

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie



Václav Ráliš

Příprava rutheniových komplexů obsahujících deriváty ibuprofenu

Preparation of ruthenium complexes bearing ibuprofene derivatives

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. RNDr. Petr Štěpnička, Ph.D., DSc.

Konzultant: Mgr. Jiří Pinkas, Ph.D

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 14. června 2021

Václav Ráliš

Podpis:

Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat všem členům skupiny molekulární elektrochemie a katalýzy Dr. Michala Horáčka za poskytnutí příjemného pracovního prostředí. Jmenovitě bych chtěl poděkovat především svému konzultantovi Dr. Jiřímu Pinkasovi za neobyčejnou trpělivost a ty nejlepší rady. Také bych rád poděkoval prof. Petru Štěpničkovi za zaštitění bakalářské práce na Přírodovědecké Fakultě Univerzity Karlovy.

V neposlední řadě patří můj velký dík pracovníkům, kteří se podíleli na charakterizaci připravených látek. Chtěl bych takto poděkovat doc. Róbertu Gyepesovi za strukturní analýzu a Dr. Jiřímu Kubištovi za hmotnostní spektrometrii.

Vznik práce byl podpořen interním grantem Ústavu Fyzikální Chemie Jaroslava Heyrovského Akademie Věd České Republiky (číslo grantu: 993621).

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie

Autor: Václav Ráliš

Vedoucí práce: prof. RNDr. Petr Štěpnička, Ph.D., DSc.

Konzultant: Mgr. Jiří Pinkas, Ph.D

Název bakalářské práce: Příprava ruthenioých komplexů obsahujících deriváty ibuprofenu

Cp* arenové komplexy ruthenia s obecným vzorcem $[(\eta^6\text{-aren})\text{RuCp}^*]\text{X}$ (kde Cp* je pentamethylcyklopentadienyl a X je anion ve vnější koordinační sféře) se v poslední době staly předmětem vývoje nových protinádorových léčiv. Cílem této práce byla příprava dvou komplexů, které ve své struktuře zahrnují ibuprofen (ve formě racemické směsi). Byly zvoleny dva syntetické postupy k navázání ibuprofenu, jednak přímo η^6 -vazbou a dále esterovou vazbou na komplex $[(\eta^6\text{-BnOH})\text{RuCp}^*]\text{Cl}$ (**3**), kde Bn znamená benzyl.

Byl připraven komplex $[(\eta^6\text{-ibuprofen})\text{RuCp}^*]\text{PF}_6$ (**1HPF₆**). U zwitteriontové formy tohoto komplexu $[(\eta^6\text{-ibuprofen}^-)\text{RuCp}^*]$ (**1**) byla zaznamenána nečekaná dekarboxylace za vzniku komplexu $[(\eta^6\text{-1-ethyl-4-isobutylbenzen})\text{RuCp}^*]\text{HCO}_3$ (**2**), která dle našich nejlepších znalostí, nebyla pro tento typ látek zatím popsána. Komplex $[(\eta^6\text{-BnOibuprofen})\text{RuCp}^*]\text{Cl}$ (**4**) byl připraven reakcí acylchloridu ibuprofenu s komplexem **3**.

Připravené látky byly charakterizovány ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR, IR spektroskopii, ESI-MS⁺ a body tání. Molekulová struktura látky **3**·H₂O byla stanovena pomocí rentgenové difrakční analýzy.

Klíčová slova: rutheniové komplexy, biologicky aktivní látky, ibuprofen

Charles University in Prague

Faculty of Science

Department of inorganic chemistry

Author: Václav Ráliš

Supervisor: prof. RNDr. Petr Štěpnička, Ph.D., DSc.

Consultant: Mgr. Jiří Pinkas, Ph.D

Title: Preparation of ruthenium complexes bearing ibuprofene derivatives

Cp* arene complexes of ruthenium with the general formula $[(\eta^6\text{-arene})\text{RuCp}^*]\text{X}$ (where Cp* is pentamethylcyclopentadienyl and X is an anion in the outer sphere) have recently been the subject of the development of new anticancer drugs. The aim of this thesis was to prepare two new compounds bearing ibuprofen (ibuprofen as a racemic mixture). Two synthetic procedures were chosen for the attachment of ibuprofen, by η^6 -bond and also by ester bond to the complex $[(\eta^6\text{-BnOH})\text{RuCp}^*]\text{Cl}$ (**3**), where Bn is benzyl.

The complex $[(\eta^6\text{-ibuprofen})\text{RuCp}^*]\text{PF}_6$ (**1HPF₆**) was prepared. The zwitterionic form of this complex $[(\eta^6\text{-ibuprofen}^-)\text{RuCp}^*]$ (**1**) showed unexpected decarboxylation, yielding the complex $[(\eta^6\text{-1-ethyl-4-isobutylbenzene})\text{RuCp}^*]\text{HCO}_3$ (**2**). To the best of our knowledge this kind of reaction has never been described before for this type of compounds. The complex $[(\eta^6\text{-BnOibuprofen})\text{RuCp}^*]\text{Cl}$ (**4**) was prepared by reacting ibuprofen acyl chloride with the complex **3**.

Prepared complexes were characterized via ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR, IR spectroscopy, ESI-MS⁺ and melting points. The molecular structure of **3·H₂O** was determined by X-ray diffraction analysis.

Keywords: ruthenium complexes, active pharmaceutical ingredients, ibuprofen

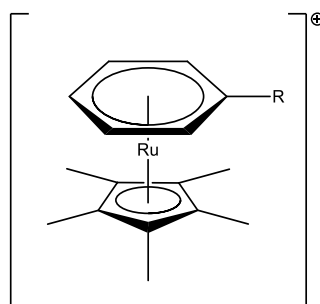
Obsah

1	Úvod a cíl práce.....	8
1.1	Metalofarmaka v onkologii.....	8
1.1.1	Platinová cytostatika.....	8
1.1.2	Rutheniové komplexy v klinické fázi testování	10
1.1.3	Piano stool komplexy ruthenia	11
1.1.4	Sendvičové Cp* arenové komplexy ruthenia	12
1.1.5	Komplexy ruthenia s NSAID	14
1.2	Obecné vlastnosti Cp* arenových komplexů ruthenia.....	15
1.2.1	Nukleofilní aromatická substituce	16
1.2.2	Snížení pK _a koordinovaných aromatických kyselin.....	16
1.2.3	Benzylová deprotonace a stabilizace záporného náboje.....	17
1.3	Metody přípravy Cp* arenových komplexů ruthenia	20
1.4	Cíle práce	23
1.4.1	Schéma nově připravených látek.....	24
2	Výsledky a diskuze.....	24
2.1	Příprava a izolace látek – komplexy s η^6 deriváty ibuprofenu	24
2.1.1	Příprava komplexu 1EtCl	25
2.1.2	Příprava komplexu 1	26
2.1.3	Příprava 1HPF₆	26
2.1.4	Vznik komplexu 2 a 2X	28
2.2	Příprava a izolace látek – připojení ibuprofenu pomocí esterové vazby	28
2.2.1	Příprava komplexu 3	29
2.2.2	Příprava komplexu 4	30
2.3	Dekarboxylace komplexu 1	31
2.4	Izolace připravených látek	33
2.5	Extrakce ibuprofenu z tablet	34
2.5.1	Bazická extrakce.....	34
2.5.2	Extrakce ethylacetátem.....	34
2.6	MS ESI.....	35
2.7	NMR spektroskopie	36
2.7.1	¹ H NMR.....	36
2.7.2	¹³ C{ ¹ H} NMR.....	38
2.7.3	NOESY.....	40
2.7.4	gHMBC	41

2.8	Infračervená spektroskopie	42
2.9	Rentgenová strukturní analýza.....	43
3	Závěr.....	44
4	Experimentální část	45
4.1	Obecná část	45
4.1.1	Použité chemikálie a rozpouštědla	45
4.1.2	Využité analytické metody	45
4.1.3	Metoda separace látek DCVC	46
4.2	Syntetická část	47
4.2.1	Extrakce ibuprofenu z tablet.....	47
4.2.2	Příprava komplexu 1EtCl	48
4.2.3	Příprava komplexu 1	49
4.2.4	Příprava komplexu 1HPF₆	51
4.2.5	Vznik komplexu 2	52
4.2.6	Vznik komplexu 2X	52
4.2.7	Příprava komplexu 3	53
4.2.8	Příprava komplexu 4	54
4.2.9	Rentgenová strukturní analýza	56
5	Použité zkratky	57
6	Literatura	58

1 Úvod a cíl práce

Tato bakalářská práce se zabývá syntézou a charakterizací kationových komplexů ruthenia s potenciálním využitím v terapii onkologických onemocnění. Obecný vzorec připravených látek je $[(\eta^6\text{-aren})\text{RuCp}^*]^+$, přičemž jejich struktura určitým způsobem zahrnuje ibuprofen (obr. 1). Motivací pro výzkum nových protinádorových léčiv jsou především nežádoucí vedlejší účinky stávajících cytostatik a rozvoj rezistence nádorových buněk.



Obrázek 1. Obecná struktura komplexů, kterými se tato práce zabývá.

1.1 Metalofarmaka v onkologii

Onkologická onemocnění jsou jednou z nejčastějších příčin úmrtí v západním světě. Nádorové bujení je důsledkem deregulované buněčné proliferace. Látky, jejichž účinkem je spuštění apoptózy (programované buněčné smrti), jsou schopny tuto deregulovanou proliferaci zastavit. Na tomto principu jsou založena například platinová cytostatika. Na smrtelnosti se významně podílí tvorba metastáz, která jsou častější příčinou úmrtí než samotný primární tumor. Metastáza je v podstatě druhotné ložisko rakovinné buňky, které se oddělilo od primárního ložiska a šíří se např. lymfatickým či krevním systémem po organismu.

V poslední době se vývoj ubíral také k novým látkám, které jsou schopné inhibovat vznik metastáz. Tyto látky se nazývají migrastatika. Migrastatické účinky byly zaznamenány mimo jiné u některých ruthenioých metalofarmak, kterým je také věnována tato kapitola.

1.1.1 Platinová cytostatika

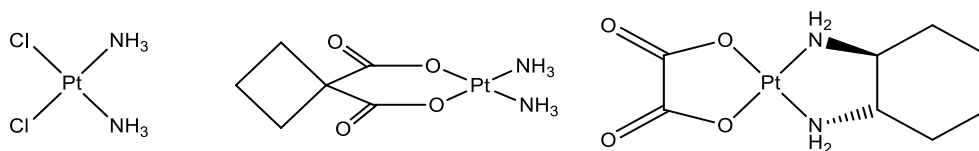
Z metalofarmak, které jsou v České republice schválené pro užití při terapii onkologických onemocnění, je patrně nejznámější cisplatina. Ta po hydrolýze chloridových ligandů v intracelulárním prostředí tvoří adukty s DNA, které blokují její transkripci či replikaci. To ovlivní řadu signálních drah v buňce, a nakonec způsobí buněčnou smrt.

Nežádoucí účinky cisplatiny, jako např. nauzea, zvracení, neurotoxicita a nefrotoxicita, vedly vývoji karboplatiny, ve které jsou chloridové ligandy nahrazeny anionem kyseliny cyklobutan-1,1-dikarboxylové. Vycházelo se totiž z předpokladu, že toxicita dané látky přímo závisí na rychlosti hydrolyzy odstupující skupiny.^[1,2] Karboplatina vykazuje nižší nefrotoxicitu a neurotoxicitu, ovšem za cenu vyšší myelotoxicity. Nicméně vzhledem k tomu, že hydrolytické produkty a následně i adukty s DNA jsou v obou případech zmíněných cytostatik stejné, nebyl vyřešen problém rezistence rakovinných buněk.

Zkřížená rezistence cisplatiny a karboplatiny vedla k vývoji oxaliplatiny (obr. 2). Po hydrolytickém odštěpení oxalátové skupiny zůstává na platině koordinovaný cyklohexan-1,2-diamin (na rozdíl od dvou NH₃ skupin v případě dříve zmíněných látek, dále jen jako DACH), což vede ke tvorbě rozdílných aduktů.

U cisplatiny převažuje jako dominantní adukt (až v 65 %) 1,2-GG vnitrořetězcový můstek, tedy spojení dvou sousedních guaninů prostřednictvím (NH₃)₂Pt²⁺ můstku navázaného na jejich N7 dusících.^[1,3] Stejným způsobem se na dvojici guaninů váže oxaliplatina, nicméně DACH ligand ovlivňuje ohnutí dvoušroubovice jinak než dvě NH₃ skupiny, rovněž tak i tvorbu vodíkových můstků. Adukt oxaliplatiny s DNA tvoří vodíkovou vazbu mezi NH₂ skupinou DACH ligandu a kyslíkem navázaném na C6 uhlíku guaninu.^[3,4] Nicméně k této interakci dochází jen v případě, že se jedná o biologicky aktivní *R,R*-isomer oxaliplatiny, ne neaktivní *S,S*-izomer.^[3] Oxaliplatina nachází své využití v případě onkologických onemocnění na které léčba cisplatinou a karboplatinou nezabírá (např. kolorektální karcinom).^[1,2]

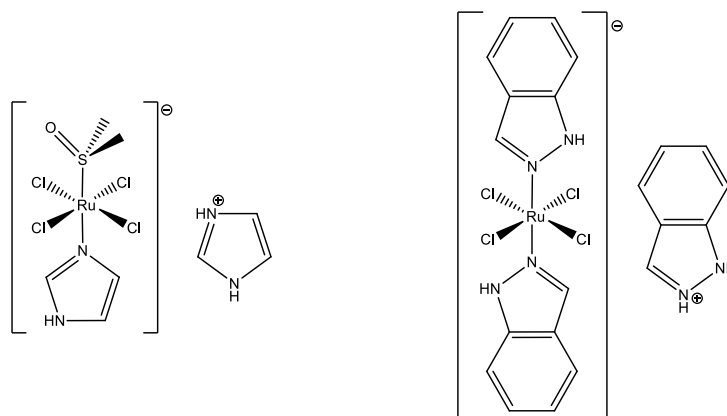
Platinová cytostatika strukturně odvozená od cisplatiny prošla dalším vývojem, v rámci jednotlivých států byli povoleny k užití další látky (Japonsko – nedaplatina, Jižní Korea – heptaplatina), nicméně pouze tyto tři látky se dočkaly globálního schválení (obr. 2).



Obrázek 2. Zleva: cisplatina, karboplatina, oxaliplatina.

1.1.2 Rutheniové komplexy v klinické fázi testování

Po úspěchu platinových látek vývoj směřoval také k sloučeninám ruthenia. Dva komplexy se dokonce dostaly do klinického testování.^[5-8] Šlo o tzv. KP1019 s cytostatickým účinkem a NAMI-A, který vykazoval spíše anti-metastatické vlastnosti (obr. 3). Nicméně NAMI-A se v 2. fázi klinického testování neukázal jako příliš efektivní.^[5] KP1019 zatím prošel 1. fází klinického testování.^[6]



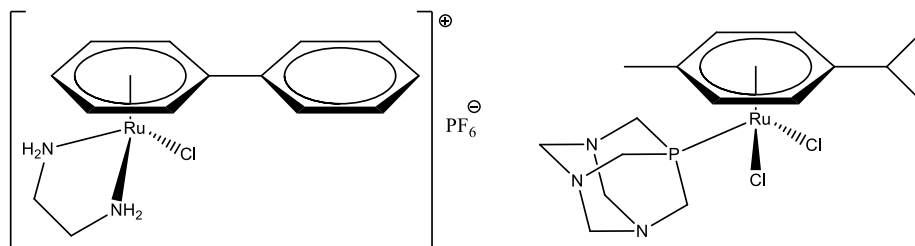
Obrázek 3. Zleva NAMI-A, KP1019.

Přesný mechanismus účinku NAMI-A není znám, nicméně zřejmě se podstatně liší od již zmíněných čtvercově planárních komplexů platiny. Na rozdíl od platinových látek, kde významná je především tvorba aduktů s DNA, účinek NAMI-A se přisuzuje spíše jeho účinkům na extracelulární cíle.^[8,9] NAMI-A ochotně reaguje s biomolekulami, jde např. o nahrazení koordinovaného imidazolu za histidinový imidazol na proteinech.^[9] Schopnost interagovat s membránovými proteiny rakovinné buňky a některými proteiny v extracelulárním matrixu vede ke snížení mobility maligní buňky, a tedy inhibice metastáze.^[9]

KP1019 (obrázek 3. vzorec napravo) je špatně rozpustná ve vodě, zdokonalení vedlo k NKP1339, což je sodná sůl KP1019 (sodný kation namísto kationu indazolu). Buněčná absorpce je v tomto případě významnější než u NAMI-A a již zmíněný cytostatický účinek je přisuzován redoxní aktivitě komplexu v rakovinných buňkách.^[8,10] Intracelulární koncentrace reaktivních forem kyslíku (jako např. superoxidový radikál, hydroxylový radikál, dále jen jako ROS) je vyšší v rakovinných buňkách a předpokládá se, že jsou více náchylné k jejich dalším výkyvům.^[8] K tomu může docházet vlivem NPK1339, který intracelulární koncentraci ROS zvyšuje.^[10] Zvýšená koncentrace ROS může např. způsobit poškození mitochondrií, nebo působit na p38 MAP kinázy – enzymy, které se účastní mnoha buněčných pochodů a které mohou indukovat buněčnou smrt, apoptózu.^[11] Nicméně nutno poznamenat, že zde není experimentální důkaz toho, že taková redukce probíhá *in vivo*.^[9]

1.1.3 „Piano stool“ komplexy ruthenia

Z komplexů ruthenia s η^6 -koordinovanými areny stojí za zmínku komplex RM175, tedy $[\text{Ru}(\eta^6\text{-bifenyl})\text{Cl}(\text{en})]\text{PF}_6$ (obr. 4). Monodentátně koordinovaný chlorid podléhá hydrolyze podobně jako chloridové ligandy cisplatiny.



Obrázek 4. Zleva RM175, RAPTA-C.

Nicméně adukty RM175 s DNA se zcela pochopitelně podstatně liší od těch s cisplatinou. V případě RM175 je možná interakce s DNA prostřednictvím vazby na N7 guaninu přes centrální ruthenium a zároveň hydrofobní interakce koordinovaného bifenylu s nukleovými bázemi.^[8,12] Koordinovaný bifenyl podléhá rotaci a poskytuje komplexu jistou konformační flexibilitu. To umožňuje RM175 se nejdříve interkalovat mezi nukleové báze a následně se navázat na N7 guaninu a výsledný komplex je tak více odolný vůči opravným mechanismům než platinovaná DNA.^[8] RM175 je také aktivní vůči rakovinným buňkám rezistentních na cisplatinu.^[7]

Další významný „stoličkový“ komplex je RAPTA-C (obr. 4). Podobně jako v předchozím případě působí η^6 koordinovaný aren jako π -akceptor a stabilizuje nižší oxidační stav ruthenia. Název RAPTA lze interpretovat jako ruthenium arene 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane – cymene. Samotný PTA je dobře rozpustný ve vodě ($S_{25\text{ }^\circ\text{C}} = 1.5 \text{ mol/dm}^3$, tedy 235 g/dm^3) a jako ligand přispívá k rozpustnosti výsledného komplexu ve vodném prostředí.^[8,13,14] Nutno podotknout, že chloridové ligandy podobně jako v předchozích případech podléhají hydrolyze.

Vliv PTA ligandu je významný i v případě rozpustnosti v jiných rozpouštědlech, a to s ohledem na pH. Pokud není žádný z dusíků RAPTA-C komplexu protonován, komplex vykazuje vyšší rozpustnost v organických rozpouštědlech než protonovaná forma (je lipofilnější). Za fyziologického pH převažuje deprotonovaná forma, která se může na rozdíl od protonované formy snadno dostat do buňky přes lipidovou membránu.^[15] V první *in vitro* studii RAPTA-C bylo zjištěno, že jeho schopnost interagovat s DNA závisí na pH prostředí.^[15]

Za fyziologického pH interakce s DNA neprobíhá, nicméně při jeho snížení se schopnost interagovat s DNA zvyšuje.

Z výše uvedeného autoři původního článku uvažovali jistou selektivitu k rakovinným buňkám.^[15] Uvádí, že prostředí rakovinných buněk je kyslejší, což vede k protonaci komplexu a jeho uvěznění v buňce. V kombinaci s pH-dependentní interakcí s DNA to zní velmi slibně. Nicméně k obou předpokladům je třeba přistupovat s jistou skepsí.

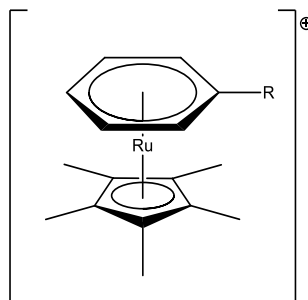
Je vhodné rozlišovat extracelulární a intracelulární prostředí, v původním článku se hovořilo jen o prostředí rakovinných buněk. Extracelulární prostředí rakovinných buněk má spíše nižší pH kvůli Warburgovu efektu.^[16–18] Již před sto lety německý biochemik Otto Warburg zaznamenal, že v rakovinných buňkách probíhá převážně anaerobní glykolýza, a to i za přítomnosti kyslíku. V takovém případě vzniká laktát, který je z cytozolu následně převeden spolu s H^+ do extracelulárního prostoru pomocí MCT proteinů (monokarboxylátové transportéry).^[18] Důsledkem je již zmiňované **nižší extracelulární pH**. To ovšem vede k **vyššímu intracelulárnímu pH** a obrácenému gradientu pH ve srovnání se zdravými buňkami. Jinými slovy, intracelulární prostředí rakovinných buněk bývá zásaditější než u zdravých buněk, zatímco extracelulární prostředí rakovinných buněk bývá kyslejší než zdravých.^[16,18,19] Z tohoto důvodu je vhodné brát *in vitro* experimenty s nadhledem, neboť skutečnost, že interakce RAPTA-C s DNA probíhá *in vitro* nutně neimplikuje, že taková interakce probíhá *in vivo*. Navíc se ukazuje, že RAPTA-C (na rozdíl např. od RM175) spíše než na DNA cílí na některé proteiny a jeho účinky jsou zejména antimetastatické.^[9,20]

1.1.4 Sendvičové Cp^* arenové komplexy ruthenia

Možná to byla právě narůstající popularita komplexů ruthenia s potenciálním využitím v terapii onkologických onemocněních, co vedlo k vývoji a testování nového typu komplexů – kationových „sendvičových“ sloučenin ruthenia. V roce 2008, vyšla první publikace popisující biologickou aktivitu látek s obecným vzorcem $[Ru(\eta^6\text{-Ph-R})(Cp^*)]X$ (kde X je anion ve vnější koordinační sféře).^[21] Za cíl si dala zjistit vliv velikosti a lipofility arenového ligandu příslušného komplexu a vliv anionu ve vnější koordinační sféře na jeho biologickou aktivitu.

