

Charles University in Prague
Faculty of Science, Department of Inorganic Chemistry

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie

Ph.D. Study program: Inorganic Chemistry
Doktorský studijní program: Anorganické chemie

Summary of the Ph.D. Thesis/Autoreferát dizertační práce



RNDr. Hana Charvátová

Phosphinoferrocene ligands with polar amide substituents

Fosfinoferrocenové ligandy s polárními amidovými substituenty

Supervisor/Školitel: prof. RNDr. Petr Štěpnička, Ph.D.

Prague/Praha, 2015

Poděkování

Děkuji především svému školiteli prof. RNDr. Petru Štěpničkoví, Ph.D. za trpělivost a četné podnětné rady při vytváření této dizertační práce. Navíc bych chtěla poděkovat RNDr. Ivaně Císařové, CSc. za měření rentgenostrukturních dat a prof. RNDr. Martinu Kotorovi, CSc. za zprostředkování měření hmotnostních spekter. Můj dík také patří Grantové agentuře Univerzity Karlovy (projekt číslo 643012) a Grantové agentuře České republiky (projekt číslo 13-08890S) za financování tohoto výzkumu. Děkuji také kolektivu naší laboratoře, zejména potom Karlu Škochovi za cenné rady a náměty.

Děkuji také svému manželovi za veškerou podporu, trpělivost a pomoc.

Table of contents/Obsah

1	Summary of the Thesis	4
1.1	Abstract	4
1.2	Introduction	5
1.3	Aims of the Thesis	7
1.4	Results and discussion	8
1.5	Conclusions	16
2	Autoreferát dizertační práce	19
2.1	Abstrakt	19
2.2	Úvod	20
2.3	Cíle práce	22
2.4	Výsledky a diskuse	23
2.5	Závěr	31
2.6	Literatura	34
3	Dodatek	37
3.1	Životopis	37
3.2	Seznam publikací	38
3.3	Příspěvky na mezinárodních konferencích	38
3.4	Vyjádření ke spoluautorství	39

1 Summary of the Thesis

1.1 Abstract

This Thesis was focused on phosphino-urea ferrocene ligands that are still rather neglected. It describes the synthesis of novel polar amides and hydrazides of 1'-(diphenylphosphino)ferrocene-1-carboxylic acid (Hdpf) with or without ethylene linker bearing variously substituted urea and guanidine terminal functional groups.

Urea and guanidine derivatives with ethylene bridge were prepared from Hdpf and appropriate amines with amidation agents. Phosphine ureas without the linker were obtained by the reaction of primary amide of Hdpf with suitable acylation agents while analogical guanidine was synthesized by guanylation of amide-amine prepared from Hdpf acylbenzotriazole and ethylenediamine. Reaction of acylbenzotriazole with free guanidine afforded [1'-(diphenylphosphino)-1-ferrocenecarbonyl]guanidine hydrochloride.

The obtained ferrocene ligands were used to prepare four types of palladium complexes: $[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{L}]$, $[\text{PdCl}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}]$, $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}][\text{SbF}_6]$ and *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$ where L denotes the newly synthesized ligands and L^{NC} is 2-[(dimethylamino)-methyl]phenyl-*C,N* chelating ligand.

Catalytic efficiency of the complexes with ethylene bridge was examined in reactions of aromatic acyl chlorides and boronic acids resulting in ketones. Optimal conditions included the reaction of boronic acid and a slight excess of acyl chloride in the presence of Na_2CO_3 at 50 °C for 1 hour with 0.2 mol. % of $[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{L}]$, where L is the phenylurea ligand with ethylene linker. In the case of guanidine ligands, the best results were achieved with catalyst generated *in situ* from phosphinoguanidine with ethylene linker and $\text{Pd}(\text{OAc})_2$. In toluene/water biphasic system these catalysts tolerate many functional groups and give excellent to good isolated yields of substituted benzophenones.

In addition, anticancer activity of arene-ruthenium complexes with the prepared ligands was tested on two types of cancer cells and on healthy cells. The highest cytotoxicity was displayed by $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}_2(\text{Ph}_2\text{PfcCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CONHPh-}\kappa\text{P})]$ complex.

1.2 Introduction

Green chemistry is nowadays a very intensively studied concept. It includes chemical processes, during which the use of toxic reagents and solvents is eliminated and waste production minimized. Due to possibility of catalyst reuse, economical and ecological attitude toward the synthesis biphasic and aqueous catalysis became of particular interest mainly because of use of cheap and nontoxic solvent – water.¹ During some reactions in water unique reactivity and selectivity can be observed, resulting from specific physico-chemical properties of water which no other solvent possesses.¹⁻⁵

To find an efficient transition metal catalyst for water and biphasic systems, it is necessary to prepare a highly polar ligand.⁶ These can be prepared, for instance, through functionalization of a relatively nonpolar catalytically active precursor by a hydrophilic group that can enable higher solubility in aqueous solution. Suitable functional groups include anionic substituents like sulphonates^{7,8} (the most commonly used ones) or carboxylates.^{7,8} From cationic functional groups the most important are ammonium and guanidine groups.⁹⁻¹⁴ Thanks to a higher propensity to form hydrogen bonds, guanidines are distinctly more hydrophilic than ammonium groups.

Polar phosphinoferrocene compounds bearing some of the above mentioned groups were previously studied in our laboratory.¹⁵⁻¹⁷ This Thesis aims to extend the scope of the studied phosphinoferrocene amides toward compounds with urea and guanidine functional groups. Precursors for all new compounds were 1'-(diphenylphosphino)ferrocene-1-carboxylic acid (Hdpf),¹⁸ its primary amide and hydrazide. By their functionalization it was possible to prepare a series of amide- and hydrazide-ureas (**10b-e**, **11a-e** and **12a-e**) and amide-guanidines (**13** and **15**). Structures of these compounds are shown in Figure 1.1.

These functional groups partially modify the solubility of the prepared compounds in polar solvents. In addition, they also influence the organization of their molecules in solid state, which can be studied by X-ray diffraction analysis.

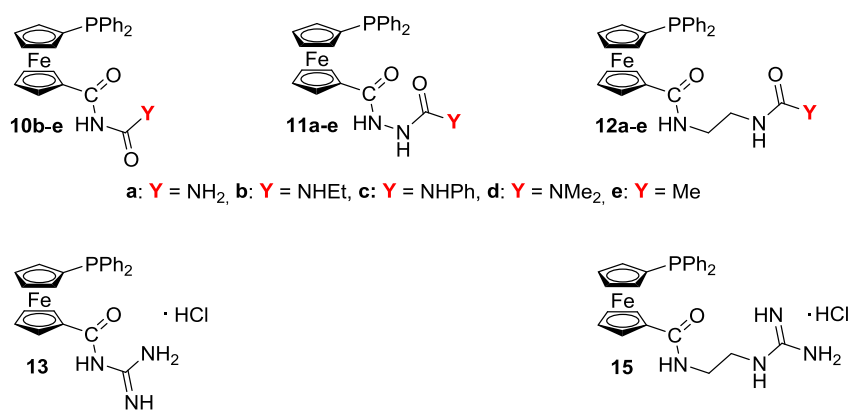


Figure 1.1: Polar ligands derived from Hdprf.

Catalytic activity of palladium complexes containing ligands **12a–e** and **15** was tested in model coupling reaction of benzoyl chlorides with aromatic boronic acids (arylboration). For this purpose, complexes of the type $[\text{Pd}(\text{allyl})\text{Cl}]\text{L}$ and $[\text{PdCl}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}]$, where L corresponds to ligands **12** and **15**, and L^{NC} is 2-[(dimethylamino)methyl]phenyl-*C,N* auxiliary chelating ligand, were prepared. Catalytic experiments were performed in biphasic toluene/water system with defined and *in situ* generated complexes.

Transition metals complexes are finding application not only in catalysis but also in other fields, for example in the development of cancerostatics. Interest in this area had increased after the discovery of anticancer activity of cisplatin (*cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$).¹⁹ Cisplatin still holds on the top in the rankings of practically used chemotherapeutics because of its high activity and applicability against different types of cancers. On the other hand, it suffers from a high overall toxicity as well as an increasing resistance of some types of cancers. In effort to develop new, more effective and safer cancerostatics, ruthenium complexes emerged as prospective alternatives mostly because of their lower general toxicity and the fact that they can be targeted on specific interaction with chosen structures in cancer cell.^{20–25}

1.3 Aims of the Thesis

The aim of the presented Ph.D. Thesis is the synthesis of novel derivatives of 1'-(diphenylphosphino)ferrocene-1-carboxylic acid (Hdpcf), its amide and hydrazide. The resulting compounds are modified at the amide and hydrazide moiety by urea, acetyl and guanidine group either directly or with an inserted ethylene linker. The presence of such type of functional group provides ligands showing some unique properties, which can be expected to assemble in the solid state through hydrogen bonds and to be more hydrophilic.

Coordination behavior of these ligands in palladium(II) complexes as a catalytically significant transition metal is also of interest. Synthesis of complexes with different auxiliary ligands ([Pd(allyl)CIL], [Pd(L^{NC})CIL], [Pd(L^{NC})L][SbF₆] and *trans*-[PdCl₂L₂]) is aimed to find the most suitable catalytic system for the chosen model reaction.

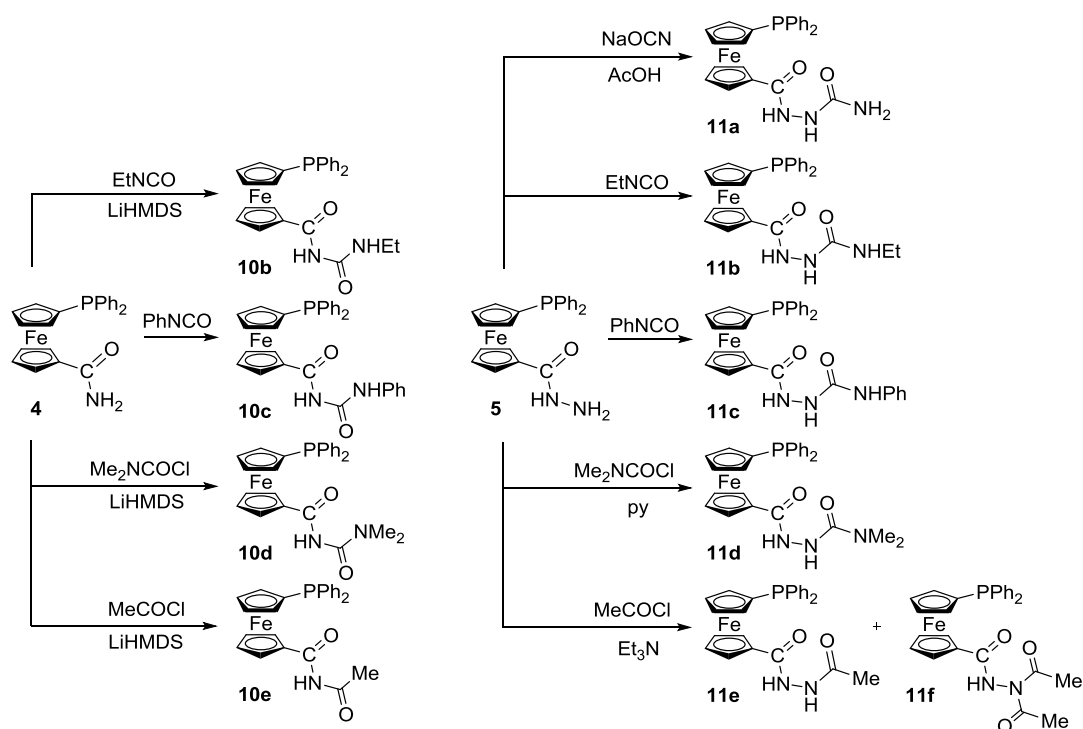
Due to the presence of polar groups testing of defined or *in situ* generated complexes in biphasic system appears appropriate. As a suitable model reaction I chose aryloboration coupling reaction. This reaction yields benzophenones or chalcones and is attractive mainly because of the possibility of preparation of differently substituted products. Another goal of the Thesis is thus to find the best catalyst, optimal reaction conditions and finally explore the tolerance of the catalytic system towards different functional groups.

