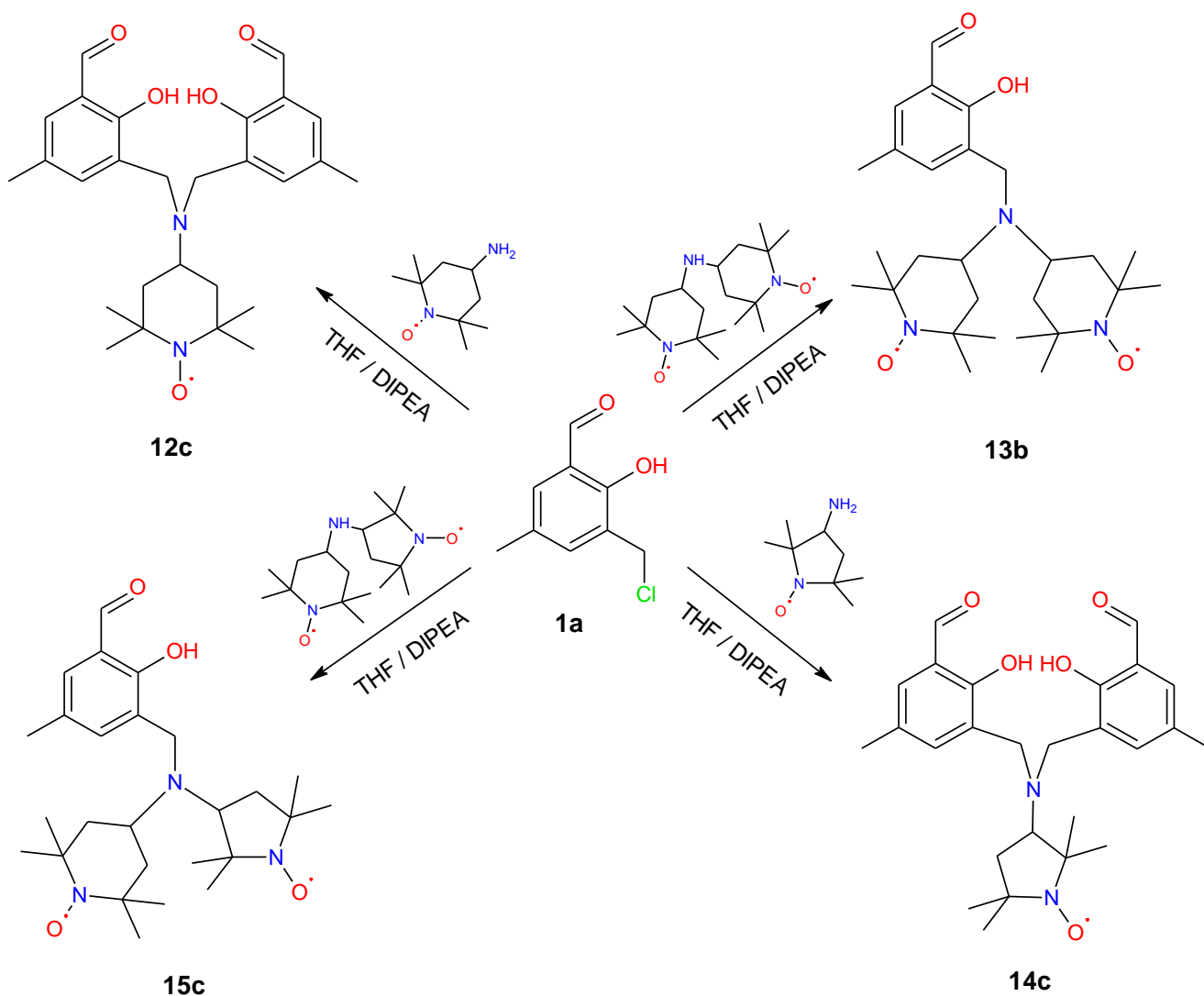
Na základě již publikovaného postupu (zde však prekurzor substituován dimethylpyrazolem) [159] se přistoupilo se k jiné strategii substituce, a to za použití bezvodých rozpouštědel a v inertní atmosféře dusíku či argonu. Postup přípravy bezvodých rozpouštědel THF a Et_3N je komentován v kapitole 3.2.3. Tyto reakční podmínky byly shodné pro přípravy látek **6–15**. Sloučenina **6** vznikala dříve uvedeným postupem, všechny signály v 1H NMR spektru byly přiřazeny jednotlivým atomům vodíků. Produkt byl izolován v již pevné formě, což zcela nekoreluje s literaturou [159], kde byl izolován olej žluté barvy, ze kterého produkt po pár dnech vykrytalizoval při $4\text{ }^\circ\text{C}$, je ale nutno dodat, že produkt bylo nutno při této teplotě nadále uchovávat, protože při laboratorní teplotě se začal roztékat. Sloučenina **7b** vznikala obdobně jako **6**, při promývání produktu malým množstvím methanolu bylo pozorováno částečné rozpuštění separovaného $Et_3NH^+Cl^-$, proto bylo nutno produkt přechistit sloupcovou chromatografií. Přechistění bylo úspěšné jen částečně, látka při separaci ulpívala na silikagelu a ani po několika přidavcích MF a zvýšením její polarity nebylo možné látku separovat. Při dalších přidavcích MF (90 % $CH_2Cl_2/10\%$ MeOH) se začaly eluovat frakce, avšak na základě TLC bylo zjištěno, že jejich separace nebyla dostatečná a byla separována jediná čistá frakce (**7b**) s výtěžkem pouhých 0,5 %. Zbytek látky byl z kolony vytlačen, oddělila se část frakcí (dle TLC nečistoty), látku za účelem zisku vyššího výtěžku bylo nutno opětovně přechistit a upravit podmínky separace, především zmenšit výšku sloupce silikagelu a nepoužívat polárnější MF než 95 % $CH_2Cl_2/5\%$ MeOH. Opakované přechistění bylo provedeno sloupcovou chromatografií přineslo o něco vyšší výtěžek (7,0 %), když sloupec silikagelu byl zkrácen z 15,6 cm na 7,9 cm, průměr kolony zůstal nezměněn (6 cm) a použitá MF nebyla polárnější než 95 % $CH_2Cl_2/5\%$ MeOH. Z poznatků získaných při první separaci bylo nutno opakovaně promývat sloupec silikagelu s naadsorbovanou látkou startovací MF (97 % $CH_2Cl_2/3\%$ MeOH), a to za účelem pozvolnější eluce, a tedy účinnější separace (celkem bylo použito 700 ml MF). Po zvýšení polarity MF (96 % $CH_2Cl_2/4\%$ MeOH) se začaly eluovat frakce, které byly na základě TLC vyhodnoceny jako žádaný produkt. Z těchto důvodů byla první separace neúspěšná – izolovaný produkt (jediná frakce) byl eluován při MF 90 % $CH_2Cl_2/10\%$ MeOH a produkt tedy nebyl efektivně separován. Při opakované separaci za upravených podmínek již bylo eluováno celkem 12 frakcí, později na základě 1H NMR spektroskopie analyzovaných jako produkt **7c**, tento produkt složením odpovídal látce **7b**. Další izolované frakce na základě TLC naznačily, že se jedná o směs produktu a nezreagovaného benzimidazolu, tyto frakce zastupovaly nejvyšší podíly z celkové hmotnosti látky nanesené na kolonu. Z tohoto důvodu byl produkt separován v nízkém výtěžku a celkově z obou přechistění (**7b** + **7c**) bylo izolováno 140 mg s výtěžností 7,5 %.

Sloučenina **8a** byla na rozdíl od sloučenin **6** a **7a** po ukončení a zpracování reakce izolována jako oranžovožlutá viskózní kapalina, která byla dále přečištěna sloupcovou chromatografií a na základě ^1H NMR spektroskopie byla potvrzena přítomnost sloučeniny **8b**, nyní již izolována jako žlutá pevná látka. Sloučenina **9b** byla po přečištění izolována jako zelenožlutá lepivá látka, u které se však při interpretaci ^1H NMR spektra nepodařilo přiřadit všechny signály k jednotlivým atomům vodíku, avšak z TLC analýzy je patrné, že nový produkt byl získán. ^1H NMR spektrum naznačovalo, že izolovaný produkt byl substituován pouze jedním pyridinovým cyklem. Produkt **9b** byl proto ještě analyzován pomocí MS, která prokázala, že výsledným produktem je prekurzorem disubstituovaný bipyridylamin (**9b'**, *sal₂-bpya*). Reakce vzniklého **9b'** byla provedena pomalým přikapáváním směsi bipyridylaminu a Et_3N k prekurzoru rozpuštěném v THF. Při počátečním přikapávání směsi aminů byl prekurzor v nadbytku a je tedy možné, že z tohoto důvodu byl výsledný disubstituovaný produkt **9b'** připraven.



Obrázek 37: Strukturní vzorec předpokládané sloučeniny **9b** a izolované sloučeniny **9b'**

Sloučenina **10** byla připravována třemi odlišnými způsoby, z nichž jako nejefektivnější se jevil postup B, produkt (**10b**) izolovaný touto reakcí a dále přečištěný sloupcovou chromatografií byl analyzován pomocí ^1H NMR a všechny signály se podařilo přiřadit jednotlivým atomům vodíků (spektrum obsahovalo také signály pravděpodobně pro H_2O a AcOEt). Produkt **10c** získaný postupem C byl analyzován pomocí ^1H NMR, spektrum obsahovalo mnoho nečistot, a proto bylo nutno látku přečistit, frakce **10d** a **10e** získané po přečištění sloupcovou chromatografií byly analyzovány pomocí ^1H NMR spektroskopie a ze získaných dat bylo zjištěno, že frakce **10d** předpokládanému složení odpovídá, avšak látka není zcela čistá. Frakce **10e** předpokládanému složení neodpovídala, pravděpodobně se jedná o směs produktu a nezreagovaného *pybzim*, což bylo podpořeno TLC analýzou během sloupcové chromatografie.



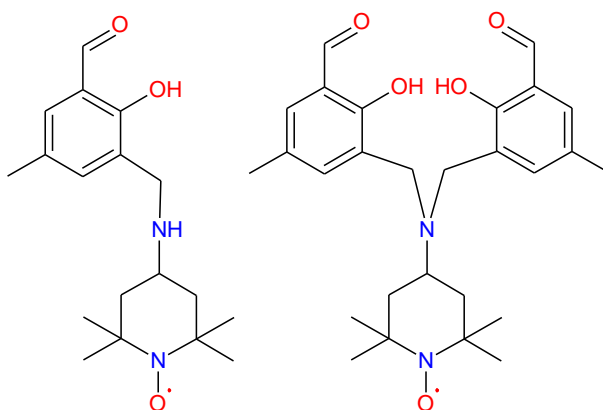
Obrázek 38: Shrnutí provedených periferních funkcionalizací sloučeniny **1a** za použití radikálových sloučenin

Série radikálů **12–15** byla připravena obdobným způsobem jako sloučeniny **6–10**, ovšem zde jako báze byl použit *N*-ethyl-*N,N*-disopropylamin (DIPEA), který je mírně slabší bází než Et₃N, avšak strukturně jsou velmi podobné. Sloučenina **12** byla připravena výše uvedenými postupy A a B. Postup A nevedl k uspokojivým výsledkům a jak již bylo popsáno v experimentální části, 0,5 ekvivalentu 4-amino-TEMPO nezreagovala, což se potvrdilo LC-MS analýzou. Proto byl navrhnout postup B – optimalizování přidavkem jednoho ekvivalentu **1a**. LC-MS analýza potvrdila přítomnost disubstituovaného produktu, který byl následně přečištěn sloupcovou chromatografií a byl izolován krystalický produkt **12c** dále podroben rentgenostrukturní analýze. Sloučenina **13** byla připravena postupem A analogickým pro sloučeninu **12**, avšak zde se vylučující sraženina v průběhu reakce nerozpustila, zahřívání pod zpětným chladičem nebylo nutné provádět. Produkt **13b** byl izolován ve formě červených krystalů, které byly podrobeny rentgenostrukturní analýze.

Sloučenina **14** byla prováděna analogickým způsobem B jako v případě **12**, tedy ihned při zahájení reakce byly přidány dva ekvivalenty výchozího prekursoru, čímž se opět dosáhlo

přípravy disubstituovaného produktu. Následnou sérií extrakcí se podařilo získat dvě frakce, z nichž **14a** při laboratorní teplotě vykazovala známky začínající krystalizace, proto byl produkt ponechán difúzní krystalizaci v soustavě s hexanem, což však nevedlo k uspokojivým výsledkům, a proto byl produkt přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu za vzniku červenožluté olejovité látky **14c**. Druhá frakce (**14b**) získána extrakcí surového produktu byla na základě LC-MS analýzy identifikována jako směs mono-substituovaného produktu a DIPEA hydrochloridu, což se potvrdilo rozpuštěním **14b** v minimálním množství vody, proto byla tato frakce zlikvidována. Posledním izolovaným produktem ze série radikálů je sloučenina **15**, kde vzhledem k velmi malému objemu rozpouštědla (2 ml) nebyl prekurzor rozpuštěn v THF, pouze v pevné formě přisypán ke směsi (PROXYL-TEMPO)aminu a DIPEA v THF. Zpracování probíhalo obdobně jako u sloučeniny **13a**, ovšem po přečištění byla izolována tmavě červená viskózní kapalina **15c**, která se nepodařila difúzní krystalizací izolovat v krystalické podobě.

Lze tedy konstatovat, že reakce sekundárního radikálového aminu (reakce **13**) probíhala poměrně jednoduše za vzniku předpokládaného produktu, na rozdíl od aminů primárních. U těchto syntéz (**12** a **14**) bylo pomocí LC-MS analýzy detekováno, že reakce neprobíhají ve stechiometrickém poměru kvantitativně za vzniku předpokládaných struktur. Bylo zjištěno, že 0,5 ekvivalentu příslušného aminu nereagovala, a proto byly reakce optimalizovány přidávkou jednoho ekvivalentu prekurzoru, který vedl k výsledným produktům **12c** a **14c**. Reakce s TEMPO deriváty byly izolovány v krystalické formě, zatímco reakce s PROXYL deriváty byly izolovány pouze ve formě oleje nebo viskózní kapaliny. Na základě MS bylo zjištěno, že reakce vedoucí k produktům **12c**, **13b** a **14c** byly úspěšné, zatímco sloučenina **15c** byla izolována jako směs několika látek.



Obrázek 39: Strukturální vzorec předpokládané a izolované sloučeniny vzniklé reakcí **12**.

Následně organické ligandy **1a**, **6**, **7b/c**, **8b**, **9b**, **10b**, **12c** a **13b** byly ponechány reakci s alifatickými primárními aminy *dpt*, *dptm*, *teta* nebo *pet* a vybranými sloučeninami přechodných kovů Fe^{III}, Co^{III}, Ni^{II}. Reaktanty nebyly nijak pro tyto syntézy modifikovány. Reakce probíhaly výše uvedenými způsoby a za různě modifikovaných reakčních podmínek. Zpracování všech připravených komplexních sloučenin bylo obdobné, kromě sloučenin **16o–r** a **21a**, které jako jediné byly izolovány ihned po ukončení reakce. Ostatní sloučeniny byly ponechány volné či difúzní krystalizaci. Purifikace izolovaných látek **16h** a **16ch** probíhala formou krystalizace z acetonitrilu.

Komplexní sloučeniny byly připravovány jednotným postupem uvedeným v kapitolách 3.2.6.1, 3.2.6.2 a 3.2.6.3. Vesměs byly produktem reakcí pouze čiré roztoky, jejichž výsledné zbarvení se lišilo dle použitého kovu pro koordinaci – tmavě hnědofialové pro Fe^{III}, tmavě hnědý či zelenohnědý pro Co^{III} a zelené, zelenohnědé až žlutohnědé pro Ni^{II}. Přestože bylo snahou optimalizovat reakční podmínky (změna rozpouštědla, reakčního času, teploty) či způsob krystalizace (volná nebo v soustavě s diethyletherem, případně umístění krystalizační nádoby s diethyletherem do nižších teplot či soustava s kyselinou chlorovodíkovou), nepodařilo se izolovat produkty krystalické povahy.

Nicméně u Fe^{III} komplexů **16h**, **16ch**, **16o**, **16q** a Co^{III} komplexů **16p**, **16r** se podařilo izolovat produkty ve formě černého (**16h**, **16ch**, **16o**, **16q**), zeleného (**16p**) nebo žlutého (**16r**) prášku. V případě **16h** a **16ch** byly produkty krystalizovány z acetonitrilu, sloučeniny **16o–r** se podařilo izolovat ihned po ukončení reakce. Všechny tyto látky byly zaslány na MS analýzu, která potvrdila jejich předpokládané složení.

Přestože provedené koordinační reakce nepřinesly očekávané výsledky, je nutno podotknout, že z podmínek reakcí, které vedly k izolaci produktů (Fe^{III} komplexy **16h**, **16ch**, **16o**, **16q** a Co^{III} komplexy **16p** a **16r**), bylo vyzorováno několik trendů:

- Všechny reakce byly zahřívány pod zpětným chladičem, míchání reakčních směsí při laboratorní teplotě účinné nebylo.
- Fe^{III} komplexy byly izolovány po reakci s bezvodým FeCl₃, zatímco reakce s hexahydrátem této sloučeniny nevedly ke kýženým výsledkům.
- Komplexy vznikaly lépe ve směsi rozpouštědel než-li v jediném rozpouštědle – směs ACN/MeOH (1:1, v:v).
- Izolace všech komplexů proběhla u reakcí, které po jejich ukončení byly filtrovány do methanolického roztoku tetrafenylboritanu sodného. Takto byly vytvořeny komplexy o předpokládané struktuře [Fe/Co(LC)(CH₃OH)](BPh₄). Obecně tento typ struktur vlivem přítomnosti objemného aniontu je stabilizován a dobře krystalizuje. Také byl použit pyridin, který by se měl vázat na šesté koordinační místo za vzniku [Fe/Co(LC)(py)](BPh₄) a může tak vytvářet π-π interakce s benzenovými jádry příslušné sloučeniny, čímž je opět krystalizace více stabilizována.
- Volná krystalizace při laboratorní teplotě vedla u látek **16h** a **16ch** k izolaci produktů v různých časových intervalech (cca měsíc).