Byly testovány celkem čtyři komplexní kationy s rozličnými monosubstituovanými areny a se třemi různými aniony ve vnější sféře, dle obecného vzorce $[Ru(\eta^6\text{-Ph-R})(Cp^*)]^+X^-$, kde R je buď $-CH_3$, $-NH_2$, $-COCH_2CH_2CH_2$ nebo $-CO_2CH_2CH_2CH_3$. X^- je BF_4^- , PF_6^- či BPh_4^- . Biologicky aktivní byly všechny zkoumané komplexy, selektivita inhibice růstu buněk závisela na charakteru funkční skupiny koordinovaného monosubstituovaného arenu. Nejvíce selektivní

v potlačování proliferace buněk byly komplexy s funkčními skupinami methyl (Ph-CH₃) a amin (Ph-NH₂). Vliv anionu na selektivitu komplexu byl zanedbatelný. Nicméně cytotoxicita komplexů zásadním způsobem závisela na anionu ve vnější koordinační sféře. Nejvíce cytotoxické (zhruba třikrát více než BF₄⁻, PF₆⁻) byly komplexy s BPh₄⁻.

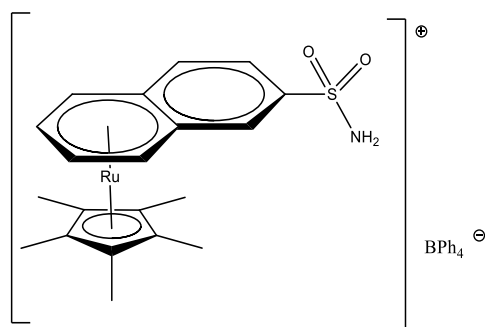


Obrázek 5. Obecná struktura Cp* arenových komplexů ruthenia.

Později byla zjištěna korelace mezi cytotoxicitou sendvičového komplexu s velikostí a lipofilitou koordinovaného arenu.^[22] Pro srovnání biologické aktivity byla užitá veličina IC₅₀, tedy koncentrace látky, která inhibuje buněčnou proliferaci na úroveň 50 %. U testovaných sendvičových komplexů byla dále zjištěna významná selektivita k rakovinným buňkám (IC₅₀ byla v drtivé většině případů pro zdravé buňky podstatně vyšší). Neaktivnější látky obsahovaly polycyklické aromatické uhlovodíky jako fenantren, naftalen či pyren, hodnoty IC₅₀ v jejich případě byly v řádech nanomolů na dm³.^[22]

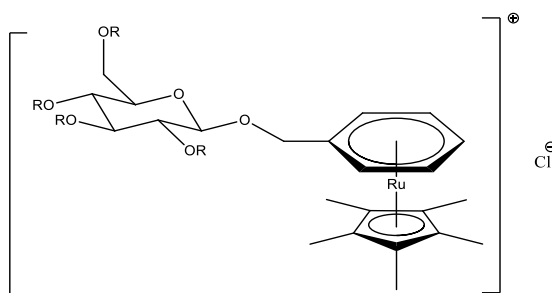
Mechanismus účinku Cp* arenových komplexů ruthenia znám není, ale předpokládá se, že nepůjde o crosslinking na DNA, neboť na rozdíl od např. cisplatinu nemají žádné vhodné odstupující skupiny.^[23] Jak již bylo napsáno, biologické vlastnosti lze doladovat úpravou arenového ligandu. Velice slibně se jevila i možnost koordinace biologicky aktivní látky, která ve své struktuře zahrnuje šestičlenný aromatický kruh, na RuCp*⁺.

Jako příklad lze uvést Cp*Ru arenové komplexy, kde aren zahrnuje sulfonamidovou skupinu. Tato skupina je schopna se vázat na aktivní místo enzymů karboanhydrázy (CA), přičemž inhibice tohoto enzymu v rakovinných buňkách může vést k inhibici buněčného růstu.^[23,24] Koordinace arenu se sulfonamidovou skupinou na RuCp*⁺ se jevila jako dobrý způsob, jak selektivně cílit na rakovinné buňky. Nicméně RuCp*⁺ spíše bránila vazbě na aktivní místo enzymu, a to ze sterických důvodů. To podporuje i skutečnost, že nejlepší vlastnosti, co se inhibice CA týká, vykazoval komplex, ve kterém sulfonamidová skupina byla dále od RuCp*⁺, viz obrázek 6.^[23] Nutno ovšem podotknout, že v souladu s dřívějším zjištěním, komplexy se sulfonamidovou skupinou jsou méně cytotoxické, neboť arenový ligand je méně lipofilní.^[23]



Obrázek 6. $[(Cp^*)(\eta^6\text{-naftalen-2-sulfonamid})Ru]BPh_4$, sendvičový komplex ruthenia schopný inhibovat karboanhydrázy.

Z méně lipofilních komplexů lze pro příklad zmínit látky, které jsou dílem naší laboratoře a to glukosu modifikovanou rutheniem.^[25] V souladu s předchozími zjištěními tyto látky označené jako RACC (ruthenium arene carbohydrate cyclopentadienyl) vykazovaly velmi nízkou cytotoxicitu. Ruthenium se v komplexech vyskytovalo jako $[Ru(\eta^6\text{-BnO-R})(Cp^*)]^+$, který byl glykosidovou vazbou připojen na β -D-glukopyranosu, nebo na tetraacetyl β -D-glukopyranosu.



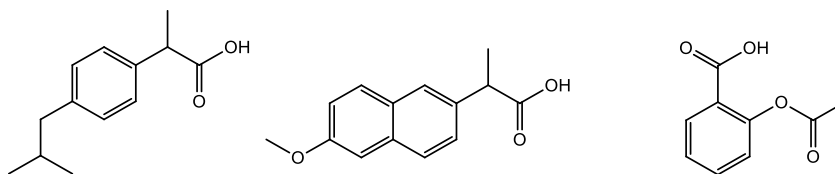
Obrázek 7. Struktura rutheniem modifikovaného sacharidu, kde R je buď H nebo acetyl.

Komplexy byly připraveny s chloridovým anionem ve vnější koordinační sféře, což vedlo krom nízké cytotoxicity k vysoké rozpustnosti ve vodě. Čím se ovšem zmíněné komplexy vyznačovaly byla migrastatická aktivita, tedy inhibice migrace a invazivity rakovinných buněk.

1.1.5 Komplexy ruthenia s NSAID

NSAID neboli nesteroidní antiflogistika (protizánětlivé látky) patří mezi nejvíce užívané léky na světě. Kromě analgetického účinku, působí i antipyreticky či protizánětlivě. Působí jako inhibitory cyklooxygenázy – enzymu, který přeměňuje kyselinu arachidonovou na signální molekuly prostaglandiny.^[26] Cyklooxygenáza-1 (dále jen jako COX-1) v organismu působí neustále, mezi její funkce patří např. ochrana žaludeční sliznice či ledvin, má ovšem také vliv na agregaci krevních destiček.^[27] COX-2 je především indukibilní enzym, to znamená, že je aktivní jen za určitých okolností. Působí při zánětu, poškození tkáně či nádorovém bujení.

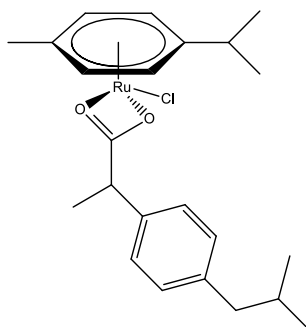
Inhibice COX pomocí NSAID může být ireverzibilní, jako např. v případě kyseliny acetylsalicylové, ale lze ji inhibovat i reverzibilně pomocí naproxenu a ibuprofenu (obr. 8).



Obrázek 8. Zleva ibuprofen, naproxen, kyselina acetylsalicylová.

NSAID mají i protinádorové účinky. Některé nádorové buňky se vyznačují zvýšenou expresí COX-2 a produkcí prostaglandinů, proti takovým buňkám (některé případy kolorektálního karcinomu) byly NSAID aktivní.^[26]

V minulosti byly dokonce připraveny „piano stool“ komplexy ruthenia s NSAID, kde vystupovaly jako bidentátní ligandy.^[28] Nejschopnější v potlačení buněčného růstu rakovinných buněk byl komplex s ibuprofenem, zaznamenána byla i korelace mezi schopností inhibovat COX a antiproliferatickou aktivitou (obr. 9). Tyto komplexy patrně působí jako „prodrug“, NSAID v roztoku z rutheniového centra disociují, na co se ovšem samotné komplexy přeměňují v biologických systémech není známo.



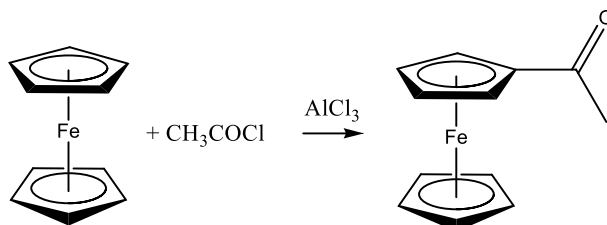
Obrázek 9. Piano stool komplex ibuprofenu a ruthenia, jedna ze sloučenin NSAID s rutheniem.

1.2 Obecné vlastnosti Cp* arenových komplexů ruthenia

Cp* arenové komplexy ruthenia jsou povětšinou tepelně stabilní látky, rovněž tak jsou stabilní ve vodě i na vzduchu.^[29] Jejich chemické vlastnosti závisí především na povaze navázaného arenu, jehož chemické vlastnosti jsou zásadně pozměněny přítomností organokovového fragmentu, který působí jako silná elektronakceptorová skupina. Mezi nejvýznamnější vlastnosti patří aktivace arenu vůči nukleofilní aromatické substituci, benzylová deprotonace a s tím spjatá stabilizace záporného náboje v benzylové pozici. Elektron akceptorový charakter RuCp*⁺ se také projeví na snížení pK_A některých vodíků, především těch v benzylové pozici a na aromatickém jádře. Tento efekt je dobře patrný za přítomnosti karboxylové skupiny. Těmto vlastnostem se věnují následující kapitoly.

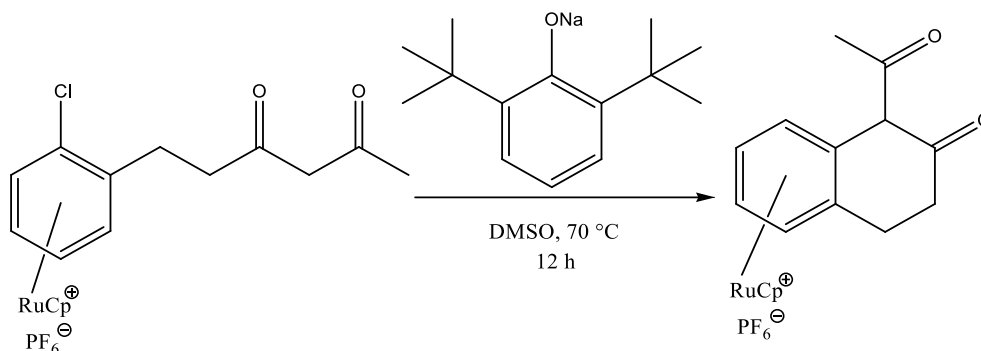
1.2.1 Nukleofilní aromatická substituce

Chemické vlastnosti η^6 -arenu se od η^5 -cyklopentadienu významně liší. Ukázkovým příkladem budiž ferrocen, který ochotně podléhá **elektrofilní** aromatické substituci. Jde například o Friedel-Craftsovu alkylici a acylaci (obr. 10).^[30,31]



Obrázek 10. Příklad Friedel-Craftsovy acylace ferrocenu.

η^6 -arenové komplexy přechodných kovů jsou mnohem méně náchylné k ataku elektrofilem, neboť η^6 -benzen je v porovnání s η^5 -cyklopentadienylem více deaktivovaný. Částečným vysvětlením může být skutečnost, že cyklopentadienylový anion i benzen sice oba mají 6 π -elektronů, ale v prvním případě je sdílí pět namísto šesti atomů uhlíku. Elektronová hustota je tedy na cyklopentadienylovém anionu vyšší, což se zvláště projeví po η^5 -koordinaci na kov (ve srovnání s η^6 -areny). Nicméně deaktivace η^6 -arenů vede k jiným zajímavým vlastnostem, a to například k schopnosti podléhat **nukleofilní** aromatické substituci. Příkladem je tato intramolekulární reakce probíhající mechanismem S_NAr (obr. 11).^[32]



Obrázek 11. Příklad nukleofilní aromatické substituce zprostředkované fragmentem $RuCp^+$.

1.2.2 Snížení pK_a koordinovaných aromatických kyselin

Jak již bylo předesláno, organokovové fragmenty v důsledku koordinace snižují elektronovou hustotu na navázaném η^6 -arenu. Tato skutečnost je dobře patrná za přítomnosti karboxylové skupiny, kdy se vliv elektronakceptorového organokovového fragmentu projeví **snížením pK_a** (důvodem je oslabení vazby mezi karboxylovými kyslíky a vodíkem). Dobrým příkladem je srovnání pK_a komplexů kyseliny fenyloctové v tabulce 1.^[18,33] Komplex kyseliny fenyloctové s fragmentem $RuCp^{*+}$ nebyl v databázi Scifinder nalezen a podle všeho nebyl

doposud publikován, ale lze očekávat podobný efekt jako u zmíněných komplexů v Tabulce 1. Jeho příprava a charakterizace bude předmětem našeho dalšího výzkumu.

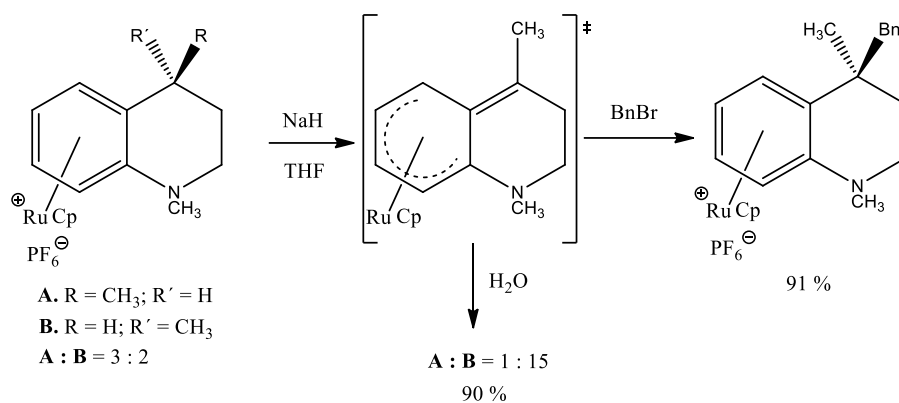
Tabulka 1. Srovnání pK_a karboxylové skupiny volné a η⁶-koordinované kyseliny fenyloctové ve vodě při 25 °C.

Sloučenina	pK _a 25 °C (COOH)
kyselina fenyloctová	4.31
kyselina 4-nitrofenyloctová	3.85
[Ru(η ⁶ -C ₆ H ₅ CH ₂ COOH)(ox)OH ₂]	3.5
[Ru(η ⁶ -C ₆ H ₅ CH ₂ COOH)(en)OH ₂] ²⁺	3.3
[Ru(η ⁶ -C ₆ H ₅ CH ₂ COOH)(phen)OH ₂] ²⁺	2.8

V případě snížení pK_a karboxylové skupiny uvedených komplexů (dokonce na nižší hodnoty než u kyseliny 4-nitrofenyloctové) lze poukázat i na vliv zbylých ligandů. Nejvyšší hodnoty pK_a, a tedy i nejmenší schopnost odčerpávat elektronovou hustotu z η⁶-arenu, měl oxalátový komplex, přičemž bidentálně koordinovaný oxalát vystupuje jako σ-donor i π-donor. Komplex s ethylendiaminem, který vystupuje jako prostý σ-donor, dokázal snížit pK_a o něco více. Nicméně nejlepší vlastnosti, co se snižování elektronové hustoty na koordinovaném arenu a s tím spjaté snížení pK_a, měl komplex s fenantrolinem, který má σ-donorový ale také π-akceptorový charakter.

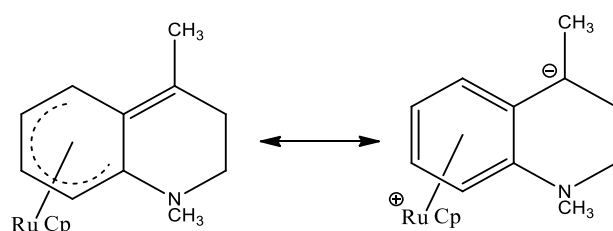
1.2.3 Benzylová deprotonace a stabilizace záporného náboje

Benzylová deprotonace a s tím spjatá stabilizace záporného náboje v benzylové pozici je dobře známý důsledek přítomnosti organokovového fragmentu η⁶-koordinovaného na arenu. Nejvíce prozkoumané jsou tyto reakce pro arenové komplexy s Cr(CO)₃ fragmentem,^[34–36] který je s RuCp*⁺ isoelektronový. V obou případech elektronakceptorový charakter centrálního atomu kovu stabilizuje záporný náboj v benzylové pozici pomocí jeho delokalizace. Formálně lze toto nastínit rezonančními strukturami, kde v prvním případě je zachována η⁶-koordinace a náboj je lokalizovaný v benzylové pozici, zatímco v druhém η⁶ koordinace přechází na η⁵. Nicméně aren je stále donorem šesti elektronů a zachovává se 18 elektronové pravidlo. Tyto rezonanční struktury samozřejmě existují zároveň, což se projevuje spíše dvojným charakterem vazby mezi substituovaným aromatickým a benzylovým uhlíkem. Na obrázku 12 je příklad deprotonační reakce s analogickým RuCp⁺ fragmentem.^[37]



Obrázek 12. Příklad reakce s anionovým intermediátem v benzylové pozici, A. a B. jsou epimery, tedy liší se konfigurací na jednom stereogenním centru. A:B je jejich vzájemný poměr.

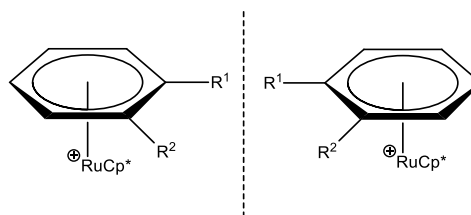
Jak již bylo předesláno, lze uvažovat rezonanční struktury intermediátu (obr. 13). Důležité je také poukázat na stereoselektivitu způsobenou sterickým bráněním organokovového fragmentu. V tomto případě je přítomnost RuCp^+ fragmentu nezastupitelná, isoelektronový $\text{Cr}(\text{CO})_3$ sice také zvyšuje kyselost vodíku na benzylovém uhlíku, ale k deprotonaci je náchylný jen v případě orientace **exo** vzhledem k centrálnímu kovu.^[37] Tato podmínka ovšem není nutná pro analogické sloučeniny s RuCp^+ , jak se patrné na reaktivitě komplexu s 1,4-dimethyltetrahydrochinolinem.



Obrázek 13. Rezananční struktury anionového intermediátu s RuCp^+ fragmentem

Deprotonaci pomocí NaH tedy v tomto případě podléhají **endo** i **exo** orientované benzylové vodíky. Ovšem zpětná protonace anionového intermediátu je stereoselektivní, poměr stereoizomerů je výrazně nakloněn ke komplexu s **exo** orientovaným vodíkem. Stereoselektivní jsou i reakce s jinými elektrofilny, na obrázku 12 je zaznamenán příklad reakce s benzylbromidem.^[37]

Pro úplnost je ovšem nutno podotknout, že η^6 -koordinace kovu na 1,2 nebo 1,3-disubstituovaný aren vede k vytvoření nového chirálního centra (jde o tzv. planární chiralitu) a vzniku dvou enantiomerů, jak je patrné na obrázku 14.



Obrázek 14. Vznik dvou enantiomerů po η^6 -koordinaci na 1,2-disubstituovaný aren.