Because of the growing interest in the synthesis of novel ruthenium complexes in relation to cancer treatment I decided to prepare a series of ruthenium complexes with amide-urea ligands and η^6 -bound *p*-cymene auxiliary ligand. The anticancer activity of the complexes was tested and evaluated.

1.4 Results and discussion

The syntheses of ligands targeted in this Thesis started from 1'-(diphenylphosphino)ferrocene-1-carboxylic acid (Hdpcf),¹⁸ *N*-[1'-(diphenylphosphino)ferrocene-1-carbonyl]-1,2,3-benzotriazole (**3**)²⁶ and from primary amide (**4**) and hydrazide (**5**) of Hdpcf, which I have studied previously.²⁷

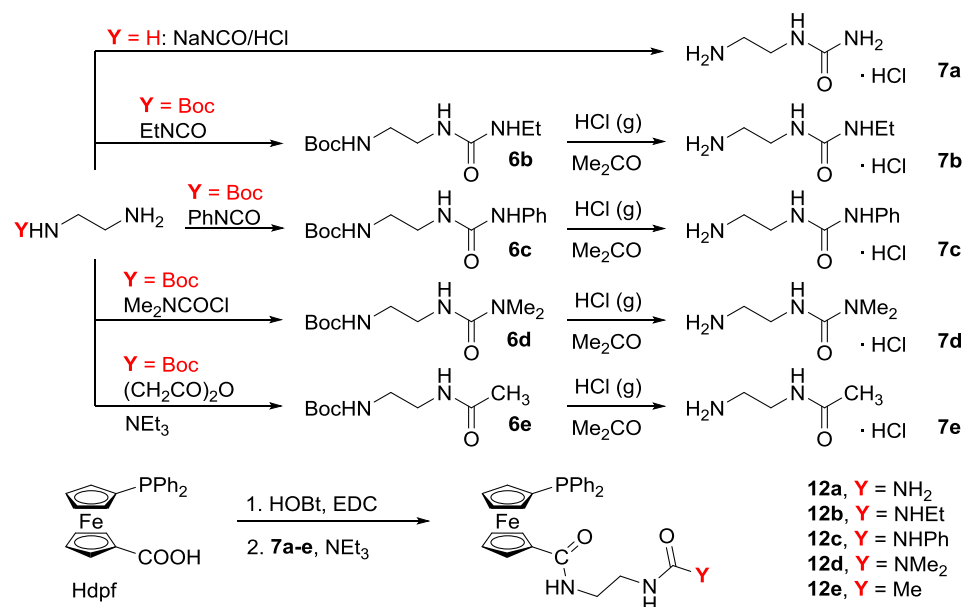
I have synthesized new substituted phosphinoferrrocene amide-ureas (**10b–e**). Hydrazide derivatives **11a**, **11d** and **11e** were prepared as described by Tomáš Vašíček in his Bachelor Thesis²⁸ and the series was completed by preparation of two other compounds (**11c** and **11d**). In all cases primary amide or hydrazide of Hdpcf were treated with proper "acylating" agents to give substituted ureas (Scheme 1.1). All mentioned ligands yielded appropriate phosphine oxides that have better crystallization potential.



Scheme 1.1: Synthesis of phosphinoferrrocene amide ureas **10b–e** and **11a–e**.

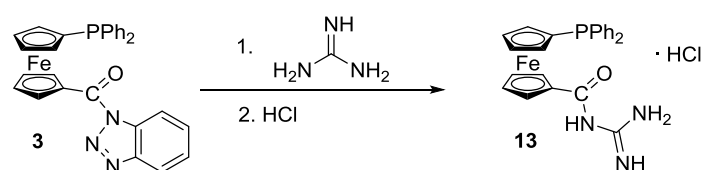
Ureas **12a–e** with ethylene bridge were prepared from substituted amine hydrochlorides **7a–e**.^{29–31} These compounds were used in amidation reactions with

Hdpf in the presence of 1-hydroxobenzotriazole (HOBt) and 1-ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]- carbodiimide (EDC) (Scheme 1.2).



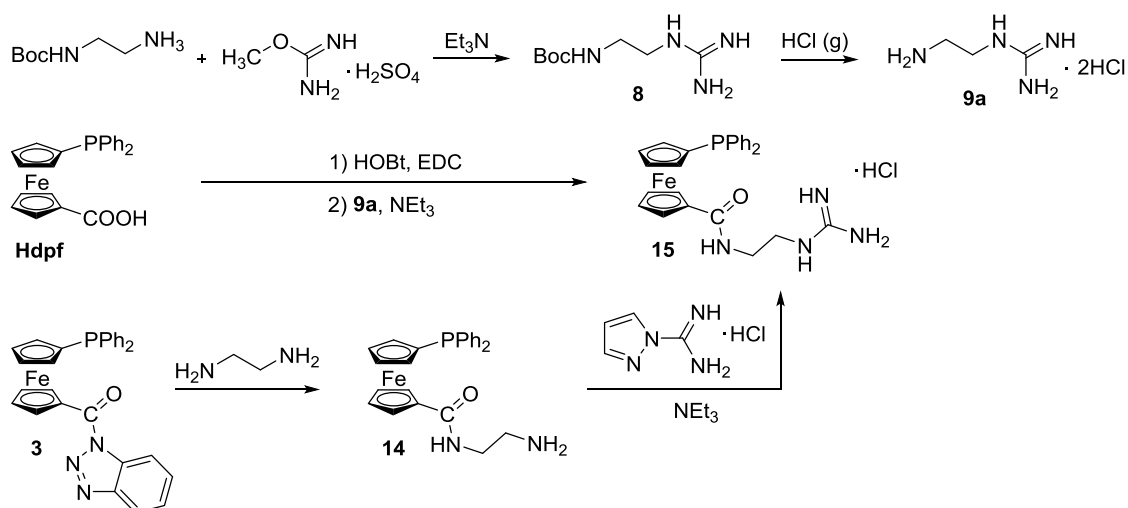
Scheme 1.2: Synthesis of urea precursors **7a–e** and compounds **12a–e**.

Acyl guanidine hydrochloride **13** was prepared directly by the reaction of benzotriazole **3** with *in situ* generated guanidine (produced by reaction of sodium methoxide with guanidinium hydrochloride) and subsequent acidification (Scheme 1.3).



Scheme 1.3: Synthesis of ligand **13**.

Compound **15** was synthesized by two different routes. The first one is similar to the procedure of synthesis of ligands **12a–e**, the substituted amine being compound **9a** (Scheme 1.4). The second way comprises two reaction steps – synthesis of ferrocene amide-amine **14** and its further transformation into guanidine **15** by reaction with 1*H*-pyrazole-1-carboximidine.



Scheme 1.4: Synthesis of ligand **15** by two different routes.

Compound **9a** crystallizes with noncentrosymmetric space group $P2_1$ which led us to testing of its second harmonic generation results. Modified Kurtz-Perry method^{32,33} showed that this material exhibits better ability to generate second harmonic frequency (expressed by efficiency d) than standard KH₂PO₄ ($d_{9a} = 1.10 d_{\text{KH}_2\text{PO}_4}$). Because efficiency d is often dependent on the particle size, experiments were performed with samples containing different sized particles. Compound **9a** exhibits changes in nonlinear optical properties depending on the particles size, as demonstrated in Figure 1.2.³⁴

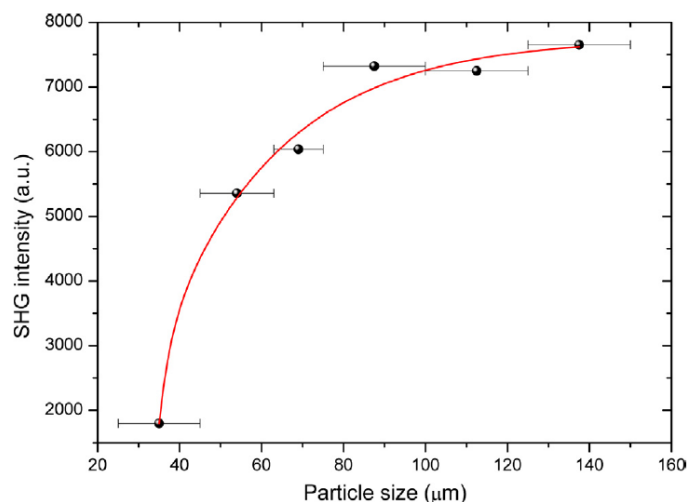
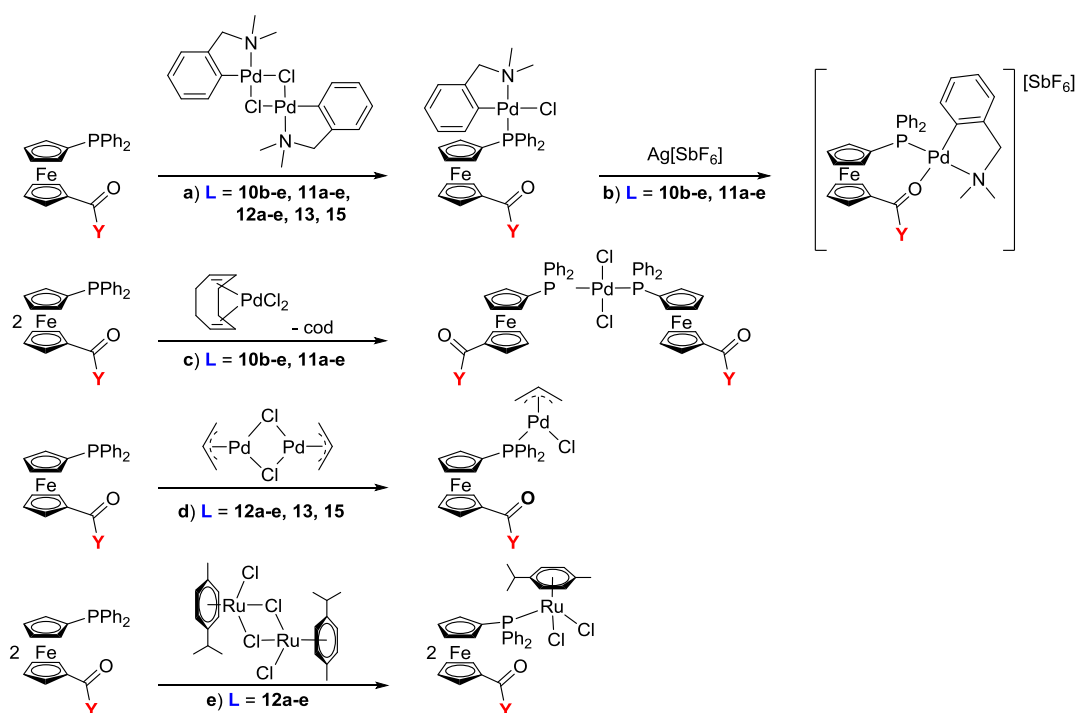


Figure 1.2: Dependence of efficiency d on the particles size (μm).

