

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie



David Dunlop

Příprava titanocenových komplexů s cytostatickými vlastnostmi
Preparation of titanocene complexes with cytostatic properties

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Martin Lamač Ph.D.

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

Praha, 2019

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 28. srpna 2019

David Dunlop

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval všem členům skupiny molekulární katalýzy Dr. Michala Horáčka, která v současné podobě působí pod oddělením molekulární elektrochemie a katalýzy na ÚFCH JH, za poskytnutí příjemného pracovního prostředí. Jmenovitě bych zdůraznil především zásluhy svého vedoucího, Dr. Martina Lamače, jehož trpělivost a ochota nezná mezí, a Dr. Jiřího Pinkase, který je řešitelem projektu GAČR, který tuto bakalářskou práci financoval. Též bych chtěl poděkovat prof. Petru Štěpničkovi, který velice ochotně zaštilil tento bakalářský projekt na PřF UK.

Můj dík patří dále pracovníkům, kteří se podíleli na charakterizování připravených látek, doc. Róbertu Gyepesovi a Dr. Ivaně Císařové za RTG strukturní analýzu, a Dr. Ludmile Petrusové za stanovení bodů tání. Děkuji i doc. Romanu Hrstkovi a jeho spolupracovníkům z RECAMO, a též skupině prof. Jiřího Ludvíka, působící na našem oddělení, za další studium připravených látek.

Na závěr bych rád poděkoval svému oponentovi, ať už jím bude kdokoli, a popřál mu příjemné čtení, stejně jako všem, kterým se tato práce ocitne v rukou.

Bakalářská práce byla financována projektem GAČR 17-05838S.

Obsah

Shrnutí	5
Seznam použitých symbolů a zkratek	7
1 Teoretický úvod.....	8
1.1 Obecné vlastnosti metalocenů titanu	9
1.2 Metaloceny titanu (III)	11
1.3 Metaloceny titanu (IV)	13
1.4 Příprava ligandů cyklopentadienylového typu	16
1.5 Aplikace metalocenů titanu v onkologickém výzkumu	18
1.5.1 Diskuze předpokládaného mechanismu účinku titanocenů	19
1.6 Cíl práce	21
2 Výsledky a diskuze.....	23
2.1 Příprava monosubstituovaných titanocen difluoridů	23
2.2 Příprava titanocen dichloridů	25
2.3 Fluorace polysubstituovaných titanocen dichloridů	26
2.4 Izolace připravených komplexů	27
2.5 Příprava výchozích látek	28
2.6 NMR spektroskopie.....	31
2.6.1 ¹ H NMR.....	31
2.6.2 ¹³ C APT NMR.....	33
2.6.3 ¹⁹ F NMR.....	34
2.7 Infračervená spektroskopie.....	35
2.8 Rentgenová strukturní analýza	36
2.9 Závěr.....	41
3 Experimentální část	42
3.1 Metody a materiál.....	42
3.2 Syntetická sekce	43
3.2.1 Příprava TiF ₄ ·(THF) ₂	43
3.2.2 Příprava 3li	43
3.2.3 Příprava 4li	43
3.2.4 Příprava 5li a 6li	44
3.2.5 Příprava monosubstituovaných titanocen difluoridů (1f-5f)	45
3.2.6 Příprava titanocen dichloridů (4cl-6cl).....	46
3.2.7 Příprava 6f	47
3.3 Rentgenová strukturní analýza	48
4 Reference.....	50

Shrnutí

Výzkum cytotoxicity titanocen dihalogenidů je tématem, které se objevuje v literatuře již od 70. let 20. století. Původně intenzivně studovaný titanocen dichlorid, který zklamal v 2. fázi klinických studií na lidech, byl dnes již nahrazen novější generací komplexů, které zpravidla nesou aryl-substituované cyklopentadienylové ligandy, a jejichž aktivitu lze dále podpořit substitucí chloridových ligandů fluoridy. Avšak mechanismus účinku těchto komplexů zůstává do značné míry záhadou, počínaje transportem do buněk, stabilitou ve fyziologickém prostředí, atd.

V rámci této práce je připravena série různě substituovaných titanocen dichloridů a difluoridů, které jsou součástí větší série látek, která poslouží k bližšímu porozumění strukturních vlivů na cytotoxicitu těchto komplexů.

Připravené látky jsou charakterizovány ^1H , ^{13}C NMR a IČ spektroskopií. Látky obsahující fluoridové ligandy pak i ^{19}F NMR spektroskopií, dále jejich bodem tání, a v případě dostupnosti monokrystalů také RTG strukturní analýzou a elementární analýzou.

Klíčová slova: titanocen dihalogenidy, organokovové sloučeniny, cytotoxicita, rakovinné buňky

Abstract

Cytotoxicity of titanocene dihalides has been a persistent topic in scientific literature, dating back to the 1970's. The intensively studied titanocene dichloride, which has disappointed in phase II clinical trials on humans, has been substituted by various titanocenes, which bear aryl-substituted cyclopentadienyl ligands. The activity of these complexes can be interestingly further improved via substitution of chloride ligands by fluorides. However, the mechanism of action of these complexes remains somewhat of a mystery, starting with their transport into the cells, stability under physiological conditions, etc.

This thesis describes the preparation of several variously substituted titanocene dichlorides and difluorides. These complexes are a part of a larger series, which will help to further the understanding of structural effects on the cytotoxicity of titanocenes.

All prepared complexes are characterized via ^1H , ^{13}C NMR and IR spectroscopy. Complexes containing fluoride ligands have also been characterized via ^{19}F NMR spectroscopy, melting points, RTG structural analysis (if monocrystals were available) and elemental analysis.

Keywords: titanocene dihalides, organometallics, cytotoxicity, cancer cells

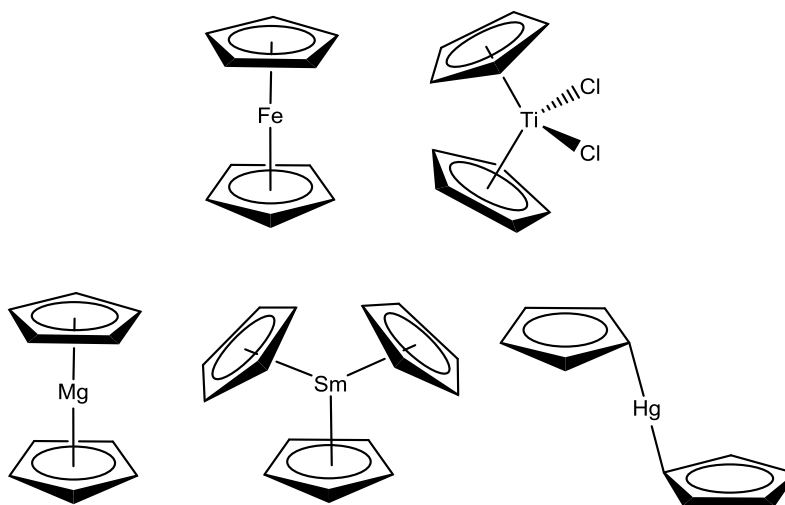
Seznam použitých symbolů a zkratk

Cp.....	Cyklopentadienidový aniont, cyklopentadienylový ligand.
X.....	Halogen.
THF.....	Tetrahydrofuran.
M.....	Kov (konkrétní příslušnost vysvětlena v textu/obrázku).
EWG.....	Elektronově deaktivující skupina.
Me.....	Methyl.
MAO.....	Methylaluminoxan.
Bu.....	Butyl.
R.....	Uhlovodíkový zbytek.
IC ₅₀	Inhibiční koncentrace (pro 50 % vzorku).
iPr.....	Isopropyl.
NMR.....	Nukleární magnetická resonance.
IČ.....	Infračervená (spektroskopie).
ÚFCH JH.....	Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského.
Ph.....	Fenyl.
Et.....	Ethyl.
Cp ^R	Substituovaný cyklopentadienylový ligand (Obrázek 12).
Cp ^{R'}	Substituovaný cyklopentadienylový ligand (Obrázek 13).
tBu.....	<i>Terc</i> -butyl.
APT.....	Attached proton test (pulsní sekvence NMR).
Cg.....	Geometrický střed Cp kruhu.
RECAMO.....	Regionální centrum aplikované molekulární onkologie.
PTFE.....	Polytetrafluorethylen (teflon).
<i>d</i>	Délka.
<i>φ</i>	Úhel.
<i>m</i>	Hmotnost.
<i>w</i>	Hmotnostní zlomek.
<i>V</i>	Objem.
<i>M_r</i>	Relativní molekulová hmotnost.

1 Teoretický úvod

Tato bakalářská práce se zabývá přípravou a charakterizací titanocen dihalogenidů, organokovových sloučenin titanu metallocenového typu, určených pro potenciální aplikaci v léčbě nádorových onemocnění. V rámci teoretického úvodu budou diskutovány obecné vlastnosti titanocenů, včetně příkladů jejich přípravy, reaktivity a aplikací. Zvláštní pozornost je věnována aplikaci titanocen dihalogenidů v onkologickém výzkumu.

Pro účely této práce lze metalloceny definovat coby koordinační sloučeniny, ve kterých jakožto centrální atom vystupuje přechodný kov, na který jsou η^5 -koordinovány dva cyklopentadienylové ligandy, případně pak i další σ -donorové ligandy, které přispívají ke stálejší elektronové konfiguraci na centrálním atomu komplexu. Je nezbytné podotknout, že cyklopentadienylové komplexy existují i pro prvky s, p a f bloků periodického systému, a též jsou známy komplexy s více či méně než dvěma cyklopentadienylovými ligandy, o různé hapticitě (Obrázek 1).^{1,2}



Obrázek 1. Příklady známých cyklopentadienylových komplexů.

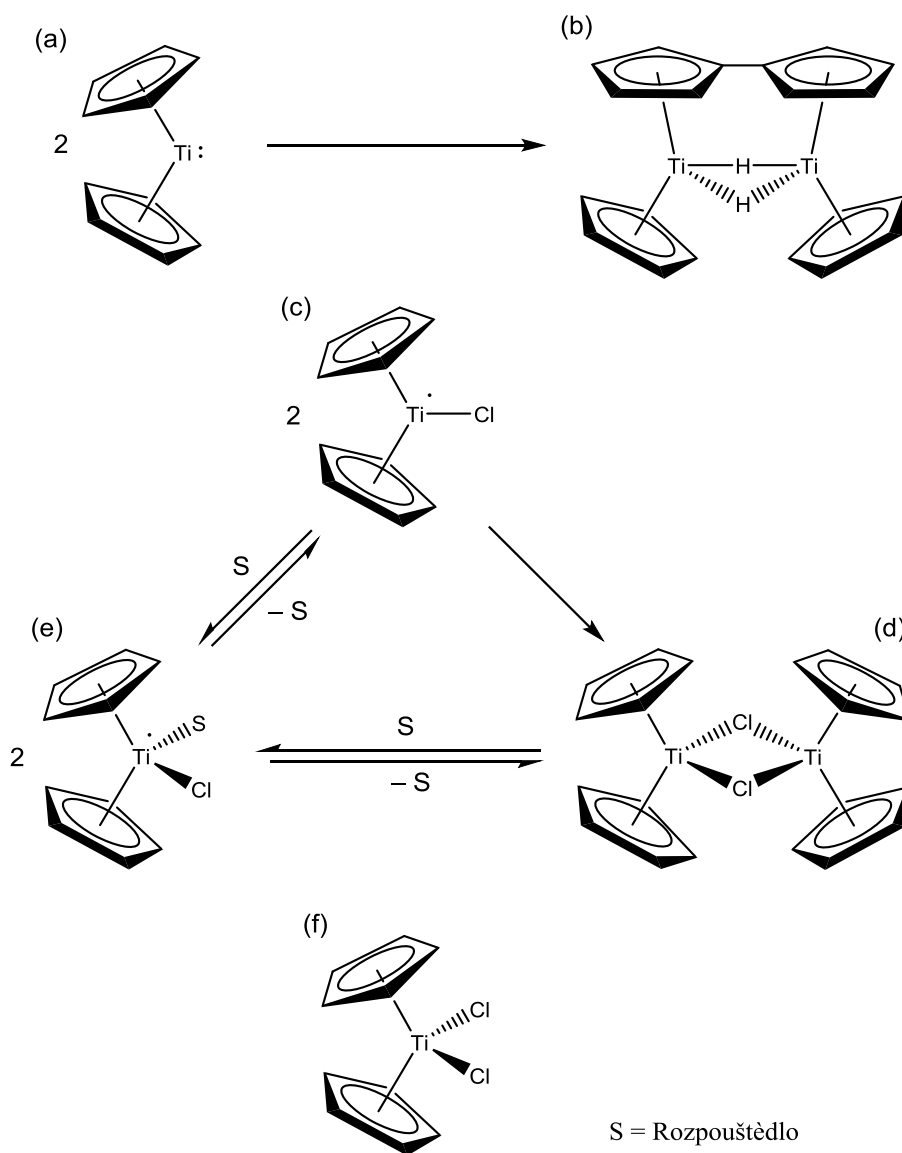
1.1 Obecné vlastnosti metallocenů titanu

Postavení titanu ve 4. periodě a 4. skupině periodického systému vypovídá, že je jeho chemické chování, v porovnání s ostatními přechodnými kovy, diktováno především malým počtem jeho valenčních elektronů a malým rozměrem – jedná se o tzv. tvrdou Lewisovskou kyselinu. Dále, coby prvku d-bloku periodického systému, je stálost organokovových sloučenin titanu řízena osmnácti-, resp. šestnácti-elektronovým pravidlem.

Vzhledem k elektronové konfiguraci titanu $[\text{Ar}]3d^24s^2$ nelze šestnácti-, ani osmnáctielektronových konfigurací dosáhnout pouze σ -donorovými ligandy a např. alkylové sloučeniny Ti jsou značně nestálé (čehož se využívá při polymeracích olefinů). Titan však vykazuje preference vůči π -donorovým ligandům, např. cyklopentadienidovému aniontu (Cp), kterým stabilizuje svou valenční sféru, koordinací vyššího počtu elektronových párů. V důsledku lze tedy řadu titanocenů označit za relativně stálé organokovové sloučeniny.³

Titanoceny, tj. metalloceny titanu, byly popsány v oxidačních stavech Ti (II), Ti (III) a Ti (IV).¹ Již na základě elektronové konfigurace a v souladu s šestnácti-elektronovým pravidlem lze předpokládat trend vzrůstající stálosti jeho komplexů s růstem oxidačního čísla. Coby ilustrativní příklad poslouží porovnání struktur vybraných titanocenů v různých oxidačních stupních (Obrázek 2).²

Tzv. titanocen, tj. bis(η^5 -cyklopentadienyl)titanatý komplex (a), dosud nebyl izolován coby volný monomer, avšak v nascentní podobě jej lze využít coby reaktant pro přípravu titanocenů o vyšších mocenstvích. Jeho redukční vlastnosti jsou natolik silné, že dochází k spontánní dimeraci, eliminací H atomu jeho cyklopentadienylového ligandu za vzniku hydridového ligandu a fulvalenu (b). Již stálejší Ti (III) v chloro-bis(η^5 -cyklopentadienyl)titanitém komplexu (c) dimeruje pouhou koordinací halogenidu partnerské molekuly (d). Tento dimer lze disociovat solvatací koordinujícími rozpouštědly (e). Nejstabilnější z uvedených příkladů, dichloro-bis(η^5 -cyklopentadienyl)titanitý komplex, titanocen dichlorid, již nedimeruje (f).²



Obrázek 2. Příklady struktur metalocenů titanu v oxidačních stupních II, III a IV.

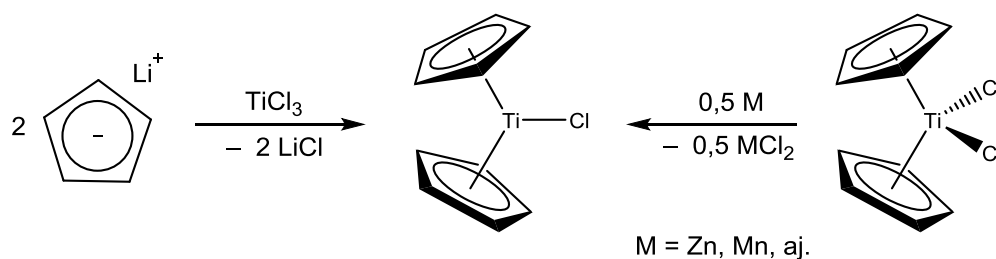
V rámci této práce bylo nakládáno výhradně s halogenidovými deriváty titanocenů v oxidačních stupních III a IV, a tudíž budou v následující sekci diskutovány podrobněji.

Jedná se zpravidla o látky pevné a krystalující, s nezanedbatelným dipólovým momentem, rozpustné v polárních organických rozpouštědlech. Metaloceny Ti (IV), a především pak Ti (III), jsou také náchylné vůči vlhkosti, a to i vzdušné, obzvlášť v roztocích. Metaloceny Ti (III) navíc redukují i O_2 . Práce s nimi vyžaduje využití inertní atmosféry.