Schéma reakcí na obrázku 12 by skutečně vedlo k opticky čistým produktům, ale nutno **velmi silně zdůraznit**, že v takovém případě musí být poloha centrálního kovu na arenu předem pevně stanovena. Při syntézách 1,2 a 1,3-disubstituovaných η^6 -arenových komplexů běžně dochází ke vzniku racemické směsi (obr. 14), přičemž oba enantiomery lze oddělit např. pomocí chirální chromatografie.^[35]

Vzhledem k těmto vlastnostem mohou být organokovové fragmenty jako RuCp^+ či RuCp^{*+} důležité mimo jiné pro organickou syntézu. Jak již bylo zmíněno, reaktivita arenových komplexů s RuCp^+ (popř. RuCp^{*+}) je mnohem méně prozkoumaná než v případě izoelektronového $\text{Cr}(\text{CO})_3$.^[37] Známa je především nukleofilní aromatická substituce^[32] nebo různé modifikace bočního řetězce arenu. Krom již zmíněné reakce stabilizovaného benzylového anionu s nukleofily,^[37] lze pro zajímavost uvést např. Diels-Alderovy cykloadice^[38] a Michaelovy adice.^[39] Nakonec zcela určitě stojí za zmínku poměrně nedávno publikovaný článek (2016), který popsal první katalytickou kondenzaci toluenu a benzaldehydu za vzniku E-stilbenu s pomocí η^6 -arenového RuCp^{*+} katalyzátoru.^[40]

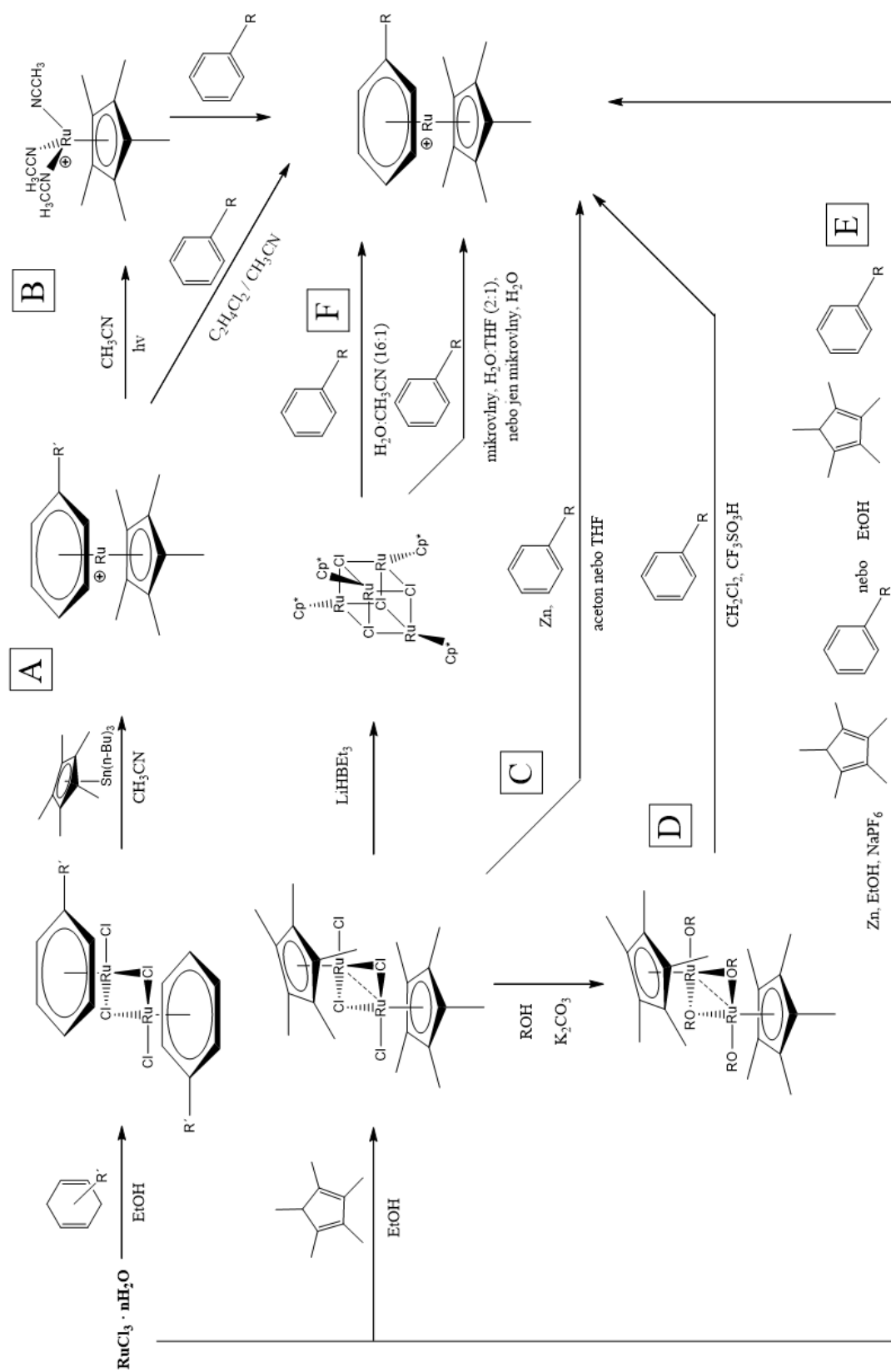
1.3 Metody přípravy Cp* arenových komplexů ruthenia

Způsoby přípravy Cp* arenových komplexů ruthenia jsou jednou z jeho velkých výhod vzhledem k železu. V případě analogických komplexů železa vychází dominantní metoda přípravy z ferrocenu, který se nechá reagovat s příslušným arenem za přítomnosti stechiometrického množství silné Lewisovské kyseliny, což je pro některé areny velice limitující.^[41]

Obdobná syntéza z ruthenocenu poskytuje jen malé výtěžky a pro přípravu takových komplexů ruthenia se nepoužívá. Vybrané vhodnější metody přípravy jsou znázorněny na obrázku 15 níže, přičemž je na místě přiznat jistou inspiraci, co se tvorby reakčních schémat týká, v publikaci od Fairchilda a Holmana.^[29]

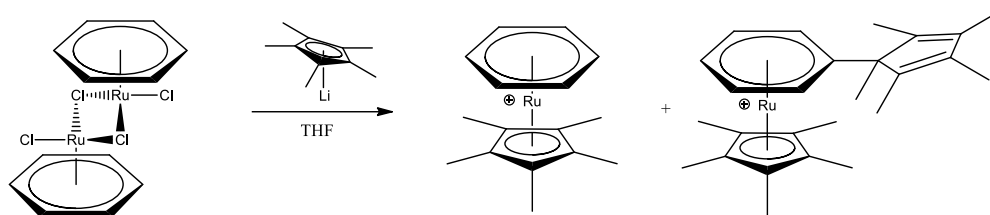
K dispozici je několik možných reakčních cest, přičemž volba vhodného prekurzoru je stěžejní pro úspěšnou syntézu. Sice se vždy dá vycházet z $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, ale některé vícejaderné sloučeniny ruthenia s areny nebo Cp* jsou pro svou dostupnost a vysoké výtěžky reakcí vhodnějšími prekurzory.

Nejdříve reakční cesta označená jako (A). V tomto případě vycházíme přímo z $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, který se ponechá reagovat s 1,3- nebo 1,4-hexadieny za refluxu v EtOH.^[42] Ru(III) se tímto způsobem redukuje na Ru(II) a hexadien se přeměňuje na odpovídající koordinovaný aren. ^[18,41] Komerčně dostupný je například $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymen})\text{Cl}_2]_2$ nebo $[\text{Ru}(\eta^6\text{-benzen})\text{Cl}_2]_2$. Tento druh přípravy se hodí jen pro specifické případy, kdy máme k dispozici příslušný hexadien, např. pro syntézu $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymen})\text{Cl}_2]_2$ poslouží dobře dostupný felandren. Areny sice lze pro tyto účely přeměnit na odpovídající hexadieny Birchovou redukcí, ale to je pro většinu případů Cp* arenových komplexů zbytečně složité a na místě je volba jiné reakční cesty. Problematická je i následující koordinace Cp*. V literatuře byla popsána reakce $[\text{Ru}(\eta^6\text{-benzen})\text{Cl}_2]_2$ s $\text{Cp}^*\text{Sn}(\text{n-Bu})_3$ za refluxu v acetonitrilu, která ovšem vedla k pouze 31% výtěžku.^[43] Alternativně lze použít Cp^*Tl , nicméně v tomto případě byl výtěžek pouhých 16 %.^[44]



Obrázek 15. Metody přípravy Cp* arenových komplexů ruthenia

Ještě nižšího výtěžku (12 %) lze dosáhnout použitím Cp^*Li .^[45] Benzenové jádro je po koordinaci na kovové centrum aktivováno vůči nukleofilní aromatické substituci (viz sekce 1.2), což v tomto případě vede ke vzniku vedlejšího produktu (obr. 16).



Obrázek 16. Vznik vedlejšího produktu při použití Cp^*Li .

V některých případech lze k přípravě Cp^* arenového komplexu využít substituci „aren za aren“ (**B**) a to buď ve dvou krocích nebo v jednom. V prvním případě je nejdříve provedena fotolytická dekomplexace původního arenového ligandu v acetonitrilu za vzniku reaktivního piano-stool komplexu $[\text{RuCp}^*(\text{CH}_3\text{CN})_3]^+$ a až poté reakce s novým arenem.^[43] Nicméně substituci „aren za aren“ lze provést i jedнокrokově, v případě komplexu $[\text{Ru}(\eta^6\text{-naftalen})\text{Cp}^*]^+$ dokonce i v rozpouštědle jako je 1,2-dichlorethan, přičemž přídavek acetonitrilu vede k vyšším výtěžkům.^[46] Tento postup ale zdaleka není univerzální a zásadně závisí na povaze vyměňovaných arenů.

Další z možných reakčních cest také zahrnuje dvoujaderný prekurzor a to komplex $[\text{RuCp}^*\text{Cl}_2]_2$. V tomto případě si ovšem ruthenium zachovává původní oxidační číslo III. Proto v dalším kroku následuje redukce na Ru(II) pomocí zinku a reakce s arenem (**C**).^[47]

Chloridové ligandy lze substituovat za alkoxydové ligandy v příslušném alkoholu jako rozpouštědla za přítomnosti K_2CO_3 (**D**).^[48] Takto připravený alkoxykomplex poté v dichlormethanu a kyselém prostředí reaguje s příslušným arenem.^[49]

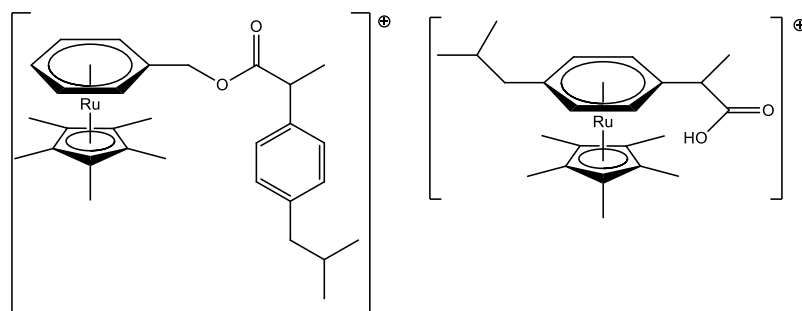
Nakonec dvě metody, které byly využity v této práci. Metoda (**E**) je one-pot syntéza, kdy se k $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ v nadbytku přidá zároveň aren i Cp^* a reakční směs je následně přivedena k mírnému refluxu v ethanolu. Některé metody přípravy zahrnují přítomnost zinku v reakční směsi, kvůli redukci $\text{Ru(III)} \rightarrow \text{Ru(II)}$,^[50] avšak i v jeho nepřítomnosti může docházet k redukci ruthenia, oxiduje se např. ethanol na acetaldehyd.^[22]

Druhá metoda (**F**) vychází z $[\text{RuCp}^*\text{Cl}]_4$, který je nejprve za stálého míchání a refluxu rozpuštěn v acetonitrilu, přičemž dochází ke vzniku $[\text{RuCp}^*(\text{CH}_3\text{CN})_3]^+$.^[29] K tomuto komplexu je po vychladnutí na pokojovou teplotu přidán vodný roztok (nebo alespoň vodná suspenze) arenu a reakční směs se ponechá reagovat za pokojové teploty na magnetické míchače. Byly popsány i alternativní metody využívající mikrovlnný reaktor, které také dosahovaly velmi slibných výsledků, ale ty v této práci nebyly využity.

1.4 Cíle práce

V minulosti již byly připraveny komplexy NSAID s rutheniem.^[28] Nejvíce aktivní byl komplex s ibuprofenem, který vystupoval jako bidentální ligand navázaný přes karboxylové kyselíky. Zároveň již byly připraveny komplexy, kde biologicky aktivní ligand vystupoval jako η^6 -aren.^[23]

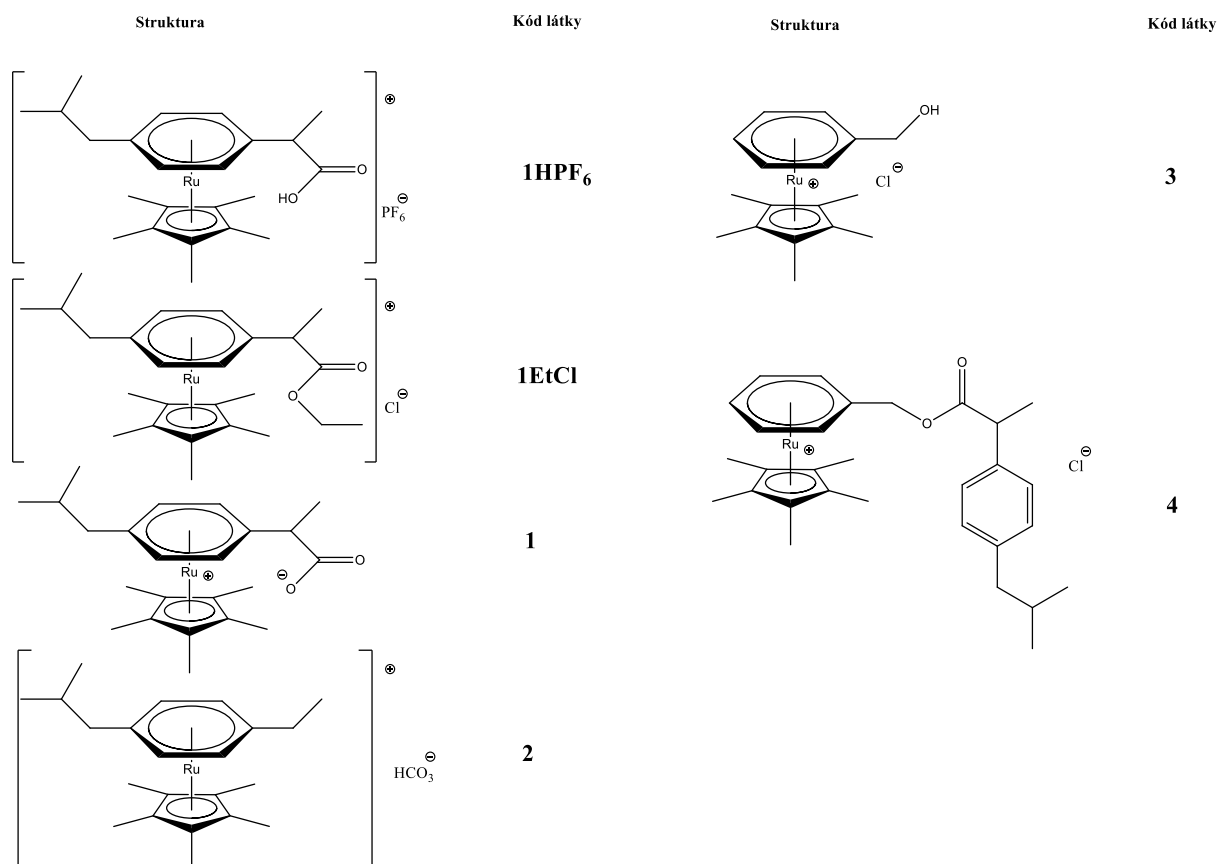
Ve volné návaznosti si tato práce stanovila za cíl přípravu dvou nových komplexů (obr. 17). Prvním cílem této práce je příprava komplexu, kde ibuprofen vystupuje přímo jako η^6 -arenový ligand na RuCp^{*+} fragmentu.



Obrázek 17. Kationové komplexy, které byly zadáním této práce.

V případě druhého komplexu, který si tato práce stanovila za cíl, je ibuprofen ve struktuře zahrnut jako ester benzylalkoholu η^6 -koordinovaného na RuCp^{*+} fragment.

1.4.1 Schéma nově připravených látek

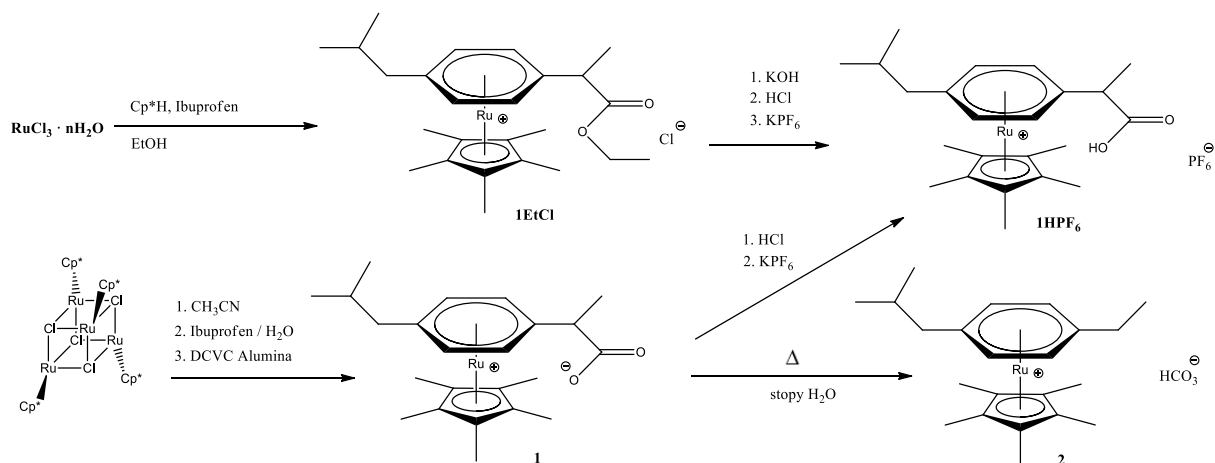


Obrázek 18. Schéma nově připravených látek.

2 Výsledky a diskuze

2.1 Příprava a izolace látek – komplexy s η^6 deriváty ibuprofenu

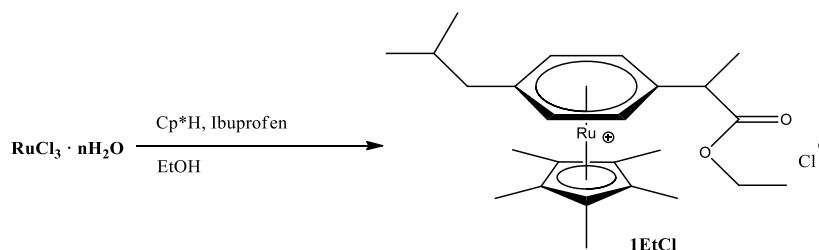
Souhrnné schéma příprav tohoto typu komplexů je zobrazeno na obrázku 19. Pro přípravu komplexu **1HPF₆** byly zvoleny dvě již zmíněné metody přípravy a to one-pot syntéza z $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ a příprava z $[\text{RuCp}^*\text{Cl}]_4$. V prvním případě došlo ke vzniku příslušného ethyl esteru **1EtCl**, který bylo později nutné hydrolyzovat. V druhém případě docházelo ke vzniku zwitteriontového komplexu **1** a to v důsledku čištění komplexu surového produktu na DCVC (dry column vacuum chromatography). V takovém případě bylo pro získání kationového komplexu **1HPF₆** nutné produkt zpětně okyselit. Pozoruhodná byla nízká stabilita zwitteriontového komplexu **1**, neboť docházelo i při pokojové teplotě k jeho dekarboxylaci (a to i za pokojové teploty) v pevné fázi i v roztoku DMSO za vzniku komplexu **2**. Dekarboxylaci zwitteriontového komplexu **1** je věnována samostatná kapitola 2.3



Obrázek 19. Reakční schéma komplexů, kde ibuprofen vystupuje jako η^6 ligand.

Tolik k celkové stručné rekapitulaci příprav vedoucích k produktu, v následujících podkapitolách budou diskutovány jednotlivé syntézy.

2.1.1 Příprava komplexu 1EtCl

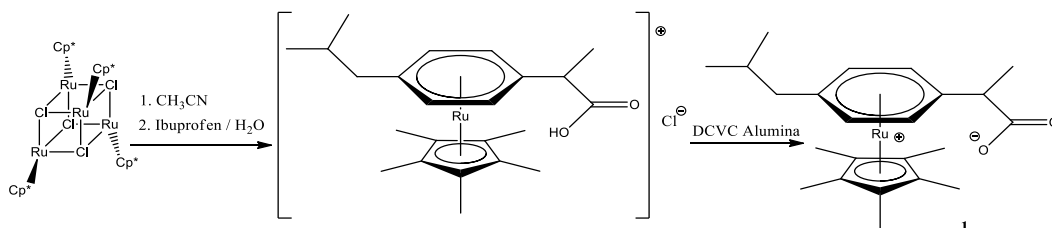


Obrázek 20. Příprava komplexu 1EtCl

Tato příprava byla provedena dle postupu popsáném v literatuře.^[51] „One-pot“ syntéza z $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ v tomto případě vedla ke vzniku ethylesteru **1EtCl** ve výtěžku 39 % (obr. 20). Podobný případ byl již zmiňován v literatuře, přičemž vysvětlením byla zvýšená Lewisova kyselost karboxylového uhlíku.^[23] Významný vliv musela mít i uvolňující se HCl, která mohla esterifikaci katalyzovat kyselé. To dokládá i vznik nekoordinovaného ethylesteru ibuprofenu, který bylo nutné separovat pomocí chromatografie (ibuprofen byl přidán v nadbytku).

Při opakování přípravy ve větší navážce došlo také ke vzniku komplexu s koordinovaným samotným ibuprofenem, který byl detekován po chromatografii ve své zwitteriontové formě (jako komplex **1**) pomocí ^1H NMR. Proto byl výtěžek v tomto případě reakce podstatně nižší 17 %.

2.1.2 Příprava komplexu 1



Obrázek 21. Příprava komplexu 1.

