

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



Vícedentátní ligandy s alespoň jedním
donorovým atomem fosforu a jejich modelové
koordinační sloučeniny

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Ondřej Satola
Studijní obor: BAGCH
Typ studia: Prezenční
Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.

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

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

V Olomouci dne 2018

.....

Ondřej Satola

Chtěl bych poděkovat doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za odborné vedení a připomínky při vypracovávání této bakalářské práce. Dále chci poděkovat kolektivu zaměstnanců katedry anorganické chemie, a to především Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za provedení NMR spektroskopie, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení hmotnostní spektrometrie, Mgr. Aleně Klanicové, Ph.D. za provedení infračervené spektroskopie a paní Pavle Richterové za provedení elementární analýzy. Rovněž chci poděkovat vedoucímu katedry anorganické chemie, Prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D., za možnost vypracovat předloženou práci na půdě uvedené katedry.

Práce vznikla za finanční podpory projektů GAČR 17-08512Y a LO1305.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Ondřej Satola

Název práce: Vícedentátní ligandy s alespoň jedním donorovým atomem fosforu a jejich modelové koordinační sloučeniny

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

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

Rok obhajoby práce: 2018

Abstrakt:

Problematika cytotoxicky účinných sloučenin ruthenia je jednou z velmi perspektivních a progresivních oblastí bioanorganické chemie. Tato práce se zaměřuje na literární rešerši této problematiky a na přípravu Ru^{II} polosendvičových komplexů s *N,P*-donorovými ligandy. V rámci této práce byla úspěšně provedena syntéza tří jednojaderných komplexních sloučenin, a to [Ru(η^6 -pcym)(L1)Cl]PF₆ (**1**), [Ru(η^6 -pcym)(L2)Cl]PF₆ (**2**) a [Ru(η^6 -pcym)(L3)Cl]PF₆ (**3**); L1 = 2-(difenylfosfino)ethylamin, L2 = 3-(difenylfosfino)-1-propylamin a L3 = 2-(di-*tert*-butylfosfino)ethylamin. Byl také připraven dvoujaderný komplex [Ru₂(μ -dppe)(η^6 -pcym)₂(L1)₂](BPh₄)₄ (**4**); dppe = *P,P*-donorový ligand ethylenbis(difenylfosfin). Připravené komplexy byly charakterizovány elementární analýzou, infračervenou a NMR spektroskopií a hmotnostní spektrometrií.

Klíčová slova: ruthenium, komplex, syntéza, charakterizace

Počet stran: 39

Jazyk: Čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Ondřej Satola

Title: Polydentate ligands containing at least one phosphorus donor atom and their model coordination compounds

Type of thesis: Bachelor

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

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

The year of presentation: 2018

Abstract:

Cytotoxic compounds of ruthenium is one of the most prospective and progressive fields of bioinorganic chemistry. This thesis focuses on the literary research of this issue and on the preparation of Ru^{II} half-sandwich complexes with *N,P*-donor ligands. In this thesis, the synthesis of three mononuclear complexes was successfully performed, namely [Ru(η^6 -pcym)(L1)Cl]PF₆ (**1**), [Ru(η^6 -pcym)(L2)Cl]PF₆ (**2**) and [Ru(η^6 -pcym)(L3)Cl]PF₆ (**3**); L1 = 2-(diphenylphosphino)ethylamine, L2 = 3-(diphenylphosphino)-1-propylamine a L3 = 2-(di-tert-butylphosphino)ethylamine. Dinuclear complex [Ru₂(μ -dppe)(η^6 -pcym)₂(L1)₂](BPh₄)₄ (**4**);); dppe = *P,P*-donor ligand ethylenebis(diphenylphosphine) was also prepared within this thesis. The prepared complexes were characterized by elemental analysis, infrared and NMR spectroscopy and mass spectrometry.

Keywords: ruthenium, complex, synthesis, characterization

Number of pages: 39

Language: Czech

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1. Ruthenium	8
2.2. Bioanorganická chemie ruthenia	10
2.2.1. Prvotní známky protinádorového potenciálu	10
2.2.2. Poptávka po účinných komplexech ruthenia a jejich obecné vlastnosti	10
2.2.3. Objev cytotoxických vlastností Ru ^{III} komplexů	11
2.2.3.1. KP418	12
2.2.3.2. KP1019	13
2.2.3.3. KP-1339	14
2.2.3.4. NAMI-A a NAMI	14
2.2.4. Ru ^{II} sloučeniny jako nový fenomén	16
2.2.4.1. RAPTA komplexy	17
2.2.4.2. RAED komplexy	19
2.3. Komplexy s vybranými <i>N,P</i> -donorovými ligandy	20
2.3.1. Bioanorganická chemie komplexů s <i>N,P</i> -ligandy	21
2.3.2. Katalytické využití komplexů s <i>N,P</i> -ligandy	23
2.3.3. Mikrovlnná iradiace jako pomoc při usnadnění syntéz	24
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
3.1. Použité chemikálie a přístroje	25
3.2. Příprava sloučenin	25
3.2.1. Příprava výchozích Ru ^{II} dimerů	25
3.2.2. Příprava Ru ^{II} komplexů	26
4. VÝSLEDKY A DISKUZE	30
5. ZÁVĚR	36
6. POUŽITÁ LITERATURA	37

1. ÚVOD

Rakovina je v dnešní společnosti stále fenoménem, na který se i přes mnohé snahy v nespočtu provedených výzkumů nedaří najít patřičnou odpověď a každoročně má na svědomí úmrtí velkého počtu lidských jedinců. Nejvýznamnějším léčivem současnosti, které se prokázalo svým výrazným protinádorovým účinkem u mnoha typů rakoviny, je bezpochyby cisplatina s množstvím jejích derivátů [1]. Nevýhodou těchto léků je však výskyt negativních vedlejších účinků a zejména postupný nástup rezistentních jevů, snižující účinnost takto prováděné léčby. Zejména kvůli těmto faktorům je možné pozorovat neustále narůstající tendence usilující o nalezení další účinné látky, která by se odlišovala v mechanismu působení a byla schopna doplnit nebo nahradit protinádorovou terapii prováděnou cisplatinou.

Tato bakalářská práce se věnuje jedné ze skupin alternativ cisplatiny, a to sloučeninám, ve kterých vystupuje atom ruthenia jako centrální atom potenciálně účinných polosendvičových komplexů.

Teoretická část této práce popisuje kontext historického vývoje této třídy sloučenin, vedoucí až k aktuálním trendům, o které se opírá i experimentální část této práce zaměřující se na syntézu Ru^{II} komplexů s *N,P*-donorovými ligandy.

Cíle této bakalářské práce:

1. Vypracovat literární rešerši zaměřenou na polosendvičové komplexy ruthenia obsahující *P*-donorové ligandy a jejich biologickou a katalytickou aktivitu.
2. Pokusit se o přípravu sloučenin obecného vzorce $[Ru(\eta^6\text{-pcym})(L)Cl]PF_6$, kde *pcym* = *p*-cymen a *L* = příslušný *N,P*-donorový ligand.
3. Charakterizovat vhodnými analytickými metodami připravené sloučeniny, a to ve spolupráci s vedoucím práce a dalšími zaměstnanci katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.
4. Interpretovat a zpracovat získané výsledky - ve spolupráci s vedoucím práce - formou bakalářské práce o rozsahu 35-45 stran.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Ruthenium

Ruthenium, objeveno roku 1844 na Kazaňské univerzitě Karlem Ernstem Clausem, patří do VIII.B. skupiny periodického systému, konkrétněji do triády lehkých platinových kovů, a to společně s prvky rhodiem a palladiem. Jedná se o ušlechtilý kov, pro nějž je charakteristická variabilita oxidačních stavů, se značným sklonem k tvorbě komplexních sloučenin, což z chemie tohoto kovu do značné míry dělá chemii komplexní [2].

Ruthenium je kovem za normálních podmínek dosti nereaktivním, u kterého je ve sloučeninách možno dosáhnout vysokého, ne zcela běžného, oxidačního stavu +VIII, který odpovídá elektronové konfiguraci d^0 . U takovýchto látek je typická vysoká redoxní stálost a z hlediska náročnosti procesu jejich přípravy též relativně snadná dostupnost. Vyšší stabilitou ale oplývají též sloučeniny ruthenia s oxidačním číslem +VI a +IV. U ruthenia jsou však popsány i další oxidační stavy v rozmezí mezi +VIII až po -II.

Ruthenium disponuje schopností tvorby dvou oxidů, a to oxidu rutheničitého (RuO_2) a oxidu rutheničelého (RuO_4). Oxid rutheničitý je modročerná krystalická látka vznikající spalováním práškovitého ruthenia či chloridu ruthenitého (RuCl_3) v proudu kyslíku [3]. Tento oxid je ve vodě i v kyselinách nerozpustný a při redukci vodíkem přechází na samotný kov. Oxid rutheničelý je naopak těkavá kapalina žluté barvy s teplotou varu $40\text{ }^\circ\text{C}$, jejíž struktura je tvořena tetraedrickými molekulami RuO_4 . Příprava této sloučeniny je nejsnáze uskutečnitelná oxidací roztoku alkalického ruthenanu nebo rutheničité soli chlorem v prostředí alkalického hydroxidu. Výsledná sloučenina je charakteristická silnými oxidačními účinky a náchylností k explozivnímu rozkladu.

U ruthenia též můžeme zaznamenat výskyt dvou, ve vyšší míře stálých oxoaniontů, konkrétně ruthenanů (RuO_4^{2-}) a ruthenistanů (RuO_4^-). Ruthenany, které se vyznačují zeleným zbarvením, je možno připravit tavbou kovového ruthenia nebo oxidu rutheničitého se směsí hydroxidu a dusičnanu alkalického kovu, přičemž jsou u nich zaznamenány oxidační účinky. Při rozpuštění ruthenanů ve vodě dochází ke vzniku červeně zbarveného roztoku, kdy při okyselení dochází ke vzniku ruthenistanů, což je způsobeno disproportionací ruthenanů.

S poměrně stálými sloučeninami ruthenia se můžeme setkat též u látek, ve kterých se vyskytuje v nižších oxidačních stavech +II a +III. U oxidačního čísla +III je z hlediska halogenidů nejlépe prozkoumán chlorid ruthenitý, který jakožto bezvodý existuje ve dvou formách. První z nich - označována jako β - je tmavě hnědá látka, kterou je možné připravit zahříváním kovového ruthenia v atmosféře CO a Cl_2 na $330\text{ }^\circ\text{C}$. Při zahřátí $\beta\text{-RuCl}_3$ v proudu Cl_2 na $450\text{ }^\circ\text{C}$ přechází na formu $\alpha\text{-RuCl}_3$. Hydratovaný $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ vzniká rozpouštěním RuO_4 v kyselině chlorovodíkové a následným odpařením vzniklého roztoku v proudu chlorovodíku. Tento trihydrát pak hydrolyzuje za současné oxidace atomu ruthenia na Ru^{IV} . Zpět na Ru^{III} jej převádíme opětovným odpařením v proudu chlorovodíku. Takto připravený produkt se využívá jako výchozí látka pro přípravu dalších sloučenin ruthenia a byl použit i v této bakalářské práci. U oxidačního čísla +II stojí za zmínku existence disulfidu RuS_2 , který je možné získat z roztoku při sražení sulfanem, ve formě černohnědé sraženiny. Tento disulfid je také možné získat ve formě šedé krystalické hmoty procesem zahřívání RuCl_3 v proudu H_2S . RuS_2 má strukturu pyritu, disponuje polovodičovými vlastnostmi a je diamagnetický. Byly připraveny také sloučeniny, kde se ruthenium vyskytuje s oxidačním číslem 0. U takovýchto sloučenin patří mezi nejběžnější monomerní karbonyl typu $[\text{Ru}(\text{CO})_5]$, který vzniká působením CO, na práškové Ru při zvýšené teplotě a tlaku. Je však možné připravit také polyjaderné karbonyly jako $[\text{Ru}_2(\text{CO})_9]$ či $[\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}]$.

Ruthenium v elementárním stavu i ve sloučeninách nachází bohaté uplatnění při použití v katalýze. Jako kov se uplatňuje při hydrogenačních reakcích např. hydrogeniaci alkinů a dienů. Dále pak katalyzuje Fischer-Tropschovu reakci hydrogenace oxidu uhelnatého na methan nebo například hydrogenaci benzenu, či redukci cukrů na polyalkoholy.

U komplexních sloučenin ruthenia můžeme ve většině všech případů pozorovat jeho výskyt v oxidačních stavech +II, +III a +IV. Ruthenium v oxidačním čísle +II tvoří velice stabilní komplexy s π -akceptorovými ligandy. Tyto ligandy totiž svou schopností přijmout elektronovou hustotu z atomu ruthenia umožňují jeho stabilitu i v tomto nízkém oxidačním stupni. Mezi takovéto komplexy patří například $[\text{Ru}(\text{CN})_6]^{4-}$ či $[\text{Ru}(\text{CO})\text{Cl}_2]$, přičemž byla uskutečněna i izolace volné kyseliny $\text{H}_4[\text{Ru}(\text{CN})_6]$. Byla také připravena řada komplexů typu $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5\text{L}]$, kdy $\text{L} = \text{N}_2, \text{CO}, \text{RCN}, \text{SO}_3^{2-}$. U komplexů ruthenia s oxidačním číslem +III jsou typickými představiteli např. komplexy halogenidové, jako je $\text{K}_3[\text{RuF}_6]$, vznikající reakcí RuCl_3 a KHF_2 .