1.2 Metaloceny titanu (III)

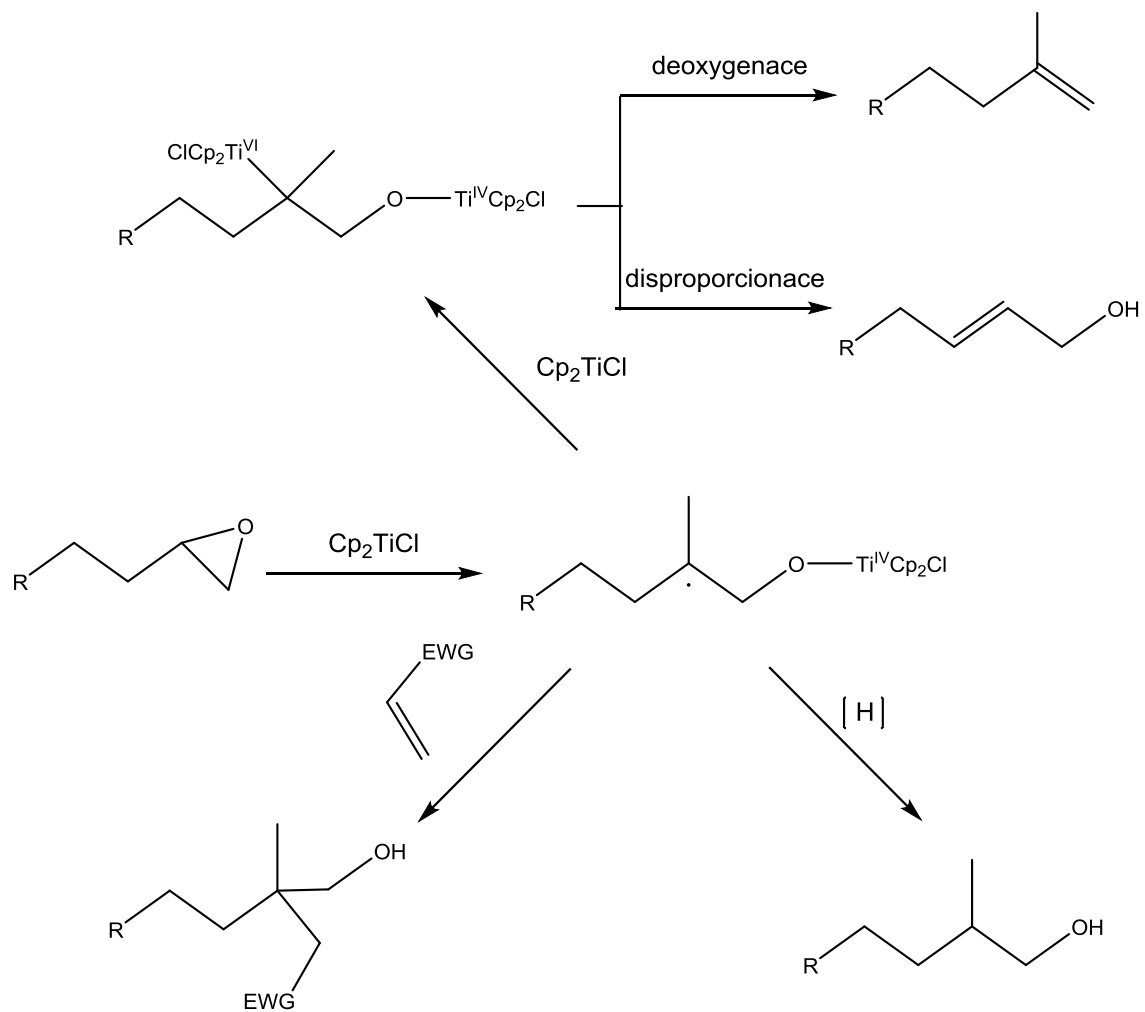
Metaloceny Ti (III) jsou v důsledku jednoho lichého elektronu atomu titanu paramagnetické, což odráží nejen jejich reaktivita, ale též výše popsaná struktura. Dimerní forma je v koordinujících rozpouštědlech disociována solvatací, a je v této podobě mnohdy nazývána tzv. solvatovaným radikálem.⁴

Typickou přípravou metalocenů Ti (III) je reakce aduktu $\text{TiCl}_3 \cdot (\text{THF})_3$ se dvěma ekvivalenty LiCp , kdy Li lze nahradit i jiným alkalickým kovem (THF = tetrahydrofuran). Alternativně je lze též připravit redukcí Ti (IV) komplexů, např. Cp_2TiCl_2 , v případě halogenidů, například za využití elementárního zinku (resp. Mn, aj.). Vzniklý monochlorid podléhá substitučním, oxidačním i redukčním reakcím a lze jej využít pro přípravu řady dalších derivátů.



Obrázek 3. Schémata příprav titanocen chloridu.

Metaloceny Ti (III) našly využití coby jednoelektronové redukční činidlo, či jako činidlo radikálové.⁵⁻⁷ Příkladem je tzv. Nugentovo-Rajanbabuovo činidlo, tj. využití reakce Cp_2TiCl s epoxidy (Obrázek 4), kdy dochází k jejich otevření, za vzniku anti-Markovnikovových, či dalších zajímavých produktů.⁸



EWG = Deaktivující skupina

Obrázek 4. Schématické znázornění otevírání epoxidů, za využití titanocen chloridu, a následné reaktivity radikálového produktu.

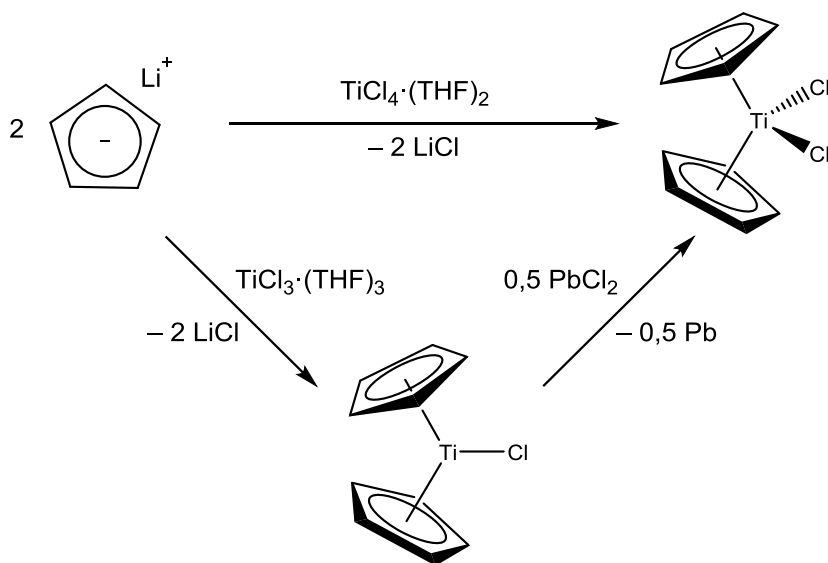
1.3 Metaloceny titanu (IV)

Jak bylo ilustrováno v předchozí sekci, metaloceny Ti (IV) zaujímají pseudotetraedrickou strukturu. Vzhledem k elektronové konfiguraci vzácného plynu ($4s^03d^0$), se jedná o stálé látky (v porovnání s metaloceny Ti (II) či Ti (III)) a jejich geometrie je řízena čistě vzájemnými interakcemi ligandů.

Zdaleka nejvyžívanějšími metaloceny Ti (IV) jsou jejich dihalogenidy, především pak dichloridy, z důvodu jejich zajímavé reaktivity, katalytických vlastností a biologické aktivity. Coby pevné krystalické látky jsou relativně stálé na vzduchu a rozpustností se nevykaly výše popsaným trendům. Dihalogenidy titanocenů jsou známe pro celou skupinu halogenů.

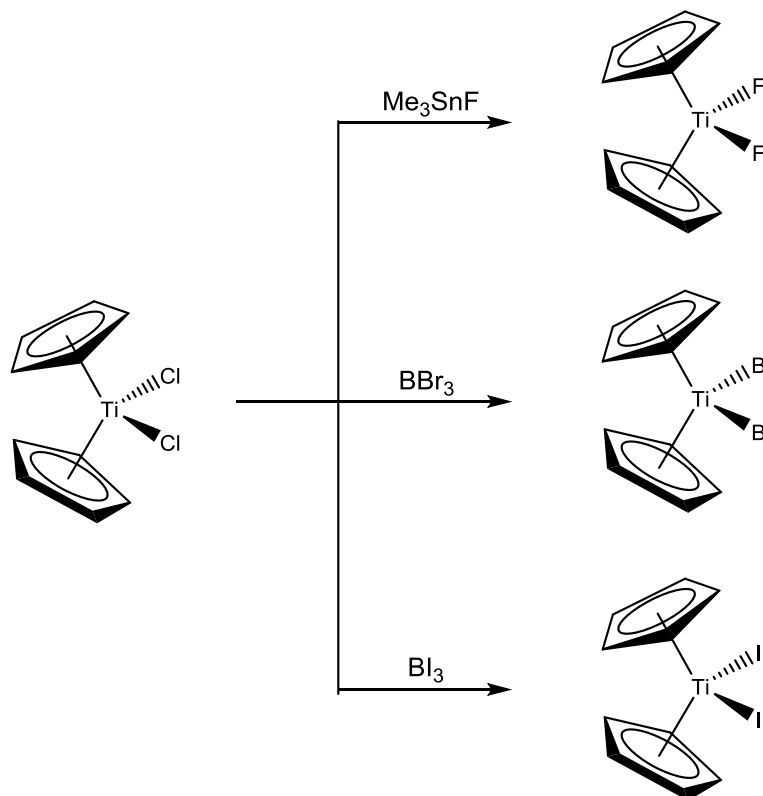
Nejběžněji připravovaný Cp_2TiCl_2 a řadu jeho derivátů lze připravit reakcí $TiCl_4$ (kapalina), či praktičtěji jeho aduktů $TiCl_4 \cdot nL$ ($L = THF$, aj.) (pevné látky), s cyklopentadienidovými solemi alkalických kovů, například $LiCp$ (Obrázek 5). Alternativně lze využít i soli kovů alkalických zemin, či například thalia, se kterými lze pracovat i mimo inertní atmosféru (avšak jsou poměrně silně toxické). Obecnou nevýhodou tohoto provedení je relativně nízká výtěžnost, v porovnání s dále uvedenými postupy.

Coby alternativa se nabízí analogická reakce solí $LiCp$ s adukty $TiCl_3 \cdot nL$ ($L = THF$, aj.), za vzniku komplexů typu Cp_2TiCl (Obrázek 5). Ty lze následně oxidovat vhodnými halogenidy, například $PbCl_2$, za vzniku příslušného dichloridu.⁹



Obrázek 5. Schéma příprav titanocen dichloridu.

Titanoceny jiných dihalogenidů zpravidla nebývají připravovány přímo, nýbrž transhalogenačními reakcemi dichloridu za využití vhodných činidel (Obrázek 6). Tento postup je užíván z praktických důvodů, neboť Cp_2TiCl_2 je komerčně dobře dostupná látka. Přípravy bromidů a jodidů byly popsány za využití BBr_3 , BI_3 , či NaI .^{10,11} K přípravě difluoridů lze využít např. činidlo Me_3SnF ,¹² avšak nedávno byly popsána i příprava za využití NaF v MeOH .¹³

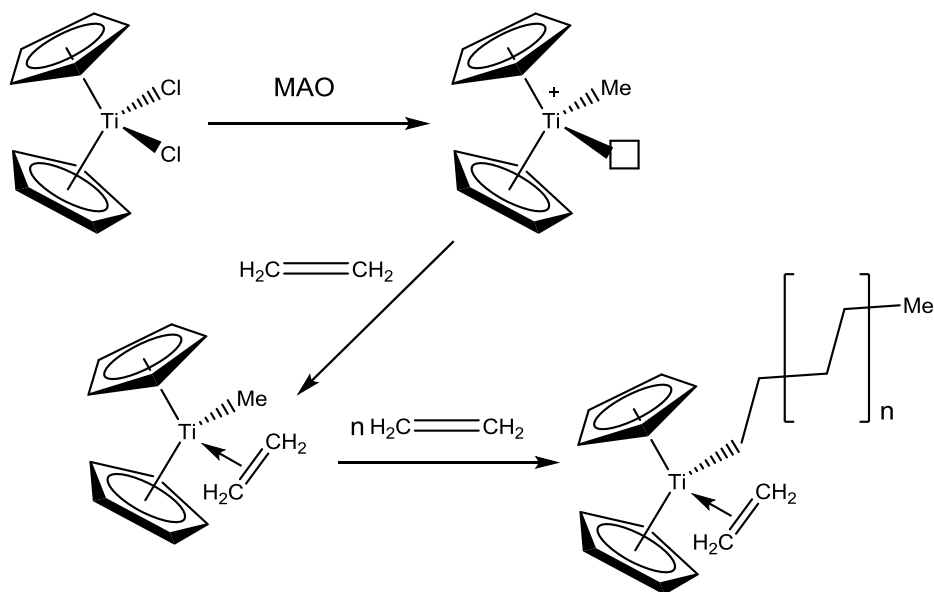


Obrázek 6. Příklady transhalogenačních reakcí titanocen dichloridu, schematicky.

Další reaktivita metalocenů Ti (IV) spočívá v substitučních (např. alkylace, alkoholýza, aj.) a redukčních dějích, jimiž lze odvodit celou řadu derivátů, včetně metalocenů Ti (II) a Ti (III).²

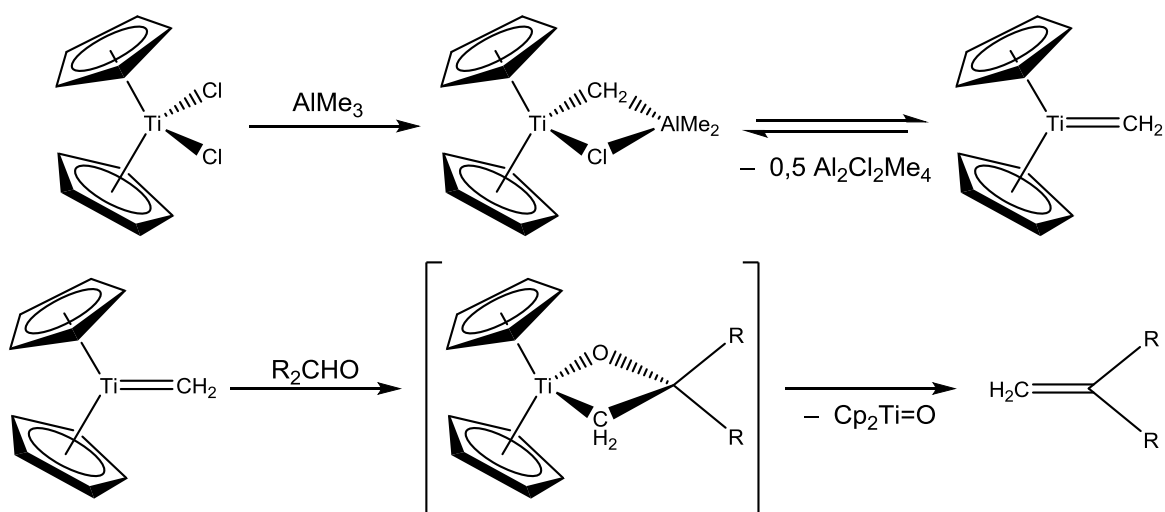
Nejvýznamnější aplikací titanocenů Ti (IV) je katalýza. Katalytickou polymerací olefinů, nejčastěji Zieglerova-Nattova typu, za využití methylaluminoxanu (MAO) coby kokatalyzátoru (Obrázek 7), lze získat lineární, vysokohustotní polyethylen, polypropylen a polystyren. Na rozdíl od katalýzy Zieglerova-Nattova typu za využití TiCl_4 je provedení katalýzy titanoceny homogenní. Současně nabízí možnost substituce cyklopentadienylových ligandů titanocenů větší kontrolu nad sterickými a elektronickými jevy na atomu titanu, čímž lze dosáhnout značné regioselektivity připravovaného polymeru. Je nutno podotknout, že výše popsaná reaktivita je předmětem výzkumu zpravidla pro titanocen dichloridy. Též se vývoj od metalocenů Ti (IV) v posledních letech

přesunul k metallocenům Zr (IV) a Hf (IV), a také obecně k nemetallocenovým komplexům.^{14,15}



Obrázek 7. Schématické znázornění polymerace olefinů titanocen dichloridy.

Dihalogenidy titanocenů dále nacházejí významné uplatnění v chemické syntéze, byť pouze v laboratorní škále, a to např. coby tzv. Tebbeho činidlo, které slouží k methylenaci karbonylů (Obrázek 8).¹⁶ Tebbeho činidlo lze připravit reakcí Cp_2TiCl_2 s trimethylhliníkem. Toto činidlo je v rovnováze s jeho methylenovým Schrockovým karbenem. Rovnováhu lze posunout směrem ke karbenu přidáním báze. Takto připravené činidlo reaguje s aldehydy a ketony analogicky Wittigovu činidlu.¹⁷ Jeho výhodou je nižší bazicita a průběh reakce bez β -elimináčních produktů. V této oblasti chemie figuruje i řada dalších činidel na bázi Ti.¹⁸



Obrázek 8. Schéma přípravy Tebbeho činidla a jeho reaktivita.