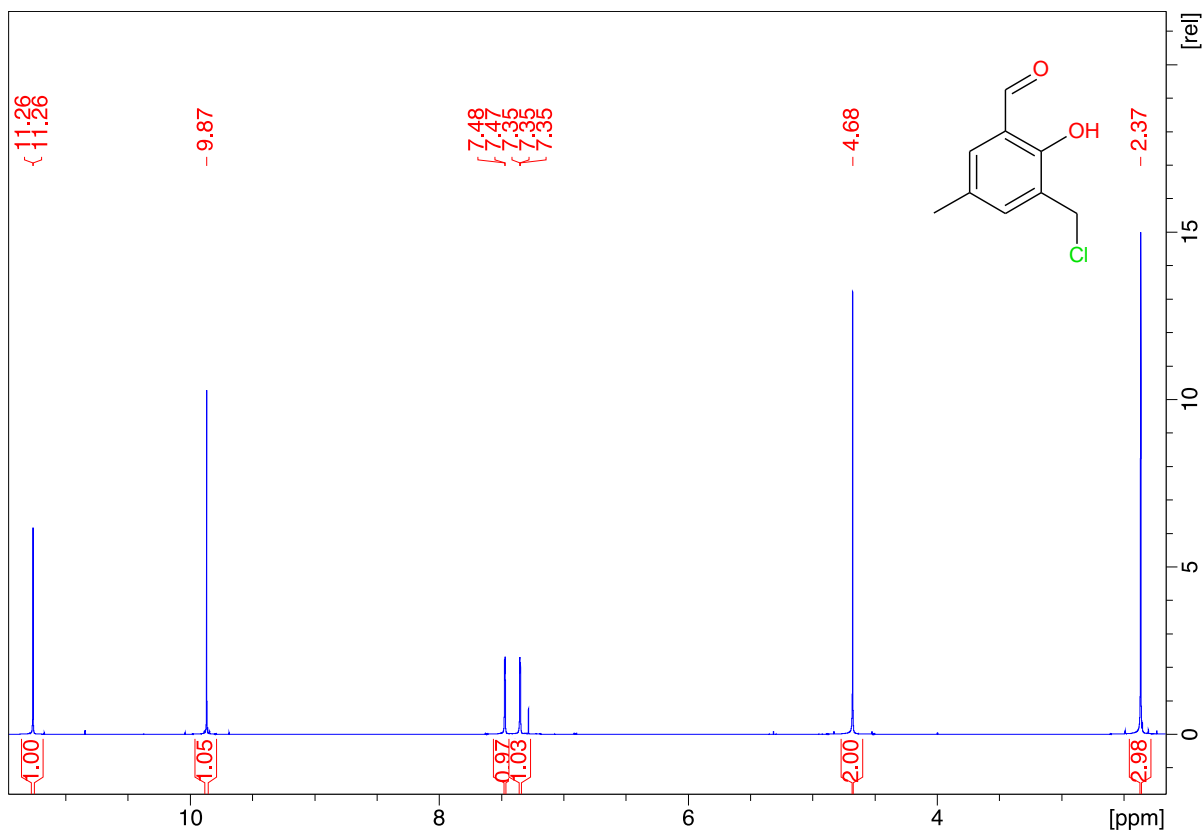
4.2 Charakterizace

Výše uvedené sloučeniny byly charakterizovány dostupnými analytickými technikami. ¹H NMR spektra jsou uvedena pro látky **1a**, **1b**, **2**, **6–10**, které byly dále používány v reakcích nebo se výsledný produkt podařilo izolovat (s výjimkou **1b**). Radikálové sloučeniny byly charakterizovány LC-MS analýzou a EPR, z nichž sloučeniny **12c** a **13b** byly také analyzovány rentgenostrukturní analýzou. Izolované koordinační sloučeniny **16h**, **16ch** a **16o–r** byly analyzovány pomocí MS.

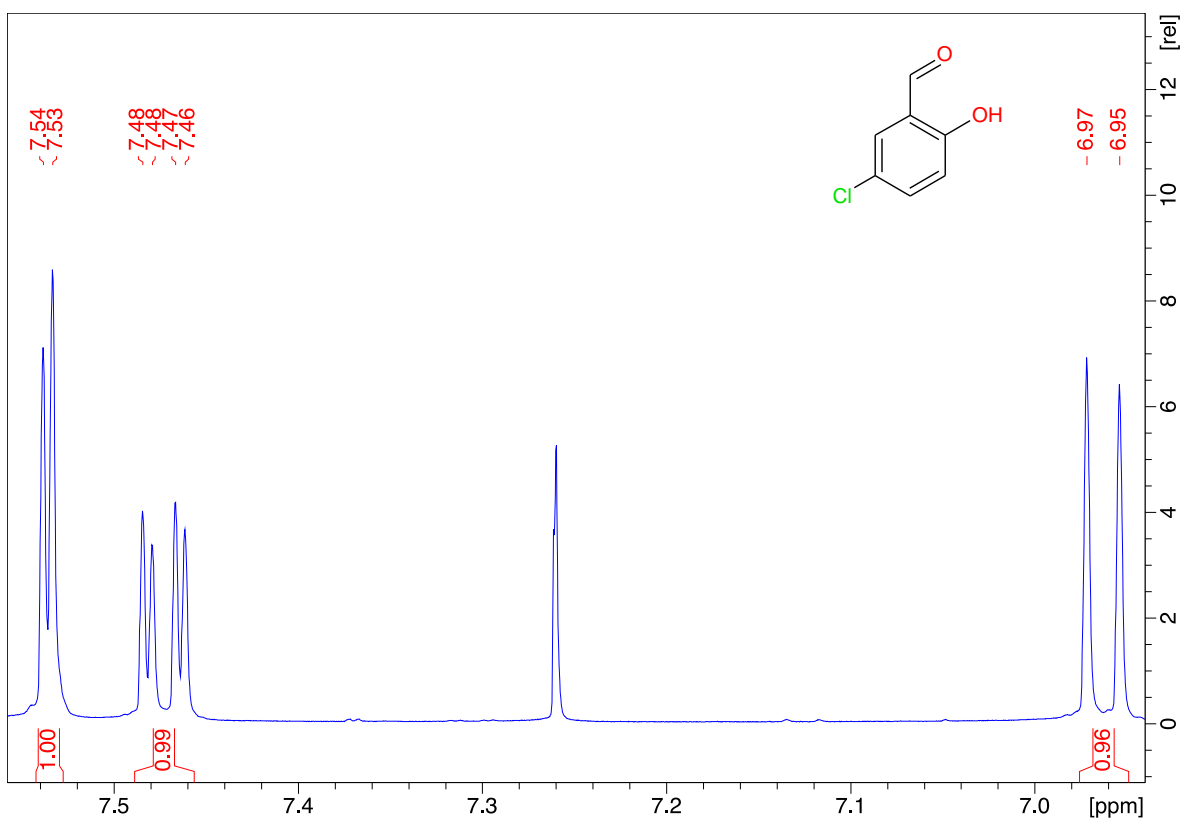
4.2.1 ¹H NMR spektroskopie

Analýzy ¹H NMR spekter byly již částečně komentovány v kapitole 4.1 u jednotlivých analyzovaných látek. U všech sloučenin se podařilo přiřadit signály k jednotlivým atomům

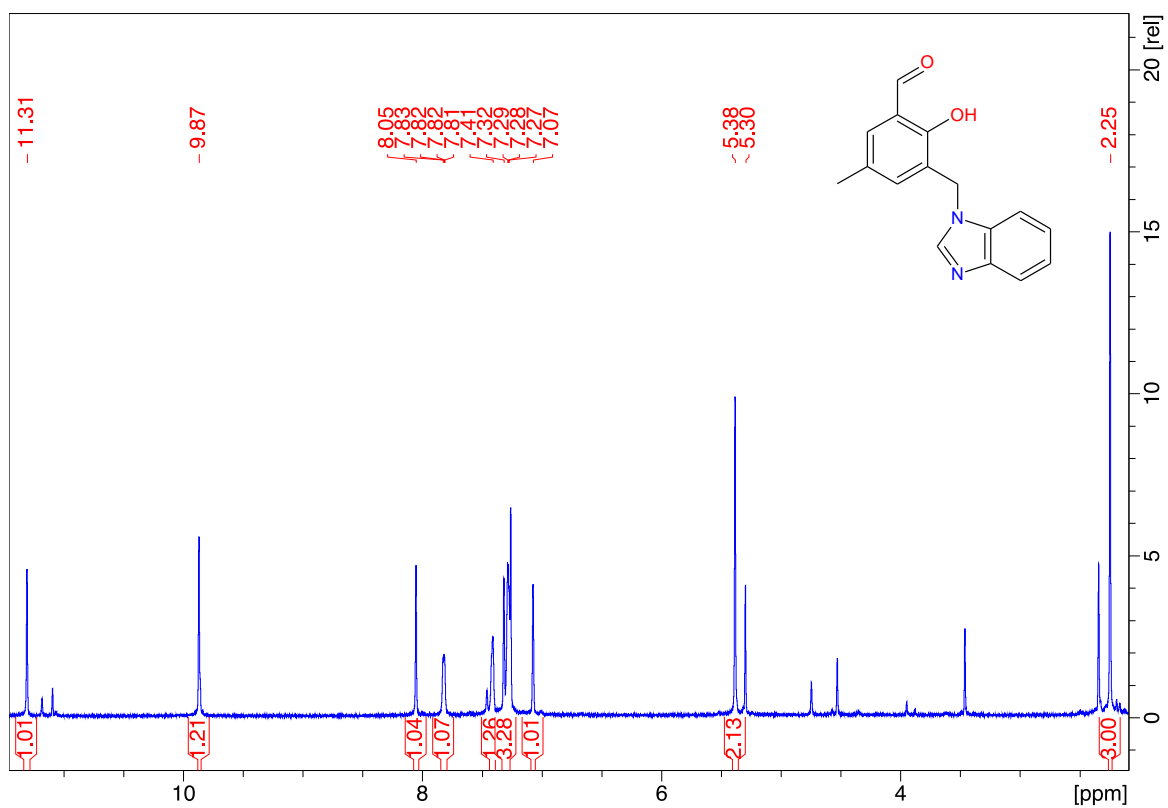
vodíku. Chemické posuny pro jednotlivé funkční skupiny byly obecně pozorovány při 2,10–2,37 pro vodíky alifatických skupin, 3,68–6,18 pro vodíky methylenové skupiny vzniklé chlormethylací, 6,0–8,5 pro vodíky aromatických cyklů, 8,83–9,87 pro aldehydicke vodíky a 11,26–11,31 pro vodíky hydroxylových skupin. Ze spektra sloučeniny **1a** je patrné, že nejen že byly všechny atomy vodíku přiřazeny, ale látka rovněž dosahuje poměrně vysoké čistoty. Spektrum sloučeniny **1b** (kterou se připravit nepodařilo) je k ostatním spektrům připojeno pro porovnání se spektrem sloučeniny **1a**. Výřez aromatické části spektra **1b** ukazuje zřetelný signál pro $\delta = 7,46\text{--}7,48$ (dd), charakteristický pro vodík 5-chlorosalicylaldehydu v poloze 3, který by měl být chlormethylací substituován. U sloučeniny **2b** byly ve spektru pozorovány nečistoty v oblasti spektra obsahující signály pro vodíky aromatického kruhu, a to dokonce po přečištění sloupcovou chromatografií. Sloučeninu **3b** se izolovat nepodařilo, proto ani není uvedeno její vodíkové spektrum. Látka po přečištění na základě ^1H NMR spektroskopie obsahovala pouze nezreagovaný 1,10-fenanthrolin-5,6-dion (přestože TLC provedené v průběhu reakce naznačilo vznik produktu), ve spektru nebyly patrné signály pro imidazolovou část. Sloučenina **6** obsahovala několik nečistot v oblasti $\delta = 3\text{--}4,2$, dále byly pozorovány signály pro $\delta = 1,25$ (s) a $\delta = 0,75$ (m) – pravděpodobně náležící mazadlu používanému pro zábrusy [163], ostatní signály byly přiřazeny. Pro sloučeninu **7b** byly rovněž všechny signály přiřazeny, také byly pozorovány signály pro $\delta = 0,85$ (m) a 1,25 (s) (mazadlo), $\delta = 3,46$ (s) (MeOH), $\delta = 5,30$ (s) (CH_2Cl_2). Některé signály se nepodařilo zcela přiřadit, konkrétně se jedná o píky s chemickými posuny $\delta = 1,63$ (s) a 2,34 (s) (může se jednat o H_2O a aceton, avšak hodnoty zcela nekorelují s tabelovanými hodnotami – pro H_2O : $\delta = 1,56$ (s) a pro aceton: $\delta = 2,17$ (s)). Ve spektru sloučeniny **8b** byl pozorován nepřirazený pík (s, $\delta = 2,22$), zřejmě se jedná o aceton (s, $\delta = 2,17$) [163], který do reakce sice nevstupoval, ale jedná se o rozpouštědlo běžně používané pro čištění laboratorního skla, ostatní signály byly přiřazeny. Provedená ^1H NMR spektroskopie pro sloučeninu **9b** zcela neobjasnila její složení, proto byla analýza podpořena hmotnostní spektrometrií, která potvrdila přítomnost sloučeniny **9b'**. Všechny ostatní signály byly přiřazeny k jednotlivým atomům vodíku kromě píků pro $\delta = 1,40$ (t) a $\delta = 3,10$ (q). S největší pravděpodobností se jedná o signály $\text{Et}_3\text{NH}^+\text{Cl}^-$, hydrochlorid vytváří signály při $\delta = 1,43$ (t) a $\delta = 3,17$ (q) [164]. Ve spektru sloučeniny **10b** byly také přiřazeny všechny vodíky k jednotlivým signálům, obdobně jako pro sloučeninu **6**, i zde se vyskytovaly nepřirazené signály při $\delta = 1,25$ (s) a $\delta = 0,86$ (m) – oba náležící mazadlu. Sloučenina **11a** i **11b** byly během sloupcové chromatografie na základě TLC analýzy separovány a dále analyzovány jako dvě samostatné frakce o odlišném složení, avšak ^1H NMR spektroskopie potvrdila shodnou čistotu obou látek s identickými spektry. V těchto spektrech lze mimo signálů náležící izolovaným produktům pozorovat i píky při $\delta = 5,30$ (s, CH_2Cl_2) a $\delta = 1,25$ (s, mazadlo).



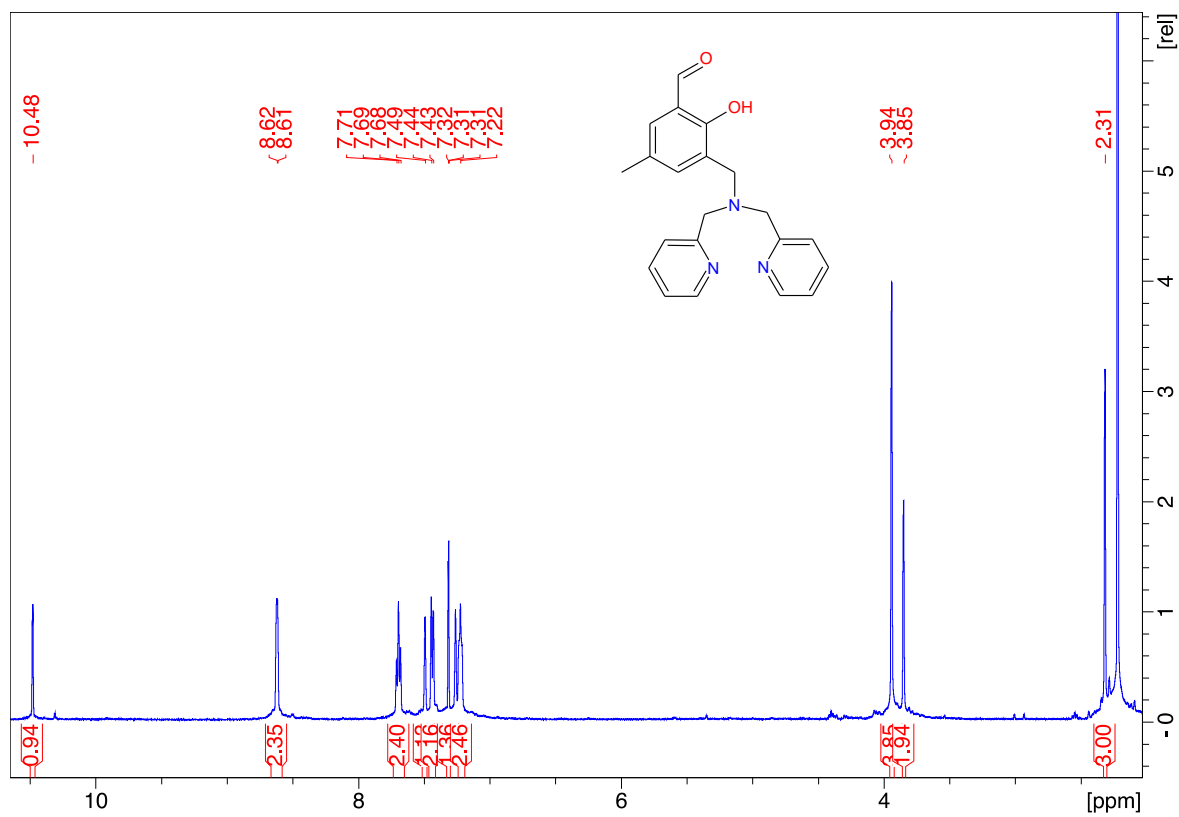
Obrázek 40: ^1H NMR spektrum sloučeniny **1a**