Popsány jsou též amminokomplexy ruthenité, mezi které též patří $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, vznikající oxidací $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$. Můžeme se zde setkat také s $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{X}_2]\text{X}$, či $[\text{Ru}(\text{NH}_3)\text{X}_3]$, kdy $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$. Rovněž byla pozorována i řada nitrosylových komplexů, většinou typu $\text{RuL}_5(\text{NO})$, kupříkladu $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{NO})]^{3+}$, $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{NO})]^{3+}$, $[\text{RuCl}_5(\text{NO})_6]^{2-}$, či $[\text{Ru}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$.

2.2. Bioanorganická chemie ruthenia

2.2.1. Prvotní známky protinádorové aktivity

Protinádorově aktivní látky na bázi komplexů ruthenia patří v dnešní době mezi jedny z nejperspektivnějších a nejintenzivněji zkoumaných neplatinových léčiv, přičemž v současnosti mají své zástupce v procesu aktivního klinického testování [1,4]. První zmínkou o jisté protinádorové aktivitě sloučenin ruthenia zaznamenali roku 1931 Collier a Krauss, když implantovali Ehrlichův karcinom do těla bílé myši a následně analyzovali efekt jednorázového podání substance, obsahující směs sloučenin různých přechodných kovů, na vývoj tumoru. U sloučeniny ruthenia, konkrétně u $\text{Cs}_2[\text{RuCl}_6]$, se prokázala dosti významná aktivita, podporující inhibici růstu vzniklého tumoru. Závěrem této studie však byla hypotéza, která poukazovala na fakt, že pozitivní efekt nebyl zapříčiněn pouze centrálním atomem ruthenia, ale sloučeninou jako celkem, což vyzdvihuje také roli ligandů a jejich prostorového uspořádání. O další posun v této problematice se zasloužil objev, ve kterém byl popsán aktivní růst filamentů u *Escherichia coli*, jež byl způsoben interakcí s Ru^{III} komplexem $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}(\text{OH})]\text{Cl}$. Tento test, týkající se vyvolání růstu filamentů u *E. coli*, které bylo způsobeno inhibicí buněčného dělení, byl dříve v této problematice hojně využíván. U těchto ranně připravených sloučenin se předpokládalo, že daný pozitivní efekt je způsoben výhradně interakcí komplexu s molekulami DNA [5].

2.2.2. Poptávka po účinných komplexech ruthenia a jejich obecné vlastnosti

V roce 1978, ve kterém byla cisplatina oficiálně klinicky schválena jako léčivo a byl také objasněn mechanismus jejího protinádorového účinku, se právě molekula DNA pokládala jako primární buněčný cíl cisplatiny a dalších cytotoxických komplexů přechodných kovů [1]. Ačkoliv se cisplatina prokázala v oblasti protinádorové léčby velmi pozitivními výsledky, zejména v případech rakoviny plic, hlavy, vaječnicků, krku a jícnu, tak pro chemoterapii prováděnou tímto léčivem je charakteristický nástup

resistentních jevů, což zapříčiňuje postupné snižování účinnosti při podávání tohoto léčiva, které vede až k neefektivitě dané léčby [6]. Dále pak cisplatina a její deriváty disponují jistou buněčnou toxicitou, která způsobuje nežádoucí vedlejší účinky jako je periferní neuropatie či vypadávání vlasů. Díky těmto jevům se dostávají do popředí stále větší snahy o nalezení léčiva, které by nahrazovalo, či případně doplňovalo cisplatinu v léčebné terapii [1].

Původním záměrem syntézy účinných sloučenin ruthenia sice bylo léčivo, které by mělo mimikovat cisplatinu jak v mechanismu působení, tak v účinku, avšak rozdílnost mechanismu působení, kterou se vykazovaly později připravené sloučeniny ruthenia, se prokázala velmi výhodnou z hlediska představ o synergistickém působení léčiv.

Mezi obecně vyzdvihované pozitivní vlastnosti sloučenin ruthenia patří zejména možnost hexa-koordinace centrálního atomu a tomu odpovídající oktaedrický tvar komplexů, přičemž významná je také jejich vyšší tendence k redoxním reakcím než ta, kterou disponuje cisplatina a její příslušné deriváty. Dále pak při studiu mechanismů sloučenin, které byly připraveny v poslední dekádě, bylo pozorováno, že primárním cílem těchto komplexů jsou proteiny, a ne DNA, jako je tomu u cisplatiny.

Obecně se ruthenium v potenciálně účinných sloučeninách vyskytuje ve dvou hlavních oxidačních stavech, a to +II a +III [6]. Teoreticky možné jsou také sloučeniny v oxidačním stavu +IV, avšak vyskytuje se u nich problém s vyšší mírou nestability. Většinou platí, že termodynamická a kinetická stabilita Ru^{III} komplexů je nižší v porovnání s Ru^{II} komplexy a kinetika hydratace komplexů závisí značnou měrou na povaze koordinovaných ligandů.

2.2.3. Objev cytotoxických vlastností Ru^{III} komplexů

Další proces hledání účinných sloučenin vedl nejdříve k syntézám nejrůznějších komplexů ruthenia v oxidačním čísle +III, které vycházely z výše zmíněného komplexu $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}(\text{OH})]\text{Cl}$, kdy po vzoru cisplatiny byly syntézy zaměřeny zejména na práci s chloro a amino ligandy. Při studiu sloučenin *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NH}_3)_3]$ a $[\text{RuCl}_2(\text{DMSO})_4]$ byl znovu pozorován růst filamentů *E. coli* způsoben inhibicí buněčného dělení. Při přípravě sloučeniny $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_5(\text{Pur})]\text{Cl}_3$, pak byla poprvé pozorována a popsána teorie tzv. aktivace redukcí, kdy tato hypotéza předpokládá, že substitučně inertní Ru^{III} komplexy jsou aktivovány právě redukcí na komplexy Ru^{II} v prostředí buňky. Redukce z Ru^{III} na Ru^{II} totiž snižuje π -akceptorové vlastnosti kovu, což vede k částečné labilizaci

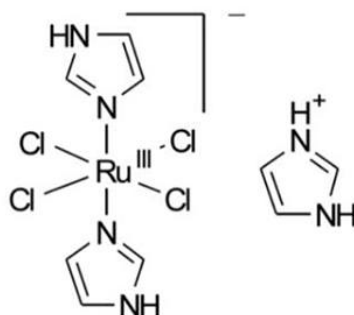
vazby s π -donorovými ligandy jako jsou ligandy chloridové a vede k usnadnění hydrolýzy a tím i k aktivaci dané sloučeniny. Komplexy působící tímto mechanismem navíc poskytovaly jistou míru selektivity, jelikož redukce je v hypoxickém prostředí nádoru usnadněna, přičemž důležitými faktory aktivace jsou také pH a koncentrace glutathionu.

Snahy o syntézu účinných sloučenin nakonec vyústily v objev dvou slibných Ru^{III} skupin komplexů, přičemž do první z nich řadíme například komplexy KP1019, či NKP-1339 a k druhé třídě řadíme komplexy NAMI, či NAMI-A. (NKP-1339 je v současnosti klinicky testováno a nachází se na pomezí první a druhé fáze tohoto testování.)

Sloučeniny ruthenia patřící do výše zmíněné první skupiny disponují vysokým protinádorovým potenciálem, který je založen jak na silné vazbě k sérovým proteinům jako je albumin či transferin, tak na již zmíněné aktivaci v reduktivním prostředí tumoru [5]. Předpokládá se, že redoxní aktivita těchto sloučenin ruthenia představuje jednu z hlavních vlastností, která je zodpovědná za narušení buněčné redoxní rovnováhy, v důsledku čehož dochází k zastavení buněčného cyklu ve fázi G2/M, zablokování syntézy DNA a k indukci apoptózy přes mitochondriální dráhu.

2.2.3.1. KP418

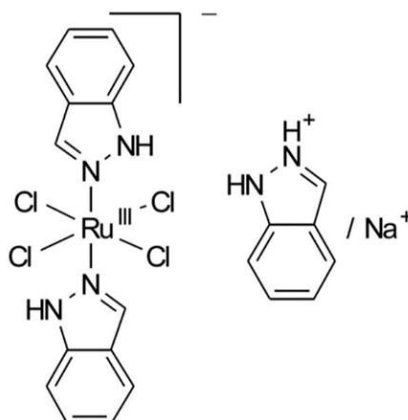
Prvotně zkoumanou látkou v této oblasti byl komplex obsahující imidazol s názvem ICR (KP418; *Obr. 1*), který prokázal aktivitu oproti určitým typům nádorových linií. Inhibiční efekt u daných typů karcinomů prokazoval uspokojivější výsledky léčby v porovnání s tehdy používanými léčivy, zejména pak s cisplatinou. Konkrétně u kolorektálního karcinomu implantovaného do krys, kde byla cisplatina zcela neaktivní, inhiboval KP418 růst nádoru s úspěšností vyšší než 90 %. Tento pozitivní efekt byl však doprovázen 26 % ztrátou hmotnosti a 10 % úmrtností [1,5].



Obr. 1: Strukturální vzorec KP418 (převzato z [5])

2.2.3.2. KP1019

Redukcí vedlejších účinků KP418, avšak při uchování příslušné protinádorové aktivity, bylo dosaženo přípravou indazolového analogu KP418 s komerčním názvem KP1019 (*Obr. 2*), který se prokázal jako velmi účinný při léčbě modelu rakoviny tlustého střeva u krys, kdy na základě této slibné aktivity bylo KP1019 podrobeno preklinickému testování *in vitro* proti čerstvě získaným modelům lidského karcinomu. U KP1019 bylo na základě testů předpokládáno, že specifická nádorová aktivita je zapříčiněna vazbou na krevní proteiny a na základě preklinické zprávy bylo poukázáno na fakt, že KP1019 je schopno dosáhnout klinické aktivity proti různým typům nádorů. Později pak bylo prokázáno, že KP1019 indukuje apoptózu prostřednictvím mitochondriální dráhy v buněčných liniích kolorektálního karcinomu, což bylo detekováno ztrátou potenciálu mitochondriální membrány [7]. V roce 2006 pak KP1019 překročilo předběžnou fázi I. klinického testování a bylo tehdy považováno za nejslibnějšího představitele na rutheniu založených protirakovinných léčiv. Tato látka se dále ve studii s eskalací dávky v rámci klinického testování prokázala velmi nadějnými výsledky, kdy v této brzké fázi klinických testů byla u pěti ze šesti pacientů dosažena stabilizace onemocnění s nulovými vedlejšími efekty [8]. Tito pacienti, s různými typy tumorů, byli léčeni postupně navyšovanými dávkami KP1019 od 25-600 mg dvakrát týdně po dobu tří týdnů, přičemž nebyla zaznamenána žádná toxická limitní dávka [9]. U maximální dávky však nemohla být toxicita posouzena zcela objektivně, a to kvůli nedostatečné rozpustnosti, která limitovala množství léku, jež bylo pro interakci využito. Důležitým závěrem studie byla stabilizace adenokarcinomu tlustého střeva, karcinomu jater a jazyka.