1.4 Příprava ligandů cyklopentadienylového typu

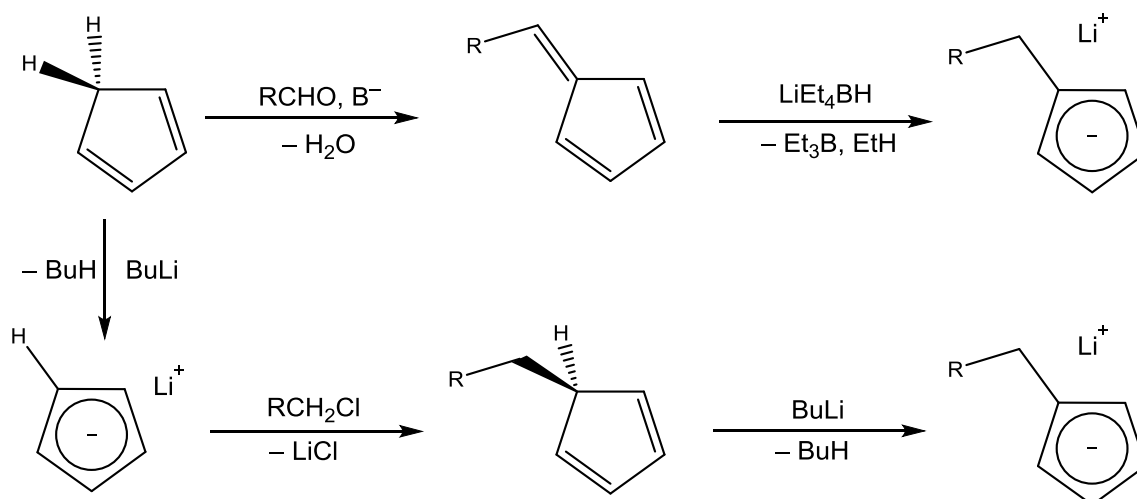
Pro účely této práce je nutné zmínit i metody substituce cyklopentadienylových ligandů. Na rozdíl od mnohých metalocenů pozdních přechodných kovů, nepodléhají cyklopentadienylové ligandy titanocenů reakcím Friedelova-Craftsova typu. Též není možné jejich koordinované cyklopentadienylové ligandy lithiovat, jako je tomu u např. ferrocenů. Důvodem absence tohoto módu reaktivity je nízká nukleofilita cyklopentadienylového ligandu v porovnání s pozdějšími přechodnými kovy, které poskytují elektrony svým ligandům π -zpětnou donací.¹⁹

Cyklopentadienylové ligandy je při přípravě titanocenů (i dalších metalocenů raně přechodných kovů) zpravidla nutno substituovat již před jejich koordinací. Konkrétní metodika závisí na povaze uvažovaného substituentu.

Níže uvedené postupy předpokládají následnou syntézu metalocenu z halogenidu příslušného kovu, pro což jsou coby výchozí látky vhodné alkalické soli derivátů cyklopentadienu. Pro jednoduchost jsou uvedeny pouze soli lithné, avšak lze uvažovat i použití činidel těžších alkalických kovů, či thalia.

Řadu monosubstituovaných derivátů cyklopentadienu lze připravit adicí na tzv. fulveny, tj. produkty reakcí karbonylové sloučeniny s cyklopentadienem. Cyklopentadien má nezanedbatelné pK_a 16, srovnatelné například s ethanolem (15,9), čili je relativně kyselý.²⁰ V důsledku jej lze v bazickém prostředí deprotonovat za vzniku cyklopentadienidového aniontu, který lze aplikovat jako nukleofilní činidlo k adici na C atom karbonylové skupiny (C=O) (Obrázek 9). O atom karbonylu je eliminován ve formě vody. Takto lze připravit celou řadu derivátů cyklopentadienů, které mají k dispozici exo C=C vazbu, vhodnou k adici např. organolothiných či hydridolithných činidel.^{21,22} Toho lze využít k adicím alkylových či hydridových zbytků a současně redukcí cyklopentadienu na cyklopentadienidový aniont. Tímto postupem lze připravit širokou škálu lithných solí monosubstituovaného cyklopentadienu.²³

Mnohdy jednodušší metodou (dle povahy a dostupnosti reaktantu) je reakce alkyhalogenidů, avšak například i halogensilanů, s cyklopentadienem lithným (Obrázek 9), či některým z jeho derivátů. V následujícím kroku lze deprotonovat derivát cyklopentadienu za vzniku příslušné lithné soli, k čemuž lze využít například BuLi.²⁴



Obrázek 9. Schémata příprav monosubstituovaného cyklopentadienidu lithného.

Ani jeden z výše popsaných postupů však neposkytuje polysubstituované cyklopentadienidové soli. Obecný postup pro přípravu těchto látek neexistuje a je nutno je připravovat výstavbou vhodné lineární molekuly, následně ji cyklizovat, a posléze redukovat.^{25,26}

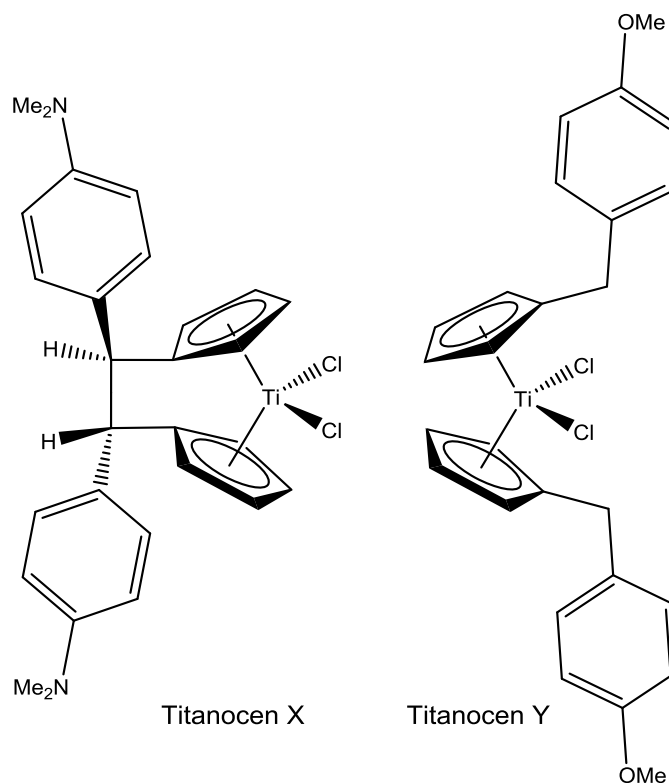
1.5 Aplikace metalocenů titanu v onkologickém výzkumu

Metaloceny titanu byly jedny z prvních blíže studovaných cytotoxik a první organokovovou sloučeninou studovanou pro využití v onkologii. Hlavní motivací byla zdánlivá podobnost struktury Cp_2TiCl_2 cisplatině, a z ní plynoucí předpoklad obdobné cytotoxicity. Již roku 1979 byly publikovány první výsledky působení Cp_2TiCl_2 na Ehrlichovy buňky implantované v myších. V rámci těchto experimentů bylo dosaženo terapeutického účinku u více než 80 % myší.²⁷

Tyto výsledky byly motivací pro dvě dekády výzkumu Cp_2TiCl_2 , jejichž cílem bylo prokázat možnost jeho potenciálního využití coby onkologického léčiva a rozkrýt mechanismus jeho účinku. V průběhu let byla objevena cytotoxicita látek příbuzných, tj. typu Cp_2MX_2 ($\text{M} = \text{Ti}, \text{V}, \text{Nb}, \text{Mo}, \text{Re}$ a $\text{X} = \text{halogenid}$), demonstrováné za využití široké škály buněčných kultur.²⁸

Vrcholem výzkumu cytotoxicity Cp_2TiCl_2 byly klinické studie na lidech 2. fáze, provedené na pacientech s metastatickými rakovinami ledvin a prsu, které však ve všech případech dospěly k pesimistickým závěrům. Cp_2TiCl_2 se v lidském organismu projevil značně negativními účinky a žádným, či pouze minimálním pozorovatelným terapeutickým účinkem. Coby hlavní překážky byly označeny nízká hydrolytická stabilita, vysoké inhibiční koncentrace a nefrotoxicita.^{29,30}

Výše uvedené poznatky byly motivací pro výzkum derivátů Cp_2TiCl_2 . V současné době jsou za nejnadějnější kandidáty pro využití v praxi považovány tzv. titanoceny X a Y (Obrázek 10).^{23,31} Zajímavým příspěvkem je též srovnávací studie cytotoxické aktivity chloridových a fluoridových derivátů tzv. titanocenu Y, jehož fluorací bylo dosaženo o řád nižší IC_{50} na tkáňové kultuře Hela S3. Vliv halogenidu byl demonstrován i na dalších derivátech.³²



Obrázek 10. Schémata struktur tzv. titanocenu X a Y.

1.5.1 Diskuze předpokládaného mechanismu účinku titanocenů

Pohled na mechanismus účinku Cp_2TiCl_2 a jeho derivátů se v průběhu let značně změnil. Dodnes se však jedná o téma nedořešené. Je nutné zdůraznit, že interpretaci výsledků značně komplikuje využití různých tkáňových kultur a derivátů titanocenů, různými vědeckými skupinami.^{23,33–36}

Existují silné důkazy pro podíl transferinu, sérumalbuminu a v nedávných letech i fagocytózy hydrolytických produktů Cp_2TiCl_2 a jeho derivátů na jejich transportu do buňky.^{33,37}

Prvotní představa, že cisplatina a Cp_2TiCl_2 sdílejí stejný mechanismus účinku, kterým je indukce apoptosy interkalací DNA, závislá na neschopnosti buňky tuto vadu opravit, bývá dnes již zpochybňována.³³ Mezi nejsilnější argumenty pro toto tvrzení patří prokázaná cytotoxicita Cp_2TiCl_2 a příbuzných derivátů i v cisplatině-rezistentních buněčných kulturách, jmenovitě např. A2780CP and CH1-cisR.³⁸

Současně bylo demonstrováno na buněčné kultuře A431, že zatímco cis-platina inhibuje buněčné dělení v tzv. S stádiu, není tomu tak pro titanoceny X a Y, které inhibují buněčné dělení ve stádiu G2/M. Avšak je nutné podotknout, že inhibované stádium se může lišit i napříč komplexy titanu. Zatímco Cp_2TiCl_2 neovlivňuje koncentraci

inhibovaných buněk HT-29 v různých stádiích dělení, v případě titanocenu Y se ve vzorcích hromadily buňky ve stádiu G2/M, a v případě $\text{LTi}(\text{OiPr})_2$ (L = salen) ve stádiu G1.^{33,39,40}

Apoptická smrt v důsledku aplikace látek typu Cp_2TiCl_2 je spojována se zvýšením koncentrace cysteinových proteas (kaspás). Experimenty nasvědčují, že je tento děj iniciován tzv. receptory smrti FasR, které se nachází na cytoplasmatické membráně, stimulací FasL proteiny. Tento způsob iniciace apoptosy je označován za tzv. vnější mechanismus (vnitřní mechanismus je iniciován mitochondriálně). Výše popsany průběh byl potvrzen pro titanocen Y, *in vitro* buněčných tkání A431.⁴¹

Avšak výše uvedený mechanismus nevyklučuje další faktory, či případně alternativní mechanismy účinku titanocenu. Jedním z nich je například i inhibice homeostáze endoplasmatického retikula, která posléze vede buněčné smrti tzv. autofagií. Tento mechanismus je předpokládán pro řadu jejich difluoridů.³⁵

Na závěr stojí za zmínění, že je uvažována i alternativní, heterogenní cytotoxicita hydrolytických produktů titanocenu. Tento mechanismus byl zkoumán na základě zjištěné cytotoxicity destiček TiO_2 o rozměrech 400 x 2 nm, které indukují buněčnou smrt tzv. paraptosou.^{42,43} Experimenty na buněčné kultuře MDA-MB-468 ukázaly souvislost mezi cytotoxicitou komplexů a výskytem spektroskopicky charakterizovaného hydrolytického produktu $[\text{Cp}^{\text{L}'}_2\text{Ti}(\text{OH})(\text{OH}_2)]^+$, který se posléze přeměňuje na pevný, nerozpustný $[\text{Cp}^{\text{L}'}_2\text{Ti}=\text{O}]_n$, kde $\text{Cp}^{\text{L}'} = \text{C}_5\text{H}_4\text{CH}(\text{Et})(2\text{-MeOC}_6\text{H}_4)$, pro než byl navržen mechanismus analogický TiO_2 .⁴⁴ Též byla pro tuto sérii experimentů coby příčina buněčné smrti indikována paraptosa.

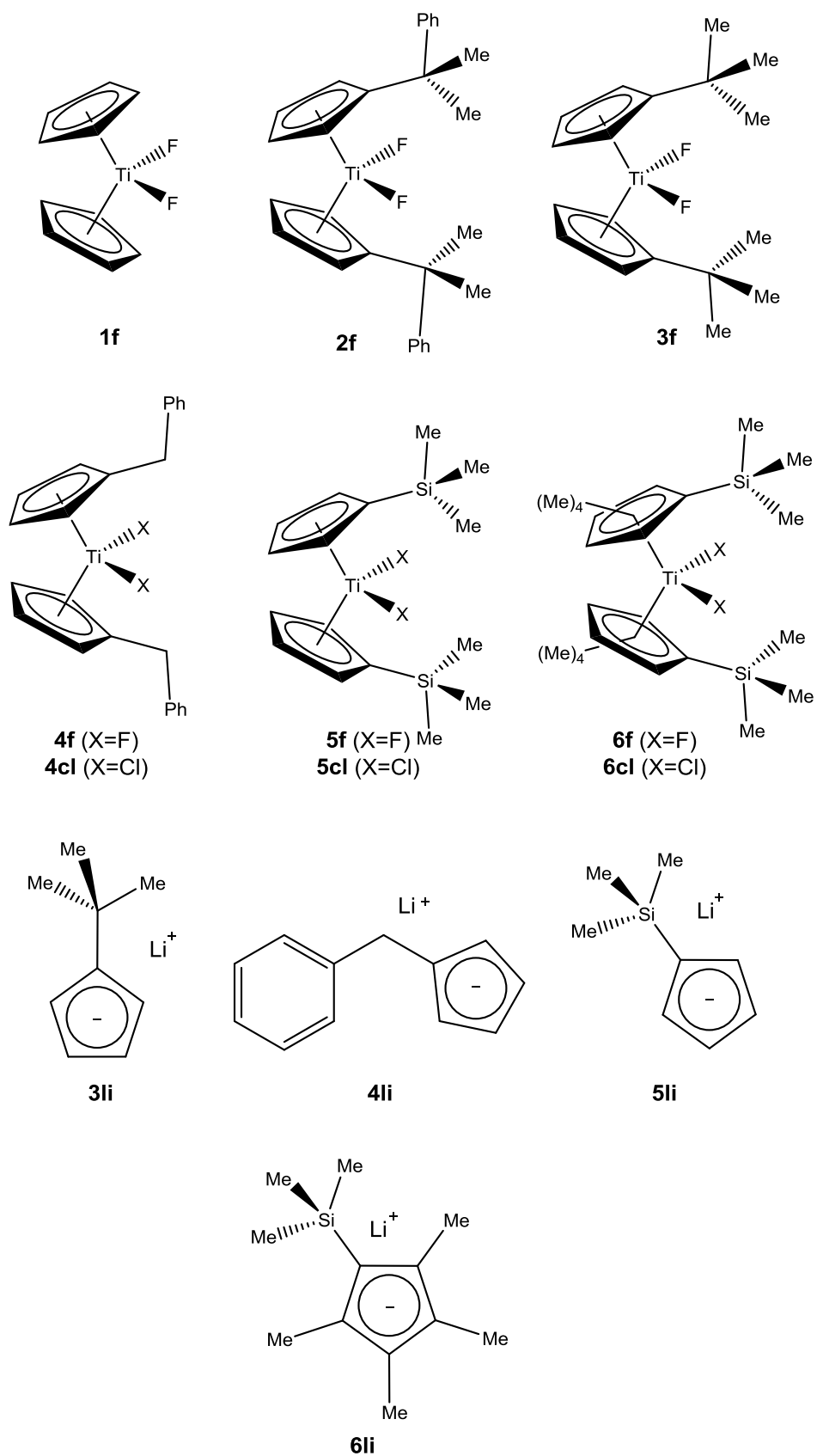
1.6 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce byla příprava série různě substituovaných titanocen dichloridů a difluoridů (Obrázek 11). Z uvedených komplexů jsou **2f**, **4f** a **6f** nové. Zbylé komplexy byly již v minulosti připraveny.^{24,45-48} V uvedených zdrojích však pro fluoridové komplexy nebyly popsány struktury v pevné fázi.

V rámci této práce byly komplexy **3f** a **5f** připravovány metodou využívající $\text{TiF}_4 \cdot (\text{THF})_2$ jako výchozí látku. Připravené komplexy byly charakterizovány pomocí ^1H , ^{13}C a ^{19}F NMR spektroskopie, IČ spektroskopie a bodu tání jejich monokrystalů. Všechny komplexy byly izolovány v monokrystalickém stavu, což umožnilo charakterizaci vybraných komplexů monokrystalovou rentgenovou difrakcí.

Pro přípravu komplexů bylo nutno připravit několik lithných solí derivátů cyklopentadienu, **3li-6li**, které nebyly dostupné na pracovišti. V rámci práce byla též optimalizovaná metoda přímé syntézy titanocen difluoridů, vycházející z $\text{TiF}_4 \cdot (\text{THF})_2$, která byla v minulosti navržena na pracovišti ÚFCH JH, avšak její potenciál nebyl zcela prozkoumán.²⁵

Účelem přípravy této série komplexů je též výzkum jejich předpokládané cytotoxicity, která je testována na řadě buněčných kultur, mimo jiné A2780, A2780cis, SK-OV-3 (nádory vaječníku), HEK293 (tkáň zdravých ledvin), MDA-MB-231, HCC-1806 (nádory prsu), MCF10-A (epitel zdravé mléčné žlázy). Tyto testy jsou prováděny spřátelenou výzkumnou skupinou v Regionálním centru aplikované molekulární onkologie v Brně, a proto jejich výsledky nejsou prezentovány v rámci této bakalářské práce.

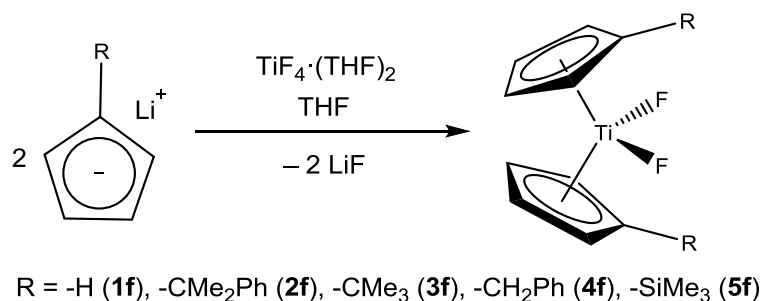


Obrázek 11. Schémata připravovaných látek.

