

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra organické chemie



Kateřina Opravilová

**Syntéza selenadiazolů odvozených od 2,3-
dihydrochinolin-4-onu**

Bakalářská práce

Studijní obor:

Bioorganická chemie a chemická biologie

Vedoucí práce:

Mgr. Petra Jedináková

Olomouc 2016

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Petry Jedinákové. Veškerá použitá literatura je citována a její seznam je uveden na konci bakalářské práce.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

.....

Kateřina Opravilová

Velmi ráda bych poděkovala vedoucí své bakalářské práce, Mgr. Petře Jedinákové, za odborné vedení, trpělivost a cenné rady v průběhu celé bakalářské práce a též za pomoc při vyhodnocování MS a NMR spekter. Moje poděkování rovněž patří všem členům Katedry organické chemie PřF UP a všem členům Ústavu molekulární a translační medicíny, zejména Mgr. Soně Křupkové, Ph.D. za všestrannou pomoc v nepřítomnosti Mgr. Petry Jedinákové. Poděkování patří i mé rodině a přátelům za jejich trpělivost a podporu. Tato závěrečná práce vznikla za podpory projektu studentské grantové soutěže na UP s registračním číslem IGA_PrF_2015_007 a IGA-PrF-2016-020.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Autor: Kateřina Opravilová
Název práce: Syntéza selenadiazolů odvozených od 2,3-dihydrochinolin-4-onu
Typ práce: Bakalářská práce
Pracoviště: Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Vedoucí práce: Mgr. Petra Jedináková
Rok obhajoby: 2016

Abstrakt:

Deriváty 1,2,3-selenadiazolů patří v současné době k velice populárním a studovaným sloučeninám, a to zejména díky své zajímavé chemické reaktivitě a potenciální biologické aktivitě. Cílem předložené bakalářské práce byla příprava vybraných chinolino-1,2,3-selenadiazolů a dále testování biologické aktivity připravených sloučenin.

Teoretická část bakalářské práce je rozdělena do dvou dílčích částí. První část pojednává o možné přípravě 1,2,3-selenadiazolů. Druhá část je zaměřena na popis zajímavých biologických účinků různých derivátů 1,2,3-selenadiazolů.

Část bakalářské práce označená „Výsledky a diskuze“ je zaměřena na přípravu 1,2,3-selenadiazolů, jejichž příprava vychází z 2,3-dihydrochinolin-4-onů, které jsou nejprve převedeny na odpovídající semikarbazony, a ty jsou poté cyklizovány za vzniku příslušných 1,2,3-selenadiazolů. Celkem bylo izolováno šest nových derivátů 2,3-dihydrochinolin-4-semikarbazonů a čtyři deriváty chinolino-1,2,3-selenadiazolů. V závěru této kapitoly je popsána biologická aktivita všech izolovaných derivátů semikarbazonů a 1,2,3-selenadiazolů. U dvou chinolino-1,2,3-selenadiazolů pak byla zaznamenána významná antibakteriální aktivita *in vitro*.

Klíčová slova: 2,3-dihydrochinolin-4-on, semikarbazon, 1,2,3-selenadiazol, biologická aktivita
Počet stran: 63
Počet příloh: 0
Jazyk: Český

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

Author: Kateřina Opravilová
Title: The synthesis of selenadiazoles derived from 2,3-dihydroquinoline-4-on
Type of thesis: Bachelor's
Department: Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc
Supervisor: Mgr. Petra Jedináková
The year of presentation: 2016

Abstract:

Derivatives of 1,2,3-selenadiazoles are currently very popular and studied compounds especially due to their chemical reactivity and potential biological activity. The aim of this thesis was the preparation of selected quinoline-1,2,3-selenadiazoles and the testing of the biological activity of prepared compounds.

The theoretical part of this thesis is divided into two parts. The first part deals with the possible preparation methods of 1,2,3-selenadiazoles, while the second part focuses on the description of interesting biological effects of various derivatives of 1,2,3-selenadiazoles.

„Results and Discussion” chapter of presented thesis is focused on the preparation of 1,2,3-selenadiazoles which are synthesized from 2,3-dihydroquinoline-4-ones. 2,3-dihydroquinoline-4-ones are first converted to the corresponding semicarbazones and then cyclized to give the corresponding 1,2,3-selenadiazoles. In summary, six new derivatives of 2,3-dihydroquinoline-4-semicarbazones and four derivatives of 1,2,3-quinoline-1,2,3-selenadiazoles were isolated. All isolated semicarbazones and 1,2,3-selenadiazoles were tested on their biological activity which is described at the end of this chapter. Two 1,2,3-selenadiazole derivatives then exhibited significant antibacterial activity *in vitro*.

Keywords: 2,3-dihydroquinoline-4-on, semicarbazone, 1,2,3-selenadiazole, biological activity
Number of pages: 63
Number of appendixes: 0
Language: Czech

SEZNAM ZKRATEK

5-FU	5-Fluorouracil
Ac	Acetylová skupina
AcCN	Acetonitril
Ac ₂ O	Acetanhydrid
AcOH	Kyselina octová
AcOK	Octan draselný
AcONa	Octan sodný
BuLi	Butyllithium
CC ₅₀	Koncentrace látky potřebné pro redukci životaschopnosti infikovaných buněk o 50 %
Cu(OAc) ₂	Octan měďnatý
DCE	Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
diox	Dioxan
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EC ₅₀	Efektivní koncentrace, při které je pozorováno 50 % očekávaného efektu
EDC·HCl	<i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethylkarbodiimid hydrochlorid
Et	Ethylová skupina
EtOH	Ethanol
h	Zkratka pro označení hodin
HCT116	Buněčná linie skládající se z buněk lidského karcinomu tračníku
HELA	Buněčná linie skládající se z buněk lidského karcinomu děložního čípku
HEPG2	Buněčná linie skládající se z buněk lidského jaterního karcinomu
HIV	Virus lidské imunitní nedostatečnosti
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HRMS	Molekulová spektroskopie s vysokým rozlišením
HT-1080	Buněčná linie skládající se z buněk lidského maligního mezenchymálního nádoru (fibrosarkom)
IC ₅₀	Inhibice buněčného množení o 50 %

LC/MS	Kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
LD ₅₀	Střední smrtelná dávka
LD ₉₀	Dávka, při které zahyne 90 % jedinců
M	Molární (mol/dm ³), jednotka molární koncentrace
Me	Methylová skupina
MCF-7	Buněčná linie skládající se z buněk lidského prsního karcinomu
MeOH	Methanol
MG-22A	Buněčná linie skládající se z buněk myšího jaterního karcinomu
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
min	Zkratka pro označení minut
MRSA	Meticilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
MT-4	Buňky lidských T-lymfocytů
m/z	V hmotnostním spektru je to poměr hmota/náboj
N. D.	Nedoděláno
NIH 3T3	Buněčná linie skládající se z buněk myších embryonálních fibroblastů
NMR	Nukleární magnetická rezonance
NNRTIs	Nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy viru HIV
over night	Přes noc
Ph	Fenylová skupina
r. t.	Laboratorní teplota (room temperature)
S-180	Buněčná linie skládající se z buněk myšího plicního sarkomu
SD	Standardní odchylka
SI	Index selektivity (CC ₅₀ / EC ₅₀)
SKH·HCl	Semikarbazid hydrochlorid
TD ₅₀	Střední (50 %) toxická dávka
TfOH	Trifluoromethansulfonová kyselina
THF	Tetrahydrofuran
Tol	Toluen
VERO	Buněčná linie skládající se z buněk opičího ledvinového karcinomu
v/v	Poměr objem/objem
W	Watt (jednotka výkonu = P)
WI-38	Buněčná linie skládající se z buněk lidské plicní tkáně
Z/E	Geometrická izomerie, kdy (Z) = zusammen (ve stejné polorovině) a (E) = entgegen (v opačných polorovinách)

OBSAH

1. Úvod	10
2. Cíl práce.....	11
3. Teoretická část	12
3.1. Příprava 1,2,3-selenadiazolů.....	12
3.1.1. Příprava 1,2,3-selenadiazolů z vicinálních arylselenol diazoniových solí ...	12
3.1.2. Příprava 1,2,3-selenadiazolů z arylisoselenokyanátů a diazosloučenin	12
3.1.3. Příprava 1,2,3-selenadiazolů z hydrazonů a oxidu seleničitého nebo oxychloridu seleničitého	13
3.1.4. Příprava 1,2,3-selenadiazolů ze semikarbazonů a oxidu seleničitého	15
3.2. Biologické účinky	16
3.2.1. Antimikrobiální vlastnosti	16
3.2.1.1. Cykloalkeno- a benzo-1,2,3-selenadiazoly	16
3.2.1.2. Benzopyrano/naftopyrano-1,2,3-selenadiazoly	20
3.2.1.3. Aryl a heteroarylselenadiazoly	22
3.2.1.4. Další deriváty 1,2,3-selenadiazolů.....	26
3.2.2. Protinádorové vlastnosti	30
3.2.3. Antivirotické vlastnosti.....	34
3.2.4. Ostatní vlastnosti.....	35
4. Výsledky a diskuze.....	39
4.1. Příprava 2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onů.....	39
4.1.1. Příprava 2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onu a 6-methoxy-2,3-dihydrochinolin- 4(1H)-onu.....	39
4.1.2. Příprava 6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onu.....	41
4.1.3. Příprava <i>N</i> -alkyl-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onů	43
4.2. Příprava 1,2,3-selenadiazolů	45
4.2.1. Příprava semikarbazonů.....	46
4.2.2. Příprava 1,2,3-selenadiazolů.....	47
4.3. Biologická aktivita	51
5. Experimentální část	53
5. 1. Metody	53
5. 2. Příprava jednotlivých sloučenin	54

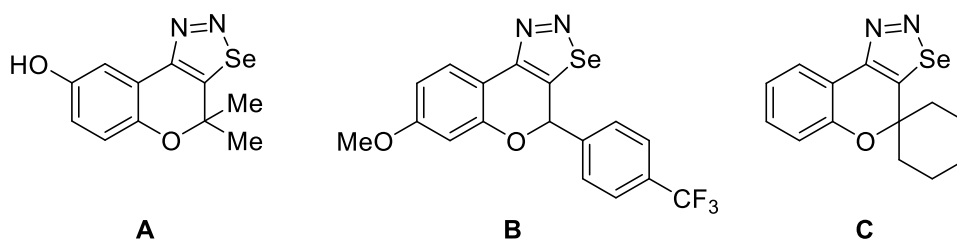
6. Závěr	60
7. Seznam použité literatury	62

1. ÚVOD

Organoseleničité sloučeniny patří k univerzálním a užitečným činidlům zejména díky svým unikátním reakčním vlastnostem.¹ Kromě toho jsou deriváty 1,2,3-selenadiazolů v posledních letech hojně studovány díky své potenciální biologické aktivitě. U řady 1,2,3-selenadiazolů byla prokázána cytotoxická² a antibakteriální³ aktivita. Kromě toho vykazují některé deriváty také antifungální³ a antivirotické účinky. Antivirotické účinky 1,2,3-selenadiazolů jsou zmiňovány zejména v souvislosti s infekcí HIV.⁴

1,2,3-selenadiazoly jsou také známé díky svým antioxidačním, antiamebíckým a antiaflatoxickým účinkům.⁵ Dále mohou být tyto heterocyklické sloučeniny, obsahující ve své struktuře selen, využity proti hubení hmyzu a plžů.⁵ Často opomíjenou, ale též velmi důležitou a zajímavou vlastností těchto sloučenin je jejich antituberkulotická aktivita proti *Mycobacterium tuberculosis*.⁵

Deriváty benzopyrano-1,2,3-selenadiazolů (Obrázek 1) patří k hojně studovaným sloučeninám vzhledem ke svým biologickým účinkům. Jednotlivé deriváty benzopyrano-1,2,3-selenadiazolů **A**, **B** a **C** se vyznačují svými zajímavými protinádorovými⁶ vlastnostmi vůči buněčným liniím některých lidských karcinomů, jsou však také účinné proti některým druhům bakterií⁷ a plísní⁷.

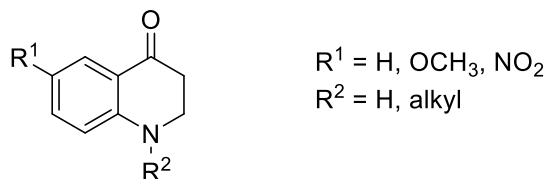


Obrázek 1: Struktura vybraných derivátů benzopyrano-1,2,3-selenadiazolů.

Dusíkatá analoga těchto sloučenin nebyla dosud v literatuře popsána. Kombinací chinolinu, který je součástí řady přírodních látek (např. chinin) a 1,2,3-selenadiazolu tak můžeme získat zajímavé sloučeniny jak z hlediska struktury, tak zejména z hlediska jejich potenciální biologické aktivity.

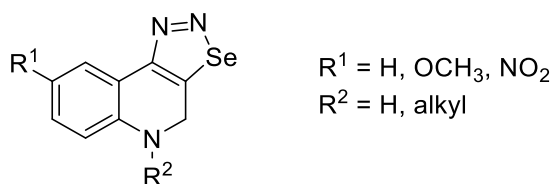
2. CÍL PRÁCE

Cílem předložené bakalářské práce byla primárně příprava odpovídajících derivátů 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onů (Obrázek 2), které byly substituovány na aromatickém jádře skupinami dodávajícími i odčerpávajícími elektrony. Další deriváty byly připraveny substitucí dusíkového atomu.



Obrázek 2: Struktura připravovaných 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onů.

Připravené 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-ony byly následně použity pro syntézu cílových 1,2,3-selenadiazol-[5,4-*c*]-chinolinů (Obrázek 3). Jednotlivé deriváty 1,2,3-selenadiazolů byly testovány na antibakteriální aktivitu *in vitro*.



Obrázek 3: Připravované 1,2,3-selenadiazoly.

3. TEORETICKÁ ČÁST

Teoretická část předložené bakalářské práce je rozdělena na dvě dílčí části. V první části jsou stručně shrnuty základní metody používané pro přípravu 1,2,3-selenadiazolů. Druhá část pojednává o dosud popsaných biologických účincích řady derivátů 1,2,3-selenadiazolů.