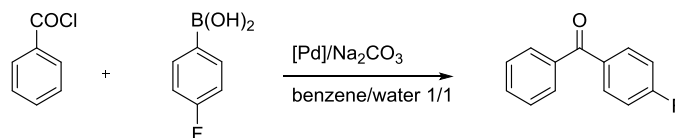
Four types of palladium and one type of ruthenium complexes with different auxiliary ligands were prepared, namely $[\text{PdCl}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}]$, bis-chelates $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}]\text{[SbF}_6\text{]}$, *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$, $[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{L}]$ and $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}_2\text{L}]$. The first and the two latter complexes were the products of chloride bridges cleavage in the respective dimeric precursors (reactions **a**, **d** and **e** in Scheme 1.5). Generation of the chelate complexes was possible through removal of chloride anion from $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{Cl}]\text{L}$ using a silver salt (reaction **b**, Scheme 1.5). Finally, complexes *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$ were obtained by the replacement of cod (cod = $\eta^2:\eta^2$ -cycloocta-1,5-diene) in $[\text{PdCl}_2(\text{cod})]$ (reaction **c**, Scheme 1.5). Selected ligands and complexes were studied by X-ray diffraction on single crystal. In the crystal state, the compounds assemble via hydrogen bonds between amide and urea functional group, which leads to formation of dimers, 1D or 2D structures.



Scheme 1.5: General synthesis of complexes (**Y** indicates functional group).

For an evaluation of catalytic activity of complexes $[\text{PdCl}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}]$ (**18a–e**) and $[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{L}]$ (**25a–e**), where L is **12a–e**, palladium-catalyzed aroylboronation reaction was chosen as a model reaction. Experiments designed to

find optimal reaction conditions were performed using benzoyl chloride and 4-fluorophenylboronic acid and led to 4-fluorobenzophenone (Scheme 1.6).

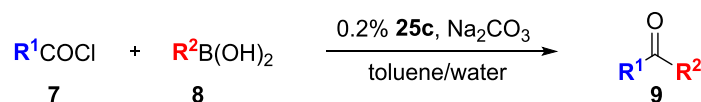


Scheme 1.6: Optimization experiments for aroylboronation reaction.

"Screening" reactions with 0.2 mol. % of complex **25c** in a mixture of deuterated benzene/water at 50 °C led to quantitative yield of the coupling product within 1 hour. In comparison with the reaction in pure organic solvent, distinctly better results were obtained, which demonstrates the positive influence of biphasic arrangement.

The most efficient catalyst from the tested compounds were allylic complexes, which provided quantitative yields in almost all cases. For following reactions easily accessible complex **25c** was utilized. It is evident that hydrophilic functional groups significantly improve catalytic properties of these complexes, because reaction of the palladium precursors, as well as complexes of Hdpf and its primary amide, gave distinctly lower conversion.

The next step was an evaluation of the functional groups tolerance. In these reactions toluene was used instead of benzene because of its lower toxicity. Series of differently substituted ketones was prepared by reactions of substituted boronic acids and benzoyl chlorides (Scheme 1.7).



Scheme 1.7: Synthesis of differently substituted ketones.

Isolated yields of the products were found to be good to excellent. In the case of reactions of benzoyl chloride with substituted boronic acids high yields (84–94 %) were obtained for substrates bearing methyl, fluoro, chloro, methoxy and trifluoromethyl group in *para* position. Even the bulky mesitylboronic acid gave good isolated yield (55 %). For 1-naphthylboronic acid and 4-bromophenylboronic

acid the yields were somewhat lower which can be explained by the formation of byproducts (naphthalene and 4-benzoyl-4'-brombiphenyl). In contrast, relatively low yields were obtained with 4-cyanophenylboronic acid (42 %) and 4-nitrophenylboronic acid (19 %), where the low reactivity was determined by the low solubility of these compounds in reaction system. A good isolated yield of *trans*-chalcone (79 %) was also encouraging.

Results for the reactions of phenylboronic acid with substituted acyl halides also varied. By the reaction of 3- and 4-toluoyl chloride, 4-chlorobenzoyl chloride and 4-(trifluoromethyl)benzoyl chloride, the respective monosubstituted benzophenones were readily produced in similar yields as in the reactions in reversed mode. A lower yield of 2-methylbenzophenone was obtained probably because of the steric hindrance. Reaction generating 4-methoxybenzophenone and *trans*-chalcone gave significantly lower yields than in the case of reaction of substituted boronic acids with benzoyl chloride. On the other hand, 4-nitrobenzophenone was produced in nearly quantitative yield (94 %) because in this case both reactants were soluble in the reaction mixture. Reaction of phenylboronic acid with substituted acyl chlorides was suitable also for less reactive alkyl substrates as demonstrated for 1,3-diphenylpropane-1-one (54 %) and 1,2-diphenylethanone (40 %).

Positive effect of the formal exchange of the substituents was subjected to a deeper exploration for benzophenones bearing 4-methoxy and 4-nitro functions. Reactions of similarly substituted substrates (both reactants substituted with 4-nitro or both with 4-methoxy groups) gave low isolated yields of the disubstituted products. Reaction of poorly soluble 4-nitroboronic acid with 4-methoxybenzoyl chloride furnished only negligible amount of product (2 %), while oppositely substituted substrates gave the product with 74 % of isolated yield.

The same aroylboronation reaction was used also to examine the catalytic potential of palladium complexes with guanidine ligands **13** and **15**. The first experiments were conducted in the same way as in the previous case, i.e., with benzoyl chloride and 4-fluorophenylboronic acid to produce 4-fluorobenzophenone. First reactions were performed with 0.2 mol. % of the defined complex $[\text{Pd}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{Cl}(\text{L})]$, where L is ligand **15**, at 50 °C for 1 hour in the mixture of

benzene/water 1/1. Reaction in pure water unfortunately gave lower yields (about 10–55 % lower depending on the type of catalyst and did not exceed 80 %). That is why the mixture of benzene/water 1/1 was chosen for further optimization experiments.

Palladium catalysts with ligands **13** and **15** were tested in the form of defined compounds as well as *in situ* generated from the ligand and metal precursor ($[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)]_2$, $[\text{PdCl}(\text{L}^{\text{NC}})]_2$ and also $\text{Pd}(\text{OAc})_2$). All catalytic experiments with complexes containing ligand **15** gave significantly higher NMR yields than their analogues with ligand **13**. Both defined and *in situ* generated allyl complexes with ligand **15** catalyzed the reaction to nearly complete conversions. The best NMR yield obtained for the complex with ligand **13** was 85 %. Catalytic potential of the complexes with L^{NC} auxiliary ligand was found to be generally lower. *In situ* generated complexes with ligand **13** exhibited similar or only slightly better catalytic ability than palladium precursors themselves which could have been caused by a low solubility of the ligand in reaction mixture. Reaction catalysed by the complex generated *in situ* from ligand **15** and $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ resulted in the best NMR yield (98 %). This catalyst was therefore used for further reactions.

The next step comprised testing of catalytic behavior of the selected complex generated *in situ* from ligand **15** and palladium(II) acetate in reactions with different substrates. All reactions from now on were conducted in the mixture of toluene/water 1/1 while the amount of the solvents was halved compared to the previous experiments.

In the case of the reaction of benzoyl chloride with substituted boronic acid substrates bearing fluoro and chloro group in *para* position gave better results than in the previously mentioned experiments with complex **25c** (95 and 97 % against 84 and 91 %). In contrast, substrates with methyl and methoxy group displayed lower reactivity (9–24 % lower) and bulky mesitylboronic acid did not react with catalyst **15**/ $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ at all. The yields were lower also for the reaction of 4-bromophenylboronic acid and the amount of the byproduct (the same one as in the previous case) increased. Poorly soluble 4-cyanophenylboronic acid and 4-nitrophenylboronic acid gave products in much lower yields (4 % and 8 %) which may be probably related with half the amount of the solvent. Isolated yield of *trans*-

chalcone was slightly lower than in the previous catalysis (71 % against 79 %). In addition, heterocyclic boronic acids (2-furylboronic acid and 2-thienylboronic acid) were tested, but the products were obtained in rather low yields (12 % and 43 %).

Similarly, reactions of phenylboronic acid with substituted acyl chlorides were performed. About 2–32 % higher isolated yields (compared to catalysis with complex **25c**) resulted from the reaction of 2-, 3- and 4-toluoyl chloride as well as with 4-methoxy benzoyl chloride. *Trans*-chalcone was also produced in a higher yield. On the other hand, benzophenones substituted with chloro, nitro and phenethyl group were isolated with lower yields. Interesting results were obtained from the comparison of the products isolated yields after formal transfer of the heterocyclic substituent from boronic acid to acyl chloride. While furyl ketone gave higher yield, for thiophene derivative, a lower yield was observed.

After finding out that complexes with newly prepared polar ligands catalyze the aroylboronation reaction with different substituents well enough I decided to prepare two compounds with biological activity. The first one was (*2E*)-1-(4-methoxyphenyl)-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-2-propen-1-on, which exhibits antimalarial activity.³⁵ It was prepared by the reaction of 4-methoxybenzoyl chloride with $\text{CF}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{CHB}(\text{OH})_2$ and isolated in a 52 % yield. The reaction conditions were similar as in the previous catalysis, the only change was the use of a higher temperature (80 °C) to enhance the reaction. Another interesting compound, whose precursor can be prepared by this reaction, is the pesticide chlorfentethol, which is a potent acaricide. Its precursor is 4,4'-dichlorobenzophenone that can be easily synthesized by the reaction of 4- $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{COCl}$ with 4- $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$. Using the mentioned conditions the ketone is generated with 97 % yield. Following alkylation with methylmagnesium bromide easily transformed this ketone to chlorfenethol with a 98 % yield.

Anticancer effect of ruthenium complexes $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymen})\text{RuCl}_2\text{L}]$, where L are ligands **12a–e**, was studied on two cancer cells (A2780 causing ovarian cancer as well as A2780cisR that are resistant against cisplatin). For comparison also the normal human embryonic kidney cells (HEK) were tested in parallel. Novel ruthenium complexes exhibited significantly lower cytotoxicity than cisplatin (IC_{50}

ranging from tens to hundreds of $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ against $4.3 \pm 0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ for A2780 and $18 \pm 1 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ for A2780cisR).³⁶

The highest cytotoxicity was determined for the complex with phenylurea functional group. The second best outcome gave complex containing NMe₂ group, but this one displayed nearly four times lower activity against both tested cancer cells and approximately three times lower cytotoxicity against healthy HEK cells. Unfortunately the complexes are nearly equally toxic for both the healthy and cancer cells. However, similar results for analogous ruthenium complexes with amidophosphine ligands derived from glycine were previously published in the literature.³⁷

1.5 Conclusions

In my Ph.D. Thesis I focused on phosphino-urea donors that are rather neglected in the literature. I have synthesized and characterized novel polar compounds derived from Hdpf bearing different amide-urea (**10b–e**, **10POb–e** and **12a–e**), hydrazide-urea (**11a–e** and **11POa–e**) and amide-guanidine (**13** and **15**) functional groups.

Amide-urea or hydrazide-urea derivatives without an ethylene bridge were conveniently prepared by the reaction of Hdpf primary amide or hydrazide with appropriate reagents. The synthesis of ureas with ethylene linker can start from Hdpf and functionalized amine salt. Reaction of benzotriazole derivate of Hdpf with free guanidine gave amide-guanidine without the ethylene bridge. In case of guanidine derivative with the ethylene linker two different reaction pathways were developed. The first route was similar to the synthesis of analogous ureas and was based on the reaction of Hdpf with guanidine substituted amine salt. The second way consisted of two reaction steps – synthesis of phosphinoferrocene amide-amine and its following reaction with a guanylation agent. Both reactions leading to guanidine give approximately same yield. However, in terms of efficiency the first pathway seems to be better.