Obr. 2: Strukturální vzorce KP1019 a NKP-1339 (převzato z [5])

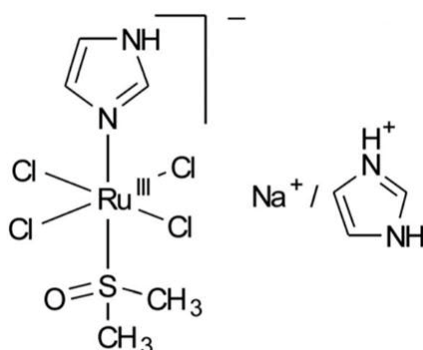
2.2.3.3. NKP-1339

Nejnovějším reprezentantem výše zmíněné první třídy sloučenin je NKP-1339, sodný analog indazoliové soli KP1019 [1,5]. Výměnou indazolového kruhu za sodík byla 30x zvýšena rozpustnost této sloučeniny ve vodě, díky čemuž také tato látka v současnosti podstupuje přechod k druhé fázi klinického testování [10]. Nedávná studie, uskutečněná pomocí rentgenové absorpční spektroskopie, poukázala na fakt, že NKP-1339 zůstává v oxidačním stavu +III i v následujících 24 hodinách po injekci do myši nesoucí sledovaný karcinom, což podtrhuje vhodnou redoxní stabilitu tohoto léčiva [1]. V první fázi klinického testování byla tato látka podávána pacientům každý 1., 8. a 15. den v 28-denním cyklu, přičemž byl pozorován výskyt horečky nebo zimnice při dávkách nad 420 mg/m², zatímco dávka určující limitní toxicitu byla stanovena na 625 mg/m². Ve většině případů však byly nežádoucí účinky spojeny s nevolností, únavou a zvracením. Všechny popsané nežádoucí účinky byly charakterizovány jako akceptovatelné a nebyly zaznamenány žádné potíže týkající se hematologické toxicity, či neurotoxicity. Při samostatné léčbě kolorektálního karcinomu touto látkou a zejména pak při léčbě plicních a gastrointestinálních neuroendokrinních nádorů byla pozorována stagnace ve vývoji tohoto onemocnění [11]. Navíc byl dokumentován také synergický efekt NKP-1339 s klinicky schváleným inhibítorem tyrosinkinázy, konkrétně sorafenibem, kde se tento efekt prokázal při testech *in vitro* i *in vivo*. [5,12]

2.2.3.4. NAMI-A a NAMI

Díky velmi inspirativnímu vývoji KP418 a KP1019 vznikly tendence týkající se přípravy ruthenitých komplexů obsahujících DMSO, které vyústily v syntézu sloučeniny s názvem NAMI-A (*Obr. 3*) [5]. Tato látka se prokázala zejména svou odlišnou aktivitou, která primárně nebyla spojena se zacílením na primární tumor jako je tomu u KP1019, či například u cisplatiny, díky prakticky nulové cytotoxicitě vůči buňkám takového primárního tumoru. V rámci prvních *in vivo* testů, které byly prováděny na myších, byla pozorována velice nadějná selektivní aktivita u plicních metastáz. Velmi významným zjištěním při tomto pozorování byla redukce pouze metastáz s absencí redukce růstu primárního tumoru. Značný nedostatek cytotoxicity oproti buňkám pevných nádorů s velkou pravděpodobností souvisí s rychlou extracelulární transformací NAMI-A, přičemž metabolity tohoto léčiva interagují

zejména s buněčnými stěnami a jsou jen minimálně přijímány buňkami, což bylo pozorováno při *in vitro* studiích. NAMI-A je první na rutheniu založená sloučenina s protinádorovou aktivitou, u níž se studium dostalo až do fáze klinického testování na lidských jedincích [13].



Obr. 3: Strukturální vzorce NAMI a NAMI-A (převzato z [5])

Roku 1999 tato látka podstoupila první fázi klinického testování, které mělo za úkol určit maximální tolerovanou dávku, možné vedlejší účinky a limitní toxicitu u pacientů s lokalizovanými nádory. Dále pak měla být hodnocena farmakokinetika po podání léčiva a předběžná protinádorová aktivita. Dospělým pacientům s pevným tumorem byla tedy podávána NAMI-A infuzí po dobu pěti dní v rámci tří týdnů. Testováno bylo celkem 24 subjektů, přičemž v jednom případě bylo dosaženo velice uspokojivého výsledku, a to stabilizace progresivní rakoviny plic po dobu 21 týdnů. Závěr studie vyhodnotil léčbu jako bezpečnou ve výše zmíněném intervalu s denní dávkou 300 mg/m² [14].

Po první fázi následovalo několikaleté testování na pomezí první a druhé fáze, které se zaměřovalo zejména na pacienty s výskytem plicních karcinomů, konkrétně na kombinovanou léčbu s gemcitabinem. Výzkum byl opět zaměřen na maximální tolerovanou dávku, limitní toxickou dávku, farmakokinetiku a farmakodynamiku NAMI-A při této kombinované léčbě. Původně plánovaný 28-denní cyklus musel být kvůli častému výskytu neutropenie ve třetím týdnu léčby zkrácen na 21 dní, zatímco maximální tolerovaná dávka v tomto zkráceném cyklu byla stanovena na 450 mg/m². Mezi nejčastější vedlejší účinky patřila neutropenie, anémie, zvýšené hodnoty jaterních enzymů, zvracení, únava a renální toxicita. Závěrem pak bylo deklarováno, že kombinovaná léčba s gemcitabinem je u pacientů s plicním karcinomem méně aktivní, v porovnání s prvním cyklem léčby gemcitabinem samotným [15].

Díky tomuto neúspěchu je v současnosti další finanční podpora pro opětovný vstup do klinického testování této látky dosti nereálná. NAMI-A nicméně bylo prvním léčivem, které se dostalo až do druhé fáze klinického testování [13]. První zmínky o jisté protinádorové aktivitě tohoto komplexu však sahají do období roku 1992, kdy probíhalo studium sodného analogu NAMI-A, označovaného jako NAMI. Pozdější náhrada sodné soli solí imidazolia byla provedena z důvodů snadnější syntézy a lepší stability v pevném stavu, kterou právě tato sůl poskytovala.

2.2.4. Ru^{II} sloučeniny jako nový fenomén

V devadesátých letech minulého století začaly vznikat snahy o přípravu přímo účinných Ru^{II} sloučenin, které by nevyžadovaly reduktivní aktivační krok [1]. V počátcích sice byla pozorována u takovýchto sloučenin jistá biologická aktivita, avšak byl zde značný problém se stabilitou těchto komplexů. Zlomem v této problematice byly syntézy s *N*-heterocykly, které stabilizují nízký oxidační stav ruthenia v těchto sloučeninách a příprava první takovéto sloučeniny, konkrétně [Ru^{II}(azpy)₂Cl₂], kde azpy je 2-fenylazopyridin. U α -izomeru této chirální sloučeniny byly prokázány slibné *in vitro* výsledky proti prsním nádorovým liniím, přičemž tato látka disponuje cytotoxicitou stejnou jako v případě cisplatiny, a to v kontrastu k velice málo cytotoxickým β a γ izomerům [16]. Z tohoto jevu bylo vyvozeno, že zvýšená cytotoxicita byla zaviněna právě specifickou *cis*-konformací chloro ligandů. Nízká rozpustnost tohoto komplexu však nedovolovala *in vivo* testování.

Další vývoj vedl k práci s ligandy poskytující potřebnou stabilizaci oxidačního stavu, konkrétně η^6 -arenovými ligandy, které poskytly ideální chemické vlastnosti z hlediska σ -, π -donor/ π -akceptorových vlastností [1]. Kromě zmíněného arenového ligandu (ar) jsou na centrálním atomu přítomny tři další volná vazebná místa. Výsledná tetraedrická sloučenina je poté obecně stabilní a rozpustná ve vodném prostředí. Jejich charakter poskytuje značný prostor pro optimalizaci jak z hlediska biologické aktivity, tak z hlediska minimalizace vedlejších efektů [17]. Mechanismus účinku těchto polosendvičových sloučenin však není založen na předešlé teorii aktivace redukcí, ale na aktivaci pouhou výměnou ligandů. Tato třída organokovových protirakovinných sloučenin patří do zatím nejpokrokovější generace těchto látek a jejich výzkum a vývoj v současnosti spadá do oblasti s nejvyšším potenciálem [1].

Mezi dvě nejvýznamnější skupiny zástupců těchto látek patří množina komplexů RAPTA, konkrétně pak [Ru(η^6 -ar)(PTA)X₂], kde PTA= 1,3,5-triaza-7-fosfaadamantan

a množina komplexů RAED, konkrétně $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{en})\text{Cl}]^+$, kde en = ethylen-1,2-diamin.

2.2.4.1. RAPTA komplexy

V případě polosendvičových sloučenin třídy RAPTA můžeme pozorovat charakteristickou strukturu „pianové stoličky“, kde jsou tři koordinační místa ruthenia obsazeny η^6 -koordinovaným arenovým ligandem, který slouží ke stabilizaci Ru^{II} oxidačního stavu. Další koordinační místo je zabráno amfifilním PTA ligandem, přičemž zbylá dvě koordinační místa jsou obsazena relativně labilní vazbou s chloro ligandy. Monodentátně vázaný PTA ligand lze zde považovat za nositele vlastností, které odlišují RAPTA komplexy od ostatních Ru^{II} polosendvičových komplexů z hlediska protinádorové aktivity. První dokumentovanou RAPTA strukturou byla $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2(\text{PTA})]$, později označována jako RAPTA-C (pcym = *p*-cymen) (Obr. 4). Tato sloučenina při testování prokázala specifickou schopnost degradovat DNA na základě pH, kdy tak činí jen při pH nižším než 7 a dále pak dobrou rozpustnost ve vodě [1,18]. Právě tato aktivace léčiva mírně kyselým pH se ukázala jako potenciálně výhodná pro zacílení na nádorové buňky, kvůli hypoxickému prostředí v takto postižené tkáni.

Dále byly u RAPTA-C a jejích analogů s bromo a jodo ligandy zkoumány antibiotické a antivirální vlastnosti, přičemž byl zaznamenán určitý stupeň antibiotické aktivity [19]. Úroveň aktivity vůči konkrétním mikrobům se ukázala být vždy spojena s typem odstupující skupiny halogen ligandu. Poškození DNA, způsobené jednotlivými RAPTA komplexy při *in vitro* testování, se prokázala jako nesouvisející s antimikrobiální aktivitou, což poukazuje na mechanismus cytotoxicity, který není založený na interakci s DNA. Při studiu inkubace RAPTA-C s *E. coli* bylo vypořádáno, že dochází k formování specifických interakcí mezi proteiny a atomem ruthenia, což potvrzuje teorii předpokládající, že aktivita těchto sloučenin je založená na interakci s proteiny. V rámci studie, která se zabývala hydrolytickým profilem sloučeniny RAPTA-C bylo pozorováno že RAPTA-C podléhá rychlé hydrolyze ve vodném roztoku s nízkou koncentrací NaCl (4 mM). Při koncentraci 100 mM, která odpovídá koncentraci v krvi, však byla hydrolyza potlačena. Podrobnější studie sloučenin RAPTA-C a RAPTA-B ($[\text{Ru}(\eta^6\text{-benzen})\text{Cl}_2(\text{PTA})]$), uskutečněna za fyziologických podmínek s nízkou koncentrací chloridu (5 mM), poukázala na nejbohatší výskyt ($[\text{Ru}(\eta^6\text{-aren})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})(\text{PTA})]^+$) formy komplexu RAPTA v takovémto prostředí. V menší míře pak byly přítomny také

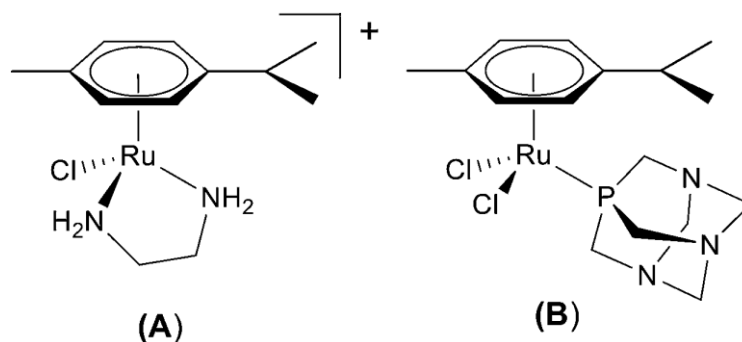
formy $[\text{Ru}(\eta^6\text{-aren})(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})(\text{PTA})]^+$ a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-arene})\text{Cl}_2(\text{PTA})]$. Na základě těchto zjištění lze předpokládat, že sloučeniny RAPTA, podobně jako cisplatina, budou aktivovány do více reaktivní ($[\text{Ru}(\eta^6\text{-aren})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})(\text{PTA})]^+$) formy jen v prostředí s nízkou koncentrací chloridů, jako je intracelulární prostor. Lze tedy vyvodit, že komplex je v méně účinné chloridové formě přepravován krevní plazmou a lze jej tedy pokládat za potenciální proléčivo.

V *in vitro* testech prokázaly RAPTA sloučeniny aktivitu proti buněčným liniím rakovinových buněk myšího adenokarcinomu TS/A, zatímco cytotoxicita vůči nerakovinné buněčné linii lidské prsní žlázy HBL-100 nebyla pozorována v koncentracích do 0,3 mM, což poukazuje na selektivitu vůči nádorovým buňkám [20]. Dvě sloučeniny třídy RAPTA, konkrétně RAPTA-T a RAPTA-Im, se prokázaly selektivním cytotoxickým účinkem vůči TS/A buněčné linii v porovnání s linií HB-100. Při použití Me-PTA ligandu obsahujících RAPTA sloučeniny byla prokázána cytotoxicita vůči oběma těmto buněčným liniím. V *in vivo* studiích sloučenin RAPTA-C a RAPTA-B, které byly prováděny na myších nosoucích karcinomu prsu, nebyla ani jedna z těchto sloučenin aktivní proti primárnímu nádoru, avšak obě sloučeniny byly účinné při snižování počtu a hmotnosti pevných plicních metastáz, pocházejících z primárního nádoru. Tyto výsledky tedy poukázaly na značný antimetastázový potenciál RAPTA sloučenin. Slibné výsledky, jimiž se prokázala sloučenina RAPTA-T, týkající se zejména vysoké selektivity vůči rakovinným buněčným liniím, následně odstartovaly sérii dalších *in vitro* a *in vivo* testování. Tyto *in vitro* studie poukázaly na inhibici některých metastazických kroků, týkajících se zejména procesu oddělení od primárního tumoru, migrace či invaze a opětovná adheze k novému růstovému substrátu [21]. Bylo dále pozorováno navýšování těchto účinků při růstu buněk na extracelulárních maticích jako je kolagen IV, či fibronectin a naopak minimalizaci účinků na nespecifickém substrátu poly-L-lysinu. Dále byl zaznamenán výraznější účinek při použití vysoce invazivní rakovinné buněčné linie MDA-MD-231, vůči neinvazivní MCF-7 nebo nerakovinové HBL-100. Zvýšená aktivita při použití extracelulárních maticí pak naznačila na mechanismus související s interakcemi s molekulami buněčného povrchu. Studie tedy svým závěrem deklarovaly selektivní stupeň aktivity vůči invazivní rakovině buněk a metastazických nádorů. Na základě výsledků byl navržen možný mechanismus fungování RAPTA-T, poukazující na změny v oblasti cytoskeletu, kdy buňka ztrácí pružnost, která je potřeba pro proces oddělení a opětovného navázání [18,19]. Na základě provedených výzkumů, jsou dnes

předpokládány jako primární cíl RAPTA sloučenin proteiny, spíše než DNA jako je tomu u cisplatinu.