2 Výsledky a diskuze

2.1 Příprava monosubstituovaných titanocen difluoridů

Pro přípravu $\text{Cp}^{\text{R}}_2\text{TiF}_2$ byl zvolen postup již popsáný v literatuře, kde coby reaktanty figurují monosubstituovaný cyklopentadienid lithný LiCp^{R} a $\text{TiF}_4 \cdot (\text{THF})_2$.²⁵ Mechanismem této reakce je prostá substituce, která probíhá stechiometricky za vyloučení pevného LiF (Obrázek 12). Naopak vzniklý metalocen zůstává rozpuštěn v THF. Reakční směs byla vždy chlazená za účelem potlačení možných nežádoucích vedlejších reakcí, např. redoxních dějů. Vznik produktu byl indikován zbarvením reakční směsi do žluté, respektive oranžové, až červené barvy. Zajímavým pozorováním je vyšší výtěžnost reakce a menší podíl vedlejších produktů, pokud byl každý z reaktantů rozpuštěn zvlášť a až poté byly sloučeny jejich roztoky.



Obrázek 12. Reakční schémata příprav **1f-5f**.

Červená barva reakční směsi byla na základě zkušeností přisouzena blíže necharakterizovaným vedlejším produktům, neboť v průběhu následných izolačních kroků zcela vymizela. Při pokusech o izolaci tohoto červeného podílu byl vždy získán viskózní, olejovitý materiál, jehož NMR spektrum indikovalo bohatou směs vedlejších produktů.

Bylo potvrzeno, že coby reaktant lze pro tuto reakci využít i TiF_4 . Ten se v THF rozpouští právě za vzniku aduktu $\text{TiF}_4 \cdot (\text{THF})_2$, avšak v reakční směsi po něm zůstává nežádoucí pevný podíl.⁴⁹ Bylo též demonstrováno, že je pro oddělení produktu od vyloučeného pevného materiálu (LiF), namísto přímé filtrace roztoku z reakční směsi, žádoucí nejprve oddestilovat THF za sníženého tlaku, a až poté extrahovat produkt toluenem, či hexanem, neboť je takto dosaženo vyšší čistoty.

Ač se zdála být rozpustnost difluoridů v hexanu poněkud nižší, byl v řadě případů zvolen coby rozpouštědlo, v důsledku chování pevného podílu reakční směsi. Filtrace roztoku za využití toluenu byla vzhledem k povaze sraženiny opakovaně problematická a mnohdy bylo nutno v jejím průběhu měnit filtrační kanylu. To potenciálně mohlo vést ke

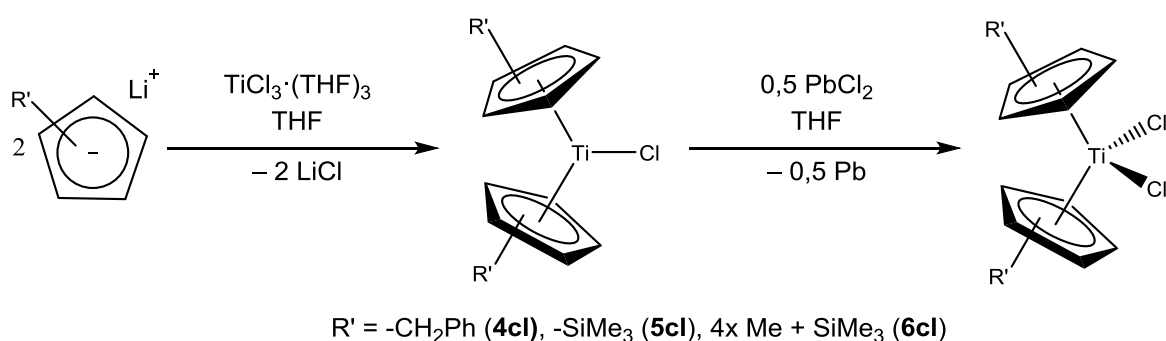
kontaminaci reakční směsi vzduchem. Zajímavé bylo též pozorování, že po oddestilování rozpouštědla z červené, pravděpodobně znečištěné, toluenové frakce produktu **5f**, byl extrakt stejného podílu, avšak extrahovaného hexanem, již žlutý. Toto naznačuje, že extrakce produktu reakce hexanem je selektivnější vůči titanocen difluoridům, nežli extrakce toluenem.

I po podstoupení všech výše uvedených kroků zůstává ve výsledném materiálu určité množství nečistot, které je detekovatelné NMR spektroskopii, a pro maximální čistotu je nutné jej rekrystalovat (viz níže).

Na závěr je důležité poznamenat, že tento přímý postup je omezen pouze na titanocen difluoridy, které nesou monosubstituované cyklopentadienylové ligandy. Pokusy o přípravu difluoridů substituovaných ligandy pentamethylcyklopentadienyl, tetramethylbutylcyklopentadienyl či methylen-bis(cyklopentadienyl) byly opakovaně neúspěšné (uvedené experimenty nejsou zahrnuty do této práce).

2.2 Příprava titanocen dichloridů

Dichloridy metalocenů Ti (IV) byly připraveny nepřímo, v literatuře již popsanou oxidací vhodných monochloridů Ti (III).^{50,51} Monochloridy $\text{Cp}^{\text{R}'_2}\text{TiCl}$ byly získány reakcí $\text{TiCl}_3 \cdot (\text{THF})_3$ s dvěma ekvivalenty vhodně substituovaného cyklopentadienidu lithného v THF (Obrázek 13). Na základě výše uvedených zkušeností byly reaktanty rozpuštěny zvlášť a až poté převedeny do jedné reakční baňky, za chlazení na teplotu -80°C . Směsi byly zbarveny do hnědozelená a v reakční směsi byl vyloučen pevný LiCl. Po uplynutí reakční doby byl roztok převeden kanylou do baňky s 10 ekvivalenty pevného PbCl_2 , který oxidoval Ti (III) na Ti (IV), přičemž se změnila barva reakční směsi na červenou. THF bylo po uplynutí reakční doby z reakční směsi oddestilováno za sníženého tlaku a produkt byl extrahován do toluenu. I tyto kroky však zanechávají ve výsledném materiálu určité množství nečistot, detekovatelné NMR spektroskopií, a pro maximální čistotu je nutné jej rekrystalovat (2.4).

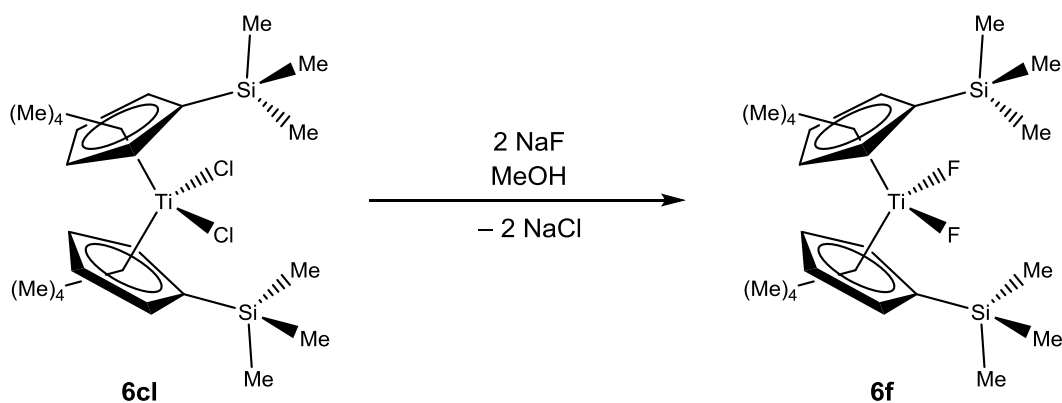


Obrázek 13. Reakční schémata příprav **4cl-6cl**.

2.3 Fluorace polysubstituovaných titanocen dichloridů

Transhalogenace **6f** byla provedena za využití v literatuře již popsaného postupu.¹³ K roztoku NaF v MeOH byl postupně přidáván roztok komplexu **6cl** (Obrázek 14), za varu, při teplotě 60 °C. Úspěšný průběh reakce byl indikován změnou barvy z červené na žlutou, po čemž lze reakci bezpečně ukončit. Z reakční směsi byl oddestilován MeOH za sníženého tlaku a produkt byl extrahován do toluenu. I tento komplex byl následně rekrystalován.

Zajímavým pozorováním je, že v případě pokusu o transhalogenaci monosubstituovaného **5f** vedla reakce až k alkoholýze komplexu, za vzniku bis(methanolátu). Dvě uvedené metody příprav titanocen difluoridů – přímá a transhalogenační, se zdají být v rámci této série komplementární, v závislosti na stupni substituce požadovaného difluoridu



Obrázek 14. Reakční schémata přípravy **6f**.

2.4 Izolace připravených komplexů

Po pouhém odpaření roztoku není čistota a kvalita krystalů výše uvedených látek dostačující pro následnou aplikaci, či pro charakterizaci rentgenovou difrakcí. Z tohoto důvodu byly látky bez výjimek rekrystalovány.

Coby nejuniverzálnější postup pro získání krystalů výše uvedených komplexů se ukázalo být rozpuštění pevného materiálu v minimálním objemu CH_2Cl_2 , v úzké Schlenkově baňce. Všechny uvedené komplexy byly v CH_2Cl_2 dobře rozpustné (pro rozpuštění navážek v řádech stovek mg postačilo obvykle 3-5 ml rozpouštědla). Takto připravený nasycený roztok byl opatrně převrstven desetinásobným objemem n-hexanu), čímž bylo vytvořeno fázové rozhraní CH_2Cl_2 /n-hexan. Celá baňka byla poté vychlazená na teplotu $-24\text{ }^\circ\text{C}$ a rozpouštědla byla ponechána volně difundovat, při čemž docházelo k růstu kvalitních monokrystalů. Nevýhodou tohoto postupu byla dlouhá doba růstu krystalů, která činila minimálně jeden týden a nezanedbatelná rozpustnost difluoridů v hexanu, která vyžadovala využití mrazáku.

Alternativně lze krystalovat látky vychlazením nasyceného toluenového či hexanového roztoku (v případě difluoridů). CH_2Cl_2 se ukázal být pro toto provedení nevhodný. Po extrakci příslušného titanocenu do toluenu/hexanu byl destilací za sníženého tlaku jeho roztok zahuštěn, dokud se v něm nezačala viditelně srážet pevná fáze. Po ohřátí na pokojovou teplotu (při destilaci *in vacuo* dochází k ochlazení roztoku) byl pevný podíl rozpuštěn a výsledný roztok byl považován za nasycený. Ten byl vychlazen na $-24\text{ }^\circ\text{C}$ a ponechán krystalovat, zpravidla po dobu 48 hodin. Výsledkem byly krystaly o dostačující čistotě, avšak mnohdy nevhodné pro rentgenovou strukturní analýzu.

Oběma postupy bylo po opakovaném zahuštění matečného roztoku a rekrystalizaci dosaženo výtěžků v rozmezí 59-79 %.

Alternativní metodou přípravy čistého, avšak mikrokrystického produktu se ukázala být sublimace/desublimace. Pevný produkt reakce byl umístěn do vialky, uzavřené žmolkem skelné vaty a umístěné do dlouhé Schlenkovy baňky. Ta byla zavedena do cylindrické pece a ponechána evakuovat. Pec byla postupně vyhřáta na $125\text{ }^\circ\text{C}$ a hrdlo baňky bylo vychlazené hadříkem, smočeným v kádince vody o pokojově teplotě. Produkt byl sublimován z kádinky a ve vychlazeném prostoru desublimován. Tímto postupem lze v rámci 2 hodin dosáhnout až 40% výtěžku, avšak zbylý materiál ve vialce byl dále nepoužitelný a získaný sublimát nebyl vhodný pro rentgenovou difrakční analýzu.

2.5 Příprava výchozích látek

K přípravě všech výše uvedených metallocenů byly využity lithné soli derivátů cyklopentadienů. Řada z nich, C_5H_5Li , C_5HMe_4Li a $C_5H_4CMe_2PhLi$, byly k dispozici interně. Zbylé, tj. C_5H_4tBuLi (**3li**), $C_5H_4CH_2PhLi$ (**4li**), $C_5H_4SiMe_3Li$ (**5li**) a $C_5Me_4SiMe_3Li$ (**6li**) bylo nutno připravit. Též bylo nutno připravit adukt $TiF_4 \cdot (THF)_2$.

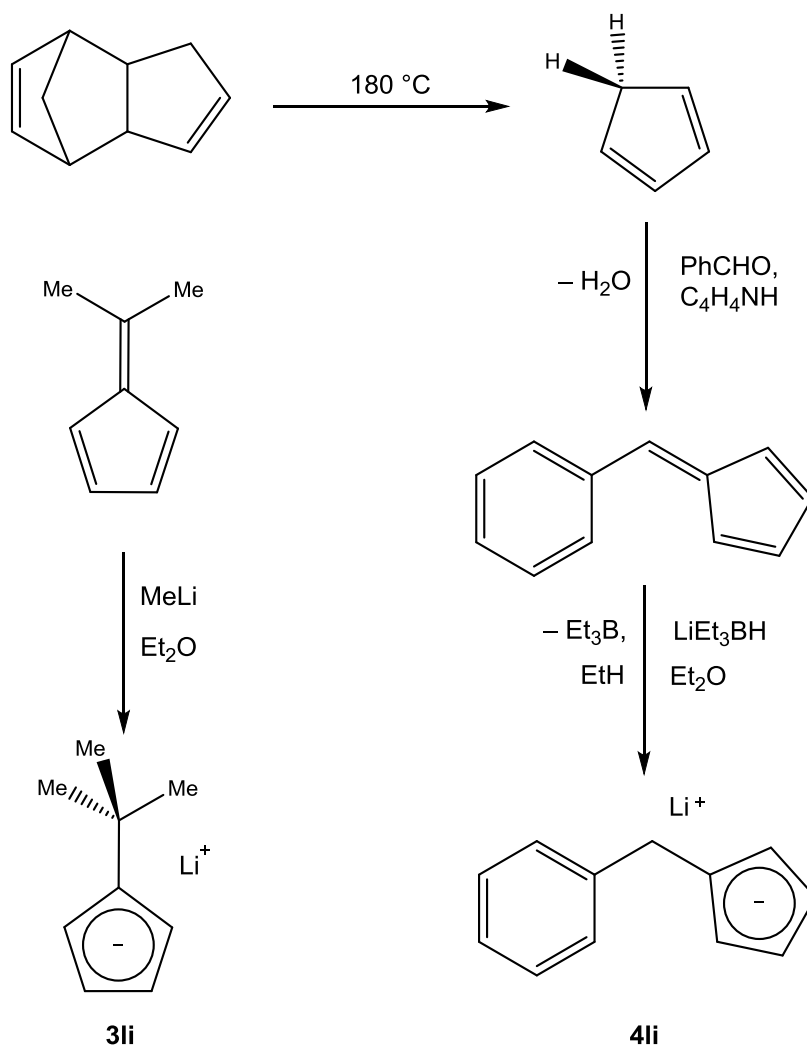
Příprava aduktu $TiF_4 \cdot (THF)_2$ proběhla dle postupu popsaného v literatuře.⁴⁹ Pevný TiF_4 byl postupně rozpuštěn v nadbytku vychlazeného THF. Dvě molekuly THF se během tohoto procesu koordinují na Ti. Produkt byl izolován prostým přefiltrováním a oddestilováním nezreagovaného THF za sníženého tlaku.

K přípravě cyklopentadienidů lithných byla zvolena metoda adice organolithného (MeLi) nebo hydridového ($LiBHEt_3$) činidla na příslušné fulveny. Pro tento účel byl připraven 6-fenylfulven z čerstvě krakovaného cyklopentadienu. 6,6-dimethylfulven byl k dispozici interně.²²

Příprava 6-fenylfulvenu je založena na reakci cyklopentadienu s benzaldehydem za přítomnosti báze (pyrrolidin). Kyselý vodík cyklopentadienu byl během tohoto procesu abstrahován bází a docházelo k jeho kondenzaci s karbonylovou skupinou, přičemž vznikal sytě červený 6-fenylfulven (Obrázek 15). Připravený fulven byl izolován okyselením zředěnou kyselinou octovou, extrakcí do Et_2O a následnou vakuovou destilací.