3.1. Příprava 1,2,3-selenadiazolů

3.1.1. Příprava 1,2,3-selenadiazolů z vicinálních arylselenol diazoniových solí

Tato metoda je prezentována níže uvedeným schématem 1 a poskytuje relativně vyhovující výtěžek (63 %). Podmínky pro průběh reakce jsou však poměrně komplikované (použití BuLi v argonu a v bezvodém THF, teplota $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, reakční doba trávající déle jak 12 hodin).⁸

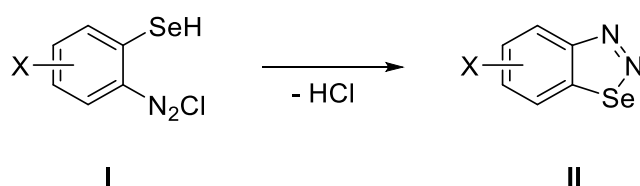


Schéma 1: Příprava 1,2,3-selenadiazolů z vicinálních arylselenol diazoniových solí.⁸

3.1.2. Příprava 1,2,3-selenadiazolů z arylisoselenokyanátů a diazosloučenin

Princip této metody přípravy 1,2,3-selenadiazolů je založen na adici diazomethanu na dvojnou vazbu mezi selenem a uhlíkem arylisoselenokyanátu **III**.⁹ V prvním kroku popisované reakce vzniká selenadiazolový derivát **IV**. Poté dochází k přesmyku vodíků z methylenové skupiny selenadiazolu na dusík iminoskupiny, přičemž vznikne derivát 1,2,3-selenadiazolu **V** (Schéma 2).⁹

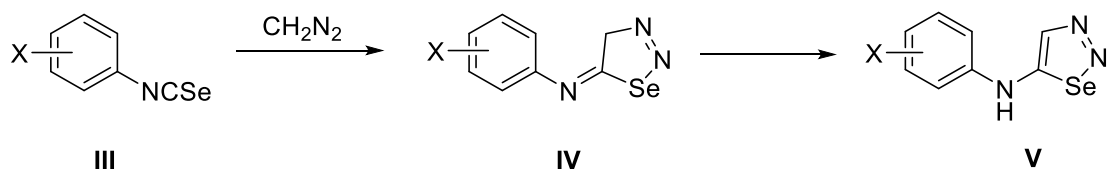


Schéma 2: Příprava 1,2,3-selenadiazolů z arylisoselenokyanátů a diazosloučenin.⁹

Pozdější modifikace tohoto postupu využívá reakce aroyl chloridu **VI** s isoselenokyanátem draselným a ethyl diazoacetátem (Schéma 3) z důvodu nahrazení explozivního a nebezpečného diazomethanu.⁸

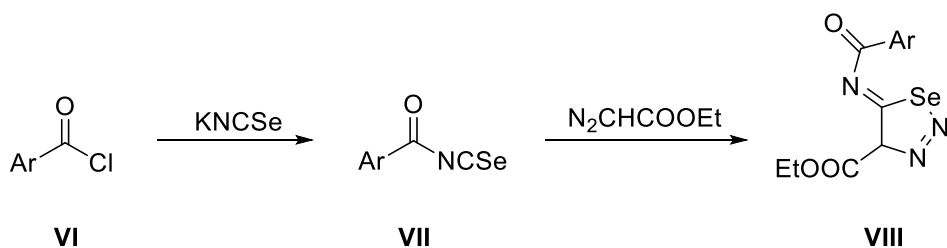


Schéma 3: Reakce mezi aroyl chloridem a isoselenokyanátem draselným za vzniku 1,2,3-selenadiazolu.⁸

3.1.3. Příprava 1,2,3-selenadiazolů z hydrazonů a oxidu seleničitého nebo oxychloridu seleničitého

Tímto způsobem popisovaná příprava 1,2,3-selenadiazolů je problematická z důvodu dostupnosti odpovídajících hydrazonů. Jako výchozí látky pro syntézu α -substituovaných hydrazonů **XI** byly použity 1,2-diaza-1,3-butadieny. Následnou reakcí α -substituovaných hydrazonů **XI** s oxidem seleničitým¹⁰ nebo oxychloridem seleničitým¹¹ byly získány 4-substituované 1,2,3-selenadiazoly **XII** nebo 4-substituované 2,3-dihydro-1,2,3-selenadiazoly **XIII** (Schéma 4).⁸

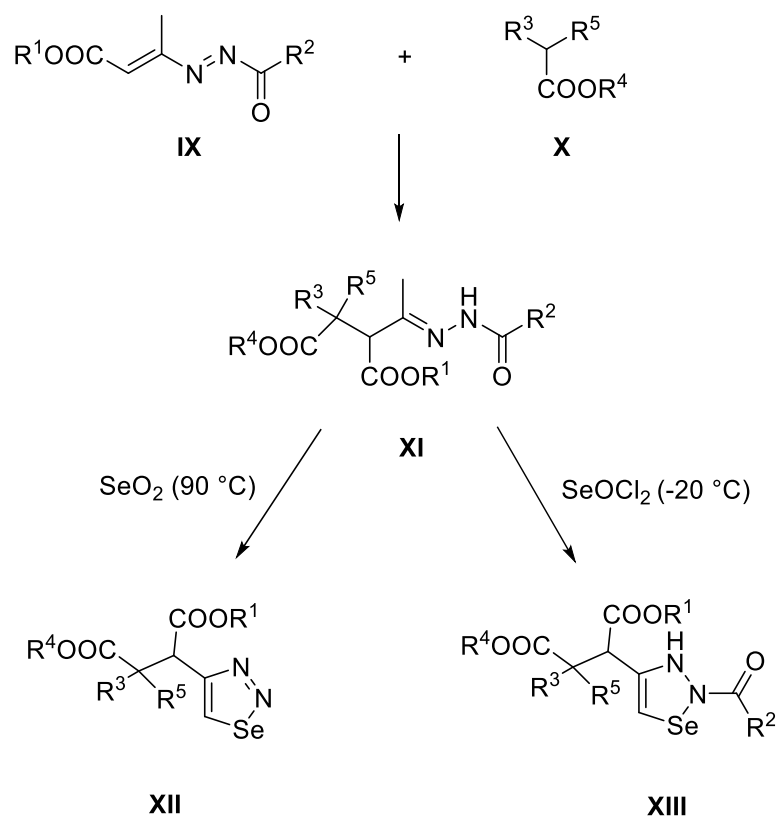


Schéma 4: Příprava 1,2,3-selenadiazolů z hydrazonů a oxidu seleničitého nebo oxychloridu seleničitého.¹⁰

Kromě výše znázorněné reakce bylo zjištěno, že působením oxidu seleničitého v kyselině octové na acylhydrazon **XIV** překvapivě nevzniká 1,2,3-selenadiazol, nýbrž 1,2,3-selenadiazol-1-oxid **XV**. Tato látka podléhá rovnovážné reakci se sloučeninou **XVI**. Avšak skutečně izolovatelný je pouze meziprodukt **XV**¹² (Schéma 5).

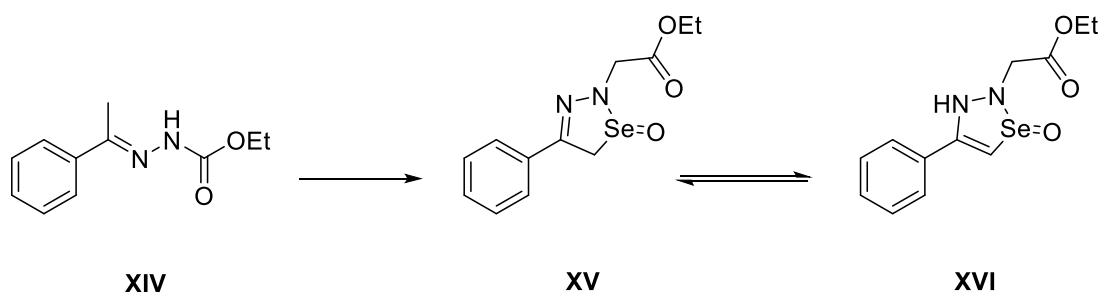


Schéma 5: Reakce acylhydrazonu s oxidem seleničitým za vzniku 1,2,3-selenadiazol-1-oxidu.¹²

3.1.4. Příprava 1,2,3-selenadiazolů ze semikarbazonů a oxidu seleničitého

Nejčastěji používanou metodou je metoda založená na reakci příslušného aldehydu nebo ketonu s hydrochloridem semikarbazidu za vzniku semikarbazonu **XVII**.⁸ Působením oxidu seleničitého je semikarbazon cyklizován na výsledný 1,2,3-selenadiazol **XVIII**. Rozpouštědlem při této reakci je buď kyselina octová se suspendovaným oxidem seleničitým, nebo lze použít i nasycený roztok oxidu seleničitého ve vodném dioxanu. Závěrečné uzavírání kruhu, za účasti oxidu seleničitého (Schéma 6), není závislé na Z/E uspořádání semikarbazonu.⁸

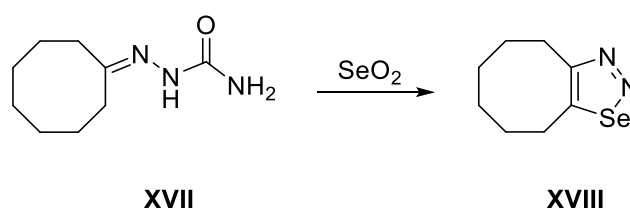


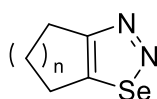
Schéma 6: Příprava 1,2,3-selenadiazolů ze semikarbazonů a oxidu seleničitého.⁸

3.2. Biologické účinky

3.2.1. Antimikrobiální vlastnosti

3.2.1.1. Cykloalkeno- a benzo-1,2,3-selenadiazoly

Deriváty cykloalkeno-1,2,3-selenadiazolů **XIX** (Obrázek 4) byly testovány na svoji antimikrobiální aktivitu pomocí metody difúzních disků na agarové půdě. Jako lidské patogenní mikroby byly vybrány *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Salmonella typhi*.¹



XIX

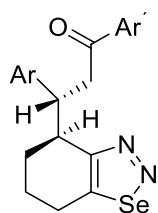
Obrázek 4: Struktura cykloalkeno-1,2,3-selandiazolů **XIX**.¹

Výsledky studie shrnuje tabulka 1, z níž je patrné, že vůči *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Salmonella typhi* vykazoval největší inhibici derivát **XIXc**. Naproti tomu, *Pseudomonas aeruginosa* byla nejcitlivější na derivát **XIXa**.¹

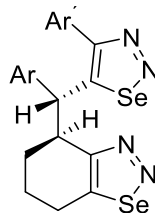
Tabulka 1: Citlivost lidských patogenních mikrobusů na cykloalkeno-1,2,3-selenadiazoly **XIX**.¹

Sloučenina	n	Koncentrace g/ml	Inhibiční zóna (mm)			
			<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>P. aeruginosa</i>
XIXa	1	0,0049	18	14	15	14
XIXb	2	0,0049	20	21	13	0
XIXc	3	0,0049	26	25	16	0
XIXd	4	0,0049	18	18	13	0

Oxidativní cyklizací příslušných semikarbazonů, za účasti oxidu seleničitého, byla získána řada mono a bis derivátů 1,2,3-selenadiazolů **XX** a **XXI** (Obrázek 5).⁵



XX



XXI

Obrázek 5: Struktura mono a bis 1,2,3-selenadiazolů.⁵

Zmiňované sloučeniny byly *in vitro* testovány na svoji antimikrobiální aktivitu proti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Candida albicans*. Dále byla rovněž studována jejich citlivost na *Mycobacterium tuberculosis*.⁵

Z tabulky 2 je zřejmé, že pro *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Candida albicans* se aktivita studovaných derivátů pohybovala v rozmezí hodnot MIC 6,25 - 50 µg/ml. Vůči patogenu *Mycobacterium tuberculosis* prokázaly některé deriváty dokonce ještě vyšší inhibici.⁵

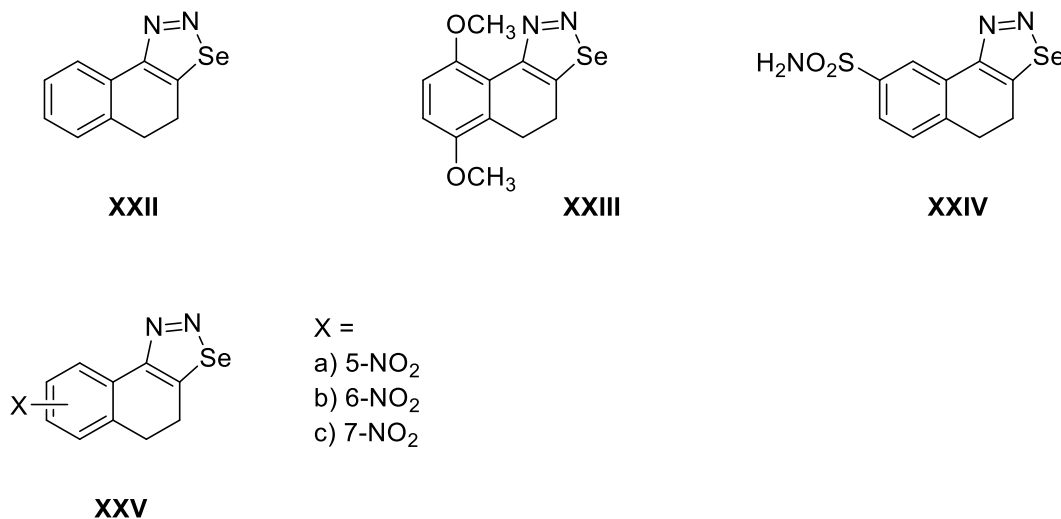
Tabulka 2: Antimikrobiální a antimykobakteriální aktivita derivátů XX a XXI.⁵

Substituenty		MIC							
		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>		<i>M. tuberculosis</i>	
Ar	Ar'	mono	bis	mono	bis	mono	bis	mono	bis
C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	12,5	25,0	12,5	25,0	25,0	25,0	15,8	51,6
C ₆ H ₅	4-ClC ₆ H ₄	25,0	25,0	12,5	25,0	12,5	25,0	7,2	48,2
C ₆ H ₅	4-MeOC ₆ H ₄	12,5	25,0	25,0	25,0	25,0	50,0	29,3	48,6
C ₆ H ₅	2-Naftyl	25,0	25,0	25,0	50,0	50,0	50,0	28	46,8
4-MeC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	25,0	25,0	12,5	12,5	25,0	50,0	15,2	50,2
4-ClC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	12,5	50,0	12,5	25,0	25,0	25,0	3,6	24,1
4-ClC ₆ H ₄	4-MeC ₆ H ₄	12,5	25,0	25,0	25,0	12,5	12,5	3,5	23,5
4-ClC ₆ H ₄	4-ClC ₆ H ₄	6,25	12,5	6,25	25,0	12,5	12,5	3,3	22,5
C ₆ H ₅	4-MeC ₆ H ₄	12,5	25,0	25,0	50,0	25,0	50,0	-	50,2
4-MeOC ₆ H ₄	C ₆ H ₅	25,0	50,0	25,0	50,0	50,0	50,0	-	48,6
4-ClC ₆ H ₄	4-MeOC ₆ H ₄	12,5	12,5	12,5	25,0	25,0	25,0	-	45,5

MIC = minimální inhibiční koncentrace µg/ml

- = žádná aktivita

Další skupina podobných derivátů 1,2,3-selenadiazolů **XXII** - **XXV** (Obrázek 6) byla testována na antifungální aktivitu proti *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* a *Aspergillus fumigatus*.¹³



Obrázek 6: Obecná struktura 4,5-dihydro-naftol-1,2,3-selanadiazolů.¹³

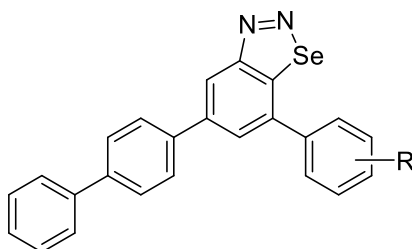
Z hodnot minimálních inhibičních koncentrací uvedených v tabulce 3 vyplývá, že deriváty **XXII** a **XXIII** vykazovaly pouze nízkou aktivitu vůči jednotlivým kmenům. Sloučeniny **XXVa**, **XXVc** a **XXIV** pak vykazovaly aktivitu vůči patogenu *Saccharomyces cerevisiae*. Kromě toho derivát **XXVc** inhiboval také *Cryptococcus neoformans*. Použitými referenčními látkami byly Amfotericin B, Flukozanol a DMSO.¹³

Tabulka 3: Antifungální účinnost příslušných derivátů 4,5-dihydro-naftol-1,2,3-selenadiazolů.¹³

Sloučenina	MIC			
	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>A. fumigatus</i>
XXII	12,5	25	12,5	25
XXIII	12,5	25	12,5	25
XXIV	12,5	3,12	12,5	25
XXVa	12,5	3,12	12,5	25
XXVb	12,5	12,5	25	25
XXVc	12,5	3,12	3,12	25
Amfotericin B	0,14	0,06	0,13	0,14
Flukozanol	0,26	25	0,53	3,25
DMSO	12,5	3,12	12,5	25

MIC = minimální inhibiční koncentrace µg/ml

Benzo-1,2,3-selenadiazoly **XXVI** (Obrázek 7) byly dalšími deriváty, u nichž byla studována antibakteriální aktivita vůči některým gram-pozitivním (*Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis*) a gram-negativním (*Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*) bakteriím. Jako referenční léčivo byl použit Norfloxacin.¹⁴



XXVI

Obrázek 7: Obecná struktura 1,2,3-selanadiazolů **XXVI**.¹⁴

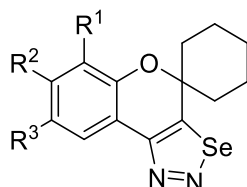
Z tabulky 4 vyplývá, že všechny 1,2,3-selenadiazoly **XXVI** obecně vykazovaly vyšší aktivitu proti gram-pozitivním bakteriím. Minimální inhibiční koncentrace některých sloučenin vůči *Staphylococcus aureus* byly dokonce nižší než pro Norfloxacin. Vůči gram-negativním bakteriím byly potom jednotlivé sloučeniny spíše neaktivní.¹⁴

Tabulka 4: *In vitro* antibakteriální aktivita 1,2,3-selenadiazolů **XXVI** (MIC $\mu\text{g/ml}$).