2.2.4.2. RAED komplexy

Mezi druhou významnou skupinu Ru^{II} cytotoxicky účinných komplexů patří množina sloučenin RAED (Obr. 4). Tyto na diaminu založené Ru^{II} polosendvičové komplexy řadíme mezi nový typ organokovových protirakovinných látek. Strategie zahrnující koordinaci bidentárního 1,2-ethylenediaminu a jedné chloridové odstupující skupiny ke kov-arenovému základu vyústily v syntézu $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{en})\text{Cl}]\text{PF}_6$ sloučenin [1,4]. U této třídy sloučenin byly zaznamenány pozitivní výsledky v oblasti aktivity proti lidským buněčným liniím rakoviny vaječníku a konkrétně pak u RM175 ($[\text{Ru}(\eta^6\text{-bifenyl})(\text{en})\text{Cl}]\text{PF}_6$) byla prokázána antiproliferační aktivita srovnatelná s karboplatinou. U RM175 dále proběhlo *in vivo* testování u lidského modelu karcinomu vaječníku, kde RM175 prokázala non-cross rezistenci s cisplatinou a toleranci u vyšších dávek, avšak aktivita RM175 byla přibližně poloviční jako u cisplatinu. V testech *in vivo* pak RM175 vykazovala významné opoždění růstu nádoru i po jednorázové dávce. *In vivo* testování RM175 na antimetastatický účinek karcinomu prsu prokázalo jak snížení růstu primárního tumoru, tak i celkového růstu sekundárních nádorů. Potenciální antimetastatickou aktivitu u této sloučeniny podtrhnul proces inhibice formování matrixové metalloproteinasy 2. RM175 obsahuje jednu halogenidovou odstupující skupinu a věří se, že mechanismus působení je odlišný, než je tomu u dosud prozkoumaných sloučenin ruthenia, a spočívá ve schopnosti koordinovat DNA přes N7-guaninového zbytku. Možnost tvorby vodíkové vazby mezi protony v en RM175 a O6-guanosinem se zdá být rozhodujícím faktorem, který při selektivitě vítězí nad případnou vazbou s adenosinem či thymidinem. Aktivace polosendvičového komplexu RM175 je možná pouze hydrolyzou vazby Ru-Cl, přičemž bylo zjištěno, že Cl/aqua výměna nastává ve vodě, ale je zpomalována zvýšenou hladinou chloridů v roztoku, podobně jako je tomu u sloučeniny RAPTA-C.



Obr. 4: Strukturální vzorce RAED-C (A) a RAPTA-C (B) (převzato z [22])

Závěrem lze poznamenat, že třída polosendvičových Ru^{II} komplexů typu RAED patří mezi moderní typy cytotoxických sloučenin, které jsou připravovány s různými typy bidentátních ligandů (např. *N,N*-, *N,O*- nebo *O,O*-). Tato bakalářská práce se zaměřuje na přípravu látek tohoto typu, přičemž v ní byly použity jednoduché *N,P*-donorové ligandy.

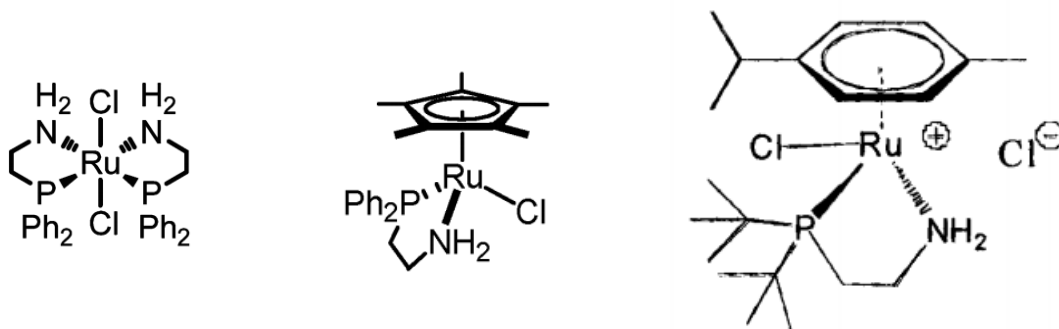
2.3. Komplexy s vybranými *N,P*-donorovými ligandy

Existuje řada koordinačních sloučenin s bidentátními *N,P*-donorovými ligandy, včetně těch, které byly použity v předložené práci. Tyto komplexy pak byly prokázány jako látky vykazující biologickou aktivitu (např. komplexy zlata, nikoli však ruthenia) nebo jako katalyzátory nejrůznějších reakcí (platí i pro komplexy ruthenia).

Komplex $[\text{Ru}(\text{L}1)_2\text{Cl}_2]$ (Obr. 5), kde $\text{L}1 = 2$ -(difenylfosfino)ethylamin, byl již dokumentován s účelem praktického využití v problematice katalýzy, týkající se selektivní přípravy iminů, či amidů dehydrogenační, kopulační reakcí nejrůznějších alkoholů a aminů [23]. Dále komplexy $[\text{Ru}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}1)\text{Cl}]$ (Obr. 5) a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}1)\text{Cl}]^+$ již také byly v literatuře popsány, přičemž první zmíněný nachází své uplatnění v oblasti regioselektivní laktonizace nesymetricky substituovaných 1,4-diolů [24]. Druhý zmíněný komplex je pak možno pozorovat jako součást katalytických reakcí, které nachází své využití v progresivní oblasti biopaliv budoucnosti (viz níže) [25,26].

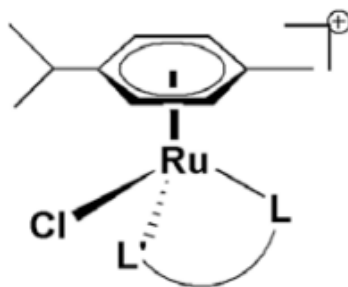
U komplexů $[\text{Ru}(\text{L}2)_2\text{Cl}_2]$ a $[\text{Ru}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}2)\text{Cl}]$, kde $\text{L}2 = 3$ -(difenylfosfino)-1-propylamin, je možné znovu zaznamenat již zdokumentovanou přípravu, přičemž využití je stejné jako v případě analogů s $[\text{Ru}(\text{L}1)_2\text{Cl}_2]$ a $[\text{Ru}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}1)\text{Cl}]$. U komplexů $[\text{Ru}(\text{L}3)_2\text{Cl}_2]$ a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}3)\text{Cl}]^+$ (Obr. 5), kde $\text{L}3 = 2$ -(di-terc-butylfosfino)ethylamin, je možno opět pozorovat katalytické využití, kdy u prvního

nacházíme uplatnění v oblasti achirální hydrogenační katalýzy [27] a o druhém komplexu je pojednáno dále v práci [28].



Obr. 5: Strukturální vzorce komplexů $[\text{Ru}(\text{L}1)_2\text{Cl}_2]$ (vlevo) (převzato z [29]), $[\text{Ru}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{L}1)\text{Cl}]$ (uprostřed) (převzato z [24]) a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}3)\text{Cl}]^+$ (vpravo) (převzato z [26])

V rámci syntézy, prováděné nad rámec této bakalářské práce, byl použit ethylenebis(difenylfosfin) (dppe; L4). Tento ligand byl v literatuře využit v oblasti syntézy biologicky aktivních sloučenin s potenciální protinádorovou aktivitou, například u komplexu $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}4)\text{Cl}]^+$ (Obr. 6), u kterého byla pozorována silná inhibice růstu nádorových buněk [30].

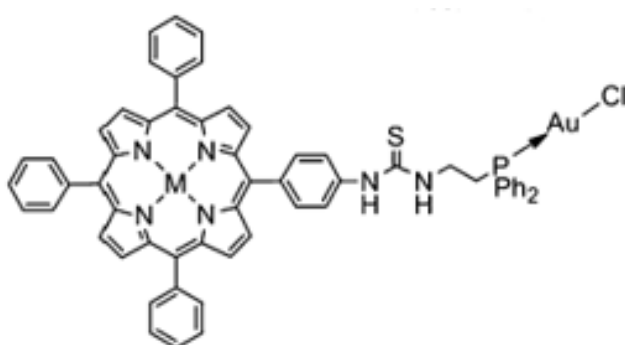


Obr. 6: Strukturální vzorec $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}4)\text{Cl}]^+$ (převzato z [30])

2.3.1. Bioanorganická chemie komplexů s *N,P*-ligandy

Jako první obsáhlejší příklad využití *N,P*-ligandů můžeme uvést chloro komplexy zlata s difenylfosfin-derivovaným porfyrinovým skeletem (Obr. 7). Cytotoxicita těchto sloučenin byla testována na rakovinných buňkách HCT116 a SW480 a jejich účinek byl následně studován fluorescenčním mikroskopem [31]. Tato cytotoxicita byla dramaticky navýšena osvětlením buněk po dobu třiceti minut bílým světlem (možné využití v oblasti fotodynamické terapie, PDT).

Napříč všemi slibnými protinádorovými léčivy patří v poslední dekádě Au^I komplexy mezi sloučeniny s výrazným cytotoxickým potenciálem. Mezi nejznámější patří studium Auranofinu a příslušných derivátů, pro jejich protizánětlivé a protirakovinné vlastnosti. U takovýchto sloučenin zlata stojí za zmínku inovativní mechanismy působení, vzhledem k mechanismům současných protirakovinných sloučenin, což by mohlo napomoci v překonání některých rezistenčních fenoménů. Konkrétně pak u chloro komplexů zlata s difenylfosfin-derivovaným porfyrinovým skeletem je u nově připravených komplexů diskutováno možné využití jak v protinádorové terapii (viz výše) tak i v diagnostice.



Obr. 7: Strukturní vzorec chloro komplexu zlata s difenylfosfin-derivovaným porfyrinovým skeletem (převzato z [31])

Jako další příklad využití *N,P*-ligandů lze uvést syntézu hetero-bimetalových a hetero-trimetalových komplexů, které byly připraveny kombinací různých fragmentů, jak luminiscenčních Re^I částic tak bioaktivních Au^I částic [32]. Spojovacím článkem mezi oběma těmito kovy byl právě ditopický *N,P*-donorový ligand (L), a to jak 2-(difenylfosfino)ethylamin, tak deriváty 2-(difenylfosfino)ethylamidepyridinu, za pomoci kterého byly syntetizovány tři heterobimetalické a tři heterotrimetalické komplexy typu *fac*-[Re(bipy)(CO)₃(L)AuCl]⁺ a [(*fac*-[Re(bipy)(CO)₃(L)])₂Au]³⁺. Při syntéze pak došlo nejdříve k formování Au–L a L–Au–L částic. Ligand se v tomto případě choval jako *P*-donor a touto vazbou se předešlo případné další oxidaci fosfinového atomu. Následně pak byla provedena koordinace na luminiscenční část nesoucí atom ruthenia přes atom dusíku. Míra cytotoxicity v A549 buněčné linii byla u heterotrimetalických druhů téměř dvakrát tak vysoká jako u druhů heterobimetalických (IC₅₀ = 37 vs 69 μM). Předběžné studie dále naznačují, že DNA je

jedním z hlavních cílů těchto léčiv a pasivní difúze se považuje za velmi pravděpodobnou vstupní cestu do buněk u těchto komplexů.

2.3.2. Katalytické využití komplexů s *N,P*-ligandy

Praktické využití *N,P*-ligandů v komplexech ruthenia můžeme zaznamenat také v oblasti katalýzy. Jedná se například o konverzi ethanolu na pokročilé biopalivo *n*-butanol, které vykazuje vysokou selektivitu (≥ 90 %) a uspokojivou míru konverze (až do 31 %) [25]. Formování katalyzátoru této reakce ze směsi $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2]_2$ a 2-(difenylfosfino)ethylaminu se prokázalo zlepšenou aktivitou i v přítomnosti vyšších koncentrací vody. Zisk kapalných paliv z obnovitelných zdrojů v současnosti stále zůstává velmi diskutovanou a důležitou problematikou v oblasti energetických vizí budoucnosti. Bioetanol byl dlouho používán jako udržitelná náhrada konvenčního benzínu, oplývá však oproti benzínu množstvím nedostatků, zejména z hlediska nižší energetické hustoty, tvorby koroze pro aktuální typy používaných motorů a snadné absorpce vody, což následně vede k problémům se separací s ředěním při skladování. Vyšší alkoholy, jako je butanol, pak mají vlastnosti paliv lépe připomínajících benzín a lze u nich pozorovat zmírnění výše zmíněných nežádoucích účinků. *N*-butanol je pak prakticky nekorozivní, nemísitelný s vodou a jeho energetická hustota (≥ 90 %) se v daleko vyšší míře podobá klasickému benzínu. Tyto slibné vlastnosti *n*-butanolu, který nyní spadá do sféry pokročilých biopaliv, vedou k predikcím slibného potenciálu v oblasti případných alternativ klasického benzínu.