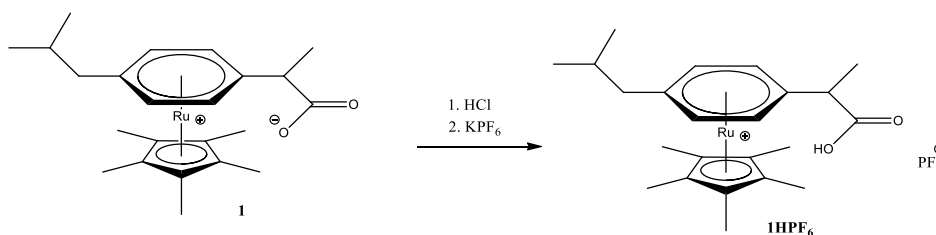
Syntéza byla provedena dle postupu v literatuře,^[29] odchylkou od předepsaného postupu bylo přidání dvou ekvivalentů arenového ligandu namísto jednoho. Cílem bylo posunout rovnovážné složení směrem k produktům.

Rozpuštěním tetramerního prekurzoru $[\text{RuCp}^*\text{Cl}]_4$ vzniká $[\text{RuCp}^*(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{Cl}$, jehož acetonitrilové ligandy snadno podléhají substituci za aren. Tyto reakce často dosahují vysokých výtěžků a nevznikají vedlejší produkty.

Po ukončení experimentu bylo nutné přecistit produkt od nezreagovaného ibuprofenu pomocí DCVC. Nicméně tato separace vedla ke zbavení komplexu molekuly HCl a z kationového komplexu se stal komplex zwitteriontový (obr. 21). Tato skutečnost se podařila zmapovat na ^1H NMR spektrech (viz sekce 2.6.1)

Toto se dále projevovalo například i v infračerveném spektru, kde byla patrná silná asymetrická valenční vibrace COO^- skupiny komplexu **1** při 1591 cm^{-1} . Pro srovnání podobně intenzivní symetrická valenční $\text{C}=\text{O}$ vibrace nekoordinovaného ibuprofenu byla při 1720 cm^{-1} , v případě komplexu **1HPF₆** byla při 1735 cm^{-1} . Vzniku zwitteriontového komplexu **1** nasvědčovala také skutečnost, že po přidání KPF_6 k vodnému roztoku komplexu **1** nedošlo k vysrážení málo rozpustného **1HPF₆**. K tomu bylo nutné roztok okyselit zředěnou kyselinou chlorovodíkovou.

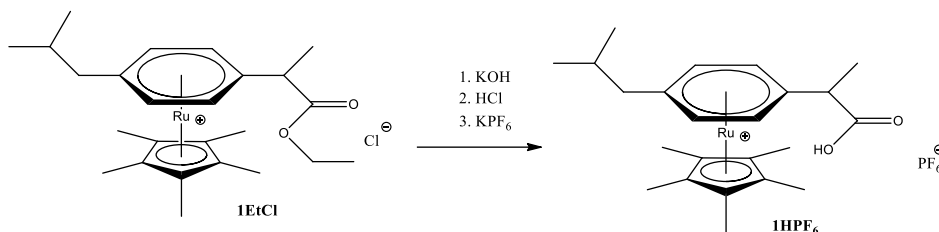
2.1.3 Příprava 1HPF₆



Obrázek 22. Příprava komplexu **1HPF₆** z komplexu **1**

První cestou k kationovému komplexu **1HPF₆** bylo okyselení vodného roztoku zwitteriontového komplexu **1** kyselinou chlorovodíkovou v přítomnosti KPF_6 (obr. 22).

Přítomnost KPF_6 nebyla pro přípravu kationového komplexu nutná, ale práci s ním velmi usnadňovala. Rozpustnost kationových komplexů s PF_6^- anionem ve vodě je mnohem nižší v porovnání s komplexy chloridovým anionem.^[51] Při vzniku takového komplexu ve vodě dochází k jeho vysrážení. Je proto mnohem snazší získat produkt ve formě prášku jako hexafluorofosfát. Další výhodou je detekovatelnost anionu na fluorovém a fosforovém NMR.

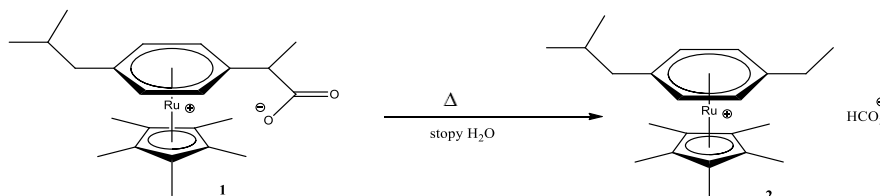


Obrázek 23. Příprava **1HPF₆** z komplexu **1EtCl**

Druhou cestou byla hydrolyza odpovídajícího ethylesteru **1EtCl** (obr. 23). V našem případě byla samotná hydrolyza provedena v methanolu, což nebylo vzhledem k dobré rozpustnosti komplexu ve vodě nutné. Takový postup byl volen v literatuře pro podobné kationové komplexy ale s hexafluorofosfátem, pro které byl tento způsob vhodnější (kvůli nízké rozpustnosti ve vodě).^[51] Po přidání vody a následném odpaření methanolu byla nutná acidifikace kyselinou chlorovodíkovou. Posledním krokem bylo opět vysrážení komplexním anionem za vzniku málo rozpustného komplexu s hexafluorofosfátem ve vnější koordinační sféře **1HPF₆**.

Výtěžky obou reakcí byly nižší (47 % z komplexu **1EtCl** a 87 % z komplexu **1**), pravděpodobně kvůli promývání vodou, ve které je komplex **1HPF₆** částečně rozpustný. Srovnávat výtěžky proto není úplně vypovídající. Obě metody přípravy mají svá pro i proti a jen stěží lze doporučit jednu z nich. Příprava komplexu **1EtCl** je sice pracnější než v případě přípravy vycházející z komplexu **1**, ale lze se tak vyhnout práci s nestabilním zwitteriontovým komplexem **1**. Největší výhodou cesty přes komplex **1** je čistý průběh reakcí. Pomocí DCVC je nutné od produktu oddělit jen nezreagovaný ibuprofen a proto není nutné dělit jednotlivé frakce (jako v případě přípravy komplexu **1EtCl**).

2.1.4 Vznik komplexu 2 a 2X



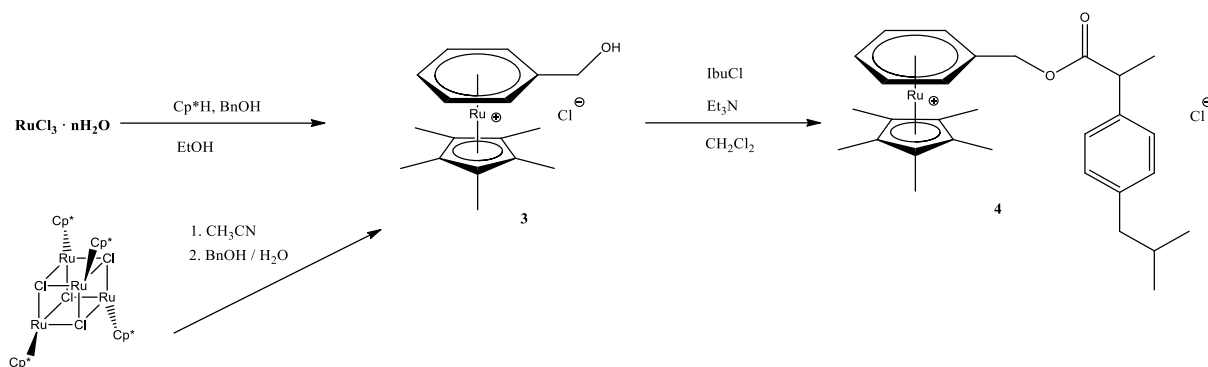
Obrázek 24. Vznik komplexu 2.

Práci se zwitteriontovým komplexem 1 komplikovala jeho dekarboxylace, která probíhala již při pokojové teplotě (obr. 24). Poprvé byl vznik komplexu zaznamenán po zkoumání rozpustnosti zwitteriontové látky v acetonu, ethanolu, tetrahydrofuranu a nakonec ethylacetátu. Látka byla vždy rozpuštěna v příslušném rozpouštědle, které bylo posléze s pomocí zahřívání ve vodní lázni odpařeno na rotační vakuové odparce. Po rozpuštění v ethylacetátu, odpaření a následném zbavení reziduí rozpouštědel bylo přeměřeno ¹H NMR odparku. V tomto případě se nepodařilo jednoznačně určit anion ve vnější koordinační sféře (proto je o této látce v experimentální části pojednáváno jako o komplexu 2X). Komplexní kation byl rozpoznán pomocí ¹H a ¹³C NMR a následně potvrzen pomocí ESI-MS⁺.

Reakce proběhla také v DMSO, nicméně v tomto případě se podařilo identifikovat anion ve vnější koordinační sféře (v experimentální části jako komplex 2, pro odlišení od 2X, u kterého nebyl anion rozpoznán). Na ¹³C NMR byl identifikován anion jako hydrogenuhličitan (viz. sekce 2.7.2) Reakce probíhala za pokojové teploty, šlo ji urychlit zvýšením teploty. Dekarboxylaci komplexu 1 je věnována kapitola 2.3.

2.2 Příprava a izolace látek – připojení ibuprofenu pomocí esterové vazby

V případě druhé látky, která byla cílem této práce, byla prvním krokem příprava sendvičového komplexu benzylalkoholu a následná esterifikační reakce s acylchloridem ibuprofenu (obr. 25). Finální produkt bylo nejprve problematické izolovat, neboť hydrolyzoval na alumině při chromatografii. Jako velice efektivní a spolehlivý se ukázal postup, kdy byla směs reaktantů a produktu rozpuštěná v CH₂Cl₂ nejprve promyta vodou v dělicí nálevce, čímž se podařilo zbavit hydrochloridu triethylaminu a následné promytí odparku THF, ve kterém se rozpustil především ibuprofen. Tímto postupem došlo k jistým ztrátám, produkt je (ač špatně) rozpustný ve vodě i v THF, nicméně se takto podařilo dosáhnout vysoké čistoty produktu, ač za cenu nižšího výtěžku (33 %).

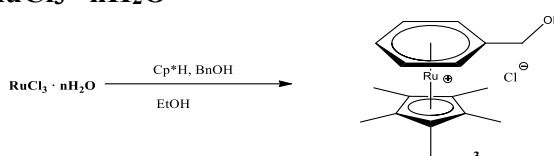


Obrázek 25. Reakční cesta ke komplexu kde ibuprofen vystupuje jako ester.

Stejně jako v předchozím případě nyní následuje diskuze příprav jednotlivým kroků, které vedou k přípravě finálního komplexu.

2.2.1 Příprava komplexu 3

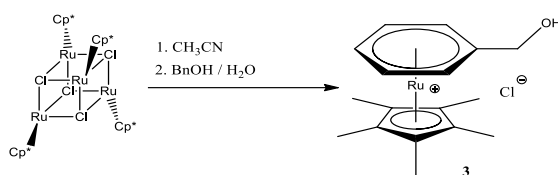
Metoda z prekurzoru $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$



Obrázek 26. Příprava komplexu 3.

Po refluxu (10 hodin) $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ s dvojnásobným nadbytkem BnOH i Cp^*H v ethanolu (obr. 26) bylo nutné surový produkt dále přečistit. Stejně jako v předchozích případech se Cp^*H odpařil spolu s ethanolem, produkt byl ovšem nadále znečištěn nezreagovaným BnOH a neidentifikovanými vysoce polárními sloučeninami ruthenia. V tomto případě stačilo surový produkt nanést na aluminu a promýt na DCVC větším množstvím ethanolu. Bylo patrné, že část zůstala na začátku kolony jako černý deposit. Sbírány byly tedy všechny barevné frakce. V tento moment se podařilo získat směs BnOH a produktu. Způsobů jak separovat produkt od BnOH je více, jako nejefektivnější se nám ukázala trituratione acetonem. Alternativní způsob přečištění je opakované rozpuštění směsi ve vodě a následné odpaření. BnOH a voda totiž tvoří nízkovroucí azeotrop. Tyto metody lze i kombinovat. Rozpuštění ve vodě a následné odpaření směsi rozpouštědel za sníženého tlaku (popsané v syntetické části) bylo použito pro závěrečné přečištění komplexu 3 od zbytků BnOH . Poté již nebyly signály nekoordinovaných aromátů okolo 7 ppm detekovatelné.

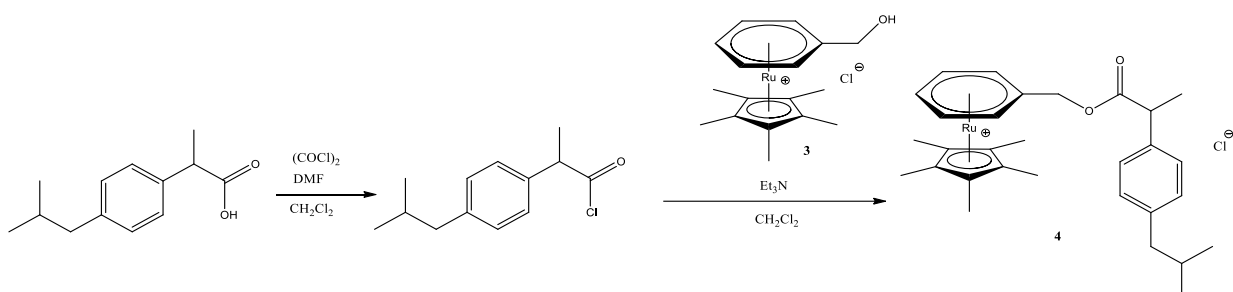
Metoda z prekursoru $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{Cl}]_4$



Obrázek 27. Alternativní příprava komplexu 3.

Jak již bylo zmíněno, syntézy z tohoto prekursoru jsou mnohem čistší než z $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Po kompletním rozpuštění $[\text{RuCp}^*\text{Cl}]_4$ v acetonitrilu se není v případě jednoduchých arenů čeho obávat. Po ukončení míchání vodného roztoku *in situ* generovaného $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)(\text{CH}_3\text{CN})_3]\text{Cl}$ a dvojnásobného molárního nadbytku BnOH (obr. 27) bylo možné se zbavit zbytku nezreagovaného arenu opakovaním cyklu rozpuštění ve vodě a odpaření. Produkt byl rekrystalizován rozpuštěním v methanolu, převrstvením dichlormethanem a následným umístěním do mrazáku. Podobně jako všechny ostatní látky připravené v této práci i tato krystalovala velmi špatně a kvalitní krystaly se podařilo vypěstovat až po 13 měsících (26.2. 2020 až 25.3. 2021).

2.2.2 Příprava komplexu 4



Obrázek 28. Příprava komplexu 4.

Pro tuto syntézu byla inspirací esterifikační reakce popsaná v literatuře (postup je v dodatku citované práce).^[52] V literatuře byl poměr alkohol : acylchlorid : báze stanoven jako 2 : 1 : 1. To by v našem případě nedávalo žádný smysl, neboť náš alkohol (jako komplex ruthenia) bylo to nejcennější, co do reakce vstupovalo. Proto byl poměr alkohol : acylchlorid : báze upraven na 1 : 2 : 2. Tento poměr přinášel i další výhody, komplex 3 se nepodařilo úplně zbavit vody, proto nadbytek acylchloridu přišel jedině vhod.

Prvním krokem byla příprava acylchloridu z oxalyl chloridu a ibuprofenu (obr. 28). Na rozdíl od původního článku nebyl ke karboxylové kyselině (ibuprofenu) přidán 1.2 ekvivalent oxalyl chloridu ale rovnou 2.5 ekvivalent. Tato reakce byla katalyzovaná kapkou

DMF, který funguje jako přenašeč Cl^- z oxalylchloridu na karboxylovou kyselinu za vzniku acylchloridu. Od postupu v literatuře jsme se také odlišovali delším časem experimentu, namísto hodiny se reakční směs nechala míchat přes noc. Následovalo odpaření do sucha, kdy se odpařil dichlormethan a nezreagovaný oxalylchlorid. Acylchlorid ibuprofenu nebyl izolován, ale rovnou použit v dalším reakčním kroku.

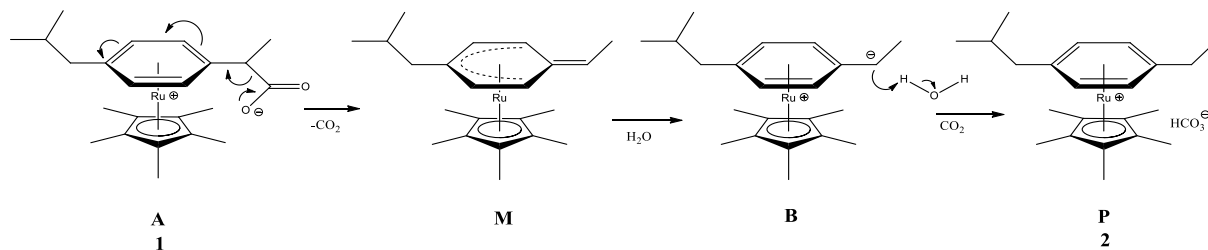
V tento moment byl připraven acylchlorid ibuprofenu na reakci s komplexem **3** za přítomnosti triethylaminu (obr. 28). Po čtyřdenním míchání v dichlormethanu bylo míchání ukončeno a bylo nutné přečištění produktu. Nutno zmínit, že příprava tohoto komplexu se povedla až na druhý pokus, neboť poprvé se zjistilo, že chromatografií na DCVC z aluminu dochází k hydrolyze esterového produktu. Proto bylo přistoupeno k alternativnímu čistícímu postupu.

K roztoku surového produktu bylo nejprve přidáno 20 ml vody, aby došlo k hydrolyze nezreagovaného acylchloridu ibuprofenu. Následovalo převedení do dělicí nálevky, separace vodní fáze a následné promytí organické fáze vodou, pro odstranění vedlejšího produktu reakce triethylamin hydrochloridu. Na ^1H NMR spektru odparku vodné fáze bylo patrné, že do vodní fáze byl převeden především triethylamin hydrochlorid, komplex **4** byl ve vodě málo rozpustný, což je zásadní rozdíl oproti všem ostatním sendvičovým komplexům připravených v této práci. Organická fáze byla zbavena triethylaminu hydrochloridu, zbývalo oddělit produkt od nezreagovaného ibuprofenu. Po přidání tetrahydrofuranu došlo k vysrážení produktu jako bílého prášku. Produkt byl dekantován a zbývající nezreagovaný ibuprofen byl odstraněn opakovaným promýváním tetrahydrofuranem, ve kterém je ibuprofen dobře rozpustný. Výtěžek činil pouhých 33 %, neboť produkt byl částečně v tetrahydrofuranu rozpustný. Na druhou stranu po promytí již nebyly signály nezreagovaného ibuprofenu patrné na ^1H NMR a produkt byl připraven ve vysoké čistotě.

2.3 Dekarboxylace komplexu **1**

Práci s komplexem **1** komplikovala dekarboxylace koordinovaného deprotonovaného ibuprofenu. Tato skutečnost pro nás byla překvapivá a zcela jistě zajímavá, proto jí je věnována samostatná kapitola. Docházelo k ní v pevné fázi za pokojové teploty a to i pod dusíkovou atmosférou. Dekarboxylace byla rovněž pozorována na vzorku rozpuštěném v nesusušeném DMSO v NMR kyvetě. Dekarboxylaci šlo výrazně urychlit zvýšením teploty. Např. půlhodinové zahřívání pevného vzorku pod vakuem i za atmosférického tlaku na 100 °C vedlo ke kompletní přeměně, rovněž tak zahřívání vzorku v DMSO.

S informacemi o stabilizaci benzylových anionů organokovovým fragmentem, které byly podrobně rozebrány v úvodu (sekce 1.2), byl pro dekarboxylaci navrhnout tento mechanismus (obr. 29).

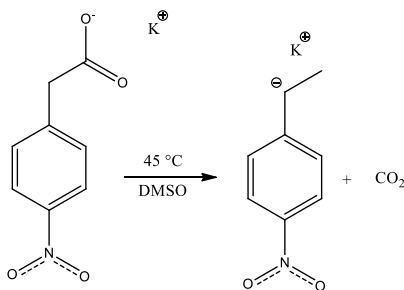


Obrázek 29. Návrh mechanismu dekarboxylace komplexu 1 za následného vzniku komplexu 2

V prvním kroku označeném jako **A** dochází k přerušení vazby mezi chirálním a karboxylátovým uhlíkem komplexu **1**. Druhý krok **M** vyobrazuje vzniklý reaktivní intermediát. V třetím kroku **B** je reaktivní intermediát **M** atakován elektrofilem – protonem z molekuly vody (pro názornost zvolena rezonanční struktura s lokalizovaným záporným nábojem v benzylové pozici). Vzniklý hydroxidový anion coby nukleofil atakuje již dříve uvolněný oxid uhličitý za vzniku hydrogenuhličitanu. V posledním kroku **P** je zachycen vzniklý produkt **2**.

Jak již bylo zmíněno, organokovový fragment RuCp^{*+} je jakožto elektron akceptorový substituent schopen stabilizovat intermediáty se záporným nábojem v benzylové pozici. Dekarboxylace prostřednictvím anionového intermediátu je charakteristická pro karboxylové kyseliny, které mají na α -uhlíku navázané silné elektron akceptorové substituenty. Jako příklad lze uvést dekarboxylaci kyseliny trichloroctové za pokojové teploty v DMSO.^[53]

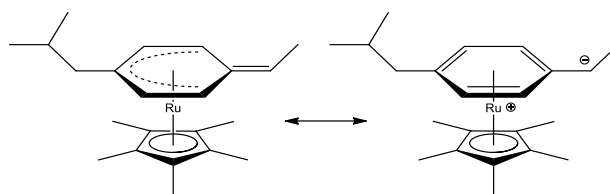
Dalším příkladem, pro naše účely poněkud více názorným, je dekarboxylace solí fenylactových kyselin s elektron akceptorovými substituenty na aromatickém jádru. Jako příklad lze uvést opět termální dekarboxylaci, tentokrát však draselné soli kyseliny 4-nitrofenylactové (obr. 30).^[54]



Obrázek 30. Dekarboxylace kyseliny 4-nitrofenylactové v DMSO

Srovnávat vliv organokovového fragmentu RuCp^{*+} s elektron akceptorovými substituenty na aromatickém jádře se může zdát poněkud zvláštní, ale v obou případech dochází v benzylové pozici ke stabilizaci záporného náboje vlivem elektronových efektů.