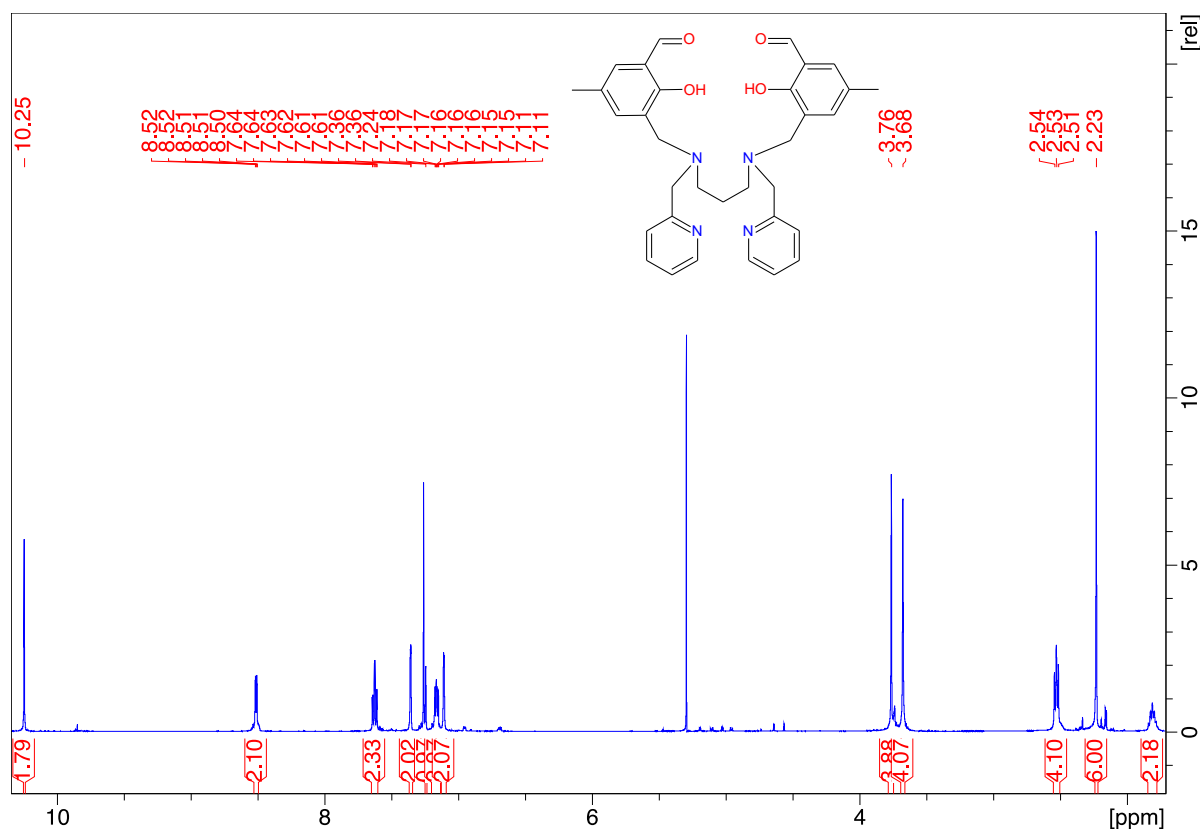
Obrázek 41: Výřez aromatické části ^1H NMR spektra sloučeniny **1b**



Obrázek 44: ^1H NMR spektrum sloučeniny **7b**



Obrázek 45: ^1H NMR spektrum sloučeniny **8b**



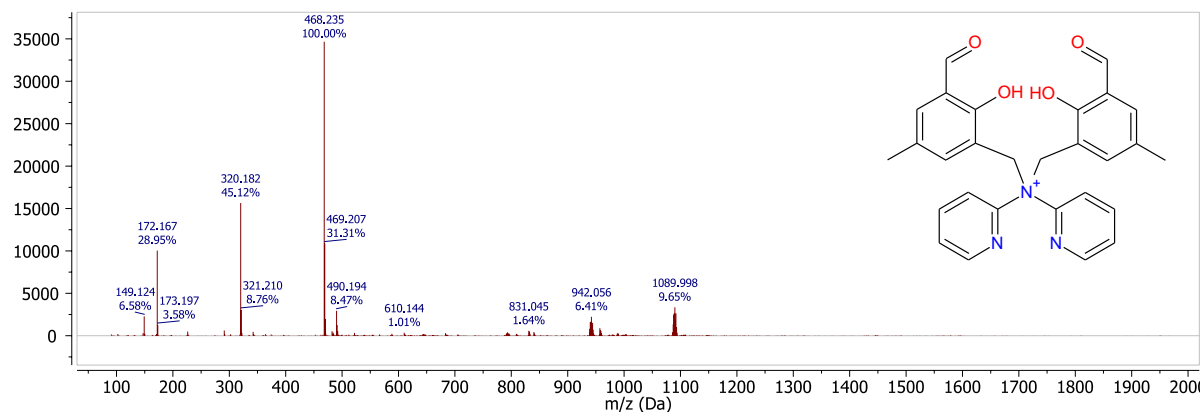
Obrázek 48: ^1H NMR spektrum sloučeniny **11b**

4.2.2 Charakterizace pomocí LC-MS a MS

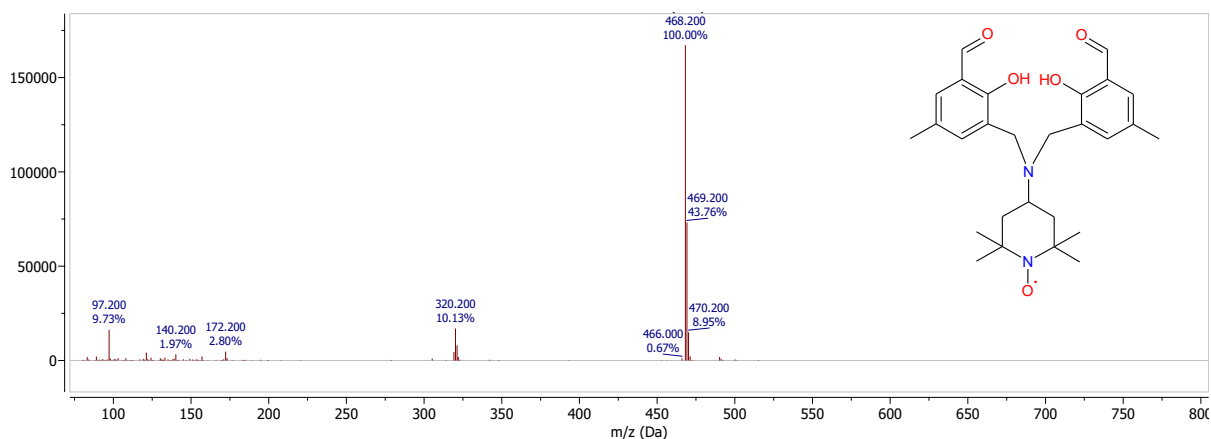
Radikálové sloučeniny byly charakterizovány LC-MS analýzou, která potvrdila, že sloučeniny **12c** ($m/z = 468,20$ $[\text{M}+\text{H}]^+$), **13b** ($m/z = 474,20$ $[\text{M}+\text{H}]^+$) a **14c** ($m/z = 454,20$ $[\text{M}+\text{H}]^+$) byly připraveny. Pro sloučeninu **15c** není výsledné spektrum uvedeno, izolovaný produkt je dle spektra směsi více látek, a to nezreagovaného prekurzoru a (PROXYL-TEMPO)aminu, produktu a nezreagovaného prekurzoru, dále byla také ve spektru pozorována báze (DIPEA). Pomocí MS byla také analyzována látka **9b**, u které se na základě ^1H NMR spektroskopie nepodařilo zcela jednoznačně určit složení. Hmotnostní spektrometrie odhalila, že izolovaným produktem je prekurzorem disubstituovaný bipyridylamin (**9b'**, *sal*₂-*bpya*) s molekulovým píkem při $m/z = 468,24$ M^+ .

Komplexní sloučeniny **16h**, **16ch** a **16o-r** byly charakterizovány pomocí MS. Ve spektru sloučeniny **16h** byl pozorován 100% pík při $m/z = 581,25$ M^+ , který však neodpovídá předpokládané struktuře komplexu $[\text{Fe}(\text{pz-dpt})(\text{CH}_3\text{OH})]^+$, pro který by hodnota činila $m/z = 611,62$ M^+ . Pravděpodobná je přítomnost $[\text{Fe}(\text{pz-dpt})]^+$ s $m/z = 581,21$ M^+ . Pro sloučeninu **16ch** byl pozorován 100% pík při $m/z = 595,30$ M^+ , což opět zcela nekoreluje s předpokládaným složením $[\text{Fe}(\text{pz-dptm})(\text{CH}_3\text{OH})]^+$, pro které by hodnota činila $m/z = 627,26$ M^+ . Pravděpodobná je tedy přítomnost $[\text{Fe}(\text{pz-dptm})]^+$, pro kterou činí hodnota $m/z = 595,23$ M^+ . Sloučenina **16o** v MS spektru obsahovala 100% pík při $m/z = 849,45$ M^+ , což odpovídá složení $[\text{Fe}(\text{pybzim-dptm})]^+$, sloučenina **16p** v MS spektru obsahovala 100% pík při $m/z = 852,36$ M^+ , ten poukazuje rovněž jako v případě výše zmíněných látek na vznik komplexu $[\text{Co}(\text{pybzim-dptm})]^+$. Sloučenina **16q** v MS spektru obsahovala 100% pík při

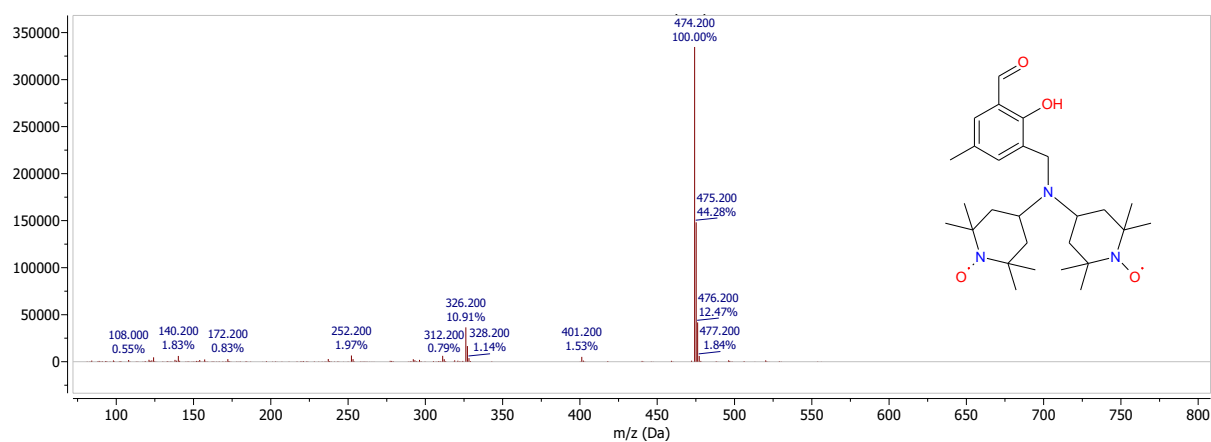
$m/z = 695,44 \text{ M}^+$, což odpovídá složení $[\text{Fe}(\text{benzim-dptm})]^+$ a experimentální hodnota 100% píku sloučeniny **16r** činila $m/z = 698,24 \text{ M}^+$, což poukazuje na vznik komplexu obsahující fragment $[\text{Co}(\text{benzim-dptm})]^+$. Charakterizace pomocí MS tak potvrdila vznik připravovaných ligandů a rovněž jejich schopnost koordinace vybraných kovů.



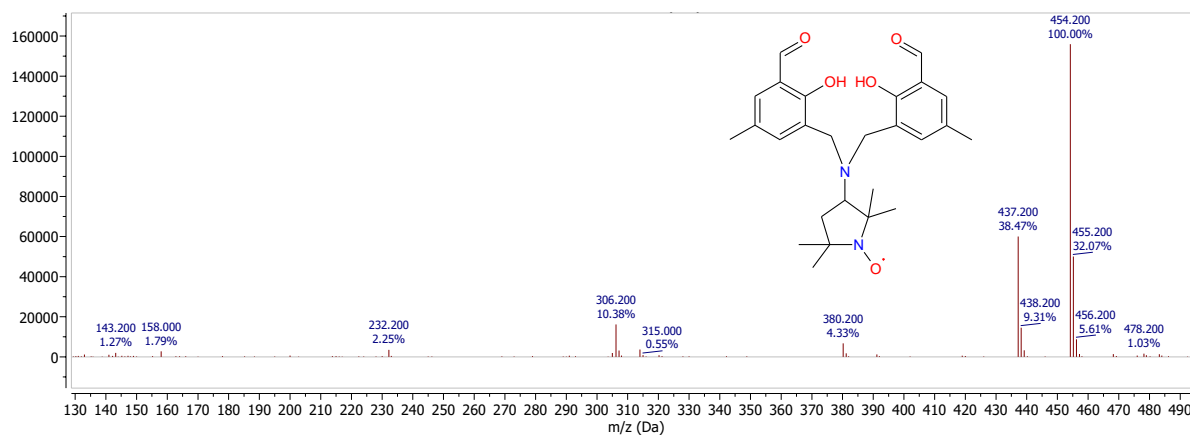
Obrázek 49: MS spektrum sloučeniny **9b'** se znázorněným vzorcem – fragment odpovídající molekulovému píku



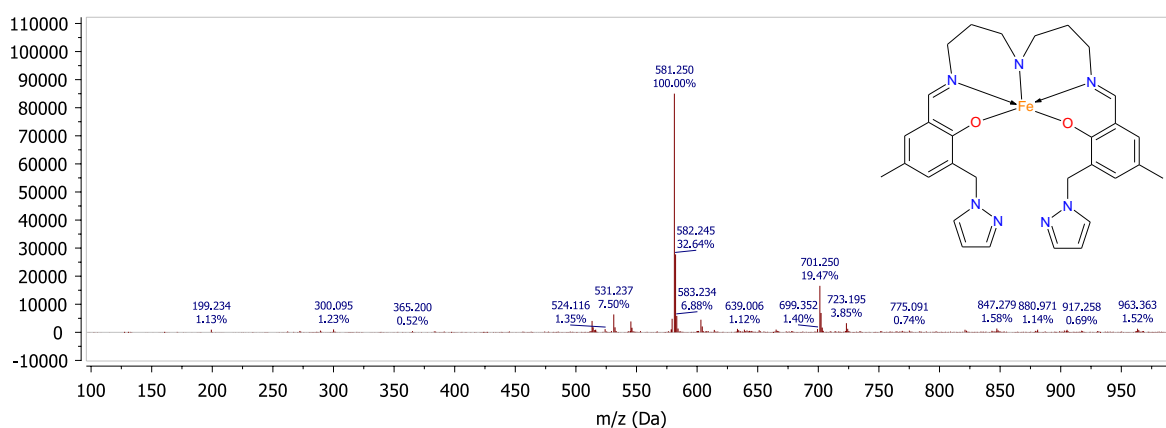
Obrázek 50: MS spektrum sloučeniny **12c** se znázorněným vzorcem – fragment odpovídající molekulovému píku



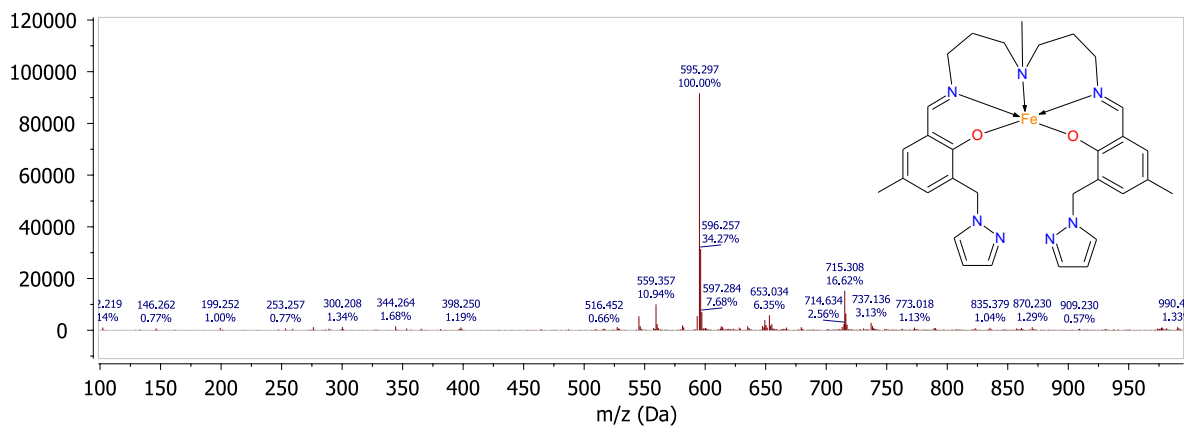
Obrázek 51: MS spektrum sloučeniny **13b** se znázorněným vzorcem – fragment odpovídající molekulovému píku



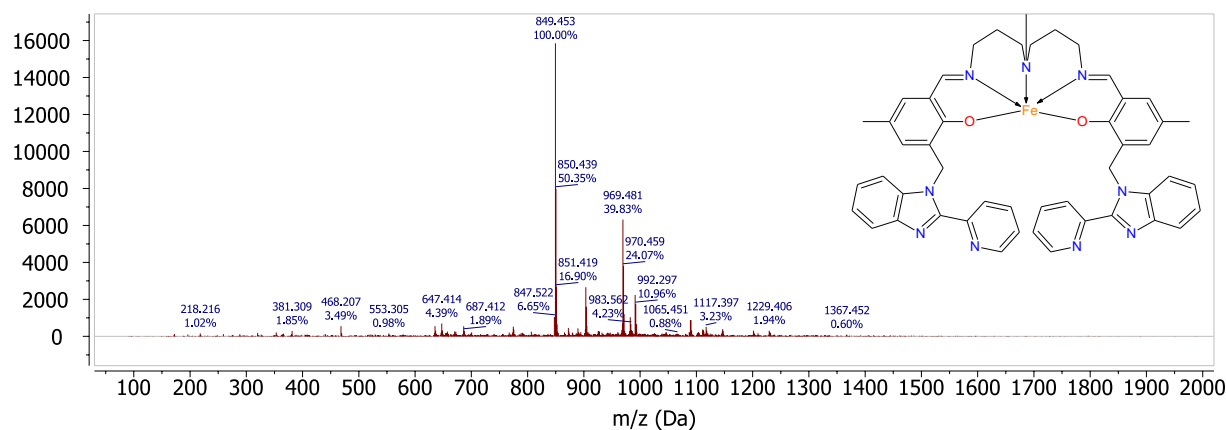
Obrázek 52: MS spektrum sloučeniny **14c** se znázorněným vzorcem – fragment odpovídající molekulovému píku