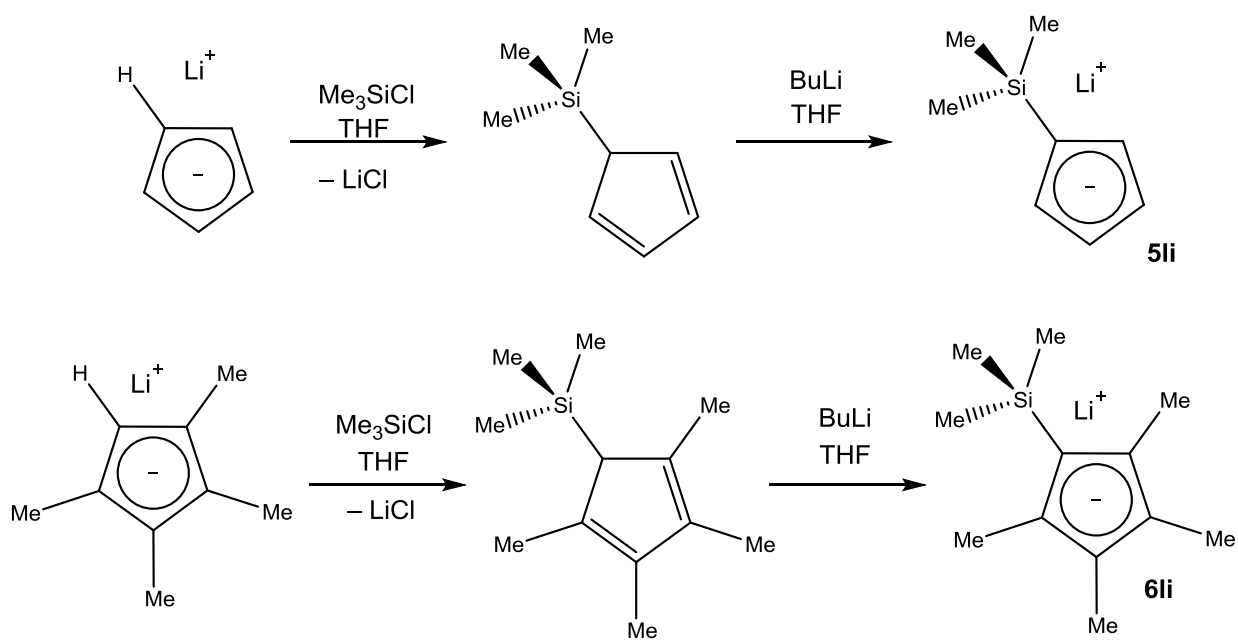
V druhém kroku, který byl již společný pro přípravu obou alkylovaných cyklopentadienidů, bylo na exocyklickou dvojnou vazbu adováno organolithné, příp. hydridolithné činidlo, čímž byl na fulven zaveden vhodný uhlovodíkový zbytek či hydridový aniont a současně byl lithován (Obrázek 15). Sůl byla izolována pouhým oddestilováním rozpouštědla za sníženého tlaku a promytím Et_2O a pentanem, neboť předpokládané vedlejší produkty reakce byly těkavé.

Výtěžky činily 70 % pro přípravu **4li** a 90 % pro přípravu **3li**. K tomuto 20% rozdílu docházelo vlivem nutnosti přípravy 6-fenylfulvenu při přípravě **4li**, přičemž je výtěžek nutno vztáhnout na výchozí CpH.



Obrázek 15. Reakční schémata příprav **3li** a **4li**.

Rozdílný postup byl zvolen pro přípravu silylových cyklopentadienidů lithných, a to silylace lithné soli CpLi a C₅Me₄HLi, vhodným chlorsilanem Me₃SiCl v THF, za chlazení (Obrázek 16). Při reakci došlo vyloučení pevného LiCl. Reakční směs byla odfiltrována kanylou do čisté baňky a lithiována *in situ* přidavkem roztoku n-BuLi v hexanu. Produkt byl izolován oddestilováním rozpouštědla za sníženého tlaku. Výtěžky obou příprav se pohybovaly těsně okolo 92 %.



Obrázek 16. Reakční schémata příprav **5li** a **6li**.

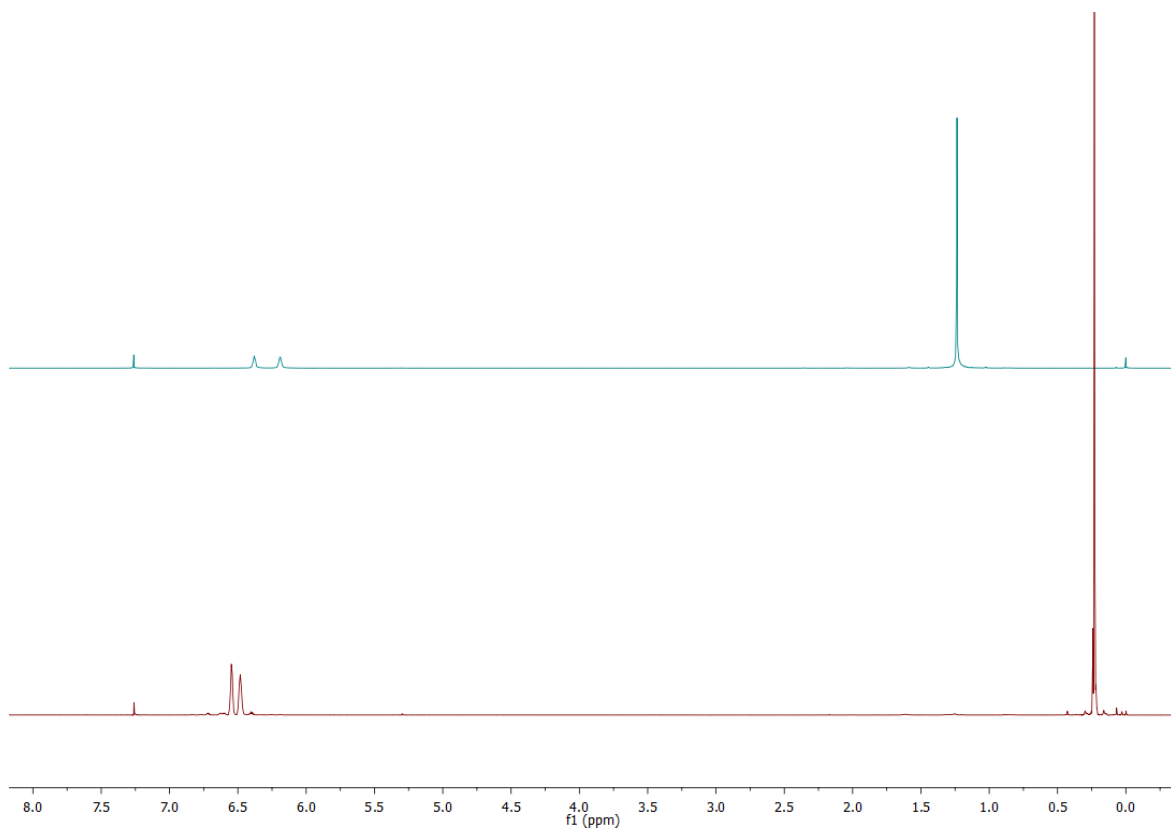
2.6 NMR spektroskopie

Připravené látky byly charakterizovány metodami ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ APT a ^{19}F NMR spektroskopie. Získaná spektra byla interpretována na základě předpokládaných struktur produktů. Kompletní výčet hodnot chemických posunů je předmětem experimentální sekce (3).

2.6.1 ^1H NMR

Mezi opakující se spektrální jevy v ^1H NMR spektrech této série titanocenů patří 2 multiplety v aromatické oblasti chemických posunů, tj. interval zhruba 5-7 ppm, které náleží proximálním a distálním- vodíkům monosubstituovaných cyklopentadienylových ligandů. Jejich konkrétní příslušnost nebylo pro účely této práce nutno rozlišovat, avšak lze tak učinit na základě 2D NMR spektroskopie.

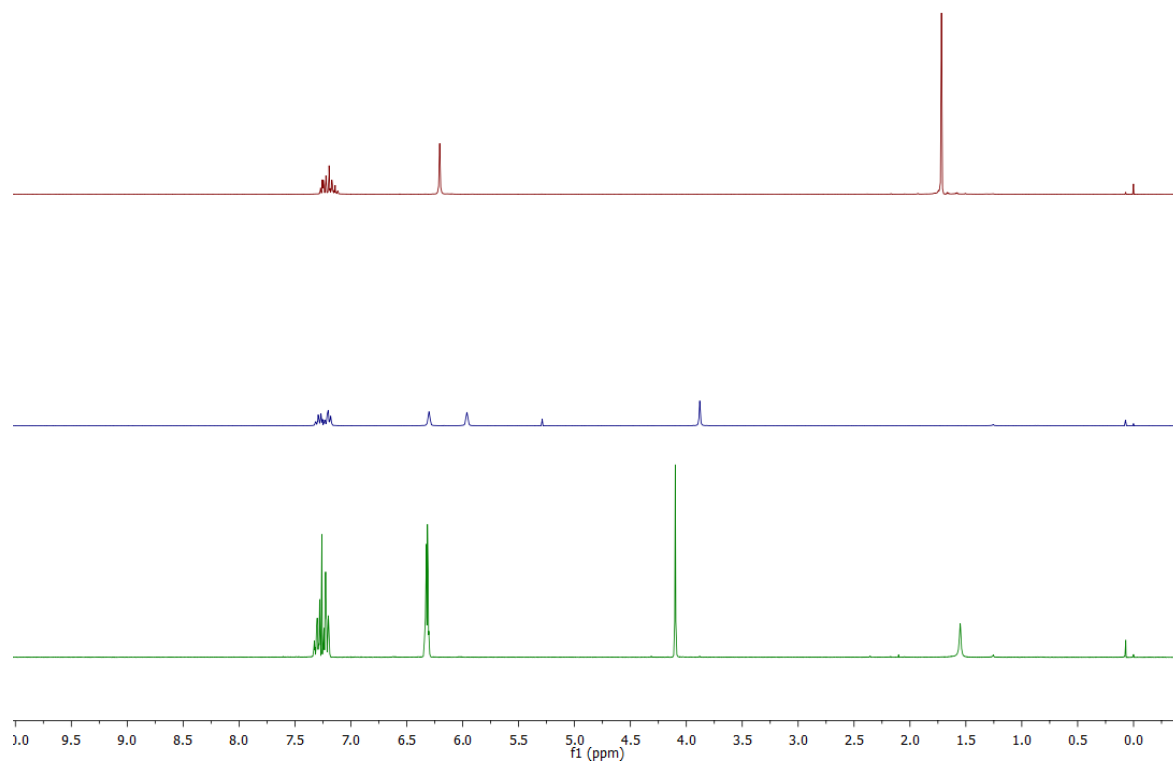
V případě komplexu **3f** dominuje ve spektru singlet v rozmezí 1-1,5 ppm, který odpovídá devíti atomům H terc-butylové skupiny. Analogicky lze podobný signál nalézt i pro $-\text{SiMe}_3$. Zajímavostí je právě možnost pozorovat vliv kvarterního atomu na chemický posun funkčních skupin $-\text{SiMe}_3$ a $-\text{CMe}_3$ porovnáním spekter **3f** a **5f** (Obrázek 17).



Obrázek 17. Porovnání ^1H NMR spekter komplexů, v pořadí shora **3f** a **5f**.

V případě komplexů **2f**, **4f** a **4cl** lze navíc pozorovat v již uvedené aromatické oblasti další multiplet o vyšší integrální intenzitě (tj. 5 oproti 4), nežli Cp^{R} , který má ve všech případech vyšší chemický posun než signály příslušící Cp^{R} . Ten indikuje přítomnou fenylovou funkční skupinu (Obrázek 18).

Na spektrech **2f** a **4f** lze též pozorovat rozdílné signály $-\text{CH}_2-$ a $-\text{CMe}_2-$ skupin. Ty se liší integrální intenzitou i chemickým posunem (Obrázek 18).



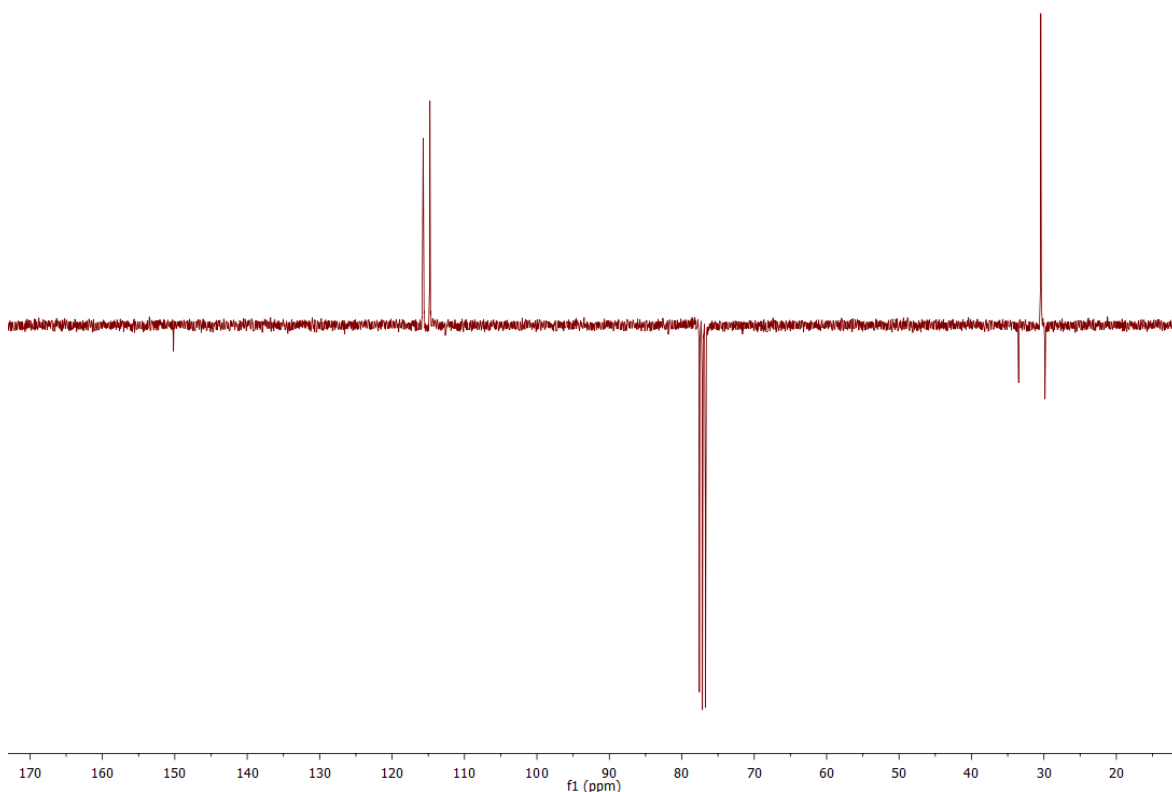
Obrázek 18. Srovnání ^1H NMR spekter, v pořadí shora **2f**, **4f** a **4cl**.

2.6.2 ^{13}C APT NMR

Spektra ^{13}C byla měřena pulsní sekvencí APT, při níž dochází ke změně polaritě signálu, v závislosti na počtu vázaných ^1H atomů na daném ^{13}C . C a CH_2 skupiny, které jsou záporné, lze tak rozlišit od CH a CH_3 skupin, které jsou kladné. Při měření byla dekaplována jádra ^1H , tudíž měřená ^{13}C APT spektra nesou méně informací o vzájemných polohách substituentů.

Spektra potvrzují předpokládané struktury látek, jak bude demonstrováno na příkladu **3f** (Obrázek 19). Tento příklad je vhodný, neboť spektra ^1H a ^{13}C se mimo absence štěpení sousedními jádry liší také viditelností kvarterních ^{13}C .

Atomy ^{13}C monosubstituovaných cyklopentadienylů jsou charakterizovány dvěma kladnými ^{13}C Cp kruhu, a jedním záporným signálem kvarterního ^{13}C , v aromatické oblasti. ^{13}C methylových skupin na terc-butylu jsou analogicky ^1H spektru degenerovány v jeden signál. Viditelný je navíc i kvarterní ^{13}C terc-butylové skupiny.

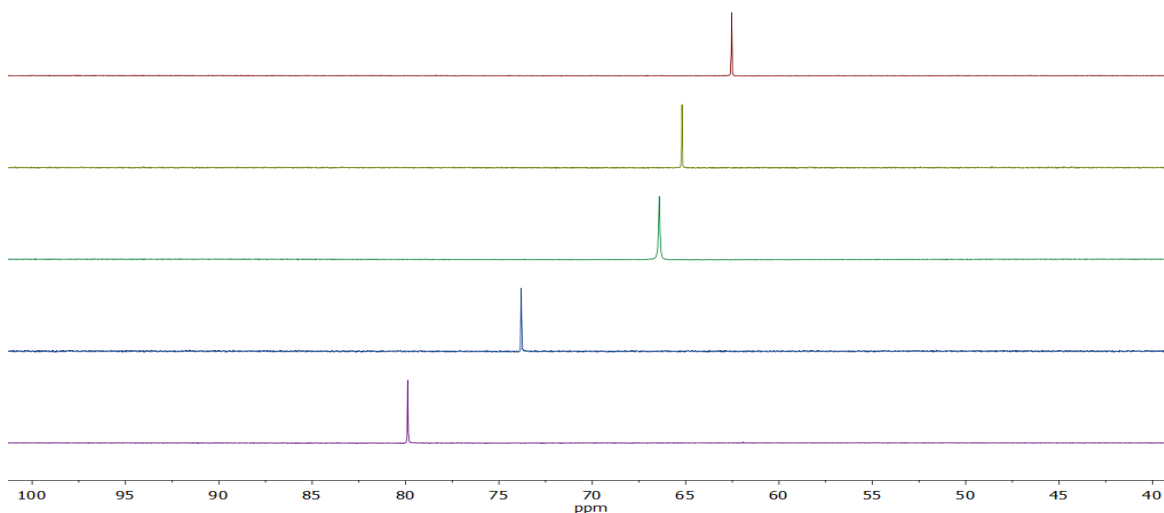


Obrázek 19. ^{13}C NMR spektrum komplexu **3f**.

2.6.3 ^{19}F NMR

Difluoridové metalloceny lze mimo ^1H i ^{13}C NMR charakterizovat i ^{19}F NMR experimentem. Isotop ^{19}F je stabilní a má v přírodě takřka 100% zastoupení. Jeho jaderný spin činí $+1/2$ a gyromagnetický poměr $251,66 \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}$. Tyto parametry jsou srovnatelné s jádrem ^1H . V čem se však spektra ^1H a ^{19}F liší, je rozsah posunů, ve kterém se nachází jejich signály.⁵²

^{19}F spektra všech fluorokomplexů jsou tvořena jedním singletem. Přítomnost dalších signálů je dobrým indikátorem vedlejších produktů, např. hydrolytických, či redukčních. I v rámci této relativně homogenní série dochází ke značnému posunu signálů ^{19}F v závislosti na substituci Cp^{R} (Obrázek 20).