Elektron akceptorové substituenty na benzenovém jádře budou záporný náboj delokalizovaný na aromatickém cyklu stabilizovat, zatímco elektron donorové jej budou prostřednictvím elektronové repulze destabilizovat.^[55] Koordinovaný RuCp*⁺ fragment by mohl stabilizovat negativní náboj přechodem na η^5 -koordinaci, přičemž aren by byl formálně vázán jako η^5 -pentadienový anion, stále by tedy vystupoval jako donor šesti elektronů. Toto lze nastínit rezonančními strukturami na obrázku 31.



Obrázek 31. Rezananční struktury pravděpodobného intermediátu.

Jak již bylo řečeno v úvodu (1.2) přechodem $\eta^6 \rightarrow \eta^5$ se vysvětluje stabilizace nukleofilních intermediátů při deprotonaci v benzylové pozici η^6 -arenových komplexů s fragmentem RuCp*⁺, RuCp⁺ nebo například Cr(CO)₃.

Nutno ovšem zmínit, že se prozatím jedná pouze o hypotézu, jejíž další výzkum přesahuje rámec této práce. V budoucnu bude nutné provést například kinetická měření a experimenty, jejichž cílem bude záchyt reaktivního anionového intermediátu.

2.4 Izolace připravených látek

Vzhledem k tomu, že v případě obou metod příprav využitých v rámci této práce byl ligand přidáván v nadbytku, byla po provedení reakce nutná další purifikace. Pro tyto účely lze např. využít sloupcové chromatografie. Klasická sloupcová chromatografie je ovšem časově náročná. Alternativou může být flash chromatografie, při které se ovšem pracuje s vyšším tlakem a je nutné užití speciálního laboratorního vybavení. Pro přečištění některých látek, které si tato práce stanovila za cíl, byla užitá tzv. suchá sloupcová vakuová chromatografie (dále jen jako DCVC z anglického dry column vacuum chromatography). Mezi výhody této metody patří dostupnost laboratorního vybavení, nižší časová náročnost a eliminace rizika popraskání kolony. Podrobně je tato metoda popsána v experimentální sekci.

2.5 Extrakce ibuprofenu z tablet

2.5.1 Bazická extrakce

Nejprve byl ibuprofen extrahován z tablet bazickou cestou, která již byla popsána v literatuře.^[56] Na rozdíl od původního článku byl použit KOH namísto NaOH a bylo pracováno s většími navážkami tablet (deset 400mg namísto dvou 600mg tablet) a také doba míchání suspenze tablet v alkalickém roztoku byla v našem případě delší (hodina namísto pár minut). Nicméně výtěžek byl vzhledem k uváděnému obsahu v tabletách podstatně nižší ve srovnání s literaturou (našich 19 % proti 92 %). Důvodem mohlo být např. nedostatečné rozmělnění tablet v třecí misce. Jistou roli mohlo hrát i skutečnost, že v našem případě byla extrakce prováděna z jiného generika.

Vzhledem k neuspokojivému výtěžku bylo přistoupeno k extrakci ethylacetátem.

2.5.2 Extrakce ethylacetátem

Složení tablet krom samotného ibuprofenu zahrnovalo různé pomocné látky špatně rozpustné v polárních organických rozpouštědlech (např. celulóza, oxid křemičitý, oxid titaničitý či mastek). Tablety také nebyly potahované žádnými organickými barvivy. To a zároveň vysoká rozpustnost ibuprofenu v ethylacetátu (864.4 g/kg při 30 °C)^[57] vedly k nápadu využít k extrakci právě ethylacetát. Extrakcí ibuprofenu pomocí ethylacetátu z drcených tablet bylo vždy dosaženo výtěžků nad 80 %. Nutno zmínit i nenáročnost v porovnání s bazickou extrakcí.

Při odpařování roztoku ibuprofenu v ethylacetátu na vakuové odparce se ukázalo jako velice efektivní ke konci odpařování odstavit baňku z vodní lázně a odpařovat bez zahřívání. Roztok se zchladil, tím se snížila rozpustnost a ibuprofen se vysrážel jako bílý prášek. Pokud byla baňka do samého konce odpařování ponořena ve vodní lázni, produkt byl žlutý olej s konzistencí připomínající asfalt, který přešel na pevnou fázi až po umístění baňky do mrazáku.

2.6 MS ESI⁺

Ionizace elektrosprejem patří mezi měkké metody ionizace používané v hmotnostní spektrometrii. Dochází tedy k minimální fragmentaci a zpravidla bývá detekován molekulární ion. Látky připravené v této práci jsou iontového charakteru, přičemž komplexní částice byla vždy kation, proto byl zvolen pozitivní mód. Cílem byla detekce molekulového iontu, jehož přítomnost nasvědčovala skutečnosti, že se požadované látky skutečně podařilo připravit. Distribuce molekulových iontů závisela na izotopovém složení látek, proto je vždy srovnáno experimentální spektrum s vypočteným spektrem pomocí programu IsotopeViewer. Spektra jednotlivých látek jsou obsažena v dodatku, výčet molekulárních kationtů je v tabulce 2 níže.

Spektra byla získána z roztoku látky v 30% roztoku methanolu ve vodě s 0.1% kyselinou mravenčí, proto byla vidět kationtová forma zwitteriontového komplexu **1**.

Tabulka 2. Molekulární kationy zaznamenané na ESI-MS⁺

Komplex	Kationová část	Experimentální m/z	Teoretické m/z
1EtCl	[Ru(η^6 -ibuOEt)Cp*] ⁺	471	471
1	[Ru(η^6 -ibu)Cp*] ⁺	443	443
1HPF₆	[Ru(η^6 -ibu)Cp*] ⁺	443	443
2X	[Ru(η^6 -1-ethyl-4-isobutylbenzen)Cp*] ⁺	399	399
3	[Ru(η^6 -BnOH)Cp*] ⁺	345	345
4	[Ru(η^6 -BnOibu)Cp*] ⁺	533	533

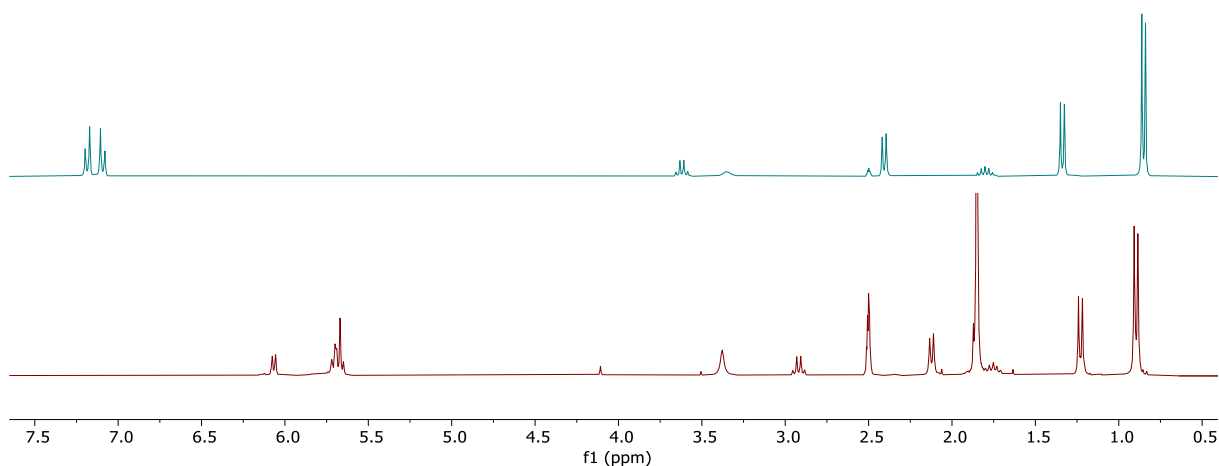
2.7 NMR spektroskopie

Připravené látky byly charakterizovány metodami ^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR, přičemž ve specifických případech bylo měřeno i 2D NMR. Kompletní výčet chemických posunů a integračních konstant je obsažen v experimentální sekci. Spektra byla měřena v roztoku DMSO při 25 °C na přístroji Varian Mercury 300 (^1H při 300 MHz, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ při 75 MHz), $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ při 282 MHz).

2.7.1 ^1H NMR

Opakujícím jevem všech komplexů byl velmi intenzivní signál methylových vodíků na Cp^* , který se na ^1H spektrech objevuje jako singlet okolo 1.85 ppm. Komplexy dále spojovaly signály aromatických vodíků, které byly zároveň důkazem koordinace arenu na RuCp^{*+} fragment, vzhledem k charakteristickému posunu signálů arenových vodíků směrem od cca. 7 ppm k 6 ppm. Opakoval se také signál vody okolo 3.33 ppm.

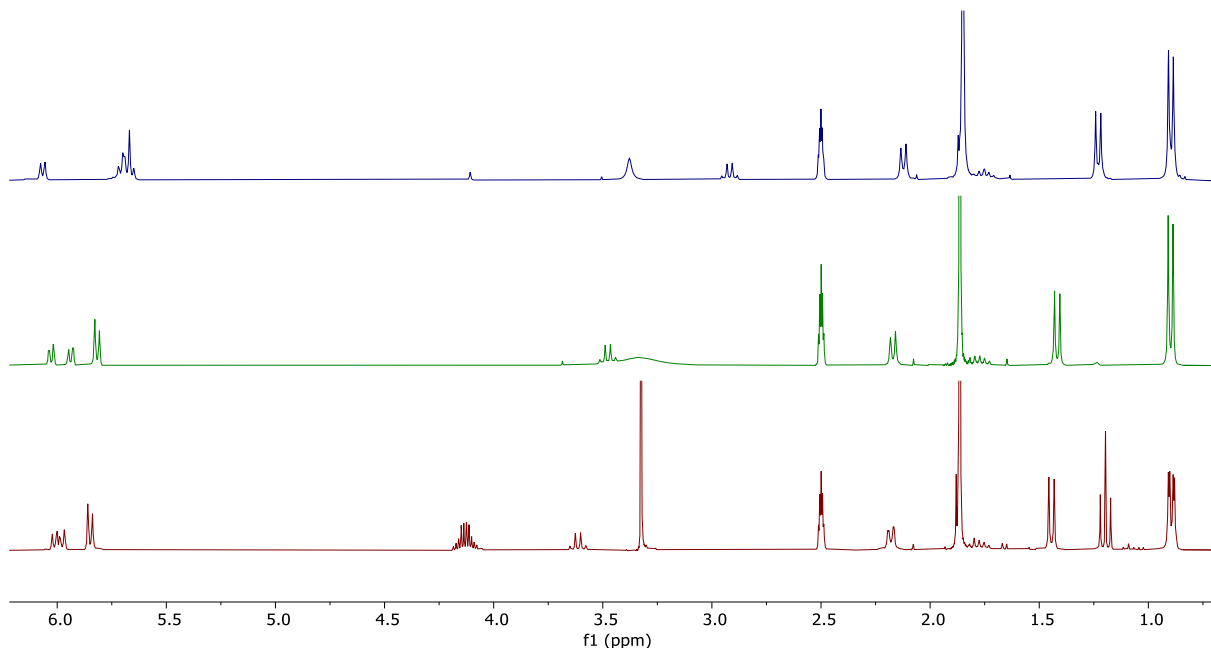
Výše zmíněné lze dobře demonstrovat na srovnání zwitteriontového komplexu **1** se samotným ibuprofenem (obr. 32). Na první pohled je patrný posun signálů aromatických protonů ibuprofenu po koordinaci na kovové centrum od původního multipletu se středem při 7.14 ppm k dubletu v 6.07 ppm a multipletu v 5.69 ppm. K samotnému posunu dochází vlivem koordinace diamagnetického ruthenia ale pozoruhodné je také rozdělení původního multipletu na zmíněné dva sety signálů, jejichž integrály odpovídají poměru 1 : 3 (viz dodatek). K tomuto jevu dochází patrně zabráněním volné rotace této skupiny.



Obrázek 32. Srovnání (shora) ^1H NMR ibuprofenu a komplexu **1**.

Vliv RuCp^{*+} fragmentu se výrazně projevil i na chemických posunech vodíkových jader v benzylové pozici. Dobrou demonstrací je posun dubletu dvou methylenových vodíků

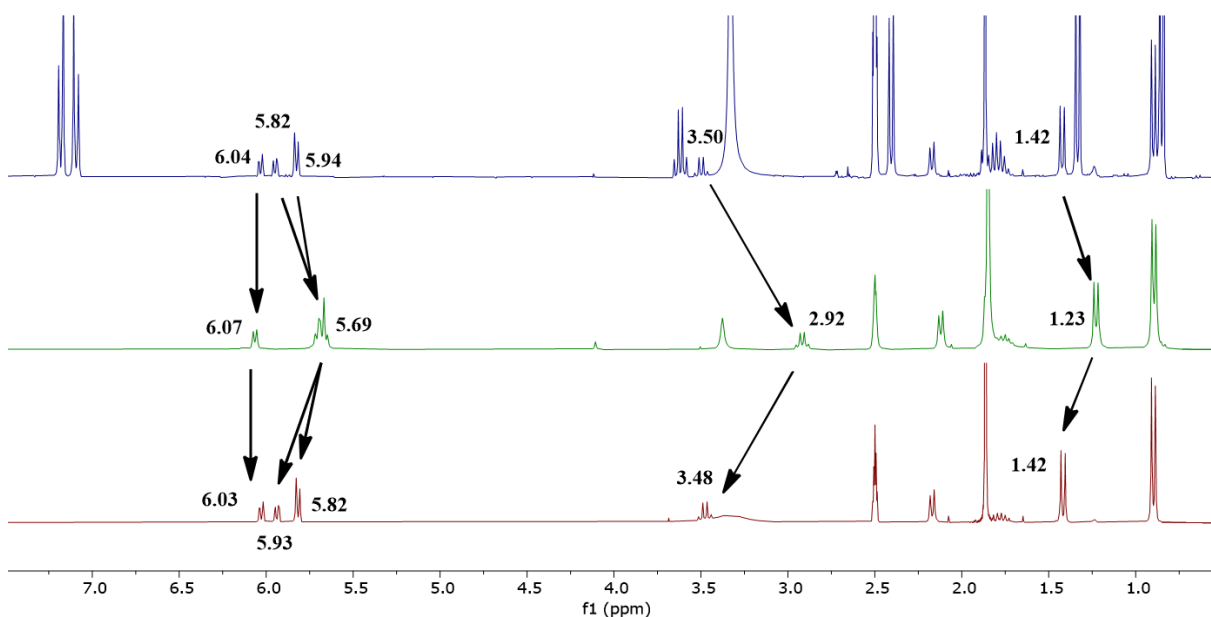
na isobutylovém substituentu od 2,41 ppm k 2,12 ppm. Menší změny v posunech se projeví i na signálech vzdálenějších vodíkových jader, které v tomto případě nebyly tak výrazné.



Obrázek 33. Srovnání (shora) ^1H NMR zwitteriontového komplexu **1** a kationových **1HPF₆** a **1EtCl**.

Na srovnání ^1H NMR komplexů s η^6 -vázanými deriváty ibuprofenu (obr. 33) lze pozorovat rozličné štěpení signálů aromatických vodíků. K tomuto jevu docházelo vlivem bránění volné rotace substituentu s COO-R skupinou, štěpení bylo charakteristické pro každý komplex a k přiřazení signálů bylo využito 2D NOESY (více v sekci 2.7.3). Za zmínku dále stojí především signály ethylu v ethylesterovém komplexu **1EtCl**, signály terminálních OCH_2CH_3 vodíků jsou při 1.20 ppm jako triplet. Sousední OCH_2CH_3 vodíky jsou při 4.12 ppm jako multiplet (nikoliv jako prostý kvadruplet) v důsledku blízkého chirálního centra.

^1H NMR spektra byla užitečný nástroj mapování vzniku látek **1** a **1HPF₆** (obr. 34, více v sekci 2.1.2). Na spektru surového produktu jsou patrné signály koordinovaného a nekoordinovaného ibuprofenu. Koordinovaný ibuprofen je součástí kationového komplexu $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ibuprofen})\text{Cp}^*]\text{Cl}$. Prostřední spektrum přísluší zwitteriontovému komplexu **1**, který vznikl z přechodného kationového komplexu zbavením hydrochloridu na alumině. Poslední spektrum přísluší kationovému komplexu **1HPF₆**, který vznikl okyselením komplexu **1** a následnou výměnou anionu ve vnější koordinační sféře. Pro účely srovnání jsou vybrány takové signály, na jejichž posunech jsou patrné nejvýraznější změny.

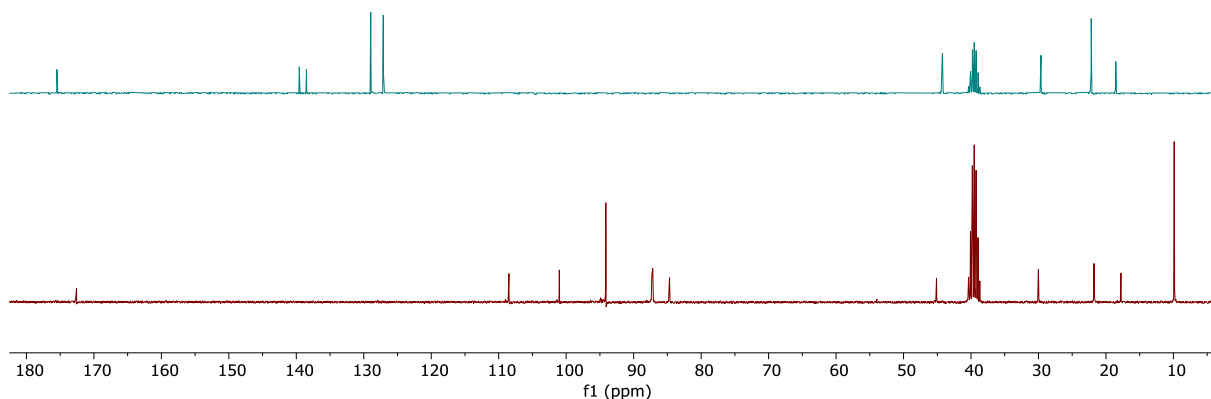


Obrázek 34. Srovnání ^1H NMR spekter, shora surový produkt přípravy komplexu **1** (viz sekce 2.1.2), zwitteriontový komplex **1** a kationový komplex **1HPF₆**.

Na první pohled je zřejmé, že se ta část spektra surového produktu, která přísluší kationovému komplexu $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ibuprofen})(\text{Cp}^*)]\text{Cl}$, takřka neliší od spektra komplexu **1HPF₆**. Dublet, který příslušel $-\text{CH}_3$ skupině navázané na chirálním centru, se posunul v případě zwitteriontového komplexu **1** od 1.42 k 1.23 ppm. Ještě výraznější posun je patrný pro kvadruplet vodíku na chirálním centru od 3.50 k 2.92 ppm. Změnily se také posuny a charakter signálů aromatických protonů. V případě kationových komplexů i zwitteriontového dochází k bránění volné rotace, ale konformace je jiná. Nicméně struktura aromatických signálů slouží jako názorný důkaz vzniku zwitteriontu. K přiřazení jednotlivých signálů aromatických vodíků bylo využito 2D NOESY NMR.

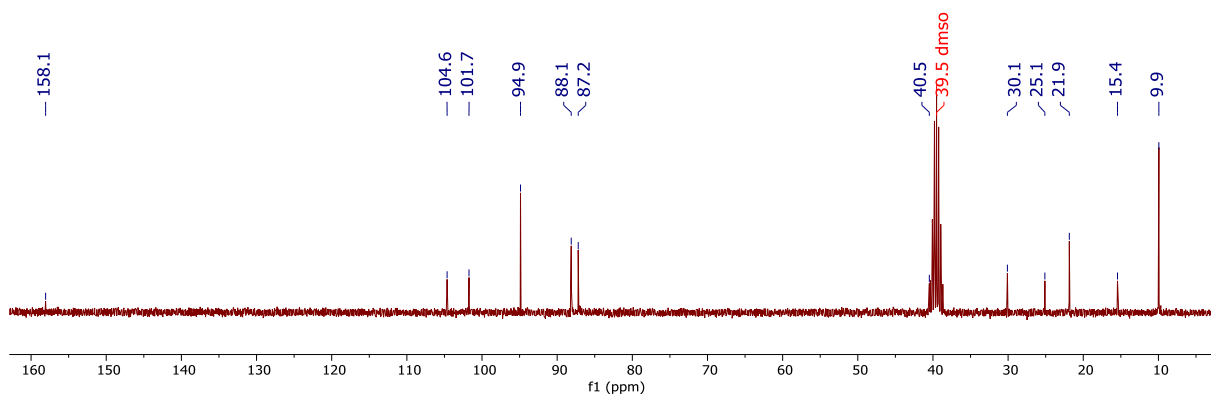
2.7.2 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR

Koordinace arenu na RuCp^{*+} fragment se na $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR projeví do jisté míry podobně jako na ^1H NMR. Vidíme výrazný posun všech uhlíků náležících benzenovému jádru směrem k většímu stínění. Pro příklad lze uvést posun uhlíku, na kterém je navázána isobutylová skupina. V obyčejném ibuprofenu se signál v naměřeném spektru vyskytuje u 139.6 ppm, po koordinaci se posune k 108.5 ppm. Podobně jako na ^1H NMR byly zaznamenány také posuny v benzylové pozici (tentokrát benzylových uhlíků). Například signály uhlíku v benzylové poloze na isobutylovém substituentu se posunuly u komplexů **1**, **1HPF₆** i **1EtCl** k rozmezí signálů od 40.1 po 40.4 ppm. Nekoordinovaný ibuprofen má signál tohoto uhlíku při 44.2 ppm.