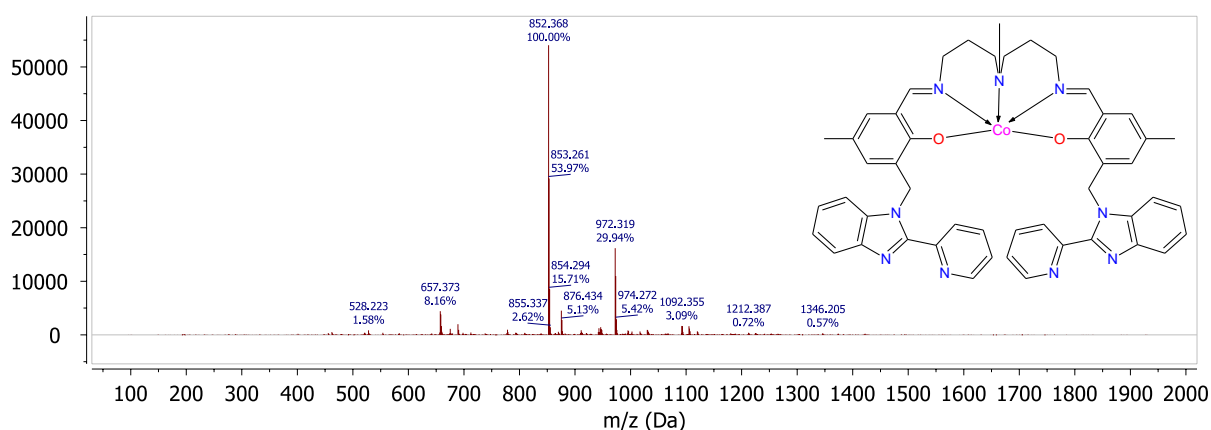
Obrázek 53: MS spektrum sloučeniny **16h** se znázorněným vzorcem – fragment (náboj: 1+) odpovídající molekulovému píku



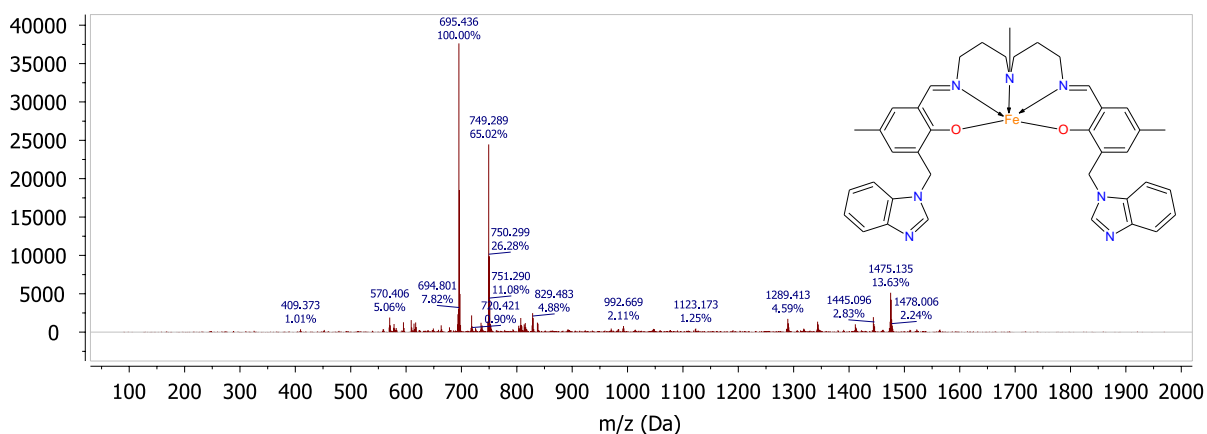
Obrázek 54: MS spektrum sloučeniny **16ch** se znázorněným vzorcem – fragment (náboj: 1+) odpovídající molekulovému píku



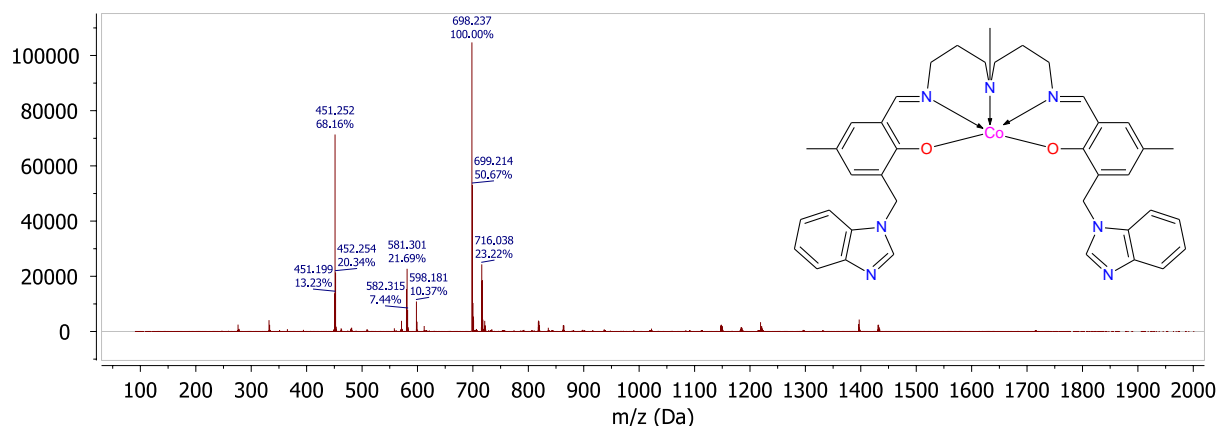
Obrázek 55: MS spektrum sloučeniny **16o** se znázorněným vzorcem – fragment (náboj: 1+) odpovídající molekulovému piku



Obrázek 56: MS spektrum sloučeniny **16p** se znázorněným vzorcem – fragment (náboj: 1+) odpovídající molekulovému piku



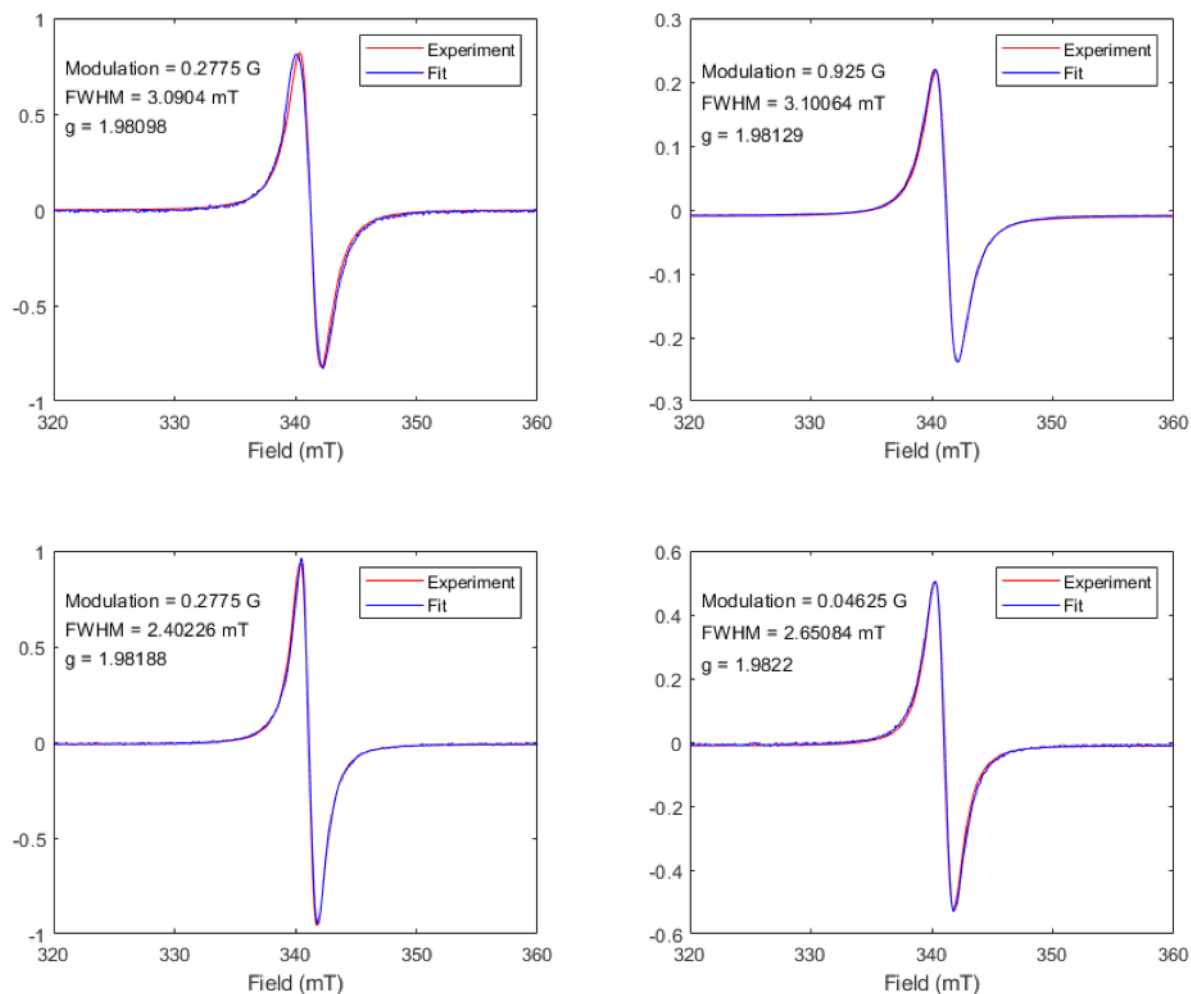
Obrázek 57: MS spektrum sloučeniny **16q** se znázorněným vzorcem – fragment (náboj: 1+) odpovídající molekulovému piku



Obrázek 58: MS spektrum sloučeniny **16r** se znázorněným vzorcem – fragment (náboj: 1+) odpovídající molekulovému píku

4.2.3 EPR spektroskopie

EPR měření probíhalo při laboratorní teplotě s využitím X-band spektrometru (frekvence mikrovln: 9,462 GHz). Všechny měřené vzorky vykazovaly jednoduchou rezonanční linii ze spinu $S = 1/2$ s g-faktorem blízkým hodnotě 1,98, což je nižší hodnota, než která se pro radikály předpokládá (2,002 32 – pro volný elektron).



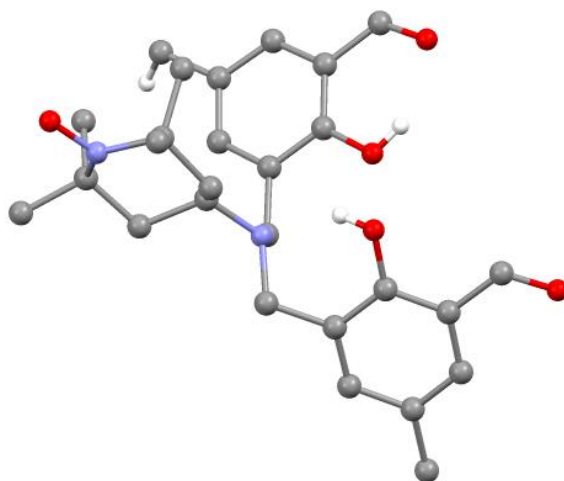
Obrázek 59: EPR spektra sloučenin **12c**, **13b**, **14c** a **15c**.

Linie mají nelorentzovský tvar, což vyplývá z mechanismů nehomogenního rozšíření, jako je anizotropie g-faktoru, nevyřešená hyperjemná struktura (z jádra dusíku) a její anizotropie. Tyto efekty vzhledem k jejich relativně malému příspěvku nejsou přímo zahrnuty ve fitovaném modelu. Místo toho byla použita jednoduchá isotropaní Gaussova konvoluce. Takto lze simulovat tvar EPR linií bez definování přesných mechanismů rozšíření. Obrázek 59 ukazuje EPR spektra připravených sloučenin **12c**, **13b**, **14c** a **15c**.

4.2.4 Rentgenostrukturní analýza

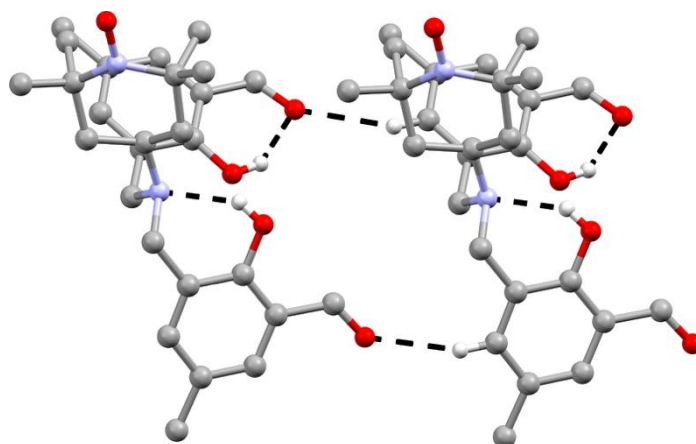
Sloučeniny **12c** a **13b** se podařilo izolovat ve formě krystalických produktů, krystaly byly podrobeny rentgenostrukturní analýze a byly vyřešeny obě struktury. V obou případech byly měřeny vazebné délky jednotlivých funkčních skupin molekul a další parametry.

Z krystalové struktury **12c** (Obrázek 60) byly určeny vazebné délky 1,284(1) Å pro N–O• vazbu; 1,521(2)–1,534(2) Å pro C–C vazby piperidinového cyklu; 1,498(2) a 1,500(2) Å pro C–N vazby piperidinového cyklu; 1,382(2)–1,408(2) Å pro C–C vazby benzenových jader; 1,215(2) Å a 1,228(2) Å pro C=O vazby aldehydu; 1,472(2) Å pro vazbu C_{piperidin}–N_{amin} a 1,478(2) Å a 1,483(2) Å pro vazby C_{methylen}–N_{amin}. Krystalografická soustava sloučeniny **12c** je trojklonná.



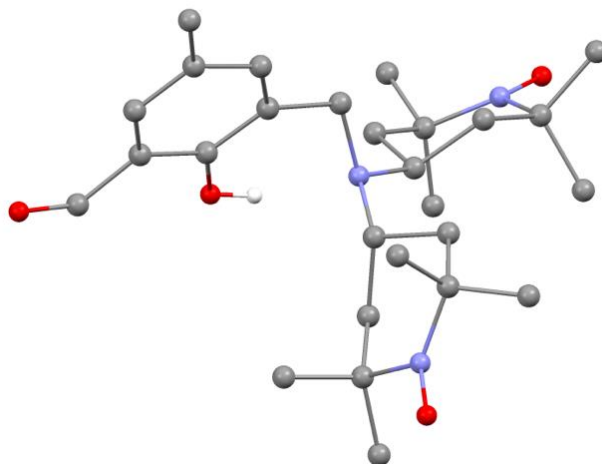
Obrázek 60: Zobrazení molekulové struktury sloučeniny **12c**. Atomy vodíků nejsou pro lepší přehlednost zobrazeny (s výjimkou vodíku hydroxylové skupiny). Barevné označení atomů: C (černá), N (modrá), O (červená), H (bílá).

Z krystalové struktury (Obrázek 61) bylo prokázáno, že sloučenina **12c** vytváří intramolekulové vodíkové vazby, konkrétně O–H...O ($d(\text{O}\cdots\text{O}) = 2,630(2)$ Å) mezi hydroxylovou skupinou a kyslíkem aldehydické skupiny a interakce O–H...N ($d(\text{O}\cdots\text{N}) = 2,714(2)$ Å a $3,069(2)$ Å) mezi hydroxylovými skupinami a dusíkem terciárního aminu. Dále také jsou pozorovány mezimolekulové interakce C=O...H–C ($d(\text{O}\cdots\text{C}) = 3,399(2)$ Å) mezi kyslíkem aldehydické skupiny a vodíkem benzenového jádra (konkrétně v poloze 4). Je pozorována interakce benzenových kruhů salicylaldehydů, která jsou vůči sobě paralelně posunuta ($d(\text{C}\cdots\text{C}) = 3,488(2)$ Å). Piperidinový cyklus je uspořádán do židličkové konformace.



Obrázek 61: Zobrazení části krystalové struktury sloučeniny **12c** se zobrazenými intramolekulovými vodíkovými můstky a mezimolekulovými interakcemi. Atomy vodíků nejsou pro lepší přehlednost zobrazeny (s výjimkou vodíků zapojujících se do interakcí). Barevné označení atomů: C (černá), N (modrá), O (červená), H (bílá).

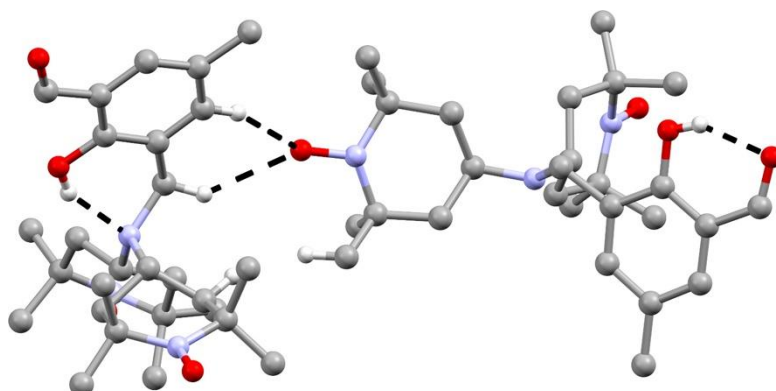
Z molekulové struktury **13b** (Obrázek 62) byly určeny vazebné délky 1,288(1) a 1,288(2) Å pro N–O• vazby; 1,516(2)–1,535(2) Å pro C–C vazby piperidinových cyklů; 1,487(2)–1,496(2) Å pro C–N vazby piperidinových cyklů; 1,378(2)–1,411(2) Å pro C–C vazby benzenového jádra; 1,228(2) Å pro C=O vazbu aldehydu; 1,465(1) a 1,468(1) Å pro vazby C_{piperidin}–N_{amin} a 1,460(1) Å pro vazbu C_{methylen}–N_{amin}. Krystalografická soustava sloučeniny **13b** je monoklinická.



Obrázek 62: Zobrazení molekulové struktury sloučeniny **13b**. Atomy vodíků nejsou pro lepší přehlednost zobrazeny (s výjimkou vodíku hydroxylové skupiny). Barevné označení atomů: C (černá), N (modrá), O (červená), H (bílá).