Sloučenina	R	Gram-pozitivní		Gram-negativní	
		<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
XXVIa	H	0,64	0,50	>60	>60
XXVIb	4-F	0,20	0,16	11	45
XXVIc	2-Cl	0,43	0,41	>60	>60
XXVI d	4-Cl	0,32	0,29	26	55
XXVIe	4-Br	0,25	0,22	18	48
XXVI f	3-NO ₂	0,55	0,51	>60	>60
XXVI g	4-NO ₂	0,41	0,38	37	51
XXVI h	2-OMe	0,55	0,45	44	>60
XXVI i	4-OMe	0,68	0,58	>60	>60
XXVI j	3-OC ₆ H ₅	0,58	0,52	49	>60
Norfloxacin		0,51	0,018	0,15	0,05

3.2.1.2. Benzopyrano/naftopyrano-1,2,3-selenadiazoly

Benzopyrano-1,2,3-selenadiazoly **XXVII** (Obrázek 8, Tabulka 5) patří k dalším derivátům, u nichž byla studována antibakteriální a antifungální aktivita pomocí metody inhibičních zón.⁷



XXVII

Obrázek 8: Obecná struktura derivátů benzopyrano-1,2,3-selenadiazolů **XXVII**.⁷

Tabulka 5: Přehled substituentů benzopyrano-1,2,3-selenadiazolů **XXVII**.⁷

	a	b	c	d	e	f	g
R ¹	H	H	H	H	Cl	H	H
R ²	H	H	H	H	H	CH ₃	H
R ³	Cl	H	Br	CH ₃	Cl	Cl	F

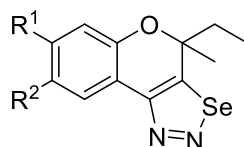
Ukázalo se, že antifungální inhibiční aktivita u testovaných látek **XXVII** proti *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* a *Aspergillus fumigatus* byla velmi slabá nebo žádná.⁷ Detekovatelná antibakteriální aktivita vůči *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* a *MRSA* byla pozorována pouze u sloučenin **XXVIIb**, **XXVIIc** a **XXVIIId** (Tabulka 6).⁷

Tabulka 6: Antibakteriální aktivita příslušných derivátů **XXVII**.⁷

Sloučenina	Inhibiční zóna v mm				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>MRSA</i>
XXVIIb	5	-	-	-	-
XXVIIc	5	-	5	-	-
XXVIIId	5	-	-	-	-

- = žádná nebo nepatrná aktivita

Dalšími benzopyrano-1,2,3-selenadiazoly, testovanými v souvislosti s jejich možnými antimikrobiálními účinky, byly sloučeniny **XXVIII** (Obrázek 9).¹⁵



XXVIII

Obrázek 9: Obecná struktura 1,2,3-selanadiazolů obsahujících benzopyran.¹⁵

Antibakteriální účinek byl testován proti *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* při použití Vankomycinu jako standardu. Antifungální aktivita byla zaměřena na *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* a srovnávána se standardem Flukonazolem.¹⁵

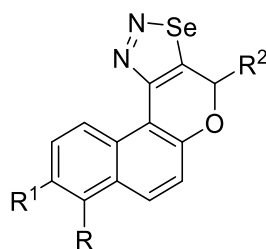
Výsledky studie ukázaly, že při koncentraci 1 mg/ml byly všechny uvedené sloučeniny účinné proti bakteriím a plísním (Tabulka 7).¹⁵

Tabulka 7: Antibakteriální aktivita 1,2,3-selanadiazolů obsahujících benzopyran.¹⁵

Sloučenina	R ¹	R ²	Inhibiční zóna v mm				
			Koncentrace (µg/ml)	Antibakteriální aktivita		Antifungální aktivita	
				<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. fumigatus</i>
XXVIIIa	H	H	500	-	-	-	-
			1000	10	10	8	6
XXVIIIb	F	H	500	-	-	6	-
			1000	8	10	12	8
XXVIIIc	Cl	Cl	500	6	-	-	-
			1000	12	8	6	6
XXVIId	F	F	500	-	-	-	-
			1000	6	8	8	6
XXVIIIe	OCH ₃	H	500	-	-	-	-
			1000	10	8	6	8
Vankomycin			10	14	16	neměřeno	neměřeno
Flukonazol			10	neměřeno	neměřeno	22	12

- = žádná aktivita

In vitro diagnostickým testováním na agarových živných půdách byla studována antibakteriální aktivita naftopyrano-1,2,3-selenadiazolů **XXIX** (Obrázek 10) vůči gram-negativním (*Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*) i gram-pozitivním bakteriím (*Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis*).³



XXIX

Obrázek 10: Naftopyrano-1,2,3-selenadiazoly **XXIX**.³

Jako srovnávací látky byly použity Ampicilin, Amoxicilin a Vankomycin, které sloužily jako pozitivní kontrola pro gram-pozitivní a gram-negativní skupinu bakterií.³ Z výsledků studie vyplynulo, že všechny výše uvedené látky vykazovaly průměrnou inhibiční aktivitu proti oběma skupinám bakterií (Tabulka 8).³

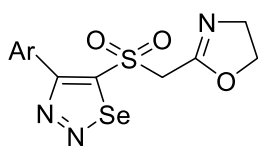
Tabulka 8: Minimální inhibiční koncentrace 1,2,3-selenadiazolů **XXIX**.³

Sloučenina	R	R ¹	R ²	Minimální inhibiční koncentrace v µg/ml			
				<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
XXIXa	H	H	H	250	250	250	1000
XXIXb	Br	H	H	50	100	250	1000
XXIXc	H	H	Br	50	100	50	500
XXIXd	H	H	CH ₃	250	250	500	1000
XXIXe	H	Br	CH ₃	500	50	500	1000
Ampicilin				250	250	250	-
Amoxicilin				100	100	100	100
Vankomycin				50	50	50	100

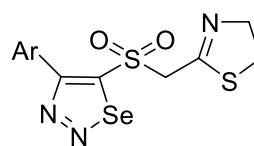
- = žádná aktivita

3.2.1.3. Aryl a heteroarylselenadiazoly

Antimikrobiální vlastnosti byly studovány také u derivátů oxazolyl **XXX** respektive thiazolyl **XXXI** aryl-1,2,3-selenadiazolů (Obrázek 11).¹⁶



XXX



XXXI

Obrázek 11: Struktura oxazolyl a thiazolyl 1,2,3-selenadiazolů.¹⁶

Antimikrobiální aktivita v této studii byla testována při koncentracích 100 a 200 µg/ml. Jako zástupci bakterií byly vybrány *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (gram-pozitivní) a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* (gram-negativní). Použitým referenčním léčivem byl Chloramfenikol.¹⁶

Z výsledků uvedených v tabulce 9 vyplynulo, že oba typy 1,2,3-selenadiazolů **XXX** a **XXXI** měly obecně vyšší inhibiční aktivitu vůči gram-pozitivním bakteriím než proti gram-negativním. Nicméně, u všech testovaných sloučenin byla velikost inhibičních zón podstatně menší než u použitého standardu Chloramfenikolu.

Tabulka 9: Antibakteriální účinnost 1,2,3-selenadiazolů **XXX** a **XXXI**.¹⁶

Sloučenina	Ar	Koncentrace (µg/ml)	Inhibiční zóna (mm)			
			Gram-pozitivní		Gram-negativní	
			<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
XXXa	C ₆ H ₅	100	11	10	8	-
		200	14	12	9	9
XXXb	<i>p</i> -CH ₃ C ₆ H ₄	100	9	8	-	-
		200	11	11	-	-
XXXc	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	100	12	9	8	-
		200	15	13	9	-
XXXIa	C ₆ H ₅	100	15	17	11	9
		200	18	21	14	11
XXXIb	<i>p</i> -CH ₃ C ₆ H ₄	100	11	11	9	1
		200	13	14	12	12
XXXIc	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	100	18	19	16	14
		200	24	23	18	11
Chloramfenikol		100	35	38	40	42
		200	39	41	44	45

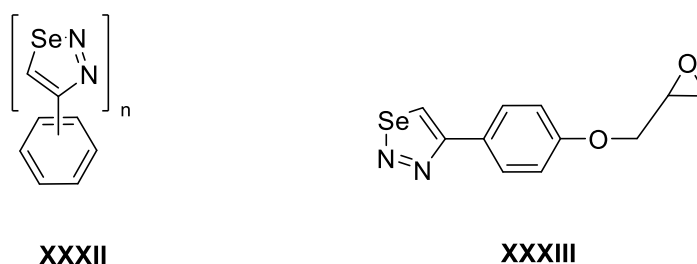
- = žádná aktivita

1,2,3-selenadiazoly **XXX** a **XXXI** (Obrázek 11) byly také testovány na svoji antifungální aktivitu proti *Fusarium solani*, *Curvularia lunata* a *Aspergillus niger*, použitým standardem byl Ketokonazol.¹³ Antifungální účinky, jak plyne z tabulky 10, byly u obou skupin derivátů **XXX** a **XXXI** označeny spíše jako průměrné.¹⁶

Tabulka 10: Antifungální účinnosti 1,2,3-selenadiazolů **XXX** a **XXXI**.¹⁶

Sloučenina	Ar	Koncentrace (µg/ml)	Inhibiční zóna (mm)		
			<i>F. solani</i>	<i>C. lunata</i>	<i>A. niger</i>
XXXa	C ₆ H ₅	100	15	16	16
		200	18	19	20
XXXb	<i>p</i> -CH ₃ C ₆ H ₄	100	14	15	17
		200	18	18	21
XXXc	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	100	17	17	15
		200	20	21	19
XXXIa	C ₆ H ₅	100	22	23	20
		200	25	25	24
XXXIb	<i>p</i> -CH ₃ C ₆ H ₄	100	19	20	18
		200	21	23	20
XXXIc	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	100	23	23	21
		200	25	26	24
Ketokonazol		100	38	41	36
		200	42	44	39

Účinek proti vybraným lidským patogenům byl *in vitro* studován také u níže uvedených fenyl-1,2,3-selenadiazolů **XXXII** a **XXXIII** (Obrázek 12) při dvou hodnotách koncentrací 0,010 a 0,005 g/ml.¹⁷



Obrázek 12: Obecná struktura derivátů fenyl-1,2,3-selenadiazolů.¹⁷

Pro výzkum byly použity následující mikroby: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (lokálně se vyskytující), referenční *Pseudomonas aeruginosa* a *Candida albicans*.¹⁷ Zvolenými technikami v tomto případě byla metoda difúzního otvoru (Tabulka 11) a metoda papírového disku (Tabulka 12).¹⁷

Ukázalo se, že sloučeniny **XXXIIa**, **XXXIIc** a **XXXIII** byly vysoce účinné proti všem vybraným patogenům, a to dokonce i proti místnímu izolátu *Pseudomonas aeruginosa*.¹⁷

Tabulka 11: Testování antimikrobiální aktivity sloučenin **XXXII** a **XXXIII** pomocí metody difúzního otvoru.¹⁷

Sloučenina	Pozice substituce	Koncentrace g/ml	Patogeny				
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>	referenční <i>P. aeruginosa</i>
XXXIIa	1,2	0,010	8	12	10	8	14
		0,005	-	9	8	-	10
XXXIIb	1,3	0,010	9	11	11	-	15
		0,005	-	10	8	-	12
XXXIIc	1,4	0,010	8	8	10	8	14
		0,005	-	-	9	-	10
XXXIId	1,3,5	0,010	-	-	8	-	8
		0,005	-	-	-	-	-
XXXIII	-	0,010	13	13	19	10	15
		0,005	13	-	14	9	9

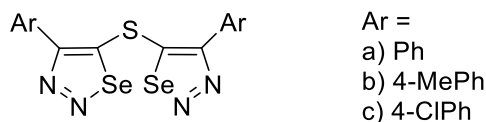
- = žádná aktivita

Tabulka 12: Testování antimikrobiální aktivity sloučenin **XXXII** a **XXXIII** pomocí metody papírového disku.¹⁷

Sloučenina	Pozice substituce	Koncentrace g/ml	Patogeny				
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>	referenční <i>P. aeruginosa</i>
XXXIIa	1,2	0,010	8	13	14	9	15
		0,005	-	10	8	-	11
XXXIIb	1,3	0,010	10	11	12	-	16
		0,005	-	10	9	-	11
XXXIIc	1,4	0,010	8	8	11	8	15
		0,005	-	-	10	-	11
XXXIId	1,3,5	0,010	8	-	9	-	9
		0,005	-	-	-	-	-
XXXIII	-	0,010	15	14	21	13	18
		0,005	14	10	15	10	11

- = žádná aktivita

Následující deriváty bis-1,2,3-selenadiazolů **XXXIV** (Obrázek 13) byly podrobeny testování na antimikrobiální aktivitu při třech různých koncentracích 25, 75 a 100 µg/disk proti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (gram-pozitivní bakterie) a *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae* (gram-negativní bakterie). Jako referenční látka bylo použito léčivo Gentamycin.¹⁸



Ar =
 a) Ph
 b) 4-MePh
 c) 4-ClPh

XXXIV

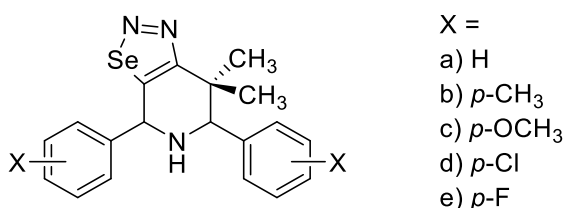
Obrázek 13: Struktura bis-1,2,3-selenadiazolů **XXXIV**.¹⁸

Všechny testované deriváty měly střední antibakteriální aktivitu (inhibiční zóna 18 – 23 mm) vůči gram-pozitivním i gram-negativním bakteriím. Ze studie rovněž vyplynulo, že všechny sloučeniny vykazovaly obecně vyšší aktivitu proti gram-pozitivním bakteriím.¹⁸

Uvedené deriváty 1,2,3-selenadiazolů byly testovány také na antifungální aktivitu u *Fusarium solani*, *Curvularia lunata*, *Asperigillus niger* a *Cunninghemella elegans*. Nystatin byl použit jako srovnávacího léčivo. Antifungální aktivita se ale v tomto případě projevila až při vyšších koncentracích jednotlivých derivátů.¹⁸

3.2.1.4. Další deriváty 1,2,3-selenadiazolů

U derivátů 5,7-diaryl-4,4-dimethyl-4,5,6,7-dihydropyridin[3,4-*d*]-1,2,3-selenadiazolů **XXXV** (Obrázek 14) byla *in vitro* studována antibakteriální (*Staphylococcus aureus*, β -*Haemolytic streptococcus*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* a *Pseudomonas*) a antifungální aktivita (*Aspergillus flavus*, *Mucor*, *Rhizopus* a *Microsporium gypseum*).¹⁹



X =
 a) H
 b) *p*-CH₃
 c) *p*-OCH₃
 d) *p*-Cl
 e) *p*-F

XXXV

Obrázek 14: Obecná struktura dihydropyridin-1,2,3-selenadiazolů **XXXV**.¹⁹

Výše uvedené sloučeniny projevovaly aktivitu vůči všem popisovaným bakteriím. Kromě toho, deriváty **XXXVd** a **XXXVb** vykazovaly u některých kmenů bakterií dokonce vyšší účinnost než standardně používané léčivo Ciprofloxacin (Tabulka 13).¹⁹

Tabulka 13: Antibakteriální aktivita dihydropyridin-1,2,3-selanadiazolů **XXXV**.¹⁹

Sloučenina	Koncentrace v ppm	<i>S. aureus</i>	β - <i>H. streptococcus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>S. typhii</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>Pseudomonas</i>
XXXVa	100	-	-	+	+	-	-	+	+
	200	+	+	+	+	+	+	++	+
	500	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
XXXVb	100	-	-	+	++	+	-	++	-
	200	++	++	++	++	+++	++	++	++
	500	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++
XXXVc	100	+	-	+	+	+	-	-	-
	200	++	++	++	++	++	++	++	+
	500	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
XXXVd	100	+	-	+	-	+	-	+	-
	200	++	++	++	++	++	+++	++	+++
	500	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
XXXVe	100	-	-	+	++	+	-	++	-
	200	++	++	++	++	+++	++	++	+++
	500	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ciprofloxacin		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