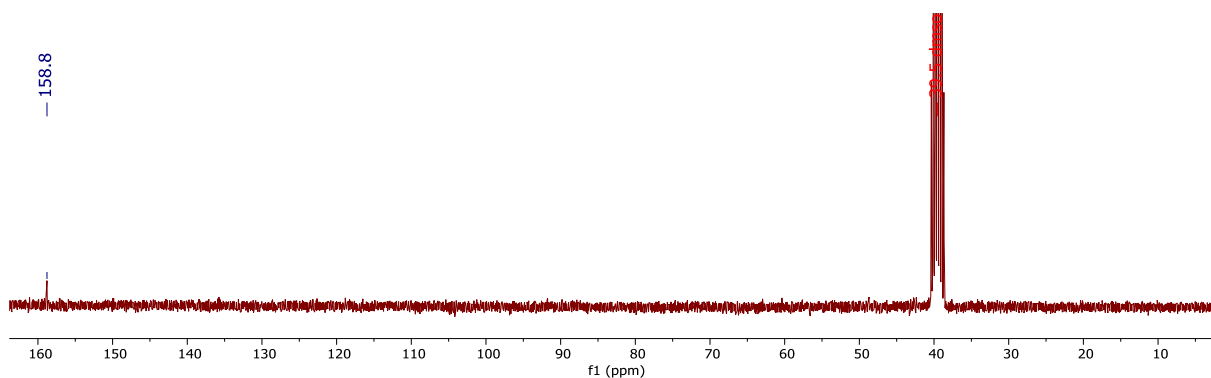


Obrázek 35. srovnání $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (shora) ibuprofen, komplex 1.

^{13}C NMR spektra byla důležitá pro charakterizaci komplexu **2**. Komplexní kation byl rozpoznán především pomocí ESI-MS⁺ a ^1H NMR, rozpoznat anion bylo ovšem problematictější. V případě dekarboxylace v DMSO byl očekávaný anion HCO_3^- , což se podařilo potvrdit na $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektru (158.1 ppm), viz obrázek 36. Chemický posun je v souladu s posunem $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ v KHCO_3 (158.8) na obrázku 37.



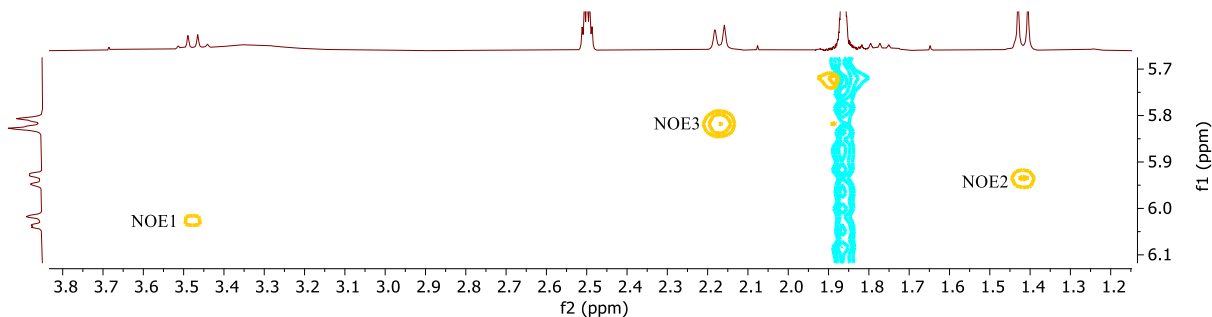
Obrázek 36. $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektrum komplexu 2



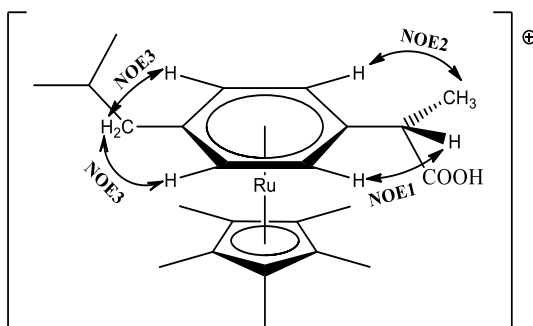
Obrázek 37. $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektrum KHCO_3 rozpuštěných ve směsi H_2O a $\text{DMSO-}d_6$, v objemovém poměru 1 : 7.

2.7.3 NOESY

Pomocí NOESY lze zjistit prostorové interakce a to až do vzdálenosti 5 Å. Hodí se tedy pro zjištění prostorové konformace molekuly. Pro účely této práce byla NOESY spektra využita pro přiřazení signálů aromatických vodíků komplexů **1**, **1EtCl** a **1HPF₆**. Jako příklad je zde uvedeno NOESY spektrum komplexu **1HPF₆** (viz obr. 38, molekulová struktura na obr. 39).



Obrázek 38. 2D NOESY spektrum komplexu **1HPF₆**.

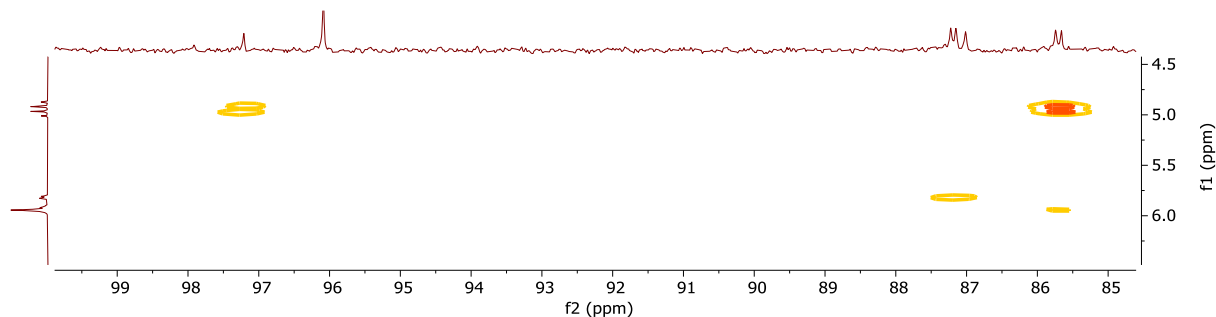


Obrázek 39. Struktura komplexu **1HPF₆** s vyznačenými NOESY interakcemi.

V tomto případě komplex vystupuje jako komplexní kation s komplexním anionem PF_6^- ve vnější koordinační sféře. Na ^1H NMR spektru se aromatické vodíky projevily jako tři zdánlivé dublety (při bližším přiblížení je patrné, že jde spíše o multiplety) s integrály 2:1:1. Multiplet v 5.82 ppm náleží dvěma vodíkům, které jsou blíže isobutylovému substituentu, na NOESY je zřetelná jejich interakce s vodíky v benzylové pozici na isobutylu (2.17 ppm). Signály vodíků které jsou blíže substituentu s COOH skupinou se rozdělily na dva multiplety v 5.93 ppm a 6.03 ppm. Multiplet v 5.93 ppm interaguje nejsilněji s dubletem methyly na chirálním centru (1.42 ppm), druhý multiplet 6.03 ppm interaguje s kvadrupletem chirálního vodíku v 3.48 ppm. K bránění volné rotace substituentu s COOH skupinou dochází zřejmě vlivem elektronových i sterických efektů. K podobnému jevu docházelo i u komplexů **1** a **1EtCl**, zbylá NOESY spektra jsou obsažena v dodatku práce, přiřazení jednotlivých signálů aromatických vodíků je předmětem experimentální části.

2.7.4 gHMBC

gHMBC je metoda 2D NMR, kterou lze zaznamenat heteronukleární interakce jader i přes více než jednu vazbu. Tato metoda byla použita pro komplex **4**.



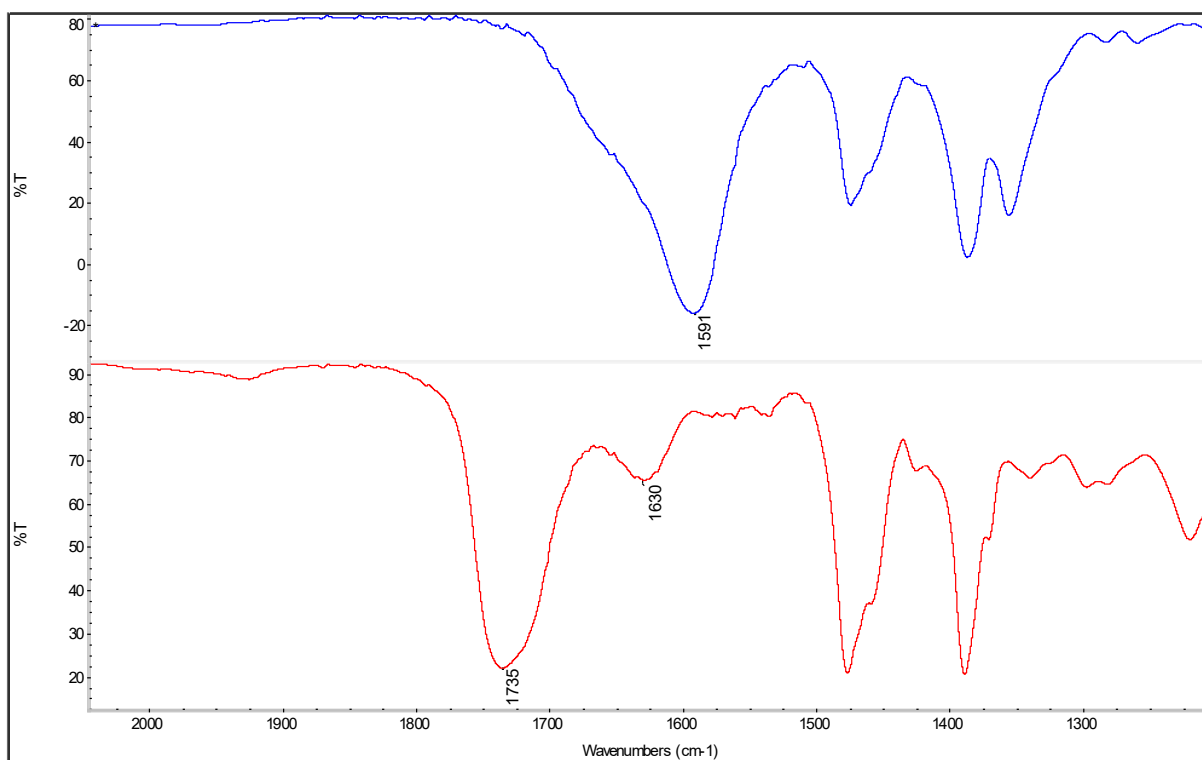
Obrázek 40. HMBC komplexu **4**

Na obrázku 40 je patrná interakce benzylových vodíků ($2 \times d$, střed v 4.94 ppm) na koordinovaném benzylalkoholu se signálem na $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ spektru náležícímu ipso uhlíku s posunem 97.2 ppm koordinovaného benzylalkoholu. Benzylové vodíky komplexu **3** byly na ^1H NMR jako dublet při 4.32 ppm (štěpený protonem na OH). Rozštěpení signálu v důsledku přítomnosti chirálního centra a posun k 4.94 ppm byl důkaz vzniku esterové vazby (v komplexu **4**).

2.8 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektra připravených látek byla naměřena jako suspenze v lisované tabletě KBr. Naměřená spektra spojovaly signály valenční vibrace vibrace C-H vazeb aromatického kruhu okolo 3050 cm^{-1} . Dále také například signály vibrace asymetrické valenční vibrace CH_3 (okolo 2960 cm^{-1}) a CH_2 skupiny (okolo 2922 cm^{-1}). Příslušné symetrické valenční vibrace CH_3 (okolo 2868 cm^{-1}) a CH_2 skupiny (okolo 2847 cm^{-1}) byly často neznatelné kvůli nižší intenzitě. Na spektrech byl častým ač ryze negativním prvkem, kvůli překryvu s dalšími signály, široký signál valenční O-H vibrace okolo 3420 cm^{-1} , který náležel vodě.

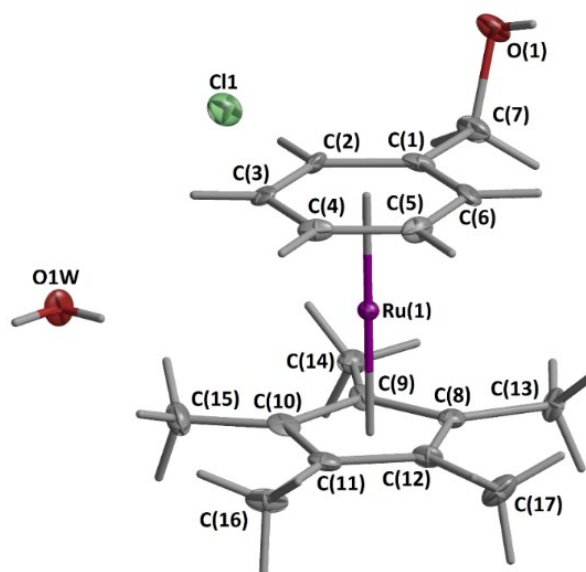
Infračervená spektra byla v rámci této práce důležitá při identifikaci zwitteriontového komplexu **1** (obr. 41). V případě karboxylátů (komplex **1**) je charakteristickým signálem silná asymetrická valenční vibrace COO^- skupiny,^[58] u komplexu **1** při 1591 cm^{-1} . Podobně intenzivní symetrická valenční C=O vibrace nekoordinovaného ibuprofenu byla při 1720 cm^{-1} , v případě **1HPF₆** byla při 1735 cm^{-1} .^[58] Ve spektru **1HPF₆** byly patrné signály vibrací příslušící vibracím komplexního anionu PF_6^- , např. 1630 (m) , 837 (vs) , $558\text{ (vs)}\text{ cm}^{-1}$.^[59]



Obrázek 41. Infračervené spektrum komplexů (shora) **1** a **1HPF₆**, vyznačené vibrace: asymetrická COO^- : 1591 cm^{-1} , symetrická C=O 1735 cm^{-1} , jedna z vibrací PF_6^- 1630 cm^{-1} .

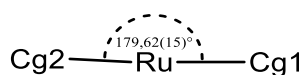
2.9 Rentgenová strukturální analýza

Krystalová struktura komplexu **3** nebyla doposud publikována. Krystaly komplexu **3**·H₂O byly získány pomalou kapalnou difuzí dichlormethanu do roztoku komplexu v methanolu při nízké teplotě (-18 °C). Komplex vykrytalizoval jako monohydrát do kosočtverečné (orthorombické) krystalové soustavy. Molekulová struktura je na obrázku 42, krystalové parametry jsou v experimentální části v tabulce 5.



Obrázek 42. Molekulová struktura komplexu **3**·H₂O v pevné fázi.

Vzdálenost ruthenia a aromatických uhlíků C(1) až (6) se pohybovala v rozmezí od 2.189(9) do 2.234(9) Å (tabulka 3). Podobné vzdálenosti byly zaznamenány mezi rutheniem a uhlíky pětičlenného cyklu Cp* tedy C(8) až C(12) v rozmezí od 2,175(7) do 2.192(8) Å (tabulka 4). Pro další účely byl vytvořen v obou cyklech bod C_g (pro aren C_g2, pro Cp* C_g1), což je vlastně těžiště příslušného cyklu. Myšlené úsečky Ru-C_g1 a Ru-C_g2 svíraly úhel 179.62(15) ° (obr. 43).



Obrázek 43. Znázornění úhlu mezi úsečkami spojující geometrické středy cyklů C_g1 a C_g2 a centrální kov Ru.

Pro uhlíky obou cyklů byly vytvořeny tzv. roviny nejmenších čtverců. Odchylna benzylového C(7) uhlíku od roviny C(1)-C(6) činila 0.047(5) Å, mírně mířila směrem k centrálnímu kovu. K opačnému jevu došlo v malé míře u methylů na Cp*, které se odchylovaly od roviny nejmenších čtverců směrem od centrálního kovu, odchylky se pohybovaly mezi hodnotami 0.04(2) až 0.07(1) Å.

Tabulka 3. Vzdálenosti aromatických uhlíků od centrálního kovu.

	C(1)	C(2)	C(3)	C(4)	C(5)	C(6)	Cg2
Vzdálenost (Å) od Ru	2.209(3)	2.215(6)	2.234(9)	2.208(3)	2.189(9)	2.206(6)	1.698(3)

Tabulka 4. Vzdálenosti vnitřních uhlíků Cp* a centrálního kovu.

	C(8)	C(9)	C(10)	C(11)	C(12)	Cg1
Vzdálenost (Å) od Ru	2.192(8)	2.175(7)	2.180(7)	2.187(3)	2.181(7)	1.810(3)

3 Závěr

Tato práce si kladla za cíl vyvinout syntetické metody vhodné pro navázání ibuprofenu na kationové Cp* arenové komplexy ruthenia. Zvolenými metodami přípravy byl naplněn původní plán syntézy dvou kationových komplexů ruthenia, které ve své struktuře zahrnují ibuprofen. Od komplexu **3**, který byl připraven jako prekurzor komplexu **4**, byla získána krystalová struktura. Látky byly charakterizovány pomocí ^1H a ^{13}C NMR, IR spektroskopie a ESI-MS. Byla zaznamenána pozoruhodná dekarboxylace zwitteriontového komplexu **1**, která bude předmětem dalšího bádání. Všechny připravené látky budou postoupeny biologickému testování, které bude probíhat ve spolupráci s Masarykovým onkologickým ústavem v Brně.

Do budoucna lze uvažovat o využití vyvinuté metody přípravy komplexu **4** pro navázání jiných biologicky aktivních látek pomocí esterové vazby na komplex **3**. Vzhledem k podobnosti s ibuprofenem se jako další možnost nabízí naproxen.

Dekarboxylaci zwitteriontového komplexu **1** bude věnována pozornost i nadále. Jak již bylo zmíněno, je nutné provést např. kinetická měření a ověřit, zdali skutečně dekarboxylace probíhá prostřednictvím nukleofilního intermediátu (viz sekce 2.3). Pokud ano, nabízí se široká škála možných reakcí s elektrofilu. Naším záměrem je také připravit analogický zwitteriontový komplex, kde by namísto ibuprofenu figurovala kyselina fenylactová a zjistit, jestli i v tomto případě dochází k dekarboxylaci a i na této látce vyzkoušet reakce s elektrofilu (například benzylobromid, jodmethan atd.).

4 Experimentální část

4.1 Obecná část

Veškerá práce, pokud není uvedeno jinak, byla prováděna na argon-vakuové lince pod inertní atmosférou. Bylo pracováno se Schlenkovou technikou, především v baňkách s postranními kohouty, které byly opatřeny zábrusy uzavřenými skleněnou zátkou nebo septem. Pro práci s kapalinami byly využity injekční stříkačky, které ovšem byly vždy nejprve odplyněny a naplněny argonem. S citlivými pevnými substancemi (např. $[\text{RuCp}^*\text{Cl}]_4$) bylo pracováno v gloveboxu mBraun Labmaster 130 pod atmosférou dusíku.

4.1.1 Použité chemikálie a rozpouštědla

Všechna rozpouštědla, se kterými bylo pracováno byly pečlivě odplyněna (zbavena rozpuštěného kyslíku probubláváním argonu). Ve specifických případech byla použita suchá rozpouštědla uchovávaná nad molekulovými sítí. Z prekurzorů byl použit $[\text{RuCp}^*\text{Cl}]_4$ (Strem Chemicals), $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (Strem Chemicals), pentamethylcyklopentadienyl (Sigma Aldrich), ibuprofen (Dr. Max, SUKL kód: 224946).

4.1.2 Využití analytické metody

NMR spektroskopie:

K naměření NMR spekter byl využíván přístroj Varian Mercury 300 (^1H při 300 MHz, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ při 75 MHz). Jako rozpouštědlo byl vždy použit nesusšený deuterovaný dimetyl-sulfoxid, který zároveň sloužil jako vnitřní reference (dmso- d_6 : ^1H 2.50 ppm, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ 39.52 ppm, $T = 298 \text{ K}$). Ke zpracování spekter byl použit program MestreNova.

IR spektroskopie:

Infračervená spektra byla naměřena v pevné fázi ve formě lisovaných tablet vzorku s KBr na přístroji Nicolet Avatar FTIR. Ke zpracování spekter byl použit program Omnic.

ESI-MS

Spektra byla měřena na Thermo Finnigan LCQ Advantage iontové pasti, hmotnostní rozsah byl 50-1000 Da. Průtok kapaliny cca. $5 \mu\text{l min}^{-1}$. Rozpuštěno v 30% roztoku methanolu ve vodě s 0.1% kyselinou mravenčí (pro zvýšení vodivosti). Transportní kapilára měla $170 \text{ }^\circ\text{C}$.

Dávkování probíhalo pomocí dávkovací smyčky. Bylo pracováno v pozitivním módu. Vložené napětí na ESI kapiláře bylo cca. 3,5 kV. Ke zpracování spekter byl použit program QualBrowser.

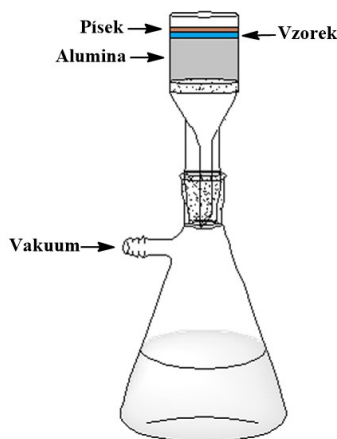
Bodotávek

Body tání (popř. teploty rozpadu) byly stanoveny pomocí bodotávku Buchi B-540 Melting Point Apparatus.