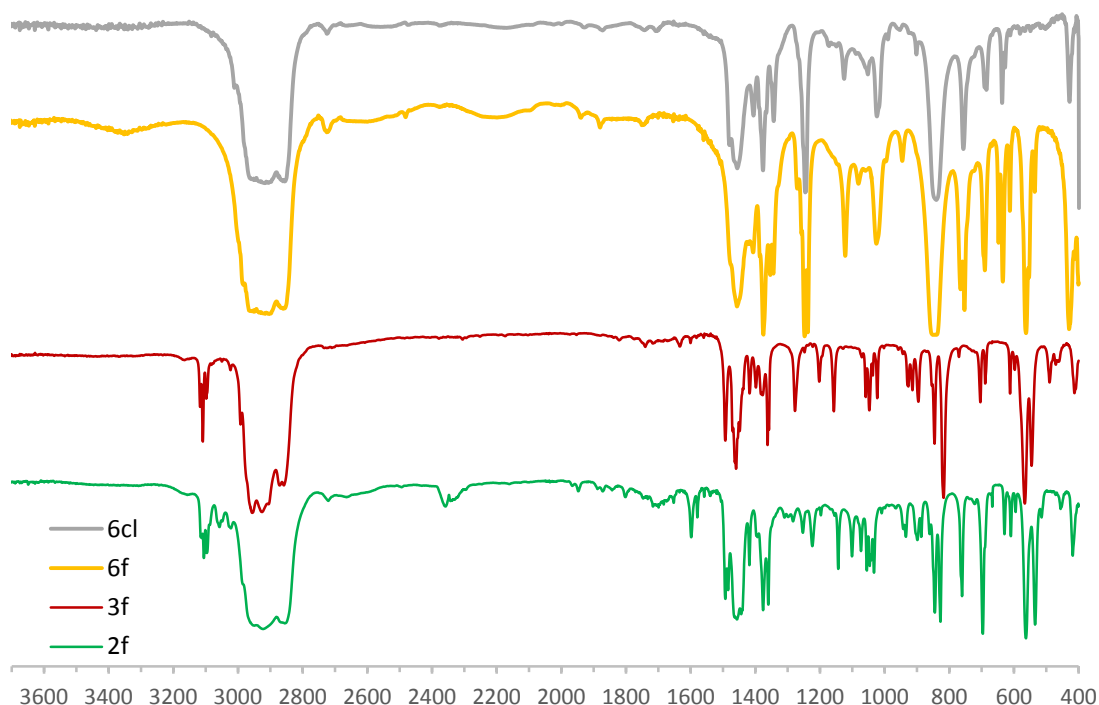


Obrázek 20. Porovnání posunů signálů ^{19}F titanocen difluoridů, v pořadí shora **3f**, **2f**, **4f**, **5f**, **6f**.

2.7 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektra všech látek byla měřena metodou nujolové suspenze, mezi dvěma monokrystaly KBr. Vzhledem k povaze měřených látek je interpretace spekter složitá, neboť převážně obsahují C-H a C-C vazby, které se kryjí s pásy nujolu. V důsledku této metody mají též některá spektra nižší rozlišení, patrně z důvodu vysoké koncentrace pevného materiálu (Obrázek 21).

Avšak lze rozlišit některé charakteristické pásy, např. monosubstituovaných benzenů, v okolí ($\pm 20 \text{ cm}^{-1}$) 700 a 750 cm^{-1} , komplexů **2f**, **4f** a **4cl**, které nejsou přítomny ostatních spektrech.⁵³ Signály v okolí ($\pm 20 \text{ cm}^{-1}$) 3100 , 1440 , 1020 , $850/830$ a 615 lze přiřadit $\nu(\text{CH})$, $\nu(\text{CC})$, $\delta(\text{CH})$, $\pi(\text{CH})$ a $\delta(\text{CCC})$ vibračním módům, v uvedeném pořadí. V titanocen difluoridech lze též pozorovat $\nu(\text{TiF})$ vibrace, o vlnótech 560 a $540 (\pm 10) \text{ cm}^{-1}$.⁵⁴ Naopak $\nu(\text{TiCl})$ vibrace v naměřených spektrech nelze nalézt, neboť se nachází mimo rozsah měření. V komplexech **5f**, **5cl**, **6f** a **6cl** lze dále rozlišit některé valenční vibrace $-\text{SiMe}_3$ skupiny, a to 755 a 630 cm^{-1} $\nu(\text{Si-C}_3)$ antisymetrické a symetrické.⁵³ Podrobný výčet nalezených pásů je uveden v experimentální sekci.



Obrázek 21. Infračervená spektra vybraných komplexů (**2f**, **3f**, **6f** a **6cl**).

2.8 Rentgenová strukturní analýza

Krystalové struktury připravených titanocen difluoridů, vyjma **1f**, nebyly dosud publikovány.⁵⁵ Proto byla provedena RTG strukturní analýza jejich monokrystalů (Obrázek 22-Obrázek 26).

Krystalové struktury těchto na prvních pohled příbuzných látek jsou značně různorodé. Látky krystalizují v odlišných krystalových soustavách, konkrétně monoklinické v případě **2f**, **4f** a **5f**, orthorhombické **3f** a tetragonální **6f**. Hodnoty vybraných vazebných délek a úhlů jsou uvedeny níže (Tabulka 1).

Lze konstatovat, že substituce Cp^R má pouze minimální vliv na vazebné vzdálenosti Ti-F. Obdobně i vazebné vzdálenosti Ti-Cg vykazují minimální odchylky, s výjimkou komplexu **6f**. To je patrné i z jeho hodnot vazebných úhlů Cg-Ti-Cg, které se značně liší od zbytku komplexů. Lze soudit, že tomu tak je z důvodu sterických nároků substituentů, neboť komplex krystaluje v takřka zákrytové konformaci (Obrázek 26). Překvapivě nebyla na základě strukturních dat objevena žádná významná mezimolekulární interakce, která by tuto geometrii zvýhodňovala. Za pozornost dále stojí, že v komplexu **5f** jsou vzdálenosti Ti-Cg asymetrické.

Na rozdíl od **6f** se v krystalových buňkách komplexů **2f-5f** významně uplatňují nevazebné interakce CH \cdots F (Tabulka 2).⁵⁶

Interakce mají různý charakter v každém z komplexů. Například v krystalové buňce komplexu **2f** každý z fluoridových ligandů interaguje s dvěma H atomy, C2 a C4, dvou sousedních molekul, výsledkem čehož dochází síťovému uspořádání molekul. Naproti tomu u **3f** pak fluoridové ligandy interagují jen s jedním H atomem, jedné sousední molekuly, H2 a H2', což vede k lineárnímu uspořádání interagujících molekul. Na závěr je nutno zmínit, že v komplexu **5f** jsou nevazebné interakce asymetrické (každý z fluorů interaguje s různým počtem H atomů sousedních molekul).

Tabulka 1. Vybrané vazebné délky a úhly komplexů **2f-6f**.

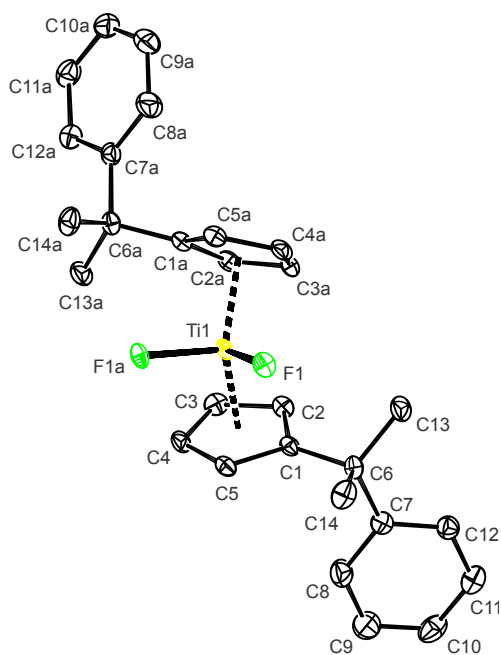
Komplex	d Ti–F Å	d Ti–Cg Å	φ Cg–Ti–Cg 1°	φ F–Ti–F 1°
2f	1,8696(9)	2,0803(8)	131,98(4)	93,73(4)
3f	1,8634(11)	2,0792(8)	131,97(3)	94,10(5)
4f	1,8665(12)	2,0698(9)	133,31(4)	96,32(5)
5f	1,8661(8), 1,8738(10)	2,0676(7), 2,0735(7)	131,28(3)	94,98(4)
6f	1,866(2)	2,118(2)	137,15(6)	98,33(10)

Cg - geometrický střed cyklopentadienylového kruhu.

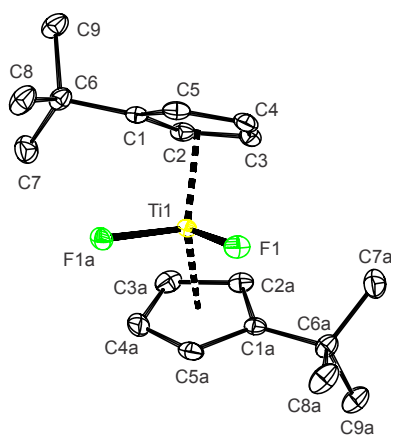
Tabulka 2. Charakteristické údaje významných nevazebných interakcí CH \cdots F.

Komplex	Atomy	d F \cdots H Å	φ Ti–F \cdots H 1°
2f	H2-C2	2,507	120,84
	H4-C4	2,391	144,18
3f	H2-C2	2,425	158,53
4f	H4-C4	2,280	112,92
	H12-C12	2,542	136,80
5f	F1 \cdots H3C3 ^a	2,387	153,73
	F2 \cdots H5C5 ^a	2,443	111,96
	F1 \cdots H13C13 ^a	2,593	135,77

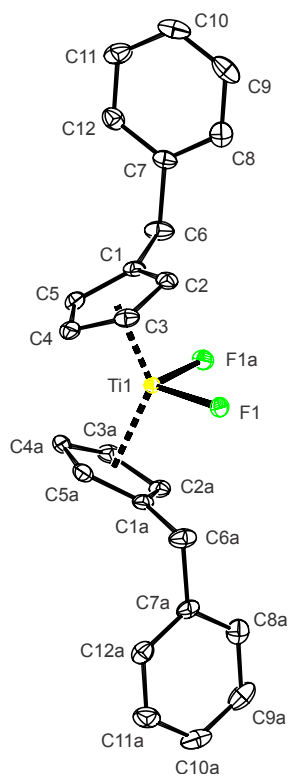
^aZ důvodu asymetrie interakcí jsou uvedeny i příslušné atomy fluoru.



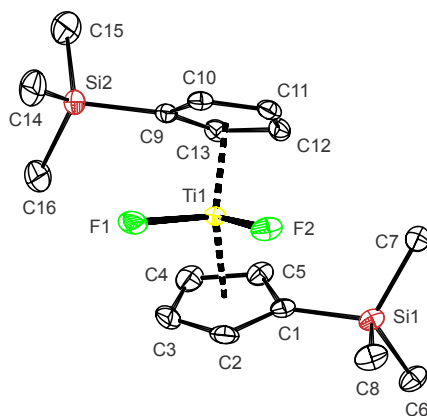
Obrázek 22. Molekulová struktura komplexu **2f** v pevné fázi. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny pro hladinu pravděpodobnosti 50 %. Vodíkové atomy nebyly pro přehlednost zobrazeny.



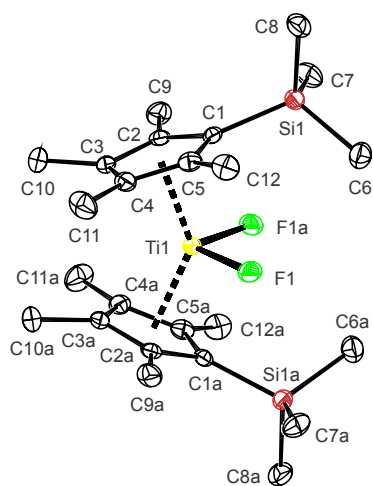
Obrázek 23. Molekulová struktura komplexu **3f** v pevné fázi. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny pro hladinu pravděpodobnosti 50 %. Vodíkové atomy nebyly pro přehlednost zobrazeny.



Obrázek 24. Molekulová struktura komplexu **4f** v pevné fázi. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny pro hladinu pravděpodobnosti 50 %. Vodíkové atomy nebyly pro přehlednost zobrazeny.



Obrázek 25. Molekulová struktura komplexu **5f** v pevné fázi. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny pro hladinu pravděpodobnosti 50 %. Vodíkové atomy nebyly pro přehlednost zobrazeny.



Obrázek 26. Molekulová struktura komplexu **6f** v pevné fázi. Teplotní elipsoidy jsou vykresleny pro hladinu pravděpodobnosti 50 %. Vodíkové atomy nebyly pro přehlednost zobrazeny.

2.9 Závěr

Zvolenou metodou reakce lithných solí příslušně substituovaného cyklopentadienu s tetrahydrofuranovým aduktem fluoridu titaničitého byla připravena série derivátů titanocen dihalogenidových komplexů (Obrázek 11). Pro komplexy **3f-6f** a **4cl-6cl** bylo nutno připravit příslušné lithné soli **3li-6li**. Pro zbylé látky byly lithné soli již k dispozici. Všechny uvedené komplexy byly úspěšně syntetizovány a charakterizovány metodami ^1H , ^{13}C {1H} APT a ^{19}F NMR spektroskopie (v případě difluoridů), IR (metodou nujolové suspenze), vyjma již dobře známého **1f** a lithných solí. Též byly naměřeny body tání, provedeny prvkové analýzy (C, H) pro nové látky a RTG difrakční analýzou určeny dosud neznámé struktury komplexů difluoridových v pevné fázi, opět vyjma **1f**.

V rámci připravených komplexů byla experimentálně ověřena možnost syntézy monosubstituovaných titanocen difluoridů přímým postupem. Současně byla příprava optimalizována pro maximální výtěžky a čistotu připraveného materiálu. Bylo též zjištěno, že v rámci série připravovaných látek lze pouze monosubstituované titanocen difluoridy připravovat přímo, zatímco transhalogenací dichloridů pomocí NaF v MeOH lze připravit jen difluoridy polysubstituované. Jedná se tak o metody komplementární. Všechny syntetizované látky jsou, či v budoucnu budou podrobeny testům cytotoxicity na spolupracujícím pracovišti RECAMO a vybrané látky budou též využity k elektrochemickému výzkumu na ÚFCH JH.

3 Experimentální část

3.1 Metody a materiál

Veškerá práce, pokud není řečeno jinak, byla prováděna v digestoři opatřené linkou inertní plyn/vakuum, kdy se jako inertní plyn používal argon o čistotě 5.0, který byl dále zbaven stop vlhkosti a kyslíku průchodem patronami s molekulovými sítí 4Å a deoxygenační patronou (Model 1000, Aldrich). Využívala se Schlenkova technika práce, v baňkách s postranními kohouty a zábrusovými zátkami. Pro operace s kapalinami, např. přidávání reaktantů, převádění roztoků a filtraci, byla využívána septa ze silikonové pryže a nerezové kanyly, příp. hadičky z PTFE a jednorázové stříkačky a jehly. Jako filtrační membrány byly využity filtry ze skelných vláken (Whatman GF-C). Manuální operace s citlivými materiály v pevném stavu byly provedeny v gloveboxu mBraun Labmaster 130, pod atmosférou dusíku.

Všechna využitá rozpouštědla, pokud není uvedeno jinak, jsou bezvodá a byla skladována a transportována pod inertní atmosférou argonu. Rozpouštědla byla sušena průchodem kolonami s aktivovaným Al_2O_3 na zařízení firmy Innovative Technologies, a skladována v baňkách opatřených molekulovými sítí 3Å. Dále byl použit dicyklopentadien (Fluka), kyselina octová a MeOH (Lachner), který byl skladován nad molekulovým sítím 4Å.

NMR spektra byla získána na spektrometru Varian Unity 300 při teplotě 293 K, jako referenční hodnoty byly použity chemické posuny (δ/ppm) příslušných deuterovaných rozpouštědel (resp. signálů zbytkových nedeuterovaných rozpouštědel v ^1H spektrech): CDCl_3 : δH 7.26, δC 77.16; DMSO-d_6 : δH 2.50, δC 39.52. ^{19}F NMR spektra byla referencována na signál CFCl_3 jako externí referenci. Infračervená spektra byla měřena na spektrometru Nicolet Avatar FTIR, metodou nujolové suspenze mezi dvěma destičkami z monokrystalického KBr, v rozsahu vlnočtů $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$. Elementární analýzy byly provedeny na analyzátoru FLASH 2000 CHN. Body tání krystalických produktů byly stanoveny na Koflerově bodotávku. Ke stanovení byly pod inertní atmosférou připraveny zatavené skleněné kapiláry s příslušným vzorkem.

3.2 Syntetická sekce

3.2.1 Příprava $\text{TiF}_4 \cdot (\text{THF})_2$

TiF_4 (5,0 g; 40 mmol) bylo pomalu přisypáno do baňky s THF (30 ml), za intenzivního míchání. Roztok byl ponechán reagovat 16 hodin, a poté byl filtrován kanylou přes filtrační membránu. THF bylo z filtrátu oddestilováno za sníženého tlaku.

Výtěžek = 7,4 g (73 %), bílá pevná látka s nádechem růžové barvy.

3.2.2 Příprava 3li

6,6-dimethylfulven (2,50 g; 23,5 mmol) byl rozpuštěn v Et_2O (20 ml). Roztok byl vychlazen v lázni ethanol/ N_2 (l). K tomuto roztoku bylo po dobu 15 minut stříkačkou přikapáváno MeLi (14,7 ml; 1,60 mol l^{-1} v Et_2O). Směs byla ponechána reagovat po dobu 16 hodin, při pokojové teplotě. V průběhu reakce byl $(\text{C}_4\text{H}_5\text{CMe}_3)\text{Li}$ samovolně vysrážen coby bílá, mikrokrytalická sraženina. Et_2O bylo z reakční směsi oddestilováno za sníženého tlaku. Produkt byl promyt Et_2O (5 ml), pentanem (10 ml) a vysušen za sníženého tlaku.