- = neaktivní

+ = slabá aktivita (inhibiční zóna 12 – 16 mm)

++ = střední aktivita (inhibiční zóna 17 – 21 mm)

+++ = silná aktivita (inhibiční zóna 22 - 29 mm)

++++ = vysoká aktivita (inhibiční zóna 30 – 33 mm)

Tabulka 14: Antifungální aktivita dihydropyridin-1,2,3-selanadiazolů **XXXV**.¹⁹

Sloučenina	Koncentrace v ppm	<i>A. flavus</i>	<i>Mucor</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>M. gypseum</i>
XXXVa	100	+	-	+	-
	200	+	+	++	+
	500	+++	++	++	+++
XXXVb	100	+	-	+	++
	200	++	++	++	++
	500	+++	+++	+++	+++
XXXVc	100	+	+	-	+
	200	++	++	+	++
	500	+++	+++	+++	+++
XXXVd	100	+	-	-	+
	200	+	+	+	++
	500	++++	++++	+++	+++
XXXVe	100	+	-	+	++
	200	+++	+++	+++	+++
	500	+++	+++	+++	+++
Flukonazol		++	++	++	++

- = neaktivní

+ = slabá aktivita (inhibiční zóna 12 – 16 mm)

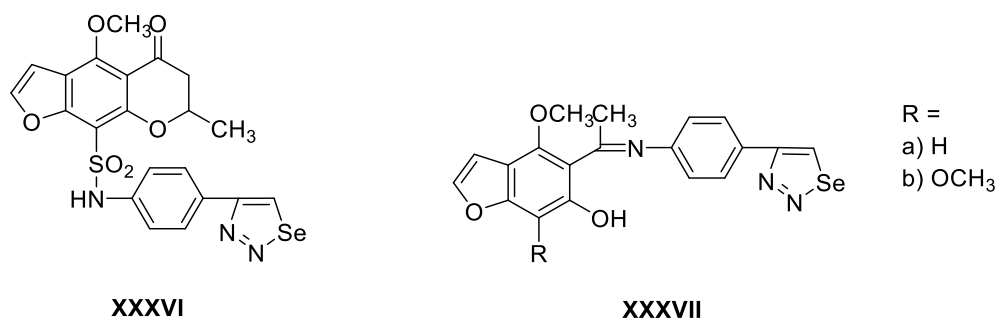
++ = střední aktivita (inhibiční zóna 17 – 21 mm)

+++ = silná aktivita (inhibiční zóna 22 - 29 mm)

++++ = vysoká aktivita (inhibiční zóna 30 – 33 mm)

Kromě antibakteriálních účinků vykazovaly všechny sloučeniny (Obrázek 14) také mírnou antifungální aktivitu *in vitro*. Derivát **XXXVd** byl dokonce účinnější proti *Aspergillus flavus* a *Mucor* než Fluconazol, který je běžně používaným léčivem (Tabulka 14).¹⁹

Mezi další látky, u nichž byla rovněž studována antimikrobiální aktivita, patří deriváty 4-fenyl-1,2,3-selenadiazolů **XXXVI** a **XXXVII** (Obrázek 15).²⁰



Obrázek 15: Struktura 4-fenyl-1,2,3-selenadiazolů **XXXVI** a **XXXVII**.²⁰

Všechny uvedené sloučeniny, včetně použitého srovnávacího léčiva Chloramfenikolu, byly podrobeny měření při koncentraci 500 µg/disk. Sloučenina **XXXVI** vykazovala vysokou aktivitu vůči gram-pozitivním bakteriím (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) a plísním (*Candida albicans*, *Aspergillus flavus*), pouze mírná účinnost byla zaznamenána u gram-negativních bakterií (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*).²⁰ U derivátů **XXXVIIa** a **XXXVIIb** byla zjištěna pouze mírná aktivita proti gram-pozitivním bakteriím a plísním, vůči gram-negativním bakteriím pak byly tyto látky neaktivní (Tabulka 15).²⁰

Tabulka 15: Antimikrobiální aktivita 4-fenyl-1,2,3-selenadiazolů **XXXVI** a **XXXVII**.

Sloučenina	Gram-pozitivní bakterie		Gram-negativní bakterie		Plísně	
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. flavus</i>
XXXVI	+++	+++	++	++	++	+++
XXXVIIa	++	++	-	-	++	++
XXXVIIb	++	++	-	-	++	++
Chloramfenikol	+++	+++	+++	+++	+++	+++

- = žádná citlivost

+ = malá aktivita (inhibiční zóna 6 - 9 mm)

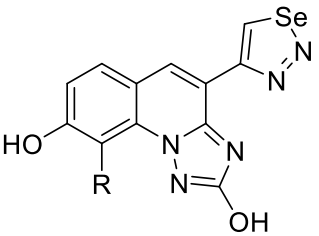
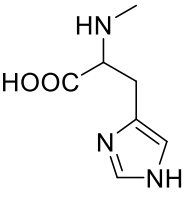
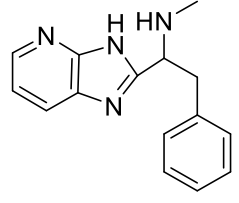
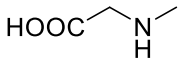
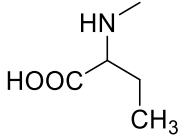
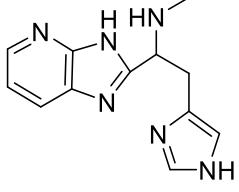
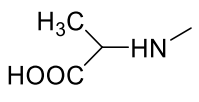
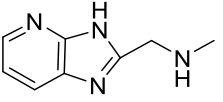
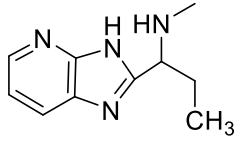
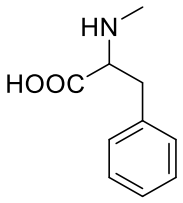
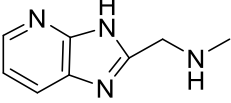
++ = střední aktivita (inhibiční zóna 9 - 12 mm)

+++ = vysoká aktivita (inhibiční zóna > 12 mm)

3.2.2. Protinádorové vlastnosti

1,2,3-selenadiazoly **XXXVIII** (Tabulka 16), obsahující triazolový skelet, byly testovány *in vitro* na své protinádorové účinky vůči buněčným liniím lidského jaterního karcinomu (HEPG2) a karcinomu prsu u kavkazské populace žen (MCF-7).²¹

Tabulka 16: Přehled všech připravených derivátů **XXXVIII**.²¹

 <p>XXXVIIIa-k</p>					
a	H	e		i	
b		f		j	
c		g		k	
d		h			

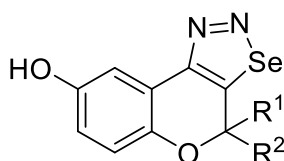
Ačkoliv žádná z uvedených sloučenin neposkytla významnou aktivitu proti buněčným liniím jaterního karcinomu HEPG2 (Tabulka 17), derivát **XXXVIIIb** vykazoval silné účinky proti buněčným liniím prsního karcinomu MCF-7.²¹

Tabulka 17: Cytotoxický efekt derivátů 1,2,3-selenadiazolů **XXXVIII** proti prsnímu MCF-7 a jaternímu karcinomu HEPG2.²¹

Sloučenina	MCF-7		HEPG2	
	IC ₅₀ (μg/ml)	% cytotoxicita při 100 μg/ml	IC ₅₀ (μg/ml)	% cytotoxicita při 100 μg/ml
XXXVIIIb	41,4	93,9 %	-	13,6 %
XXXVIIIc	-	20,7 %	-	29,3 %
XXXVIId	-	14,1 %	-	0 %
XXXVIIIe	80,9	64,3 %	-	0 %
XXXVIIf	62,0	85,3 %	-	0 %
XXXVIIIg	-	30,9 %	neměřeno	neměřeno
XXXVIIIh	-	16,1 %	neměřeno	neměřeno
XXXVIIIi	-	5,7 %	neměřeno	neměřeno
XXXVIIIj	76,4	68,3 %	neměřeno	neměřeno
XXXVIIIk	-	11,2 %	neměřeno	neměřeno

- = derivát neposkytoval významnou aktivitu
 IC₅₀ = inhibice buněčného množení o 50 %

Mezi další deriváty 1,2,3-selenadiazolů s protinádorovými účinky zařazujeme i sloučeniny, jejichž základem je benzopyranový skelet **XXXIX** (Obrázek 16). Tyto látky byly *in vitro* testovány proti čtyřem buněčným liniím: lidského prsního karcinomu MCF-7, opičího ledvinového karcinomu VERO, lidské plicní tkáně WI-38 a lidského jaterního karcinomu HEPG2. Jejich inhibiční účinek byl srovnáván vůči 5-fluorouracilu.⁶



XXXIX

Obrázek 16: Benzopyrano-1,2,3-selenadiazoly **XXXIX**.⁶

Výsledky odhalily, že u sloučenin **XXXIXa**, **XXXIXb** a **XXXIXc** byly hodnoty IC₅₀ podobné jako u 5-Fluorouracilu. Zejména derivát **XXXIXb** by tedy mohl sloužit jako potenciální protinádorové léčivo (Tabulka 18).⁶

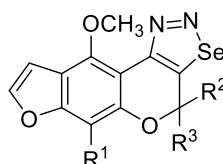
Tabulka 18: Protinádorová aktivita benzopyrano-1,2,3-selenadiazolů **XXXIX**.⁶

Sloučenina	R ¹	R ²	IC ₅₀ (mM)			
			MCF-7	VERO	WI-38	HEPG-2
XXXIXa	CH ₃	CH ₃	0,06	0,05	0,07	0,06
XXXIXb	CH ₃	CH ₂ CH ₃	0,06	0,06	0,05	0,05
XXXIXc	(CH ₂) ₄		0,06	0,06	0,07	0,06
XXXIXd	(CH ₂) ₅		0,12	0,10	0,11	0,09
XXXIXe	(CH ₂) ₆		1,49	1,19	1,61	1,15
5-FU			0,02	0,05	0,02	0,07

IC₅₀ = inhibice buněčného množení o 50 %

5-FU = 5-Fluorouracil

Chování vůči lidským buňkám prsního karcinomu MCF-7, karcinomu děložního čípku HELA, karcinomu tračníku HCT116 a jaternímu karcinomu HEPG2 bylo studováno *in vitro* u dalších derivátů 1,2,3-selenadiazolů **XL** (Obrázek 17).²² Použitým referenční materiál byl Doxorubicin.²²

**XL****Obrázek 17:** Struktura 1,2,3-selenadiazolofurochromonů **XL**.²²

Výsledky studie jsou komplexně shrnuty v tabulce 19. Jako nejvíce slibnou vůči karcinomu prsu MCF-7 se jevila sloučenina **XLa**. U sloučenin **XLb** a **XLc** se hodnoty inhibiční aktivity proti karcinomu tračníku HCT116 a karcinomu děložního čípku HELA blížily použitému referenčnímu standardu Doxorubicinu. Žádná z uvedených sloučenin se neprojevila jako účinná proti jaternímu karcinomu HEPG2.²²

Tabulka 19: Protinádorová aktivita 1,2,3-selenadiazolofurochromonů **XL**.²²

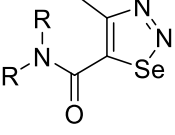
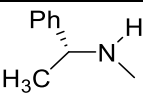
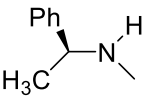
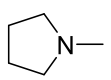
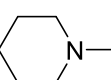
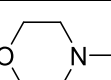
Sloučenina	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (μg/ml)			
				HELA	HCT116	HEPG2	MCF-7
XLa	H	CH ₃	CH ₃	6,02	4,8	11,5	5,56
XLb	H	(CH ₂) ₅		7,24	3,89	14,6	16,5
XLc	OCH ₃	CH ₃	CH ₃	4,35	4,65	15,9	15,8
XLd	OCH ₃	CH ₃	C ₂ H ₅	6,02	8,92	9,53	12,7
XLe	OCH ₃	(CH ₂) ₅		5,57	4,19	9,53	15
Doxorubicin				4,19	3,73	3,73	2,97

IC₅₀ = inhibice buněčného množení o 50 %

Amidy 4-methyl-1,2,3-selenadiazol-5-karboxylových kyselin **XLI** patří k dalším derivátům, u nichž byly studovány jejich cytotoxické a protinádorové účinky na buněčné linie lidského fibrosarkomu HT-1080, myšího jaterního karcinomu MG-22A, myších embryonálních fibroblastů NIH 3T3 a myšího plicního sarkomu S-180.²

Z tabulky 20 je patrné, že 1,2,3-selenadiazoly **XLI** vykazovaly *in vitro* aktivitu proti nádorovým buněčným liniím HT-1080 a MG-22A. Deriváty amidů **XLIa**, **XLIc** a **XLI f** projevily vysokou aktivitu proti plicnímu sarkomu S-180 *in vivo*. Rovněž byla zjištěna korelace mezi LD₅₀ látek a buněčnými liniemi fibroblastů NIH 3T3.²

Tabulka 20: Protinádorová a cytotoxická účinnost 1,2,3-selenadiazolů **XLI**.²

 XLIa-g		HT-1080	MG-22A	NIH 3T3	LD ₅₀ (mg/kg)	S-180 Inhibice (%)	Toxický efekt (%)
		TD ₅₀	TD ₅₀	TD ₅₀			
a	Me ₂ N	b	35	351	1134	58	17
b	(<i>i</i> -Pr) ₂ N	b	31	718	1755	-32	0
c		100	29	195	1029	20	3
d		31	32	407	1442	-23	0
e		19	33	214	977	85	23
f		31	27	123	800	71	8
g		b	34	280	1145	b	8

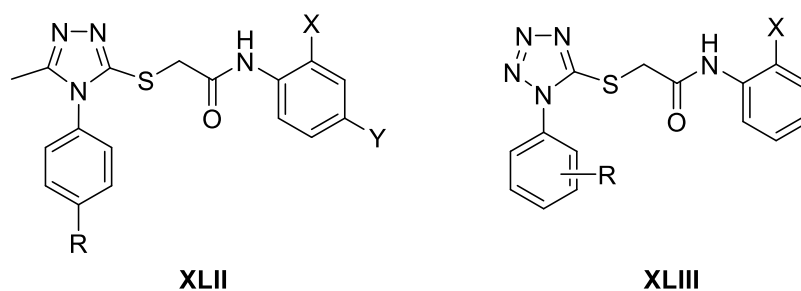
TD₅₀ = koncentrace látky (mg/ml) vedoucí k usmrcení 50 % buněk

b = žádný toxický efekt

LD₅₀ = střední smrtelná dávka

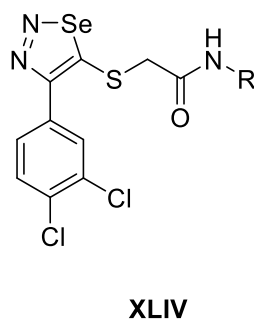
3.2.3. Antivirotické vlastnosti

V terapii viru HIV mají značný význam nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy viru HIV (NNRTIs) a to díky své antivirotické účinnosti, vysoké specifitě a nízké toxicitě. Mezi tyto inhibitory se řadí i některé sulfanyltriazoly **XLII** a sulfanyltetrazoly **XLIII** (Obrázek 18).⁴



Obrázek 18: Sulfanyltriazoly a sulfanyltetrazoly účinné jako NNRTIs.⁴

Jako jejich analoga byla na základě bioisosterických principů připravena řada nových 1,2,3-selenadiazol thioacetanilidů **XLIV**, které byly testovány na anti HIV aktivitu na lidských liniích T-lymfocytů MT-4 (Obrázek 19).⁴



Obrázek 19: Struktura derivátů 2-(4-(3,4-dichlorofenyl)-1,2,3-selenadiazol-5-ylthio)acetamidu **XLIV**.⁴

Výsledky studie ukázaly, že některé z testovaných sloučenin, vykazovaly podobnou HIV-1 inhibiční aktivitu jako látky ze zmíněné sulfanyltriazolové řady. Nicméně, většina ze studovaných látek měla sníženou HIV-1 (IIIb) specifitu kvůli významné cytotoxicitě. Inhibiční efekt pro replikaci viru HIV-2 (ROD) pak nevykazovala žádná ze sloučenin uvedených v tabulce 21.⁴

Tabulka 21: Anti HIV aktivita 1,2,3-selenadiazolů **XLIV**.⁴

R	EC ₅₀ (μM)		CC ₅₀ (μM)	SI	
	HIV-1 (IIIb)	HIV-2 (ROD)		HIV-1 (IIIb)	HIV-2 (ROD)
4-acetyl-2-bromofenyl	2,45 ± 1,08	>18,98	18,95 ± 4,02	8	<1
4-methyl-2-nitrofenyl	5,42 ± 2,41	>26,34	26,34 ± 7,85	5	<1
<i>o</i> -tolyl	5,56 ± 1,92	>22,31	22,31 ± 3,65	4	<1
<i>p</i> -tolyl	6,65 ± 1,33	>13,32	13,32 ± 4,33	2	<1
4-chlorofenyl	5,59 ± 1,05	>16,79	16,79 ± 1,68	3	<1

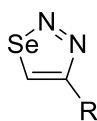
EC₅₀ = koncentrace látky potřebná k ochranění 50 % MT-4 proti viru HIV.