Katalýza pomocí sloučenin ruthenia s *N,P*-ligandy se ukázala také jako dosti perspektivní v oblasti dehydrogenace boranu amonného (AB) [28]. Boran amonný, který disponuje dosti vysokým obsahem vodíku (19,6%), je velmi atraktivní z hlediska efektivního, chemického, vodíkového skladování. Zahříváním tohoto boranu v pevné nebo kapalně fázi dochází k uvolnění >1.0 ekvivalentu H_2 v průběhu několika hodin, přičemž komplexy přechodných kovů umožnily průběh této reakce i za mírných podmínek. Při dalším zkoumání mechanismů bylo zjištěno, že katalýza pomocí komplexů ruthenia, které byly původně vyvinuty pro alkoholové redoxní procesy, je schopná vyvolat uvolnění jednoho ekvivalentu H_2 z BA (až do 1.0 hm. % systému) během pěti minut při pokojové teplotě. Jako jeden z katalyzátorů na bázi ruthenia byl použit komplex $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L}3)\text{Cl}]^+$, jehož syntéze se věnuje i tato bakalářská práce. Dále bylo pozorováno rychlé uvolnění dvou ekvivalentů H_2 z vysoce koncentrovaného (11 M) MeAB roztoku při 22 °C, což odpovídá 3,0 hm. % systému. Bylo také zjištěno,

že při použití MeAB/AB směsi při 50 °C jsme schopni dosáhnout zisku 3,6 hm. %. Tato problematika je však stále ve vývoji a podstatnou překážkou v této oblasti zůstává jak nedostatečná míra získaných hm. % H₂ z daného systému, tak proces regenerace AB z odpadních produktů.

2.3.3. Mikrovlnná iradiace jako pomoc při usnadnění syntéz

Při syntéze cytotoxických i katalyticky aktivních komplexů ruthenia je v poslední době možné zcela běžně pozorovat použití mikrovlnné iradiace, běžné především u standardních organických syntéz. Tato technika však nachází také stále širší uplatnění v problematice katalytických reakcí přechodných kovů a postupně začíná být začleňována také do postupů, které se týkají aplikace v organokovové chemii [33]. Bylo zjištěno, že mikrovlnný ohřev může výrazně usnadnit reakce výchozích [Ru(η^6 -ar)Cl₂]₂ komplexů spolu s použitými chelátovými ligandy různého typu. Této skutečnosti bylo využito také v rámci této bakalářské práce, kdy příslušné syntézy byly prováděny v mikrovlnném reaktoru.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Použité chemikálie a přístroje

Použité chemikálie - hydratovaný chlorid ruthenitý ($\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$; 99%), α -terpinen (<95 %), tetrafenylboritan sodný ($\geq 99,5$ %), 2-(difenylfosfino)ethylamin (L1; $\geq 95,0$ %), 3-(difenylfosfino)-1-propylamin (L2; ≥ 90 %), 2-(di-terc-butylfosfino)ethylamin (L3; 10 hm. % v THF), ethylenebis(difenylfosfin) (L4; 97 %). hexafluorofosforečnan amonný (≥ 98 %), hexafluorofosforečnan sodný (≥ 98 %), triflát stříbrný a rozpouštědla methanol a diethylether - byly zakoupeny z komerčních zdrojů (Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fischer Scientific), a byly použity bez dalších úprav.

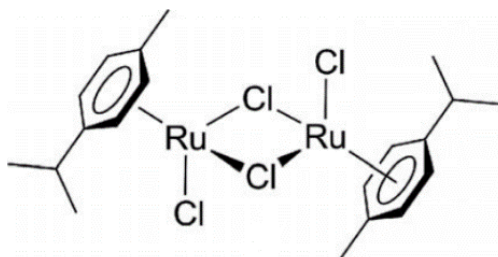
Elementární analýza (C, H, N) byla provedena na přístroji Flash 2000 (Thermo Finnigan). Hmotnostní spektrometrie roztoků studovaných látek byla provedena přístrojem LCQ Fleet (Thermo Scientific) technikou ionizace elektrosprejem v pozitivním (ESI+) módu. Všechna hmotnostní spektra byla interpretována pomocí programu QualBrowser (verze 2.0.7, Thermo Fischer Scientific). ^1H , ^{13}C NMR spektroskopie a ^1H - ^1H gs-COSY, ^1H - ^{13}C gs-HMQC a ^1H - ^{13}C gs-HMBC 2D NMR experimenty byly provedeny na přístroji JOEL JNM-ECA 600II při 600,00 MHz (^1H) a 150,86 MHz (^{13}C); gs = gradient selected, COSY = correlation spectroscopy, HMQC = heteronuclear multiple quantum coherence, HMBC = heteronuclear multile bond coherence. Vzorky pro NMR experimenty byly rozpuštěny v DMSO-*d*₆ a analyzovány při teplotě 300 K. Štěpení signálu v ^1H NMR spektrech je definované jako s = singlet, d = dublet, t = triplet, br = široký signál, m = multiplet. Koordinační posuny byly spočítány jako $\Delta\delta = \delta_{\text{komplex}} - \delta_{\text{ligand}}$. Infračervená spektra byla změřena na přístroji Nexus 670 FT-IR (Thermo Nicolet) rozsahu vlnočtů 400–4000 cm^{-1} za použití techniky ATR.

3.2. Příprava sloučenin

3.2.1. Příprava výchozích Ru^{II} dimerů

$[\text{Ru}(\eta^6\text{-pym})\text{Cl}_2]_2$ (Obr. 8): V rámci prvního kroku byl navážen 1 g $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (odpovídající látkovému množství 4,82 mmol) a následně rozsuspendován ve vialce pro mikrovlnný reaktor v 10 ml methanolu. Do této směsi bylo dále přidáno 1,9 ml α -terpinenu (odpovídající látkovému množství 11,68 mmol), přičemž pak byla vialka vložena do mikrovlnného syntetizátoru, kde byla vystavena reakci po dobu 3 minut při

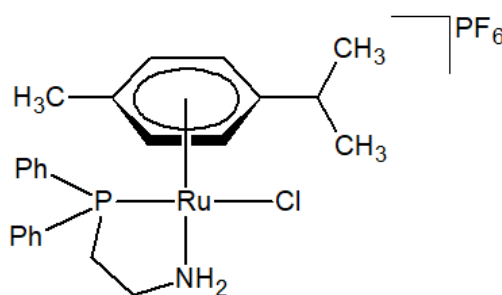
140 °C. Po vytažení ze syntetizátoru bylo možné pozorovat krystalickou látku červené barvy, která byla následně dekantována, odsáta pomocí frity, promyta diethyletherem a ponechána v exsikátoru po dobu 24 hodin. Výtěžnost reakce činí 61 %.



Obr. 8: Strukturální vzorec $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2]_2$ (převzato z [34])

3.2.2. Příprava Ru^{II} komplexů

$[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L1})\text{Cl}]\text{PF}_6$ (1) (Obr. 9): V rámci prvního kroku bylo naváženo 30,6 mg $[\text{Ru}(\text{p-cym})\text{Cl}_2]_2$ (0,05 mmol) a následně rozpuštěno v 10 ml methanolu. Do tohoto roztoku bylo přidáno 34 μl (0,15 mmol) roztoku 2-(difenylfosfino)ethylaminu. Následně probíhala reakce v mikrovlnném syntetizátoru (3 min, 100 °C). Do získaného žluto-oranžového roztoku bylo přidáno 40 mg NaPF_6 (0,24 mmol) a roztok byl míchán po dobu jedné hodiny pomocí magnetické míchačky. Následně byl roztok zahuštěn a pomocí Pasteurovy pipety byl po kapkách přenesen do vialky s 10 ml diethyletheru, přičemž došlo k vytvoření žlutě zbarvené sraženiny, která byla odsáta pomocí frity, promyta diethyletherem a ponechána v exsikátoru po dobu 24 hodin. Výtěžnost byla 33 %.

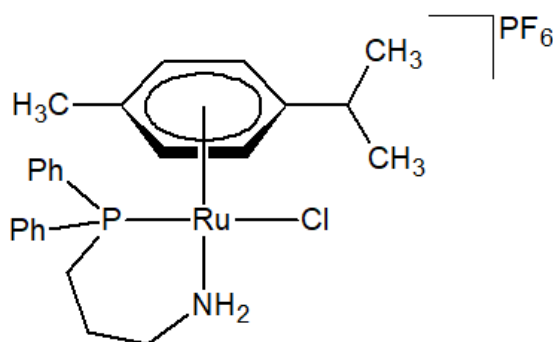


Obr. 9: Strukturální vzorec $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{L1})\text{Cl}]\text{PF}_6$ (1)

Anal. vypočteno pro $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{NPClRuPF}_6$: C, 48,5; H, 4,4; N, 2,0. Nalezeno: C, 48,2; H, 4,0; N, 1,6 %. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ 7,73 (m, 2H, L1), 7,49 (m, 8H, L1), 6,50 (d, 1H, L1), 5,88 (d, 1H, p-cym), 5,81 (d, 1H, p-cym), 5,58 (d, 1H, p-cym), 5,42 (d, 1H, p-cym), 4,37 (bs, 1H, L1), 3,10 (bs, 1H, L1), 2,83 (t, 1H, L1), 2,35 (sep, 1H, p-

cym), 2,50 (1H, L1; překrytý signálem DMSO), 2,10 (m, 1H, L1), 1,77 (s, 3H, p-cym), 1,08 (d, 3H, p-cym), 0,98 (d, 3H, p-cym) ppm. ESI+ MS (MeOH, m/z): 514,0 (vyp. 514,1 pro $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L1})\text{Cl}]^+$; 60 %), 478,1 (vyp. 478,1 pro $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L1})]-\text{H}\}^+$; 100 %). FTIR (ATR, cm^{-1}): 434w, 485w, 527m, 556m, 673w, 696m, 721m, 746w, 812s, 837vs, 817w, 916w, 971w, 999w, 1033w, 1103w, 1141w, 1191w, 1234w, 1277w, 1309w, 1390w, 1410w, 1436w, 1470w, 1500w, 1532w, 1586w, 1614w, 2875w, 2928w, 2966w, 3072w, 3141w, 3212m, 3273w.

$[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{L2})\text{Cl}]\text{PF}_6$ (2) (Obr. 10): Postup probíhal analogicky jako při přípravě komplexu 1, s rozdílem v navázce $[\text{Ru}(\text{p-cym})\text{Cl}_2]_2$ (61,2 mg, 0,1 mmol), objemu 3-(difenylfosfino)propylaminu (61 μl , 0,25 mmol) a použité soli, kterou byla NH_4PF_6 (82 mg, 0,5 mmol). Získaný procentuální výtěžek byl 52 % a produkt měl oranžovo-hnědou barvu.

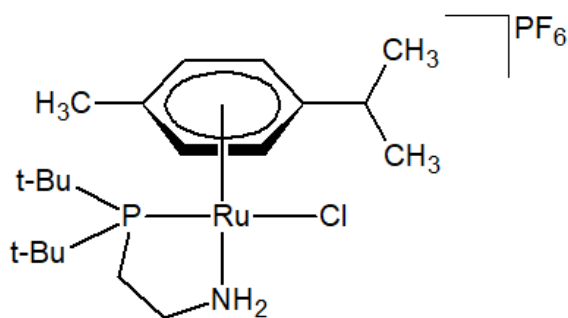


Obr. 10: Strukturální vzorec $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{L2})\text{Cl}]\text{PF}_6$ (2)

Anal. vypočteno pro $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{NPClRuPF}_6$: C, 49,3; H, 4,6; N, 2,0. Nalezeno: C, 49,2; H, 4,1; N, 1,7 %. ^1H NMR (DMSO- d_6): δ 8,85 (m, 10H, L2), 6,03 (d, 1H, L2), 5,97 (d, 1H, p-cym), 5,83 (d, 1H, p-cym), 5,47 (d, 1H, p-cym), 5,40 (d, 1H, p-cym), 4,45 (t, 1H, L2), 2,86 (m, 2H, L2), 2,16 (m, 2H, L2, p-cym), 1,95 (s, 3H, p-cym), 1,87 (m, 1H, L2), 1,59 (m, 1H, L2), 1,25 (m, 1H, L2), 0,83 (d, 3H, p-cym), 0,53 (d, 3H, p-cym) ppm. ^{13}C NMR (DMSO- d_6): 137,8, 133,8, 133,4, 132,5, 131,2, 130,7, 128,9, 128,7, 128,3, 108,4, 99,0, 92,4–92,3, 84,9, 83,8, 65,0, 37,5, 29,6, 23,8–23,4, 22,4–22,2, 21,5, 21,0, 16,9, 15,2 ppm. δ ESI+ MS (MeOH, m/z): 514,0 (vyp. 514,1 pro $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L2})\text{Cl}]^+$; 60 %), 478,1 (vyp. 478,1 pro $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L2})]-\text{H}\}^+$; 100 %). FTIR (ATR, cm^{-1}): 431w, 449w, 468m, 493m, 518m, 553s, 677m, 695s, 744s, 773w, 789vs, 806vs, 835vs, 907w, 988w, 1032w, 1056w, 1071w, 1099w, 1165w, 1184w, 1213w,

1257w, 1328w, 1393m, 1435m, 1467w, 1502w, 1587w, 1610w, 2868w, 2901w, 2962w, 3048w, 3283w, 3324w.