Krystalová struktura (Obrázek 63) prokázala, že sloučenina **13b** vytváří intramolekulové vodíkové vazby, konkrétně O–H...O ($d(\text{O}\cdots\text{O}) = 2,642(1)$ Å) mezi hydroxylovou skupinou a kyslíkem aldehydické skupiny a také O–H...N ($d(\text{O}\cdots\text{N}) = 2,645(1)$ Å) mezi hydroxylovou skupinou a dusíkem terciárního aminu. Vzhledem k prostorovému uspořádání atomů nelze tyto vodíkové vazby pozorovat v jediné molekule. Molekuly rovněž vytvářejí mezimolekulové interakce, a to mezi kyslíkem N-oxylu a vodíkem benzenového jádra v poloze 4

($d(\text{O}\cdots\text{C}) = 3,280(2) \text{ \AA}$) a dále také kyslíkem *N*-oxylu a vodíkem methylenové skupiny vzniklé chlormethylací ($d(\text{O}\cdots\text{C}) = 3,359(2) \text{ \AA}$). I zde jsou oba piperidinové cykly uspořádány do židličkové konformace.



Obrázek 63: Zobrazení části krystalové struktury sloučeniny **13b** se zobrazenými intramolekulovými vodíkovými můstky a mezimolekulovými interakcemi. Atomy vodíků nejsou pro lepší přehlednost zobrazeny (s výjimkou vodíků zapojujících se do interakcí). Barevné označení atomů: C (černá), N (modrá), O (červená), H (bílá).

Tabulka 4: Základní krystalografická data sloučenin **12c** a **13b**.

	12c	13b
Prostorová grupa	$P\bar{1}$	$C2/c$
a [Å]	8,4081(13)	16,8369(6)
b [Å]	12,3070(17)	16,2066(5)
c [Å]	12,8580(18)	39,7735(11)
α [°]	80,535(11)	90
β [°]	71,391(12)	94,984(3)
γ [°]	86,047(12)	90
V [Å³]	1243,6(3)	10811,9(6)

Z Cambridgeské strukturní databáze (CSD, verze 5.41) byly pro porovnání vybrány tři sloučeniny, strukturně podobné sloučeninám **12c** a **13b**. Konkrétně se jedná o sloučeniny 4-(9-anthrylmethylamino)-tetramethylpiperidin-*N*-oxyl (označení dle CSD: QEHTUS), pentakarbonyl-(3-((1-oxido-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl)amino)-1-methoxy-3-fenylprop-2-en-1-yliden)-wolfram (označení dle CSD: HIJWAA) a 4-((9*H*-Fluoren-9-yl)(9*H*-fluoren-9-yliden)methyl)-*N*-(1-oxyl-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl)benzamid aceton solvát (označení dle CSD: AHIBEZ) [165]. Byly měřeny délky vybraných vazeb u radikálové části molekul, které jsou porovnávány s identickými vazbami sloučenin **12c** a **13b** (Tabulka 5). Pro vazby N–O[•] rozdíly v délkách nejsou vysoké, kromě sloučeniny HIJWAA, jejíž vazba byla o něco kratší, naopak hodnoty vazebných délek C–N vazeb této sloučeniny jsou téměř identické s těmi pro látky **12c** a **13b**, stejně jako vazebné délky sloučeniny AHIBEZ, zatímco vazebné délky C–N sloučeniny QEHTUS jsou kratší. Vazebné délky C–N_{amin} jsou v porovnání s těmi pro látky **12c** a **13b** kratší pro AHIBEZ, delší pro HIJWAA a podobné pro QEHTUS.

Tabulka 5: Hodnoty vybraných vazebných délek [Å] sloučenin **12c** a **13b** a jejich srovnání se strukturně podobnými sloučeninami. Symbol „*“ označuje průměrnou hodnotu vypočítanou ze dvou hodnot, symbol „#“ ze čtyř hodnot.

	12c	13b	QEHTUS	HIJWAA	AHIBEZ
N–O•	1,284(1)	1,288(1)	1,287(1)	1,266(8)	1,287(1)
C–N	1,499(2)*	1,492(2)#	1,485(2)*	1,501(8)*	1,491(2)*
C–N_{amin}	1,472(2)	1,467(1)*	1,467(2)	1,503(9)	1,459(2)

5 ZÁVĚR

Předmětem diplomové práce byla příprava polydentátních Schiffových ligandů, které byly periferně substituovány organickou molekulou či stabilním radikálem. Periferní substitucí výchozího prekursoru byla syntetizována řada aldehydů, vhodná pro následnou kondenzaci s primárními aminy za vzniku již zmiňovaných polydentátních Schiffových bází. Schiffovy ligandy izolovány nebyly, především z důvodu jejich obtížné purifikace, byly připravovány *in situ* při komplexotvorných reakcích a pro koordinaci byly používány různé soli Fe^{III} a Co^{III}, v případě radikálových ligandů i octan nikelnatý. Tento typ komplexních sloučenin může vykazovat biologickou aktivitu, jak již bylo zmíněno v teoretické části. Mimo to mohou vázat další kov a vytvářet tak heterobimetalické komplexní sloučeniny anebo periferně substituované molekuly mohou interagovat s biomolekulami.

Teoretická část se zabývá biologickými systémy v lidském těle obsahující železo nebo kobalt. Největší pozornost byla zaměřena na reverzibilní přenašeč kyslíku hemoglobin, ve kterém se nachází nejvyšší podíl železa v těle, zmíněny jsou i další biologické systémy, a nakonec vitamín B₁₂, jediný zmíněný zástupce obsahující jako centrálním atom kobalt. Další podkapitola se zabývá biologicky aktivními komplexy Fe^{III} a Co^{III}, je diskutována aktuální problematika, zabývající se nejnovějšími komplexními sloučeniny tohoto typu, a především pak jejich biologickým testováním. Byly komentovány vybrané komplexní sloučeniny s rozmanitými účinky, zejména protinádorovými, antibakteriálními a antimykotickými. Obdobným způsobem byly také diskutovány heterobimetalické komplexní sloučeniny, obsahující ve svých strukturách centrální atom Fe^{III} nebo Co^{III}. Tento typ sloučenin má obecně vyšší biologickou aktivitu než jejich jednojaderné analogy, proto jim rovněž byla věnována značná pozornost. Diskutované sloučeniny byly vybrány na základě jejich biologických vlastností nebo použitelnosti v různých medicínských aplikacích jako jsou biosenzory, luminiscenční sondy či radiofarmaceutika. Závěr teoretické části byl zaměřen na radikálovou chemii, stěžejní částí byl popis principu a instrumentace elektronové paramagnetické rezonance, klíčové metody analýzy radikálových sloučenin a celou teoretickou část uzavírá zmínka o biologicky aktivních radikálových sloučeninách.

Experimentální část je rozdělena do několika sekcí – příprava prekursoru, jeho následná substituce organickou molekulou nebo radikálem a příprava komplexních sloučenin. Přípravě produktů předcházela optimalizace reakčních podmínek a zajištění inertních podmínek všech prováděných reakcí. Získané produkty byly charakterizovány vybranými dostupnými analytickými metodami. Bylo úspěšně připraveno a charakterizováno 10 organických molekul, konkrétně sloučeniny **1a**, **6**, **7b**, **8b**, **9b'**, **10b**, **11b**, **12c**, **13b** a **14c**, z nichž 7 představuje nově připravené látky (**6**, **7b**, **9b'**, **10b**, **12c**, **13b** a **14c**). Tyto sloučeniny byly přečišťovány sloupcovou chromatografií na silikagelu. Dále byla připravena série Fe^{III} a Co^{III} komplexních sloučenin se Schiffovými ligandy, a to při různých reakčních podmínkách. Rovněž byl syntetizován komplex bez zapojení Schiffovy báze. Podařilo se izolovat a charakterizovat šest komplexních sloučenin – **16h**, **16ch**, **16o–16r**.

V kapitole Diskuze a výsledky jsou komentovány jednotlivé postupy příprav sloučenin, stejně tak jejich charakterizace za použití nukleární magnetické rezonance, hmotnostní spektrometrie, elektronové paramagnetické rezonance a rentgenostrukturní analýzy. Organické

ligandy byly charakterizovány ^1H NMR spektroskopií, podařilo se přiřadit signály k jednotlivým atomům vodíku, u některých sloučenin jsou patrné signály pro rozpouštědla vstupující do reakcí. Radikálové sloučeniny byly charakterizovány EPR a LC-MS analýzou, která potvrdila přítomnost žádaných produktů. Z EPR měření bylo zjištěno, že dané radikálové sloučeniny mají nižší g-faktor (1,98), než jaký se u tohoto typu sloučenin předpokládá (2,002 32). Izolované komplexy byly analyzovány pomocí MS, na základě měření bylo zjištěno, že složení sloučenin **16h**, **16ch**, **16o–16r** odpovídá $[\text{Fe}(\text{pz-dpt})]^+$, $[\text{Fe}(\text{pz-dptm})]^+$, $[\text{Fe}(\text{pybzim-dptm})]^+$, $[\text{Co}(\text{pybzim-dptm})]^+$, $[\text{Fe}(\text{benzim-dptm})]^+$, resp. $[\text{Co}(\text{benzim-dptm})]^+$. Ostatní provedené koordinační reakce a produkty těchto reakcí se nepodařilo zpracovat, ať už do krystalické či práškové formy, přestože byly reakční podmínky i způsoby krystalizací pozměňovány. Je rovněž zmíněna série trendů, která vedla k izolacím komplexních sloučenin a mohla by být v budoucnu pro tento typ sloučenin aplikována. Sloučeniny **12c** a **13b** se podařilo připravit ve formě krystalických produktů, které byly analyzovány rentgenostrukturní analýzou, přičemž obě struktury byly vyřešeny, u piperidinových cyklů byla pozorována typická židličková konformace.

Na závěr lze konstatovat, že výše zmíněné organické molekuly byly připraveny jednotným způsobem za použití inertních podmínek. Tyto sloučeniny byly připravovány poměrně bez obtíží, klíčová byla až purifikace vzniklých látek, která v některých případech nevedla ke zcela čistým produktům. Problematickou částí byla příprava komplexních sloučenin, které v drtivé většině nevedly k izolaci finálních produktů v pevném stavu. Pouze komplexní reakce, při kterých vznikaly kationtové komplexy, byly úspěšné. Podařilo se ve formě prášku izolovat šest komplexních sloučenin – čtyři Fe(III) a dva Co(III) komplexy, jejichž složení bylo potvrzeno pomocí MS.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] AIGNER, Karl Reinhard, Steven Michael PICKSLEY a John Francis THOMPSON. *Basics of Oncology*. Rockville: Springer-Verlag, 2009. ISBN 9783540929246.
- [2] VOLM, Manfred a Thomas EFFERTH. *Prediction of Cancer Drug Resistance and Implications for Personalized Medicine*. *Frontiers in Oncology*. 2015, 5(282), 1–14. DOI: 10.3389/fonc.2015.00282. ISSN 2234-943X.
Dostupné také z: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fonc.2015.00282/abstract>
- [3] ROSENBERG, Barnett; VAN CAMP, Loretta; KRIGAS, Thomas. *Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode*. *Nature*. 1965, 205.4972: 698–699.
- [4] DASARI, Shaloam a Paul BERNARD TCHOUNWOU. *Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action*. *European Journal of Pharmacology*. 2014, 740, 364–378. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.07.025. ISSN 00142999.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299914005627>
- [5] ALESSIO, Enzo a Luigi MESSORI. *NAMI-A and KP1019/1339, Two Iconic Ruthenium Anticancer Drug Candidates Face-to-Face: A Case Story in Medicinal Inorganic Chemistry*. *Molecules*. 2019, 24(10), 1–20. DOI: 10.3390/molecules24101995. ISSN 1420-3049.
Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/10/1995>
- [6] SKOUPILOVÁ, Hana a Roman HRSTKA. *Pokroky ve využití organokovových sloučenin při vývoji protinádorových léčiv*. *Klinická onkologie*. 2019, 32(3), 3525–3533. DOI: 10.14735/amko20193S.
- [7] WANI, Waseem A., Umair BAIG, Sheikh SHREAZ, et al. *Recent advances in iron complexes as potential anticancer agents*. *New Journal of Chemistry*. 2016, 40(2), 1063–1090. DOI: 10.1039/C5NJ01449B. ISSN 1144-0546.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5NJ01449B>
- [8] LEUNG, Chung-Hang, Hai-Jing ZHONG, Daniel Shiu-Hin CHAN a Dik-Lung MA. *Bioactive iridium and rhodium complexes as therapeutic agents*. *Coordination Chemistry Reviews*. 2013, 257(11-12), 1764–1776. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.01.034. ISSN 00108545.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854513000337>
- [9] CHANG, Eddie L., Christa SIMMERS a D. Andrew KNIGHT. *Cobalt Complexes as Antiviral and Antibacterial Agents*. *Pharmaceuticals*. 2010, 3(6), 1711–1728. DOI: 10.3390/ph3061711. ISSN 1424-8247.
Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1424-8247/3/6/1711>
- [10] BERNERS-PRICE, Susan J. a Aleksandra FILIPOVSKA. *Gold compounds as therapeutic agents for human diseases*. *Metallomics*. 2011, 3(9), 863–873. DOI: 10.1039/c1mt00062d. ISSN 1756-5901.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c1mt00062d>
- [11] ORNELAS, Cátia. *Application of ferrocene and its derivatives in cancer research*. *New Journal of Chemistry*. 2011, 35(10), 1973–1985. DOI: 10.1039/c1nj20172g. ISSN 1144-0546.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c1nj20172g>
- [12] FERNÁNDEZ-MOREIRA, Vanesa a M. Concepción GIMENO. *Heterobimetallic Complexes for Theranostic Applications*. *Chemistry – A European Journal*. 2018, 24(14), 3345–3353. DOI: 10.1002/chem.201705335. ISSN 09476539.

- Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/chem.201705335>
- [13] KARATAS, Yusuf, M. Ata SECILMIS, Ibrahim KARAYAYLALI, Figen DORAN, Kansu BUYUKAFSAR, Ergin SINGIRIK, Yahya SAGLIKER a Atilla DIKMEN. *Effect of tempol (4-hydroxy tempo) on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats*. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2004, 18(1), 79–83. DOI: 10.1046/j.0767-3981.2003.00211.x. ISSN 0767-3981. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.0767-3981.2003.00211.x>
- [14] KHABOUR, Omar F., Karem H. ALZOUBI, Doa'a S. MFADY, Mohammed ALASSEIRI a Taghrid F. HASHEESH. *Tempol protects human lymphocytes from genotoxicity induced by cisplatin*. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2014, 7(4), 982–988.
- [15] KAIM, Wolfgang, Brigitte SCHWEDERSKI a Axel KLEIN. *Bioinorganic chemistry: inorganic elements in the chemistry of life: an introduction and guide*. Second edition. Chichester, West Sussex, United Kingdom: Wiley, 2013. ISBN 04-709-7523-7.
- [16] HOUSECROFT, Catherine E. a A. G. SHARPE. *Anorganická chemie*. Čtvrté vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014. ISBN 978-80-70-80-872-6.
- [17] BŘEZINA, F. a R. PASTOREK. *Koordinační chemie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 1991. ISBN 80-7067-040-1.
- [18] BERTINI, Ivano, Harry B. GRAY, Stephen J. LIPPARD a Joan S. VALENTINE. *Bioinorganic chemistry*. Mill Valley, Calif.: University Science Books, 1994. ISBN 978-093-5702-576.
- [19] HAUSER, Andreas. *Ligand Field Theoretical Considerations*. *Advances in Polymer Science*. 2004, 233, 49–58. DOI: 10.1007/b13528. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/b13528>
- [20] KIM-SHAPIRO, Daniel B. *Hemoglobin – nitric oxide cooperativity: is no the third respiratory ligand?* *Free Radical Biology and Medicine*. 2004, 36(4), 402–412. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2003.10.030. ISSN 08915849. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584903007457>
- [21] PERUTZ, M. F. *Stereochemical mechanism of oxygen transport by haemoglobin*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 1980, 208(1171), 135–162. DOI: 10.1098/rspb.1980.0047. ISSN 0080-4649. Dostupné také z: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.1980.0047>
- [22] DAS, T. K., M. COUTURE, Y. OUELLET, M. GUERTIN a D. L. ROUSSEAU. *Simultaneous observation of the O–O and Fe–O₂ stretching modes in oxyhemoglobins*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001, 98(2), 479–484. DOI: 10.1073/pnas.98.2.479. ISSN 0027-8424. Dostupné také z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.98.2.479>
- [23] BREN, Kara L., Richard EISENBERG a Harry B. GRAY. *Discovery of the magnetic behavior of hemoglobin: A beginning of bioinorganic chemistry*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015, 112(43), 13123–13127. DOI: 10.1073/pnas.1515704112. ISSN 0027-8424. Dostupné také z: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1515704112>
- [24] SYKES, A. G. a Grant MAUK. *Advances in Inorganic Chemistry: Heme-Fe Proteins*. San Diego: Academic Press, 2001. ISBN 0-12-023651-6.