4.1.3 Metoda separace látek DCVC

DCVC je laboratorní technika, která slouží k separaci látek. Princip je vlastně stejný jako u klasické sloupcové chromatografie. Jako stacionární fáze slouží silikagel nebo alumina, přičemž separované látky k ní mají rozdílnou afinitu (obr. 44).

Jako nádoba pro kolonu stačí S3 fritra, přičemž stacionární fáze je na ni nanášena v suché formě a za podtlaku následně udusána, aby nedocházelo ke tvorbě kanálků.^[60] Délka sloupce je v literatuře uváděna v rozmezí 6 až 7 centimetrů,^[61] v rámci této práce bylo pracováno s 5cm sloupcem, na kterém se dařilo separovat směsi o hmotnosti okolo 600 mg. Zdaleka nejjednodušší způsob jak nanést vzorek na kolonu je jeho adsorpce na menší množství aluminy, která je poté přidána na vrch kolony, který je poté dále zasypán pískem nebo přikryt filtračním papírem, aby se zamezilo rozvíření jeho povrchu při přidávání eluentu.



Obrázek 44. Nákres konstrukce DCVC

Následně je takto připravená kolona připevněna do baňky s bočním vývodem, na kterou je připojen zdroj vakua a do které jsou sbírány frakce o příslušném objemu. Je proto velice užitečné, pokud je použitá fritra opatřena zábrusem. Jako zdroj vakua stačí vodní vývěva, silnější vakuové systémy (jako např. olejová vývěva) jsou spíše na škodu, kvůli riziku imploze.

Výběr stacionární fáze tentokrát nezávisí jen na vhodném retenčním faktoru složek směsi, ale také na těkavosti, není žádoucí, aby se jednotlivé frakce během chromatografie v nádrži odpařovali. Problematická mohou být nízkovroucí rozpouštědla jako dichlormethan, nicméně methanol se v našem případě (tedy za využití vodní vývěvy) jevil bezproblémově.

4.2 Syntetická část

4.2.1 Extrakce ibuprofenu z tablet

Bazická extrakce ^[56]

10 bílých tablet (400 mg/tableta, celkem 19.4 mmol) ibuprofenu (SUKL kód: 224946) bylo rozdrceno v třecí misce spolu s KOH (7.480 g, 133 mmol). Prášek byl následně rozpuštěn ve vodě (135 ml), přefiltrován přes filtrační papír a poté okyselen koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou (133 mmol, 32%, 10.2 M, 13 ml). Ibuprofen se vysrážel jako žlutý prášek (0.767 g). Výtěžek vzhledem k uváděnému obsahu ibuprofenu v tabletách 19 %.

Extrakce ethylacetátem

25 bílých tablet (400 mg/tableta) ibuprofenu (SUKL kód: 224946) bylo rozdrceno v třecí misce. Připravený prášek byl převeden do 1000ml Erlemeyerovy baňky spolu s 400 ml ethylacetátu. Směs byla za laboratorní teploty ponechána míchat na magnetické míchačce 4 dny. Následně byla směs přefiltrována přes S3 fritu. Filtrát byl odpařen na rotační odparce. Takto bylo získáno 8.744 g bílého prášku. Výtěžek vzhledem k uváděnému obsahu ibuprofenu v tabletách činil 87 %.

Charakterizace ibuprofenu: ¹H NMR (dms_o-d₆): δ 0.85 (d, ³J_{HH} = 6.6 Hz, 6H, CH(CH₃)₂), 1.34 (d, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 3H, CHCH₃), 1.71-1.89 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 2.41 (d, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 2H, CH₂CH), 3.62 (q, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 1H, CHCH₃), 7.08-7.20 (m, 4H, C₆H₄), 12.23 (s, 1H, COOH). ¹³C{¹H} NMR (dms_o-d₆): δ 18.5 (CHCH₃), 22.2 (CH(CH₃)₂), 29.6 (CH(CH₃)₂), 44.2 (CH₂CH), 44.3 (CHCH₃), 127.1 (CH, C₆H₄), 129.0 (CH, C₆H₄), 138.5 (C_qCH, C₆H₄), 139.6 (C_qCH₂, C₆H₄), 175.5 (COOH).

IR (KBr): 3089 (m), 3044 (m), 3019 (s), 2991 (s), 2979 (s), 2955 (s), 2922 (m), 2869 (s), 2729 (m), 2695 (m), 2665 (m), 2632 (m), 2600 (m), 2541 (w), 1803 (w), 1720 (vs), 1508 (m), 1462(m), 1451 (m), 1420 (s), 1380 (m), 1365 (w), 1321 (s), 1268 (s), 1231 (s), 1184 (s), 1168

(w), 1123 (w), 1092 (w), 1074 (m), 1067 (m), 1008 (m), 970 (m), 936 (s), 880 (w), 866 (m), 849 (w), 820 (vw), 780 (s), 747 (w), 691 (w), 669 (m), 637 (w), 589 (w), 522 (w), 480 (vw), 422 (w) cm^{-1} .

Teplota tání: 75 °C (v literatuře pro racemickou směs: 75 ± 0.3 °C)^[62].

4.2.2 Příprava komplexu 1EtCl

1. příprava

Do 100ml baňky s bočním vývodem byl navážen $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (238 mg 41-43 % Ru, 0.964 mmol), vloženo míchadlo a přidán ethanol (20 ml). Směs byla za stálého míchání přivedena k mírnému refluxu (1 hodina). Po vychladnutí byl do baňky přidán pentamethylcyklopentadien (0.300 ml, 1.93 mmol) a ibuprofen (397 mg, 1.93 mmol) rozpuštěný v 2.5 ml etanolu. Směs byla opět přivedena k mírnému refluxu (11 hodin).

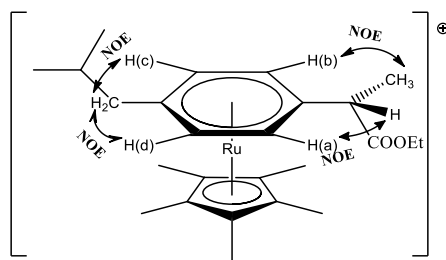
Po vytemperování na pokojovou teplotu byl z reakční směsi odpařen ethanol a směs byla přečištěna na sloupcové chromatografii (obyčejné, ne DCVC). Jako eluent byla použita směs izopropylalkohol/etylacetát 2:3 a následně 1:1 (pro izopropylalkohol/etylacetát 1:1 stanoveny retenční faktory na $\text{TLC}_{\text{alumina}}$ jako $R_f(3) = 0$, $R_f(2) = 0.8$, $R_f(1) = 1$.) První frakce obsahovaly především ethylester ibuprofenu ($R_f(1) = 1$), následoval produkt ($R_f(2) = 0.8$) a neidentifikované anorganické nečistoty zůstaly jako černý depozit na začátku kolony ($R_f(3) = 0$). Frakce obsahující produkt byly odpařeny.

Produkt byl získán ve formě bílého prášku (188 mg). Výtěžek činil 39 %.

2. příprava (ve větší škále)

Do 250 ml baňky s bočním vývodem byl navážen $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (1.190 g 41-43 % Ru, 4.820 mmol), vloženo míchadlo a přidán ethanol (70 ml), pentamethylcyklopentadien (1,500 ml, 9,65 mmol) a ibuprofen (1.985 mg, 9.65 mmol). Směs byla opět přivedena k mírnému refluxu (10 hodin).

Po vytemperování na pokojovou teplotu byl z reakční směsi odpařen ethanol, směs byla sorbována na neutrální alumině a přečištěna na DCVC, jako eluent byl použit ethanol. Čistota po chromatografii nebyla uspokojivá, proto byla provedena znovu a jako eluent byla použita směs izopropylalkohol/etylacetát 2:3 a následně 1:1. Frakce obsahující produkt byly odpařeny. Produkt byl zbaven zbylých nečistot pomocí triturace, nejprve dvakrát 2 ml hexanu, poté třikrát 2 ml diethyletheru a nakonec opět dvakrát 2 ml hexanu. Ze žlutého prášku byl tímto způsobem získán prášek bílý. Produkt byl získán jako bílý prášek (405 mg). Výtěžek činil 17 %.



Obrázek 45. Komplex 1EtCl, pro účely NOESY zvolen enantiomer s absolutní konfigurací S na chirálním centru (ve skutečnosti byl produkt připraven jako racemát)

Charakterizace 1EtCl: ^1H NMR (dms o - d_6): δ 0.89; 0.90 ($2 \times \text{d}$, $2 \times {}^3J_{\text{HH}} = 6.6\text{Hz}$, $2 \times 3\text{H}$, $\text{CH}_2(\text{CH}_3)_2$), 1.20 (t, ${}^3J_{\text{HH}} = 7.2\text{Hz}$, 3H, OCH_2CH_3), 1.44 (d, ${}^3J_{\text{HH}} = 7.2\text{Hz}$, 3H, CHCH_3), 1.72-1.86 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.87 (s, 15H, $\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 2.17-2.19 (m, 2H, CH_2CH), 3.61 (q, ${}^3J_{\text{HH}} = 7.2\text{ Hz}$, 1H, CHCH_3), 4.08-4.18 (m, 2H, OCH_2CH_3), 5.85 (d, ${}^3J_{\text{HH}} = 6.6\text{ Hz}$ 2H, H(c), H(d), C_6H_4), 5.97-6.02 (m, 2H, H(a), H(b), C_6H_4).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (dms o - d_6): δ 9.8 ($\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 13.9 (OCH_2CH_3), 17.1 (CHCH_3), 21,7; 21,7 (dva peaky) ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 30,0 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 40.1 (CH_2CH), 40.7 (CHCH_3), 61.1 (OCH_2CH_3), 85.2 (CH , C_6H_4), 86.8 (CH , C_6H_4), 87.5 (CH , C_6H_4), 87.7 (CH , C_6H_4), 95.2 ($\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 102.3 (C_qCH , C_6H_4), 102.5 (C_qCH_2 , C_6H_4), 172.3 (COOEt).

IR (KBr): 3435 (w), 3208 (w), 3040 (s), 2975 (s), 2956 (s), 2906 (s), 2870 (s), 1729 (vs), 1539 (w), 1477 (s), 1390 (s), 1365 (m), 1334 (w), 1303 (m), 1226 (s), 1190 (s), 1166 (m), 1125 (w), 1101 (w), 1066 (s), 1034 (s), 1006 (w), 927 (vw), 896 (w), 866 (w), 829 (vw), 815 (vw), 773 (vw), 755 (vw), 702 (vw), 645 (vw), 629 (vw), 588 (vw), 588 (vw), 491 (vw), 459 (m), 430 (m), 416 (m) cm^{-1} .

Teplota tání: 170 $^\circ\text{C}$ (rozklad).

ESI-MS $^+$ m/z: 471.

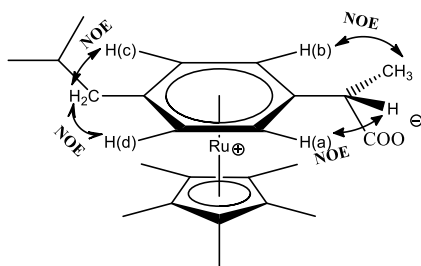
4.2.3 Příprava komplexu 1

Do 300ml baňky s bočním vývodem byl navážen $[\text{Ru}(\text{Cp}^*)\text{Cl}]_4$ (200 mg, 0.184 mmol), vloženo míchadlo a přidán acetonitril (3.3 ml, cca 63 mmol). Reakční směs byla za stálého míchání přivedena k mírnému refluxu dokud se všechny prekurzor zcela nerozpustil (90 $^\circ\text{C}$, 60 minut).

Do druhé 300ml baňky s bočním vývodem byl navážen ibuprofen (302 mg, 1.464 mmol), přidána deionizovaná voda (50 ml) a magnetické míchadlo.

Obsah první baňky byl po vytemperování na pokojovou teplotu převeden pomocí jehly do baňky se suspenzí ibuprofenu ve vodě. Za stálého míchání na magnetické míchačce byla směs ponechána reagovat 3 dny.

K reakční směsi bylo přidáno cca. 5 g aluminu a rozpouštědlo bylo odpařeno do sucha, směs byla tímto způsobem sorbována na aluminu a přečištěna metodou DCVC (jako mobilní fáze byl použit methanol). Výsledný hnědý eluovaný roztok byl odpařen do sucha na vakuové odparce při 30 °C. Odparek měl olejovitou konzistenci, proto byl umístěn do mrazáku. Tímto postupem bylo získáno 320 mg hnědobílého prášku. Výtěžek činil 98 %.



Obrázek 46. Komplex 1, pro účely NOESY zvolen enantiomer s absolutní konfigurací *S* na chirálním centru (ve skutečnosti byl produkt připraven jako racemát)

Charakterizace komplexu 1: ^1H NMR (dms -d_6): δ 0.90 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.23 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, 3H, CHCH_3), 1.71-1.80 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.85 (s, 15H, $\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 2.12 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, 2H, CH_2CH), 2.92 (q, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, 1H, CHCH_3), 5.62-5.75 (m, 3H, H(b), H(c), H(d), C_6H_4), 6.07 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 1H, H(a), C_6H_4)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (dms -d_6): δ 9.9 ($\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 17.8 (CHCH_3), 21.7; 21.8 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 30.0 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 40.4 (CH_2CH), 45.1 (CHCH_3), 84.7 (CH , C_6H_4), 87.1 (CH , C_6H_4), 87.2 (CH , C_6H_4), 87.3 (CH , C_6H_4), 94.1 ($\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 101.0 (C_4CH , C_6H_4), 108.5 (C_4CH_2 , C_6H_4), 172.6 (COO^-)

IR (KBr): 3422 (s), 3049 (w), 2958 (m), 2925 (m), 2909 (m), 2870 (m), 1591 (vs), 1474 (s), 1386 (s), 1355 (s), 1283 (w), 1261 (w), 1210 (w), 1167 (w), 1121 (w), 1073 (w), 1032 (w), 1008 (w), 870 (w), 815 (w), 720 (w), 676 (w), 619 (w), 592 (w), 592 (w), 530 (w), 530 (w), 481 (w), 455 (w), 414 (w) cm^{-1} .

ESI-MS $^+$ m/z: 443.

4.2.4 Příprava komplexu 1HPF₆

Příprava z komplexu 1EtCl

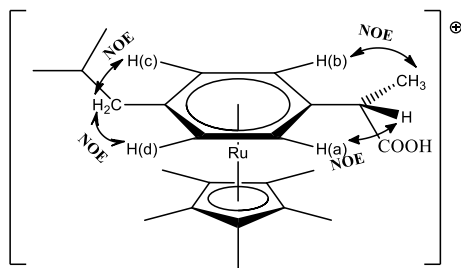
Komplex **1EtCl** (110 mg, 0.217 mmol) byl rozpuštěn v methanolu (10 ml), poté byl přidán hydroxid draselný (15 mg, 0.264 mmol) a reakční směs byla míchána za pokojové teploty (60 minut). Následně byla přidána voda (5 ml) a methanol byl za pokojové teploty odpařen ve vakuu. K reakční směsi byl přidán roztok zředěné kyseliny chlorovodíkové (0.58 M, 1 ml, 0.58 mmol) a směs byla míchána za pokojové teploty (30 minut) a odpařena do sucha ve vakuu.

Odparek byl rozpuštěn v 1 ml vody, okyselen koncentrovanou HCl (36 %) na pH 1 (tento krok byl zbytečný a je uváděn jen pro úplnost) a znovu odpařen.

Odparek byl následně rozpuštěn v 5 ml vody a vysrážen pomocí roztoku KPF₆ (2 ml, 0.3 M, 0.6 mmol). Vzniklá sraženina byla následně promyta vodou (5 ml). Tímto způsobem bylo získáno 60 mg produktu jako hnědého prášku (0.102 mmol). Výtěžek činil 47 %.

Příprava z komplexu 1

Komplex **1** (20 mg, 0.045 mmol) byl rozpuštěn v 2 ml vody a přidán KPF₆ (60 mg, 0.326 mmol). Komplex **1HPF₆** byl vysrážen až po okyselení roztoku HCl (0.58 M, 1 ml, 0.58 mmol). Supernatant byl odtažen injekční stříkačkou a nažloutlý prášek byl promyt dalším 1 ml vody. Produkt byl žlutobílý prášek (23 mg, 0.039 mmol). Výtěžek činil 87 %.



Obrázek 47. Komplex 1HPF₆, pro účely NOESY zvolen enantiomer s absolutní konfigurací S na chirálním centru (ve skutečnosti byl produkt připraven jako racemát)

Charakterizace 1HPF₆: ¹H NMR (dms_o-d₆): δ 0.90 (d, ³J_{HH} = 6.6 Hz, 6H, CH(CH₃)₂), 1.42 (d, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 3H, CHCH₃), 1.71-1.80 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 1.86 (s, 15H, C₅(CH₃)₅), 2.17 (d, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 2H, CH₂CH), 3.48 (q, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 1H, CHCH₃), 5.81-5.83 (m, 2H, H(c), H(d), C₆H₄), 5.93-5.95 (m, 1H, H(b), C₆H₄), 6.2-6.4 (m, 1H, H(a), C₆H₄).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (dms o - d_6): δ 9.8 ($\text{C}_5(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_5$), 17.2 ($\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 21.7 ($\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 30.0 ($\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$), 40.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}$), 41.0 ($\underline{\text{C}}\text{HCH}_3$), 85.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, C_6H_4), 86.9 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, C_6H_4), 87.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, C_6H_4), 87.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, C_6H_4), 95.1 ($\underline{\text{C}}_5(\text{CH}_3)_5$), 102.3 ($\underline{\text{C}}_q\text{CH}$, C_6H_4), 103.1 ($\underline{\text{C}}_q\text{CH}_2$, C_6H_4), 173.9 ($\underline{\text{C}}\text{OOH}$).

IR (KBr): 3430 (m), 3087 (m), 2961 (s), 2932 (m), 2918 (m), 2874 (m), 1735 (s), 1630 (m), 1565 (vw), 1539 (vw), 1476 (s), 1425 (w), 1388 (s), 1338 (w), 1299 (w), 1283 (w), 1219 (m), 1198 (m), 1170 (m), 1123 (vw), 1073 (w), 1032 (m), 1010 (vw), 837 (vs), 738 (vw), 686 (vw), 643 (vw), 558 (vs), 505 (vw), 483 (vw), 459 (vw), 420 (w) cm^{-1} .

^{19}F NMR (dms o - d_6): δ -70.2 ppm (d, $^1J_{\text{PF}} = 712$ Hz).

Teplota tání: 92 °C (rozklad).

ESI-MS $^+$ m/z: 443.

4.2.5 Vznik komplexu 2

15 mg komplexu 1 bylo rozpuštěno v 0.7 ml DMSO- d_6 . Vzorek byl ponechán v NMR kyvetě za pokojové teploty na stinném místě. O 5 měsíců později byl vzorek přeměřen.

Alternativně bylo 15 mg komplexu 1 rozpuštěno v 7 ml DMSO- d_6 . Vzorek byl v NMR kyvetě zahříván na 90 °C po 90 minut. Vzorek byl následně přeměřen.

Charakterizace Komplexu 2: ^1H NMR (dms o - d_6): δ 0.88 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 6H, $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 1.16 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 1.71-1.79 (m, 1H, $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$), 1.85 (s, 15H, $\text{C}_5(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_5$), 2.13 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 2H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}$), 2.33 (q, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 2H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$), 5.76-5.94 (m, 4H, C_6H_4).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (dms o - d_6): δ 9.9 ($\text{C}_5(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_5$), 15.4 ($\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 21.9 ($\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$), 25.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_3$), 30.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$), 40.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}$), 87.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, C_6H_4), 88.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, C_6H_4), 94.9 ($\underline{\text{C}}_5(\text{CH}_3)_5$), 101.7 ($\underline{\text{C}}_q\text{CH}_2$, C_6H_4), 104.6 ($\underline{\text{C}}_q\text{CH}$, C_6H_4), 158.1 ($\text{H}\underline{\text{C}}\text{O}_3^-$).

4.2.6 Vznik komplexu 2X

Ke vzniku komplexu došlo při testování rozpustnosti komplexu 1. Komplex 1 byl rozpuštěn v acetonu a následně odpařen na rotační odparce. Odparek byl následně rozpuštěn ethanolu a opět odpařen (teplota lázně 50 °C). Stejný postup byl opakován pro tetrahydrofuran a nakonec pro ethylacetát. Hnědý odparek měl olejovitou konzistenci, na ^1H NMR byly patrné signály rozpouštědel, proto byl vzorek rozpuštěn v ethanolu, nanesen na aluminu a odpařen. V pevné fázi byl nanesen na DCVC a promyt směsí ethanol : ethyl acetát 1 : 1. Vzniklý roztok byl odpařen za vzniku pevné hnědé látky, která svojí konzistencí připomínala vosk. Odparek

byl následně přeměřen na ^1H a ^{13}C NMR, IR a ESI-MS⁺. Na rozdíl, od dekarboxylace v DMSO, se v tomto případě nepodařilo jednoznačně určit anion ve vnější koordinační sféře.

Charakterizace komplexu 2X: ^1H NMR (dms o -d $_6$): δ 0.89 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 6H, CH(CH $_3$) $_2$), 1.18 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 3H, CH $_2$ CH $_3$), 1.70-1.82 (m, 1H, CH(CH $_3$) $_2$), 1.86 (s, 15H, C $_5$ (CH $_3$) $_5$), 2.14 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 2H, CH $_2$ CH), 2.34 (q, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 2H, CH $_2$ CH $_3$), 5.78-5.96 (m, 4H, C $_6$ H $_4$).