[Ru(η^6 -pcym)(L3)Cl]PF₆ (3) (*Obr. 11*): Postup probíhal jako u komplexů **1** a **2**, avšak bylo naváženo 61,2 mg [Ru(p-cym)Cl₂]₂ (0,1 mmol) a k němu bylo přidáno 47 μ l 2-(di-terc-butylfosfino)ethylaminu (0,25 mmol) a 82 mg NH₄PF₆ (0,5 mmol). Získaný výtěžek oranžového komplexu **3** činil 23 %.

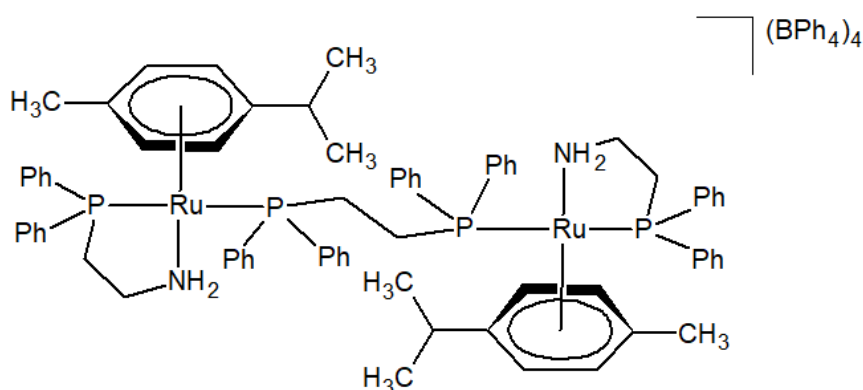


Obr. 11: Strukturální vzorec [Ru(η^6 -p-cym)(L3)Cl]PF₆ (**3**)

Anal. vypočteno pro C₂₀H₃₈NPClRuPF₆: C, 39,7; H, 6,3; N, 2,3. Nalezeno: C, 39,3; H, 5,8; N, 1,9 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 6,26 (d, 1H, p-cym), 6,13 (d, 1H, p-cym), 5,80 (m, 2H, L3), 5,68 (d, 1H, p-cym), 5,34 (d, 1H, p-cym), 4,96 (bs, 1H, L3), 2,73 (m, 2H, L3, p-cym), 2,10 (m, 4H, p-cym, L2), 1,87 (bs, 1H, L3), 1,36 (m, 16H, L3, p-cym), 1,21 (m, 8H, L3) ppm. ESI+ MS (MeOH, *m/z*): 460,1 (vyp. 460,2 pro [Ru(p-cym)(L3)Cl]⁺; 25 %), 424,2 (vyp. 424,2 pro {[Ru(p-cym)(L3)]-H}⁺; 100 %). FTIR (ATR, cm⁻¹): 449w, 485w, 514w, 555s, 600w, 676w, 742w, 809s, 836vs, 879w, 918w, 969w, 1049w, 1102w, 1133w, 1173w, 1200w, 1236w, 1371m, 1405s, 1444m, 1583w, 2868m, 2970m, 3047s, 3140s, 3289w, 3339w.

[Ru₂(μ -dppe)(η^6 -pcym)₂(L1)₂](BPh₄)₄ (4) (*Obr. 12*): V rámci prvního kroku bylo naváženo 64,5 mg komplexu **1** (0,1 mmol), rozpuštěno ve vialce s 10 ml methanolu a přidáno ekvimolární množství triflátu stříbrného (25,7 mg). Vialka se směsí byla následně obalena alobalem a ponechána míchání na magnetické míchačce po dobu 3 hodin. Po uplynutí této doby byl roztok zfiltrován a k filtrátu bylo přidáno 59,76 mg ethylenbis(difenylofosfinu) (dppe; 0,15 mmol). Roztok byl ponechán míchání na magnetické míchačce po dobu 24 hodin. V roztoku bylo po reakci možné pozorovat pozůstatky nezreagovaného dppe, který byl odstraněn filtrací. Filtrát byl následně rozdělen na dvě rovnocenné části a do jedné z nich bylo přidáno 86 mg

tetrafenylboritanu sodného (0,25 mmol), do druhé vialky pak bylo přidáno 41 mg NH_4PF_6 (0,25 mmol). Po 30 minut míchání byl snížen objem rozpouštědla na minimum a přenesen do 10 ml diethyletheru, přičemž došlo ke tvorbě žluté sraženiny, která byla následně odsáta, promyta diethyletherem a ponechána sušení v exsikátoru po dobu 24 hodin. Získaný procentuální výtěžek žlutého komplexu **4** nabýval v tomto případě hodnoty pouze 9 %, komplex $[\text{Ru}_2(\mu\text{-dppe})(\eta^6\text{-pcym})_2(\text{L1})_2](\text{PF}_6)_4$ se vyizolovat nepodařilo.



Obr. 12: Strukturální vzorec $[\text{Ru}_2(\mu\text{-dppe})(\eta^6\text{-pcym})_2(\text{L1})_2](\text{BPh}_4)_4$ (**4**)

Anal. vypočteno pro $\text{C}_{170}\text{H}_{164}\text{N}_2\text{P}_4\text{B}_4\text{Ru}_2$: C, 78,4; H, 6,4; N, 1,1. Nalezeno: C, 78,7; H, 6,2; N, 1,2 %. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ 8,85 (m, 10H, L2), 6,03 (d, 1H, L2), 5,97 (d, 1H, p-cym), 5,83 (d, 1H, p-cym), 5,47 (d, 1H, p-cym), 5,40 (d, 1H, p-cym), 4,45 (t, 1H, L2), 2,86 (m, 2H, L2), 2,16 (m, 2H, L2, p-cym), 1,95 (s, 3H, p-cym), 1,87 (m, 1H, L2), 1,59 (m, 1H, L2), 1,25 (m, 1H, L2), 0,83 (d, 3H, p-cym), 0,53 (d, 3H, p-cym) ppm. δ ESI+ MS (MeOH, m/z): 514,0 (vyp. 514,1 pro $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L2})\text{Cl}]^+$; 60 %), 478,1 (vyp. 478,1 pro $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L2})]\text{-H}\}^+$; 100 %). FTIR (ATR, cm^{-1}): 445m, 477s, 510s, 558m, 611s, 702vs, 736vs, 845m, 916m, 959m, 998m, 1029m, 1066m, 1097m, 1121m, 1151m, 1180m, 1228m, 1264m, 1305w, 1330w, 1388m, 1431s, 1479m, 1578m, 2983m, 3000m, 3053m, 3213w, 3279w.

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

Experimentální část této bakalářské práce je zaměřena na syntézu polosendvičových Ru^{II} komplexů (1–3) se třemi vybranými *N,P*-donorovými ligandy (L1–L3).

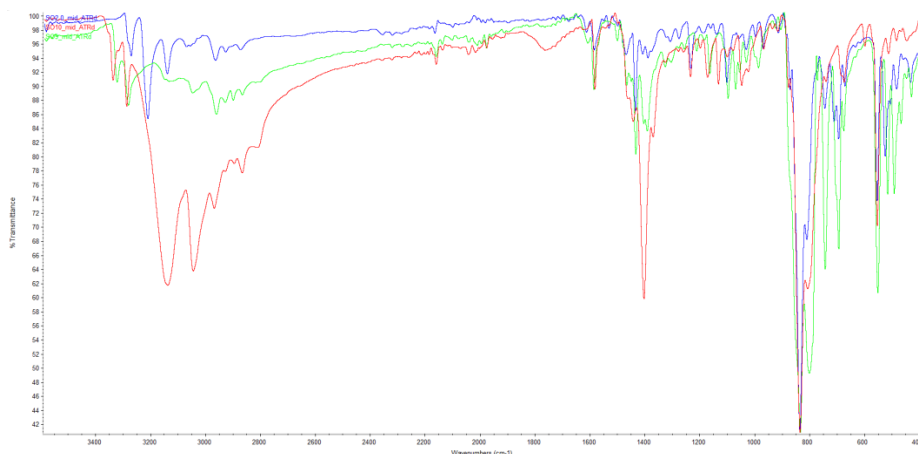
Sloučeniny ruthenia jsou známy značným potenciálem v oblasti protirakovinné léčby. Tento potenciál je však stále, alespoň do určité míry, nenaplněn, a proto i nadále probíhají snahy a přípravu nejrůznějších sloučenin, které by bylo možno efektivně využít při protinádorových terapiích. Tato bakalářská práce navazuje na současný trend syntéz polosendvičových Ru^{II} sloučenin s monodentátně koordinovaným chloro ligandem a bidentátně koordinovaným, nejčastěji *N,N*-, *N,O*-, či *N,S*-donorovým ligandem. Doposud však při syntézách, jež byly zaměřeny na zkoumání biologické aktivity takovýchto komplexů, nebyla použita pro tyto sloučeniny varianta s *N,P*-donorovými ligandy, které však jsou běžnou součástí mnoha katalyticky aktivních komplexů ruthenia.

Cílem experimentální části této bakalářské práce byla syntéza tří jednojaderných komplexních sloučenin ruthenia s variacemi *N,P*-donorových ligandů, konkrétně [Ru(η^6 -pcym)(L1)Cl]PF₆ (**1**), [Ru(η^6 -pcym)(L2)Cl]PF₆ (**2**) a [Ru(η^6 -pcym)(L3)Cl]PF₆ (**3**). Dále pak byla provedena syntéza dvoujaderného komplexu [Ru₂(μ -dppe)(η^6 -pcym)₂(L1)₂](BPh₄)₄ (komplex **4**), ve kterém byla Ru centra spojena pomocí *P,P*-donorového dppe ligandu.

Charakterizace připravených vzorků byla provedena pomocí elementární analýzy, infračervené spektroskopie, hmotnostní spektrometrie a nukleární magnetické rezonance. V rámci elementární analýzy, byl u všech čtyř vzorků rozdíl teoreticky vypočtených a neměřených hodnot $\leq 0,5$ %, což deklaruje požadovanou shodu.

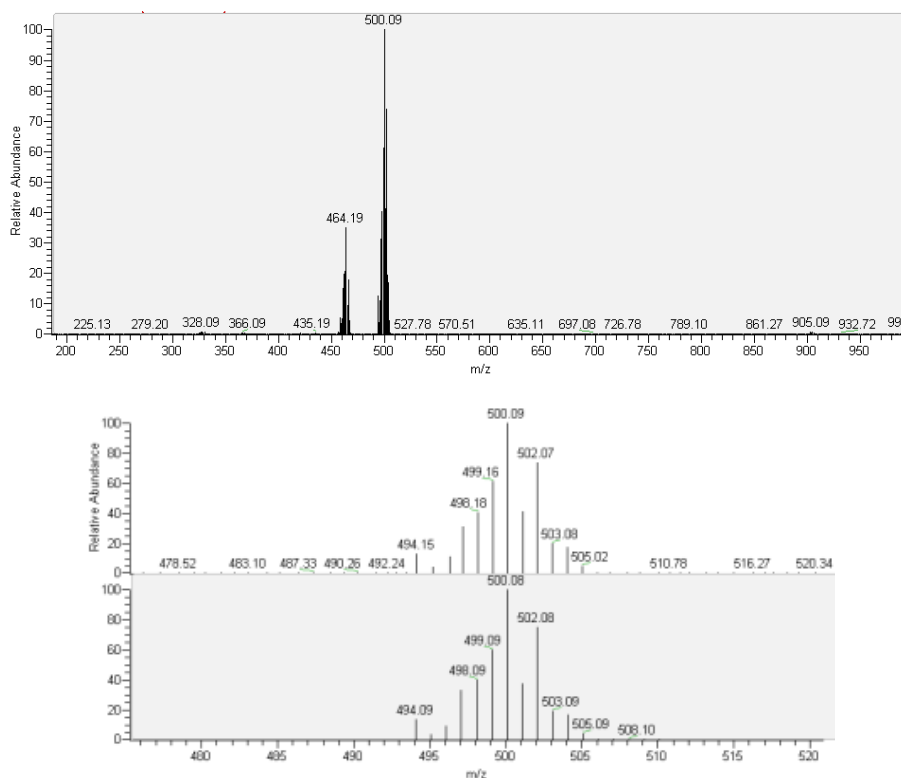
Další technikou, použitou pro charakterizaci produktů byla infračervená spektroskopie (v oblasti 400–4000 cm⁻¹; *Obr. 13*).