Single crystals of chosen compounds were studied by X-ray diffraction analysis. Crystals of compound **9a** exhibited noncentrosymmetric properties. This is why the material was further tested for the generation of the second harmonic

frequency. It was found out to display 10 % better ability to generate the second harmonic frequency than standard KH_2PO_4 .

Ferrocene ligands were coordinated to palladium. Four types of palladium complexes were prepared bearing different auxiliary ligands ($[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{L}]$, $[\text{PdCl}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}]$, $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}][\text{SbF}_6]$ and *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$). Structure of selected representatives was again determined by X-ray diffraction analysis.

Catalytic ability of the palladium (II) complexes was tested in aroylboronation coupling reaction. Practically complete conversion was typically observed for reaction of boronic acid with slight excess of acyl chloride and one equivalent of Na_2CO_3 at 50 °C for 1 hour with 0.2 mol % of catalyst. Allyl complexes exhibited better catalytic potential and allyl complex (**25c**) with ligand **12c** was chosen for following experiments. From the complexes with the guanidine ligands, the best results gave complex generated *in situ* from ligand **15** and palladium acetate. Testing of various solvents showed that biphasic system distinctly enhance the reaction rate compared to the use of pure organic solvent despite the fact that the catalysts are poorly soluble in this reaction mixture. In all cases significantly higher yield of product is achieved with the tested novel complexes compared to their non-ferrocene precursors or Hdpf or its amide complexes, which proves the positive influence of polar group.

To examine the tolerance of the catalysts to functional groups reactions, with differently substituted substrates were performed and isolated yields were determined for both catalytic systems. The reaction was found to tolerate various functional groups and to give good to excellent isolated yields of substituted benzophenones. Allyl complex **25c** was the best catalyst for the reaction of boronic acid with methyl, halide, trifluoromethyl and methoxy substituents. Substrates with poor solubility in the reaction mixture (boronic acids with nitro and cyano group) gave significantly lower yields, which could be overcome by formal transfer of the functional group to the other substrate. In the case of catalysis with complex **25c** also bifunctional benzophenones with combination of nitro and methoxy group were prepared which led to expectable change in yields for individual pairs of substituents.

Guanidine complex generated *in situ* from ligand **15** and palladium acetate gave slightly different results. In contrast to the previous catalysis, substituted benzophenones with fluoro and chloro group were prepared in higher yields, but a slight decrease in isolated yields was observed for many other substrates which can be related to space requirements (for mesityl) as well as lower solubility of some substrates that was even enhanced by using half the amount of solvents for this catalysis. Products formed by the reaction of substituted acyl chlorides with phenylboronic acid typically gave better isolated yields. Using catalytic system containing guanidine ligand I also synthesized two biologically active compounds – an antimalarial agent and a pesticide precursor. The later one could be conveniently transformed to the active product by simple methylation. The overall yield for this two-step procedure was excellent. Some of the substituted benzophenones were studied by X-ray diffraction on single crystal.

Ruthenium complexes with η^6 -cymene auxiliary ligand were tested for anticancer activity on two types of cancer cells and control healthy cells. The highest cytotoxicity was detected for the complex with terminal phenylurea group. The IC_{50} was similar to this value for analogical ruthenium complexes previously mentioned in the literature.³⁷ Nevertheless this complex exhibited distinctly lower cytotoxicity compared with cisplatin. It also has to be admitted that this compound does not show selective anticancer behavior but in contrast affects healthy cells equally.

2 Autoreferát dizertační práce

2.1 Abstrakt

Předkládaná dizertační práce se zabývá studiem v literatuře opomíjených fosfino-močovinových ferrocenových ligandů. Popisuje syntézu nových polárních amidů a hydrazidů 1'-(difenylfosfino)ferrocen-1-karboxylové kyseliny (Hdpf) s ethylenovým můstkem i bez něj a různě substituovanou močovinovou a guanidinovou terminální funkční skupinou.

Močovinové a guanidinové deriváty s ethylenovým můstkem lze připravit z Hdpf a příslušného aminu s použitím amidačních činidel. Močovinové fosfíny bez můstku vznikají reakcí primárního amidu Hdpf s vhodnými acylačními činidly, zatímco analogický guanidin vzniká guanylací amido-aminu získaného reakcí acylbenzotriazolu Hdpf s ethylendiaminem. Reakce acylbenzotriazolu s volným guanidinem vede k hydrochloridu [1'-(difenylfosfino)-1-ferrocenkarbonyl]-guanidinu.

Získané ferrocenové ligandy sloužily k přípravě čtyř typů palladnatých komplexů: $[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{L}]$, $[\text{PdCl}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}]$, $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}][\text{SbF}_6]$ a *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$, kde L jsou nově připravené ligandy a L^{NC} je 2-[(dimethylamino)methyl]fenyl-C,N pomocný chelátový ligand.

Katalytická účinnost komplexů s ethylenovým můstkem byla testována v reakcích aromtických acylchloridů a boronových kyselin poskytujících ketony. Optimální podmínky zahrnovaly reakci boronové kyseliny s mírným nadbytkem acylchloridu v přítomnosti Na_2CO_3 při 50 °C po dobu 1 hodiny s 0.2 mol. % $[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{L}]$, kde L je fenylmočovinový ligand s ethylenovým můstkem. V případě guanidinových ligandů nejlépe reagoval *in situ* generovaný komplex fosfinoguanidinu s ethylenovým můstkem a $\text{Pd}(\text{OAc})_2$. V bifázovém prostředí toluen/voda 1/1 tyto katalyzátory tolerují celou řadu funkčních skupin a poskytují dobré až výborné izolované výtěžky substituovaných benzofenonů.

Kromě uvedeného byla studována protinádorová aktivita aren-ruthenatých komplexů s připravenými ligandy na dvou typech rakovinných buněk a zdravých buňkách. Nejvyšší cytotoxicitu vykazoval komplex $[(\eta^6\text{-p-cymen})\text{RuCl}_2(\text{Ph}_2\text{Pfc-CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CONHPh-}\kappa\text{P})]$.

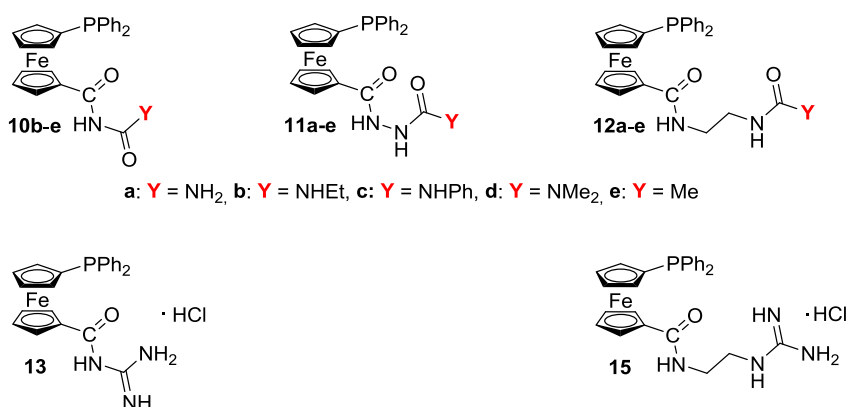
2.2 Úvod

V poslední době je velmi často skloňovaný pojem zelené chemie, který označuje chemické procesy, během nichž nejsou používány toxické reaktanty a rozpouštědla a nedochází při nich ke vzniku velkého množství odpadů. Z důvodu recyklovatelnosti, ekonomičnosti a také snah o ekologičtější přístup k syntéze látek začal být zajímavý model bifázové a vodné katalýzy, který umožňuje využití levného a netoxického rozpouštědla – vody.¹ Během některých reakcí ve vodě se navíc může projevit unikátní reaktivita a selektivita, která se u ostatních rozpouštědel nevyskytuje a je dána jedinečnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi vody.¹⁻⁵

Pro úspěšné nalezení vhodného katalyzátoru pro vodnou a bifázovou katalýzu je klíčová syntéza vysoce polárních ligandů.⁶ Jednou z možností je funkcionalizace relativně nepolárního katalyticky aktivního prekursoru hydrofilní skupinou, která zvýší rozpustnost katalyzátoru ve vodném prostředí. Mezi vhodné funkční skupiny můžeme řadit aniontové substituenty, jakými jsou například nejběžnější a nejdéle užívané sulfonáty,^{7,8} případně karboxyláty.^{7,8} Z kationtových funkčních skupin bývají nejčastěji voleny amoniové a guanidiniové skupiny.⁹⁻¹⁴ Díky větší schopnosti guanidiniových iontů tvořit vodíkové vazby jsou tyto substituenty výrazně hydrofilnější než amoniové.

Polární fosfinoferrocenové sloučeniny, nesoucí některé z výše uvedených skupin již byly v naší laboratoři dříve studovány.¹⁵⁻¹⁷ Tato práce si klade za cíl oblast dosud zkoumaných fosfinoferrocenových amidů a hydrazidů rozšířit o sloučeniny s močovinovými a guanidinovými funkcemi. Prekurzorem všech připravených sloučenin byla 1'-(difenylfosfino)ferrocen-1-karboxylová kyselina (Hdpf)¹⁸ nebo její primární amid či hydrazid. Jejich vhodnou funkcionalizací je možné připravit série amidových a hydrazidových močovin (**10b-e**, **11a-e** a **12a-e**) a amido-guanidinů (**13** a **15**). Struktury připravených látek jsou ukázány na Obrázku 2.1.

Tyto funkční skupiny částečně mění rozpustnost připravených látek v polárních rozpouštědlech, mají navíc také dopad na uspořádání molekul v pevném stavu. Tuto skutečnost lze sledovat pomocí rentgenové difrakce na monokrystalu.



Obrázek 2.1: Polární ligandy odvozené od Hdpf

Katalytický účinek palladnatých komplexů obsahujících ligandy **12a–e** a **15** byl testován na modelové spojovací reakci (aroylboronace). Pro tyto účely byly nevhodnější palladnaté komplexy typu $[Pd(allyl)CIL]$ a $[Pd(L^{NC})CIL]$, kde L jsou ligandy **12** a **15** a L^{NC} je 2-[(dimethylamino)methyl]fenyl-C,N pomocný chelátový ligand. Katalytické experimenty byly prováděny v bifázovém prostředí toluen/voda 1/1 s definovanými a případně *in situ* generovanými komplexy.