^{13}C { ^1H } NMR (dms o -d $_6$): δ 9.8 (C $_5$ (CH $_3$) $_5$), 15.3 (CHCH $_3$), 21,7 (CH(CH $_3$) $_2$), 25.0 (CH $_2$ CH $_3$), 30.0 (CH(CH $_3$) $_2$), 40.3 (CH $_2$ CH), 87,1 (CH, C $_6$ H $_4$), 88.0 (CH, C $_6$ H $_4$), 94.7 (C $_5$ (CH $_3$) $_5$), 101.6 (C $_q$ CH $_2$, C $_6$ H $_4$), 104.5 (C $_q$ CH, C $_6$ H $_4$).

IR (KBr): 3035 (vs), 3009 (vs), 2965 (vs), 2947 (vs), 2908 (vs), 2863 (vs), 1668 (w), 1634 (w), 1575 (m), 1475 (s), 1462 (m), 1415 (m), 1389 (s), 1330 (w), 1279 (vw), 1227 (vw), 1212 (vw), 1168 (w), 1117 (w), 1075 (vw), 1058 (vw), 1037 (w), 1000 (vw), 990 (vw), 967 (vw), 922 (vw), 904 (vw), 892 (vw), 832 (vw), 816 (vw), 798 (vw), 751 (vw), 683(vw), 644 (vw), 629 (vw), 585 (vw), 542 (vw), 503 (vw), 463 (vw), 441 (vw), 421 (w) cm $^{-1}$.

ESI-MS⁺ m/z: 399.

Teplota tání: 154 °C (rozklad).

4.2.7 Příprava komplexu 3

Metoda vycházející z prekurzoru RuCl $_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$

Do 300ml baňky s bočním vývodem byl navážen RuCl $_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (1.500 g 41-43 % Ru, 6 mmol), vloženo míchadlo, přidán ethanol (75 ml), benzylalkohol (1.241 ml, 12 mmol) a pentamethylcyklopentadien (1.876 ml, 12 mmol). Reakční směs byla za stálého míchání přivedena na mírný reflux (85 °C, 10 hodin).

Po vytemperování směsi na pokojovou teplotu byla do baňky přidána alumina (cca 20 g) směs byla odpařena pomocí vakua do sucha. Směs sorbovaná na alumině byla převedena na 4 cm vysokou kolonu a promyta ethanolem. Všechny barevné fáze byly odpařeny. Odparek byl triturován acetonem. Vzorek byl následně rozpuštěn v 20 ml vody, která byla následně odpařena (spolu s rezidui benzylalkoholu). Tímto způsobem bylo získáno 1.295 g šedohnědého prášku. Výtěžek činil 57 %.

Metoda vycházející z prekurzoru [Ru(Cp*)Cl]₄

Do vysušené 300ml baňky s bočním vývodem bylo naváženo [Ru(Cp*)Cl]₄ (200 mg, 0.184 mmol), vloženo míchadlo a přidán acetonitril (3.3 ml, cca 63 mmol). Reakční směs byla za stálého míchání přivedena k mírnému refluxu dokud se všechny prekurzor zcela nerozpustil (90 °C, 60 minut).

Do 300 ml baňky s bočním vývodem byl přidán pomocí Hamiltonovy stříkačky BnOH (0.15 ml, 1.464 mmol) a deionizovaná voda (50 ml). Roztok BnOH ve vodě byl převeden do první baňky a za stálého míchání za pokojové teploty byla směs ponechána reagovat 4 dny. Následně byla směs odpařena do sucha a posléze znovu rozpuštěna ve vodě a znovu odpařena do sucha. Tímto způsobem bylo možné se zbavit zbytků nezreagovaného BnOH. Produkt byl rekrystalizován rozpuštěním v methanolu převrstvením dichlormethanem a následným umístěním do mrazáku. Kvalitní krystaly byly získány za 13 měsíců (26. 2. 2020 – 25. 3. 2021). Produkt byly oranžové krystaly (241 mg), výtěžek byl 86 %.

Charakterizace komplexu 3: ¹H NMR (dms_o-d₆): δ 1.92 (s, 15H, C₅(CH₃)₅), 4.32 (d, ³J_{HH} = 5.4 Hz, 2H, CH₂), 5.83 (t, ³J_{HH} = 5.4 Hz, 1H, OH), 5.84-5.94 (m, 5H, C₆H₅).

¹³C{¹H} NMR (dms_o-d₆): δ 10.1 (C₅(CH₃)₅), 59.5 (CH₂), 85.0 (CH, C₆H₅), 86.8 (CH, C₆H₅), 86.9 (CH, C₆H₅), 95.6 (s, 5C, C₅(CH₃)₅), 103.6 (C_qCH₂, C₆H₅).

IR (KBr): 3239 (vs), 3084 (s), 3054 (s), 3029 (s), 2995 (s), 2959 (s), 2914 (s), 2880 (s), 2819 (s), 2681 (m), 1701 (m), 1638 (m), 1563 (m), 1523 (m), 1476 (s), 1453 (s), 1400 (s), 1387 (s), 1317 (m), 1263 (m), 1192 (m), 1151 (w), 1138 (m), 1077 (s), 1041 (s), 1008 (w), 995 (w), 984 (w), 963 (vw), 933 (vw), 864 (m), 781 (w), 607 (m), 588 (m), 487 (vw), 465 (w), 444 (m) cm⁻¹.
ESI-MS⁺ m/z: 345.

Teplota tání: 208 °C (rozklad).

4.2.8 Příprava komplexu 4

Do 250ml baňky s bočním vývodem byl navážen ibuprofen (440 mg, 2.132 mmol), přidán bezvodý dichlormethan (55 ml), magnetické míchadlo a baňka byla zchlazena v lázni vody s ledem na 0 °C. Následně byl přidán roztok oxalylchloridu v dichlormethanu (5.2 ml, 2M, 10,4 mmol) a kapka dimethylformamidu (DMF). Reakční směs byla míchána přes noc. Následně bylo z reakční směsi odpařeno rozpouštědlo spolu s nezreagovaným oxalylchloridem a odparek rozpuštěn v 60 ml bezvodého dichlormethanu.

Do druhé 250ml baňky s bočním vývodem byl navážen $[\text{Ru}(\eta^6\text{-BnOH})(\text{Cp}^*)]\text{Cl}$ (400 mg, 1.052 mmol), přidán bezvodý dichlormethan (70 ml) a triethylamin (0.29 ml, 2.14 mmol). Pomocí jehly byl převeden obsah této baňky do baňky s acylchloridem ibuprofenu za stálého chlazení na 0 °C. Reakční směs byla za pokojové teploty míchána 4 dny.

Do reakční směsi bylo poté přidáno 20 ml vody a následovalo (30 minut). Směs byla převedena do dělicí nálevky, vodní fáze byla oddělena a dichlormetanová fáze byla promyta ještě dvakrát dalšími 20 ml (celkem šlo o 60 ml deionizované vody).

Dichlormetanová fáze byla následně odpařena do sucha a poté k ní byl přidán bezvodý tetrahydrofuran (10 ml). Došlo k vysrážení jasně bílého prášku nad hnědým supernatantem. Po zdekantování byl supernatant odebrán. Bílý precipitát byl následně ještě dvakrát promyt dalšími 10 ml tetrahydrofuranu a poté vysušen ve vakuu. Tímto postupem bylo získáno 200 mg produktu jako bílého prášku. Výtěžek činil 33%.

Charakterizace komplexu 4: ^1H NMR (dms o - d_6): δ 0.85 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.42 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, 3H, CHCH_3), 1.73-1.85 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.85 (s, 15H, $\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 2.42 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, 2H, CH_2CH), 3.89 (q, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, 1H, CHCH_3), 4.90; 4.99 (2 \times d, $2 \times ^2J_{\text{HH}} = 13.5$ Hz, 2 \times 1H, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 5.81-5.83 (m, 1H, C_6H_5), 5.90-5.95 (m, 4H, C_6H_5), 7.11-7.22 (m, 4H, C_6H_4).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (dms o - d_6): δ 10.0 ($\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 18.6 (CHCH_3), 22.1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 29.6 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 44.0 (CH_2CH), 44.1 (CHCH_3), 62.4 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), 85.7; 85.7 (dva peaky) (CH , C_6H_5), 87.0 (CH , C_6H_5), 87.2 (CH , C_6H_5), 87.2 (CH , C_6H_5), 96.1 ($\text{C}_5(\text{CH}_3)_5$), 97.2 (C_qCH_2 , C_6H_4), 127.1 (CH , C_6H_4), 129.2, (CH , C_6H_4), 137.5 (C_qCH , C_6H_4), 140.1 (C_qCH_2 , C_6H_4), 173.5 (COOBn).

IR (KBr): 3419 (m), 3046 (w), 3017 (s), 2991 (m), 2953 (s), 2911 (s), 2868 (m), 2847 (w), 1724 (vs), 1676 (vw), 1633 (vw), 1532 (vw), 1511 (m), 1475 (m), 1454 (m), 1422 (w), 1388 (m), 1371 (m), 1352 (m), 1304 (w), 1271 (w), 1255 (w), 1214 (s), 1186 (s), 1117 (vw), 1093 (m), 1074 (m), 1037 (m), 1014 (m), 977 (m), 914 (vw), 866 (w), 841 (m), 806 (vw), 771 (vw), 723 (vw), 675 (vw), 639 (vw), 509 (vw), 467 (w), 443 (w), 412 (m) cm^{-1} .

Teplota tání: 149 °C (rozklad).

ESI-MS $^+$ m/z: 533.

4.2.9 Rentgenová strukturní analýza

Difrakční data byla naměřena na přístroji Bruker D8 Venture při 120(2) K. Použité monochromatické záření mělo vlnovou délku 0,71073 Å. Fázový problém byl vyřešen přímými metodami programem SHELXT-2018/2.^[63] Upřesnění struktury bylo potom prováděno metodou nejmenších čtverců pomocí programu SHELXL-2018/3.^[64] Všechny atomy krom vodíků byly upřesněny s anizotropními teplotními faktory. Vodíkové atomy byly zafixovány v teoretických polohách s izotropními teplotními faktory, které byly rovny násobku izotropního teplotního faktoru jejich vazebného partnera. Geometrické parametry byly vypočteny pomocí programu Platon.^[65]

Tabulka 5. Data z XRD pro komplex 3.

Sumární vzorec	C₁₇H₂₅ClO₂Ru
M (g mol⁻¹)	397.89
Teplota	120(2) K
Vlnová délka (Å)	0.71073
Krystalová soustava	Orthorombická
Prostorová grupa	Pna2(1)
a (Å)	14.6732(4)
b (Å)	8.2884(2)
c (Å)	13.6657(3)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
V (Å³)	1661,99(7)
Z	4
D_{calc} (g ml⁻¹)	1.59
μ (MoKα) (mm⁻¹)	1.106
F(000)	816
Velikost krystalu (mm)	0.121 x 0.085 x 0.055
T_{min}, T_{max}	0.89, 0.94
Počet difrakcí	21947
Unikátní/ pozorované difrakce^a	3807 / 3537
R_{int} (%)^b	3.99
R, wR (pozorovaná data) (%)	2.27, 4.37
R, wR (všechny data) (%)^c	2.65, 4.53
Δρ (e Å⁻³)	0.353, -0.504

^a Pozorovaná difrakce o $I_o > 2\sigma(I_o)$.

^b $\frac{\sum |F_o^2 - \langle F_o^2 \rangle|}{\sum F_o^2}$, kde $\langle F_o^2 \rangle$ je průměrnou intenzitou symetricky ekvivalentních difrakcí

^c $R = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|}$, $wR = \sqrt{\frac{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2]}{\sum w(F_o^2)^2}}$

5 Použité zkratky

en	–	ethylendiamin
Et	–	ethyl
Cp*	–	pentamethylcyklopentadienyl
Ibu	–	ibuprofen
IbuOEt	–	ethyl ester ibuprofenu
Bn	–	benzyl
Ph	–	fenyl
BnOH	–	benzylalkohol
BnOibu	–	benzyl ester ibuprofenu
NMR	–	nukleární magnetická rezonance
ESI-MS⁺	–	hmotnostní spektrometrie s ionizací elektronovým sprejem
IR	–	infračervená spektroskopie
One-pot syntéza	–	jednokroková syntéza bez izolace meziprojektu
DCVC	–	dry column vacuum chromatography (suchá vakuová kolona)
ROS	–	reaktivní formy kyslíku
IC₅₀	–	inhibiční koncentrace buněčné proliferace pro 50% vzorku

6 Literatura

- [1] G. Kritman, Platinová cytostatika ve farmakoterapii nádorů, Univerzita Karlova, **2012**.
- [2] R. A. Alderden, M. D. Hall, T. W. Hambley, *J. Chem. Educ.* **2006**, *83*, 728–734.
- [3] R. C. Todd, S. J. Lippard, *Metallomics* **2009**, *1*, 280–291.
- [4] B. Spingler, D. A. Whittington, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 5596–5602.
- [5] S. Leijen, S. A. Burgers, P. Baas, D. Pluim, M. Tibben, E. Van Werkhoven, E. Alessio, G. Sava, J. H. Beijnen, J. H. M. Schellens, *Invest. New Drugs* **2015**, *33*, 201–214.
- [6] C. G. Hartinger, M. A. Jakupec, S. Zorbas-Seifried, M. Groessler, A. Egger, W. Berger, H. Zorbas, P. J. Dyson, B. K. Keppler, *Chem. Biodivers.* **2008**, *5*, 2140–2155.
- [7] C. Imberti, P. J. Sadler, *Adv. Inorg. Chem.* **2020**, *75*, 3–56.
- [8] J. Coverdale, T. Laroiya-McCarron, I. Romero-Canelón, *Inorganics* **2019**, *7*, 31.
- [9] E. Alessio, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 1549–1560.
- [10] L. S. Flocke, R. Trondl, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Invest. New Drugs* **2016**, *34*, 261–268.
- [11] R. Trondl, P. Heffeter, C. R. Kowol, M. A. Jakupec, W. Berger, B. K. Keppler, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 2925–2932.
- [12] R. Carter, A. Westhorpe, M. J. Romero, A. Habtemariam, C. R. Gallevo, Y. Bark, N. Menezes, P. J. Sadler, R. A. Sharma, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 1–12.
- [13] T.-L. Ho, M. Fieser, L. Fieser, J. Smith, in *Fieser Fieser's Reagents Org. Synth.*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2011**, s. 3–7.
- [14] A. D. Phillips, L. Gonsalvi, A. Romerosa, F. Vizza, M. Peruzzini, *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248*, 955–993.
- [15] C. S. Allardyce, P. J. Dyson, D. J. Ellis, S. L. Heath, *Chem. Commun.* **2001**, *2*, 1396–1397.
- [16] E. Persi, M. Duran-Frigola, M. Damaghi, W. R. Roush, P. Aloy, J. L. Cleveland, R. J. Gillies, E. Ruppin, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 2997.
- [17] S. Benny, R. Mishra, M. K. Manojkumar, T. P. Aneesh, *Med. Hypotheses* **2020**, *144*, 110216.
- [18] F. Martínez-Peña, S. Infante-Tadeo, A. Habtemariam, A. M. Pizarro, *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 5657–5668.
- [19] G. W. Song, H. Park, B. D. Ross, in *Antiangiogenic Agents Cancer Ther.*, Humana Press, New Jersey, **2003**, s. 51–64.
- [20] Z. Adhiksan, G. E. Davey, P. Campomanes, M. Groessler, C. M. Clavel, H. Yu, A. A. Nazarov, C. H. F. Yeo, W. H. Ang, P. Dröge, U. Rothlisberger, P. J. Dyson, C. A. Davey, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 3462.
- [21] B. T. Loughrey, P. C. Healy, P. G. Parsons, M. L. Williams, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 8589–8591.
- [22] B. T. Loughrey, B. V. Cunning, P. C. Healy, C. L. Brown, P. G. Parsons, M. L. Williams, *Chem Asian J.* **2012**, *7*, 112–121.
- [23] B. T. Loughrey, M. L. Williams, P. C. Healy, A. Innocenti, D. Vullo, C. T. Supuran, P. G. Parsons, S. A. Poulsen, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2009**, *14*, 935–945.
- [24] C. T. Supuran, F. Briganti, S. Tilli, W. R. Chegwidden, A. Scozzafava, *Bioorganic Med. Chem.* **2001**, *9*, 703–714.
- [25] M. Lamač, M. Horáček, L. Červenková Šťastná, J. Karban, L. Sommerová, H. Skoupilová, R. Hrstka, J. Pinkas, *Appl. Organomet. Chem.* **2020**, *34*, 1–5.
- [26] T. L. Yaksh, D. M. Dirig, A. B. Malmberg, *Cancer Invest.* **1998**, *16*, 509–527.
- [27] E. A. J. Knijff-Dutmer, E. M. Kalsbeek-Batenburg, J. Koerts, M. A. F. J. Van De Laar, *Rheumatology* **2002**, *41*, 458–461.

- [28] P. Mandal, B. K. Kundu, K. Vyas, V. Sabu, A. Helen, S. S. Dhankhar, C. M. Nagaraja, D. Bhattacharjee, K. P. Bhabak, S. Mukhopadhyay, *Dalt. Trans.* **2018**, 47, 517–527.
- [29] R. M. Fairchild, K. T. Holman, *Organometallics* **2007**, 26, 3049–3053.
- [30] J. E. House, in *Inorg. Chem.*, Elsevier, **2013**, s. 707–746.
- [31] D. Astruc, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 6–29.
- [32] F. C. Pigge, S. Fang, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 17–20.
- [33] A. Habibi-Yangjeh, M. Danandeh-Jenagharad, *Indian J. Chem. - Sect. B Org. Med. Chem.* **2007**, 46, 478–487.
- [34] C. A. Merlic, J. C. Walsh, D. J. Tantillo, K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 3596–3606.
- [35] M. Rosillo, G. Domínguez, J. Pérez-Castells, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 1589–1604.
- [36] A. Pflerschinger, T. K. Dargel, J. W. Bats, H. G. Schmalz, W. Koch, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 537–545.
- [37] F. C. Pigge, S. Fang, N. P. Rath, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 2251–2254.
- [38] D. T. Glatzhofer, Y. Liang, G. P. Funkhouser, M. A. Khan, *Organometallics* **1994**, 13, 315–321.
- [39] R. M. Moriarty, L. A. Enache, R. Gilardi, G. L. Gould, D. J. Wink, *Chem. Commun.* **1998**, 2, 1155–1156.
- [40] S. Takemoto, E. Shibata, M. Nakajima, Y. Yumoto, M. Shimamoto, H. Matsuzaka, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 14836–14839.
- [41] E. P. Kündig, *Transition Metal Arene π -Complexes in Organic Synthesis and Catalysis*, Springer Berlin Heidelberg, **2004**.
- [42] M. A. Bennett, T.-N. Huang, T. W. Matheson, A. K. Smith, S. Ittel, W. Nickerson, *Inorg. Synth.* **1982**, 21, 74–78.
- [43] J. L. Schrenk, A. M. McNair, F. B. McCormick, K. R. Mann, *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 3501–3504.
- [44] J. W. Hachgenei, R. J. Angelici, *J. Organomet. Chem.* **1988**, 355, 359–378.
- [45] F. Mazzotta, G. Zitzer, B. Speiser, D. Kunz, *Chem. Eur. J.* **2020**, 26, 16291–16305.
- [46] D. S. Perekalin, E. E. Karslyan, P. V. Petrovskii, A. O. Borissova, K. A. Lyssenko, A. R. Kudinov, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 1485–1492.
- [47] B. Chaudret, F. A. Jalon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 6, 711–713.
- [48] U. Koelle, J. Kossakowski, D. Grumbine, T. D. Tilley, *Inorg. Synth.* **1992**, 29, 225–228.
- [49] X. D. He, B. Chaudret, F. Dahan, Y. S. Huang, *Organometallics* **1991**, 10, 970–979.
- [50] A. Schmid, H. Piotrowski, T. Lindel, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2255–2263.
- [51] B. T. Loughrey, M. L. Williams, P. G. Parsons, P. C. Healy, *J. Organomet. Chem.* **2016**, 819, 1–10.
- [52] S. Chen, Q. Lou, Y. Ding, S. Zhang, W. Hu, J. Zhao, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, 357, 2437–2441.
- [53] P. J. Atkins, V. Gold, R. Marsh, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1984**, 1239–1245.
- [54] E. Buncel, T. K. Venkatachalam, B. C. Menon, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 413–417.
- [55] C. R. Glein, I. R. Gould, E. D. Lorange, H. E. Hartnett, E. L. Shock, *Geochim. Cosmochim. Acta* **2020**, 269, 597–621.
- [56] A. Curci, N. Denora, R. M. Iacobazzi, N. Ditaranto, J. D. Hoeschele, N. Margiotta, G. Natile, *Inorganica Chim. Acta* **2018**, 472, 221–228.
- [57] A. Jouyban, *Handbook of Solubility Data for Pharmaceuticals*, CRC Press, **2009**.
- [58] G. Socrates, *Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts*, **2001**.
- [59] A. M. Heyns, *Spectrochim. Acta* **1977**, 33, 315–322.
- [60] A. J. Shusterman, P. G. McDougal, A. Glasfeld, *J. Chem. Educ.* **1997**, 74, 1222–1223.

- [61] D. Pedersen, C. Rosenbohm, *Synthesis (Stuttg)*. **2004**, *2001*, 2431–2434.
- [62] G. Leising, R. Resel, F. Stelzer, S. Tasch, A. Lanziner, G. Hantich, *J. Clin. Pharmacol.* **1996**, *36*, 3S-6S.
- [63] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* **2015**, *71*, 3–8.
- [64] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* **2015**, *71*, 3–8.
- [65] A. L. Spek, *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2009**, *65*, 148–155.