- [25] LIPPARD, Stephen J. a Jeremy M. BERG. *Principles of bioinorganic chemistry*. Mill Valley, Calif.: University Science Books, 1994. ISBN 09-357-0272-5.
- [26] TORRENTS, Eduard. *Ribonucleotide reductases: essential enzymes for bacterial life*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2014, 4(52), 1–9. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00052. ISSN 2235-2988.
Dostupné také z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2014.00052/abstract>
- [27] OKAMOTO, Sachi a Lindsay D. ELTIS. *The biological occurrence and trafficking of cobalt*. *Metallomics*. 2011, 3(10), 963–970. DOI: 10.1039/c1mt00056j. ISSN 1756-5901.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c1mt00056j>
- [28] OBEID, Rima. *Vitamin B₁₂: advances and insights*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2017. ISBN 978-1-4987-0699-5.
- [29] Vitamin B₁₂: Fact Sheet for Health Professionals. *National Institutes of Health* [online]. 2019 [cit. 2019-12-30].
Dostupné z: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminB12-HealthProfessional/>
- [30] KOMEDA, Seiji a Angela CASINI. *Next-Generation Anticancer Metallodrugs*. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2012, 12(3), 219–235. DOI: 10.2174/156802612799078964. ISSN 15680266.
- [31] VAN RIJT, Sabine H., Arindam MUKHERJEE, Ana M. PIZARRO a Peter J. SADLER. *Cytotoxicity, Hydrophobicity, Uptake, and Distribution of Osmium(II) Anticancer Complexes in Ovarian Cancer Cells*. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2010, 53(2), 840–849. DOI: 10.1021/jm901556u. ISSN 0022-2623.
Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm901556u>
- [32] LIU, Zhe a Peter J. SADLER. *Organoiridium Complexes: Anticancer Agents and Catalysts*. *Accounts of Chemical Research*. 2014, 47(4), 1174–1185. DOI: 10.1021/ar400266c. ISSN 0001-4842.
Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ar400266c>
- [33] KONGOT, Manasa, Dinesh S. REDDY, Vishal SINGH, Rajan PATEL, Nitin Kumar SINGHAL a Amit KUMAR. *ONS donor entwined iron(III) and cobalt(III) complexes with exemplary safety profile as potent anticancer and glucose uptake agents*. *New Journal of Chemistry*. 2019, 43(27), 10932–10947. DOI: 10.1039/C9NJ00883G. ISSN 1144-0546.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C9NJ00883G>
- [34] HEFFERN, Marie C, Natsuhiko YAMAMOTO, Robert J HOLBROOK, Amanda L ECKERMANN a Thomas J MEADE. *Cobalt derivatives as promising therapeutic agents*. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2013, 17(2), 189–196. DOI: 10.1016/j.cbpa.2012.11.019. ISSN 13675931.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1367593112001500>
- [35] GASSER, Gilles, Ingo OTT a Nils METZLER-NOLTE. *Organometallic Anticancer Compounds*. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2011, 54(1), 3–25. DOI: 10.1021/jm100020w. ISSN 0022-2623.
Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm100020w>
- [36] PARVEEN, Sabiha, Farukh ARJMAND a Sartaj TABASSUM. *Development and future prospects of selective organometallic compounds as anticancer drug candidates exhibiting novel modes of action*. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019, 175, 269–286. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.04.062. ISSN 02235234.

- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523419303861>
- [37] KÖPF-MAIER, P., H. KÖPF a E. W. NEUSE. *Ferrocenium complexes: A new type of water-soluble antitumor agent*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 1984, 108(3), 336–340. DOI: 10.1007/BF00390468. ISSN 0171-5216.
- Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00390468>
- [38] OSELLA, Domenico, Marco FERRALI, Piero ZANELLO, Franco LASCHI, Marco FONTANI, Carlo NERVI a Giorgio CAVIGIOLIO. *On the mechanism of the antitumor activity of ferrocenium derivatives*. Inorganica Chimica Acta. 2000, 306(1), 42–48. DOI: 10.1016/S0020-1693(00)00147-X. ISSN 00201693.
- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002016930000147X>
- [39] ABD-ELZAHER, Mokhles M., Samia A. MOUSTAFA, Ammar A. LABIB a Mamdouh M. ALI. *Synthesis, characterization, and anticancer properties of ferrocenyl complexes containing a salicylaldehyde moiety*. Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly. 2010, 141(4), 387–393. DOI: 10.1007/s00706-010-0268-6. ISSN 0026-9247.
- Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00706-010-0268-6>
- [40] GOITIA, Helen, Yolanda NIETO, M. Dolores VILLACAMPA, Cornelia KASPER, Antonio LAGUNA a M. Concepción GIMENO. *Antitumoral Gold and Silver Complexes with Ferrocenyl-Amide Phosphines*. Organometallics. 2013, 32(20), 6069–6078. DOI: 10.1021/om400633z. ISSN 0276-7333.
- Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/om400633z>
- [41] RIVAS, Feriannys, Andrea MEDEIROS, Esteban RODRÍGUEZ ARCE, Marcelo COMINI, Camila M. RIBEIRO, Fernando R. PAVAN a Dinorah GAMBINO. *New heterobimetallic ferrocenyl derivatives: Evaluation of their potential as prospective agents against trypanosomatid parasites and Mycobacterium tuberculosis*. Journal of Inorganic Biochemistry. 2018, 187, 73–84. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2018.07.013. ISSN 01620134.
- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013418302964>
- [42] KOWALSKI, Konrad. *Recent developments in the chemistry of ferrocenyl secondary natural product conjugates*. Coordination Chemistry Reviews. 2018, 366, 91–108. DOI: 10.1016/j.ccr.2018.04.008. ISSN 00108545.
- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854517305854>
- [43] FOUUDA, Mohammad F. R., Mokhles M. ABD-ELZAHER, Rafeek A. ABDELSAMAIA a Ammar A. LABIB. *On the medicinal chemistry of ferrocene*. Applied Organometallic Chemistry. 2007, 21(8), 613–625. DOI: 10.1002/aoc.1202. ISSN 02682605.
- Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/aoc.1202>
- [44] LUDWIG, Beatrice S., João D.G. CORREIA a Fritz E. KÜHN. *Ferrocene derivatives as anti-infective agents*. Coordination Chemistry Reviews. 2019, 396, 22–48. DOI: 10.1016/j.ccr.2019.06.004. ISSN 00108545.
- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854519302115>
- [45] ROBERTAZZI, Arturo a James A. PLATTS. *Hydrogen Bonding and Covalent Effects in Binding of Cisplatin to Purine Bases: Ab Initio and Atoms in Molecules Studies*. Inorganic Chemistry. 2005, 44(2), 267–274. DOI: 10.1021/ic0489544. ISSN 0020-1669.
- Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ic0489544>

- [46] BABIN, V. N., Yu. A. BELOUSOV, V. I. BORISOV, et al. *Ferrocenes as potential anticancer drugs. Facts and hypotheses*. Russian Chemical Bulletin. 2014, 63(11), 2405–2422. DOI: 10.1007/s11172-014-0756-7. ISSN 1066-5285.
Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11172-014-0756-7>
- [47] DEO, Krishant, Benjamin PAGES, Dale ANG, Christopher GORDON a Janice ALDRICH-WRIGHT. *Transition Metal Intercalators as Anticancer Agents – Recent Advances*. International Journal of Molecular Sciences. 2016, 17(11), 1–17. DOI: 10.3390/ijms17111818. ISSN 1422-0067.
Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/17/11/1818>
- [48] KONDRATSKYI, Artem, Kateryna KONDRATSKA, Fabien VANDEN ABEELE, et al. *Ferroquine, the next generation antimalarial drug, has antitumor activity*. Scientific Reports. 2017, 7(1), 1–15. DOI: 10.1038/s41598-017-16154-2. ISSN 2045-2322.
Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-16154-2>
- [49] WOOD, Alastair J.J., B. Lawrence RIGGS a Lynn C. HARTMANN. *Selective Estrogen-Receptor Modulators – Mechanisms of Action and Application to Clinical Practice*. The New England Journal of Medicine. 2003, 348(7), 618–629. DOI: 10.1056/NEJMra022219. ISSN 0028-4793.
Dostupné také z: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra022219>
- [50] JAOUEN, Gérard, Anne VESSIÈRES a Siden TOP. *Ferrocifen type anti cancer drugs*. Chemical Society Reviews. 2015, 44(24), 8802–8817. DOI: 10.1039/C5CS00486A. ISSN 0306-0012.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5CS00486A>
- [51] WANG, Yong, Pascal PIGEON, Siden TOP, Michael J. MCGLINCHEY a Gérard JAOUEN. *Organometallic Antitumor Compounds: Ferrocifens as Precursors to Quinone Methides*. Angewandte Chemie International Edition. 2015, 54(35), 10230–10233. DOI: 10.1002/anie.201503048. ISSN 14337851.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201503048>
- [52] PLAŽUK, Damian, Anne VESSIÈRES, Elizabeth A. HILLARD, et al. *A [3]Ferrocenophane Polyphenol Showing a Remarkable Antiproliferative Activity on Breast and Prostate Cancer Cell Lines*. Journal of Medicinal Chemistry. 2009, 52(15), 4964–4967. DOI: 10.1021/jm900297x. ISSN 0022-2623.
Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm900297x>
- [53] DE OLIVEIRA, Alane Cabral, Elizabeth A. HILLARD, Pascal PIGEON, et al. *Biological evaluation of twenty-eight ferrocenyl tetrasubstituted olefins: Cancer cell growth inhibition, ROS production and hemolytic activity*. European Journal of Medicinal Chemistry. 2011, 46(9), 3778–3787. DOI: 10.1016/j.ejmech.2011.05.043. ISSN 02235234.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523411004235>
- [54] MONSERRAT, Jean-Philippe, Guy G. CHABOT, Louis HAMON, Lionel QUENTIN, Daniel SCHERMAN, Gérard JAOUEN a Elizabeth A. HILLARD. *Synthesis of cytotoxic ferrocenyl flavones via a ferricenium-mediated 1,6-oxidative cyclization*. Chemical Communications. 2010, 46(28), 5145–5147. DOI: 10.1039/c0cc01290d. ISSN 1359-7345.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0cc01290d>
- [55] SULPIZIO, Chiara, Joscha BREIBECK a Annette ROMPEL. *Recent progress in synthesis and characterization of metal chalcone complexes and their potential as bioactive agents*.

- Coordination Chemistry Reviews. 2018, 374, 497–524. DOI: 10.1016/j.ccr.2018.05.023. ISSN 00108545.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854517301856>
- [56] HENRY, Elecia J., Susan J. BIRD, Pauline GOWLAND, Michael COLLINS a John P. CASSELLA. *Ferrocenyl chalcone derivatives as possible antimicrobial agents*. The Journal of Antibiotics. 2020, 73, 1–10. DOI: 10.1038/s41429-020-0280-y. ISSN 0021-8820.
Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/s41429-020-0280-y>
- [57] BOLLA, Jean-Michel, Sandrine ALIBERT-FRANCO, Jadwiga HANDZLIK, Jacqueline CHEVALIER, Abdallah MAHAMOUD, Gérard BOYER, Katarzyna KIEĆ-KONONOWICZ a Jean-Marie PAGÈS. *Strategies for bypassing the membrane barrier in multidrug resistant Gram-negative bacteria*. FEBS Letters. 2011, 585(11), 1682–1690. DOI: 10.1016/j.febslet.2011.04.054. ISSN 00145793.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1016/j.febslet.2011.04.054>
- [58] LIU, Yan-Wei, Hui-Jie CHENG, Ban-Feng RUAN a Qiao HU. *Synthesis, characterization and antitumor activity of (E)-2-methyl-3-ferrocenyl-N-acrylamide derivatives*. Journal of Organometallic Chemistry. 2019, 887, 71–79. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2019.02.021. ISSN 0022328X.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022328X19300762>
- [59] ASGHAR, Faiza, Bhajan LAL, Amin BADSHAH, Ian S. BUTLER a Muhammad NAWAZ TAHIR. *Synthesis and computational study of new meta- and para-substituted ferrocenyl thioureas as potent protein kinase inhibitors and cytotoxic agents*. Inorganica Chimica Acta. 2019, 488, 8–18. DOI: 10.1016/j.ica.2018.12.052. ISSN 00201693. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020169318311551>
- [60] BUGARINOVIĆ, J.P., M.S. PEŠIĆ, A. MINIĆ, et al. *Ferrocene-containing tetrahydropyrazolopyrazolones: Antioxidant and antimicrobial activity*. Journal of Inorganic Biochemistry. 2018, 189, 134–142. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2018.09.015. ISSN 01620134.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013418302472>
- [61] PEJOVIĆ, Anka, Aleksandra MINIĆ, Jovana JOVANOVIĆ, et al. *Synthesis, characterization, antioxidant and antimicrobial activity of novel 5-arylidene-2-ferrocenyl-1,3-thiazolidin-4-ones*. Journal of Organometallic Chemistry. 2018, 869, 1–10. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2018.05.014. ISSN 0022328X.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022328X18303796>
- [62] CHEN, Liqin, Huihui DUAN, Xinyu ZHANG, et al. *Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel 1,3,4-Thiadiazolopyrazolines Compounds Containing Ferrocene*. Journal of Heterocyclic Chemistry. 2018, 55(8), 1978–1985. DOI: 10.1002/jhet.3238. ISSN 0022152X.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jhet.3238>
- [63] CHAN, Mun-Hoe Eddy, Karen A. CROUSE, M. Ibrahim M. TAHIR, Rozita ROSLI, Nasir UMAR-TSAFE a Andrew R. COWLEY. *Synthesis and characterization of cobalt(II), nickel(II), copper(II), zinc(II) and cadmium(II) complexes of benzyl N-[1-(thiophen-2-yl)ethylidene] hydrazine carbodithioate and benzyl N-[1-(thiophen-3-yl)ethylidene] hydrazine carbodithioate and the X-ray crystal structure of bis{benzyl N-[1-(thiophen-2-yl)ethylidene] hydrazine carbodithioate}nickel(II)*. Polyhedron. 2008, 27(4), 1141–1149. DOI: 10.1016/j.poly.2007.11.035. ISSN 02775387.

- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0277538707006705>
- [64] CROUSE, Karen A, Kar-Beng CHEW, M.T.H TARAFDER, A KASBOLLAH, A.M ALI, B.M YAMIN a H.-K FUN. *Synthesis, characterization and bio-activity of S-2-picolyldithiocarbazate (S2PDTC), some of its Schiff bases and their Ni(II) complexes and X-ray structure of S-2-picolyldithiocarbazate*. Polyhedron. 2004, 23(1), 161–168. DOI: 10.1016/j.poly.2003.09.025. ISSN 02775387.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0277538703006247>
- [65] MAURYA, Mannar R., Amit KUMAR, Abdul R. BHAT, Amir AZAM, Cerstin BADER a Dieter REHDER. *Dioxo- and Oxovanadium(V) Complexes of Thiohydrazone ONS Donor Ligands: Synthesis, Characterization, Reactivity, and Antiamoebic Activity*. Inorganic Chemistry. 2006, 45(3), 1260–1269. DOI: 10.1021/ic050811+.
- [66] TARAFDER, M.T.H, Teng-Jin KHOO, Karen A CROUSE, A.M ALI, B.M YAMIN a H.-K FUN. *Coordination chemistry and bioactivity of some metal complexes containing two isomeric bidentate NS Schiff bases derived from S-benzylthiocarbazate and the X-ray crystal structures of S-benzyl-β-N-(5-methyl-2-furylmethylene)dithiocarbazate and bis[S-benzyl-β-N-(2-furylmethylketone)dithiocarbazato]cadmium(II)*. Polyhedron. 2002, 21(27–28), 2691–2698. DOI: 10.1016/S0277-5387(02)01272-X. ISSN 02775387.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S027753870201272X>
- [67] MOSMANN, Tim. *Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays*. Journal of Immunological Methods. 1983, 65, 55–63.
- [68] WANG, Chao, Huiquan TAO, Liang CHENG a Zhuang LIU. *Near-infrared light induced in vivo photodynamic therapy of cancer based on upconversion nanoparticles*. Biomaterials. 2011, 32(26), 6145–6154. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.05.007. ISSN 01429612.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961211005138>
- [69] FITZGERALD, Flora. *Photodynamic therapy (PDT): principles, mechanisms and applications*. New York: Nova Biomedical, [2017]. ISBN 978-153-6119-121.
- [70] AGOSTINIS, Patrizia, Kristian BERG, Keith A. CENGEL, et al. *Photodynamic therapy of cancer: An update*. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2011, 61(4), 250–281. DOI: 10.3322/caac.20114. ISSN 00079235.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.3322/caac.20114>
- [71] BINITA CHANU, S, MD Kausar RAZA, Samya BANERJEE, Pooja Rani MINA, Dulal MUSIB a Mithun ROY. *ROS dependent antitumour activity of photo-activated iron(III) complexes of amino acids*. Journal of Chemical Sciences. 2019, 131(2), 1–11. DOI: 10.1007/s12039-018-1584-3. ISSN 0974-3626.
Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s12039-018-1584-3>
- [72] KELLETT, Mary E., Phillip GREENSPAN a Ronald B. PEGG. *Modification of the cellular antioxidant activity (CAA) assay to study phenolic antioxidants in a Caco-2 cell line*. Food Chemistry. 2018, 244, 359–363. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.10.035. ISSN 03088146.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617316643>
- [73] ALGHAMDI, Norah J., Lakshmi BALARAMAN, Kylin A. EMHOFF, Ahmed M. H. SALEM, Ruhan WEI, Aimin ZHOU a W. Christopher BOYD. *Cobalt(II) Diphenylazodioxide Complexes Induce Apoptosis in SK-HEP-1 Cells*. ACS Omega. 2019, 4(11), 14503–14510. DOI: 10.1021/acsomega.9b01684. ISSN 2470-1343.

- Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.9b01684>
- [74] EPSTEIN, Seth P., James A. WALLACE, Donald EPSTEIN, Claudia C. STEWART a Richard M. BURGER. *Efficacy of Cobalt Chelates in the Rabbit Eye Model for Epithelial Herpetic Keratitis*. *Cornea*. 1998, 17(5), 550–557. DOI: 10.1097/00003226-199809000-00014. ISSN 0277-3740.
- [75] PAHONTU, Elena, Irina USATAIA, Vasiliu GRAUR, Yurii CHUMAKOV, Peter PETRENKO, Valentin GUDUMAC a Aurelian GULEA. *Synthesis, characterization, crystal structure of novel Cu (II), Co (III), Fe (III) and Cr (III) complexes with 2-hydroxybenzaldehyde-4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone: Antimicrobial, antioxidant and in vitro antiproliferative activity*. *Applied Organometallic Chemistry*. 2018, 32(12), 1–19. DOI: 10.1002/aoc.4544. ISSN 02682605.
- Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/aoc.4544>
- [76] BALAN, Greta, Olga BURDUNIUC, Irina USATAIA, et al. *Novel 2-formylpyridine 4-allyl-S-methylisothiosemicarbazone and Zn(II), Cu(II), Ni(II) and Co(III) complexes: Synthesis, characterization, crystal structure, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activity*. *Applied Organometallic Chemistry*. 2020, 34(3), 1–17. DOI: 10.1002/aoc.5423. ISSN 0268-2605.
- Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/aoc.5423>
- [77] TODOROVIĆ, Tamara R., Jelena VUKAŠINOVIĆ, Gustavo PORTALONE, et al. *(Chalcogen)semicarbazones and their cobalt complexes differentiate HL-60 myeloid leukaemia cells and are cytotoxic towards tumor cell lines*. *MedChemComm*. 2017, 8(1), 103–111. DOI: 10.1039/C6MD00501B. ISSN 2040-2503.
- Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6MD00501B>
- [78] RAMU, Vadde, Martin R. GILL, Paul J. JARMAN, David TURTON, Jim A. THOMAS, Amitava DAS a Carl SMYTHE. *A Cytostatic Ruthenium(II)-Platinum(II) Bis(terpyridyl) Anticancer Complex That Blocks Entry into S Phase by Up-regulating p27^{KIP1}*. *Chemistry – A European Journal*. 2015, 21(25), 9185–9197. DOI: 10.1002/chem.201500561. ISSN 09476539.
- Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/chem.201500561>
- [79] SAGHATFOROUSH, L. A., L. VALENCIA, F. CHALABIAN a Sh. GHAMMAMY. *Synthesis, Characterization, Crystal Structure, and Biological Studies of a Cadmium(II) Complex with a Tridentate Ligand 4'-Chloro-2,2': 6',2''-Terpyridine*. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 2011, 2011, 1–7. DOI: 10.1155/2011/803292. ISSN 1565-3633.
- Dostupné také z: <http://www.hindawi.com/journals/bca/2011/803292/>
- [80] BURGE, Sarah, Gary N. PARKINSON, Pascale HAZEL, Alan K. TODD a Stephen NEIDLE. *Quadruplex DNA: sequence, topology and structure*. *Nucleic Acids Research*. 2006, 34(19), 5402–5415. DOI: 10.1093/nar/gkl655. ISSN 0305-1048.
- Dostupné také z: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkl655>
- [81] ZOU, Bi-Qun, Shu-Long WANG, Qi-Pin QIN, Yu-Xia BAI a Ming-Xiong TAN. *Synthesis, Characterization, and Cytotoxicity of the Cobalt (III) Complex with N, N-Diethyl-4-(2,2': 6',2''-terpyridin-4'-yl)aniline*. *Chemistry & Biodiversity*. 2018, 15(10), 1–9. DOI: 10.1002/cbdv.201800215. ISSN 16121872.
- Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/cbdv.201800215>

- [82] DA SILVA, Cleiton M., Daniel L. DA SILVA, Luzia V. MODOLO, Rosemeire B. ALVES, Maria A. DE RESENDE, Cleide V.B. MARTINS a Ângelo DE FÁTIMA. *Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities*. Journal of Advanced Research. 2011, 2(1), 1–8. DOI: 10.1016/j.jare.2010.05.004. ISSN 20901232.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2090123210000603>
- [83] ANDIAPPAN, Kavitha, Anandhavelu SANMUGAM, Easwaramoorthy DEIVANAYAGAM, K. KARUPPASAMY, Hyun-Seok KIM a Dhanasekaran VIKRAMAN. *In vitro cytotoxicity activity of novel Schiff base ligand – lanthanide complexes*. Scientific Reports. 2018, 8(1), 1–12. DOI: 10.1038/s41598-018-21366-1. ISSN 2045-2322.
Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-21366-1>
- [84] ZOUBI, Wail Al. *Biological Activities of Schiff Bases and Their Complexes: A Review of Recent Works*. International Journal of Organic Chemistry. 2013, 03(03), 73–95. DOI: 10.4236/ijoc.2013.33A008. ISSN 2161-4687.
Dostupné také z: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/ijoc.2013.33A008>
- [85] VIGNESH, Gopalaswamy, Marimuthu PARTHIBAN, Rajendran SENTHILKUMAR a Sankaralingam ARUNACHALAM. *Molecular interaction studies of some Co(III)-surfactants with the transport protein*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2018, 169, 160–167. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.05.014. ISSN 09277765.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092777651830290X>
- [86] AMBIKA, Subramanian, Yesaiyan MANOJKUMAR, Sankaralingam ARUNACHALAM, et al. *Biomolecular Interaction, Anti-Cancer and Anti-Angiogenic Properties of Cobalt(III) Schiff Base Complexes*. Scientific Reports. 2019, 9(1), 1–14. DOI: 10.1038/s41598-019-39179-1. ISSN 2045-2322.
Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/s41598-019-39179-1>
- [87] MANOJKUMAR, Yesaiyan, Subramanian AMBIKA, Rasu ARULKUMAR, et al. *Synthesis, DNA and BSA binding, in vitro anti-proliferative and in vivo anti-angiogenic properties of some cobalt(III) Schiff base complexes*. New Journal of Chemistry. 2019, 43(28), 11391–11407. DOI: 10.1039/C9NJ01269A. ISSN 1144-0546.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C9NJ01269A>
- [88] TUFAN, A. a N. SATIROGLU-TUFAN. *The Chick Embryo Chorioallantoic Membrane as a Model System for the Study of Tumor Angiogenesis, Invasion and Development of Anti-Angiogenic Agents*. Current Cancer Drug Targets. 2005, 5(4), 249–266. DOI: 10.2174/1568009054064624. ISSN 15680096.
- [89] DELAHOUSSE, J., C. SKARBEEK a A. PACI. *Prodrugs as drug delivery system in oncology*. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 2019, 84(5), 937–958. DOI: 10.1007/s00280-019-03906-2. ISSN 0344-5704.
Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00280-019-03906-2>
- [90] HALL, Matthew D., Timothy W. FAILES, Natsuho YAMAMOTO a Trevor W. HAMBLEY. *Bioreductive activation and drug chaperoning in cobalt pharmaceuticals*. Dalton Transactions. 2007, (36), 3983–3990. DOI: 10.1039/b707121c. ISSN 1477-9226.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b707121c>
- [91] TOMCO, Dajena, Sara SCHMITT, Bashar KSEBATI, Mary Jane HEEG, Q. Ping DOU a Cláudio N. VERANI. *Effects of tethered ligands and of metal oxidation state on the interactions of cobalt*

- complexes with the 26S proteasome*. Journal of Inorganic Biochemistry. 2011, 105(12), 1759–1766. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2011.09.013. ISSN 01620134.
- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013411002698>
- [92] RENFREW, Anna K. *Transition metal complexes with bioactive ligands: mechanisms for selective ligand release and applications for drug delivery*. Metallomics. 2014, 6(8), 1324–1335. DOI: 10.1039/C4MT00069B. ISSN 1756-5901.
- Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4MT00069B>
- [93] MILBANK, Jared B. J., Ralph J. STEVENSON, David C. WARE, John Y. C. CHANG, Moana TERCEL, G-One AHN, William R. WILSON a William A. DENNY. *Synthesis and Evaluation of Stable Bidentate Transition Metal Complexes of 1-(Chloromethyl)-5-hydroxy-3-(5,6,7-trimethoxyindol-2-ylcarbonyl)-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,2-f]quinoline (seco-6-azaCBI-TMI) as Hypoxia Selective Cytotoxins*. Journal of Medicinal Chemistry. 2009, 52(21), 6822–6834. DOI: 10.1021/jm9008746. ISSN 0022-2623.
- Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm9008746>
- [94] *Mustards*. IUPAC Gold Book [online]. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997 [cit. 2020-04-10].
- Dostupné také z: <https://goldbook.iupac.org/terms/view/M04071>
- [95] CHABNER, Bruce A. a Thomas G. ROBERTS. *Chemotherapy and the war on cancer*. Nature Reviews Cancer. 2005, 5(1), 65–72. DOI:10.1038/nrc1529.
- [96] PUYO, Stéphane, Danièle MONTAUDON a Philippe POURQUIER. *From old alkylating agents to new minor groove binders*. Critical Reviews in Oncology/Hematology. 2014, 89(1), 43–61. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2013.07.006. ISSN 10408428.
- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842813001571>
- [97] WARE David. C., B. G. SIIM, K. G. ROBINSON, William. A. DENNY, Penelope. J. BROTHERS a George. R. CLARK. *Synthesis and Characterization of Aziridine Complexes of Cobalt(III) and Chromium(III) Designed as Hypoxia-Selective Cytotoxins. X-ray Crystal Structure of trans-[Co(Az)₄(NO₂)₂]Br·2H₂O·LiBr*. Inorganic Chemistry, 1991, 30, 3750–3757.
- [98] WARE David. C., Brian. D. PALMER, William. R. WILSON a William. A. DENNY. *Hypoxia-Selective Antitumor Agents. 7. Metal Complexes of Aliphatic Mustards as a New Class of Hypoxia-Selective Cytotoxins. Synthesis and Evaluation of Cobalt(III) Complexes of Bidentate Mustards*. Journal of Medicinal Chemistry, 1993, 36, 1839–1846.
- [99] LU, Guo-Liang, Ralph J. STEVENSON, John Yu-Chih CHANG, Penelope J. BROTHERS, David C. WARE, William R. WILSON, William A. DENNY a Moana TERCEL. *N-alkylated cyclen cobalt(III) complexes of 1-(chloromethyl)-3-(5,6,7-trimethoxyindol-2-ylcarbonyl)-2,3-dihydro-1H-pyrrolo[3,2-f]quinolin-5-ol DNA alkylating agent as hypoxia-activated prodrugs*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2011, 19(16), 4861–4867. DOI: 10.1016/j.bmc.2011.06.076. ISSN 09680896.
- Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089611005165>
- [100] MUNTEANU, Catherine R. a Kogularamanan SUNTHARALINGAM. *Advances in cobalt complexes as anticancer agents*. Dalton Transactions. 2015, 44(31), 13796–13808. DOI: 10.1039/C5DT02101D. ISSN 1477-9226.
- Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5DT02101D>

- [101] WARE, David C., Penelope J. BROTHERS, George R. CLARK, William A. DENNY, Brian D. PALMER a William R. WILSON. *Synthesis, structures and hypoxia-selective cytotoxicity of cobalt(III) complexes containing tridentate amine and nitrogen mustard ligands*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions. 2000, (6), 925–932. DOI: 10.1039/a909447d. ISSN 1470479X.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=a909447d>
- [102] HIDALGO, Manuel a S. Gail ECKHARDT. *Development of Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy*. Journal of the National Cancer Institute. 2001, 93(3), 178–193.
- [103] FAILLES, Timothy W., Carleen CULLINANE, Connie I. DIAKOS, Natsuhiko YAMAMOTO, J. Guy LYONS a Trevor W. HAMBLEY. *Studies of a Cobalt(III) Complex of the MMP Inhibitor Marimastat: A Potential Hypoxia-Activated Prodrug*. Chemistry – A European Journal. 2007, 13(10), 2974–2982. DOI: 10.1002/chem.200601137. ISSN 09476539.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/chem.200601137>
- [104] AHN, G-One, K. Jane BOTTING, Adam V. PATTERSON, David C. WARE, Moana TERCEL a William R. WILSON. *Radiolytic and cellular reduction of a novel hypoxia-activated cobalt(III) prodrug of a chloromethylbenzindoline DNA minor groove alkylator*. Biochemical Pharmacology. 2006, 71(12), 1683–1694. DOI: 10.1016/j.bcp.2006.03.007. ISSN 00062952.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006295206001614>
- [105] YAMAMOTO, Natsuhiko, Sarah DANOS, Paul D. BONNITCHA, Timothy W. FAILLES, Elizabeth J. NEW a Trevor W. HAMBLEY. *Cellular uptake and distribution of cobalt complexes of fluorescent ligands*. JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry. 2008, 13(6), 861–871. DOI: 10.1007/s00775-008-0374-7. ISSN 0949-8257.
Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00775-008-0374-7>
- [106] RENFREW, Anna K., Nicole S. BRYCE a Trevor W. HAMBLEY. *Delivery and release of curcumin by a hypoxia-activated cobalt chaperone: a XANES and FLIM study*. Chemical Science. 2013, 4(9), 3731–3739. DOI: 10.1039/c3sc51530c. ISSN 2041–6520.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3sc51530c>
- [107] FERNÁNDEZ-MOREIRA, Vanesa, Isabel MARZO a M. Concepción GIMENO. *Luminescent Re(I) and Re(I)/Au(I) complexes as cooperative partners in cell imaging and cancer therapy*. Chem. Sci. 2014, 5(11), 4434–4446. DOI: 10.1039/C4SC01684J. ISSN 2041-6520.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4SC01684J>
- [108] WENZEL, Margot, Andreia DE ALMEIDA, Emilia BIGAIEVA, Paul KAVANAGH, Michel PICQUET, Pierre LE GENDRE, Ewen BODIO a Angela CASINI. *New Luminescent Polynuclear Metal Complexes with Anticancer Properties: Toward Structure-Activity Relationships*. Inorganic Chemistry. 2016, 55(5), 2544–2557. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.5b02910. ISSN 0020-1669.
Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.inorgchem.5b02910>
- [109] MA, Lili, Rong MA, Zhigang WANG, Shek-Man YIU a Guangyu ZHU. *Heterodinuclear Pt(IV)–Ru(II) anticancer prodrugs to combat both drug resistance and tumor metastasis*. Chemical Communications. 2016, 52(71), 10735–10738. DOI: 10.1039/C6CC04354B. ISSN 1359-7345.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6CC04354B>
- [110] ELIE, Benelita T., Karen HUBBARD, Buddhadev LAYEK, Won Seok YANG, Swayam PRABHA, Joe W. RAMOS a Maria CONTEL. *Auranofin-Based Analogues Are Effective Against Clear Cell Renal Carcinoma In Vivo and Display No Significant Systemic Toxicity*. ACS

- Pharmacology & Translational Science. 2020, 1–11. DOI: 10.1021/acsptsci.9b00107. ISSN 2575-9108.
Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsptsci.9b00107>
- [111] DEACON, Glen B., Craig M. FORSYTH a Maria FORSYTH. *Crystal Structure of a Ce(III)/Fe(III) Heterobimetallic Complex*. Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie. 2003, 629(9), 1472–1474. DOI: 10.1002/zaac.200300089. ISSN 0044-2313.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/zaac.200300089>
- [112] YAO, MinXia, Qi ZHENG, Feng GAO, YiZhi LI a JingLin ZUO. *Chiral cyanide-bridged 1D Fe(III)-Mn(III) heterobimetallic chains: Synthesis, structures and magnetic properties*. Science China Chemistry. 2012, 55(6), 1022–1030. DOI: 10.1007/s11426-012-4589-7. ISSN 1674-7291.
Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11426-012-4589-7>
- [113] LAN, Wenlong, Zhen ZHOU, Jie LI, et al. *A cyanide-bridged Fe(III)-Mn(II) heterobimetallic one-dimensional coordination polymer: synthesis, crystal structure, experimental and theoretical magnetism investigation*. Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry. 2019, 75(11), 1475–1481. DOI: 10.1107/S2053229619013172. ISSN 2053-2296.
Dostupné také z: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S2053229619013172>
- [114] DEY, Mamon, Bipul SARMA a Nayanmoni GOGOI. *Cyano bridged heterometallic Mn(II)-Fe(III) aggregates: Synthesis, structure and magnetic properties*. Inorganica Chimica Acta. 2018, 469, 20–24. DOI: 10.1016/j.ica.2017.08.048. ISSN 00201693.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020169317310939>
- [115] AKITSU, T. a Y. EINAGA. *Structure of cyano-bridged Eu(III)-Co(III) bimetallic assembly and its application to photophysical verification of photomagnetic phenomenon*. Chemical Papers. 2007, 61(3), 194–198. DOI: 10.2478/s11696-007-0019-2. ISSN 1336-9075.
Dostupné také z: <https://link.springer.com/content/pdf/10.2478/s11696-007-0019-2.pdf>
- [116] PAVLIK, Ján, Petra MASÁROVÁ, Ivan NEMEC, Olaf FUHR, Mario RUBEN a Ivan ŠALITROŠ. *Heteronuclear Iron(III)–Schiff Base Complexes with the Hexacyanidocobaltate(III) Anion: On the Quest To Understand the Governing Factors of Spin Crossover*. Inorganic Chemistry. 2020, 59(5), 2747–2757. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.9b03097. ISSN 0020-1669.
Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.inorgchem.9b03097>
- [117] NEMEC, Ivan, Pavel ZOUFALÝ, Radovan HERCHEL a Zdeněk TRÁVNÍČEK. *Cobalt(III) Schiff-base cyanido complex usable as a ligand in preparation of heterobimetallic Co(III)–Fe(III) building blocks*. Inorganic Chemistry Communications. 2013, 35, 50–53. DOI: 10.1016/j.inoche.2013.05.026. ISSN 13877003.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1387700313002281>
- [118] KONCKI, Robert. *Chemical Sensors and Biosensors Based on Prussian Blues*. Critical Reviews in Analytical Chemistry. 2002, 32(1), 79–96. DOI: 10.1080/10408340290765452. ISSN 1040-8347.
Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408340290765452>
- [119] CHEN, Wei, Shu CAI, Qiong-Qiong REN, Wei WEN a Yuan-Di ZHAO. *Recent advances in electrochemical sensing for hydrogen peroxide: a review*. The Analyst. 2012, 137(1), 49–58. DOI: 10.1039/C1AN15738H. ISSN 0003-2654.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C1AN15738H>