Ve spektrech byly detekovány píky charakteristických vibrací $\nu(\text{C-H})_{\text{arom.}}$ pro komplexy (komplex **1** a komplex **2**) a $\nu(\text{C-H})_{\text{aliph.}}$ pro komplex **3**, a to v oblasti 2800–3300 cm⁻¹ a v oblasti 1300–1500 cm⁻¹. Dále byly detekovány minima okolo 830 cm⁻¹ odpovídající vibracím PF₆⁻ iontu.



Obr. 13: Infračervená spektra pro komplexy **1** (modře), **2** (zeleně) a **3** (červeně)

V hmotnostních spektrech (v pozitivním ionizačním módu pro komplexy rozpuštěné v methanolu; Obr. 14) byly detekovány dva hlavní signály, přičemž jeden odpovídal komplexnímu kationtu $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{Ln})\text{Cl}]^+$ připravených komplexů a druhý částici $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{Ln})-\text{H}]^+\}$, která vznikla odštěpením protonu spolu s chloro ligandem z daného komplexu.



Obr. 14: ESI+ hmotnostní spektrum komplexu **1** rozpuštěného v methanolu (nahore) a detail píku částice $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L1})\text{Cl}]^+$ a jejího experimentálního a teoreticky zjištěného izotopového rozložení (dole).

V hmotnostním spektru komplexu **4** byl detekován signál při hodnotě 500,1 m/z, který hodnotou m/z a izotopovým rozložením odpovídá jak $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{L1})\text{Cl}]^+$ tak i částici $[\text{Ru}(\text{dppe})]^+$. Kromě toho byl v hmotnostním spektru komplexu **4** také detekován signál samotného dppe ligandu.

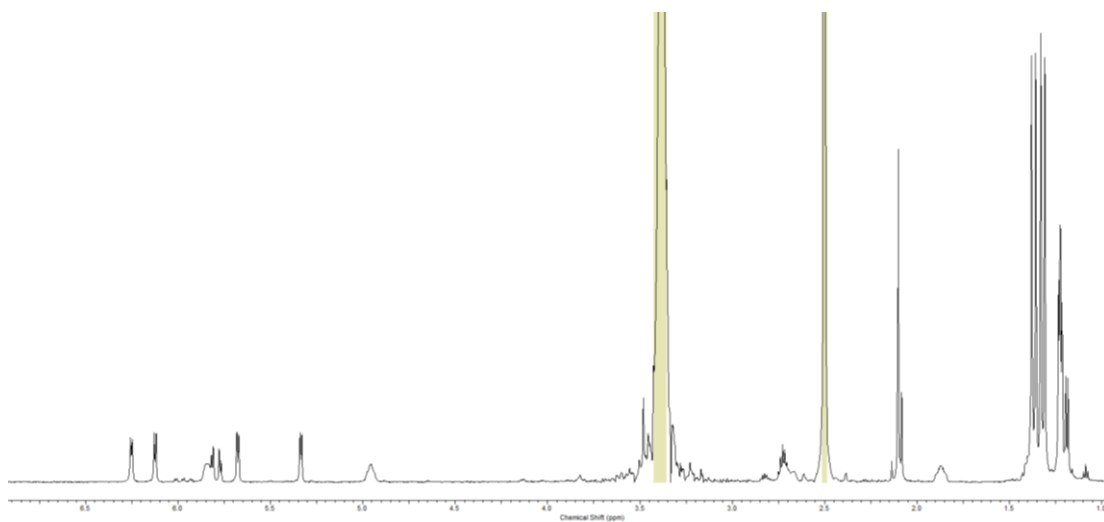
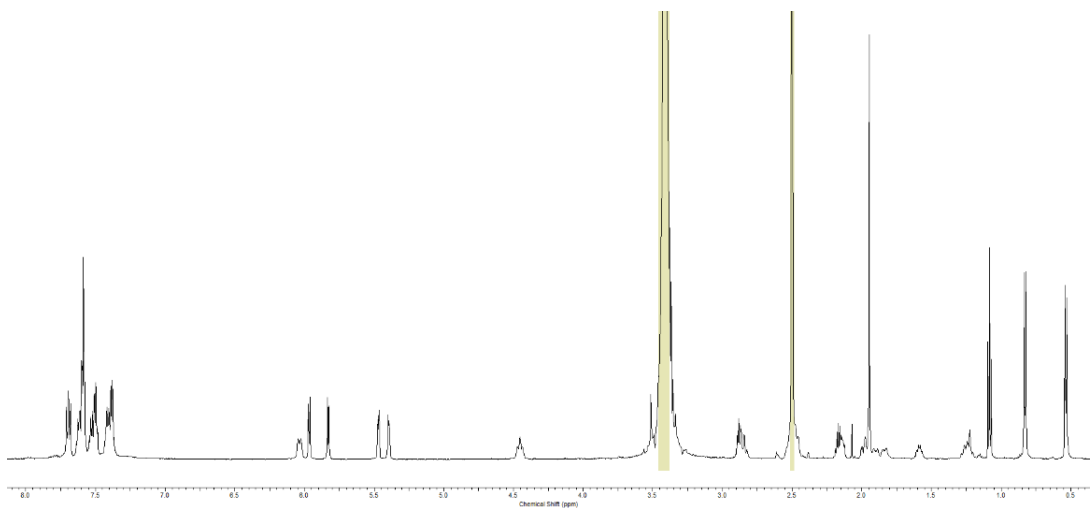
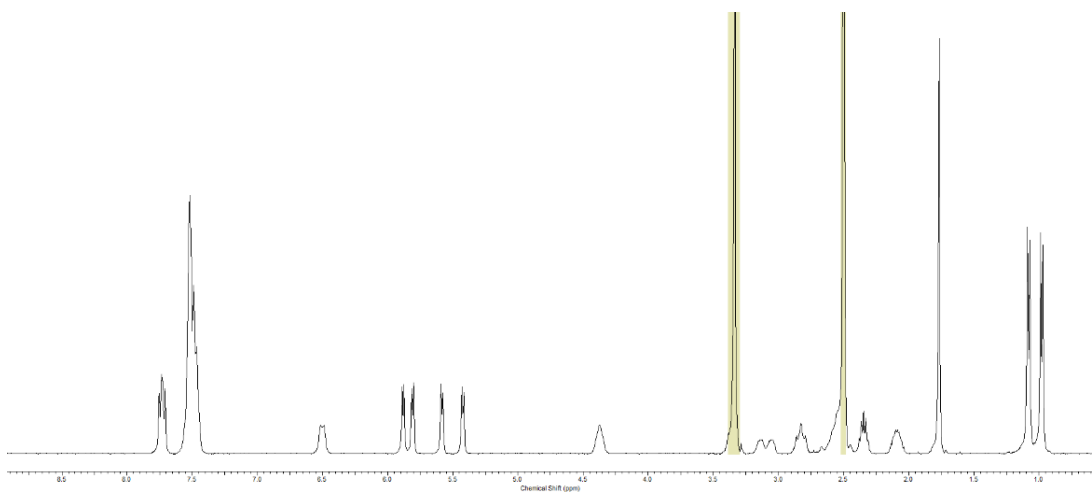
Další technika, která byla použita k charakterizaci produktů byla ^1H NMR spektroskopie. U komplexu **2** byly také provedeny ^{13}C NMR a 2D NMR experimenty. V ^1H NMR spektrech komplexů **1–3** byly detekovány charakteristické signály pcym ligandu, jako jsou signály aromatických vodíků v oblasti 6,3–5,3 ppm. Detekce dvou párů signálů aromatických uhlovodíku pcym ligandu poukazuje na přítomnost dvou forem studovaných komplexů. V ^1H NMR spektrech komplexů **1–3** (*Obr. 15*) byly identifikovány signály ligandů L1–L3.

Komplexy **1** a **2** měly bohatou aromatickou část v oblasti 7,8–7,3 ppm, což je způsobeno přítomností phenylových substituentů v rámci ligandů L1 a L2. U komplexu **3** byl naopak detekován intenzivní signál v alifatické oblasti spektra, který lze přiřadit tert-butylovému substituentu (v oblasti 1,4 – 1,1 ppm).

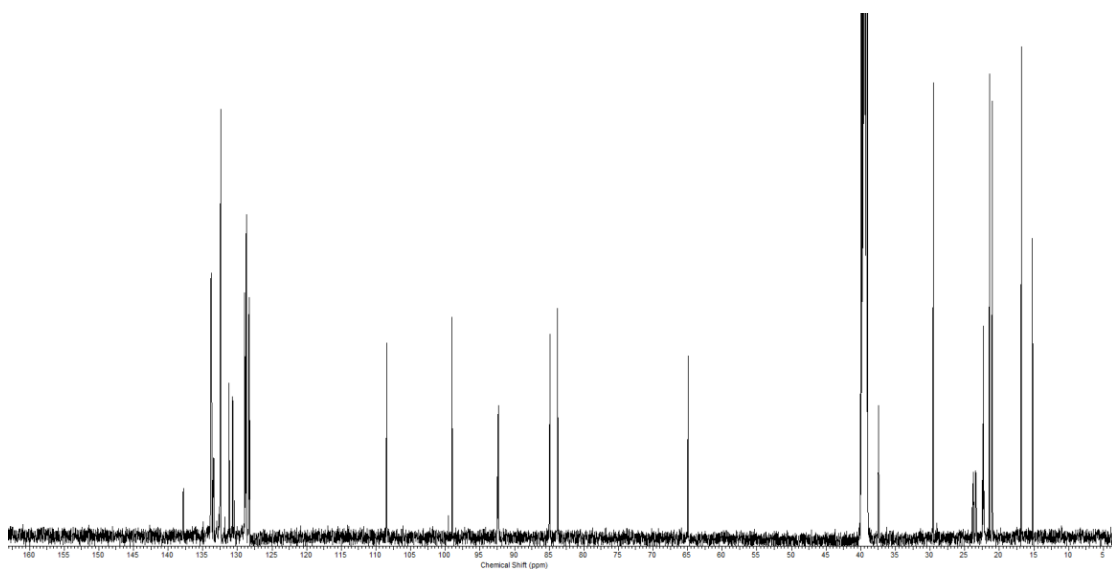
V ^{13}C NMR spektru komplexu **2** (*Obr. 16*) byly detekovány všechny předpokládané signály obou ligandů. Pro tento komplex byly také provedeny analýzy ^1H - ^1H COSY (*Obr. 17*), ^1H - ^{13}C HMQC (*Obr. 18*) a ^1H - ^{13}C HMBC experimenty, jejichž výsledky pomohly k odlišení C–H a N–H signálů vodíků propylenaminové části použitého L2 ligandu.

Triplet detekovaný v ^1H NMR spektru s chemickým posunem 4,45 ppm nebyl například detekován v ^1H - ^{13}C HMQC spektru, což prokazuje, že tento signál náleží N–H vodíku použitého ligandu.

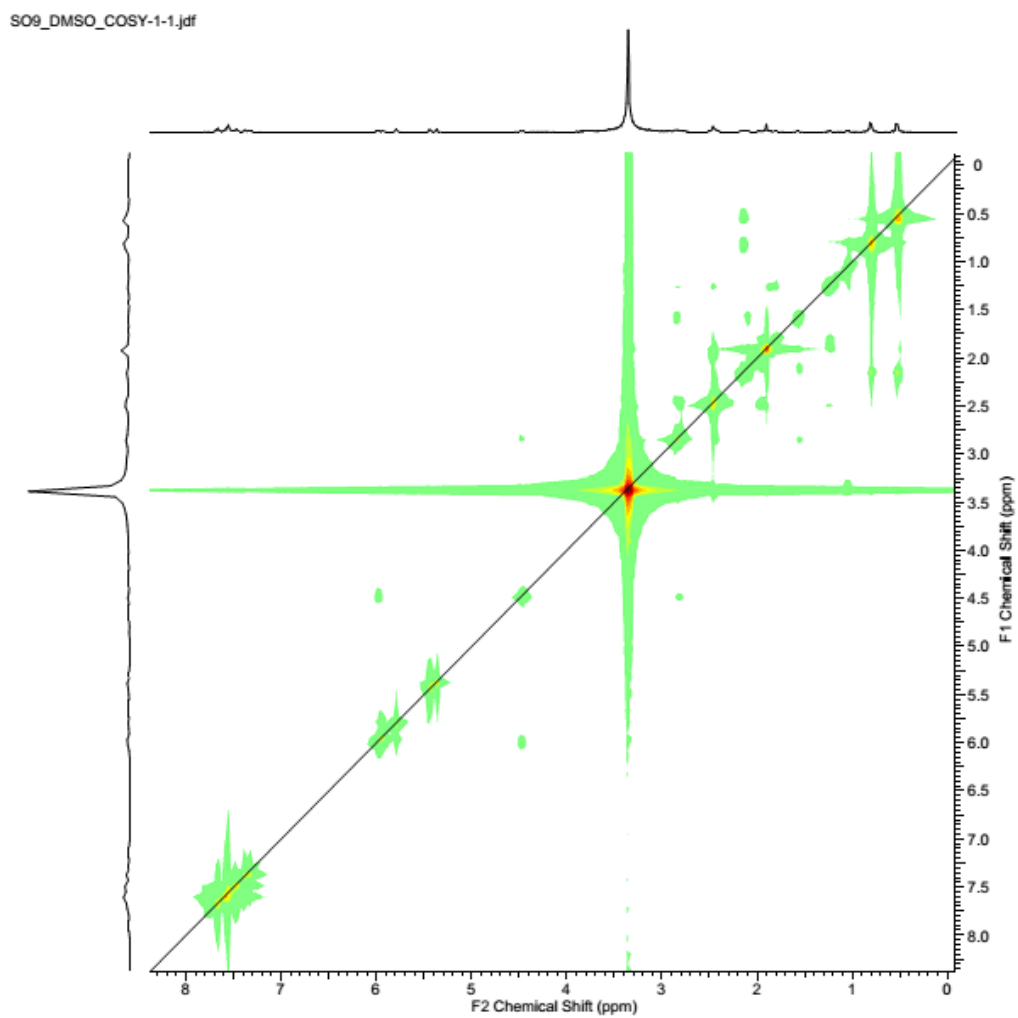
Ve ^{31}P NMR spektru byl detekován jeden signál s chemickým posunem 24,7 ppm.