Výtěžek = 2,7 g (90 %), bílá amorfnní sraženina.

3li $\text{LiC}_5\text{H}_4\text{C}(\text{CH}_3)_3$ NMR (DMSO-d_6) ^1H : δ 1.14 (s, 9H, CMe_3), 5.11, 5.21 (2 \times zdánlivý t, $J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 4H, C_5H_4) ppm.

3.2.3 Příprava 4li

Dicyclopentadien (60 ml; 0,7 mol) byl krakován při teplotě 180 °C a vznikající cyklopenta-1,3-dien byl postupně oddestilován do baňky s benzaldehydem (73 ml; 0,8 mol), vychlazené v lázni ethanol/ N_2 (l). Ke směsi obou látek byl přidán pyrrolidin (58 ml; 0,7 mol), a po odstavení chladicí lázně byla ponechána reagovat po dobu 24 hodin, při pokojové teplotě.

Po dokončení reakce byla směs vychlazená v ledové lázni na 0 °C a okyselena kyselinou octovou (50 ml; 0,88 mol). Do směsi bylo přidáno 100 ml destilované vody a vzniklá vodná fáze byla protřepána v dělicí nálevce 3krát 100 ml diethyletheru. Jímaná organická fáze byla v čisté dělicí nálevce ještě protřepána 2x 50 ml nasyceného roztoku NaCl a vysušena pevným MgSO_4 . Poté byl surový 6-fenylfulven destilován pod inertní atmosférou argonu. Nejprve byl za atmosférického tlaku oddestilován diethylether a po náhlém vzrůstu teploty byl zbytek směsi destilován za sníženého tlaku (0,7 Torr). Produkt

byl jímán coby frakce o bodu varu 88-90 °C (červená viskózní kapalina, která po ochlazení na -24 °C krystalovala).

K navážce takto připraveného $C_5H_4CHC_6H_5$ (1,75 g; 11,2 mmol), rozpuštěné v 10 ml Et_2O a vychlazené v lázni ethanol/ N_2 (I), bylo po dobu 10 minut a za stálého míchání přikapáváno $LiEt_3BH$ (11 ml; 1 mol l^{-1} v THF). Směs byla ponechána reagovat po dobu 16 hodin, při pokojové teplotě.

Rozpouštědlo bylo z reakční směsi oddestilováno za sníženého tlaku. Produkt byl promyt Et_2O (5 ml), pentanem (10 ml) a vysušen za sníženého tlaku

Výtěžek = 1,24 g (70 %), bílá pevná látka.

4li $LiC_5H_4CH_2C_6H_5$ NMR (DMSO- d_6) 1H : δ 3.66 (s, 2, CH_2), 5.14 (m, 4H, C_5H_4), 7.15 (m, 5H, C_6H_5) ppm.

3.2.4 Příprava 5li a 6li

Navážka cyklopentadienu lithného (resp. tetramethylcyklopentadienu lithného) byla rozpuštěna v 40 ml THF. Roztok byl vychlazen v lázni ethanol/ N_2 (I). K roztoku bylo postupně přidáno $SiMe_3Cl$ a směs byla ponechána reagovat po dobu 16 hodin, přičemž byl vyloučen $LiCl$ coby bílá mikrokrystalická sraženina. Směs byla přefiltrována do čisté baňky a k roztoku bylo přidáno $BuLi$ (1,6 mol l^{-1} v Et_2O). Směs byla ponechána reagovat po dobu 16 hodin, při pokojové teplotě. Poté z ní bylo za sníženého tlaku oddestilováno rozpouštědlo. Zbýlá bezbarvá pevná fáze byla považována za produkt.

Tabulka 3. Navážky a naměřené objemy a výtěžky pro přípravu **5li** a **6li**.

Látka	<i>m</i> LiCp/LiC ₅ Me ₅ mg	<i>V</i> SiMe ₃ Cl ml	<i>V</i> BuLi ml	<i>m</i> Výtěžek mg	<i>w</i> Výtěžek %
5li	1080	1,9	9,4	3460	82
6li	1530	1,5	7,5	3537	75

5li $LiC_5H_4SiMe_3$ NMR (DMSO- d_6) 1H : δ 0.06 (s, 9H, $SiMe_3$), 5.55, 5.65 (2× zdánlivý t, $J_{HH} = 2.6$ Hz, 4H, C_5H_4) ppm.

6li $LiC_5Me_4SiMe_3$ NMR (DMSO- d_6) 1H : δ 0.08 (s, 9H, $SiMe_3$), 1.81, 1.99 (2× s, 12H, C_5Me_4) ppm.

3.2.5 Příprava monosubstituovaných titanocen difluoridů (1f-5f)

Do každé z dvou baněk s navážkami $\text{TiF}_4 \cdot (\text{THF})_2$ a (2,10 mol ekvivalenty) $\text{Cp}^{\text{R}}\text{Li}$ (Obrázek 12), bylo přidáno 30 ml THF. Obě baňky byly chlazeny v lázni ethanol/ N_2 (I) a teflonovou kanylou byl přidáván roztok $\text{TiF}_4 \cdot (\text{THF})_2$ k roztoku $\text{Cp}^{\text{R}}\text{Li}$. Takto připravená reakční směs byla ponechána stát po dobu 24 hodin. V roztoku byla vyloučena bílá, mikrokrytalická sraženina LiF a současně se původně bezbarvý roztok zbarvil do žluta, případně oranžova až červena. Rozpouštědlo bylo z reakční směsi oddestilováno za sníženého tlaku. Zbylý pevný podíl byl extrahován 100 ml toluenu a přefiltrován přes kanylu, opatřenou membránovým filtrem do čisté baňky. Z výsledného roztoku bylo za sníženého tlaku oddestilováno rozpouštědlo a zbylá pevná fáze byla rozpuštěna v minimálním množství CH_2Cl_2 . Takto připravený nasycený roztok byl převrstven hexanem po objem 150 ml a ponechán krystalizovat po dobu 7 dní, při teplotě $-24\text{ }^\circ\text{C}$.

Tabulka 4. Hmotnosti navážek a výtěžků pro přípravu **1f-5f**.

Komplex	$m \text{ TiF}_4 \cdot (\text{THF})_2$ mg	$m \text{ Cp}^{\text{R}}\text{Li}$ mg	m Výtěžek mg	w Výtěžek %
1f	540	320	307	71,1
2f	270	420	263	58,2
3f	270	280	210	64,0
4f	540	710	602	76,0
5f	270	320	215	59,7

1f [$(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)_2\text{TiF}_2$] NMR (CDCl_3) ^1H : δ 6.45 (t, $J_{\text{HF}} = 1.5$ Hz, 10 H, C_5H_5); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$: δ 119.0 (t, $J_{\text{CF}} = 2.5$ Hz, C_5H_5); ^{19}F : δ 64.9 ppm.

2f [$(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CMe}_2\text{Ph})_2\text{TiF}_2$] b.t. $185\text{ }^\circ\text{C}$. NMR (CDCl_3) ^1H : δ 1.72 (s, 12 H, CMe_2), 6.21 (m, 8 H, C_5H_4), 7.24 (m, 10 H, *Ph*); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$: δ 28.4 (CMe_2), 40.6 (CMe_2), 115.4, 117.5 ($2 \times \text{C}_5\text{H}_4$ CH), 126.0, 126.3, 128.2 ($3 \times \text{Ph}$ CH), 147.3 (C_5H_4 C_{ipso}), 150.0 (*Ph* C_{ipso}); ^{19}F : δ 65.2 ppm. IČ (Nujol): 3106 (m), 3097 (m), 2721 (w), 1948 (w), 1873 (w), 1844 (w), 1803 (w), 1700 (w), 1653 (w), 1600 (s), 1580 (w), 1493 (s), 1485 (s), 1445 (s), 1361 (m), 1284 (w), 1225 (w), 1145 (m), 1102 (m), 1074 (m), 1056 (m), 1047 (w), 1034 (m), 943 (m), 900 (m), 888 (m), 862 (w), 846 (s), 829 (s), 762 (s), 698 (s), 630 (m), 610 (m), 596 (w), 564 (s), 536 (s), 457 (w), 419 (s) cm^{-1} . Elementární analýza $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{TiF}_2$ ($M_r = 452,40$) vypočteno C, 74,34; H 6,68 %; naměřeno C, 74,28; H 6,71 %.

3f [$(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{CMe}_3)_2\text{TiF}_2$] b.t. $202\text{ }^\circ\text{C}$. NMR (CDCl_3) ^1H : δ 1.23 (s, 18 H, CMe_3), 6.19, 6.38 ($2 \times$ m, 4 H, C_5H_4); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$: δ 30.4 (CMe_2), 33.5 (CMe_2), 114.8, 115.7 ($2 \times \text{C}_5\text{H}_4$ CH),

150.2 ($C_5H_4 C_{ipso}$); ^{19}F : δ 62.5 ppm. IČ (Nujol): 3109 (s), 3098 (m), 1740 (w), 1634 (w), 1493 (s), 1418 (m), 1398 (m), 1362 (s), 1277 (m), 1202 (m), 1157 (m), 1059 (m), 1048 (m), 1023 (m), 927 (m), 914 (m), 896 (m), 846 (s), 818 (s), 770 (w), 704 (m), 689 (m), 612 (m), 567 (s), 546 (s), 490 (m), 471 (w), 413 (m) cm^{-1} . Elementární analýza $C_{18}H_{26}TiF_2$ ($M_r = 328,26$) vypočteno C, 65,86; H 7,98 %; naměřeno C, 65,79; H 7,95 %.

4f [$(\eta^5-C_5H_4CH_2Ph)_2TiF_2$] b.t. 202 °C. NMR ($CDCl_3$) 1H : δ 3.89 (s, 4 H, CH_2), 5.97, 6.31 (2× m, 4 H, C_5H_4), 7.25 (m, 10 H, C_6H_5); ^{13}C { 1H }: δ 35.6 ($PhCH_2$), 115.6, 117.1 (2× $C_5H_4 CH$), 126.5, 128.6, 129.3 (3× $Ph CH$), 139.4, 141.0 ($Ph C_{ipso}$ and $C_5H_4 C_{ipso}$); ^{19}F : δ 66.4 ppm. IČ (Nujol): 3111 (s), 3062 (m), 1601 (w), 1489 (s), 1421 (m), 1228 (w), 1130 (w), 1072 (m), 1038 (m), 1028 (w), 1002 (w), 942 (m), 913 (w), 854 (m), 844 (s), 817 (s), 773 (m), 704 (s), 668 (w), 631 (w), 570 (s), 553 (m), 473 (m), 419 (m) cm^{-1} . Elementární analýza $C_{24}H_{22}TiF_2$ ($M_r = 396,30$) vypočteno C, 72,74; H 5,60 %; naměřeno C, 72,68; H 5,62 %.

5f [$(\eta^5-C_5H_4SiMe_3)_2TiF_2$] b.t. 128 °C. NMR ($CDCl_3$) 1H : δ 0.23 (s, 18 H, $SiMe_3$), 6.48, 6.55 (2× m, 4 H, C_5H_4); ^{13}C { 1H }: δ -0.7 ($SiMe_3$), 117.2, 127.4 (2× $C_5H_4 CH$), 133.3 ($C_5H_4 C_{ipso}$); ^{19}F : δ 73.8 ppm. IČ (Nujol): 2954 (s), 2923 (s), 2855 (s), 1456 (m), 1404 (w), 1374 (w), 1246 (s), 1177 (w), 1056 (w), 906 (w), 837 (s), 824 (s), 758 (w), 699 (w), 634 (w), 568 (m), 545 (w), 413 (w) cm^{-1} . Elementární analýza $C_{16}H_{26}Si_2TiF_2$ ($M_r = 360,41$) vypočteno C, 53,32; H 7,27 %; naměřeno C, 53,45; H 7,34 %.

3.2.6 Příprava titanocen dichloridů (4cl-6cl)

Do každé z dvou baněk s navážkami $TiCl_3 \cdot (THF)_3$ a (2,10 mol ekvivalenty) $Cp^{R'}Li$ (Obrázek 13), bylo přidáno 30 ml THF. Obě baňky byly vychlazeny v lázni směsi ethanol/ N_2 (l). Teflonovou kanylou byl postupně přidáván roztok $TiCl_3 \cdot (THF)_3$ k roztoku $Cp^{R'}Li$. Takto připravená reakční směs byla ponechána stát po dobu 24 hodin. Z roztoku byla vyloučena bílá, krystalická sraženina $LiCl$ a současně se původně bezbarvý roztok zbarvil (viz tabulka). Reakční směs byla přefiltrována teflonovou kanylou, opatřenou membránovým filtrem, do čisté baňky. Roztok byl převeden do baňky s (10 mol. ekv.) $PbCl_2$. Reakční směs byla ponechána reagovat po dobu 24 hodin, poté z ní bylo za sníženého tlaku oddestilováno rozpouštědlo. Zbylá pevná fáze byla extrahována 100 ml toluenu a extrakt byl filtrován do samostatné baňky. Výsledný roztok byl zbaven rozpouštědla za sníženého tlaku, rozpuštěn v minimálním množství CH_2Cl_2 , převrstven hexanem po objem 150 ml a ponechán krystalizovat po dobu 7 dní, při teplotě -24 °C.

Tabulka 5. Hmotnosti navážek a výtěžků pro přípravu **3cl-6cl**.

Komplex	<i>m</i> TiCl ₃ mg	<i>m</i> Cp ^R Li mg	<i>m</i> PbCl ₂ mg	<i>m</i> Výtěžek mg	<i>w</i> Výtěžek %
4cl	310	680	5600	565	66
5cl	310	610	5600	557	71
6cl	310	840	5600	594	59

4cl [(η⁵-C₅H₄CH₂Ph)₂TiCl₂] b.t. 155 °C. NMR (CDCl₃) ¹H: δ 4.10 (s, 4H, CH₂), 6.31 (m, 8H, C₅H₄), 7.22 (m, 10H, C₆H₅); ¹³C {¹H}: δ 37.12 (CH₂), 116.02, 122.68 (C₅H₄), 126.68 (C₆H₅ C_o), 128.75, 129.17 (C₆H₅ C_m, C_p), 137.18 (C₅H₄ C_{ipso}), 139.62 (C₆H₅ C_{ipso}) ppm. IČ (Nujol): 3111 (w), 2954 (s), 2920 (s), 2854 (s), 1601 (w), 1495 (w), 1450 (m), 1430 (w), 1377 (w), 1246 (w), 1052 (w), 1031 (w), 855 (w), 825 (w), 723 (m), 703 (w), 693 (w), 459 (w), 418 (w) cm⁻¹.

5cl [(η⁵-C₅H₄SiMe₃)₂TiCl₂] b.t. 188 °C. NMR (CDCl₃) ¹H: δ 0.28 (s, 18H, SiMe₃), 6.55, 6.78 (2× zdánlivý t, J_{HH} = 2.6 Hz, 8H, C₅H₄); ¹³C {¹H}: δ 0.15 (SiMe₃), 119.70, 129.90 (C₅H₄), 132.83 (C₅H₄ C_{ipso}) ppm. IČ (Nujol): 3098 (w), 3082 (w), 2954 (s), 2922 (s), 2856 (s), 1456 (m), 1405 (w), 1375 (m), 1249 (s), 1173 (w), 1051 (m), 902 (m), 834 (s), 759 (m), 695 (w), 634 (w), 426 (w) cm⁻¹.

6cl [(η⁵-C₅Me₄SiMe₃)₂TiCl₂] b.t. 158 °C. NMR (CDCl₃) ¹H: δ 0.25 (s, 18H, SiMe₃), 2.01, 2.17 (2× s, 24H, C₅Me₄); ¹³C {¹H}: δ 2.19 (SiMe₃), 12.69, 16.57 (2×2 CMe), 129.10, 137.16 (C₅H₄), 135.86 (C₅H₄ C_{ipso}) ppm. IČ (Nujol): 2906 (s), 2874 (s), 2861 (s), 2857 (s), 1456 (w), 1406 (w), 1376 (w), 1343 (w), 1246 (m), 1126 (w), 1024 (w), 840 (s), 756 (w), 685 (w), 637 (w), 428 (w) cm⁻¹.

3.2.7 Příprava 6f

Navážka 200 mg (0,40 mol) **6cl** byla rozpuštěna v 40 ml MeOH spolu s navážkou 170 mg (4,00 mmol) NaF a ponechána reagovat pod dobu 30 minut, při teplotě 60 °C. Z roztoku byla vyloučena bílá, mikrokrytalická sraženina NaCl a současně se původně červený roztok zbarvil do žluta. Rozpouštědlo bylo z reakční směsi oddestilováno za sníženého tlaku. Produkt byl extrahován z pevné fáze toluenem a jeho roztok přefiltrován do samostatné baňky. Z výsledného roztoku bylo za sníženého tlaku oddestilováno rozpouštědlo. Pevný podíl byl rozpuštěn v minimálním množství CH₂Cl₂, převrstven hexanem po objem 150 ml a ponechán krystalizovat po dobu 7 dní, při teplotě -24 °C.

Výtěžek = 154 mg (82 %), žluté krystaly.