CC₅₀ = koncentrace látky potřebné pro redukcii životaschopnosti infikovaných buněk o 50 %

SI = index selektivity (CC₅₀ / EC₅₀)

3.2.4. Ostatní vlastnosti

U derivátů aryl- a heteroaryl-1,2,3-selenadiazolů **XLV** (Obrázek 20) byla *in vitro* testována antiamebícká aktivita proti *Entamoeba histolytica* (Měňavka úplavičná).²³

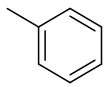
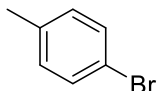
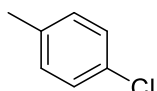
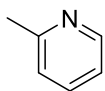
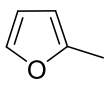
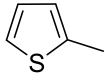


XLV

Obrázek 20: Obecná struktura aryl- a heteroaryl-1,2,3-selenadiazolů **XLV**.²³

Data uvedená v tabulce 22 ukazují, že značnou citlivost proti *Entamoeba histolytica* projevovaly sloučeniny **XLVc** a **XLVd**. Do studie byla zahrnuta i cytotoxická aktivita připravených sloučenin vůči lidským buňkám prsního karcinomu MCF-7. Jako referenční látka byl použit Metronidazol.²³

Tabulka 22: Antiamérická a cytotoxická aktivita aryl- a heteroaryl-1,2,3-selenadiazolů **XLV**.²³

Sloučenina	R	Antiamérická aktivita		Cytotoxický profil	
		IC ₅₀ (μM)	SD	IC ₅₀ (μM)	SD
XLVa		4,56	0,07	N. D.	N. D.
XLVb		2,95	0,04	N. D.	N. D.
XLVc		0,58	0,11	57,05	0,13
XLVd		0,46	0,05	86,62	N. D.
XLVe		5,72	0,04	N. D.	N. D.
XLVf		5,28	0,02	N. D.	N. D.
Metronidazol		1,80	0,13	>100	0,16

IC₅₀ = inhibice buněčného množení o 50 %

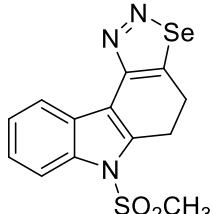
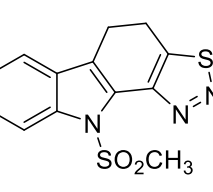
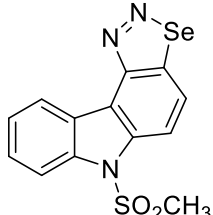
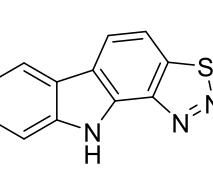
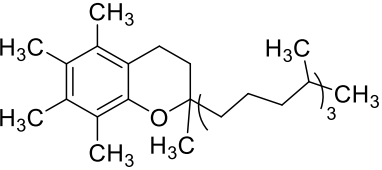
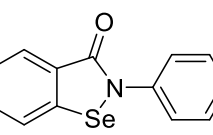
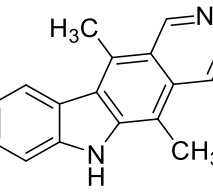
SD = standardní odchylka

N. D. = nedoděláno

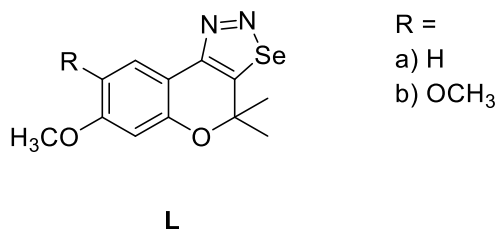
Technikou průtokové cytometrie byla na živých buňkách myšičko-myšičko hybridomu stanovena antioxidační aktivita derivátů 1,2,3-selenadiazolů **XLVI-IL**, jejichž základem je Ellipticin.²⁴ Jako referenční materiály byly použity látky s významnou antioxidační aktivitou, a to Vitamin E a Ebselen.²⁴

Z tabulky 23 vyplývá, že zajímavé vlastnosti vykazoval derivát **XLVI**, který byl 10 krát aktivnější než Ebselen, avšak 10 000 krát méně aktivní než Vitamin E. Naproti tomu, derivát **IL** neměl žádnou antioxidační aktivitu.²⁴

Tabulka 23 Antioxidační aktivita 1,2,3-selenadiazolů **XLVI-IL**.²⁴

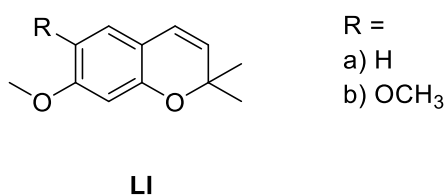
Sloučenina	Efektivní molarita (mol/l)	Chemická struktura
XLVI	10^{-6}	
XLVII	10^{-4}	
XLVIII	10^{-4}	
IL	žádný efekt	
Vitamin E	10^{-10}	
Ebselen	10^{-5}	
-	-	 <p data-bbox="826 1989 922 2022">Ellipticin</p>

Některé deriváty 1,2,3-selenadiazolů **L**, jejichž základem je benzopyranový skelet (Obrázek 21), byly testovány na nespecifickou toxickou aktivitu vůči hmyzu: *Pieris brassicae* (Bělásek zelný) a *Leptinotarsa decemlineata* (Mandelinka bramborová).²⁵



Obrázek 21: Benzopyrano-1,2,3-selenadiazoly **L**.²⁵

Z tabulky 24 vyplývá, že studované sloučeniny **La** a **Lb** vykazovaly mnohem vyšší aktivitu než strukturně podobné 2,2-dimethyl-2*H*-benzopyrany **Lla** resp. **Llb**, známé pod názvy Precocen I resp. Precocen II (Obrázek 22).²⁵



Obrázek 22: Struktura Precocenu I a Precocenu II.²⁵

Tabulka 24: Srovnání LD₉₀ (nmol/larva) Precocenů a odpovídajících 1,2,3-selenadiazolů **L**.²⁵

<i>Pieris brassicae</i>		<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	
Lla (Precocen I)	La	Lla (Precocen I)	La
389	37	525	54
Llb (Precocen II)	Lb	Llb (Precocen II)	Lb
234	62	148	34

LD₉₀ = dávka, při které zahyne 90 % jedinců

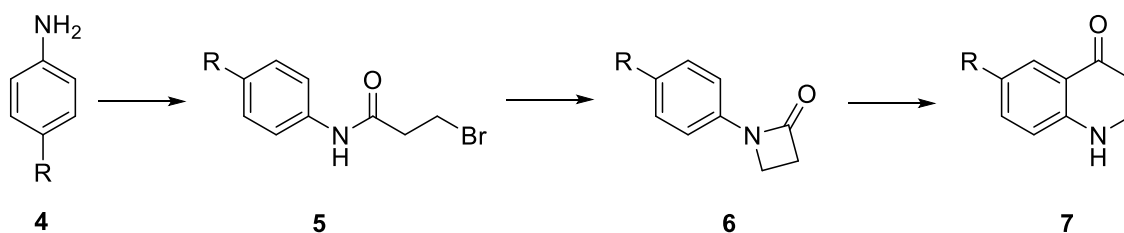


Schéma 8: Obecná příprava chinolinonů **7**.

Jako výchozí látky byly použity anilin hydrochlorid **8** či para-methoxyanilin **9**, které byly na odpovídající amid nejprve převedeny reakcí s kyselinou bromopropionovou za účasti couplingového činidla EDC·HCl.²⁶ Po 30 minutách bylo na základě LC/MS zjištěno, že reakce proběhla. Nicméně, z důvodu velkého množství poměrně drahého EDC·HCl potřebného pro přípravu jednotlivých látek v preparativním množství, byla vybrána alternativní metoda využívající reakce anilinů s chloridem 3-bromopropionové kyseliny (Schéma 9).²⁷ V tomto případě bylo třeba optimalizovat reakční čas, jelikož 3 hodiny uvedené v literatuře nebyly v těchto případech dostačující. Pro dosažení úplné konverze výchozích látek bylo třeba nechat směs reagovat přes noc.

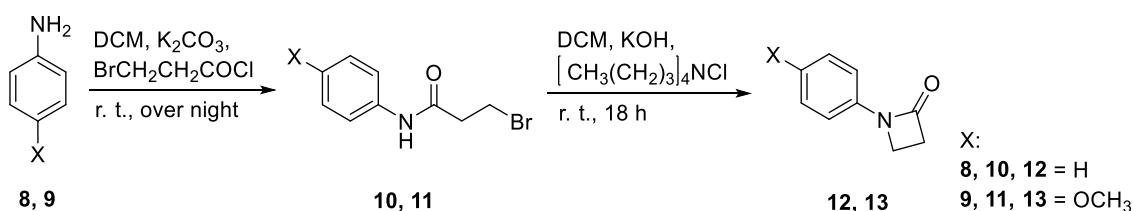


Schéma 9: Příprava aromatických β -laktamů **12** a **13**.

Připravené amidy **10** a **11** byly bez předchozí purifikace použity pro cyklizaci za vzniku aromatického β -laktamu.²⁶ Aromatický β -laktam **12** či **13** vzniká působením hydroxidu draselného na amidy **10** a **11** v prostředí tetrabutylammonium chloridu (Schéma 9). Opět bylo nutné provést optimalizaci času reakce, který musel být prodloužen z popsaných 3 hodin na 18 hodin. Surové β -laktamy **12** a **13** byly přečištěny metodou sloupcové chromatografie na silikagelu, jako mobilní fáze byla použita směs DCM:MeOH (300:1 v/v). Meziprodukt **12** byl získán ve výtěžku 38 % a **13** ve výtěžku 8 %. Nízké výtěžky, zejména u derivátu **13**, byly způsobeny vznikem většího množství nečistot v průběhu reakce.

V dalším stupni syntézy bylo nutné převést aromatické β -laktamy **12** a **13** na příslušné 2,3-dihydrochinolinony **14** a **15**. Nejprve byla použita metoda využívající k přesmyku kyselinu trifluorooctovou²⁶, která ale nevedla ke tvorbě požadovaného

produktu **14**. Na základě LC/MS analýzy bylo zjištěno, že v reakční směsi je přítomna pouze výchozí látka **12**. Jako úspěšnější se ukázala být metoda, kdy byl přesmyk proveden pomocí trifluoromethansulfonové kyseliny (Schéma 10).²⁸ Surové produkty **14** a **15** byly přečištěny metodou sloupcové chromatografie na silikagelu. Pro chinolinon **14** byla zvolena mobilní fáze DCM:MeOH (300:1 v/v), pro lipofilnější chinolinon **15** pak 100 % DCM. Produkt **14** byl získán ve výtěžku 68 % a **15** ve výtěžku 60 %.

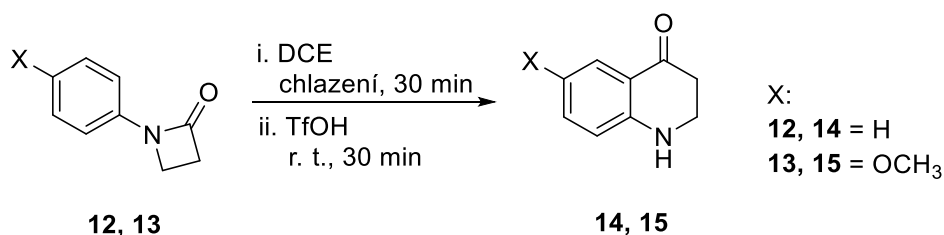


Schéma 10: Příprava chinolinonů **14** a **15**.

4.1.2. Příprava 6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onu

Jelikož postup pro přípravu 2,3-dihydrochinolin-4-onů popsaný výše lze použít pouze v případě aktivovaných a neaktivovaných anilinů,²⁸ bylo třeba pro 6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4-on **18** najít jiný způsob přípravy.

Nejprve byl proveden pokus o přímou nitraci připraveného chinolinonu **14** na základě popsaného postupu směsí acetanhydridu, koncentrované kyseliny dusičné a koncentrované kyseliny octové (Schéma 11).²⁹ Po 15 minutách za stálého chlazení bylo na základě LC/MS analýzy zjištěno, že došlo ke vzniku tří produktů **16**, **17** a **18**, kdy 6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **18** nevznikal jako majoritní, ale pouze z 12 %. Z tohoto důvodu byl postup mírně modifikován. S cílem získat chráněný *N*-acetylovaný chinolinon **19** byl derivát **14** nejprve refluxován 30 minut v acetanhydridu (Schéma 11). Následně byla k meziprojektu **17** přidána nitrační směs složená z koncentrované kyseliny dusičné a koncentrované kyseliny octové (Schéma 11). V tomto případě nebyl ani po 3 hodinách pozorován vznik produktu **19**. Neúspěšného výsledku bylo též dosaženo i v případě záměny kyseliny octové v nitrační směsi za kyselinu sírovou. Jiné pokusy o přímou nitraci chinolinonu **14** již nebyly provedeny.

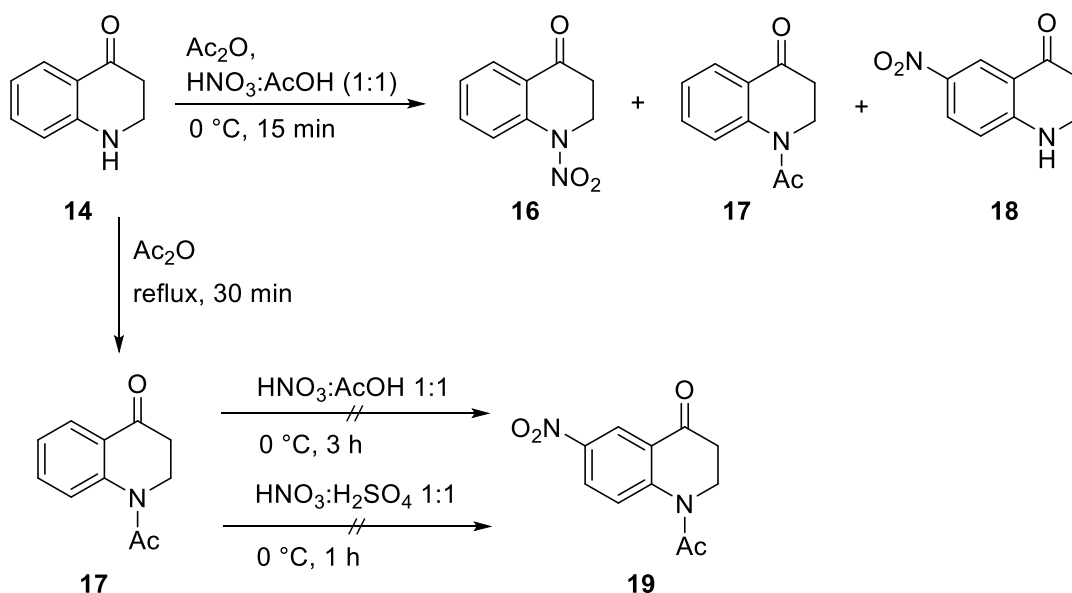


Schéma 11: Způsoby přípravy 6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onu **18**.