Komplexy přechodných kovů nacházejí kromě katalýzy využití i v jiných oblastech, například ve vývoji kancerostatik. Zájem o tuto část chemie se výrazně zvýšil po objevu účinků tzv. cisplatiny (*cis*- $[PtCl_2(NH_3)_2]$).¹⁹ Od té doby se cisplatina stále drží na nejvyšších místech v žebříčku používaných chemoterapeutik pro svou vysokou účinnost a použitelnost proti celé řadě typů nádorů. Její nevýhodou je však vysoká celková toxicita a zvyšující se rezistence některých typů nádorů. Ve snaze o rozvoj nových, účinnějších a šetrnějších kancerostatik vyšlo najevo, že významnými konkurenty léčiv na bázi platiny mohou být také komplexy ruthenia. Ty mohou být zacílené na specifickou interakci léčiva s určitou strukturou v rakovinné buňce, například receptory či růstovými faktory, což může díky odlišnému stylu působení vést k výraznému snížení celkové toxicity látky.^{20–25}

2.3 Cíle práce

Cílem předkládané dizertační práce je syntéza nových derivátů 1'-(difenylfosfino)ferrocen-1-karboxylové kyseliny (Hdpf) odvozených od jejího amidu a hydrazidu. Sloučeniny jsou v amidové a hydrazidové části molekuly modifikovány močovinou, acetylovou či guanidinovou funkční skupinou, a to přímo nebo přes ethylenovou spojku. Přítomnost tohoto typu funkčních skupin zajišťuje vysoce polární charakter vznikajících sloučenin a navíc jim propůjčuje některé unikátní vlastnosti. U zmiňovaných polárních látek lze také očekávat organizování molekul v pevném stavu (samoskladbu) pomocí vodíkových vazeb. Studium vlastností ligandů v pevném stavu pomocí rentgenostrukturní analýzy je také jedním z důležitých cílů práce.

Zajímavé je zkoumání koordinačního chování těchto látek jako ligandů v komplexech s palladiem, jakožto katalyticky významným přechodným kovem. Příprava komplexů s pomocným ligandem $[\text{Pd}(\text{allyl})\text{CIL}]$, $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{CIL}]$, $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}][\text{SbF}_6]$ a *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$, má za cíl nalézt nejvhodnější katalytický systém pro vybranou modelovou reakci.

Vzhledem k přítomnosti polárních skupin se nabízí otestování připravených, případně *in situ* generovaných, komplexů v bifázovém prostředí. Vhodnou modelovou reakcí je spojovací aroylboronační reakce, při které vznikají benzofenony či chalkony. Tato reakce je zajímavá především díky možnosti přípravy různě substituovaných produktů. Dalším cílem práce je tedy nalezení nejvhodnějšího katalyzátoru, optimálních reakčních podmínek a následně průzkum tolerance katalytického systému k různým funkčním skupinám.

Vzhledem ke stále vzrůstajícímu zájmu o syntézu nových ruthenatých komplexů v souvislosti s léčbou rakoviny, jsem se rozhodla připravit sérii ruthenatých komplexů amido-močovinových derivátů s η^6 -vázaným *p*-cymenovým pomocným ligandem a sloučeniny nechat testovat, zda jeví protinádorovou aktivitu.

2.4 Výsledky a diskuse

Při syntézách sloučenin prezentovaných v této dizertační práci jsem vycházela z 1'-(difenylfosfino)ferrocen-1-karboxylové kyseliny (Hdpf),¹⁸ z *N*-[1'-(difenylfosfino)ferrocen-1-karbonyl]-1,2,3-benzotriazolu (**3**),²⁶ a dále z primárního amidu (**4**) a hydrazidu Hdpf (**5**), které jsem připravila již v rámci své diplomové práce.²⁷

Nově jsem připravila substituované fosfinoferrocenové amidové močoviny (**10b–e**). Hydrazidové močoviny **11a**, **11d** a **11e** byly syntetizovány podle postupu popsaného v bakalářské práci Tomáše Vašička²⁸ a série byla doplněna o další dvě nové sloučeniny (**11c** a **11d**). Ve všech případech se vycházelo z reakce primárního amidu či hydrazidu Hdpf s vhodnými činidly (Schéma 2.1). Všechny zmíněné ligandy poskytují ochotně příslušné fosfinoxydy, které snáze krystalizují.

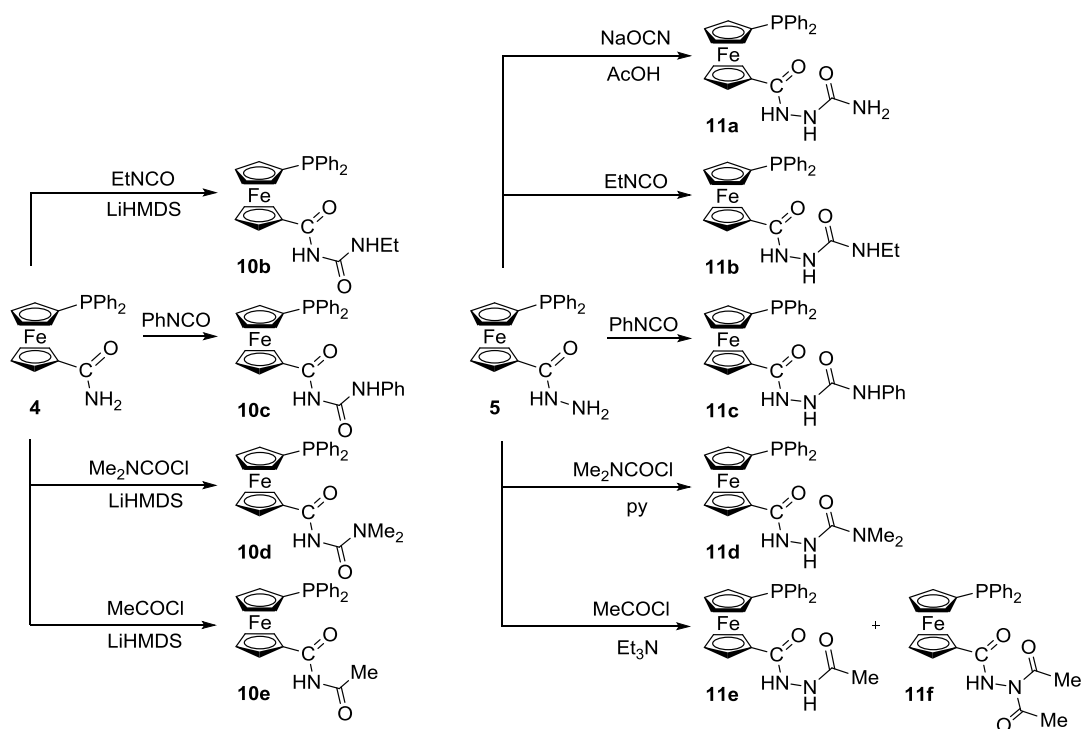


Schéma 2.1: Syntéza fosfinoferrocenových amidových močoviny **10b–e** a **11a–e**.

Pro syntézu močoviny **12a–e** s ethylenovým můstkem jsem nejprve připravila vhodně substituované aminy **7a–e**^{29–31} ve formě hydrochloridů, které jsem následně

použila v amidační reakci s Hdpf v přítomnosti 1-hydroxybenzotriazolu (HOBt) a 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimidu (EDC) (Schéma 2.2).

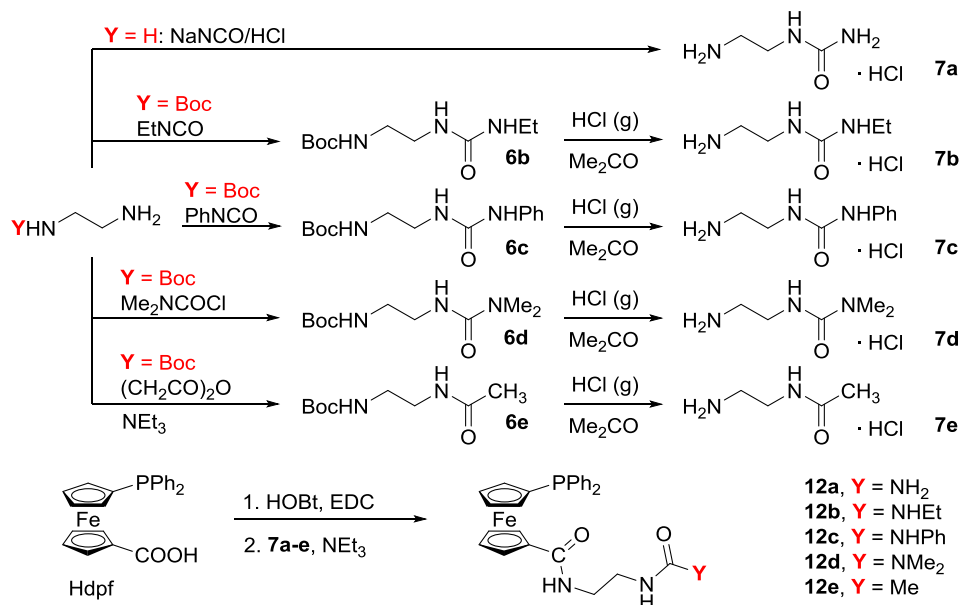


Schéma 2.2: Syntéza močovinných prekurzorů **7a–e** a látek **12a–e**.

Další experimenty byly zaměřeny na syntézu hydrochloridů fosfinoferrocenových acylguanidinů **13** a **15**. Látka **13** byla připravena přímo reakcí benzotriazolu **3** s *in situ* generovaným guanidinem (vzniklým reakcí methoxidu sodného s hydrochloridem guanidinu) (Schéma 2.3).

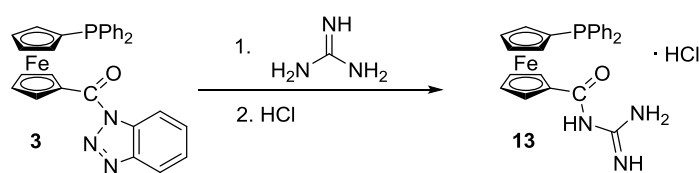


Schéma 2.3: Příprava ligandu **13**.

Guanidin **15** byl připraven dvěma postupy. První přístup je obdobný jako u přípravy látek **12** a jako substituovaný amin zde vystupuje látka **9a** (Schéma 2.4). Druhý způsob zahrnuje dva reakční kroky - přípravu fosfinoferrocenového amidoaminu **14** a jeho následné převedení na guanidin **15** reakcí s 1H-pyrazol-1-karboxamidinem.

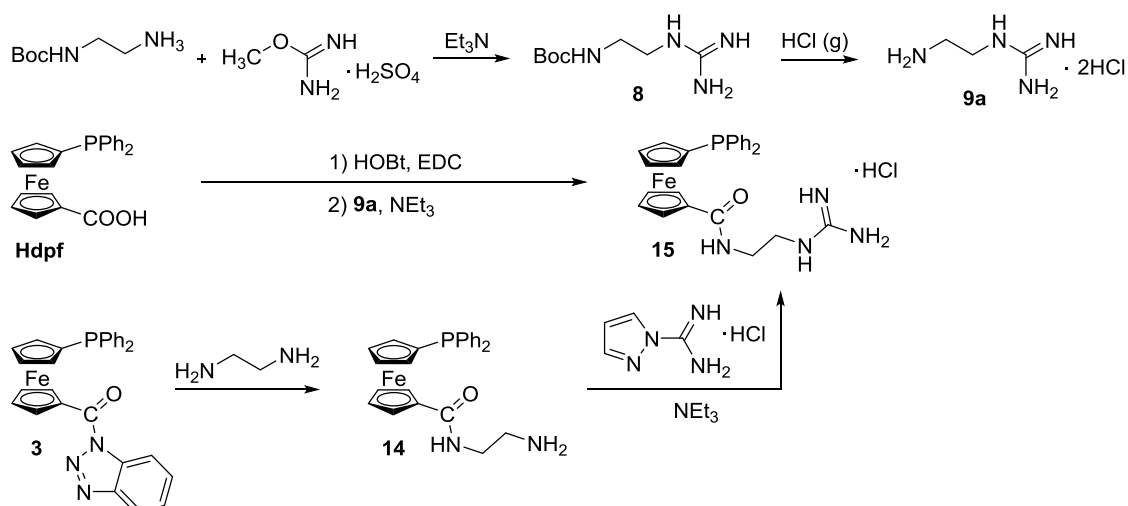
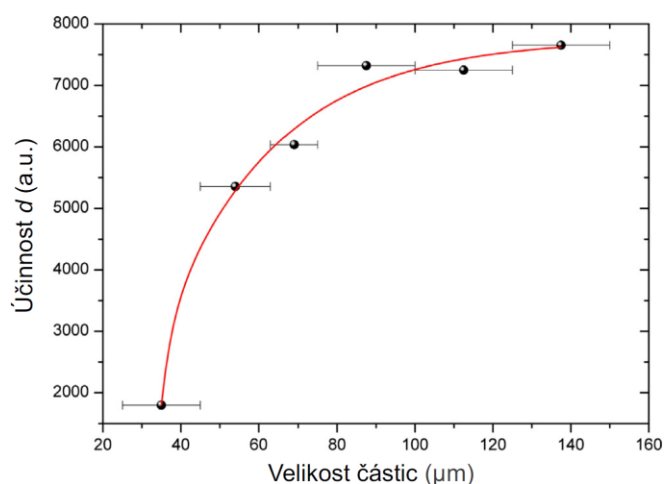


Schéma 2.4: Syntéza látky **15** dvěma postupy.

Látka **9a** krystalizuje se symetrií necentrosymetrické prostorové grupy $P2_1$, proto byla navíc testována na generování druhé harmonické frekvence. Pomocí modifikované Kurtzovy-Perryho metody^{32,33} bylo zjištěno že vykazuje lepší schopnost generovat druhou harmonickou frekvenci (vyjádřenou účinností d) než standard KH_2PO_4 ($d_{9a} = 1.10 d_{\text{KH}_2\text{PO}_4}$). Protože účinnost d většinou závisí na velikosti částic, byly provedeny experimenty se vzorky s různou velikostí zrn. V látce **9a** dochází ke změně nelineární optických vlastností v závislosti na velikosti zrn, jak je vidět z Obrázku 2.2.³⁴



Obrázek 2.2: Závislost účinnosti d na velikosti částic (μm).

Byly připraveny čtyři typy palladnatých a jeden typ ruthenatých komplexů s různými pomocnými ligandy. Jmenovitě se jednalo o komplexy $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{Cl}]\text{L}$, chelátové $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{L}][\text{SbF}_6]$, *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$, $[\text{Pd}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{Cl}]\text{L}$ a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymen})\text{RuCl}_2\text{L}]$. První komplex a poslední dva jmenované komplexy vznikaly jako produkty štěpení chloridových můstků v příslušném dimerním prekurzoru (reakce **a,d** a **e**, Schéma 2.5). Vznik chelátových komplexů byl podpořen odtržením chloridového aniontu z $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{Cl}]\text{L}$ pomocí stříbrné soli (reakce **b**, Schéma 2.5). Komplexy *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$ byly připraveny nahrazením *cod* (*cod* = $\eta^2:\eta^2$ -cyklookta-1,5-dien) v prekurzoru $[\text{PdCl}_2(\text{cod})]$ (reakce **c**, Schéma 2.5).

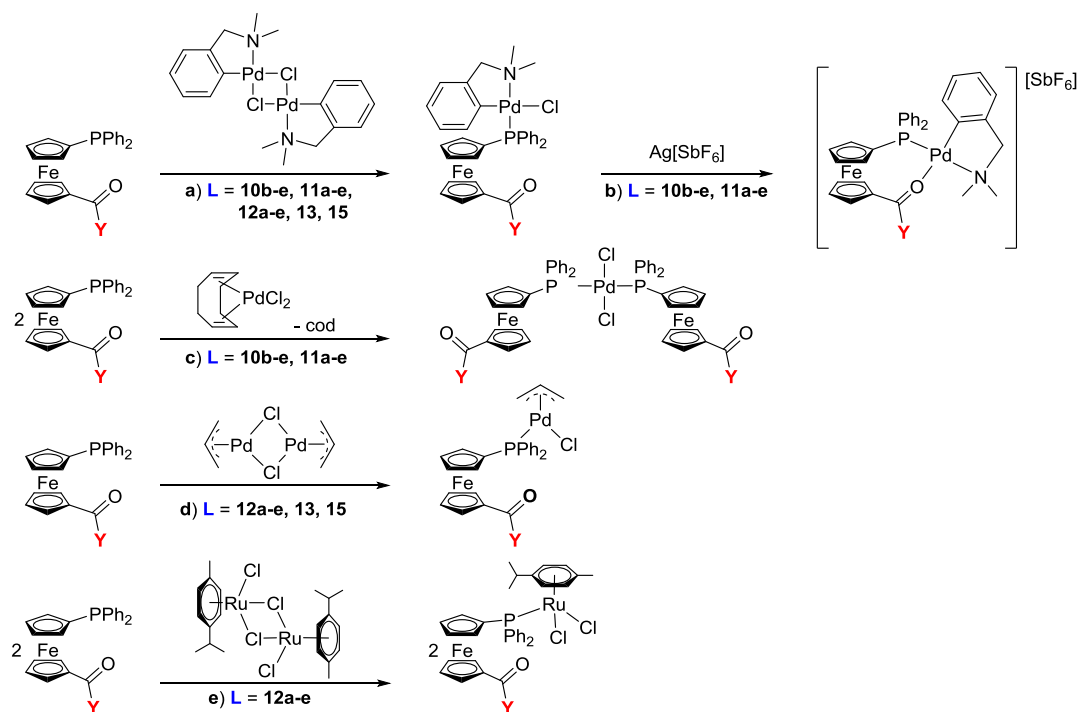


Schéma 2.5: Obecná příprava komplexů (**Y** je příslušná funkční skupina).

Vybrané ligandy a komplexy byly studovány rentgenostrukturní analýzou monokrystalu. Látky interagují pomocí vodíkových vazeb mezi amidem a močovinou skupinou, čímž vznikají dimery, 1D či 2D struktury.

Pro testování katalytických schopností komplexů $[\text{Pd}(\text{L}^{\text{NC}})\text{Cl}]\text{L}$ (**18a–e**) a $[\text{Pd}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{Cl}]\text{L}$ (**25a–e**), kde **L** jsou ligandy **12a–e**, byla jako modelová spojovací reakce vybrána palladiem katalyzovaná aroylboronace. Experimenty

zjišťující optimální podmínky byly prováděny s benzoyl chloridem a 4-fluorofenylboronovou kyselinou za vzniku 4-fluorobenzofenonu (Schéma 2.6).

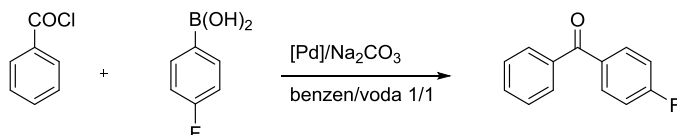


Schéma 2.6: Optimalizační experimenty pro aroylboronační reakci.

Experimenty s 0.2 mol. % komplexu **25c** ve směsi deuterovaný benzen/voda v poměru 1/1 při 50 °C vedly již po 1 hodině ke kvantitativnímu výtěžku. Ve srovnání s reakcí v čistě organickém rozpouštědle byly zjištěny výrazně lepší výsledky, což dokazuje pozitivní vliv bifázového uspořádání.

Z testovaných katalyzátorů byly účinnější allylové komplexy, z nichž většina poskytla téměř kompletní konverzi. Pro další reakce byl zvolen komplex **25c**, který lze snadno připravit ve formě krystalů. Protože reakce s neferrocenovými prekurzory nebo komplexy s Hdpf a jejím primárním amidem vykazovaly výrazně nižší konverze, je zřejmé, že hydrofilní funkční skupina podstatně zlepšuje katalytickou účinnost komplexů.

Dalším krokem bylo zjišťování tolerance katalyzátoru **25c** vůči funkčním skupinám. U těchto reakcí byl již místo benzenu použit toluen kvůli své nižší toxicitě. Byla připravena série různě substituovaných ketonů vzniklých reakcí substituované boronové kyseliny a benzoyl chloridu, stejně tak jako produkty syntézy opačně substituovaných reaktantů (Schéma 2.7).

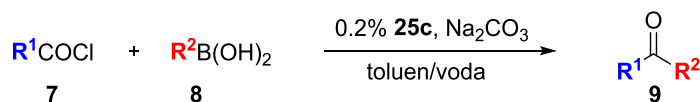


Schéma 2.7: Příprava různě substituovaných ketonů.

Izolované výtěžky produktů se pohybovaly v oblasti dobré až výborné. V případě reakce benzoylchloridu s různě substituovanými boronovými kyselinami dosahovaly vysokého výtěžku (84–94 %) substráty nesoucí methylovou, fluoro, chloro, methoxy a trifluormethylovou skupinu v *para* poloze. Dokonce i objemná mesitylboronová kyselina poskytla dobrý izolovaný výtěžek (55 %). V případě

reakce 1-naftylboronové kyseliny a 4-bromfenyloboronové kyseliny jsou výtěžky poněkud nižší, což je mimo jiné dané vznikem vedlejších produktů. V prvním případě vzniká naftalen (5% izolovaný výtěžek) jako produkt dehalogenace, u druhého jmenovaného dochází ke kompetitivní biarylové spojovací reakci za vzniku 4-benzoyl-4'-brombifenyly (výtěžek 12 %). Relativně nízké výtěžky byly získány zejména pro 4-kyanofenyloboronovou kyselinu (42 %) a 4-nitrofenylboronovou kyselinu (19 %), přičemž příčinou nízké reaktivity byla především nízká rozpustnost těchto látek ve zvolené soustavě rozpouštědel. Za zmínku stojí také dobrý izolovaný výtěžek *trans*-chalkonu (79 %).

Obdobně byly provedeny také reakce s fenylboronovou kyselinou a substituovanými acyl halogenidy. Reakcí s 3- a 4-toluoylchloridem, 4-chlorbenzoylchloridem a 4-(trifluormethyl)benzoylchloridem bylo možné připravit příslušné monosubstituované benzofenony v obdobných výtěžcích jako u reakcí v opačném uspořádání. U syntézy 2-methylbenzofenonu touto cestou se pravděpodobně projevuje také sterický efekt, což vede k nižšímu výtěžku. Zajímavé je také porovnání výsledků vedoucích ke vzniku 4-methoxybenzofenonu a *trans*-chalkonu, jelikož u nich dochází k výraznému poklesu ve výtěžcích oproti reakci substituované boronové kyseliny a benzoylchloridu. Naopak v případě 4-nitrobenzofenonu je možné získat produkt s výrazně lepším výtěžkem (94 %), protože oba substráty jsou v uvedené směsi rozpouštědel již dobře rozpustné. Reakce fenylboronové kyseliny se substituovaným chloridem kyseliny je výhodná také pro méně reaktivní alkylové substráty vedoucí ke vzniku 1,3-difenylpropan-1-onu (54 %) a 1,2-difenylethanonu (40%).

Pozitivní efekt formální výměny substituentu v substrátech byl podroben hlubšímu zkoumání u benzofenonů nesoucích 4-methoxy a 4-nitro skupiny. Reakce stejně substituovaných substrátů (tj. oba reaktanty substituované 4-nitro- nebo oba 4-methoxyskupinou) vede k nízkým izolovaným výtěžkům disubstituovaných produktů. Reakcí málo rozpustné 4-nitroboronové kyseliny s 4-methoxybenzoylchloridem vzniká pouze zanedbatelné množství produktu (2%), zatímco opačně substituované substráty poskytují produkt s izolovaným výtěžkem 74 %.

Stejná aroylboronační spojovací reakce byla využita i pro zjištění katalytických schopností palladnatých komplexů guanidinových ligandů **13** a **15**.

První experimenty byly stejně jako v předchozím případě prováděny s benzoylchloridem a 4-fluorofenylboronovou kyselinou za vzniku 4-fluorobenzofenonu. Pilotní reakce byly prováděny s 0.2 mol. % definovaného komplexu $[\text{Pd}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{Cl}(\text{L})]$, kde L je ligand **15**, při 50 °C po dobu 1 hodiny ve směsi benzen/voda 1/1. Reakce v čisté vodě bohužel vedla k výrazně nižším výtěžkům (o cca 10–55 % nižší v závislosti na typu katalyzátoru a nepřesáhly 80% výtěžek). Proto byla pro další optimalizační experimenty zvolena směs rozpouštědel benzen/voda 1/1.

Palladnaté komplexy s ligandy **13** a **15** byly testovány ve formě definovaných látek a *in situ* generovaných komplexů. *In situ* komplexy byly připravovány z ligandu a kovového prekurzoru $[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)]_2$, $[\text{PdCl}(\text{L}^{\text{NC}})]_2$ a navíc také $\text{Pd}(\text{OAc})_2$. Všechny katalytické pokusy s komplexy obsahujícími ligand **15** poskytovaly výrazně vyšší NMR výtěžky než komplexy s ligandem **13**. Allylový komplex s ligandem **15** katalyzuje reakci k téměř úplnému výtěžku (izolovaný i *in situ* generovaný). Nejlepší NMR výtěžek dosažený pro komplex s ligandem **13** činil 85 %. Katalytická schopnost komplexů s L^{NC} ligandem je obecně nižší. *In situ* generované komplexy s ligandem **13** vykazovaly stejné nebo jen o málo lepší katalytické vlastnosti než samotné palladiové prekurzory, což mohlo opět být způsobeno nízkou rozpustností ligandu v reakční směsi. Reakce katalyzovaná *in situ* generovaným komplexem z ligandu **15** a $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ poskytla nejlepší NMR výtěžek (98 %). Tento katalyzátor byl proto využit i pro další reakce.

Dalším krokem bylo testování katalytických schopností zvoleného komplexu generovaného *in situ* z ligandu **15** a octanu palladnatého na různých substrátech a stanovení jejich izolovaných výtěžků. Všechny následující reakce byly prováděny ve směsi toluen/voda 1/1, přičemž množství rozpouštědel bylo poloviční oproti katalýze uvedené v předchozí katalýze. Výsledky z obou sérií experimentů je možné porovnat. V případě reakce s benzoylchloridem a různě substituovanými boronovými kyselinami dosahovaly substráty nesoucí fluoro a chloro skupinu v *para* poloze vyššího výtěžku, než u dříve zmiňované katalýzy komplexem **25c** (95 a 97 % oproti 84 a 91 %). Naopak substráty s methylovou a methoxy skupinou vykazují při daných podmínkách nižší reaktivitu (o 9–24 %). Objemná mesitylboronová kyselina dokonce nereaguje prakticky vůbec. V případě

reakce 4-bromfenylboronové kyseliny jsou výtěžky také nižší a množství izolovaného vedlejšího produktu se zvýšilo na 15 % (jedná se o tentýž produkt). Podstatně nižší výtěžky u špatně rozpustné 4-kyanofenylboronové kyseliny (4 %) a 4-nitrofenylboronové kyseliny (8 %) pravděpodobně souvisí také s polovičním množstvím použitého rozpouštědla. Izolovaný výtěžek *trans*-chalkonu je o málo menší než v dřívější katalýze (71 % oproti 79 %). Navíc byly otestovány také reakce s heterocyklickými boronovými kyselinami (2-furylboronová kyselina a 2-thienylboronová kyselina), izolované výtěžky produktů však byly poměrně nízké (12 % a 43 %).

Obdobně byly provedeny také reakce s fenylboronovou kyselinou a substituovanými chloridy kyselin. Reakce s 2-, 3- a 4-toluoylchloridem a 4-methoxybenzoylchloridem vykazují o 2–32 % vyšší izolované výtěžky než u předchozí katalýzy komplexem **25c**. Také *trans*-chalkon vzniká tímto postupem ve vyšším výtěžku. Naopak benzofenony substituované chloro-, nitro- a fenethylovou skupinou byly izolovány s nižším výtěžkem než u katalýzy komplexem **25c**. Zajímavé výsledky poskytlo srovnání reakcí po formálním přesunu heterocyklického substituentu z boronové kyseliny na acylchlorid, neboť zatímco furylový keton vykazuje druhým způsobem o 9 % vyšší výtěžek, pro thiofenový derivát se výtěžek naopak snížil o 18 %.

V předchozím textu bylo ukázáno, že komplexy s připravenými ligandy dobře katalyzují zvolenou aroylboronační reakci s různými substráty. Protože substituované benzofenony a jejich deriváty jsou mnohdy biologicky aktivní, rozhodla jsem se připravit dvě vybrané sloučeniny s různými účinky. První z nich byl (*2E*)-1-(4-methoxyfenyl)-3-[4-(trifluoromethyl)fenyl]-2-propen-1-on, který vykazuje antimalarické účinky.³⁵ Byl připraven reakcí substrátů 4-OMeC₆H₄COCl a CF₃C₆H₄CH=CHB(OH)₂ a izolován s výtěžkem 52 % za podmínek uvedených výše, ovšem s tím rozdílem, že kvůli podpoření reakce byla reakční směs zahřívána na 80 °C. Další zajímavá látka, jejíž prekurzor je možné zmíněnou aroylboronační reakcí připravit, je pesticid chlorfenethol, který je účinný na hubení roztočů. Jeho prekurzorem je dichlorovaný benzofenon, který byl připraven reakcí 4-ClC₆H₄COCl s 4-ClC₆H₄B(OH)₂ za uvedených podmínek s výtěžkem 97 %.

Následnou alkylací pomocí methylmagnesium bromidu je možné jej převést na chlorfenethol s 98% výtěžkem.

Protinádorové účinky ruthenatých komplexů $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymen})\text{RuCl}_2\text{L}]$, kde L jsou ligandy **12a–e**, byly studovány pro dva typy rakovinných buněk (buňky A2780 způsobující rakovinu vaječníků a obdobných buněk A2780cisR, které jsou rezistentní vůči cisplatině). Pro porovnání cytotoxického působení byly paralelně testovány také na zdravých zárodečných buňkách ledvin (HEK, Human embryonic kidney). Ve srovnání s cisplatinou vykazují tyto komplexy výrazně nižší cytotoxicitu (IC_{50} v rozsahu desítek až stovek $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ oproti $4.3 \pm 0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro A2780 a $18 \pm 1 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro A2780cisR).³⁶

Nejvyšší cytotoxicitu vykazuje komplex s fenyльмоčovínovou skupinou. Druhý nejlepší výsledek poskytl komplex obsahující NMe_2 skupinu, vykazoval však téměř čtyřikrát nižší aktivitu proti oběma testovaným nádorovým bujením a ca. třikrát nižší cytotoxicitu vůči zdravým HEK buňkám. Bohužel se také ukázalo, že všechny tyto komplexy jsou pro zdravé buňky přibližně stejně toxické jako pro buňky rakovinné. U dříve publikovaných strukturně podobných ruthenatých komplexů s amidofosfinovými ligandy odvozenými od glycinu však byly zjištěné podobné hodnoty IC_{50} .³⁷

2.5 Závěr

V rámci dizertační práce jsem se zaměřila na studium fosfino-močovinových donorů, které jsou v literatuře doposud opomíjeny. Proto jsem syntetizovala a charakterizovala nové polární sloučeniny odvozené od Hdpf nesoucí různé amido-močovinové (**10b–e**, **10POb–e** a **12a–e**), hydrazido-močovinové (**11a–e** a **11POa–e**) a amido-guanidinové (**13** a **15**) funkční skupiny.

Amido-močovinové či hydrazido-močovinové deriváty bez ethylenového můstku je nejjednodušší připravovat reakcí amidu nebo hydrazidu Hdpf s příslušným činidlem, zatímco syntéza močovín s ethylenovým linkerem může vycházet přímo z Hdpf a soli funkcionalizovaného aminu. Amido-guanidin bez ethylenového můstku vzniká reakcí benzotriazolového derivátu Hdpf s volným guanidinem. V případě guanidinového derivátu s ethylenovým můstkem jsem

studovala dvě různé možnosti přípravy. První postup byl analogický přípravě obdobných močovín, tedy reakce Hdpf se solí aminu substituovaného guanidinovou skupinou. Druhá možnost vyžadovala syntézu fosfinoferrocenového amido-aminu a jeho následnou reakci s guanylačním činidlem. Obě reakce vedoucí ke guanidinu mají přibližně stejný výtěžek, z hlediska efektivity je však lepší první způsob.

Monokrystaly vybraných sloučenin byly studovány pomocí metod rentgenové difrakce. Protože krystaly látky **9a** byly necentrosymetrické, byly dále zkoumány jako materiál vhodný pro generování druhé harmonické frekvence. Tato látka vykazovala o 10 % lepší schopnost generovat druhou harmonickou frekvenci než standard KH_2PO_4 .

Výše zmíněné ferrocenové ligandy byly koordinovány na palladium. Byly připraveny celkem čtyři typy palladnatých komplexů nesoucí různé pomocné ligandy ($[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{L}]$, $[\text{PdCl}(\text{LNC})\text{L}]$, $[\text{Pd}(\text{LNC})\text{L}][\text{SbF}_6]$ a *trans*- $[\text{PdCl}_2\text{L}_2]$). Vybrané komplexy byly studovány pomocí rentgenostrukturní analýzy.

Katalytickou účinnost komplexů s L^{NC} vázaným a allylovým pomocným ligandem a také s definovanými a *in situ* generovanými komplexy ligandů **13** a **15** jsem otestovala v aroylboronační spojovací reakci. Prakticky úplné konverze bylo dosaženo reakcí boronové kyseliny s mírným nadbytkem acylchloridu a jedním ekvivalentem Na_2CO_3 při 50 °C po dobu 1 hodiny s použitím 0.2 mol. % katalyzátoru. Allylové komplexy vykazovaly lepší katalytické schopnosti a posléze byl pro další reakce vybrán allylový komplex s ligandem **12c** (**25c**). Pro guanidinové komplexy vykazoval nejlepší katalytickou účinnost komplex *in situ* generovaný z ligandu **15** a octanu palladnatého. Optimalizační reakce byly prováděny v bifázovém prostředí deuterovaný benzen/voda 1/1 kvůli snadnému měření NMR spekter, pro následující reakce byla zvolena směs levnějšího a méně toxického toluenu a vody ve stejném poměru. Testováním různých rozpouštědel bylo zjištěno, že přestože se katalyzátor ve vodné fázi téměř nerozpouští, bifázové prostředí výrazně urychluje reakci oproti použití čistě organického rozpouštědla. Ve všech případech vzniká produkt s pomocí testovaných komplexů ve výrazně vyšším výtěžku než s jejich neferrocenovými prekurzory, případně s komplexy Hdpf nebo jejího amidu, což dokazuje pozitivní vliv koncové polární skupiny.

Pro zjištění tolerance katalytického systému k funkčním skupinám byla s oběma katalytickými systémy provedena série reakcí s různě substituovanými substráty a byly stanoveny izolované výtěžky produktů. Bylo prokázáno, že reakce toleruje velké množství funkčních skupin a poskytuje dobré až výborné izolované výtěžky substituovaných benzofenonů. Allylový komplex **25c** nejlépe katalyzoval reakci boronové kyseliny s methylovou, halogenovou, trifluormethylovou a methoxy skupinou, v případě substituovaného benzoylchloridu dosahoval výborného výsledku také substrát s nitro skupinou. U substrátů s malou rozpustností (boronové kyseliny s nitro a kyano skupinou) v dané soustavě rozpouštědel bylo dosahováno výrazně nižších výtěžků, což ovšem bylo možné obejít právě formálním přemístěním dané funkční skupiny na druhý substrát. V případě katalýzy komplexem **25c** byly syntetizovány také bifunkční benzofenony kombinací nitro a methoxy skupiny, což vedlo k předpokládané změně výtěžků pro jednotlivé páry substituentů.

Guanidinový komplex generovaný *in situ* z ligandu **15** a octanu palladnatého poskytoval mírně odlišné výsledky. Oproti předchozí katalýze došlo v případě substituované boronové kyseliny ke zvýšení výtěžku u produktů s fluoro a chloro skupinou, avšak k mírnému poklesu izolovaného výtěžku u celé řady jiných substrátů, což může souviset s prostorovou náročností (u mesitylu) a také nízkou rozpustností některých substrátů, která se projevila ještě více při použití polovičního množství rozpouštědel. Produkty vzniklé reakcí substituovaného acylchloridu s fenyloboronovou kyselinou poskytují ve většině případů lepší izolované výtěžky. S pomocí katalytického systému obsahujícího guanidinový ligand jsem navíc syntetizovala dvě biologicky aktivní látky – sloučeninu vykazující antimalarické účinky a prekurzor pesticidu. Ten jsem následně jednoduchou reakcí převedla na příslušný aktivní produkt, který bylo touto dvoukrokovou syntézou možné připravit ve výborném výtěžku. Vybrané substituované benzofenony byly navíc zkoumány pomocí rentgenové difrakce.

Ruthenaté komplexy s pomocným cymenovým ligandem byly testovány z hlediska protinádorové aktivity na dvou typech rakovinných buněk a kontrolních zdravých buňkách. Nejvyšší cytotoxicita byla zjištěna pro komplex s fenyльмоčovinou skupinou. Hodnota IC_{50} je podobná jako u analogických

ruthenatých komplexů popsaných dříve v literatuře. Ve srovnání s cisplatinou má však tento komplex výrazně nižší cytotoxicitu. Navíc je nutné přiznat, že zkoumaná látka nevykazuje selektivní protinádorové chování, ale postihuje prakticky stejně i zdravé buňky.

2.6 Literatura

- (1) Cornils, B.; Herrmann, W. A. *Aqueous-Phase Organometallic Catalysis* Edited by; Cornils, B.; Herrmann, W. A., Eds.; 2nd ed.; Wiley, Weinheim, 2003; pp. 1–750.
- (2) Azizi, N.; Aryanasab, F.; Torkiyan, L.; Ziyaei, A.; Saidi, M. R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3634–3635.
- (3) Yadav, J. S.; Swamy, T.; Reddy, B. V. S.; Rao, D. K. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2007**, *274*, 116–119.
- (4) Azizi, N.; Saidi, M. R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3649–3651.
- (5) Khatik, G. L.; Kumar, R.; Chakraborti, A. K. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2433–2436.
- (6) Cornils, B.; Herrmann, W. A.; Eckl, R. W. *J. Mol. Catal. A Chem.* **1997**, *116*, 27–33.
- (7) Amengual, R.; Genin, E.; Michelet, V.; Savignac, M.; Genet, J.-P. *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 393–398.
- (8) Haumann, M.; Koch, H.; Hugo, P.; Schomäcker, R. *Appl. Catal. A Gen.* **2002**, *225*, 239–249.
- (9) Hajipour, A. R.; Pourkaveh, R. *Synlett* **2014**, *25*, 1101–1105.
- (10) Li, S.; Lin, Y.; Cao, J.; Zhang, S. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4067–4072.
- (11) Li, S.; Lin, Y.; Xie, H.; Zhang, S.; Xu, J. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 391–394.
- (12) Littke, A. F.; Fu, G. C. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2002**, *41*, 4176–4211.
- (13) Zhang, L.; Wu, J.; Shi, L.; Xia, C.; Li, F. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 3897–3901.
- (14) Li, S.; Xie, H.; Zhang, S.; Lin, Y.; Xu, J.; Cao, J. *Synlett* **2005**, 1885–1888.
- (15) Schulz, J.; Císařová, I.; Štěpnička, P. *Organometallics* **2012**, *31*, 729–738.
- (16) Schulz, J.; Tauchman, J.; Císařová, I.; Riedel, T.; Dyson, P. J.; Štěpnička, P. *J. Organomet. Chem.* **2014**, *751*, 604–609.

- (17) Schulz, J.; Císařová, I.; Štěpnička, P. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 5000–5010.
- (18) Podlaha, J.; Štěpnička, P.; Ludvík, J.; Císařová, I. *Organometallics* **1996**, *15*, 543–550.
- (19) Rosengerg, B.; VanCamp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, V. H. *Nature* **1969**, *222*, 385–386.
- (20) Messori, L.; Gonzales Vilchez, F.; Vilaplana, R.; Piccioli, F.; Alessio, E.; Keppler, B. *Met. Based. Drugs* **2000**, *7*, 335–342.
- (21) Sebolt-Leopold, J. S.; English, J. M. *Nature* **2006**, *441*, 457–462.
- (22) Schluga, P.; Hartinger, C. G.; Egger, A.; Reisner, E.; Galanski, M.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K. *Dalton Trans.* **2006**, 1796–1802.
- (23) Timerbaev, A. R.; Hartinger, C. G.; Aleksenko, S. S.; Keppler, B. K. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2224–2248.
- (24) Polec-Pawlak, K.; Abramski, J. K.; Semenova, O.; Hartinger, C. G.; Timerbaev, A. R.; Keppler, B. K.; Jarosz, M. *Electrophoresis* **2006**, *27*, 1128–1135.
- (25) Hartinger, C. G.; Ang, W. H.; Casini, A.; Messori, L.; Keppler, B. K.; Dyson, P. J. *J. Anal. At. Spectrom.* **2007**, *22*, 960–967.
- (26) Katritzky, A. R.; He, H. Y.; Suzuki, K. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8210–8213.
- (27) Štěpnička, P.; Solařová, H.; Císařová, I. *J. Organomet. Chem.* **2011**, *696*, 3727–3740.
- (28) Vašíček, T. *Polar ligands derived from a phosphiniferrocene hydrazide*, *Bakalářská práce*; 2014.
- (29) Mistry, S.; Daras, E.; Fromont, C.; Jadhav, G.; Fischer, P. M.; Kellam, B.; Hill, S. J.; Baker, J. G. Phenoxypropanol Derivatives and Their Use in Treating Cardiac and Cardiovascular Diseases. WO 2012/004549 A1, 2012.
- (30) Steffel, L. R.; Cashman, T. J.; Reutershan, M. H.; Linton, B. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12956–12957.
- (31) Riedel, J. D.; de Haën, E. Verfahren zur Darstellung von β -Aminoäthylharnstoff. Deutsches Reich, 476533, 1929.
- (32) Sutherland, R. L. *Handbook of Nonlinear Optics, Second Edition, Revised and Expanded*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2003; pp. 260–266.

- (33) Aramburu, I.; Ortega, J.; Folcia, C. L.; Etxebarria, J. *Appl. Phys. B* **2014**, *116*, 211–233.
- (34) Matulková, I.; Solařová, H.; Štěpnička, P.; Císařová, I.; Janda, T.; Němec, P.; Němec, I. *Opt. Mater. (Amst)*. **2015**, *42*, 39–46.
- (35) Batagin-Neto, A.; Lavarda, F. C. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 580–586.
- (36) Vergara, E.; Cerrada, E.; Clavel, C.; Casini, A.; Laguna, M. *Dalt. Trans.* **2011**, *40*, 10927.
- (37) Tauchman, J.; Süß-Fink, G.; Štěpnička, P.; Zava, O.; Dyson, P. J. *J. Organomet. Chem.* **2013**, *723*, 233–238.

3 Dodatek

3.1 Životopis

Hana CHARVÁTOVÁ (roz. Solařová)

narozena 22. 1. 1987 (Třebíč, Česká republika)

e-mail: charvatova.hana87@seznam.cz

Vzdělání

- 2014 ziskán akademický titul RNDr. (Rerum Naturalium Doctor)
- 2011 – Ph.D. studium na Katedře anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (školitel prof. Petr Štěpnička)
- 2009–2011 magisterské studium Anorganické Chemie, Univerzita Karlova v Praze
- 2006–2009 bakalářské studium, Chemie v přírodních vědách, Univerzita Karlova v Praze
- 2012–2015 hlavní řešitelka grantového projektu GA UK (projekt č. 643012)

Jazykové znalosti

čeština (rodilý mluvčí)

angličtina (dobrá znalost)

3.2 Seznam publikací

H. Charvátová, T. Riedel, I. Císařová, P. J. Dyson, P. Štěpnička, *J. Organomet. Chem.* **2016**, *802*, 21–26.

T. A. Fernandes, H. Solařová, I. Císařová, F. Uhlík, M. Štícha, P. Štěpnička, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 3092–3108.

I. Matulková, H. Solařová, P. Štěpnička, I. Císařová, T. Janda, P. Němec, I. Němec, *Opt. Mater.* **2015**, *42*, 39–46.

H. Solařová, I. Císařová, P. Štěpnička, *Organometallics* **2014**, *33*, 4131–4147.

P. Štěpnička, H. Solařová, I. Císařová, *J. Organomet. Chem.* **2011**, *696*, 3727–3740.

P. Štěpnička, H. Solařová, M. Lamač, I. Císařová, *J. Organomet. Chem.* **2010**, *695*, 2423–2431.

P. Štěpnička, H. Solařová, I. Císařová, *Acta Crystallogr.* **2010**, *E66*, 2840.

3.3 Příspěvky na mezinárodních konferencích

13th Seminar of PhD Students on Organometallic and Coordination Chemistry, Liblice, ČR, červenec 2011 (prezentace).

10th Ferrocene Colloquium, Braunschweig, Germany, únor 2012 (poster).

64. Sjezd Asociací českých a slovenských chemických společností, Olomouc, ČR, červen 2012 (poster).

Liblice 2013, 48. konference Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii, Liblice, ČR, (poster).

XXVI International Conference on Organometallic Chemistry, Sapporo, Japan (poster).

XXI EuCheMS International Conference on Organometallic Chemistry (EuCOMC XXI), Bratislava, Slovenská Republika, (poster).

3.4 Vyjádření ke spoluautorství

Samostatně jsem prováděla všechny syntézy prezentované v časopisech *J. Organomet. Chem.*, *Opt. Mater.* a *Organometallics*. V článku publikovaném v *Dalton Trans.* jsem se omezila na přípravu primárního amidu určeného k dalším modifikacím a také na kontrolu charakterizačních dat.

Infračervená spektra v nujolu a rutinní NMR spektra jsem měřila osobně, měření infračervených spekter metodou DRIFTS, měření Ramanových spekter a testování nelineárních optických vlastností bylo prováděno RNDr. Matulkovou, Ph.D. Měření hmotnostních spekter a provádění elementárních analýz bylo formou servisu. Rentgenostrukturní analýza monokrystalů byla prováděna RNDr. Císařovou, CSc. a struktury byly upřesňovány prof. RNDr. Štěpničkou, Ph.D. Cytotoxické testování bylo prováděno na EFPL v Lausanne v týmu profesora Dysona.