6f [$(\eta^5\text{-C}_5\text{Me}_4\text{SiMe}_3)_2\text{TiF}_2$] b.t. 130 °C. NMR (CDCl_3) ^1H : δ 0.22 (s, 18 H, SiMe_3), 2.02, 2.03 (2 \times s, 12 H, C_5Me_4); ^{13}C { ^1H }: δ 1.5 (SiMe_3), 11.6, 14.7 (2 \times C_5Me_4), 124.6, 130.2, 136.7 (3 \times C_5Me_4 C_{ipso}); ^{19}F : δ 79.8 ppm. IČ (Nujol): 2954 (s), 2949 (s), 2931 (s), 2918 (s), 2915 (s), 2907 (m), 2861 (w), 1457 (w), 1375 (m), 1354 (w), 1344 (w), 1248 (m), 1238 (m), 1122 (w), 1026 (w), 850 (s), 843 (s), 839 (s), 766 (w), 753 (w), 690 (w), 648 (w), 635 (w), 613 (w), 562 (m), 553 (w), 535 (w), 430 (w) cm^{-1} . Elementární analýza $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{Si}_2\text{TiF}_2$ ($M_r = 472,63$) vypočteno C, 60,99; H 8,96 %; naměřeno C, 61,10; H 8,99 %.

3.3 Rentgenová strukturní analýza

Difrakční data byla měřena na přístroji Bruker Apex II při 150 K. Použité záření Mo $K\alpha$, monochromatizované grafitovým monochromátorem, mělo vlnovou délku $\lambda = 0,71073$ Å. Naměřená data byla zpracována souborem programů Bruker SAINT. Korekce na absorpci byla u obou látek provedena metodou multi-scan, která je součástí softwaru difraktometru. Fázový problém byl řešen přímými metodami v programu SHELXS-97. Upřesnění struktury bylo prováděno metodou nejmenších čtverců programem SHELXL-97.⁵⁷ Atomy kromě vodíků byly upřesněny s anizotropními teplotními faktory, vodíkové atomy byly fixovány v teoretických polohách s izotropními teplotními faktory, rovnými násobku izotropního teplotního faktoru jejich vazebného partnera. Geometrické parametry byly vypočteny a zobrazení struktur vytvořeno s pomocí programu Platon.⁵⁸

Tabulka 6. Krystalografické parametry komplexů **2f-6f**.

Komplex	2f	3f	4f	5f	6f
Sumární vzorec	C ₂₈ H ₃₀ F ₂ Ti	C ₁₈ H ₂₆ F ₂ Ti	C ₂₄ H ₂₂ F ₂ Ti	C ₁₆ H ₂₆ F ₂ Si ₂ Ti	C ₂₄ H ₄₂ F ₂ Si ₂ Ti
M (g mol ⁻¹)	452,42	328,29	396,31	360,45	472,65
Krystalová soustava	monoklinická	ortorhombická	monoklinická	monoklinická	tetragonální
Prostorová grupa	C2/c (no. 15)	Fdd2 (no. 43)	C2 (no. 5)	P21/c (no. 14)	P-421c (no. 114)
a (Å)	30,2969(11)	15,5771(5)	15,3017(9)	12,2973(2)	10,8044(9)
b (Å)	6,0126(2)	34,7496(10)	5,7834(3)	12,3137(2)	10,8044(9)
c (Å)	12,5827(4)	5,9463(2)	10,4451(6)	12,3161(2)	21,575(2)
α (°)	90	90	90	90	90
β (°)	101,867(2)	90	95,950(2)	97,0550(10)	90
γ (°)	90	90	90	90	90
V (Å ³)	2 243,12(13)	3 218,7(2)	919,37(9)	1 850,85(5)	2 518,6(5)
Z	4	8	2	4	4
D _{calc} (g ml ⁻¹)	1,340	1,355	1,432	1,294	1,247
μ (MoKα) (mm ⁻¹)	0,411	0,543	0,490	0,602	0,458
T _{min} , T _{max}	0,691, 0,947	0,740, 0,930	0,768, 0,953	0,598, 0,819	0,816, 0,929
Počet difrakcí	8 262	5 959	6 083	14 711	13 210
Unikátní/poz. ^[a] difrakce.	2 578/2 115	1 510/1 464	2 106/2 072	4 455/3 931	2 826/2 252
R _{int} (%) ^[b]	3,1	2,1	2,2	1,9	6,1
R (poz. data) (%) ^[c]	3,53	2,02	2,10	2,69	4,08
R, wR (všechna data) (%) ^[c]	4,85, 8,57	2,12, 5,18	2,16, 4,90	3,23, 7,05	6,33, 8,27
Δρ (e Å ⁻³)	0,33, -0,31	0,19, -0,29	0,28, -0,14	0,53, -0,30	0,34, -0,26

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

^b $R_{int} = \sum |F_o^2 - F_o^2(\text{střed})| / \sum F_o^2$, kde $F_o^2(\text{střed})$ je průměrnou intenzitou symetricky ekvivalentních difrakcí

^c $R = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$, $wR = [\sum \{w(F_o^2 - F_c^2)^2\} / \sum w(F_o^2)^2]^{1/2}$

4 Reference

1. Long, N. J. *Metallocenes: an introduction to sandwich complexes*. (Blackwell Science, 1998).
2. Togni, A. & Halterman, R. L. *Metallocenes: synthesis, reactivity, applications*. (2008).
3. Crabtree, R. H. C. N.-Q. 8. T. C. 2005. *The organometallic chemistry of the transition metals*. (John Wiley, 2005).
4. Castro Rodriguez, M. *et al.* Cp₂TiCl: An Ideal Reagent for Green Chemistry? *Org. Process Res. Dev.* **21**, 911–923 (2017).
5. Gansäuer, A. & Bluhm, H. Reagent-Controlled Transition-Metal-Catalyzed Radical Reactions. *Chem. Rev.* **100**, 2771–2788 (2000).
6. Gansäuer, A. & Narayan, S. Titanocene-Catalysed Electron Transfer-Mediated Opening of Epoxides. *Adv. Synth. Catal.* **344**, 465–475 (2002).
7. Gansäuer, A., Hildebrandt, S., Vogelsang, E. & Flowers II, R. A. Tuning the redox properties of the titanocene(iii)/(iv)-couple for atom-economical catalysis in single electron steps. *Dalt. Trans.* **45**, 448–452 (2016).
8. RAJANBABU, T. V & NUGENT, W. A. SELECTIVE GENERATION OF FREE-RADICALS FROM EPOXIDES USING A TRANSITION-METAL RADICAL - A POWERFUL NEW TOOL FOR ORGANIC-SYNTHESIS. *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 986–997 (1994).
9. Luinstra, G. A. & Teuben, J. H. Lead dichloride: a mild reagent for the oxidation of tervalent titanium compounds (η^2 -C₅Me₅)₂TiR to monochloride derivatives (η^5 -C₅Me₅)₂TiR(Cl). *J. Chem. Soc. {,} Chem. Commun.* 1470–1471 (1990). doi:10.1039/C39900001470
10. Frey, G., Hausmann, J. N. & Streuff, J. Titanium-Catalyzed Reductive Umpolung Reactions with a Metal-Free Terminal Reducing Agent. *Chem. – A Eur. J.* **21**, 5693–5696 (2015).
11. Stamatatos, T. C., Perlepes, S. P., Manos, M. J., Tasiopoulos, A. J. & Klouras, N. Unexpected formation, X-ray structure, and characterization of the triangular [Ti₃O(OMe)₆(η^5 -C₅H₅)₃](I₃) complex from hydrolysis and methanolysis of [Ti(η^5 -C₅H₅)₂I₂]. *J. Coord. Chem.* **64**, 2377–2387 (2011).
12. Herzog, A. *et al.* Trimethyltin Fluoride: A New Fluorinating Reagent for the Preparation of Organometallic Fluorides. *Organometallics* **13**, 1251–1256 (1994).
13. Nikiforov, G. B., Roesky, H. W. & Koley, D. A survey of titanium fluoride complexes, their preparation, reactivity, and applications. *Coord. Chem. Rev.* **258–259**, 16–57 (2014).
14. Busico, V. Metal-catalysed olefin polymerisation into the new millennium: a perspective outlook. *Dalt. Trans.* 8794–8802 (2009). doi:10.1039/B911862B
15. Bochmann, M. Cationic Group 4 metallocene complexes and their role in polymerisation catalysis: the chemistry of well defined Ziegler catalysts. *J. Chem. Soc. {,} Dalt. Trans.* 255–270 (1996). doi:10.1039/DT9960000255
16. Tebbe, F. N., Parshall, G. W. & Reddy, G. S. Olefin homologation with titanium

- methylene compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 3611–3613 (1978).
17. Wittig, G. & Schöllkopf, U. Über Triphenyl-phosphin-methylene als olefinbildende Reagenzien (I. Mitteil. *Chem. Ber.* **87**, 1318–1330 (1954).
 18. Hartley, R. C., Li, J., Main, C. A. & McKiernan, G. J. Titanium carbenoid reagents for converting carbonyl groups into alkenes. *Tetrahedron* **63**, 4825–4864 (2007).
 19. Elschenbroich, C. C. N.-Q. . E. 2006. *Organometallics*. (Wiley-VCH, 2006).
 20. Vohlídal, J., Štulík, K. & Julák, A. *Chemické a analytické tabulky*. (Grada, 1999).
 21. Coşkun, N. & Erden, I. An efficient catalytic method for fulvene synthesis. *Tetrahedron* **67**, 8607–8614 (2011).
 22. Stone, K. J. & Little, R. D. An exceptionally simple and efficient method for the preparation of a wide variety of fulvenes. *J. Org. Chem.* **49**, 1849–1853 (1984).
 23. Strohfeltdt, K. & Tacke, M. Bioorganometallic fulvene-derived titanocene anti-cancer drugs. *Chem. Soc. Rev.* **37**, 1174–1187 (2008).
 24. Horáček, M. *et al.* Syntheses and Crystal Structures of Bis[(trimethylsilyl)tetramethylcyclopentadienyl]titanium Dichloride and Monochloride. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **61**, 1307–1320 (1996).
 25. Hodik, T. *et al.* Titanocene Dihalides and Ferrocenes Bearing a Pendant alpha-D-Xylofuranos-5-yl or alpha-D-Ribofuranos-5-yl Moiety. Synthesis, Characterization, and Cytotoxic Activity. *Organometallics* **33**, 2059–2070 (2014).
 26. Quindt, V. *et al.* Bulky peralkylated cyclopentadienes by extension of Jutzi's pentamethylcyclopentadiene procedure. *J. Organomet. Chem.* **579**, 376–384 (1999).
 27. Koepf, H. & Koepf-Maier, P. Titanocene dichloride - the first metallocene with cancerostatic activity. *Angew. Chemie* **91**, 509 (1979).
 28. Koepf-Maier, P. Complexes of metals other than platinum as antitumor agents. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **47**, 1–16 (1994).
 29. Luemmen, G., Sperling, H., Luboldt, H., Otto, T. & Ruebben, H. Phase II trial of titanocene dichloride in advanced renal-cell carcinoma. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **42**, 415–417 (1998).
 30. Kröger, N., Kleeberg, U. R., Mross, K., Edler, L. & Hossfeld, D. K. Phase II Clinical Trial of Titanocene Dichloride in Patients with Metastatic Breast Cancer. *Oncol. Res. Treat.* **23**, 60–62 (2000).
 31. Claffey, J., Mueller-Bunz, H. & Tacke, M. Benzyl-substituted titanocene dichloride anticancer drugs: From lead to hit. *J. Organomet. Chem.* **695**, 2105–2117 (2010).
 32. Eger, S. *et al.* Titanocene Difluorides with Improved Cytotoxic Activity. *Inorg. Chem.* **49**, 1292–1294 (2010).
 33. Cini, M., Bradshaw, T. D. & Woodward, S. Using titanium complexes to defeat cancer: the view from the shoulders of titans. *Chem. Soc. Rev.* **46**, 1040–1051 (2017).
 34. Koepf-Maier, P. & Koepf, H. Tumor inhibition by titanocene dichloride: first clues to the mechanism of action. *Naturwissenschaften* **67**, 415–416 (1980).

35. Koubkova, L. *et al.* Evaluation of cytotoxic activity of titanocene difluorides and determination of their mechanism of action in ovarian cancer cells. *Invest. New Drugs* **33**, 1123–1132 (2015).
36. Christodoulou, C. V *et al.* Anti-proliferative activity and mechanism of action of titanocene dichloride. *Br. J. Cancer* **77**, 2088–2097 (1998).
37. Guo, M., Sun, H., McArdle, H. J., Gambling, L. & Sadler, P. J. TiIV Uptake and Release by Human Serum Transferrin and Recognition of TiIV-Transferrin by Cancer Cells: Understanding the Mechanism of Action of the Anticancer Drug Titanocene Dichloride. *Biochemistry* **39**, 10023–10033 (2000).
38. Christodoulou, C. V *et al.* Anti-proliferative activity and mechanism of action of titanocene dichloride. *Br. J. Cancer* **77**, 2088–2097 (1998).
39. Manna, C. M., Braitbard, O., Weiss, E., Hochman, J. & Tshuva, E. Y. Cytotoxic Salan–Titanium(IV) Complexes: High Activity Toward a Range of Sensitive and Drug-Resistant Cell Lines, and Mechanistic Insights. *ChemMedChem* **7**, 703–708 (2012).
40. Meker, S., Braitbard, O., Hall, M. D., Hochman, J. & Tshuva, E. Y. Specific Design of Titanium(IV) Phenolato Chelates Yields Stable and Accessible, Effective and Selective Anticancer Agents. *Chem. – A Eur. J.* **22**, 9849 (2016).
41. Bannon, J. H. *et al.* Substituted titanocenes induce caspase-dependent apoptosis in human epidermoid carcinoma cells in vitro and exhibit antitumour activity in vivo. *Br. J. Cancer* **97**, 1234 (2007).
42. T., R. J., C., P. S., Ryan, T. & Balaji, S. Quantification of single-cell nanoparticle concentrations and the distribution of these concentrations in cell population. *J. R. Soc. Interface* **11**, 20131152 (2014).
43. Park, E.-J. *et al.* Sheet-type titania, but not P25, induced paraptosis accompanying apoptosis in murine alveolar macrophage cells. *Toxicol. Lett.* **230**, 69–79 (2014).
44. Cini, M. *et al.* Enantiopure titanocene complexes – direct evidence for paraptosis in cancer cells. *Metallomics* **8**, 286–297 (2016).
45. Kuehnel, M. F. *et al.* Titanium-Catalyzed Vinylic and Allylic C–F Bond Activation—Scope, Limitations and Mechanistic Insight. *Chem. – A Eur. J.* **18**, 10701–10714 (2012).
46. Qian, Y. *et al.* Organotitanium chemistry: Part 17.11 For Part 16, see [28]. Substituent effects on the isomerization of 1,5-hexadiene catalyzed by ring-substituted titanocene hydride. *J. Mol. Catal.* **60**, 19–30 (1990).
47. Deally, A., Hackenberg, F., Lally, G., Müller-Bunz, H. & Tacke, M. Synthesis and Cytotoxicity Studies of Silyl-Substituted Titanocene Dichloride Derivatives. *Organometallics* **31**, 5782–5790 (2012).
48. Lappert, M. F., Pickett, C. J., Riley, P. I. & Yarrow, P. I. W. Metallocene derivatives of early transition metals. Part 2. Substituted cyclopentadienyl Group 4A dichlorometallocene complexes $[M(\eta\text{-C}_5\text{H}_4\text{R})_2\text{Cl}_2]$ ($M = \text{Zr or Hf}$; $R = \text{Me}\{\}, \text{Et}\{\}, \text{Pri}\{\}, \text{But}\{\}$ or $\text{SiMe}_3\{\}$) their mono- and di-alkyl derivatives $[M(\eta\text{-C}_5\text{H}_4\text{R})_2\text{R}'\text{X}]$. *J. Chem. Soc. {,} Dalt. Trans.* 805–813 (1981). doi:10.1039/DT9810000805
49. Jura, M. *et al.* Taking TiF₄ complexes to extremes - the first examples with phosphine co-ligands. *Dalt. Trans.* **39**, 10264–10271 (2010).

50. Horáček, M. *et al.* Reduction of Bis[η^5 -(ω -alkenyl)tetramethylcyclopentadienyl]titanium Dichlorides: An Efficient Synthesis of Long-Chain ansa-Bridged Titanocene Dichlorides by Acidolysis of Cyclopentadienyl-Ring- Tethered Titanacyclopentanes. *Chem. – A Eur. J.* **6**, 2397–2408 (2000).
51. Lukešová, L. *et al.* Reduction-Induced Cyclization and Redox Reactions of Fully Methylated Titanocene Dichlorides Bearing Pendant Alkenyldimethylsilyl Groups, [TiCl₂{ η^5 -C₅Me₄(SiMe₂R)}₂] (R = Vinyl and Allyl). *Organometallics* **21**, 2639–2653 (2002).
52. Jacobsen, N. E. *{NMR} spectroscopy explained: simplified theory, applications and examples for organic chemistry and structural biology.* (Wiley-Interscience, 2007).
53. Lin-Vien, D., Colthup, N. B., Fateley, W. G. & Grasselli, J. G. *The Handbook of infrared and raman characteristic frequencies of organic molecules.* (Academic Press, 1991).
54. Samuel, E., Ferner, R. & Bigorgne, M. Low-frequency infrared and Raman spectra of π -cyclopentadienyl compounds of titanium, zirconium, and hafnium. *Inorg. Chem.* **12**, 881–887 (1973).
55. Koleros, E. *et al.* In Search for Titanocene Complexes with Improved Cytotoxic Activity: Synthesis, X-Ray Structure, and Spectroscopic Study of Bis(eta-cyclopentadienyl)difluorotitanium(IV). *Bioinorg. Chem. Appl.* **2010**, 914580 (2010).
56. van den Berg, J.-A. & Seddon, K. R. Critical Evaluation of C–H \cdots X Hydrogen Bonding in the Crystalline State. *Cryst. Growth Des.* **3**, 643–661 (2003).
57. Sheldrick, G. M. Crystal structure refinement with {it SHELXL}. *Acta Crystallogr. Sect. C* **71**, 3–8 (2015).
58. Spek, A. L. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Crystallogr. Sect. D* **65**, 148–155 (2009).