Jako poslední a nejlepší variantou se ukázal být zcela odlišný postup pro přípravu 6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onu **18**. Výchozí látkou byl 1-acetyl-6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **19**, který byl připraven na základě publikovaného postupu.³⁰ Reakcí 2-chloro-5-nitrobenzoové kyseliny **20** s ekvivalentním množstvím β -alaninu **21** za katalýzy octanem měďnatým (Schéma 12) vznikl derivát 2-amino-5-nitrobenzoové kyseliny **22**, který byl následně působením octanu draselného převeden na chinolinon **19**. Surový *N*-acetylchinolinon **19** byl přečištěn pomocí flash chromatografie na silikagelu s mobilní fází Tol:MeOH (9:1 v/v) a byl získán ve výtěžku 51 %.

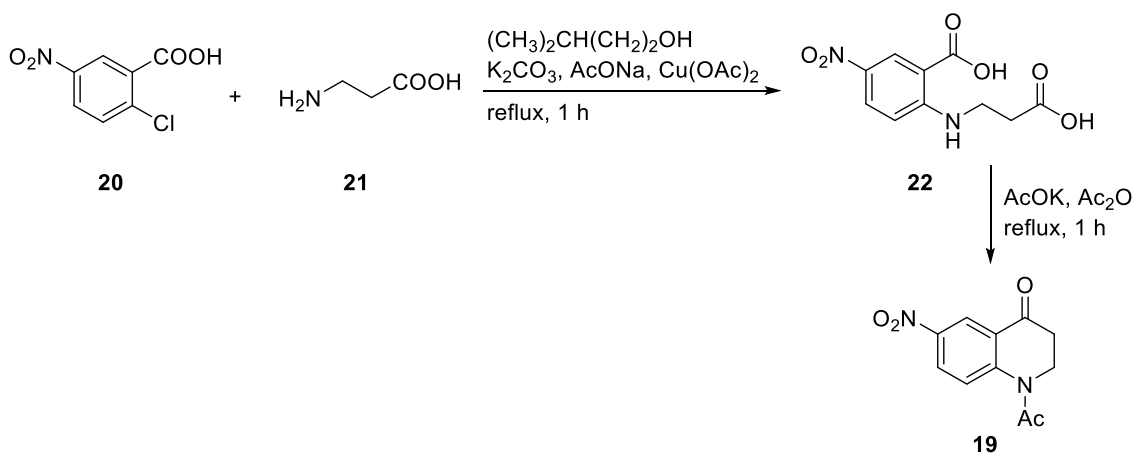


Schéma 12: Příprava 1-acetyl-6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onu **19**.

Požadovaný 6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4-on **18** byl následně získán deacylací derivátu **19** refluxem ve směsi koncentrované kyseliny chlorovodíkové v ethanolu (2:1 v/v) (Schéma 13). Již po hodině refluxu bylo na základě LC/MS zjištěno, že došlo k úplnému odstranění acetylové skupiny a produkt **18** byl získán ve výtěžku 57 %.

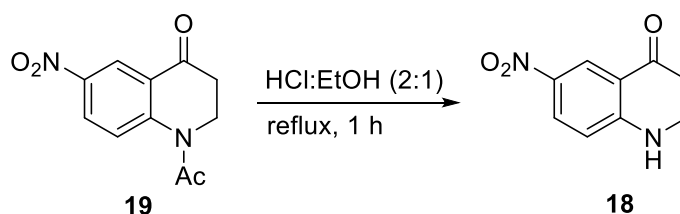


Schéma 13: Příprava 6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **18**.

4.1.3. Příprava *N*-alkyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onů

Jako zástupci *N*-alkyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onů byly připraveny dva deriváty, a to 1-methyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-on **23** a 1-isobutyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-on **24**.

Na základě již dříve popsaného postupu pro jiný derivát chinolinonu²⁷ byla nejprve pro přípravu 1-methyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **23** zvolena metoda reduktivní aminace. Při použití této metody 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-on **14** reagoval s 1,2 ekvivalenty paraformaldehydu v bezvodém DCM obsahujícím 20 % koncentrované kyseliny octové (Schéma 14). Po 90 minutách bylo na základě LC/MS analýzy zjištěno, že došlo k vytvoření příslušné Schiffovy báze a proto k ní mohlo být přidáno 1,2 ekvivalentu triacetoxyborohydridu sodného. Bohužel požadovaný produkt **23** vznikl společně se značným množstvím nečistot a z tohoto důvodu byl hledán jiný způsob přípravy.

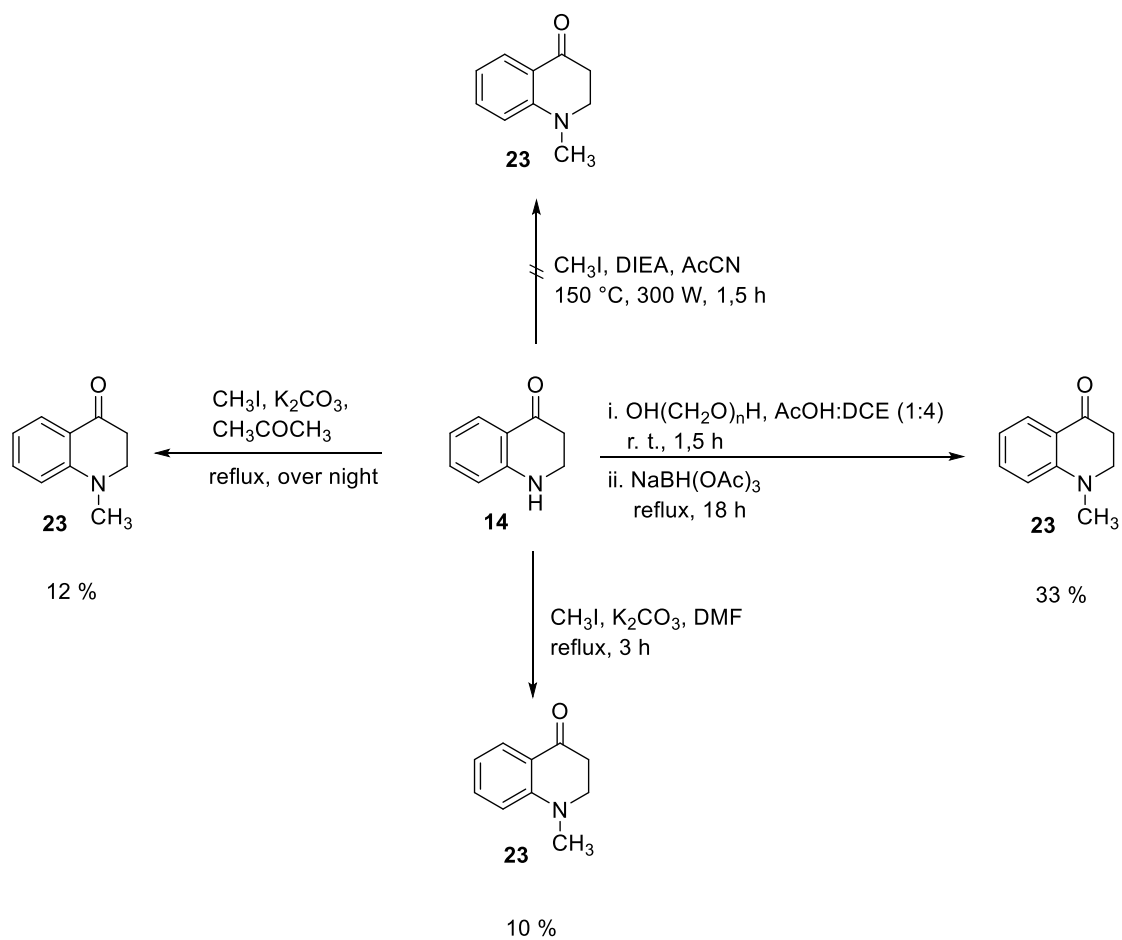


Schéma 14: Způsoby přípravy 1-methyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **23**.

Další testovanou metodou byla přímá alkylace aminoskupiny 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **14** 1,2 ekvivalenty methyljodidu s 1,2 ekvivalenty uhličitanu draselného v DMF (Schéma 14). V tomto případě došlo ke vzniku požadovaného produktu **23** z pouhých 10 %. Zvýšením množství činidel na 2 ekvivalenty methyljodidu a 2 ekvivalenty uhličitanu draselného se současnou záměnou rozpouštědla na aceton (Schéma 14) došlo ke vzniku požadovaného produktu **23** z 12 %. Z tohoto důvodu byla vyzkoušena reakce 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **14** s 1,2 ekvivalentu methyljodidu a 1,2 ekvivalenty DIEA v mikrovlnném reaktoru (Schéma 14), kdy po 1,5 hodině při $150\text{ }^\circ\text{C}$ a 300 W nebyl pozorován vznik produktu **23**.

Jako poslední a poměrně úspěšnou metodou se ukázala být methylace 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **14** pomocí methyljodidu a hydridu sodného (Schéma 15), která již byla popsána přímo pro tento derivát.³¹ I přes to, že v průběhu reakce vznikalo značné množství nečistot, požadovaný produkt **23** vznikl jako majoritní látka a po přečištění pomocí flash chromatografie, kdy byla jako mobilní fáze využita směs petrolether:ethylacetát (19:1 v/v), byl získán ve výtěžku 20 %.

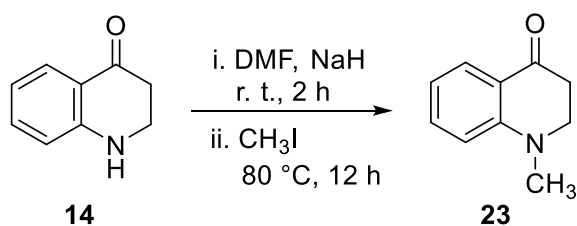


Schéma 15: Příprava 1-methyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **23**.

V případě 1-isobutyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **24** byla jako první také vyzkoušena metoda reaktivní aminace s isobutyraldehydem (Schéma 16). Na základě LC/MS analýzy byl potvrzen vznik požadovaného produktu **24**. V průběhu reakce docházelo k tvorbě značného množství neznámé vedlejší látky, jejíž strukturu se nepodařilo identifikovat. Kromě toho byla pozorována také částečná redukce ketoskupiny na hydroxyskupinu, způsobena pravděpodobně nadbytkem triacetoxyborohydridu sodného, která byla následně reoxidována přidáním Dess-Martinova činidla. Surový produkt **24** byl poté přečištěn pomocí flash chromatografie na silikagelu, jako mobilní fáze byl zvolen 100 % DCM. Produkt **24** byl získán ve výtěžku 10 %.

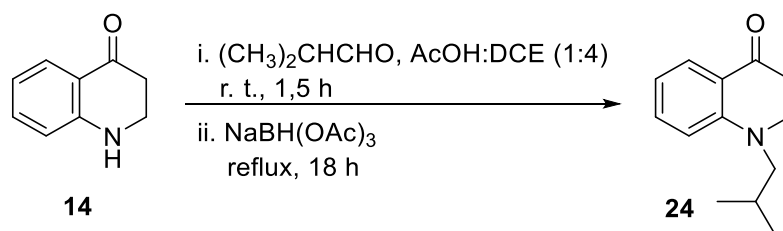


Schéma 16: Příprava 1-isobutyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **24**.

4.2. Příprava 1,2,3-selenadiazolů

Pro přípravu 1,2,3-selenadiazolů se vycházelo z připravených chinolinonů **14**, **15**, **18**, **23** a **24**, které byly nejprve převedeny na odpovídající semikarbazony, jež pak podlely cyklizaci působením oxidu seleničitého na jednotlivé 2,3-dihydrochinolin-1,2,3-selenadiazoly (Schéma 7).

4.2.1. Příprava semikarbazonů

K přípravě semikarbazonů **25-29** byla využita reakce příslušných 2,3-dihydrochinolin-4-onů **14**, **15**, **18**, **23** a **24** se semikarbazid hydrochloridem v přítomnosti octanu draselného v refluxující směsi ethanol:voda (1,7:1 v/v) (Schéma 17).

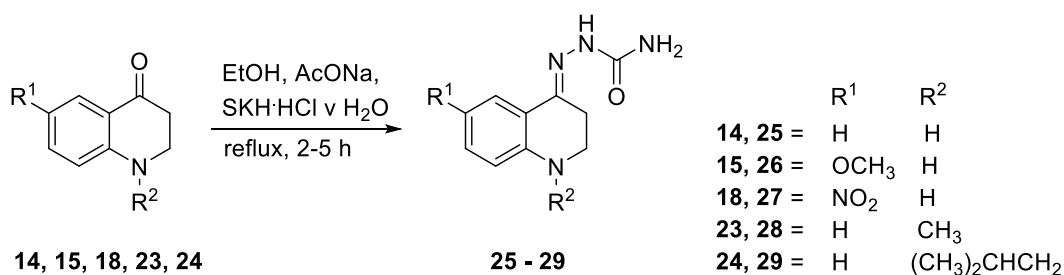


Schéma 17: Příprava jednotlivých semikarbazonů **25-29**.

Tento postup se ukázal jako úspěšný pro všechny typy připravených chinolinonů **14**, **15**, **18**, **23** a **24**. Pro jednotlivé deriváty bylo pouze nutné optimalizovat čas reakce. V případě substrátu **14** byla reakční doba, pro přípravu produktu **25**, optimalizována na 2 hodiny. V případě substrátu **15** však vznikalo po 3 hodinách jen nepatrné množství produktu **26**. Z tohoto důvodu bylo nutné přidat do reakční směsi další semikarbazid hydrochlorid. Požadované konverze bylo dosaženo po 4 hodinách. Podobné chování bylo zpozorováno i při přípravě semikarbazonů **27**, **28** a **29**. I v těchto případech bylo pro zvýšení konverze nutné přidat další semikarbazid hydrochlorid do reakční směsi. Reakční doba pro požadovanou konverzi byla 5 hodin pro chinolinon **18**, 3 hodiny pro chinolinon **23** a 4 hodiny pro chinolin **24**. Ve všech případech byly jednotlivé semikarbazony získány filtrací sraženiny vzniklé po odpaření ethanolu z reakční směsi. V tabulce 25 jsou shrnuty surové a izolované čistoty následované výtěžkem reakce pro všechny připravené deriváty semikarbazonů.

Nižší hodnota surové čistoty derivátu **25** a **26** byla způsobena tím, že kromě vzniklého produktu **25** a **26** bylo ve směsi přítomné i značné množství výchozí látky **14** a **15**. Prodloužením reakční doby docházelo ke vzniku značného množství nečistot. Z tohoto důvodu nebylo možné konverzi u těchto látek zvýšit. V případě *N*-alkyl semikarbazonů **28** a **29** opět docházelo s prodloužením reakční doby ke vzniku nečistot, a proto také nebylo možné konverzi u těchto látek zvýšit.

Tabulka 25: Tabulka hodnot surové čistoty směsi, izolované čistoty a výtěžku pro semikarbazony **25-30**.

Derivát	Surová čistota v %	Izolovaná čistota v %	Výtěžek v %
25	66	85	72
26	56	92	27
27	91	93	87
28	60	83	73
29	50	>99	47
30	56	97	70

Pro přípravu semikarbazonu **29** odvozeného od 1-isobutyl-2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onu **24** byla původně zkoušena zcela odlišná metoda za použití 1,5 ekvivalentu semikarbazid hydrochloridu ve směsi koncentrované kyseliny octové a vody (1:1 v/v). Na základě LC/MS bylo zjištěno, že ani po 3 hodinách míchání za laboratorní teploty nedošlo ke vzniku produktu **29**, a tak bylo do roztoku ještě jednou přidáno 1,5 ekvivalentu semikarbazid hydrochloridu. I přes to, že byla reakční směs míchána přes noc, došlo ke vzniku požadovaného produktu pouze z 38 %.

Tento způsob se však naopak ukázal jako úspěšný pro přípravu semikarbazonu **30** (Schéma 18). Již po 2 hodinách míchání za laboratorní teploty došlo ke kompletnímu odreagování výchozího chinolinonu **19**. Bohužel v průběhu reakce docházelo také ke vzniku drobných nečistot, které snížily surovou čistotu produktu na 56 % (tabulka 25).

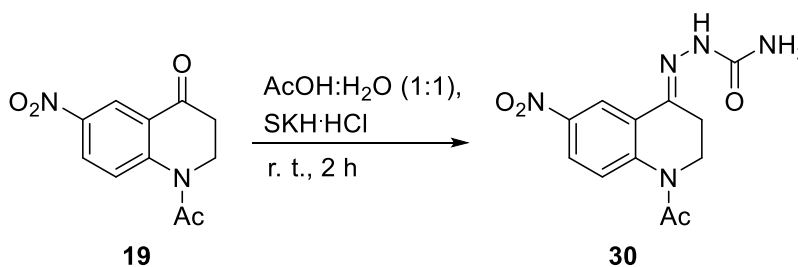


Schéma 18: Příprava semikarbazonu **30**.

4.2.2. Příprava 1,2,3-selenadiazolů

Pro přípravu 1,2,3-selenadiazolů odvozených od 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onů byla použita cyklizace pomocí oxidu seleničitého.⁸

Jako modelová sloučenina pro optimalizaci podmínek byl zvolen semikarbazon **25**. Cyklizace na odpovídající 1,2,3-selenadiazol **31** byla provedena v dioxanu,

do kterého byl přidán nasycený roztok oxidu seleničitého, při 55 °C. Jelikož po 2 hodinách, které by měly být pro reakci dostačující, nebyl v reakční směsi nalezen požadovaný produkt, byla přidána další dávka nasyceného roztoku oxidu seleničitého. Bohužel po 18 hodinách došlo pouze k hydrolyze výchozího semikarbazonu zpět na chinolinon **14**.

Z tohoto důvodu byla pro další experiment zvolena cyklizace semikarbazonu **25** v kyselině octové za laboratorní teploty. V tomto případě sice docházelo ke vzniku požadovaného produktu **31**, který byl však zastoupen pouze v minoritním množství vedle značného množství nečistot. Nakonec byla použita modifikace reakce, při které byl použit dioxan ve směsi s vodou (23 %) a následně byl do vzniklé směsi přidán oxid seleničitý v pevném stavu (Schéma 19). Po 3 hodinách při 55 °C bylo v reakční směsi přítomno 43 % produktu a opět docházelo ke zpětné hydrolyze semikarbazonu **25** na chinolinon **14** a vzniku dalších nečistot. Postupným prodloužením reakční doby se množství nečistot zvyšovalo na úkor produktu, proto byly 3 hodiny zvoleny jako optimální reakční čas. Surový produkt **31** byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu mobilní fází DCM:MeOH (19:1 v/v) a následně dočištěn mobilní fází hexan:ethylacetát (4:1 v/v). Výtěžek reakce je uveden v tabulce 26. Následná NMR analýza získaného produktu nicméně ukázala, že izolovanou sloučeninou nebyl 1,2,3-selenadiazol **31** z důvodu absence signálu NH a CH₂ skupiny. Místo toho byl v ¹H NMR spektru pozorován singlet při 9,90 ppm odpovídající izolované aromatické CH skupině. Izolovaná sloučenina byla následně identifikována jako plně aromatizovaný 1,2,3-selenadiazol **32**.

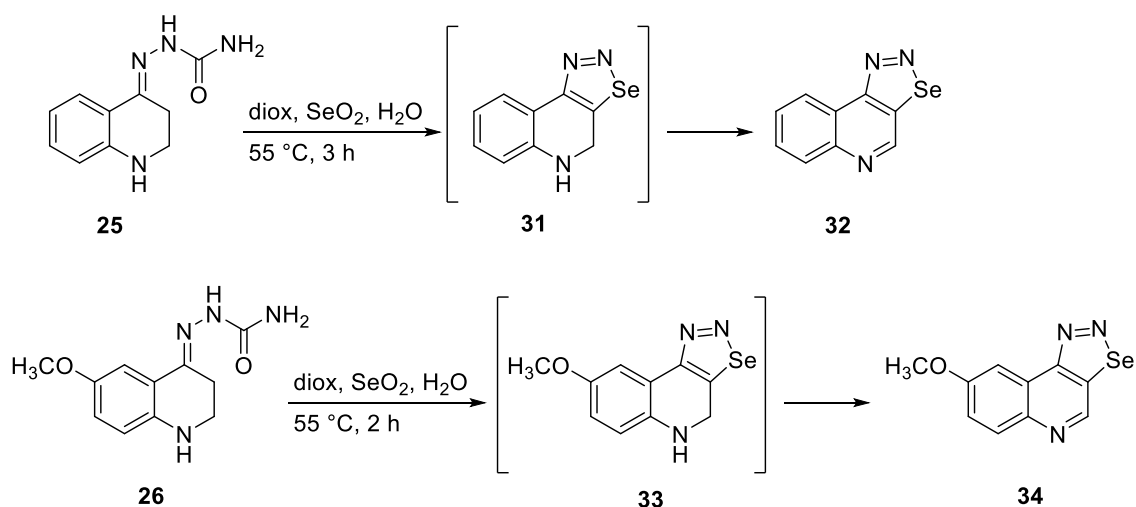


Schéma 19: Příprava 1,2,3-selenadiazolů **32** a **34**.

1,2,3-selenadiazol **33** byl připraven analogicky jako 1,2,3-selenadiazol **31** ve vodném dioxanu při 55 °C a projevoval analogické chování. Optimální reakční doba byla v případě tohoto derivátu o něco kratší (2 hodiny). Po přečištění 1,2,3-selenadiazolu **33** pomocí kapalinové chromatografie na silikagelu mobilní fází hexan:ethylacetát (3:2 v/v) bylo na základě NMR zjištěno, že i v tomto případě je konečným produktem plně aromatizovaný 1,2,3-selenadiazol **34**.

V případě nitroderivátu semikarbazonu **27** se bohužel cyklizace ve vodném dioxanu ukázala jako nevhodná, jelikož docházelo pouze k hydrolyze na chinolinon **18**. Z tohoto důvodu byla testována cyklizace v kyselině octové při 65 °C (Schéma 20). Na základě LC/MS analýzy byl pozorován vznik jediné sloučeniny, ale z důvodu velmi špatné ionizace nebylo možné určit, zdali se jedná o požadovaný produkt **35**. Vzniklá sloučenina byla izolována a přečištěna pomocí kapalinové chromatografie na silikagelu mobilní fází tvořenou 100 % DCM. Ačkoliv na základě HRMS i ⁷⁷Se NMR analýzy nebyla prokázána přítomnost selenu, ¹H i ¹³C NMR spektra jsou analogická, jako pro 1,2,3-selenadiazoly **32** a **34**. Na základě tohoto důvodu bylo usouzeno, že opět dochází ke vzniku plně aromatizovaného 1,2,3-selenadiazolu **36**. Opakovaným měřením NMR bylo zjištěno, že sloučenina **36** podléhá i přes uchování v chladu kompletnímu rozkladu, což může být příčinou nemožnosti stanovení přesné hmoty pomocí HRMS.

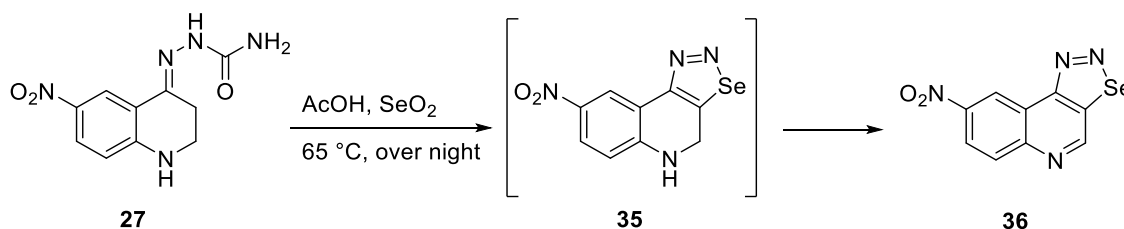


Schéma 20: Příprava 8-nitro-1,2,3-selenadiazol-[5,4-c]-chinolinu **36**.

Dále byly hledány podmínky pro přípravu 1,2,3-selenadiazolu **37**. Cyklizace semikarbazonu **30** ve vodném dioxanu při 55 °C nevedla ke vzniku požadovaného produktu. Z tohoto důvodu byla zvýšena teplota na 70 °C, ale ani tak k reakci nedošlo. Neúspěšná byla také cyklizace v kyselině octové, kdy reakce neprobíhala jak při 55 °C, tak ani při zvýšení teploty na 70 °C. V dalším experimentu byla k semikarbazonu **30** přidána směs kyseliny octové v DMF (1:4 v/v) a poté oxid seleničitý, reakční směs byla zahřívána na 50 °C. K reakci nedošlo ani po 18 hodinách při uvedené teplotě. Modifikací této metody byla reakce za použití směsi vody v DMF (1:4 v/v) a oxidu

seleničitého. Reakce běžela přes noc při 70 °C, ale opět nedocházelo ke vzniku požadovaného produktu **37** (Schéma 21).

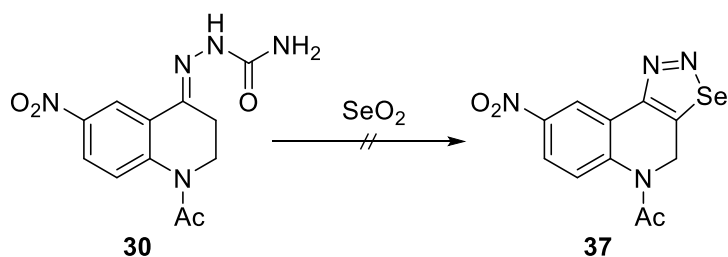


Schéma 21: Neúspěšná příprava 1,2,3-selenadiazolu **37**.

Příprava 1,2,3-selenadiazolů alkylovaných derivátů **38** a **40** probíhala stejným způsobem jako u derivátu **31** a **33**, tedy cyklizací oxidem seleničitým ve vodném dioxanu při 55 °C. Pro *N*-methyl derivát **38** byla reakční doba 2 hodiny, avšak po hodině od začátku reakce, bylo nutné do suspenze ještě jednou přidat určité množství oxidu seleničitého, jelikož nedocházelo ke vzniku produktu **38** (Schéma 22). V případě *N*-isobutyl derivátu **40** reakce běžela nejkratší dobu, a to 1,5 hodiny (Schéma 22).

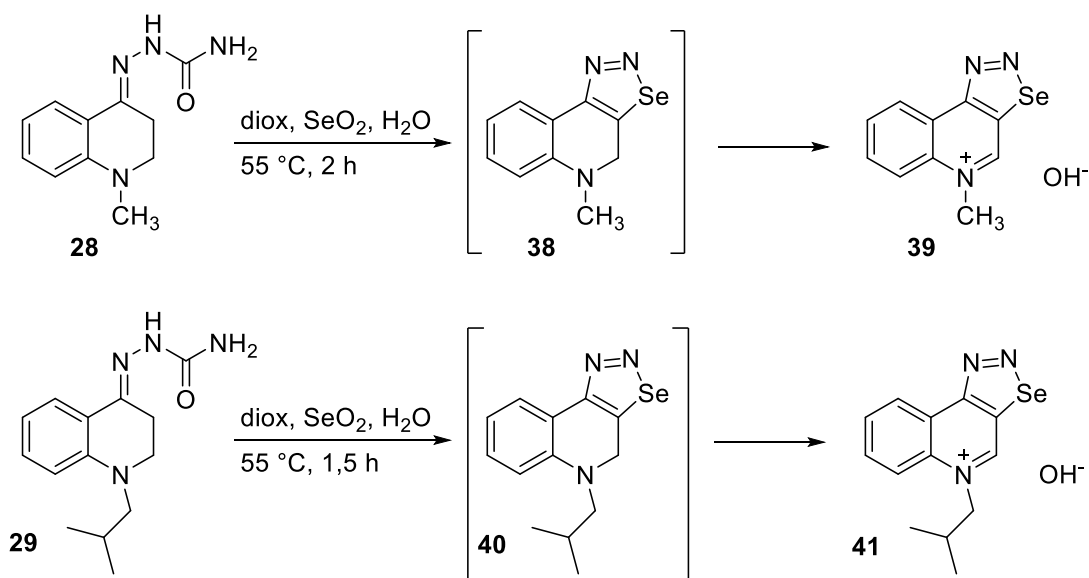


Schéma 22: Příprava 1,2,3-selenadiazolu **39** a **41**.

Oba alkylované 1,2,3-selenadiazoly **38** a **40** vykazovaly zcela odlišné vlastnosti oproti 1,2,3-selenadiazolům **31**, **33** a **35**. Ačkoliv se jedná o lipofilní sloučeniny, na LC/MS se projevovaly jako polární látky tvořící široký pík s retenčním časem 1,17 minut pro **38** a 1,91 minut pro **40**. Kromě toho byly obě sloučeniny rozpustné ve vodě a tak je nebylo možné efektivně extrahovat do žádného organického rozpouštědla.

Na základě HRMS analýzy bylo zjištěno, že i u těchto derivátů dochází k aromatizaci, která v tomto případě vede ke tvorbě kladně nabitého chinolinového dusíku (Schéma 22). Z tohoto důvodu byly surové sloučeniny **39** a **41** čištěny pomocí semipreparativní HPLC. Ačkoliv tato metoda umožnila izolovat čisté sloučeniny, nepodařilo se 1,2,3-selenadiazoly **39** a **41** získat z důvodu jejich rychlého rozkladu na neznámé sloučeniny po zlyofilizování použitých rozpouštědel. 1,2,3-selenadiazol **39** byl následně získán suspendováním surového produktu v DMSO, ve kterém došlo k rozpuštění přítomných nečistot. Požadovaný produkt byl zfiltrován ve formě sraženiny, která byla poté dosušena pomocí lyofilizátoru. NMR spektra potvrzující strukturu **39** bylo následně nutné měřit z důvodu rozpustnosti v D₂O.

Tabulka 26: Tabulka hodnot surové čistoty směsi, izolované čistoty a výtěžku pro deriváty **32**, **34**, **36**, **37**, **39** a **41**.

Derivát	Surová čistota v %	Izolovaná čistota v %	Výtěžek v %
32	43	84	18
34	40	99	14
36	72	92	31
37	-	-	-
39	99	>99	24
41	85	rozloženo	-

- = nedoděláno

4.3. Biologická aktivita

Připravené deriváty semikarbazonů **25-30** a deriváty 1,2,3-selenadiazolů **32**, **34**, **36** a **39** byly testovány na svoji antibakteriální aktivitu pomocí metody difúzního disku na agarové půdě. Antibakteriální aktivita byla měřena proti dvěma druhům gram-pozitivních bakterií, a to proti *Bacillus subtilis* žijícího běžně v půdě, a proti *Micrococcus luteus*, který se též běžně vyskytuje v půdě a je i součástí normální mikroflóry savčí kůže a sliznic.

Výstupem měření byl průměr inhibiční zóny v mm. U sloučenin vykazujících inhibiční zónu větší jak 20 mm pak byla stanovena hodnota minimální inhibiční koncentrace (MIC) v μM.

Výsledky studie shrnuje tabulka 27, z níž je patrné, že semikarbazony **25-29** nevykazovaly žádnou aktivitu vůči *Bacillus subtilis*; mírná aktivita vůči *Micrococcus*

luteus byla pozorována pro semikarbazony **25** a **26**. V případě semikarbazonu **30** pak dochází k silné inhibici *Bacillus subtilis*, nicméně následně měřená hodnota MIC neposkytla zajímavý výsledek (Tabulka 27). 1,2,3-selenadiazoly **32**, **34** a **36** vykazovaly mírnou aktivitu vůči *Bacillus subtilis*, sloučeniny **32** a **34** pak střední až silnou aktivitu vůči *Micrococcus luteus*. Měření MIC pak poskytlo významné hodnoty pro oba testované deriváty **32** (1,56 μM) a **34** (6,25 μM). 1,2,3-selenadiazol **39** jako jediný vykazoval silnou aktivitu proti oběma kmenům bakterií, bohužel hodnoty MIC byly v obou případech vysoké (Tabulka 27).

Tabulka 27: Antibakteriální aktivita připravených derivátů semikarbazonů **25-30** a 1,2,3-selenadiazolů **32, 34, 36** a **39**.