Obr. 15: ^1H NMR spektra komplexů **1** (nahore), **2** (uprostřed) a **3** (dole); měřeno v DMSO-d_6

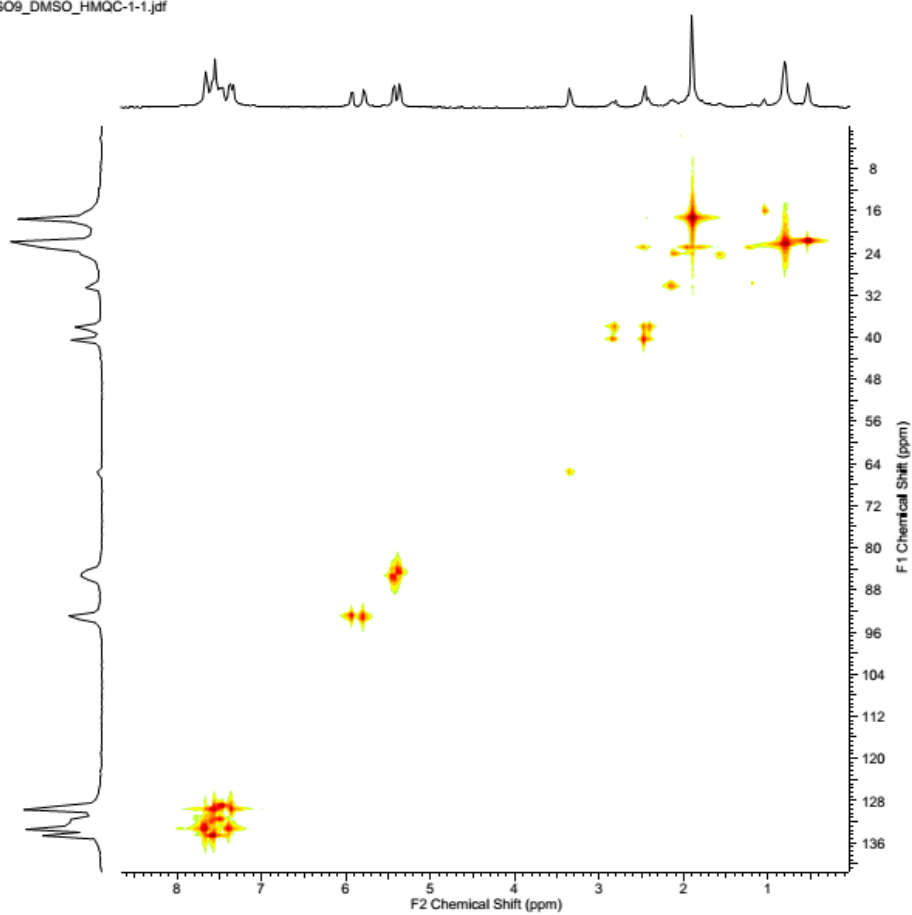


Obr. 16: ^{13}C NMR spektrum komplexu **2** (v DMSO- d_6)



Obr. 17: ^1H - ^1H COSY spektrum komplexu **2** (v DMSO- d_6)

SO9_DMSO_HMQC-1-1.jdf



Obr. 18: ^1H - ^{13}C HMQC spektrum komplexu **2** (v DMSO- d_6)

5. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo vypracování literární rešerše na téma protinádorových komplexů přechodných kovů, s konkrétním zaměřením na protinádorové aktivní komplexy ruthenia. Tyto komplexy oplývají značným potenciálem v oblasti protirakovinné léčby, díky čemuž se také někteří zástupci této třídy sloučenin mohou pyšnit dílčími úspěchy na poli klinických testů. Očekává se však, že léčebný potenciál těchto komplexů je do značné míry stále nenaplněn. V důsledku toho i nadále probíhá poměrně intenzivní snaha o nalezení příslušného léčiva, které by podle očekávání založeného na dosud provedených experimentech, mohlo fungovat jiným mechanismem než dosud zavedená metaloterapeutika a tím by se umožnilo doplnění a zefektivnění současných léčebných terapií [1,4]. Z rešerše také vyplynulo, že Ru^{II} polosendvičové komplexy s *N,P*-donorovými ligandy, jako jsou sloučeniny L1–L3 použité v předložené bakalářské práci, nebyly doposud biologicky charakterizovány.

Experimentální část této bakalářské práce se zabývala přípravou polosendvičových komplexů ruthenia s vybranými *N,P*-donorovými ligandy L1–L3. Byly připraveny komplexy [Ru(η^6 -pcym)(L1)Cl]PF₆ (**1**), [Ru(η^6 -pcym)(L2)Cl]PF₆ (**2**) a [Ru(η^6 -pcym)(L3)Cl]PF₆ (**3**); L1 = 2-(difenylfosfino)ethylamin, L2 = 3-(difenylfosfino)-1-propylamin a L3 = 2-(di-*tert*-butylfosfino)ethylamin. Komplex **1** byl následně využit pro pokus o syntézu dimerního komplexu [Ru₂(μ -dppe)(η^6 -pcym)₂(L1)₂](BPh₄)₄ (**4**; dppe = ethylenbis(difenylfosfin), který byl proveden nad rámec této bakalářské práce. U všech produktů byla provedena charakterizace s využitím elementární analýzy, infračervené spektroskopie, hmotnostní spektrometrie a ¹H a ¹³C nukleární magnetické rezonance (včetně 2D experimentů).

6. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Meier-Menches, S. M., et al. "Structure–activity relationships for ruthenium and osmium anticancer agents–towards clinical development." *Chem. Soc. Rev.*(2018): 909-928.
- [2] Klikorka, J., B. Hájek, and J. Votinský. "Obecná a anorganická chemie, 1989." 564-565.
- [3] Kameníček, J. *Anorganická chemie*. 4. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009. ISBN 978-80-244-2387-6.
- [4] Thota, S., et al. "Ru (II) Compounds: Next-Generation Anticancer Metallotherapeutics?." (2018).
- [5] Trondl, R., et al. "NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application." *Chem. Sci.* 5.8 (2014): 2925-2932.
- [6] Zeng, L., et al. "The development of anticancer ruthenium (II) complexes: from single molecule compounds to nanomaterials." *Chem. Soc. Rev.* 46.19 (2017): 5771-5804.
- [7] Kapitza, S., et al. "Heterocyclic complexes of ruthenium (III) induce apoptosis in colorectal carcinoma cells." *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 131.2 (2005): 101-110.
- [8] Hartinger, C. G., et al. "KP1019, a new redox-active anticancer agent–Preclinical development and results of a clinical phase I study in tumor patients." *Chem. Biodivers.* 5.10 (2008): 2140-2155.
- [9] Lentz, F., et al. "Pharmacokinetics of a novel anticancer ruthenium complex (KP1019, FFC14A) in a phase I dose-escalation study." *Anti-cancer Drugs* 20.2 (2009): 97-103.
- [10] Pieper, T., and B. K. Keppler. "Tumor-inhibiting ruthenium complexes-formulation and analytical characterization." *Analisis* 26.6 (1998): 84-90.
- [11] Flocke, L. S., et al. "Molecular mode of action of NKP-1339—a clinically investigated ruthenium-based drug—involves ER-and ROS-related effects in colon carcinoma cell lines." *Invest. New Drugs* 34.3 (2016): 261-268.
- [12] Heffeter, P., et al. "The ruthenium compound KP1339 potentiates the anticancer activity of sorafenib in vitro and in vivo." *Eur. J. Cancer* 49.15 (2013): 3366-3375.
- [13] Alessio, E.. "Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective." *Eur. J. Inorg. Chem.* 2017.12 (2017): 1549-1560.

- [14] Rademaker-Lakhai, J. M., et al. "A phase I and pharmacological study with imidazolium-trans-DMSO-imidazole-tetrachlororuthenate, a novel ruthenium anticancer agent." *Clin. Cancer Res.* 10.11 (2004): 3717-3727.
- [15] Leijen, S., et al. "Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy." *Invest. New Drugs* 33.1 (2015): 201-214.
- [16] Velders, A. H., et al. "Strong differences in the in vitro cytotoxicity of three isomeric dichlorobis (2-phenylazopyridine) ruthenium (II) complexes." *Inorg. Chem.* 39.14 (2000): 2966-2967.
- [17] Yan, Y. K., et al. "Organometallic chemistry, biology and medicine: ruthenium arene anticancer complexes." *Chem. Commun.* 38 (2005): 4764-4776.
- [18] Medici, S., et al. "Noble metals in medicine: Latest advances." *Coord. Chem. Rev.* 284 (2015): 329-350.
- [19] Murray, B. S., et al. "The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors." *Coord. Chem. Rev.* 306 (2016): 86-114.
- [20] Scolaro, C., et al. "In vitro and in vivo evaluation of ruthenium (II)- arene PTA complexes." *J. Med. Chem.* 48.12 (2005): 4161-4171.
- [21] Bergamo, A., et al. "Modulation of the metastatic progression of breast cancer with an organometallic ruthenium compound." *Int. J. Oncol.* 33.6 (2008): 1281-1289.
- [22] Weiss, A., et al. "In vivo anti-tumor activity of the organometallic ruthenium (II)-arene complex [Ru (η 6-p-cymene) Cl₂ (pta)](RAPTA-C) in human ovarian and colorectal carcinomas." *Chem. Sci.* 5.12 (2014): 4742-4748.
- [23] Higuchi, T., et al. "Tunable Ligand Effects on Ruthenium Catalyst Activity for Selectively Preparing Imines or Amides by Dehydrogenative Coupling Reactions of Alcohols and Amines." *Chem. Eur. J.* (2017).
- [24] Ito, M., Akira, S., and Takao, I. "Regioselective lactonization of unsymmetrical 1, 4-diols: an efficient access to lactone lignans." *Chem. Commun.* 47.7 (2011): 2134-2136.
- [25] Wingad, R. L., et al. "Catalytic conversion of ethanol to n-butanol using ruthenium P-N ligand complexes." *ACS Cat.* 5.10 (2015): 5822-5826.
- [26] Chen, X., et al. "Ruthenium catalysts for catalytic hydrogenation." U.S. Patent No. 7,772,445. 10 Aug. 2010.
- [27] Milo, A., and Ronny, N. "Achiral ruthenium catalyst encapsulated in titanium phosphonate homochiral peptide-based solids for enantioselective hydrogenation of ketones to secondary alcohols." *ACS Catalysis* 2.12 (2012): 2531-2536.

- [28] Blaquiere, N., et al. "Ruthenium-catalyzed dehydrogenation of ammonia boranes." *J. Am. Chem. Soc.* 130.43 (2008): 14034-14035.
- [29] Spasyuk, D., Cristian, V., and Dmitry, G., G. "Chemoselective Hydrogenation of Carbonyl Compounds and Acceptorless Dehydrogenative Coupling of Alcohols." *J. Am. Chem. Soc.* 137.11 (2015): 3743-3746.
- [30] Das, S., et al. "Cytotoxicity of half sandwich ruthenium (II) complexes with strong hydrogen bond acceptor ligands and their mechanism of action." *J. Inorg. Biochem.* 104.2 (2010): 93-104.
- [31] Tasan, S., et al. "Gold–phosphine–porphyrin as potential metal-based theranostics." *JBIC J. B. Inorg. Chem.* 20.1 (2015): 143-154.
- [32] Luengo, A., et al. "Trackable Metallodrugs Combining Luminescent Re (I) and Bioactive Au (I) Fragments." *Inorg. Chem.* 56.24 (2017): 15159-15170.
- [33] Albrecht, C., et al. "Microwave-Assisted Organometallic Syntheses: Formation of Dinuclear [(Arene) Ru (μ -Cl) 3RuCl (L–L')] Complexes (L–L': Chelate Ligands with P-, N-, or S-Donor Atoms) by Displacement of Arene π Ligands." *Eur. J. Inorg. Chem.* 2009.8 (2009): 1003-1010.
- [34] Tönnemann, J., et al. "Efficient and Rapid Synthesis of Chlorido-Bridged Half-Sandwich Complexes of Ruthenium, Rhodium, and Iridium by Microwave Heating." *Eur. J. Inorg. Chem.* 2013.26 (2013): 4558-4562.