- [120] ZHANG, Hong-Tao, Bao-Ping QIAO, Bao-Ping LIU a Xian-Guo ZHAO. *Study on the Treatment of Acute Thallium Poisoning*. The American Journal of the Medical Sciences. 2014, 347(5), 377–381. DOI: 10.1097/MAJ.0b013e318298de9c. ISSN 00029629.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002962915303360>
- [121] MISHRA, Sasmita, Vijaylakshmi TIRKEY, Avishek GHOSH, et al. *Ferrocenyl–cymantrenyl hetero-bimetallic chalcones: Synthesis, structure and biological properties*. Journal of Molecular Structure. 2015, 1085, 162–172. DOI: 10.1016/j.molstruc.2014.12.070. ISSN 00222860.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022286014012769>
- [122] STRINGER, Tameryn, Ronnett SELDON, Nicole LIU, et al. *Antimicrobial activity of organometallic isonicotinyl and pyrazinyl ferrocenyl-derived complexes*. Dalton Transactions. 2017, 46(30), 9875–9885. DOI: 10.1039/C7DT01952A. ISSN 1477-9226.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C7DT01952A>
- [123] PARAC-VOGT, Tatjana N., Kristof KIMPE a Koen BINNEMANS. *Heterobimetallic gadolinium(III)–iron(III) complex of DTPA-bis(3-hydroxytyramide)*. Journal of Alloys and Compounds. 2004, 374(1-2), 325–329. DOI: 10.1016/j.jallcom.2003.11.102. ISSN 09258388.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925838803013240>
- [124] LIU, Yu-Ting, Jiao SHENG, Da-Wei YIN, Hong XIN, Xiao-Ming YANG, Qian-Yu QIAO a Zi-Jiang YANG. *Ferrocenyl chalcone-based Schiff bases and their metal complexes: Highly efficient, solvent-free synthesis, characterization, biological research*. Journal of Organometallic Chemistry. 2018, 856, 27–33. DOI: 10.1016/j.jorganchem.2017.12.022. ISSN 0022328X.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022328X17307076>
- [125] KUNZE, Susanne, Fabio ZOBİ, Philipp KURZ, Bernhard SPINGLER a Roger ALBERTO. *Vitamin B₁₂ as a Ligand for Technetium and Rhenium Complexes*. Angewandte Chemie International Edition. 2004, 43(38), 5025–5029. DOI: 10.1002/anie.200460923. ISSN 1433-7851.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200460923>
- [126] SAH, B.-R., R. SCHIBLI, R. WAIBEL, et al. *Tumor Imaging in Patients with Advanced Tumors Using a New ^{99m}Tc-Radiolabeled Vitamin B₁₂ Derivative*. Journal of Nuclear Medicine. 2014, 55(1), 43–49. DOI: 10.2967/jnumed.113.122499. ISSN 0161-5505.
Dostupné také z: <http://jnm.snmjournals.org/cgi/doi/10.2967/jnumed.113.122499>
- [127] BALDONI, Daniela, Robert WAIBEL, Peter BLÄUENSTEIN, Filippo GALLI, Violetta IODICE, Alberto SIGNORE, Roger SCHIBLI a Andrej TRAMPUZ. *Evaluation of a Novel Tc-99m Labelled Vitamin B₁₂ Derivative for Targeting Escherichia coli and Staphylococcus aureus In Vitro and in an Experimental Foreign-Body Infection Model*. Molecular Imaging and Biology. 2015, 17(6), 829–837. DOI: 10.1007/s11307-015-0832-x. ISSN 1536-1632.
Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11307-015-0832-x>
- [128] RUIZ-SÁNCHEZ, Pilar, Christiane KÖNIG, Stefano FERRARI a Roger ALBERTO. *Vitamin B₁₂ as a carrier for targeted platinum delivery: in vitro cytotoxicity and mechanistic studies*. JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry. 2011, 16(1), 33–44. DOI: 10.1007/s00775-010-0697-z. ISSN 0949-8257.
Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00775-010-0697-z>

- [129] MUNDWILER, Stefan, Bernhard SPINGLER, Philipp KURZ, Susanne KUNZE a Roger ALBERTO. *Cyanide-Bridged Vitamin B₁₂-Cisplatin Conjugates*. Chemistry – A European Journal. 2005, 11(14), 4089–4095. DOI: 10.1002/chem.200500117. ISSN 0947-6539.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/chem.200500117>
- [130] ZHANG, Qian-Ling, Jian-Hong LIU, Xiang-Zhong REN, Cui-Hua LI, Pei-Xin ZHANG, Jian-Zhong LIU a Liang-Nian JI. *A Newly Designed off-on Luminescent Probe Formed by Polypyridyl Cobalt(III) Complex and Zn²⁺*. Chinese Journal of Inorganic Chemistry. 2006, 22(5), 885–889.
Dostupné také z: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-WJHX200605019.htm
- [131] GOMBERG, Moses. *Tetraphenylmethan*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. 1897, 30(2), 2043–2047. DOI: 10.1002/cber.189703002177. ISSN 03659496.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/cber.189703002177>
- [132] *Radical (free radical)*. IUPAC Gold Book [online]. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997 [cit. 2020-03-23].
Dostupné také z: <https://goldbook.iupac.org/terms/view/R05066>
- [133] MCMURRY, John. *Organic chemistry*. Ninth edition. Boston: Cengage Learning, [2016]. ISBN 978-1-305-08048-5.
- [134] ROZANTSEV, E. G. a D. V. LOSHADKIN. *The history and modern problems of free radical chemistry. 100 years of free radical chemistry*. Designed Monomers and Polymers. 2012, 4(4), 281–300. DOI: 10.1163/156855501753210781. ISSN 1568-5551.
Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1163/156855501753210781>
- [135] LEBEDEV, O. L. a S. N. KAZARNOVSKII. *Catalytic oxidation of aliphatic amines with hydrogen peroxide*. Zhur. Obshch. Khim. 1960, 30(5), 1631–1635. CAN 55:7792.
- [136] *3 Factors That Stabilize Free Radicals*. Master Organic Chemistry [online]. Nashville: Master Organic Chemistry, 2019 [cit. 2020-03-23].
Dostupné také z: <https://www.masterorganicchemistry.com/2013/08/02/3-factors-that-stabilize-free-radicals/>
- [137] NAGHIBI, Bijan, Taghi GHAFGHAZI, Valiollah HAJHASHEMI, Ardeshir TALEBI a Diana TAHERI. *The effect of 2,3-dihydroxybenzoic acid and tempol in prevention of vancomycin-induced nephrotoxicity in rats*. Toxicology. 2007, 232(3), 192–199. DOI: 10.1016/j.tox.2007.01.005. ISSN 0300483X.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300483X07000194>
- [138] WANG, Meng, Keyi LI, Zhiwei ZOU, et al. *Piperidine nitroxide Tempol enhances cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells*. Oncology Letters. 2018, 16(4), 4847–4854. DOI: 10.3892/ol.2018.9289. ISSN 1792-1074.
Dostupné také z: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2018.9289>
- [139] AFJAL, MA, SA Hasan ABDI, S SHARMA, S AHMAD, M FATIMA, S DABEER, J AKHTER a S RAISUDDIN. *Anti-inflammatory role of tempol (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl) in nephroprotection*. Human and Experimental Toxicology. 2019, 38(6), 713–723. DOI: 10.1177/0960327119836203. ISSN 713-723.
Dostupné také z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0960327119836203>
- [140] METZ, James M., Debbie SMITH, Rosemarie MICK, Robert LUSTIG, James MITCHELL, Murali CHERAKURI, Eli GLATSTEIN a Stephen M. HAHN. *A Phase I Study of Topical Tempol*

- for the Prevention of Alopecia Induced by Whole Brain Radiotherapy. *Clinical Cancer Research*. 2004, 10, 6411–6417.
Dostupné také z: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/clincanres/10/19/6411.full.pdf>
- [141] KAVALA, Miroslav, Vlasta BREZOVÁ, Ľubomír ŠVORC, et al. *Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial activity of mono-/dinitroxyl amides*. *Organic and Biomolecular Chemistry*. 2014, 12(25), 4491–4502. DOI: 10.1039/C4OB00302K. ISSN 1477-0520.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4OB00302K>
- [142] POPRAC, Patrik, Peter POLIAK, Miroslav KAVALA, et al. *Polyradical PROXYL/TEMPO-Derived Amides: Synthesis, Physicochemical Studies, DFT Calculations, and Antimicrobial Activity*. *ChemPlusChem*. 2017, 82(11), 1326–1340. DOI: 10.1002/cplu.201700343. ISSN 21926506.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/cplu.201700343>
- [143] ZAKRZEWSKI, Jerzy a Maria KRAWCZYK. *Reactions of nitroxides. Part X: Antifungal activity of selected sulfur and selenium derivatives of 2,2,6,6-tetramethylpiperidine*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011, 21(1), 514–516. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.10.092. ISSN 0960894X.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X10015532>
- [144] SEN, Vasily D., Alexei A. TEREENTIEV a Nina P. KONOVALOVA. *Platinum Complexes with Bioactive Nitroxyl Radicals: Synthesis and Antitumor Properties*. *Nitroxides – Theory, Experiment and Applications*. 2012, 387–406. DOI: 10.5772/39113. ISBN 978-953-51-0722-4.
Dostupné také z: <http://www.intechopen.com/books/nitroxides-theory-experiment-and-applications/platinum-complexes-with-bioactive-nitroxyl-radicals-synthesis-and-antitumor-properties>
- [145] NAVARRO, Yolanda, Guilherme P. GUEDES, Joan CANO, Pilar OCÓN, María José IGLESIAS, Francisco LLORET a Fernando LÓPEZ-ORTIZ. *Synthesis, structural characterization and electrochemical and magnetic studies of $M(hfac)_2$ ($M = Cu^{II}$, Co^{II}) and $Nd(hfac)_3$ complexes of 4-amino-TEMPO*. *Dalton Transactions*. 2020, 1–15. DOI: 10.1039/D0DT00541J. ISSN 1477-9226.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0DT00541J>
- [146] SAJFUTDINOV, Rafik Galimzyanovich, Lyudmila Ivanovna LARINA, Tamara Il'ichna VAKUL'SKAYA a Mikhail Grigor'evich VORONKOV. *Electron Paramagnetic Resonance in Biochemistry and Medicine*. New York: Springer, 2001. ISBN 9780306465314.
- [147] LIU, Shimin, Graham S. TIMMINS, Honglian SHI, Charles M. GASPAROVIC a Ke Jian LIU. *Application of in vivo EPR in brain research: monitoring tissue oxygenation, blood flow, and oxidative stress*. *NMR in Biomedicine*. 2004, 17(5), 327–334. DOI: 10.1002/nbm.899. ISSN 0952-3480.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/nbm.899>
- [148] TARÁBEK, Ján. *Základní principy a použití elektronové paramagnetické (spinové) rezonance, EPR (ESR): Porovnání s nukleární magnetickou rezonancí, (NMR)*. In: *NMR spektroskopie [online]*. Praha: Ústav organické chemie a biochemie (ÚOCHB) AV ČR, 2020 [cit. 2020-03-24].
Dostupné také z: <https://nmr.group.uochb.cz/download/%252Fupload%252Ffiles%252F89%252Fc9%252F89c96aa509d4ece82493affc33cfbdbf2934be63.pdf/EPR.pdf>

- [149] WEIL, J. A.; BOLTON, J. R. *Electron Paramagnetic Resonance: Elementary Theory and Practical Applications*. Second edition. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2006. ISBN 978-0-471-75496-1.
- [150] KUČERA, S. *Syntéza a studium komplexních sloučenin Co(III) a pentadentálních Schiffových bází a studium jejich protinádorové aktivity*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Fakulta přírodovědecká, 2018. 71 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Ivan Nemeč, Ph.D.
- [151] STOLL, Stefan a Arthur SCHWEIGER. *EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR*. Journal of Magnetic Resonance. 2006, 178(1), 42–55. DOI: 10.1016/j.jmr.2005.08.013. ISSN 10907807.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090780705002892>
- [152] KLOUDA, Pavel: *Moderní analytické metody*. Druhé vydání. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- [153] KRATOCHVÍL, Bohumil, Michal HUŠÁK, Jiří BRYNDA a Juraj SEDLÁČEK. *Co nabízí současná RTG strukturní analýza?* Chemické listy. 2008, 102(10), 889–901.
- [154] MACRAE, Clare F., Ian J. BRUNO, James A. CHISHOLM, et al. *Mercury CSD 2.0 – new features for the visualization and investigation of crystal structures*. Journal of Applied Crystallography. 2008, 41(2), 466–470. DOI: 10.1107/S0021889807067908. ISSN 0021-8898.
Dostupné také z: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0021889807067908>
- [155] WANG, Qiang, Claire WILSON, Alexander J. BLAKE, Simon R. COLLINSON, Peter A. TASKER a Martin SCHRÖDER. *The one-pot halomethylation of 5-substituted salicylaldehydes as convenient precursors for the preparation of heteroditopic ligands for the binding of metal salts*. Tetrahedron Letters. 2006, 47(50), 8983–8987. DOI: 10.1016/j.tetlet.2006.09.149. ISSN 00404039.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040403906019708>
- [156] WONG, Yee-Lok, Chun-Yin MAK, Hoi Shan KWAN a Hung Kay LEE. *Mononuclear iron(III) complexes supported by tripodal N₃O ligands: Synthesis, structure and reactivity towards DNA cleavage*. Inorganica Chimica Acta. 2010, 363(6), 1246–1253. DOI: 10.1016/j.ica.2009.12.039. ISSN 00201693.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020169309007385>
- [157] CHAO, Hui, Run-Hua LI, Cai-Wu JIANG, Hong LI, Liang-Nian JI a Xiao-Yuan LI. *Mono-, di- and tetra-nuclear ruthenium(II) complexes containing 2,2'-p-phenylenebis(imidazo[4,5-f]phenanthroline): synthesis, characterization and third-order non-linear optical properties*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions. 2001, (12), 1920–1926. DOI: 10.1039/b101483h. ISSN 14727773.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b101483h>
- [158] FIRMO, Roberta Nunes, Isabela Cristina Aguiar DE SOUZA, Fabio da Silva MIRANDA, Carlos Basílio PINHEIRO, Jackson Antonio Lamounier Carmargos RESENDE a Mauricio LANZMASTER. *A new ligand H₄Lox and its iron(III) complex as a platform for the development of heterotrimetallic complexes*. Polyhedron. 2016, 117, 604–611. DOI: 10.1016/j.poly.2016.06.022. ISSN 02775387.
Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S027753871630256X>
- [159] ALAM, Rabiul, Rahul BHOWMICK, Abu Saleh Musha ISLAM, Atul KATARKAR, Keya CHAUDHURI a Mahammad ALI. *A rhodamine based fluorescent trivalent sensor (Fe³⁺, Al³⁺,*

- Cr^{3+}) with potential applications for live cell imaging and combinational logic circuits and memory devices. *New Journal of Chemistry*. 2017, 41(16), 8359–8369. DOI: 10.1039/C7NJ01675A. ISSN 1144-0546.
Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C7NJ01675A>
- [160] KOVAL, Iryna A., Daniel PURSCHE, Arno F. STASSEN, Patrick GAMEZ, Bernt KREBS a Jan REEDIJK. *The Dicopper(II) Complex of the Novel Asymmetric Dinucleating Ligand Hpy3asym as a Structural Model of Catechol Oxidase*. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2003, 2003(9), 1669–1674. DOI: 10.1002/ejic.200200650. ISSN 14341948.
Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ejic.200200650>
- [161] CLAYDEN, Jonathan, Nick GREEVES, Stuart G. WARREN a Peter WOTHERS. *Organic chemistry*. Oxford: Oxford University Press, 2001. ISBN 978-0198503460.
- [162] ČERVINKA, Otakar, Václav DĚDEK a Miloslav FERLES. *Organická chemie*. Čtvrté vydání. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1991. ISBN 80-85427-03-6.
- [163] GOTTLIEB, Hugo E., Vadim KOTLYAR a Abraham NUDELMAN. *NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities*. *The Journal of Organic Chemistry*. 1997, 62(21), 7512–7515. DOI: 10.1021/jo971176v. ISSN 0022-3263.
Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jo971176v>
- [164] Triethylamine hydrochloride (554-68-7). 1H NMR. *Chemical Book* [online]. 2017 [cit. 2020-04-02].
Dostupné z: https://www.chemicalbook.com/spectrumen_554-68-7_1hnmr.htm
- [165] GROOM, Colin R., Ian J. BRUNO, Matthew P. LIGHTFOOT a Suzanna C. WARD. The Cambridge Structural Database. *Acta Crystallographica Section B Structural Science, Crystal Engineering and Materials*. 2016, 72(2), 171–179. DOI: 10.1107/S2052520616003954. ISSN 2052-5206.
Dostupné také z: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S2052520616003954>

7 SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

A549	Lidské buňky rakoviny plic
acac	Acetylaceton
ATP	Adenosintrifosfát
benzim	Benzimidazol
bpy	Bipyridyl
bpya	Bis(pyridin-2-yl)amin
bpyma	Bis[(pyridin-2-yl)methyl]amin
c343H	Kumarin-343
c343haH2	Kumarin-343 hydroxamová kyselina
CAM	Chorioalantoidální membrána
CC ₅₀	Koncentrace, při níž zahyne 50 % testovaných buněk
cGMP	Cyklický guanosylmonofosfát
CoA	Koenzym A
CoQ	Koenzym Q
cyclam	1,4,8,11-tetraazacyklotetradekan
cyclen	1,4,7,10-tetraazacyklododekan
DA	Dodecylamin
DCE	<i>N,N</i> -bis(2-chloroethyl)ethylendiamin
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
dppf	1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen
dpt	bis(3-aminopropyl)amin
DPTA	Diethylentriamin- <i>N,N,N',N''</i> -pentaoctová kyselina
dptm	3,3'-diamino- <i>N</i> -methyldipropylamin
EPR	Elektronová paramagnetická rezonance
HA	Heptylamin
Hhpdbal	2-hydroxy-5-(fenyldiazenyl)benzaldehyd
Hb	Hemoglobin
HeLa	Lidské buňky rakoviny děložního čípku
HEK-293	Lidské embryonální ledvinové buňky
HepG2	Lidské buňky hepatocytového karcinomu rezistentní vůči inzulinu

HHino	Hinokitiol
HTA	Bis(3-hydroxytyramid)
HTrop	Tropolon
IC ₅₀	Inhibiční konc., při níž dochází k zamezení růstu 50 % organismů
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
LC	Obecné označení pro Schiffovy ligandy izolovaných komplexů
LC-MS	Kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem
LD ₅₀	Smrtelná dávka způsobující úhyn 50 % testovaných organismů
Mb	Myoglobin
MCM	Methylmalonyl-CoA mutáza
MetH	Methionin syntáza
MF	Mobilní fáze
MMP	Matrixové metaloproteinázy
MS	Hmotnostní spektrometrie
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromid
NADH	Nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NMR	Nukleární magnetická rezonance
NTA	Nitritotrioxová kyselina
ODHIP	Dihydroxyimidazo-fenantrolin
PDT	Fotodynamická terapie
pet	<i>N</i> -(2-aminoethyl)-1,3-propandiamin
Ph-acacen	<i>N,N'</i> -bis(1-fenylbutan-1,3-dion)ethylendiamin
PROXYL	2,2,5,5-tetramethylpyrrolidin-1-oxyl
PS	Fotosenzibilizátor
py	Pyridin
pybzim	2-(pyridin-2-yl)-1 <i>H</i> -benzimidazol-1-yl
pz	Pyrazol
R _F	Retenční faktor
RNA	Ribonukleová kyselina
ROS	Reaktivní formy kyslíku
RR	Ribonukleotid reduktáza

RTG	Rentgenové záření
RVO	Rotační vakuová odparka
sal	Salicylaldehyd
sbd	S-benzylidithiokarbazát
SI	Index selektivity
TEMPO	2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl
teta	Triethylentetramin
THFA	Kyselina tetrahydrofolová
TLC	Tenkvrstevná chromatografie
tpa	Tris(2-methylpyridin)amin
UV-VIS	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie