

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
Katedra biologických a biochemických věd

***In vitro* testy nových monocyklopentadienylmolybdenových derivátů na
lidských leukemických buňkách MOLT-4**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Lucie Šacherlová

Vedoucí práce: prof. Ing. Jaromír Vinklárek, Dr.

2019

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lucie Šacherlová**
Osobní číslo: **C16281**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: *In vitro* testy nových
monocyklopentadienylmolybdenocenových derivátů na
lidských leukemických buňkách MOLT-4
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Na základě literární rešerše popište současný stav poznání o cytostaticky aktivních komplexech přechodných kovů.

Osvojte si techniky práce s buněčnou linií MOLT-4

Proveďte stanovení cytotoxicity vybraných molybdenocenových komplexů pomocí WST-1 testu

Naměřené hodnoty zpracujte a diskutujte vliv typu ligandu na nalezenou hodnotu IC_{50}

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Jaromír Vinklárek, Dr.**
Katedra obecné a anorganické chemie
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Lucie Melounková**
Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 25. 5. 2019

Lucie Šacherlová

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především prof. Ing. Jaromíru Vinklárkovi, Dr., za vedení bakalářské práce, odbornou pomoc, konzultace a cenné rady. Velké poděkování patří mé konzultantce Mgr. Lucii Melounkové za trpělivé vedení a ochotu při provádění experimentů, všestrannou pomoc s bakalářskou prací a milý přístup. V neposlední řadě patří mé poděkování Ing. Ondřeji Mrózkovi a celé Katedře obecné a anorganické chemie Univerzity Pardubice, za poskytnutí sloučenin a odborný dohled při přípravě vzorků a Ústavu lékařské biochemie LF v Hradci Králové za poskytnutí laboratoře a pracovního prostředí.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá stanovením cytotoxické aktivity nově syntetizovaných monocyklopentadienylových sloučenin molybdenu na buněčné linii MOLT-4, buněk akutní lymfoblastické leukémie. Z výsledků vyplývá, že všechny komplexy s N,N-chelátovými ligandy vykazují značnou cytotoxickou aktivitu, nejvyšší pak komplexy s ligandem 4,7-difenyl-1,10-fenanthrolinem. Tyto komplexy jsou v porovnání s dosud nejpoužívanějším cytostatikem *cis*-DDP asi 10x účinnější.

KLÍČOVÁ SLOVA

Přechodné kovy, komplexy molybdenu, cytostatická aktivita, akutní lymfatická leukémie, MOLT-4.

TITLE

In vitro assay of new monocyclopentadienylmolybdenum derivatives on MOLT-4, the cell line of acute lymphoblastic leukemia

ANNOTATION

This bachelor thesis is about cytotoxic activity of new synthesized monocyclopentadienyl compounds of molybdenum, which were tested on the cell line MOLT-4, it is the cell line of acute lymphoblastic leukemia. The results are: active complexes are complexes with N,N-chelated ligands and from those the most active ones are complexes with 4-7-diphenyl-1,10-phenanthroline. These complexes, in compared with well-known compound *cis*-platinum, are ten times more active.

KEYWORDS

Transition metals, molybdenum complexes, cytostatic activity, acute lymphoblastic leukemia, MOLT-4.

OBSAH

Seznam obrázků	8
Seznam tabulek	9
Seznam Grafů	9
Seznam zkratk	10
Úvod	11
1 Teoretická Část	13
1.1 Nádorová onemocnění	13
1.1.1 Mechanismus nádorové transformace	13
1.1.2 Odolnost nádorových buněk	15
1.1.3 Buněčný cyklus.....	16
1.1.4 Apoptóza.....	17
1.2 Akutní lymfoblastická leukémie.....	18
1.2.1 Buněčná linie MOLT-4.....	19
1.3 Účinky sloučenin přechodných kovů na nádorové buňky	20
1.4 Molybden	23
1.4.1 Metabolická dráha molybdenu v lidském organismu.....	27
1.5 Cytostaticky a cytotoxicky účinné sloučeniny molybdenu.....	28
1.5.1 Biscyklopentadienyl molybdeničitý komplex a jeho deriváty.....	31
1.5.2 Monocyklopentadienylové a idenylové sloučeniny molybdenu.....	34
2 Experimentální část	35
2.1 Pomůcky a přístroje použité v experimentu	35
2.2 Použité chemikálie a roztoky	35
2.3 Metodika a postup práce	37
2.4 Výsledky a diskuze	39
2.4.1 Komplexy neobsahující N,N-chelátové ligandy	40
2.4.2 Komplexy obsahující 1,10-fenantrolin	41
2.4.3 Komplexy obsahující 5-amino-1, 10-fenantrolin.....	42
2.4.4 Komplexy obsahující 4,7-dimethyl-1,10-fenantrolin	43
2.4.5 Komplexy obsahující 4,7-difenyl-1,10-fenantrolin	44
3 Závěr	46
Použitá literatura	47

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Zkracování telomer při opětovném dělení buňky [9]	14
Obrázek 2: Aktivace a účinky proteinu p53 [15].....	16
Obrázek 3: Aktivace cyklin dependentních kináz v průběhu buněčného cyklu [17]	17
Obrázek 4: Vývojové řady krvetvorných buněk [17]	18
Obrázek 5: Struktura molekuly cis-platiny	21
Obrázek 6: Struktura molybdopterinového kofaktoru	24
Obrázek 7: Oxidace hypoxanthinu a xanthinu za katalýzy xanthinoxidázou (XOD).....	25
Obrázek 8: Struktura molekuly molybdenanu sodného.....	28
Obrázek 9: Struktura molybdenocen dichloridu	31
Obrázek 10: Vazba molybdenocenového fragmentu na purinové a pyrimidinové struktury methylcystozin (A) a na methyladenin (B, C)	32
Obrázek 11: A-Methylové skupiny (MoNDM(1-4)), B-Ethylové skupiny (MoNDE(1-4)) na kvartérním dusíku.....	40
Obrázek 12: 1,10-fenantrolin (MoNDM1 , MoNDE1).....	42
Obrázek 13: 5-amino-1,10-fenantrolin (MoNDM2 , MoNDE2)	43
Obrázek 14: 4,9-dimethyl-1,10-fenantrolin (MoNDEM3 , MoNDE3)	44
Obrázek 15: 4,7-difeyl-1,10-fenantrolin (MoNDM4 , MoNDE4).....	45

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Testované komplexy molybdenu MoNDM(0-4)	36
Tabulka 2: Testované komplexy molybdenu MoNDE(0-4)	37
Tabulka 3: Rozložení 96-jamkové mikrotitrační destičky. PK je označení pro pozitivní kontrolu, NK je negativní kontrola, KM je označení pro kultivační medium, A je roztok o koncentraci 100 $\mu\text{mol/l}$ a B roztok o koncentraci 5 $\mu\text{mol/l}$	39
Tabulka 4: Hodnoty poloviční inhibiční koncentrace IC_{50} testovaných komplexů	40

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu MoNDM0 (A) a MoNDE0 (B)	41
Graf 2: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu MoNDM1 (A) a MoNDE1 (B)	42
Graf 3: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu MoNDM2 (A) a MoNDE2 (B)	43
Graf 4: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu MoNDM3 (A) a MoNDE3 (B)	44
Graf 5: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu MoNDM4 (A) a MoNDE4 (B)	45

SEZNAM ZKRATEK

ALL	akutní lymfoblastická leukémie
ATP	adenozintrifosfát
c-myc	z anglického Cellular Myelocytomatosis Oncogene
CD	z anglického cluster of differentiation
CDK	cyklin dependentní kináza
<i>Cis</i> -DDP	<i>cis</i> -diamin dichloroplatnatý komplex
Cp	cyklopentadienylový kruh
Cys	cystein
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FBS	telecí sérum (z anglického Fetal bovine serum)
HeLa	buněčná linie lidských epitelálních buněk nádoru děložního hrdla
IC ₅₀	poloviční inhibiční koncentrace
IgH	imunoglobulin těžkého řetězce (z anglického imunoglobulin heavy locus)
IMDM	Iskova modifikace Dulbekova média (z anglického Iscove's Modified Dulbecco's Medium)
KM	kultivační médium
L	ligand
MDR	multiléková rezistence (z anglického multi-drug resistance)
MHC	hlavní histokompatibilní komplex (z anglického major histocompatibility complex)
MOLT-4	buňky akutní T-lymfoblastické leukémie
MoT	molybdenový transportér
NK	negativní kontrola
PBS	fosfátový pufr (z anglického Phosphate Buffered Saline)
Phen	1,10-fenantrolin
PK	pozitivní kontrola
Pr ⁱ	isopropyl
WST-1	[2-(4-jodofenyl)-3-(4-nitrofenyl)-5-(2,4-disulldofenyl)-2H]-tetrazoliová sodná sůl
XOD	xanthinoxidáza

ÚVOD

Civilizačními choroby jsou onemocnění, která souvisejí s moderní civilizací, životem ve velkých průmyslových městech a také s nezdravým životním stylem. Obvykle mají tyto choroby řadu příčin, které mohou být získané v průběhu života nebo jsou vrozené. Mezi nejvýznamnější patří srdeční a cévní onemocnění, obezita, cukrovka, zánětlivá revmatická onemocnění kloubů, předčasné porody a potraty, vrozené vývojové vady nervového systému, deprese, demence, chronický únavový syndrom, autoimunitní choroby a v neposlední řadě také nádorová onemocnění.

Zhoubné nádory se v České republice objevují každoročně u více než 96 000 pacientů, žijících převážně ve větších městech a oblastech s těžkým průmyslem. V roce 2016 zemřelo na nádorová onemocnění 27 261 pacientů a toto číslo prozatím stagnuje.

Záznamy z posledního výzkumu roku 2016 také uvádějí, že Česká republika je, z hlediska úmrtnosti na kolorektální karcinom, na třetím místě v celosvětovém žebříčku.

Dalším nádorovým onemocněním, na které se zaměřuje i tato bakalářská práce, je akutní lymfoblastická leukémie, na kterou v České republice ročně onemocní 1,2 osob ze 100 000 obyvatel. Postihuje převážně děti do pěti let, u kterých je přežití zhruba 40 %, a pacienty nad 55 let, u kterých toto procento přežití klesá až na 18 %. [1]

Kurativní léčbou nádorových onemocnění je například radioterapie, která využívá ionizujícího záření pro zástavu růstu nádorových buněk. Další metodou je imunoterapie. Při této metodě jsou používány látky, které ovlivňují buňky imunitního systému, aktivují prospěšné děje pro eliminaci nádoru, a naopak inhibují děje přispívající k jeho růstu.

Dominujícím léčebným postupem při nádorových onemocněních je chemoterapie. Při této terapii se podávají cytostatické látky, které zastavují proliferaci nádorových buněk, a tedy i růst nádoru. Bohužel, většina těchto látek není specificky zaměřena na nádorové buňky a může poškodit i zdravou tkáň. Používanými cytostatiky jsou například 5-fluorouracil, antracykliny, mitomycin C, taxany, vinca alkaloidy, inhibitory topoizomeráz, cetuximab, *cis*-platina a několik dalších. [2]

Cis-platina (*cis*-diaminodichloroplatnatá sloučenina, *cis*-DDP) byla zavedena jako cytostatické léčivo roku 1974. Její pozitivní účinky jsou především v terapii maligních urogenitálních nádorů, nádorů plic a jícnu. Účinná je v kombinaci s radioterapií, kdy u ozářených nádorových buněk brzdí reparativní procesy nukleových kyselin tak, že se kovalentně váže na purinové báze, především na guanin. Nevýhodou *cis*-DDP je častá rezistence nádorových buněk proti jejím účinkům. Ta je způsobena sníženým vychytáváním

nebo zvýšeným vylučováním léku, inhibicí pomocí buněčných thiolů a také zvýšenými reparativními schopnostmi buňky. Další nevýhodou je, že *cis*-platina působí neurotoxicky a nefrotoxicky. [4, 30] Nově vyvinuté komplexy obsahující platinu, které jsou méně toxické, jsou oxaliplatina a karboplatina. V některých asijských zemích se také využívá nedaplatina (diammin-glykolatoplatnatý komplex), lobaplatina (1,2-bis(aminomethyl)cyklobutanlaktatoplatnatý komplex) a heptaplatina 4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolan-malonatoplatnatý komplex). [4]

Mimo komplexů platiny byly klinicky testovány komplexy s jinými přechodnými kovy. K nim patří titan a jeho sloučenina budotitan, používaný pro léčbu pomalu rostoucích gastrointestinálních nádorů. Jeho nevýhodou byla nízká stabilita a rozpustnost, proto jeho klinické testování bylo pozastaveno. Další sloučeninou je sloučenina zvaná NAMI-A obsahující atom ruthenia. Její pozitivní účinky jsou převážně při léčbě metastáz. Tato sloučenina je od roku 2008 ve fázi druhého klinického testování. Stejně tak i sloučenina ruthenia KP1019, která vykazuje slibné výsledky při léčbě kolorektálního karcinomu. Dalšími slibnými léčivými, která jsou zatím v různé fázi testování, jsou sloučeniny vanadu, technecia, železa, rhodia, paladia nebo molybden. [5]

Cílem této bakalářské práce je popsat současný stav potenciálně aktivních komplexů přechodných kovů, se zaměřením na molybden. Poskytnuté nově syntetizované komplexy pak budou testovány na buněčné linii MOLT-4, odvozené od akutní lymfoblastické leukémie. Cytostatická aktivita bude hodnocena na základě stanovení poloviční inhibiční koncentrace IC_{50} jednotlivých komplexů pomocí WST-1testu.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Nádorová onemocnění

Nádorovým bujením se rozumí proces, při kterém vzniká jeden nebo více klonů patologických buněk. Patologický kmen má díky mutacím odlišný genom, který je předáván nově vzniklým dceřiným buňkám. Nádorovou buňkou se může stát jakákoliv dělicí se buňka, ať už somatická nebo pohlavní. Díky mutaci v genomu se buňka může začít nekontrolovatelně dělit, případně se může šířit na sekundární místa za vzniku metastáz.

Karcinogeneze je neustále se vyvíjející proces s několika stupni, při kterém mění nádorová buňka své vlastnosti a účinky na své okolí. Na tomto procesu se podílí řada vnitřních i vnějších faktorů. [6, 7]

Vnější faktory mohou být fyzikální, do nichž patří různé druhy záření, dále chemické, které jsou zprostředkovány chemickými látkami označovanými jako karcinogeny, a biologické vlivy tvořené například onkogenními viry.

Vnitřními faktory jsou faktory vrozené, které vzniknou poruchou konkrétní formy genů. Tyto geny řídí normální dělení buňky, mají za úkol potlačovat nadměrnou buněčnou proliferaci a opravují buněčnou deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) při replikaci

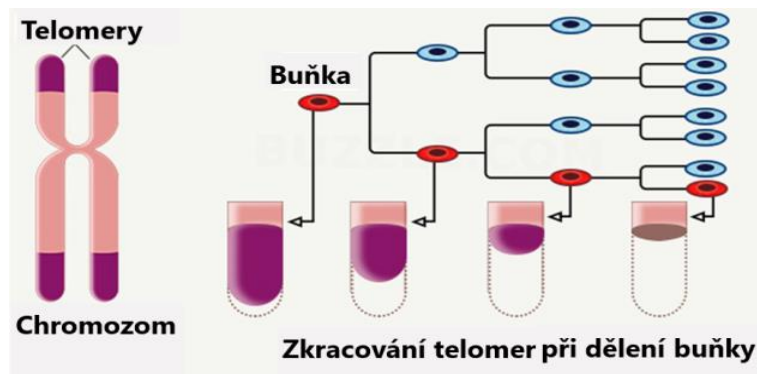
Druhou skupinu vnitřních faktorů tvoří získané stavy, které zvyšují pravděpodobnost vzniku nádorového bujení a nazývají se prekarcenózy. Mezi tyto stavy řadíme chronicky zvýšenou proliferaci při hojivých procesech některých chronických onemocnění, chronicky zvýšenou stimulaci imunitního systému u některých infekčních onemocnění, a také chronicky sníženou stimulaci imunitního systému, která zamezuje imunitnímu systému rozpoznat nádor v prvních stádiích vzniku. Tento faktor se projevuje při syndromu získaného selhání imunity, virových onemocněních lymfatického systému nebo při nadměrné stimulaci hormony, především pohlavními. [6]

1.1.1 Mechanismus nádorové transformace

Změna genomu buňky se může projevit změnou ve schopnosti proliferace a diferenciaci buňky, popřípadě sníženou schopností apoptózy.

Jednou z prokazatelných možností snížené apoptózy v nádorových buňkách je zvýšená přítomnost enzymů telomeráz. Telomerázy jsou enzymy, které jsou schopné opětovně prodlužovat telomery na koncích chromozomů a tím zajistit buňce nekonečnou možnost proliferace. [6, 8]

Jak je znázorněno na obrázku 1, při dělení buňky nejsou telomery replikovány kompletně, postupně se zkracují, až buňka nakonec o schopnost dělit se přijde úplně a navodí se proces apoptózy. Pomocí telomerázy se telomera prodlužuje a buňka se může dělit neomezeně dlouho. [9]



Obrázek 1: Zkracování telomer při opětovném dělení buňky [9]

Schopnost proliferace buňky řídí některé protoonkogeny, které jsou za fyziologického stavu normální genetickou výbavou jedince. Pokud takový gen zmutuje, nazývá se onkogen. Protoonkogeny se aktivují pomocí mutací, které mohou vzniknout několika způsoby. Zejména díky záměně jedné aminokyseliny v kodonu, úseku zahrnujícím tři po sobě jdoucí aminokyseliny. Tato bodová mutace může vyvolat změnu v chování buňky díky expresi odlišných proteinů, které nemohou plnit svou běžnou funkci.

Další možností aktivace protoonkogenů je amplifikace nebo translokace. Amplifikace znamená, že zvýšením množství protoonkogenů se zvýší jejich exprese a tím vzniká větší pravděpodobnost patologické změny. [6, 10, 11]

U translokací se jedná o translokace zkoumané u lidí a také u potkanů. U člověka jde o spojení chromozomu 8 a 14. Na chromozomu 14 se nachází lokus imunoglobulinu těžkého řetězce (IgH). Jestliže se na tento lokus translokuje protoonkogen osmého chromozomu, c-myc (z anglického Cellular Myelocytomatosis Oncogene), IgH – lokus se aktivuje a mění buňku v nádorovou. Příkladem je i Philadelphia chromozom nebo translokace mezi 22. a 9. chromozomem. [12]

Mimo protoonkogeny se v buňce vyskytují také supresorové geny, které potlačují nadměrnou buněčnou proliferaci. Pokud potomek získá zmutovanou formu tohoto genu nebo daný gen ztratí úplně, je ohrožen například vznikem retinoblastomu, nádoru na sítnici oka.

Supresorovými geny jsou například gen kódující retinoblastomový protein, gen kódující protein p53, supresorový gen pro Wilmsův tumor, supresorové geny kódující neurofibromin

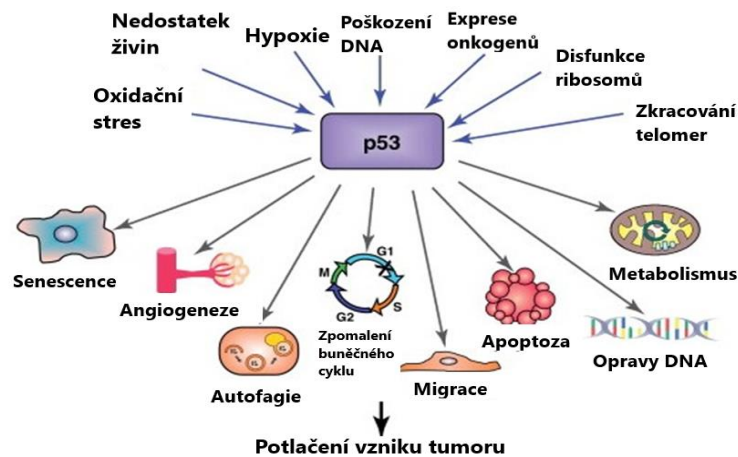
nebo tumor supresorový gen pro vznik rakoviny prsu. Jejich běžnou funkcí je snížení proliferace buňky, dohlížení na správnost genetického kódu a udržování buňky v G0 fázi, v níž se buňka po určitou dobu nedělí.

Posledním mechanismem je mutace nebo ztráta genů, které kódují enzymy schopné opravit poškozenou DNA, popřípadě které zastavují buněčný cyklus, pokud DNA není v pořádku. Díky poškození nebo ztrátě těchto genů vznikají maligní nádory, Li-Fraumeniho syndrom, Wilmsův nádor ledvin, neurofibroblastóza prvního a druhého typu nebo karcinomy tlustého střeva, žaludku a pankreatu. [6, 7, 13]

1.1.2 Odolnost nádorových buněk

Nádorové buňky mohou mít změněné přirozené povrchové antigeny nebo exprimují onkofetální antigeny, které jsou fyziologicky přítomné u vyvíjejícího se plodu, a později mizí. Díky těmto antigenům může být nádor v prvních stádiích rozpoznán buňkami imunitního systému jako cizorodá tkáň a zničen. Mezi buňky imunitního systému, které ničí nádorové buňky, patří cytotoxické T-lymfocyty, které rozeznávají cizí antigeny v komplexu s MHC (z anglického major histocompatibility complex) I. třídy, nebo přirozeně zabíječské buňky, které ničí buňky bez přítomného MHC I. třídy nebo buňky opsonizované imunoglobuliny. Proti těmto mechanismům se nádorová buňka brání potlačením exprese MHC I. třídy, aby unikla cytotoxickým lymfocytům, zbavováním se antigenů, které by vyvolaly imunitní odpověď, a také produkcí některých látek, které potlačují imunitní odpověď. [13, 14]

Nádory také často trpí nedostatkem kyslíku. Aby přežily, musí si vytvořit vlastní síť kapilár, jinak jsou zcela závislé na mikrocirkulaci v okolní tkáni. Proto se v nádoru vyskytují hypoxické oblasti, u kterých dochází díky nedostatku kyslíku k apoptóze nebo nekróze buněk. Do procesu apoptózy se zapojují různé geny, jeden z nejvíce prozkoumaných je gen p53. Vystavení buněk hypoxii zvyšuje expresi genu p53, díky němuž je transkribován protein p53, který spouští apoptické procesy. Pokud nádorová buňka nemá funkční gen p53, je odolná vůči hypoxii, a díky tomu nádor roste. Tato mutace je tedy pro nádor prospěšná a je nádorem preferována. [15] Další funkce proteinu p53, které potlačují vznik nádorů, jsou shrnuty na obrázku 2.



Obrázek 2: Aktivace a účinky proteinu p53 [15]

K léčivům může být nádorová buňka odolná díky genům mnohočetné lékové rezistence (z anglického multi-drug resistance) jako například MDR1, které kódují glykoprotein-P. Ten funguje jako membránový kanál, který odstraňuje cizorodé látky z vnitřního prostředí. Rezistence nádoru může být tedy zapříčiněna i nadměrnou expresí těchto proteinů mnohočetné lékové rezistence. [14]

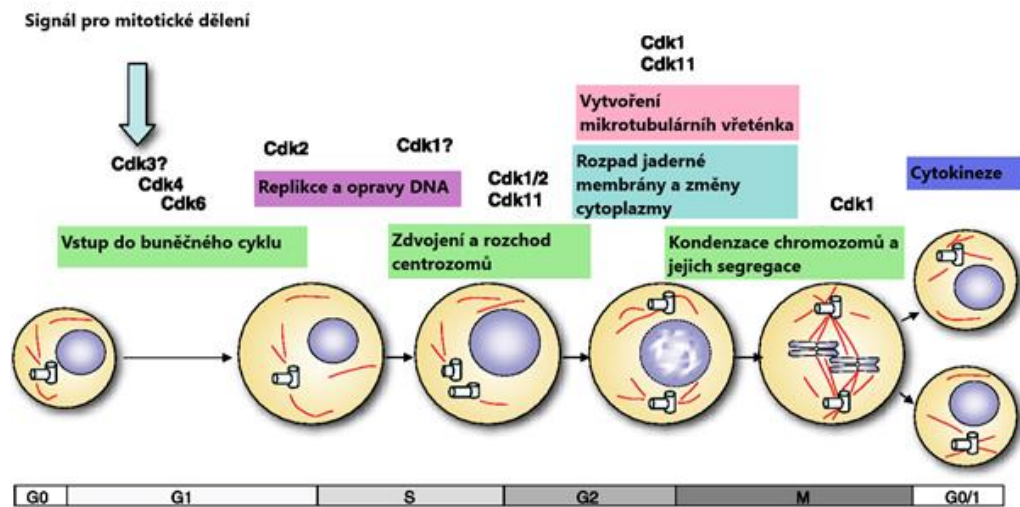
1.1.3 Buněčný cyklus

Buněčný cyklus je různě dlouhý cyklus naprogramovaných buněčných změn. Hnacím faktorem těchto změn jsou fosforylace a defosforylace specifických proteinů.

Buněčný cyklus se skládá ze čtyř fází: G₁, S, G₂ a M, při kterých se buňka dělí. Další fází je G₀ fáze, ve které se buňka nedělí, a dokonce v ní v některých případech může zůstat po celý život. V G₁ fázi po skončení předchozí M fáze a v G₂ fázi po skončení replikace DNA se nacházejí regulační kontrolní body. V kontrolních bodech je kontrolována kvalita a rychlost dělení buněk. V případě poškození DNA je cyklus zpomalen pro získání času na opravu DNA. [16]

Regulační proteiny takzvané cykliny, které se v buňce vyskytují pouze v určité části cyklu, aktivují a deaktivují cyklin dependentní kinázy (CDK), které v určitém čase cyklu fosforylují a defosforylují specifické proteiny na konkrétních místech molekuly. Navíc cykliny určují substrátovou specifitu kináz. CDK jsou katalyticky aktivní pouze pokud se naváží na cykliny. Inhibitory CDK nazývané cyklin kinázové inhibitory se vážou na CDK a brzdí jejich aktivitu. To je umožněno různými způsoby, například pomocí transformujícího růstového faktoru, který pomáhá inhibovat dělení buňky. Některé inhibitory reagují s receptory na povrchu buňky, blokují je, a tím buňka nemůže vytvářet potřebné signály pro zahájení replikace.

Zapojení některých CDK v jednotlivých fázích buněčného cyklu je znázorněno na obrázku 3. [17]



Obrázek 3: Aktivace cyklin dependentních kináz v průběhu buněčného cyklu [17]

1.1.4 Apoptóza

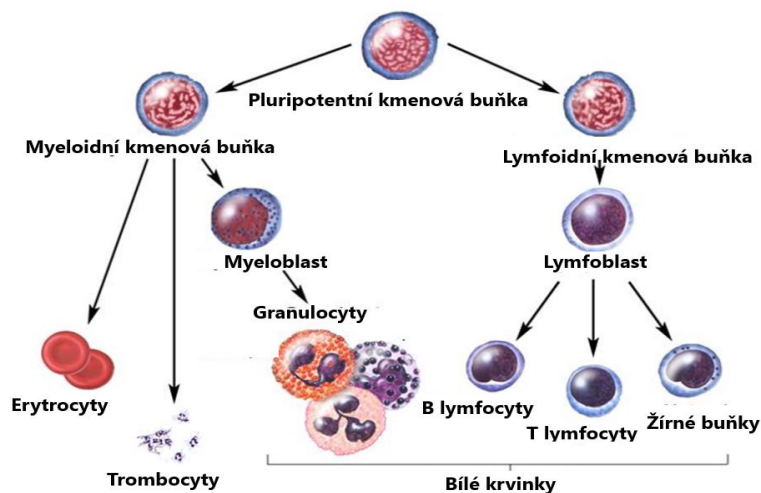
Apoptóza je programovaná smrt buňky za fyziologických i patologických stavů. Fyziologicky se tak děje, pokud je buňka již nepotřebná, jak je tomu například při ukončení laktace, kdy se zmenšují mléčné žlázy. Dále u postnatálně se obměňujících buněk, jako jsou krevní elementy, enterocyty nebo keratinocyty, pokud už neplní svou funkci, a také v embryonálním vývoji, kdy jsou např. duté orgány nejprve tvořeny shlukem buněk, a poté centrálně uložené buňky podlehnou apoptóze a vznikne dutý orgán.

Při patologických stavech je apoptóza indukována například při likvidaci buněk napadených virem nebo při chemoterapii nádorů.

Apoptóza je řízena geneticky, například zvýšenou expresí proteinu p53, který byl zmíněn dříve. Může být navozena i zevními vlivy jako jsou glukokortikoidy, tepelný šok, gama záření nebo cytokiny. Na rozdíl od nekrózy, apoptóza nevyvolává zánětlivý proces v okolní tkáni. Jádro se zmenší, chromatin kondenzuje a později se rozpadne. Na buněčné membráně vzniknou hluboké zářezy, které nakonec odštěpí části cytoplazmy. Buňka se rozpadne za vzniku apoptických tělísek, která jsou nadále zpracovávána buňkami imunitního systému. [9, 17]

1.2 Akutní lymfoblastická leukémie

Ze základní takzvané pluripotentní kmenové buňky se v kostní dřeni vytvářejí různé krvetvorné buňky, které se vyvíjejí postupně a teprve když jsou zralé a projdou celým vývojovým procesem, jsou schopné vykonávat svou funkci. Jednotlivá stádia buněk jsou zobrazena na obrázku 4.



Obrázek 4: Vývojové řady krvetvorných buněk [17]

Akutní leukémie představují soubor chorob charakterizovaných nekontrolovaným množением zhoubných nezralých krvetvorných buněk, které jsou označovány jako blasty. V případě akutní lymfoblastické leukémie (ALL) je porušen mechanismus dozrávání lymfocytů, jejichž mladší stádium se nazývá lymfoblast, znázorněný na obrázku 4. Poškození mechanismů dozrávání má obvykle nejednoznačnou příčinu. Faktory mohou být nezdravý životní styl, špatná kvalita životního prostředí a je popsáno i několik případů vzniku vlivem genetické predispozice. ALL je nejčastějším zhoubným onemocněním v dětském věku, které se vyskytuje nejvíce mezi prvním a pátým rokem života.

Lymfocyty jsou bílé krvinky, které odpovídají za část imunitní odpovědi organismu, vyvíjejí se v kostní dřeni, odkud se část z nich dostává do brzlíku, kde dokončují svůj vývoj. ALL vzniká z patologických buněk v kostní dřeni, odkud se poté může šířit díky bohatému krevnímu zásobení do některých dalších orgánů. Nezralé buňky proto můžeme nalézt v kostní dřeni, krvi nebo ve slezině, ve které se mohou ukládat a zhoršovat její fyziologické funkce. [17, 18]

Díky nekontrolovatelnému dělení buněk dochází k potlačení vývoje ostatních buněk, jako jsou krevní destičky nebo červené krvinky a ostatní bílé krvinky, což vede k dalším závažným onemocněním. [18]

Nejčastějším léčebným postupem je kombinovaná chemoterapie společně s transplantacemi krvetvorné tkáně. K potlačení růstu nádoru se mohou využít i některé hormony, jako jsou glukokortikoidy. Při chemoterapii se jako cytostatika používají nejčastěji antracykliny, vinca alkaloidy, cyklofosfamid nebo asparagináza rozkládající aminokyselinu asparagin hlavně v proteinech lymfoblastů. Další možností jsou monoklonální protilátky namířené proti lymfoblastům nebo vpravení upravených lymfoblastů do krevního oběhu, proti kterým si tělo dokáže vytvořit protilátky. V posledních desetiletích byl do zkoumaných možností léčby *in vitro* zapojen i výzkum organokovových sloučenin obsahujících centrální atomy platiny, vanadu, titanu, chromu, palladia, a molybdenu. [18, 19]

Je známo několik druhů ALL, které se rozlišují podle příčiny vzniku. Podle světové zdravotnické organizace se akutní lymfoblastická leukémie dělí na B-prekurzorovou leukémii, T-prekurzorovou leukémii, ALL s Philadelphským chromozomem a leukémii z buněk Burkittova typu.

B prekurzorová leukémie je charakterizovaná přítomností typických znaků pro normální B lymfocyty na povrchu nádorových buněk a vyskytuje se zhruba v 75 % případů tohoto onemocnění. Druhou je ALL z T prekurzorových buněk, což je menší skupina ALL, která je charakterizovaná přítomností znaků typických pro T lymfocyty na povrchu nádorových buněk a vyskytuje se ve 25 % případů. Speciální typ onemocnění je ALL s Philadelphským chromozomem. Tento chromozom vzniká sloučením chromozomů 9 a 22, díky čemuž je vytvářena abnormální bílkovina, která zapříčiňuje ALL. Druhým speciálním typem onemocnění je akutní lymfoblastická leukémie Burkittova typu. U tohoto typu dochází k výměně částí chromozomů 8 a 14. [12]

1.2.1 Buněčná linie MOLT-4

Buněčná linie MOLT-4 je jedna ze sedmi popsaných buněčných linií T lymfocytů, nacházející se v krvi pacienta s ALL. Nicméně všechny tyto linie mohou být charakteristické i pro B lymfocyty, a to v periferní krvi pacientů s neoplastickými nebo nonneoplastickými onemocněními.

Každá popsaná linie obsahuje určitou chromozomální abnormalitu způsobující nefunkčnost T lymfocytů. Z výzkumů byla zjištěna značná radiosenzitivita buněčných linií T lymfocytů. Na druhou stranu buněčné linie B lymfocytů vykazují radiorezistenci.

Největší radiosenzitivitu vykazuje právě buněčná linie MOLT-4. To může být zapříčiněno tím, že buňky MOLT-4 nejsou diploidní jako všechny somatické buňky, ale jsou tetraploidní,

což znamená, že obsahují další dvě sady chromozomů. Chromozomy navíc obsahují defekty jako delece a translokace jednotlivých částí na dvou chromozomech číslo 7.

Buňky MOLT-4 mají změněnou strukturu gama řetězce na povrchovém antigenu a také mohou obsahovat znaky diferenciací CD1 a CD5 (z anglického cluster of differentiation). Tyto znaky jsou charakteristické pro thymocyty, což jsou progenitory lymfocytů dozrávající v brzlíku. [20, 21] Na této buněčné linii byly testovány komplexy molybdenu popsané v experimentální části.

1.3 Účinky sloučenin přechodných kovů na nádorové buňky

Se stále vyšším výskytem rakovinných onemocnění se začalo mimo jiné zkoumat také využití přechodných kovů, které se v lidském těle vyskytují ve větším i stopovém množství. V periodické tabulce patří do skupin III.-XII. Vyznačují se některými unikátními vlastnostmi, jako je povaha amfolytu, kdy v různých prostředích mohou mít kladný, záporný nebo neutrální náboj. Ve vodném prostředí mají náboj kladný, což jim umožňuje vázat se na různé negativně nabitě biomolekuly. Další vlastností je, že mohou vytvářet sloučeniny se složitou strukturou a koordinační geometrií, což jim může zajišťovat specifitu pro různá vazebná místa buněk nebo jejich komponent.

Koncentrace a metabolismus kovových iontů v těle je značně regulován vnitřním prostředím buněk. Jejich nerovnováha obvykle snižuje funkčnost organismu, díky čemuž vznikají různá onemocnění včetně nádorových. Díky této skutečnosti se sloučeniny obsahující kov dostaly do popředí zájmu jako možné protinádorové komponenty. Byly zkoumány anorganické i organické sloučeniny přechodných kovů a jejich protinádorové účinky. Nicméně organické sloučeniny prokázaly efektivnější účinky na organismus. Jejich medicínsky významné účinky jsou v terapii proti viru lidské imunodeficiency HIV (z anglického Human Immunodeficiency Virus), diabetes mellitus, malárii, Parkinsonově a Wilsonově chorobě, vývoji nových antibiotik, v radiofarmacii a u nádorových onemocnění. [22]

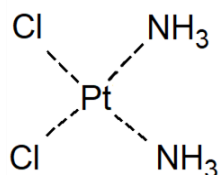
Na základě studií bylo popsáno sedm mechanismů, kterými se organokovové sloučeniny zapojují do ovlivňování metabolismu buňky.

Prvním je přímá kovalentní vazba sloučeniny na cíl kovovým centrem. [23] Druhým je, že kov má pouze strukturální úlohu a interakce je zprostředkována nekovalentně. [24] Třetím mechanismem je aktivita zprostředkovaná ligandy, kdy kov je jejich nosičem. [25] Čtvrtým je tvorba reaktivních forem kyslíku, které vznikají díky kovovému centru sloučeniny. [26]

Pátým mechanizmem je, že se sloučenina chová fotosenzibilně, což znamená, že její toxické účinky jsou zvyšovány díky ultrafialovému světlu. [27] Šestým je, že kov zesiluje radiační účinky radioterapie [28] a posledním mechanizmem je radioaktivita samotného kovu. [29]

Biologická aktivita a mechanismus účinku sloučenin je tedy značně regulována kovem, jeho oxidačním stavem a jeho ligandy. Například velká skupina kovových sloučenin a jejich protinádorová aktivita je spojená s navázáním kovového centra na proteiny nebo na DNA. [30]

V sedmdesátých letech byla do praxe zavedena *cis*-diaminodichloroplatnatá sloučenina nazvaná *cis*-platina nebo také *cis*-DDP se sumárním vzorcem $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$, známá již od počátku 19. století (Obrázek 5). *Cis*-platina obsahuje platinu(II) jako centrální atom se dvěma navázanými chloridy a dvěma aminoskupinami. Sloučenina vykazovala značnou vaznost na DNA, kdy měnila a ničila její řetězce a také aktivovala protein p53, který indukoval apoptózu. Tyto vlastnosti se zdály jako vhodné pro terapii nádorových onemocnění. Sloučenina vykazovala pozitivní výsledky v terapii rakoviny prsu, maligních melanomů, rakoviny vaječníků a varlat. Nevýhodou této sloučeniny byla její toxicita i proti zdravým buňkám a rozvoj rezistence na chemoterapeutickou léčbu. Toto zjištění vedlo ke zkoumání jiných sloučenin platiny, které by byly méně toxické. Zároveň došlo k významným výzkumům s takzvanými ne-platinovými komplexy obsahující atomy jiných kovů. [31, 32, 23]



Obrázek 5: Struktura molekuly *cis*-platiny

Výzkumy tedy pokračovaly se zapojováním jiných kovových atomů jako zlato, stříbro ruthenium, titan, měď, chrom, rhodium, vanad a molybden, které se ukázaly jako méně toxické, a přesto účinné na rakovinné buňky. [33]

Komplexy ruthenia s oxidačním číslem III napodobují transferin, což je sérový protein vázající železo. Tyto komplexy vykazují vysokou afinitu k nádorovým buňkám, které obsahují transferinové receptory. Některé komplexy ruthenia (II) s areny a chloridovými ligandy se váží na histony v chromatinu nádorových buněk a dokáží mírně snížit rychlost růstu nádoru. Jejich pozitivní účinek byl prokázán na buněčné linii HeLa lidských epiteliálních buněk cervikálního karcinomu. Mono(cyklopentadienylové), (mono(Cp)),

sloučeniny ruthenia s fluoridoacily vykazovaly interakce s DNA. Nežádoucími účinky při použití ruthenia může být horečka a některé další příznaky. [34]

Velice nadějnými se zdály být lomené metaloceny obsahující jako centrální atom titan (IV). Bylo zjištěno, že deriváty titanocendichloridu vykazovaly interakce s endoplazmatickým retikulem nádorových buněk a vznik autofagozómů, což jsou buňky, které lyzozomálně rozkládají vlastní proteiny. [35]

Dále byly zkoumány komplexy mědi. Měď je důležitým esenciálním prvkem, jelikož se vyskytuje v mnoha enzymech. V buňkách dokáží některé komplexy mědi napodobovat enzym superoxidodismutázu, která je důležitá pro odstranění superoxidového radikálu, díky čemuž pomáhá snížit oxidační stres. [36] Měďnaté soli ve spojení s thiokarbamáty reagují s mědí v buňce, díky čemuž se tvoří proteazomy a je indukována apoptóza. Antiproliferativní účinky na nádorové buňky vykazovaly také komplexy mědi s Schiffovou bází tvořené atomem mědi s oxidačním číslem II a kyselinou benzoovou nebo oxalovou. [37]

Komplexy zlata vykazují značnou afinitu k aktivním místům některých enzymů, nejvíce těch, které obsahují thiolové skupiny jako je například thiodoxinreduktáza. Proto mohou tyto komplexy působit jako inhibitory některých léků, do jejichž metabolismu se tento enzym zapojuje. Bimetalické komplexy zlata s chlórem, sírou nebo fosforem vykazovaly antiproliferační účinky na nádorové buňky, které byly rezistentní k *cis*-platině. [38] Komplex zlata s titanocenem působil cytotoxicky na nádorové buňky ledvin, a to s větším efektem než samotné výchozí sloučeniny. [39]

Stříbro a jeho komplexy jsou známé pro své baktericidní účinky. V protinádorové terapii byly prokázány účinky na nádorové buňky plic. Účinky komplexů se substituovaným 2,6-bipyridinem byly v porovnání se zavedeným chemoterapeutickým léčivem doxorubicinem na hepatocelulárním karcinomu, adenokarcinomu plic, nádoru střev a prsu značně pozitivní. [40]

Sloučeniny zirkonu, zirkonoceny, vykazovaly antiproliferativní účinky na adenokarcinom plic, tumory hlavy a krku, anaplastický thyroideální nádor a nádory vaječnicků a střev. [41]

Cytotoxickou aktivitu vykazují i komplexy vanadu, které inhibují proliferaci nádorových buněk a vyvolávají apoptické procesy. V buňkách ovlivňují metabolismus glukózy, zastavují buněčný cyklus v druhém kontrolním bodě mezi G2 a M fází, a také při přechodu buňky z G0 do G1 fáze. Ve zkoumaných liniích ovlivněných vanadovými komplexy byly přítomny také autofagozomy. Jejich další účinky jsou stále zkoumány, nicméně cytotoxická aktivita je již nyní značně perspektivní. [33, 22]

1.4 Molybden

Do 18. století byl měkký černý minerální molybdenit neboli sulfid molybdenu, často zaměňován za grafitovou nebo olovnatou rudu. Poté německý chemik Carl Scheele prokázal, že ve skutečnosti se jednalo o zcela nový prvek, nicméně neexistovaly vhodné prostředky na redukci látky na samostatný kov. Později švédský chemik Peter Jacob Hjelm zahřál oxid molybdenový smíchaný s uhlíkem ve lněném oleji, aby vytvořil pastu, která umožňovala těsný kontakt mezi uhlíkem a oxidem. Po zahřátí vznikl kov, který byl nazván molybden, podle řeckého slova "molybdos", což znamená olovo.

Molybden je kovový prvek s atomovým číslem 42, chemickým označením Mo a atomovou hmotností 95,96 g/mol. Patří do skupiny prvků VI. B, přechodných kovů. Nejčastěji se vyskytuje v oxidačním stavu II a VI, nicméně v organismu ho můžeme najít i v oxidačních číslech IV a V. Vykazuje vysokou odolnost proti korozi. Za normálních okolností reaguje pouze s fluorem. Je nerozpustný ve většině kyselin i zásad, výjimku tvoří pouze lučavka královská.

Je to jeden z nejlépe tavitelných kovů. Jeho teplota tání je 2 623°C. [42, 45]

V přírodě se tento prvek nenachází jako samostatný, ale pouze v některých sloučeninách, jako je disulfid molybdenu nebo molybdenan olovnatý. V malém množství se potom vyskytuje i v mořské vodě a ve vesmíru. [42]

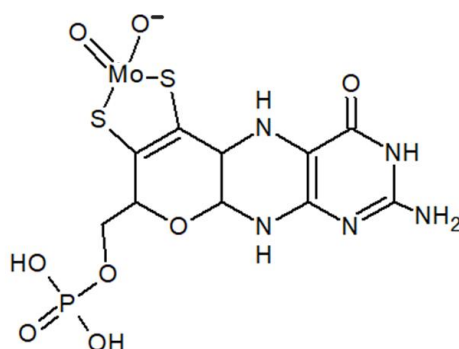
Molybden prokazuje výraznou afinitu ke kyslíku. Od oxidu molybdenového se odvozují sloučeniny molybdenany, které v kyselém prostředí snadno přecházejí na složitější sloučeniny. [43]

Molybden se dnes využívá převážně v metalurgii pro výrobu speciálních ocelí. Ty se poté využívají ve zbrojním průmyslu. Molybden zde může sloužit jako náhrada wolframu. Různé sloučeniny molybdenu se využívají jako průmyslová maziva, k výrobě žáruvzdorné keramiky, jako katalyzátory některých organických reakcí. Dimerní chlorid se používá jako chlorační činidlo v organické chemii a hexakarbonyl molybdenu je důležitým činidlem v chemii organokovových sloučenin. [42] Nuklid molybdenu ^{99}Mo , se využívá jako mateřský radionuklid pro generování $^{99\text{m}}\text{Tc}$ používaného v nukleární medicíně pro diagnostické a terapeutické metody. [44]

Molybden je také stopovým a důležitým esenciálním prvkem pro rostliny, zvířata i lidi.

Od roku 1950 bylo postupně objeveno mnoho enzymů, které ho obsahují ve formě molybdopterinového kofaktoru (Obrázek 4), nebo kofaktoru vázaného na železo. [45] Molybdenový kofaktor nebo také molybdopterin, má tricyklickou strukturu z pterinu,

dithiolenu a pyranového kruhu. [46] Je zabudován v tunelové struktuře proteinu, což zajišťuje jeho specifitu pro substrát. Prekurzorem pro biosyntézu je pravděpodobně guanozintrifosfát. [47] Molybden je v kofaktoru v pětivazebné formě. Některé bakterie nebo také jaterní buňky jsou schopné redukovat molybdenany, které nejsou v krvi příliš stabilní na pětivazebný molybden, který je schopen začlenit se do tohoto kofaktoru. [19,48, 49, 50]



Obrázek 6: Struktura molybdopterinového kofaktoru

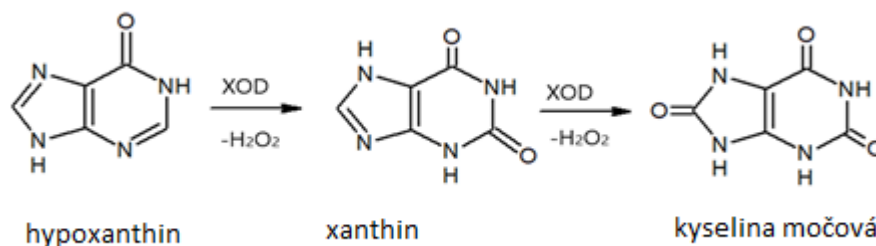
Enzymy vyskytující se v rostlinách, bakteriích a u některých zvířat jsou nitrátreduktáza, nitrogenáza, arzenit a selenitreduktáza, arsenitoxidáza, biotinsulfoxidreduktáza, karbonmonooxiddehydrogenáza, dimethylsulfoxiddehydrogenáza, ethylbenzenreduktáza a několik dalších enzymů, které dosud nebyly příliš popsány. [42]

Nitrátreduktáza a nitrogenáza obsahují molybden ve formě kofaktoru vázaného na železo. Tyto enzymy redukují molekulární dusík a nitráty, což je důležitý faktor pro růst rostlin. [51] Bylo provedeno několik úspěšných výzkumů, pro obohacování živných půd dusíkem za pomoci geneticky modifikovaných bakterií, obsahujících molybden reagující jako transkripční regulátor pro enzymy zpracovávající dusík. Výzkum ukázal u bakterií značně zvýšené vychytávání atmosférického dusíku a lepší pohlcování světelného záření i za šera. [52]

U lidí byly popsány čtyři enzymy obsahující molybden ve své struktuře. Patří mezi ně sulfidoxidáza, xanthinoxidáza (XOD), aldehydoxidáza a mitochondriální amid-oxidimreduktáza. [45]

Sulfidoxidáza je enzymem mitochondrií, který oxiduje sulfid na sulfát, což je poslední krok oxidace aminokyselin obsahujících síru, cysteinu a methioninu a prostřednictvím cytochromu C přenáší elektrony do dýchacího řetězce. V něm je zprostředkována tvorba energie ve formě adenosintrifosfátu (ATP). Oxidace probíhá díky změně konformace a vytvoření možnosti přechodu elektronů díky molybdenovému centru molekuly. [53]

XOD je důležitá pro tvorbu xanthinu z hypoxanthinu a pozdějšímu přetvoření xanthinu na kyselinu močovou. Tento proces je strukturně popsán na obrázku 7. Pokud je tento enzym nefunkční, hypoxanthin se kumuluje a navazuje se na cytozin místo thyminu, protože má strukturu deaminovaného adeninu, který je strukturálně podobný adeninu, nicméně nemá stejnou funkci. Tento enzym bývá inhibován pomocí léků při hyperurikémii a onemocnění dny.



Obrázek 7: Oxidace hypoxanthinu a xanthinu za katalýzy xanthinoxidázou (XOD)

Aldehydoxidáza se nejvíce vyskytuje v játrech a je důležitým enzymem v první fázi metabolismu a odbourávání léčiv. Účastní se oxidativní hydroxylace alifatických a aromatických aldehydů a také heterocyklických sloučenin obsahujících dusík. Dále katalyzuje redukce nitrosloúčenin, dusíkatých oxidů, sulfoxidů nebo isoxazolů. Pravděpodobně se účastní vzniku reaktivních forem kyslíku a dusíku a tím i vzniku oxidačního stresu v buňce. [54]

Poslední mitochondriální amid-oximreduktáza pomáhá redukovat N-hydroxylové sloučeniny, puriny a pyrimidiny. Hraje významnou roli při aktivaci léčebných látek obsahujících amidooximy, nicméně je stále nejméně prozkoumaným enzymem obsahujícím molybden a její přesné účinky nejsou příliš popsány. [55]

Molybden je dále složkou enzymu ceruloplazminu zodpovědného za vstřebávání železa v organismu.

Významný je i pro zdraví dutiny ústní a pohybového aparátu. Podporuje ukládání fluóru a tím zvyšuje pevnost kostí a zubů. Významnou roli hraje molybden i v prevenci zubního kazu. [56, 57]

Je také důležitý při hojivých procesech, protože působí v detoxikačním mechanismu pro nahromaděné buněčné úlomky. [58] Ke zvýšení hladiny molybdenu v séru dochází na počátku virové hepatitidy a u některých hepatobiliárních chorob jako cirhózy, poškození jater alkoholem nebo léky, metastázy, obstrukci žlučového traktu či karcinomu pankreatu.

Molybden je schopný vázat se na mnoho organických molekul jako jsou karbohydráty, aminokyseliny, flaviny nebo porfyriny. Dále ovlivňuje proteosyntézu, metabolismus fosforu, síry, draslíku, železa, mědi, zinku a jódu. [42]

Má velmi podobnou metabolickou dráhu jako síra, a proto je také významným inhibitorem bakterií produkujících sulfan, které se vyskytují také ve střevní mikroflóře. [59]

Je méně toxický než mnoho jiných kovových prvků. Nicméně stále vykazuje určité fyziologické účinky a pro organismus není vhodné nadměrně se vystavovat vysokým koncentracím tohoto prvku, zvláště kvůli jeho schopnosti vytvářet různé toxické sloučeniny. Při vyšších dávkách samotného molybdenu bývá zjišťována zvýšená koncentrace kyseliny močové v krvi, což způsobuje takzvanou molybdenovou dnu. Nadbytek molybdenu provází trávicí problémy, vzniká anémie a molybdenóza, která se projevuje zpomalením růstu. [45, 43] V jednom případě pacient přijímal 300-800 μg molybdenu denně po dobu devatenácti dnů, posléze se u něj projevíly těžké psychotické stavy s halucinacemi. Po jednom roce od tohoto experimentu byl pacient diagnostikován s toxickou encefalitidou, poruchami pozornosti, posttraumatickými stresovými poruchami a závažnými depresemi. [60, 24]

Pro sloučeniny molybdenu je toxicita poněkud rozdílná. Ve vodě rozpustný oxid molybdenitý a molybdenany mohou být toxické při požití nebo vdechnutí v prachu, ale nerozpustné sloučeniny jako molybdenan vápenatý, strontnatý, zinečnatý nebo disulfidy jsou pro organismus netoxické. Stejně tak i sloučenina molybdenové oranže, obsahující chrom, a molybdenové běloby, obsahující zinek. Molybden může být přítomný v toxických sloučeninách, kde jako toxické působí jeho ligandy. Mezi tyto sloučeniny patří hexakarbonylové, organomolybdenové a pentachloridové sloučeniny. [42]

Při nedostatku molybdenu nastává hypermethioninemie, hypourikémie, xanthinurie, hypourikózurie a nízká exkrece síranů. To vede k tachykardiím, zvracení, mentálním poruchám a v extrémních případech až ke kómatu. [60]

Dále bylo zkoumáno, že molybden, respektive jeho deficit, může z důvodu kumulace purinových bází v nervové soustavě způsobovat Parkinsonovu chorobu, což je porucha pohybových center, která má dlouhou latentní dobu a často souvisí s demencí. [61]

Nicméně za fyziologických podmínek se deficit molybdenu běžně nevyskytuje. [60]

Molybden je v organismu ovlivňován většinou stopových prvků a jeho koncentraci je nutno sledovat společně s nimi. [62]

Jak již bylo řečeno, molybden se využívá v průmyslu pro svou podobnost s wolframem, avšak u vyšších organismů tato náhrada není možná. Redoxní potenciál wolframu je více

teplotně závislý a není tolik stabilní jako u molybdenu. [63] Wolfram je esenciálním prvkem pouze pro některé archebakterie žijící v extrémních podmínkách. [47]

Bylo prokázáno, že ve spolupráci s kadmíem vyvolává molybden mitochondriální oxidativní stres, a to díky snížení aktivity superoxiddismutázy, XOD, katalázy a díky zvýšené aktivitě malonylsyntázy a ONO-syntázy.

Molybden snižuje vstřebávání mědi, čímž může způsobit až deficit tohoto prvku. [45, 33]

Při vysokých koncentracích molybdenu a nízkých koncentracích mědi se u myši objevoval vysoký podíl teratospermii. Vyšší koncentrace také snižovaly hladiny testosteronu, bylo zaznamenáno snížení počtu Leydigových buněk. Významnější bylo snížení luteotropního hormonu, aspartátaminotransferázy a laktátdehydrogenázy. [62]

Molybden také zpomaluje počáteční rychlost vychytávání jódu štítnou žlázou. Působí také jako antagonistu selenu, arsenu a hořčíku. [42]

1.4.1 Metabolická dráha molybdenu v lidském organismu

Molybden je resorbován v trávicím traktu, vstřebává se již v žaludku a dále v tenkém střevě. Resorpce probíhá pravděpodobně jak aktivním transportem, tak i pasivní difuzí, ale při vyšších koncentracích je podíl aktivního transportu nízký. Jeho vstřebávání výrazně snižuje přítomnost wolframových solí, dále sulfáty a měď. V krvi je samotný molybden transportován navázaný na protein $\alpha 2$ -makroglobulin. [60] Nicméně se v krvi nejčastěji vyskytuje ve formě oxoaniontu molybdenu, což je stabilní forma sloučeniny prvku s kyslíkem ve vysokém oxidačním stavu.

Obecně oxoanionty skrz membránu buňky pronikají pomocí fosfátové nebo sulfátové skupiny. Jakmile jsou uvnitř buňky, mohou působit jako analogy těchto skupin. Inhibují enzymy, které jsou katalyzovány fosfátem, a také inhibují sulfurylové přenosové reakce. Často slouží jako alternativní substráty enzymů, ale jsou hydrolyticky nestabilní ve srovnání se sulfátovými a fosforečnanovými estery, a proto se snadno rozkládají ve vodném roztoku. [64, 65] Pro oxoaniont molybdenu je kompetitivním antagonistou v transportu sulfát, který ovlivňuje jeho vstřebávání. V některých situacích má molybdenan vyšší afinitu k transportnímu systému a sulfát dokáže inhibovat. [66]

Další možností transportu u lidí a u zvířat jsou molybdenové transportéry MoT2, respektive CrMoT2 což znamená, že kromě molybdenu přenáší také chrom. Jedná se o řetězec 535 aminokyselin, na kterých se pravděpodobně vyskytuje 11 hydrofobních transmembránových domén. Tento přenašeč se dá zařadit do nadřazené skupiny

membránových proteinů, které přenášejí malé komponenty na základě osmotického gradientu. [67]

V roce 2005 bylo objeveno, že molybden po průchodu do buňky je v buňce rozprostřen po celém jejím objemu cytoplazmy a nenachází se pouze v některé z organel. Někdy ovšem vykazuje tendence akumulovat se poblíž buněčného jádra. [68]

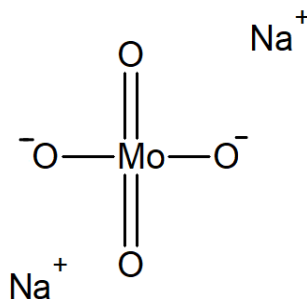
Podle výzkumů se zhruba jedna třetina přijímaného molybdenu vylučuje ledvinami v moči, zbylé množství poté ve stolici. Malé množství se také vyskytuje v mateřském mléce. [58, 60]

Průměrné hodnoty tohoto prvku se pohybují řádově v desítkách i stovkách nanogramů na jeden kilogram hmotnosti. Hodnoty se u zdravých osob liší v závislosti na pohlaví, věku, národnosti, složení jídelníčku a fyzické zdatnosti. U těhotných nebo kojících žen, se vyskytuje vyšší množství tohoto prvku v plazmě i mateřském mléce. Nejvyšší obsah molybdenu je v lidském těle v játrech, ledvinách a nehtech. [69]

Jelikož je molybden esenciálním prvkem pro organismus, je nutné ho přijímat v potravě. Nejlepšími zdroji pro člověka jsou podle jeho průměrného obsahu luštěniny, vepřová játra, obiloviny, arašidy, sýry a některé další mléčné výrobky. Biologická dostupnost tohoto prvku je vysoká, ale záleží na formě, ve které je přijímán. Nedostatek nebo nadbytek je u lidí vzácný, díky schopnosti organismu přizpůsobit se přijímanému množství. [42, 60]

1.5 Cytostaticky a cytotoxicky účinné sloučeniny molybdenu

Z anorganických sloučenin, byl zkoumán molybdenan sodný, který je znázorněn na obrázku 8. Tato sloučenina se v jistém množství nachází i v lidském těle, kde spolupracuje s některými antioxidanty, jako je například vitamín C tak, že zlepšuje jejich antioxidační účinky.



Obrázek 8: Struktura molekuly molybdenanu sodného

Byly provedeny výzkumy sloučeniny a její účinky na *Drosophila melanogaster*. Výzkum byl prováděn v rámci zjištění role molybdenanu při onemocnění diabetes mellitus. [70]

Toto onemocnění je spojeno s metabolizmem glukózy a příslušných hormonů, jako je inzulin a glukagon. Do vzniku diabetes mellitus se zapojují mimo jiné i kyslíkové radikály a jiné reaktivní formy kyslíku. [71] Bylo zjištěno, že už malé koncentrace molybdenanu zvyšují hladinu kyslíkových radikálů a modifikují proteiny a lipidy. Při nízkých koncentracích však není oxidativní stres intenzivní, protože organismus se s ním je schopen vyrovnat zvýšením hladiny antioxidantů a přidružených enzymů. Paradoxně tedy může nižší koncentrace molybdenanu u hmyzu pomoci s vyrovnáním se s oxidačním stresem vyvolaným jiným onemocněním.

Bylo také zjištěno, že sloučenina částečně napodobuje metabolické účinky inzulinu, a to tak že reverzibilně inhibuje fosfát dependentní enzymy, což vedlo u potkanů ke zlepšení metabolismu glukózy. [72]

Z jiného výzkumu vyplývá, že molybdenan, byl účinný proti rozvoji rakoviny způsobené N-nitroso sloučeninami patřícími také mezi radikály. Molybdenan zabránil poškození DNA a narušení metabolismu draslíku a vápníku. Na druhou stranu zvýšil lipidovou peroxidaci díky zvýšení koncentrace kyslíkových radikálů nad únosnou hranici. Dále pak byly prokázány inhibiční účinky na karcinogenezi jícnu a předního žaludku u potkanů. U krysu byl zjištěn pozitivní účinek na karcinogenezi prsu. [73]

Významné jsou také thiomolybdáty respektive tetrathiomolybdáty, které v organismu rychle reagují s bílkovinami za vzniku komplexů, které silně váží měď. [42, 57] Tím inhibují s mědí spojené metabolické proteiny, enzymy účastníci se tvorby DNA a také enzymy důležité pro vychytávání a využívání glukózy. Antagonismus thiomolybdenátů k mědi je tedy významně cytotoxický pro buňky, kdy zabraňuje využívání glukózy, a tedy i tvorbě energie. Ve velkém množství nádorů jako nádory prostaty, prsu, střeva, plic a mozku, byla zjištěna vysoká koncentrace mědi. Proto může být thiomolybdenát účinným cytotoxickým agens i pro nádorové buňky, které pak nemohou tvořit energii, což může indukovat proces apoptózy nebo nekrózy. [74]

Z dalších sloučenin byly vyvinuty polyoxokovové sloučeniny, které mají reaktivní skupinu superoxidu (O_2^-) a vykazují vysokou afinitu ke kyslíku. Superoxidová skupina funguje jako donor elektronů pro kovové ionty. Tyto sloučeniny mají pozitivní účinek při léčbě virových, bakteriálních a nádorových onemocnění. [75] Z polyoxomolybdenátů byla již v roce 1988 vyvinuta sloučenina $[NH_3Pr^i]_6[Mo_7O_{24}]\cdot 3H_2O$ nazvaná PM-8, kde Pr^i znamená isopropyl. Sloučenina vykazovala potenciálně antitumorovou aktivitu proti myším buňkám kožního sarkomu a lidským buňkám nádoru prsu, adenokarcinomu, karcinomu pankreatu a žaludku *in vivo*. [76]

Při průchodu do buněk se pravděpodobně díky mitochondriální činnosti, přeměňuje až na desetkrát více toxické deriváty, a díky této vlastnosti může docházet k inhibici tvorby ATP. [77]

Sloučenina také dokázala indukovat apoptózu tím, že zapříčinila translokaci fosfatidylserinu na vnější stranu buněčné membrány. Fosfatidylserin dokáže aktivovat určité systémy v buňce a navodit tak kaskádu apoptických procesů. Díky elektronové mikroskopii bylo také dokázáno, že po přidání sloučeniny měly mitochondrie narušenou buněčnou membránu, což vedlo ke smrti buňky. V buněčné linii bylo také nalezeno mnoho autofagozómů, které obsahovaly organely a další součásti buněk. [78]

V dalším výzkumu byly zkoumány účinky jiných polyoxomolybdenových amino-sloučenin na změny buněčného cyklu a na indukci apoptózy. Při léčbě některými sloučeninami byla u nádorových buněk narušena integrita membrány již při nízké koncentraci sloučenin a také bylo zjištěno, že sloučeniny jsou schopné zastavit buněčný cyklus v S fázi.

Z výzkumů bylo také patrné, že některé sloučeniny mají vysokou vaznost a vytváří s bovinním sérovým antigenem komplexy. Díky fluorescenci bylo odhaleno, že sloučeniny se v séru váží k proteinům blízko tryptofanových zbytků. Tento objev byl důležitý pro pochopení metabolismu sloučenin v buňce. [42, 77]

Další sloučeniny peroxidů, kde se molybden vyskytuje v oxidačním číslem VI, ireverzibilně oxidují některé fosfatázy, čímž napodobuje účinky inzulinu v lidském těle. [75]

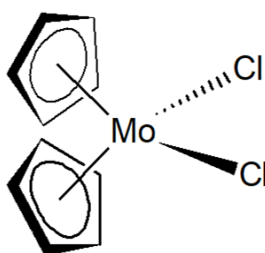
Bylo vyvinuto i několik sloučenin, které se obecně nazývají klastry, protože obsahují několik vzájemně provázaných atomů kovů. Komplex osmi atomů molybdenu ve struktuře oktahedronu s navázanými karboxylovými a trifenylfosfinovými ligandy dobře pronikal do epiteliální nádorové linie HeLa, kde se akumuloval v mitochondriích a aktivoval lysozomy v buňkách. S vyvíjejícími se technologickými postupy byly připraveny i nanomateriály, obsahující molybden ve 2 i 3 dimenzionální struktuře. Tyto materiály mají potenciál pro přesnější a cílenější léčbu rakovinných buněk. Například nanomateriál z grafenoxidu, který pravděpodobně funguje jako přenašeč léků a jiných komponent do buňky s navázaným polyethylenglykolem, sulfidem molybdeničitým a oxidem manganičitým, reagoval v nádorové epiteliální a emrionální ledvinné buněčné linii s molekulami vody za vzniku hydroxylového radikálu. To způsobilo oxidační stres, který vedl ke zničení buněk. [79]

1.5.1 Biscyklopentadienyl molybdeničitý komplex a jeho deriváty

V roce 1994 Köpf-Maeir a Köpf objevili, že biscyklopentadienylové komplexy přechodných kovů mají značnou aktivitu v nádorových onemocněních v lidských buněčných liniích, a to se značně nižší toxicitou než zavedená *cis*-platina. Z pokusů *in vitro* bylo zjištěno, že nejvyšší cytotoxickou aktivitu mají bis(cyklopentadienylové) komplexy titanu, vanadu a molybdenu. [23, 80]

Molybdenocen dichlorid (Cp_2MoCl_2), je organokovová sloučenina obsahující dva planární aromatické pětičlenné kruhy a dva chloridy navázané na molybden s oxidačním číslem IV (Obrázek 9). Sloučenina patří do skupiny takzvaných sendvičových komplexů. [81]

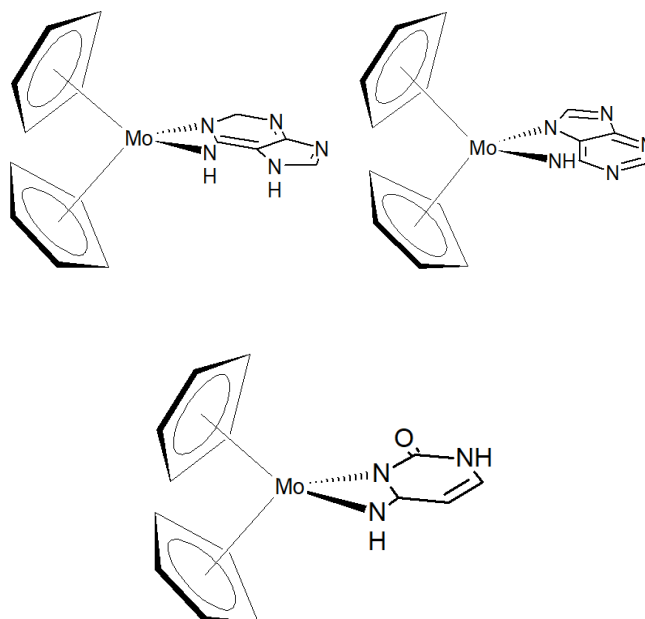
Pro pochopení fungování sloučeniny v organismu byla studována chemie sloučeniny ve vodném prostředí. Při hydrolyze při 37 °C nejprve dochází k odštěpení jednoho a poté i druhého chloridu, přičemž oba atomy jsou nahrazeny molekulami vody. [82] Po deprotonaci se ustálí rovnováha mezi hlavním monokationtem a jeho dimerickou formou. [83]



Obrázek 9: Struktura molybdenocen dichloridu

Dále byla studována reakce sloučeniny s DNA, které jsou ukázány na obrázku 10. Ve vodném prostředí s fyziologickým pH přibližně 7,4 se molybdenocenový fragment navázal na N-methylcytozin přes vazbu na N(3) a N(4), za vzniku čtyřčlenného chelátu (Obrázek 10, struktura A).

Při reakci s N-methyladeninem byl potvrzen vznik dvou stabilních sloučenin obsahující čtyřčlenný kruh (přes N(1) a N(6)) nebo pětičlenný kruh (přes N(7) a NH(6)). (Obrázek 10, struktura B, C). [82]



Obrázek 10: Vazba molybdenocenového fragmentu na purinové a pyrimidinové struktury methylcystozin (A) a na methyladenin (B, C)

Molybdenocen dichlorid neměl žádný efekt na elektroforetickou mobilitu DNA, endonukleázy, ligázy nebo polymerázy. Nicméně dokázal inhibovat proteinkinázu C, enzym regulující buněčnou proliferaci. Jeho inhibice je dobrým předpokladem k protinádorové terapii. [84]

Z výzkumu bylo také patrné, že glutathion vytváří stabilní sloučeninu s tímto komplexem a hraje tak důležitou roli v mechanismu jeho působení. Nicméně tato interakce vedla k významné deaktivaci protinádorové aktivity molybdenocen dichloridu, tudíž glutathion funguje spíše jako neutralizátor tohoto komplexu než jako jeho nosič. [85]

Dále byla studována možná vazebná interakce s ribózou monofosfátu, histidinem, lyzinem, alaninem a cytozinem. Histidin se navázal ke komplexu přes imidazolový kruh což bylo dokázáno odlišnými aromatickými signály ve spektru od původní molekuly. Po přidání cysteinu (Cys) k této směsi, byl histidin nahrazen za vzniku $\text{Cp}_2\text{Mo}(\text{Cys})_2$. Poté byl ke směsi přidán adenosinmonofosfát, alanin a histidin, ale signál se nezměnil, což značí, $\text{Cp}_2\text{Mo}(\text{Cys})_2$ je stabilní a na tyto struktury se neváže. [83, 86]

Některé studie prokázaly, že po přidání této sloučeniny do kultury plicních buněk čínských křečků, došlo k rozpadu jader buněk, zvětšení průměru buněk, zvýšené koncentrace chromatinu a poškození mitochondrií v cytoplazmě. [87]

Tyto výzkumy tedy naznačují, že molybdenocen dichlorid má vysokou afinitu ke strukturám s thiolovou nebo fosfátovou skupinou. [87]

Díky těmto výzkumům byly vyvinuty další deriváty molybdenocenu. Cílem bylo zefektivnit strukturu komplexu tak, aby měl lepší protinádorové účinky. K tomuto cíli vedly dvě hlavní strategie. Jednou bylo nahrazení halogenidů pomocnými ligandy za účelem změny rozpustnosti a biologické aktivity ve vodném roztoku a druhou bylo zefektivnění funkce Cp pro zlepšení protirakovinové aktivity. Nejprve byly tedy nahrazovány chloridy vedlejšími ligandy, které by mohly být účinnější a méně toxické. [86]

Testovány byly deriváty s thiolovými skupinami, kdy většina z nich vykazuje vysoce stabilní koordinaci s centrální atomem Mo (IV). To znemožňuje jeho hydrolýzu a vytvoření volného koordinačního místa pro reakci s cílovou biomolekulou.

Proto byly syntetizovány další již ve vodě rozpustné deriváty s nukleovými bázemi a nukleotidy obsahující síru, jako ligandy. Cílem bylo objasnit úlohu ligandů na molybdenocenech a vysvětlit protichůdné vlastnosti komplexů. [88]

Účinky komplexů s nukleovými bázemi a sírou jako ligandy, byly značně rozdílné v buňkách rakoviny prsu a kolorektálního adenokarcinomu. Důvodem je, že buňky karcinomu prsu produkují více receptorů pro estrogen. Samotný Cp_2MoCl_2 působí v této buněčné linii proliferačně, protože je svou strukturou podobný estrogeneru. Samostatné ligandy měly jen nízkou antiproliferativní aktivitu, ale ve spojení s Cp_2MoCl_2 byly komplexy značně cytotoxické.

Příčinou aktivity komplexů je zvýšení lipofilnosti v důsledku začlenění Cp_2Mo_2^+ do thionukleázy a urychlení transportu přes lipofilní buněčnou membránu. Ve sloučeninách s thionukleobázemi je molybden navázán jednak s atomem síry a jednak s dusíkem. Vazba s dusíkem je méně stabilní, což zajišťuje možnost hydrolýzy a navázání jiných důležitých struktur. [88, 89]

Dalšími testovanými ligandy byly chelatované ligandy obsahující kyslík. Z hlediska termodynamických vlastností je vazba kyslíku k molybdenu pevnější než vazba k síře, nicméně tato vazba je mnohem labilnější. Byly připraveny dvě sloučeniny $\text{Cp}_2\text{Mo}(\text{malonát})$ a $[\text{Cp}_2\text{Mo}(\text{malonát})]\text{Cl}$, a byla zkoumána jejich aktivita ve vodném prostředí a možná cytotoxicita. Obě sloučeniny byly ve vodném prostředí dobře rozpustné a stabilní. [90]

Jelikož v buňce dochází k mnohým oxidačně redukčním dějům, byly sledovány redoxní vlastnosti sloučenin. Pomocí cyklické voltametrie bylo prokázáno že všechny sloučeniny molybdenu s oxidačním číslem IV, mají nevratné redoxní vlastnosti. To bylo přičítáno vzniku elektrondeficience a vytvoření reaktivní formy molybdenu s oxidačním číslem V. Reaktivní pětivazebný molybden tvoří stabilní oxo-komplexy, které zabraňují zpětnému snížení potenciálu. [90, 91, 92]

1.5.2 Monocyklopentadienylové a idenylové sloučeniny molybdenu

V roce 2005 byly připraveny allylové, cyklopentadienilové a idenylové sloučeniny molybdenu s obecným vzorcem $[(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)\text{Mo}(\text{CO})_2\text{L}_2\text{Br}]$ a $[(\eta^5\text{-Cp}(\text{Ind})')\text{Mo}(\text{CO})_2\text{L}_2][\text{BF}_4]$ (kde Ind' -indenyl a L₂- N,N-, S,S- nebo P,P- chelátový ligand), jako nová třída vysoce cytotoxických sloučenin.

Molekula má tvar deformované čtvercové pyramidy s atomem molybdenu (II) uprostřed. Koordinační sféra je tvořena η^5 koordinovaným cyklopentadienylem nebo indenylem, dvěma karbonylovými ligandy a chelátově vázaným ligandem.

Nejvyšší cytotoxickou aktivitu vykazovaly idenylové komplexy s ligandy 1,10-fenantrolin (phen) a jeho 4,7-difenylovými deriváty a také komplexy 1,4-bis(4-tolyl)-1,4-diazabuta-1,3-dienemu, 1,2-bis(difenylofosfino) ethanu a 1,4,7-trithiacyklononanu. [22, 93, 94] Nevýhodou těchto komplexů je jejich špatná rozpustnost ve vodě, což snižuje jejich farmaceutické využití. Jednou z možností, jak zvýšit rozpustnost ve vodném prostředí je využití substituovaných cyklopentadienylových nebo idenylových ligandů. Cíleně byly připraveny komplexy obsahující 4-(N,N-diethylbenzanilido)-cyklopentadienyl, jejichž biologická aktivita byla testována v rámci této bakalářské práce.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Pomůcky a přístroje použité v experimentu

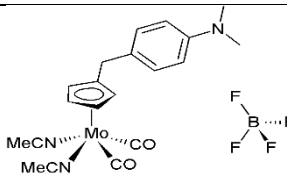
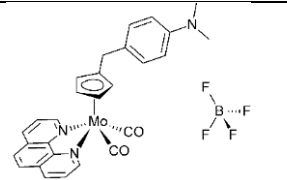
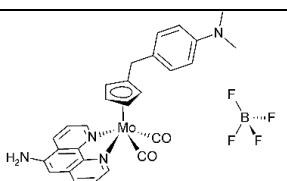
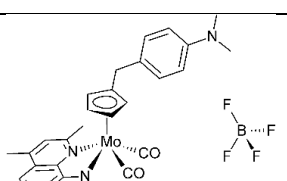
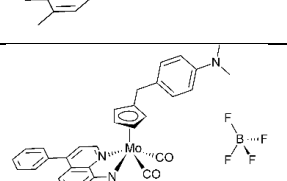
- Pipeta krokovací elektronická Multipette E3 a E3X, Eppendorf, rozsah 1 μ l až 50 ml
- Pipety Eppendorf Research® plus, jednokanálový, nastavení variabilní
- Špičky epT.I.P.S.® LoRetention Reloads, maximální objem 1000 a 5000 μ l
- Zkumavky Eppendorf Conical Tubes (15 ml)
- Mikrozkušavky Eppendorf Tubes® 3810X, 1,5ml
- Mikrotitrační destičky, 96 jamek TPP MicroWell 96, rovné dno
- Počítací komůrka dle Bürkera, se svorkami, Marienfeld, Neubauer improved, hloubka: 0,1 mm, plocha sítě: 9 mm²
- Thermo Scientific CO₂ Incubators–Thermo fisher scientific, kapacita 240L, rozsah O₂ 1-21 % a 5-90 %
- Laminární box Jouan MSC 12 (Trigon-Plus, ČR) - teplota: 5-40 °C, max (22 °C): 80 %, HEPA filtry
- Lednička a mraznička (Liebherr Premium, Německo) - 0,747 kWh/24 h
- Mikroskop Euromex iScope BS.1152-EPL, revolverová hlava pro 5 objektivů, celkové zvětšení 40 -1000krát, zorné pole 22 mm
- Mikroskop (Carl Zeiss Jena) - maximální zvětšení 160 x
- Třepačka Vortex 3 (IKA) - rozsah otáček: 0-2500 za min, frekvence 50/60 Hz
- Spektrofotometr Infinity 200 (Tecan) – režimy měření: fluorescenční polarizace, intenzita fluorescence, fluorescenční rezonanční přenos energie, flash luminiscence, glow luminiscence, absorbance

2.2 Použité chemikálie a roztoky

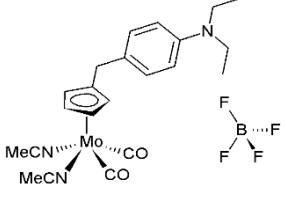
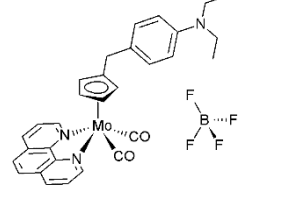
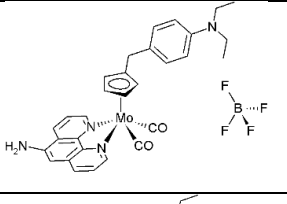
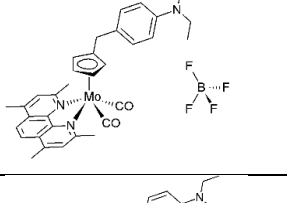
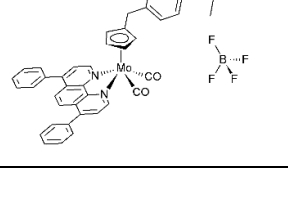
- Trypanová modř-MonoBlueSafR, 0,5% vodný roztok od firmy Sigma Aldrich (USA)
- Kultivační médium (KM) - IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium) od PAA Laboratories GmbH, Rakousko, 20% FBS (fetální telecí sérum), 0,05% L-glutamin, antibiotika 150 μ g/ml penicilinu a 50 μ g/ml streptomycinu, vše od Sigma-Aldrich (USA)
- WST-1 ([2-(4-jodofenyl)-3-(4-nitrofenyl)-5-(2,4-disulldofenyl)-2H] tetrazoliová sodná sůl) od Roche Applied Science (Švýcarsko)

- Dimethylsulfoxid (DMSO) od Sigma Aldrich (USA) s čistotou 99,9%
- Sterilní fosfátový pufr (PBS) pH 7,4 od Sigma-Aldrich (PAA Laboratories GmbH, Rakousko)

Tabulka 1: Testované komplexy molybdenu **MoNDM(0-4)**

Označení	Struktura	Sumární vzorec	Molární hmotnost [g/mol]
MoNDM0		$C_{20}H_{22}N_3O_2MoBF_4$	519,15
MoNDM1		$C_{28}H_{24}N_3O_2MoBF_4$	617,25
MoNDM2		$C_{28}H_{25}N_4O_2MoBF_4$	632,27
MoNDM3		$C_{32}H_{32}N_3O_2MoBF_4$	673,36
MoNDM4		$C_{40}H_{32}N_3O_2MoBF_4$	769,45

Tabulka 2: Testované komplexy molybdenu **MoNDE(0-4)**

Označení	Struktura	Sumární vzorec	Molární hmotnost [g/mol]
MoNDE0		$C_{22}H_{26}N_3O_2MoBF_4$	547,21
MoNDE1		$C_{30}H_{28}N_3O_2MoBF_4$	645,31
MoNDE2		$C_{30}H_{29}N_4O_2MoBF_4$	660,32
MoNDE3		$C_{34}H_{36}N_3O_2MoBF_4$	701,41
MoNDE4		$C_{42}H_{36}N_3O_2MoBF_4$	797,50

2.3 Metodika a postup práce

Buněčná linie MOLT-4 (ATCC, USA) byla asepticky kultivována v kultivačním médiu IMDM a pravidelně pasážována. Pro zjištění viability buněk bylo používáno barvení trypanovou modří, která je z živých buněk aktivně vylučována, a proto živé buňky zůstávají světlé na rozdíl od buněk mrtvých, které se zbarví modře. Pro zjištění cytotoxicity komplexů molybdenu byla používána metoda WST-1. Tato metoda funguje na principu štěpení

tetrazoliové soli mitochondriální dehydrogenázou. Při štěpení vzniká barevný formazán, jehož absorbance se dá analyzovat spektrofotometricky při vlnové délce 440 nm.

Měření se provádí po 24. hodinové inkubaci. Test lze provádět v jedné mikrotitrační destičce a nevyžaduje promývání separaci buněk ani jejich solubilizaci, pokud se jedná o buňky adherentní. [95]

Z nakultivované buněčné linie bylo automatickou pipetou odebráno do 1,5 ml mikrozkušavky 10 μ l buněčné suspenze. K buněčné suspenzi bylo přidáno 10 μ l trypanové modři a suspenze byla homogenizována. Suspenzí byla naplněna Bürkerova počítací komůrka, kde bylo počítáno množství živých i mrtvých buněk v padesáti středních čtvercích po obou stranách mřížek pomocí světelného mikroskopu při zvětšení 400krát. Množství buněk v padesáti čtvercích bylo zprůměrováno a přepočítáno na množství buněk v kultivační nádobě. Poté bylo z kultivační nádoby odebráno příslušné vypočtené množství buněčné suspenze do 50 ml zkumavky a tato suspenze byla doplněna KM tak, aby v jedné jamce mikrotitrační destičky (sloupec 1-11) bylo 30 000 buněk ve 100 μ l KM.

Zkoumaný vzorek komplexu molybdenu byl rozpuštěn v 50 μ l DMSO a poté byl objem doplněn KM na 500 μ l. Z tohoto zásobního roztoku byly připraveny dva pracovní roztoky. Roztok A, o koncentraci 100 μ mol/l, a roztok B, o koncentraci 5 μ mol/l. Oba roztoky byly ředěny KM na objem 1 500 μ l. Následně bylo do mikrotitrační destičky pipetováno příslušné vypočítané množství KM a jednotlivých roztoků tak, aby objem odpovídal 100 μ l v každé jamce. Každá koncentrace byla pipetována v tetraplikátu. Ve sloupci číslo jedna byla pozitivní kontrola (PK) bez přídavku zkoumané sloučeniny molybdenu. V posledním sloupci destičky byla kontrola negativní (NK), bez přidaných buněk i zkoumané látky pouze s 200 μ l KM.

Poté bylo do každé jamky, mimo sloupce s NK, napipetováno 100 μ l připravené suspenze buněk. Rozložení celé mikrotitrační destičky s konkrétními objemy jednotlivých reagentů je popsáno v tabulce 3.

Po napipetování buněčné suspenze se mikrotitrační destička nechala inkubovat 3 hodiny při 37 °C. Po tříhodinové inkubaci bylo do všech jamek napipetováno 50 μ l roztoku WST ředěného v poměru 1:4 PBS. Po následné 24 hodinové inkubaci byla destička proměřena na spektrofotometru při vlnové délce 440 nm a byly zaznamenány příslušné absorbance. Z hodnot absorbancí pro jednotlivé koncentrace byl vypočten průměr a směrodatná odchylka.

Tabulka 3: Rozložení 96-jamkové mikrotitrační destičky. PK je označení pro pozitivní kontrolu, NK je negativní kontrola, KM je označení pro kultivační medium, A je roztok o koncentraci 100 $\mu\text{mol/l}$ a B je roztok o koncentraci 5 $\mu\text{mol/l}$.

	c ($\mu\text{mol/l}$)	PK	0,1	0,4	0,7	1,5	2,5	4	9	15	27	50	NK
	Sloupec	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Roztok		B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	
A	KM (μl)	100	96	84	72	40		92	82	70	46		200
	komplex 1 (μl)		4	16	28	60	100	8	18	30	54	100	
	buňky (μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
B	KM (μl)	100	96	84	72	40		92	82	70	46		200
	komplex 1 (μl)		4	16	28	60	100	8	18	30	54	100	
	buňky (μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
C	KM (μl)	100	96	84	72	40		92	82	70	46		200
	komplex 1 (μl)		4	16	28	60	100	8	18	30	54	100	
	buňky (μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
D	KM (μl)	100	96	84	72	40		92	82	70	46		200
	komplex 1 (μl)		4	16	28	60	100	8	18	30	54	100	
	buňky (μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
E	KM (μl)	100	96	84	72	40		92	82	70	46		200
	komplex 2 (μl)		4	16	28	60	100	8	18	30	54	100	
	buňky (μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
F	KM (μl)	100	96	84	72	40		92	82	70	46		200
	komplex 2 (μl)		4	16	28	60	100	8	18	30	54	100	
	buňky (μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
G	KM (μl)	100	96	84	72	40		92	82	70	46		200
	komplex 2 (μl)		4	16	28	60	100	8	18	30	54	100	
	buňky (μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
H	KM (μl)	100	96	84	72	40		92	82	70	46		200
	komplex 2 (μl)		4	16	28	60	100	8	18	30	54	100	
	buňky (μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	

2.4 Výsledky a diskuze

V rámci experimentální části byla stanovena cytotoxická aktivita deseti nově syntetizovaných monocyklopentadienylových komplexů molybdenu, které byly poskytnuty Katedrou obecné a anorganické chemie FCHT Univerzity Pardubice. Jejich cytotoxicita byla stanovena pomocí WST-1 testu na buněčné linii MOLT-4, odvozené od buněčné linie T-lymfoblastické leukémie. Získaná data byla zpracovaná do grafů v programu Origin Pro 9 v modulu „Analysis“ (Graf 1-10). Grafy vyjadřují závislost viability buněk MOLT-4 na koncentraci testovaného komplexu. Z hlediska předpokládaného průběhu klesající viability

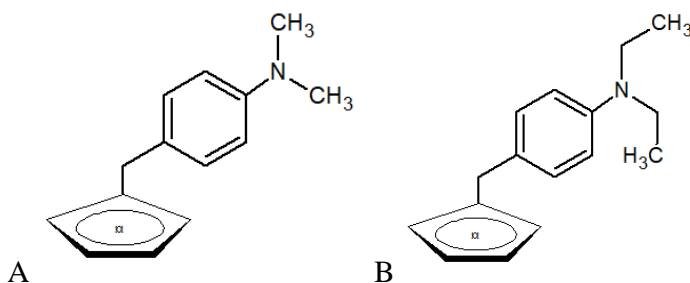
byla data proložena předdefinovanou sigmoidní funkcí „Hill1“. Z těchto grafů byly odečteny hodnoty poloviční inhibiční koncentrace (IC_{50}), které jsou uvedeny v tabulce 4

Tabulka 4: Hodnoty poloviční inhibiční koncentrace IC_{50} testovaných komplexů

Označení	MoNDM0	MoNDM1	MoNDM2	MoNDM3	MoNDM4
IC_{50} [$\mu\text{mol/l}$]	200,2 \pm 7,0	10,3 \pm 1,0	3,1 \pm 0,3	1,3 \pm 0,2	1,8 \pm 0,1
Označení	MoNDE0	MoNDE1	MoNDE2	MoNDE3	MoNDE4
IC_{50} [$\mu\text{mol/l}$]	119,4 \pm 5,0	6,3 \pm 0,9	1,7 \pm 0,1	3,8 \pm 0,7	1,5 \pm 0,3

Při prvním pohledu je možné rozdělit studované komplexy podle struktury na dvě skupiny lišící se methylovými (**MoNDM(0-4)**, tabulka 1) nebo ethylovými (**MoNDE(0-4)**, tabulka 2) skupinami na kvarterním dusíku (Obrázek 11). Při porovnání hodnot IC_{50} obou skupin bylo zjištěno, že tyto dvě skupiny se prakticky nelišily v hodnotách cytostatické aktivity.

Podstatně rozdílná je hodnota IC_{50} v závislosti na tom, jestli komplexy obsahovaly nebo neobsahovaly N,N chelátově vázané ligandy. Změny aktivity byly znatelné i mezi různými typy chelátových ligandů.



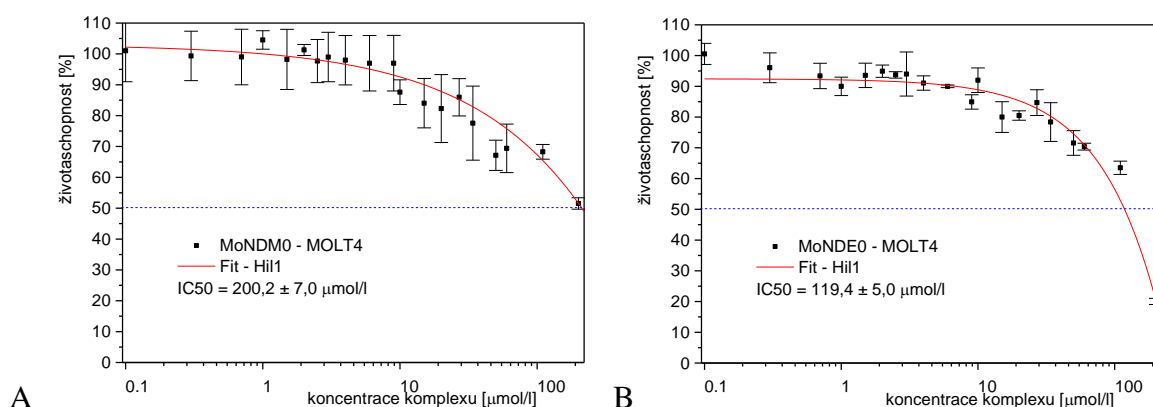
Obrázek 11: A-Methylové skupiny (**MoNDM(1-4)**), B-Ethylové skupiny (**MoNDE(1-4)**) na kvarterním dusíku

Pro další diskuzi o aktivitě studovaných sloučenin bylo proto použito rozdělení do skupin, které zohledňuje přítomnost různého N,N-chelátového ligandu vázaného přímo na centrální atom molybdenu.

2.4.1 Komplexy neobsahující N,N-chelátové ligandy

První zkoumanou skupinou byly dva výchozí komplexy molybdenu bez chelátových ligandů. První z komplexů **MoNDM0** měl na kvarterním dusíku dvě methylové skupiny.

Tento komplex byl výchozí sloučeninou pro přípravu celé skupiny komplexů **MoNDM(1-4)**. Druhý z komplexů **MoNDE0** měl ve struktuře na kvartérním dusíku navázané dvě ethylové skupiny. Od něj byla odvozena skupina komplexů **MoNDE(1-4)**. Ani jeden z těchto komplexů nebyl příliš účinný. Z toho důvodu byl pro tyto dva komplexy posunut rozsah koncentrací až po hodnotu 200 $\mu\text{mol/l}$. I přes tuto úpravu byly hodnoty IC_{50} na horní hranici sledovaného rozsahu. Pro **MoNDM0** byla hodnota $200,2 \pm 7,0 \mu\text{mol/l}$ (Graf 1, A) a pro **MoNDE0** $119,4 \pm 5,0 \mu\text{mol/l}$ (Graf 1, B).

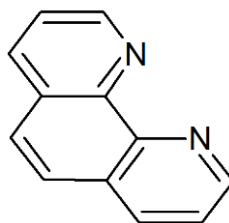


Graf 1: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu **MoNDM0** (A) a **MoNDE0** (B)

2.4.2 Komplexy obsahující 1,10-fenantrolin

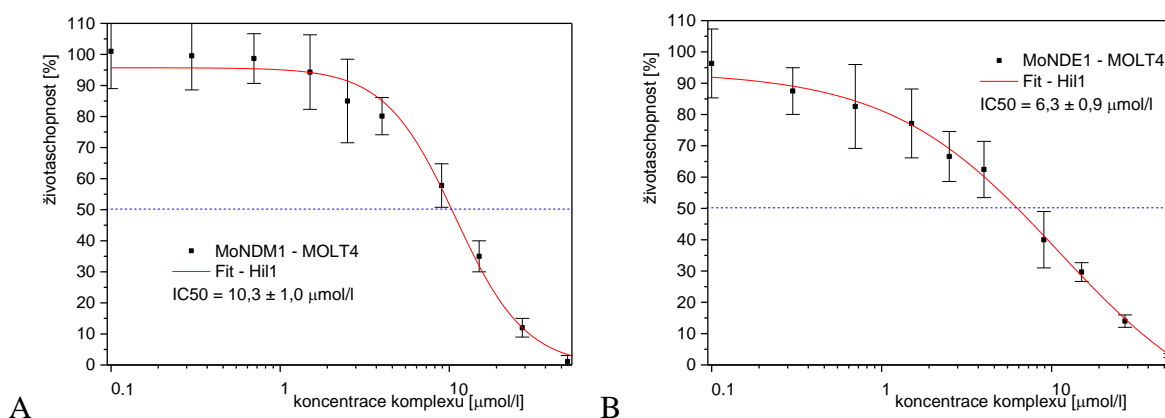
U každého z komplexů 1-4 obou odvozených skupin (**MoNDM0** a **MoNDE0**), byl navázán na centrální atom molybdenu odlišný $\text{N,N}'$ ligand, jehož základem byl 1,10-fenantrolin (Obrázek 13-17).

První z ligandů, který tvořil základ i pro ostatní ligandy, 1,10-fenantrolin (Obrázek12), je známý pro svou schopnost silně vázat kovové prvky. V organismu je schopen inhibovat některé metalopeptidázy, enzymy obsahující kov jako kofaktor. Po interakci metaloenzymu s fenantrolinem se kovový kofaktor odštěpí z enzymu a tento zůstává ve formě neúčinného apoenzymu. To může způsobit zpomalení nebo úplnou zástavu buněčného cyklu a metabolismu v buňce a navození procesu apoptózy. [96, 97]



Obrázek 12: 1,10-fenantrolin (**MoNDM1**, **MoNDE1**)

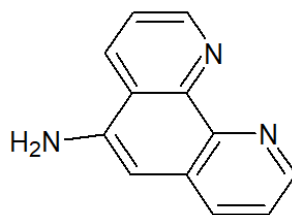
Komplex **MoNDM1** (Graf 2, A) s navázaným fenantrolinem, měl hodnotu IC_{50} $10,3 \pm 1,0$ $\mu\text{mol/l}$. V porovnání s komplexem **MoNDE1** (Graf 2, B) se stejným chelátovým ligandem byla tato hodnota vyšší, což znamená vyšší účinnost komplexu **MoNDM1**. Hodnota IC_{50} komplexu **MoNDE1** byla $6,9 \pm 0,9$ $\mu\text{mol/l}$. Obě hodnoty se od sebe příliš nelišily, takže změna skupin na kvartérním dusíku neměla velký efekt na změnu cytotoxicity. Oba komplexy měly značně nižší hodnoty IC_{50} než výchozí komplexy bez ligandů, což značí, že chelátový ligand zvyšoval cytotoxickou aktivitu.



Graf 2: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu **MoNDM1** (A) a **MoNDE1** (B)

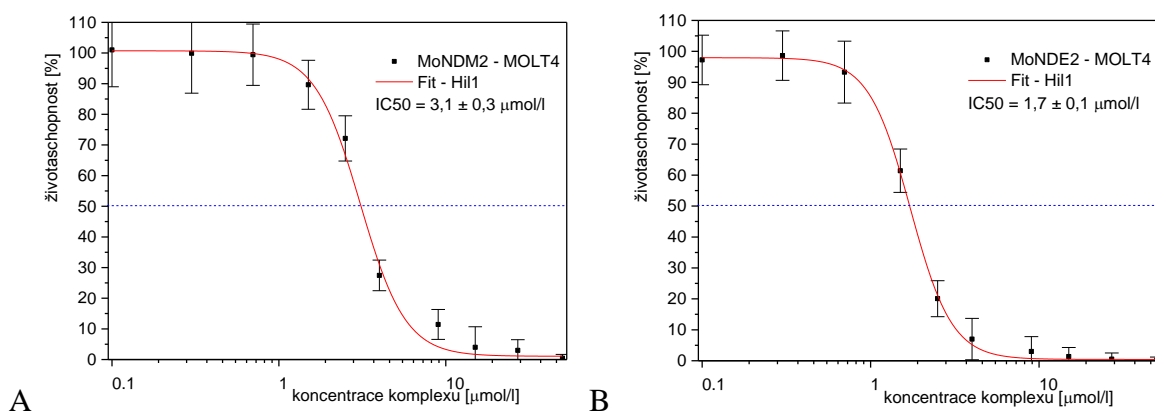
2.4.3 Komplexy obsahující 5-amino-1, 10-fenantrolin

Druhým z ligandů je 5-amino-1,10-fenantrolin (Obrázek 15). Na rozdíl od základního fenantrolinu má na uhlíku číslo 5 navázanou aminoskupinou. Tento ligand může mít v organismu stejné účinky jako samotný fenantrolin. Jeho cytotoxická aktivita může být podpořena vlastností aminoskupiny, která obsahuje volný elektronový pár schopný začlenit se do interakcí s molekulami v buňce a dává této skupině povahu báze. [98]



Obrázek 13: 5-amino-1,10-fenantrolin (**MoNDM2**, **MoNDE2**)

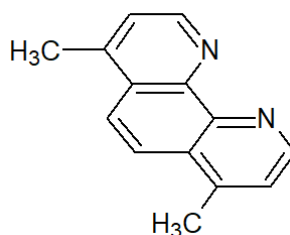
Komplex **MoNDM2** (Graf 3, A), měl hodnotu IC_{50} $3,1 \pm 0,3 \mu\text{mol/l}$. Komplex **MoNDE2** (Graf 3, B) se stejným ligandem měl hodnotu IC_{50} $1,7 \pm 0,1 \mu\text{mol/l}$. Oba komplexy jsou účinnější než komplexy se samotným fenantrolinem, což může vypovídat o určitém efektu aminoskupiny na zvýšení cytotoxicity.



Graf 3: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu **MoNDM2** (A) a **MoNDE2** (B)

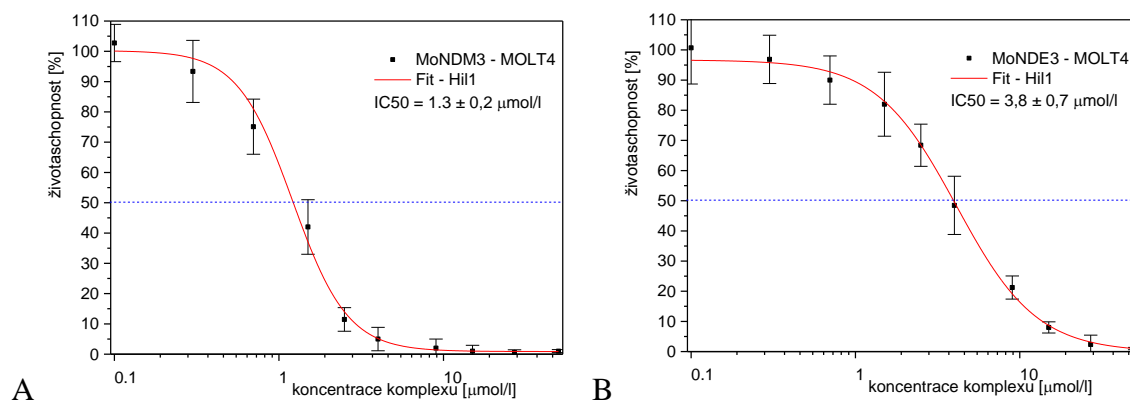
2.4.4 Komplexy obsahující 4,7-dimethyl-1,10-fenantrolin

Třetím z ligandů je 4,7-dimethyl-1,10-fenantrolin (Obrázek 16), který má na uhlících číslo 4 a 7 navázanou methylovou skupinu. Methylové skupiny mají hydrofobní charakter, který může ovlivnit chování komplexu v buňce a také díky kladnému indukčnímu efektu zvyšují elektronovou hustotu v cyklické struktuře fenantrolinu. Tyto a další vlastnosti methylových skupin mohou způsobovat lepší interakce komplexu s biomolekulami, převážně s proteiny. [99]



Obrázek 14: 4,9-dimethyl-1,10-fenantrolin (**MoNDEM3**, **MoNDE3**)

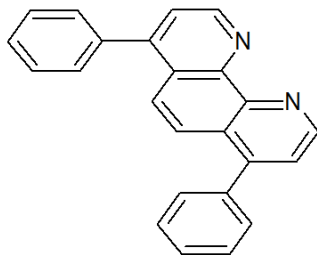
Komplex **MoNDM3** (Graf 4, A) s methyly v pozici 4 a 7 na fenantrolinu měl hodnotu IC_{50} $1,3 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$. Komplex **MoNDE3** (Graf 4, B), měl hodnotu IC_{50} $3,8 \pm 0,7 \mu\text{mol/l}$. O něco více účinný je tedy komplex s methylovaným kvartérním dusíkem, nicméně rozdíl v cytotoxicitě není příliš významný. Účinnost komplexů je srovnatelná s komplexy **MoNDM2** a **MoNDE2**, takže substituce methylovými skupinami na fenantrolinu má podobný účinek jako substituce skupinou aminovou.



Graf 4: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu **MoNDM3** (A) a **MoNDE3** (B)

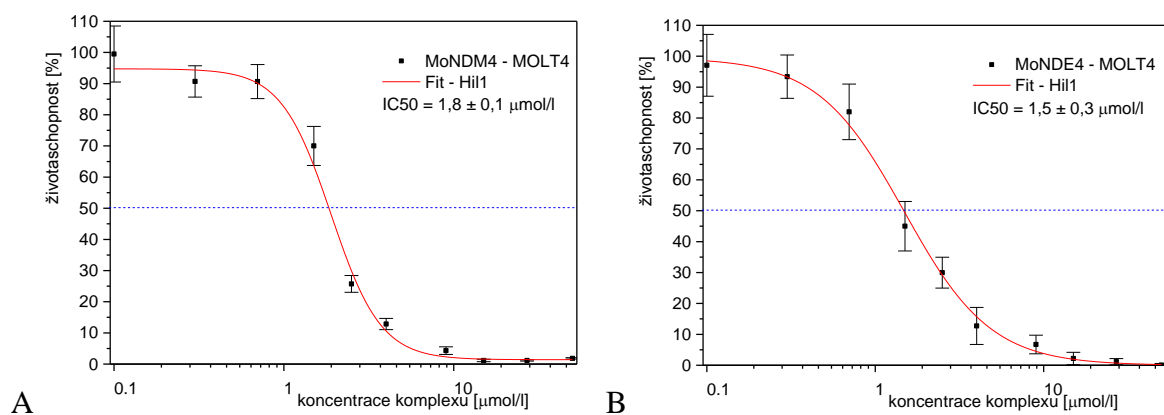
2.4.5 Komplexy obsahující 4,7-difenyl-1,10-fenantrolin

Posledním ligandem je 4,7-difenyl-1,10-fenantrolin (Obrázek 17), který má na uhlíku 4 a 7 navázaný fenyl. Fenylové skupiny, stejně jako methyl, vykazují hydrofobní interakce a mají povahu kyseliny. Díky kladnému mezomernímu efektu opět zvyšují elektronovou hustotu fenantrolinu. [100]



Obrázek 15: 4,7-difeyl-1,10-fenantrolin (**MoNDM4**, **MoNDE4**)

Komplexy **MoNDEM4** (Graf 5, A) a **MoNDE4** (Graf 5, B) s fenylovými skupinami navázanými v pozici 4 a 7, měly hodnoty IC_{50} $1,8 \pm 0,1 \mu\text{mol/l}$ a $1,5 \pm 0,3 \mu\text{mol/l}$. Stejně jako u předchozích komplexů, v cytotoxické aktivitě nehrají roli skupiny na kvartérním dusíku. Nicméně oba komplexy jsou účinnější díky fenylovým skupinám než samotný fenantrolin, srovnatelný s komplexy s aminovou a dvěma methylovými skupinami, a mnohem účinnější než výchozí komplexy bez ligandů.



Graf 5: Závislost počtu živých buněk na koncentraci komplexu **MoNDM4** (A) a **MoNDE4** (B)

3 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo seznámit se s novými potenciálně farmaceuticky účinnými komplexy přechodných kovů, stanovit cytotoxickou aktivitu nově syntetizovaných komplexů molybdenu a osvojit si práci s buněčnou linií MOLT-4, buněk akutní lymfoblastické leukémie.

V teoretické části byl nejprve popsán vznik a vývoj nádorových onemocnění včetně akutní lymfoblastické leukémie, jež úzce souvisí se zadáním této bakalářské práce. Dále byly shrnuty účinky sloučenin přechodných kovů na nádorové buňky se zaměřením na doposud známé cytostaticky aktivní komplexy molybdenu.

Experimentální část byla zaměřená na stanovení cytotoxické aktivity deseti monocyklopentadienylových komplexů molybdenu, které byly rozděleny do dvou skupin podle funkční skupiny navázané na kvartérním dusíku. Získané výsledky však ukázaly, že rozdílná funkční skupina na kvartérním dusíku nemá na změnu cytostatických účinků vliv. Naopak bylo jednoznačně prokázáno, že přítomnost N,N-chelátového ligandu vede ke zvýšení cytostatické aktivity. Komplexy, které neobsahovaly chelátový ligand nebyly ve sledovaném rozmezí koncentrací účinné. Naopak hodnoty IC_{50} komplexů s chelátovými ligandy se pohybovaly v intervalu od 1,3 $\mu\text{mol/l}$ do 10,3 $\mu\text{mol/l}$, pro komplexy **MoNDM(1-4)** a od 1,5 $\mu\text{mol/l}$ do 6,3 $\mu\text{mol/l}$, pro komplexy **MoNDE(1-4)**. Nejúčinnější byly sloučeniny obsahující 4,7-difenyl-1,10-fenanthrolin, **MoNDEM4** ($IC_{50} = 1,8 \pm 0,1 \mu\text{mol/l}$) a **MoNDE4** ($IC_{50} = 1,5 \pm 0,3 \mu\text{mol/l}$)

Hodnoty IC_{50} všech komplexů s N,N-chelátovými ligandy byly také nižší v porovnání s dosud nejpoužívanějším cytostatikem obsahující přechodný kov, *cis*-platiny, u které byly hodnoty IC_{50} , zkoumané na buněčné linii MOLT-4, $15,8 \pm 1,9 \mu\text{mol/l}$ [94].

Ze získaných výsledků tedy vyplývá, že se jedná o perspektivní sloučeniny s potenciálním využitím jako nová cytostatika. Další výzkum bude zaměřen na stanovení cytostatické aktivity komplexů na jiných buněčných liniích, a také získání dalších informací o metabolismu a mechanismu účinku v nádorových buňkách.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR: *Novotvary* 2016 [online]. [cit. 2019-05-29]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/publikace/novotvary-2016>
2. National cancer institute: *Types of cancer tretment* 2018 [online]. [cit. 2019-05-29]. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>
3. SADLER, P. J.; GUO, Zijian: Metal complexes in medicine. Design and mechanism of action. *Pure and Applied Chemistry*. 1998, **70** (4), s. 863-871. DOI: 10.1351/pac/199870040863.
4. DABROWIAK, James C.: *Metals in medicine*. Hoboken: Wiley. 2009, s 115-125. ISBN 978-0-470-68196-1.
5. GIELEN, M.; TIEKINK, Edward R. T.: *Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine*. 2. vyd. Hoboken, N.J.: Wiley. 2005, s. 258-271. ISBN isbn:0-470-86403-6.
6. MAČÁK, J.; MAČÁKOVÁ J.: *Patologie*. 3. vyd. Praha: Grada publishing. 2004, s. 30-45. ISBN 80-247-0785-3.
7. LEJEUNE, Emma; LINDER, Christian; BLASI, Thomas; FILBY, Andrew; et al.: Modeling tumor growth with peridynamics. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*. 2017, **16** (4), s. 1141-1157. DOI: 10.1007/s10237-017-0876-8.
8. GOLDAR, Samira; KHANIANI, Mahmoud Shekari; DERAKHSHAN, Sima Mansoori; BARADARAN, Behzad: Molecular Mechanisms of Apoptosis and Roles in Cancer Development and Treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2015, **16** (6), s. 2129-2144. ISSN 1513-7368
9. MØLLER, P; WILS, R. S; JENSEN, D. M; ANDERSEN, M. H. G; et al.: Telomere dynamics and cellular senescence: an emerging field in environmental and occupational toxicology. *Critical Reviews in Toxicology*. 2018, **48** (9), s. 761-788. ISSN 1040-8444
10. GHOSH, Dibakar; KHAJANCHI, Subhas; MANGIAROTTI, Sylvain; DENIS, Fabrice; et al.: How tumor growth can be influenced by delayed interactions between cancer cells and the microenvironment. *Biosystems*. 2017, **158** (4), s. 17-30. ISSN 03032647.
11. WANG, Li-Hui; WU, Chun-Fu; RAJASEKARAN, Nirmal; SHINYOUNG Kee: Loss of Tumor Suppressor Gene Function in Human Cancer: An Overview. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2019, **51** (6), s. 264-269. ISSN 1015-8987
12. PAVLOVSKY, Carolina; CHAN, Onyee; TALATI, Chetasi; PINILLA-IBARZ, Javier: Ponatinib in the treatment of chronic myeloid leukemia and philadelphia chromosome

- positive acute lymphoblastic leukemia. *Future Oncology*. 2019, **15** (3), s. 257-269. ISSN 1479-6694.
13. PENTIMALLI, Francesca; GRELLI, Sandro; DI DANIELE, Nicola; MELINO, Gerry; et al.: Cell death pathologies: targeting death pathways and the immune system for cancer therapy. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2019, **51** (6), s. 256-269. ISSN 1466-4879.
 14. DAS, S. K; MENEZES, Mitchell E; BHATIA, Shilpa; WANG, Xiang-Yang; et al.: Gene Therapies for Cancer. *Journal of Cellular Physiology*. Strategies, Challenges and Successes. 2015, **230** (2), s. 259-271. ISSN 00219541.
 15. MANOOCHEHRI-KHOSHINANI, Hamed; AFSHAR, Saeid; NAJAFI, Rezvan: Hypoxia: A Double-Edged Sword in Cancer Therapy. *Cancer Investigation*. 2016, **34** (10), s. 536-545. ISSN 0735-7907.
 16. ROSYPAL, Stanislav: *Úvod do molekulární biologie: Díl I. Molekulární biologie buňky*. 4. inovované vyd. Brno: prof. RNDr. Stanislav Rosypal, DrSc. 2006, s. 158-213. ISBN 80-902562-5-2.
 17. SLABÝ, Ondřej: *Molekulární medicína*. Praha: Galén. 2005, s. 98-150. ISBN 978-80-7492-121-6
 18. ARBER, D. A; ORAZI, A; HASSERJIAN, R; et al.: The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016, **127** (20), s. 239-240. ISSN 0006-4971.
 19. ROBOZ, Gail J: Current treatment of acute myeloid leukemia. *Current Opinion in Oncology*. 2012, **24** (6), s 711-719. ISSN 1040-8746.
 20. LENER, Jaroslav; BÍBR, Bedřich: Biliary excretion and tissue distribution of penta- and hexavalent molybdenum in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1979, **51** (2), s. 259-263. ISSN 0041008X.
 21. NILSSON, Kenneth; PONTÉN, Jan: Classification and biological nature of established human hematopoietic cell lines. *International Journal of Cancer*. 1975, **15** (2), s. 321-341 ISSN 00207136.
 22. ŠEBESTOVÁ, Lucie; HAVELEK, Radim; ŘEZÁČOVÁ, Martina; HONZÍČEK, Jan; et al.: Study of antitumor effect of selected vanadium and molybdenum organometallic complexes in human leukemic T-cells. *Chemico-Biological Interactions*. 2015, **16** (242), s. 61-70. DOI: 10.1016/j.cbi.2015.09.017.
 23. GASSER, Gilles; OTT, Ingo; METZLER-NOLTE, Nils: Organometallic Anticancer Compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2011, **54** (1), s. 3-25. ISSN 0022-2623.

24. VYSKOČIL, Adolf; VIAU, Claude: Assessment of molybdenum toxicity in humans. *Jurnal of applied toxicology*. 1999, **3** (13), s. 185-192.
25. SALZER, A: Nomenclature of Organometallic Compounds of the Transition Elements IUPAC Recommendations. *Pure and Applied Chemistry*. 1999, **71** (8), s. 155-158. ISBN 0-85404-438-8.
26. WHITEKER, Gregory T; COBLEY, Christopher J: Applications of Rhodium-Catalyzed Hydroformylation in the Pharmaceutical, Agrochemical, and Fragrance Industries. *Organometallics as Catalysts in the Fine Chemical Industry*, 2. vyd. Berlin (Heidelberg): Springer Berlin Heidelberg. 2012, s. 35-46. Topics in Organometallic Chemistry. ISBN 978-3-642-32832-9.
27. KITANOVIC, Igor; CAN, Suzan; ALBORZINIA, Hame: A Deadly Organometallic Luminescent Probe: Anticancer Activity of a Re I Bisquinoline Complex. *Chemistry-A European Journal*. 2014, **20** (9), s. 2496-2507. ISSN 09476539.
28. HARTINGER, Christian G; DYSON, Paul J: Bioorganometallic chemistry-from teaching paradigms to medicinal applications. *Chem. Soc. Rev.* 2009, **38** (2), s. 391-401. ISSN 0306-0012.
29. JAOUEN, Gérard; METZLER-NOLTE, N.; ALBERTO, R.: *Medicinal organometallic chemistry*. 2. New York: Springer-Verlag 2010. Topics in Organometallic Chemistry. s. 195-217. ISBN: 978-3-642-13185-1.
30. MARTINS, Pedro; MARQUES, Mara; COITO, Lidia; POMBEIRO, Armando; et al.: Organometallic Compounds in Cancer Therapy: Past Lessons and Future Directions *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2014, **14** (9), s. 1199-1212. ISSN 18715206
31. MOLLOY, Kieran C: *Group theory for chemists: fundamental theory and applications*. 2. vyd. Oxford: WP, Woodhead Publishing. 2011, s. 213-258. ISBN 978-085-7092-403.
32. DASARI, Shaloam; TCHOUNWOU, Paul B: Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*. 2014, **740** (1), s. 364-378. ISSN 00142999
33. NDAGI, Umar; MHLONGO, Ndumisoa; SOLIMAN, Mahmoud: Metal complexes in cancer therapy – an update from drug design perspective. *Drug Design, Development and Therapy*. 2017, **11** (1), s. 599-616. ISSN 1177-8881.
34. ALLARDYCE, Claire S; DYSON, Paul J: Metal-based drugs that break the rules. *Dalton Transactions*. 2016, **45** (8), s. 3201-3209. ISSN 1477-9226.

35. OLSZEWSKI, Ulrike; CLAFFEY, James; HOGAN, Megan; TACKE, Matthias; et al.: Gerhard. Anticancer activity and mode of action of titanocene C. *Investigational New Drugs*. 2011, **29** (4), s. 607-614. ISSN 0167-6997.
36. KHALID, Huma; HANIF, Muhammad; HASHMI, Muhammad; MAHMOOD, Tariq; et al.: Copper Complexes of Bioactive Ligands with Superoxide Dismutase Activity. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2013, **13**(13), s. 1944-1956. ISSN 13895575.
37. LIAN, Wen-Jing; WANG, Xin-Tian; XIE, Cheng-Zhi; TIAN, He; et al.: Mixed-ligand copper (II) Schiff base complexes: the role of the co-ligand in DNA binding, DNA cleavage, protein binding and cytotoxicity. *Dalton Transactions*. 2016, **45** (22), s. 9073-9087. ISSN 1477-9226.
38. ZOU, Taotao; LUM, Ching Tung; LOK, Chun-Nam; ZHANG, Jing-Jing; et al.: Chemical biology of anticancer gold (III) and gold (I) complexes: the role of the co-ligand in DNA binding, DNA cleavage, protein binding and cytotoxicity. *Chemical Society Reviews*. 2015, **44** (24), s. 8786-8801. ISSN 0306-0012.
39. ELIE, Benelita T.; FERNÁNDEZ-GALLARDO, Jacob; CURADO, Natalia; CORNEJO, Mike A.; et al.: Bimetallic titanocene-gold phosphane complexes inhibit invasion, metastasis, and angiogenesis-associated signaling molecules in renal cancer: the role of the co-ligand in DNA binding, DNA cleavage, protein binding and cytotoxicity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019, **161** (24), s. 310-322. ISSN 02235234.
40. ALI, Korany A; ABD-ELZAHER, Mokhles M.; MAHMOUD, Khaled; CORNEJO, Mike A.; et al.: Synthesis and Anticancer Properties of Silver(I) Complexes Containing 2,6-Bis(substituted)pyridine Derivatives: the role of the co-ligand in DNA binding, DNA cleavage, protein binding and cytotoxicity. *International Journal of Medicinal Chemistry*. 2013, **2013**(24), s 1-7. ISSN 2090-2069.
41. JUNGWIRTH, Ute; KOWOL, Christian R.; KEPPLER, Bernhard K.; HARTINGER, Christian G.; et al.: Anticancer Activity of Metal Complexes: Involvement of Redox Processes. *International Journal of Medicinal Chemistry*. 2011, **15** (4), s. 1085-1127. ISSN 1523-0864.
42. IMO. *International Molybdenum Association. Molybdenum chemistry and uses: Overview of molybdenum chemistry*. [online]. London, ©2008, aktualizace 12.11. 2018 [cit. 2019-01-12]. Dostupné z <https://www.imoa.info/index.php>
43. LEPORA, Nathan: *Elements: Molybdenum*. 3. New York: Marshall Cavendish Benchmark. 2007. s. 25-96. ISBN 978-0-7614-2201-3.

44. VIGNE, Jonathan; EMERY, Stéphane; LEMARIE, Nicolas; et al.: Fractionated elution of ⁹⁹Mo/^{99m}Tc generators using calibrated vials. *Nuclear Medicine Communications*. 2018, **39** (9), s. 865-869. ISSN 0143-3636.
45. World Health Organization. *International Atomic Energy Agency & Food and Agriculture Organization of the United Nations. Trace elements in human nutrition and health*. [online]. Geneva. 1996, aktualizace 3.4. 2017, [cit. 2019-01-12]. Dostupné z <http://www.who.int/iris/handle/10665/37931>
46. MOURA, J. J. G.; BERNHARDT, Paul V; MAIA, Luísa B; GONZALEZ, Pablo J.: Molybdenum and tungsten enzymes: from biology to chemistry and back. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2015, **20** (2), s. 181-182. ISSN 0949-8257.
47. MENDEL, Ralf R.: Molybdenum: biological activity and metabolism. *Dalton Transactions*. 2005, **33** (21). s. 55-98. ISSN 1477-9226.
48. HALMI, M. I. E.; ZUHAINIS, S. W.; YUSOF, M. T.; SHAHARUDDIN, N. A.; et al.: Hexavalent Molybdenum Reduction to Mo-Blue by a Sodium-Dodecyl-Sulfate-Degrading *Klebsiella oxytoca* Strain DRY14. *BioMed Research International*. 2013 **2013** (1), s. 1-8. ISSN 2314-6133.
49. LIM, H. K.; SYED, M. A.; SHUKOR, M. Y.: Reduction of molybdate to molybdenum blue by *Klebsiella* sp. strain hkeem. *Journal of Basic Microbiology*. 2012, **52** (3), s. 296-305. ISSN 0233111X.
50. JENNETTE, K W.: The role of metals in carcinogenesis: biochemistry and metabolism. *Environmental Health Perspectives*. 1981, **40** (1), s. 233-252, ISSN 0091-6765.
51. LEVINA, Aviva; CRANS, Debbie C.; LAY, Peter A.: Speciation of metal drugs, supplements and toxins in media and bodily fluids controls in vitro activities. *Coordination Chemistry Reviews*. 2017, **352** (5), s. 473-498. ISSN 00108545.
52. NAITO, Taki; SACHURONGGUI, G; UEKI, Masayoshi; MAEDA, Isamu: Light-enhanced bioaccumulation of molybdenum by nitrogen-deprived recombinant anoxygenic photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2015, **80** (2), s. 407-413. ISSN 0916-8451.
53. VELAYUTHAM, Murugesan; HEMANN, Craig F; CARDOUNEL, Arturo J.; ZWEIER, Jay L.: Sulfite oxidase activity of cytochrome c: Role of hydrogen peroxide. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2016, **5** (13), s. 96-104. ISSN 24055808.

54. KUNDU, Tapan K; VELAYUTHAM, Murugesan; ZWEIER, Jay L.: Aldehyde Oxidase Functions as a Superoxide Generating NADH Oxidase: An Important Redox Regulated Pathway of Cellular Oxygen Radical Formation. *Biochemistry*. 2012, **51** (13), s. 2930-2939. ISSN 0006-2960.
55. OTT, Gudrun; HAVEMEYER, Antje; CLEMENT, Bernd.: The mammalian molybdenum enzymes of mARC. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2015, **20** (2), s. 265-275. ISSN 0949-8257.
56. ZAKSAS, Natalia P.; NEVINSKY, Georgy A.: Minor and Trace Elements in Whole Blood, Tissues, Proteins and Immunoglobulins of Mammals: Trace Elements-Human Health and Environment. *InTech*, 2018, **15** (8). DOI: 10.5772/intechopen.75939.
57. HAYWOOD, S.; DINCER, Z.; JASANI, B.; LOUGHRAN, M. J.: Molybdenum-associated Pituitary Endocrinopathy in Sheep Treated with Ammonium Tetrathiomolybdate. *Journal of Comparative Pathology*. 2004, **130** (1), s. 21-31. ISSN 00219975.
58. ANKE, M.; HOLZINGER, S.; SEIFERT, M.; MÜLLER, R.; et al.: The biological and toxicological importance of molybdenum in the environment and in the nutrition of plants, animals and man: Part Iv: the Molybdenum Intake of Adults with Mixed and Vegetarian Diets in Germany and Mexico. *Acta Alimentaria*. 2010, **39** (1), s. 1-11. ISSN 0139-3006.
59. WILLIS, Caroline L.; CUMMINGS, John H.; NEALE Graham; GIBSON, Glenn R.: Nutritional Aspects of Dissimilatory Sulfate Reduction in the Human Large Intestine. *Current Microbiology*. 1997, **35** (5), s. 294-298. ISSN 0343-8651.
60. NOVOTNY, Janet A.; PETERSON, Catherine A.: Molybdenum. *Advances in Nutrition*. American Society for Nutrition. 2018, **9** (3), s. 272-273. ISSN 2161-8313.
61. BOURKE, Christopher A.: Astrocyte dysfunction following molybdenum-associated purine loading could initiate Parkinson's disease with dementia. *Npj Parkinson's Disease*. 2018, **4** (1). s. 1-11. ISSN 2373-8057.
62. DAI, Xueyan; XING Chenghong; CAO, Huabin: Alterations of mitochondrial antioxidant indexes and apoptosis in duck livers caused by Molybdenum or/and cadmium. *Chemosphere*. 2018, **193** (5), s. 574-580. ISSN 00456535.
63. DÖRING, Alexander; SCHULZKE, Carola: Tungsten's redox potential is more temperature sensitive than that of molybdenum. *Dalton Transactions*. 2010, **39** (24), s. 56-68. ISSN 1477-9226.

64. SCHWARZ, Guenter; BELAIDI, Abdel A.: Molybdenum in Human Health and Disease: Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases. 1. Dordrecht: Springer Netherlands. 2013, s. 415-450. ISBN 978-94-007-7499-5.
65. COTTON, F. Albert: *Advanced inorganic chemistry: a comprehensive*. 4. New York: Wiley. 1980. s. 728-770. ISBN 04-710-2775-8.
66. DICK, A. T.; DEWEY, D. W.; GAWTHORNE, J. M.: Thiomolybdates and the copper–molybdenum–sulphur interaction in ruminant nutrition. *The Journal of Agricultural Science*. 1975, **85** (3), s. 251-280. ISSN 0021-8596.
67. TEJADA-JIMENEZ, M.; GALVAN, A.; FERNANDEZ, E.: Algae and humans share a molybdate transporter. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011, **108** (16), s. 6420-6425. ISSN 0027-8424.
68. WAERN, Jenny B.; DILLON, Carolyn T.; HARDING, Margaret M.: Organometallic Anticancer Agents: Cellular Uptake and Cytotoxicity Studies on Thiol Derivatives of the Antitumor Agent Molybdocene Dichloride. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2005, **48** (6), s. 2093-2099. ISSN 0022-2623.
69. FORRER, R.; GAUTSCHI, K.; LUTZ, H.: Simultaneous Measurement of the Trace Elements Al, As, B, Be, Cd, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Rb, Se, Sr, and Zn in Human Serum and Their Reference Ranges by ICP-MS. *Biological Trace Element Research*. 2001, **80** (1), s. 77-93. ISSN 0163-4984.
70. ROVENKO, B.M.; PERKHULYN, N.V.; LUSHCHAK, O.V.: Molybdate partly mimics insulin-promoted metabolic effects in *Drosophila melanogaster*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2014, **5** (165), s. 76–82. ISSN 15320456.
71. ASMAT, Ullah; ABAD, Khana; ISMAIL, Khan: Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2016, **24** (5), s. 547-553 ISSN 13190164.
72. PERKHULYN, Natalia V.; ROVENKO Bohdana M.; LUSHCHAK, Oleh V.; STOREY, Janet M.; et al.: Volodymyr I. Exposure to sodium molybdate results in mild oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. *Redox Report*. 2017, **22** (3), s. 137-146. ISSN 1351-0002
73. SAJI, Viswanathan S.; LOPATIN, Sergey I. *Molybdenum and its compounds*. New York (Hauppauge): Nova Science Publishers. 2014, s. 20-73. ISBN 9781633212107.
74. NAVRÁTILOVÁ, Jarmila.; HANKEOVÁ, Tereza.; BENEŠ, Petr.; ŠMARDA, Jan.: Low-Glucose Conditions of Tumor Microenvironment Enhance Cytotoxicity of

- Tetrathiomolybdate to Neuroblastoma Cells. *Nutrition and Cancer*. 2013. **65** (5), s. 702-710. ISSN 0163-5581.
75. NUNES, Giovana G.; BONATTO, Ana C.; DE ALBUQUERQUE, Carla G.: Synthesis, characterization and chemoprotective activity of polyoxovanadates against DNA alkylation. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2012, **108** (2), s. 36-46. ISSN 01620134.
 76. WERNER, E.G.; WANG, Xiahong.; SCHRODER, Heinz C.: Biomedical inorganic polymers: bioactivity and applications of natural and synthetic polymeric inorganic molecules. *Progress in molecular and subcellular biology*. 2013, **54** (3), s. 59-83. ISSN 978-3-642-41004-8.
 77. OGATA, A.; YANAGIE H.; ISHIKAWA E.: Antitumour effect of polyoxomolybdates: induction of apoptotic cell death and autophagy in in vitro and in vivo models. *British Journal of Cancer*. 2008, **98** (2), s. 399-409. ISSN 0007-0920.
 78. HERNANDEZ, Lorraine D.; PYPAERT, Marc.; FLAVELL, Richard A.; GALÁN, Jorge E.: A Salmonella protein causes macrophage cell death by inducing autophagy. *The Journal of Cell Biology*. 2003, **163** (5), s. 1123-1131. ISSN 0021-9525.
 79. ZHU, Xianbing.; JI, Xiaoyuan.; KONG, Na.: Intracellular Mechanistic Understanding of 2D MoS₂ Nanosheets for Anti-Exocytosis-Enhanced Synergistic Cancer Therapy. *ACS Nano*. 2018. **12** (3), s. 292-293. ISSN 1936-0851.
 80. LI, Jinping.; ELBERG, Gerard; GEFEL, Dov; SHECHTER, Yoram: Permolymolybdate and Pertungstate-Potent Stimulators of Insulin Effects in Rat Adipocytes: Mechanism of Action. *Biochemistry*. 2002, **34** (18), s. 6218-6225. ISSN 0006-2960.
 81. PROUT, K.; CAMERON, T. S.; FORDER, R. A.; CRITCHLEY, S. R.; et al.: The crystal and molecular structures of bent bis- π -cyclopentadienyl-metal complexes. *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*. 2003, **30** (10), s. 2290-2304. ISSN 05677408.
 82. KUO, Louis Y.; KANATZIDIS, Mercouri G.; SABAT, Michal.; TIPTON, Andrew L.; et al.: Tobin J. Metallocene antitumor agents. Solution and solid-state molybdenocene coordination chemistry of DNA constituents. *Journal of the American Chemical Society*. 1991, **113** (24), s. 9027-9045. ISSN 0002-7863.
 83. WAERN, Jenny B.; HARDING, Margaret M.: Coordination Chemistry of the Antitumor Metallocene Molybdocene Dichloride with Biological Ligands. *Inorganic Chemistry*. 2004, **43** (1), s. 206-213. ISSN 0020-1669.

84. KUO, L. Y.; LIU, A. H.; MARKS, T. J.: Metallocene interactions with DNA and DNA-processing enzymes. *Metal Ions in Biological Systems*. 1996, **5** (33), s. 53-85. ISSN 0161-5149.
85. MOKDSI, G.; HARDING, M.M.: Inhibition of human topoisomerase II by the antitumor metallocenes. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2001, **83** (2-3), s. 205-9. ISSN 01620134.
86. WAERN, Jenny B.; DILLON, Carolyn T.; HARDING, Margaret M.: Organometallic Anticancer Agents: Cellular Uptake and Cytotoxicity Studies on Thiol Derivatives of the Antitumor Agent Molybdocene Dichloride. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2005, **48** (6), s. 2093-2099. ISSN 0022-2623.
87. CAMPBELL, Kate S.; FOSTER, Amalanie J.; DILLON, Carolyn T.; HARDING, Margaret M.: Genotoxicity and transmission electron microscopy studies of molybdocene dichloride. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2006, **100** (7), s. 1194-1198. ISSN 01620134.
88. ACEVEDO, Débora; MATTA Jaime; MELÉNDEZ, Enrique: Synthesis, characterization and cytotoxic studies of water soluble $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)_2\text{Mo}(\text{thionucleobase}/\text{thionucleoside})]\text{Cl}$ complexes in breast and colon cancer cell lines. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2011, **696** (5), s. 1032-1037. ISSN 0022328X.
89. TOP, Siden; THIBAudeau, Céline; VESSIÈRES, Anne: Synthesis and Structure Activity Relationship of Organometallic Steroidal Androgen Derivatives. *Organometallics*. 2009, **28** (5), s. 1414-1424. ISSN 0276-7333.
90. MELÉNDEZ, Enrique: Bioorganometallic chemistry of molybdenocene dichloride and its derivatives. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2012, **706-707** (55), s. 4-12. ISSN 0022328X.
91. JOHNSON, Adam R.; DAVIS, William M.; CUMMINS, Christopher C.; SERRON, Scafford; et al.: Four-Coordinate Molybdenum Chalcogenide Complexes Relevant to Nitrous Oxide N–N Bond Cleavage by Three-Coordinate Molybdenum(III): Synthesis, Characterization, Reactivity, and Thermochemistry. *Journal of the American Chemical Society*. 1998, **120** (9), s. 2071-2085. ISSN 0002-7863.
92. PEREIRA, Cláudia C. L.; DIOGO, Cátia V.; BURGEIRO, Ana: Complex Formation between Heptakis(2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin and Cyclopentadienyl Molybdenum(II) Dicarbonyl Complexes: Structural Studies and Cytotoxicity Evaluations. *Organometallics*. 2008, **27** (19), s. 4948-4956. ISSN 0276-7333.

93. MRÓZEK, Ondřej; ŠEBESTOVÁ, Lucie; VINKLÁREK, Jaromír; ŘEZÁČOVÁ, Martina; et al.: Highly Water-Soluble Cyclopentadienyl and Indenyl Molybdenum(II) Complexes - Second Generation of Molybdenum-Based Cytotoxic Agents. *European Journal of Inorganic Chemistry* 2016, **2016** (4), s. 519-529. ISSN 14341948
94. HONZÍČKOVÁ, Iva; VINKLÁREK, Jaromír; RŮŽIČKOVÁ, Zdeňka; ŘEZÁČOVÁ, Martina; et al.: Modified cyclopentadienyl molybdenum compounds with enhanced cytotoxic activity towards MOLT-4 leukaemia cells. *Applied Organometallic Chemistry*. 2017, **31** (11), s. 311-325. ISSN 02682605.
95. TOPINKA, Jan; VOJTÍŠEK, Michal; GRUNTORÁD, Pavel: Hodnocení buněčné proliferace, viability a cytotoxicity, kolorimetrickou metodou WST-1. *MEDETOX* [online]. Technická univerzita v Liberci: Life. 2019, [cit. 2019-03-22]. Dostupné z: <http://www.medetox.cz/metody/vyhodnocovani-toxicity/testy-cytotoxicity/>
96. SCHOFFERS, Elke: Reinventing Phenanthroline Ligands—Chiral Derivatives for Asymmetric Catalysis. *European Journal of Organic Chemistry*. 2003, **5** (7), s. 1145-1180. ISSN 1434193X.
97. DEEGAN, Carol; MCCANN, Malachy; DEVEREUX, Michael; COYLE, Barry; et al.: In vitro cancer chemotherapeutic activity of 1,10-phenanthroline (phen), $[\text{Ag}_2(\text{phen})_3(\text{mal})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Cu}(\text{phen})_2(\text{mal})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $[\text{Mn}(\text{phen})_2(\text{mal})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (malH₂=malonic acid) using human cancer cells. *Cancer Letters*. 2007, **247** (2), s. 224-233. ISSN 03043835.
98. NYASULU, W.M.; MOTTOLA, A.: Electrochemical behavior of 5-amino-1,10-phenanthroline and oxidative electropolymerization of tris[5-amino-1,10-phenanthroline]iron(II). *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*. 1988, **239** (1-2), s. 175-186. ISSN 00220728.
99. WALLACE, Lynne; WOODS, Clifton; RILLEMA, D.: Structure and Luminescence Properties of $[\text{Re}(4,7\text{-dimethyl-1,10-phenanthroline})(\text{CO})_3\text{py}]^+$ in a Solid Matrix. *Inorganic Chemistry*. 1995, **34** (11), s. 2875-2882. ISSN 0020-1669.
100. ZAERA, Francisco: An Organometallic Guide to the Chemistry of Hydrocarbon Moieties on Transition Metal Surfaces. *Chemical Reviews*. 1995, **95** (8), s. 2651-2693. ISSN 0009-2665.

ÚDAJE PRO KNIHOVNICKOU DATABÁZI

Název práce	<i>In vitro</i> testování nových monocyklopentadienylmolybdenových derivátů na lidských leukemických buňkách MOLT-4
Autor práce	Lucie Šacherlová
Obor	Zdravotní laborant
Rok obhajoby	2019
Vedoucí práce	prof. Ing. Jaromír Vinklárek, Dr.
Anotace	Tato bakalářská práce se zabývá stanovením cytotoxické aktivity nově syntetizovaných monocyklopentadienylových sloučenin molybdenu na buněčné linii MOLT-4, buněk akutní lymfoblastické leukémie. Z výsledků vyplývá, že všechny komplexy s N,N-chelátovými ligandy vykazují značnou cytotoxickou aktivitu, nejvyšší pak komplexy s ligandem 4,7-difenyl-1,10-fenanthrolinem. Tyto komplexy jsou v porovnání s dosud nejpoužívanějším cytostatikem <i>cis</i> -DDP asi 10x účinnější.
Klíčová slova	Přechodné kovy, komplexy molybdenu, cytostatická aktivita, akutní lymfatická leukémie, MOLT-4.