Sloučenina	Inhibiční zóna (mm)		MIC (μM)	
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
25	0	12	>200	>200
26	0	12	>200	>200
27	0	0	>200	>200
28	0	0	>200	>200
29	0	0	>200	>200
30	23	12	100	>200
32	17	28	>200	1,56
34	15	20	>200	6,25
36	15	18	>200	>200
39	34	24	50	25

MIC = minimální inhibiční koncentrace v μM

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5. 1. Metody

HPLC/MS analýzy byly provedeny za použití UHPLC/MS systému, složeného z UHPLC chromatografu Acquity s detektorem fotodiodového pole a jednoduchého kvadrupólového hmotnostního spektrometru Waters, za použití kolony X-Select C18 při teplotě 30 °C s průtokovou rychlostí 600 $\mu\text{l}/\text{min}$. Mobilní fáze se skládala z (A) octanu amonného ve vodě (0,01 mol/dm^3) a (B) acetonitrilu s lineárně programovaným gradientem rostoucím v průběhu 2,5 minut a udržovaným po dobu 1,5 minuty. Kolona byla ekvilibrována použitím 10 % roztoku (B) po dobu 1 minuty. Zdroj APCI byl nastaven na vybíjecí proud 5 μA , odpařovací teplotu 350 °C a kapilární teplotu 200 °C.

Čistota sloučeniny byla stanovena jako poměr plochy daného píku k celkové ploše všech píků v dané reakční směsi.

Čištění bylo provedeno pomocí semipreparativní HPLC, Waters 1500 vybavené Autosamplerm 2707, binárním HPLC čerpadlem 1525, Waters detektorem diodového pole 2998 a Waters sběračem frakcí III s kolonou s reverzní fází YMC C18 o velikosti 20 x 100 mm s průměrem částic o velikosti 5 μm . Mobilní fáze se skládala z acetonitrilu a octanu amonného ve vodě (10 mmol/dm^3) s gradientem rostoucím po dobu 6 minut.

NMR spektra byla měřena v roztoku DMSO – d_6 a D_2O na spektrometru Jeol ECX – 500 (500 MHz). Hodnoty chemického posunu δ jsou vyjádřeny v jednotkách ppm a hodnoty interakční konstanty J v Hz.

HRMS analýza byla provedena pomocí LC/MS využívající Orbitrap hmotnostní spektrometr s vysokým rozlišením (Dionex Ultimate 3000, Thermo Exactive plus, MA, USA) pracující v pozitivním skenovacím módu v rozmezí 100 – 500 m/z . Nastavení pro ionizaci elektrosprejem bylo následující: teplota zdroje 150 °C, napětí zdroje 3,6 kV. Data byla kalibrována pomocí vnitřního standardu ftalátu jako kontaminantu methanolu (m/z 297.15909). Vzorky byly zředěny na koncentraci 0,1 mg/ml v acetonitrilu. Vzorky byly injektovány do hmotnostního spektrometru přes autosampler po HPLC separaci: kolona Kinetex 2,6 μm C18, 100 A, 50 x 3,0 mm. Mobilní fáze byla složena ze směsi acetonitril/isopropyl alkohol/0,01 M octan amonný 40/5/55, průtok 0,3 ml/min .

Podrobné postupy přípravy a analytická data pro 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-ony **14**^{26,27,28}, **15**^{26,27,28}, **18**³⁰ a **23**³¹ jsou popsány v literatuře.

5. 2. Přípravy jednotlivých sloučenin

1-isobutyl-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **24**

K 2,3-dihydrochinolin-4(1H)-onu **14** (0,944 g; 6,42 mmol) byl postupně přidán isobutyraldehyd (0,7 ml; 7,70 mmol) a roztok koncentrované kyseliny octové (6 ml) v bezvodém DCE (24 ml). Roztok byl míchán po dobu 1,5 hodiny za laboratorní teploty. Po uplynutí uvedené doby byl do roztoku přidán triacetoxyborohydrid sodný (1,630 g; 7,70 mmol) a směs byla refluxována při 55 °C v olejové lázni po dobu 18 hodin. Poté byl roztok neutralizován nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (80 ml) a vzniklá dvoufázová směs byla míchána při laboratorní teplotě 1 hodinu. Organická fáze byla následně extrahována 3x 50 ml nasyceného roztoku hydrogenuhličitanu draselného, vysušena bezvodým síranem hořečnatým a odpařena na vakuové odparce. Odparek (0,719 g; 3,54 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém DCM (7 ml) pod inertní atmosférou dusíku. Do roztoku bylo poté přidáno oxidační činidlo Dess-Martin perjodinan (1,800 g; 4,25 mmol). Surová červeno-hnědá olejovitá kapalina byla přečištěna pomocí flash chromatografie na silikagelu, jako mobilní fáze byl zvolen 100 % DCM. Produkt **24** byl získán ve formě žluté olejovité kapaliny. Výtěžek reakce byl 0,133 g (10 %).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0.95 (d, *J*=6.59 Hz, 6 H) 2.00 (dt, *J*=13.53, 6.84 Hz, 1 H) 2.57 (t, *J*=1.00 Hz, 2 H) 3.14 (d, *J*=7.45 Hz, 2 H) 3.49 - 3.54 (m, 2 H) 6.61 (ddd, *J*=7.73, 7.02, 0.86 Hz, 1 H) 6.82 (dd, *J*=8.59, 0.29 Hz, 1 H) 7.35 (ddd, *J*=8.59, 7.02, 1.86 Hz, 1 H) 7.66 (ddd, *J*=7.88, 1.86, 0.29 Hz, 1 H). ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 20.05, 26.81, 37.19, 49.02, 58.14, 113.15, 115.30, 118.46, 127.28, 135.15, 151.50, 192.62. HRMS *m/z* pro C₁₃H₁₈NO: 204.1383, nalezeno 204.1384 [M + H]⁺.

2-(2,3-dihydrochinolin-4(1H)-yliden)hydrazinkarboxamid **25**

2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **14** (0,850 g; 5,77 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (9 ml). K připravenému roztoku byl přidán bezvodý octan sodný (1,141 g; 13,90 mmol). Do vzniklé suspenze byl následně vpraven roztok semikarbazid hydrochloridu (0,628 g; 5,63 mmol) v destilované vodě (14 ml). Směs byla refluxována při 100 °C v olejové lázni po dobu 2 hodin. Po ochlazení a zahuštění roztoku na vakuové odparce došlo k vyloučení sraženiny, která byla poté odfiltrována a promyta destilovanou vodou.

Produkt **25** byl získán ve formě světle žlutých jehliček. Výtěžek reakce byl 518 mg (72 %).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.58 (t, $J=6.52$ Hz, 2 H) 3.15 (t, $J=5.80$ Hz, 2 H) 5.98 (br. s., 1 H) 6.44 (br. s., 2 H) 6.56 (t, $J=7.45$ Hz, 1 H) 6.62 (d, $J=8.02$ Hz, 1 H) 7.01 (td, $J=8.31, 1.15$ Hz, 1 H) 7.96 (d, $J=7.45$ Hz, 1 H) 9.17 (s, 1 H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 25.61, 39.81, 115.77, 117.29, 118.80, 125.27, 129.90, 142.67, 148.56, 158.01. HRMS m/z pro $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}$: 205.1084, nalezeno 205.1085 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

2-(6-methoxy-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-yliden)hydrazinkarboxamid **26**

6-methoxy-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **15** (0,193 g; 1,09 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (2 ml). K připravenému roztoku byl přidán bezvodý octan sodný (0,218 g; 2,66 mmol). Do vzniklé suspenze byl následně vpraven roztok semikarbazid hydrochloridu (0,120 g; 1,08 mmol) v destilované vodě (3 ml). Směs byla refluxována při 100 °C v olejové lázni po dobu 4 hodin. Po 3 hodinách, od začátku reakce, byl do směsi ještě jednou přidán ethanol (2 ml) a roztok semikarbazid hydrochloridu (0,120 g; 1,08 mmol) v destilované vodě (3 ml). Po ochlazení a zahuštění roztoku na vakuové odparce došlo k vyloučení sraženiny, která byla poté odfiltrována a promyta destilovanou vodou. Produkt **26** byl získán ve formě světle žlutých jehliček. Výtěžek reakce byl 70 mg (27 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.54 (t, $J=6.49$ Hz, 2 H) 3.10 (t, $J=6.49$ Hz, 2 H) 3.69 (s, 3 H) 5.65 (s, 1 H) 6.48 (br. s., 2 H) 6.59 (d, $J=8.77$ Hz, 1 H) 6.70 (dd, $J=8.77, 2.92$ Hz, 1 H) 7.48 (d, $J=2.92$ Hz, 1 H) 9.11 (s, 1 H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 25.41, 39.82, 55.49, 107.71, 116.62, 117.75, 118.79, 142.31, 142.81, 151.39, 157.40. HRMS m/z pro $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_2$: 235.1190, nalezeno 235.1190 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

2-(6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-yliden)hydrazinkarboxamid **27**

6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **18** (0,482 g; 2,50 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (4 ml). K připravenému roztoku byl přidán bezvodý octan sodný (0,500 g; 6,10 mmol). Do vzniklé suspenze byl následně vpraven roztok semikarbazid hydrochloridu (0,275 g; 2,47 mmol) v destilované vodě (6 ml). Směs byla refluxována při 100 °C v olejové lázni po dobu 5 hodin. Po 4 hodinách, od začátku reakce, byl do směsi ještě jednou přidán semikarbazid hydrochlorid (0,275 g; 2,47 mmol). Po ochlazení byla suspenze

zfiltrována a sraženina byla promyta destilovanou vodou. Produkt **27** byl získán ve formě oranžové pevné látky. Výtěžek reakce byl 0,545 g (87 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.65 (t, $J=6.49$ Hz, 2 H) 3.29 – 3.34 (m, 1 H) 6.54 (br. s., 2 H) 6.71 (d, $J=9.08$ Hz, 1 H) 7.63 (br. s., 1 H) 7.89 (dd, $J=9.08, 2.59$ Hz, 1 H) 8.68 (d, $J=2.59$ Hz, 1 H) 9.45 (s, 1 H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 23.14, 38.29, 114.47, 116.53, 121.36, 125.22, 136.85, 140.04, 152.36, 157.19. HRMS m/z pro $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_3$: 250.0935, nalezeno 250.0935 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

2-(1-methyl-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-yliden)hydrazinkarboxamid 28

1-methyl-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **23** (0,182 g; 1,13 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (2 ml). K připravenému roztoku byl přidán bezvodý octan sodný (0,226 g; 2,76 mmol). Do vzniklé suspenze byl následně vpraven roztok semikarbazid hydrochloridu (0,124 g; 1,11 mmol) v destilované vodě (3 ml). Směs byla refluxována při 100 °C v olejové lázni po dobu 3 hodin. Po 2 hodinách, od začátku reakce, byl do směsi ještě jednou přidán semikarbazid hydrochlorid (0,124 g; 1,11 mmol). Po ochlazení a zahuštění roztoku na vakuové odparce došlo k vyloučení sraženiny, která byla poté odfiltrována a promyta destilovanou vodou. Produkt **28** byl získán ve formě světle žlutých jehliček. Výtěžek reakce byl 0,180 g (73 %).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.68 (t, $J=6.44$ Hz, 2 H) 2.82 (s, 3 H) 3.12 (t, $J=6.44$ Hz, 2 H) 6.48 (br. s., 2 H) 6.66 - 6.72 (m, 2 H) 7.14 - 7.19 (m, 1 H) 8.06 (dd, $J=7.88, 1.43$ Hz, 1 H) 9.20 (s, 1 H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 25.70, 39.81, 49.05, 112.68, 117.38, 120.11, 124.62, 129.79, 141.87, 148.73, 157.41. HRMS m/z pro $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}$: 219.1240, nalezeno 219.1241 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

2-(1-isobutyl-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-yliden)hydrazinkarboxamid

29

1-isobutyl-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **24** (0,133 g; 0,66 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (2 ml). K připravenému roztoku byl přidán bezvodý octan sodný (0,131 g; 1,60 mmol). Do vzniklé suspenze byl následně vpraven roztok semikarbazid hydrochloridu (0,072 g; 0,65 mmol) v destilované vodě (2 ml). Směs byla refluxována při 100 °C v olejové lázni po dobu 4 hodin. Po 3 hodinách, od začátku reakce, byl do směsi ještě jednou přidán semikarbazid hydrochlorid (0,072 g; 0,65 mmol). Po ochlazení a zahuštění roztoku na vakuové odparce došlo k vyloučení sraženiny, která

byla poté odfiltrována a promyta destilovanou vodou. Produkt **29** byl získán ve formě světle žlutých jehliček. Výtěžek reakce byl 80 mg (47 %).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0.92 (d, $J=6.59$ Hz, 6 H) 1.95 (dt, $J=13.53$, 6.84 Hz, 1 H) 2.63 (t, $J=6.44$ Hz, 2 H) 3.01 (d, $J=7.45$ Hz, 2 H) 3.23 (t, $J=6.44$ Hz, 2 H) 6.44 (br. s., 2 H) 6.59 (t, $J=7.45$ Hz, 1 H) 6.67 (d, $J=8.59$ Hz, 1 H) 7.09 - 7.14 (ddd, $J=8.59$, 7.02, 1.72 Hz, 1 H) 8.03 (dd, $J=8.02$, 1.72 Hz, 1 H) 9.19 (s, 1 H). ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 20.18, 25.12, 26.63, 47.86, 58.50, 112.06, 116.11, 119.05, 125.04, 129.77, 142.24, 147.33, 157.45. HRMS m/z pro $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}$: 261.1710, nalezeno 261.1711 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

2-(1-acetyl-6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-yliden)hydrazinkarboxamid 30

1-acetyl-6-nitro-2,3-dihydrochinolin-4(1H)-on **19** (0,797 g; 3,40 mmol) byl rozpuštěn ve směsi koncentrované kyseliny octové v destilované vodě v poměru 1:1 (8 ml). Následně byl k takto připravenému roztoku přidán semikarbazid hydrochlorid (0,455 g; 4,08 mmol). Roztok byl míchán při laboratorní teplotě po dobu 2 hodin. Poté byla vyloučená sraženina zfiltrována a promyta destilovanou vodou. Produkt **30** byl získán ve formě světle žlutých jehliček. Výtěžek reakce byl 0,698 g (70 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2.26 (s, 3 H) 2.77 (t, $J=6.20$ Hz, 2 H) 3.89 (t, $J=6.20$ Hz, 2 H) 6.71 (br. s., 2 H) 7.77 (d, $J=9.02$ Hz, 1 H) 8.10 (dd, $J=9.02$, 2.76 Hz, 1 H) 8.93 (d, $J=2.76$ Hz, 1 H) 9.55 (s, 1 H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 22.95, 26.91, 41.73, 120.09, 122.71, 125.60, 127.92, 139.06, 144.43, 144.53, 156.85, 169.09. HRMS m/z pro $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_4$: 292.1040, nalezeno 292.1039 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

1,2,3-selenadiazol-[5,4-c]-chinolin 32

Semikarbazon **25** (0,370 g; 1,81 mmol) byl rozsuspendován v dioxanu (3 ml), ke vzniklé suspenzi byl přidán oxid seleničitý (0,422 g; 3,80 mmol) a následně destilovaná voda (1,2 ml). Suspenze byla míchána v olejové lázni nastavené na 55 °C po dobu 3 hodin. Poté byla suspenze naředěna destilovanou vodou (20 ml) a DCM (20 ml) a zfiltrována. Výsledný surový produkt červeno-hnědé barvy byl přítomen jak ve vzniklé sraženině, tak i ve zbylém filtrátu. Filtrát byl dále extrahován 6x 30 ml DCM. Spojené dichlometanové extrakty byly vysušeny bezvodým síranem hořečnatým a odpařeny na vakuové odparce. Získaný odparek byl společně se

sraženinou přečištěn metodou sloupcové chromatografie na silikagelu, jako mobilní fáze byla nejprve použita směs DCM:MeOH (19:1 v/v). Pro konečné dočištění produktu byla provedena sloupcová chromatografie s použitím mobilní fáze hexan:ethylacetát (4:1 v/v). Produkt **32** byl získán ve formě světle oranžové pevné látky. Výtěžek reakce byl 78 mg (18 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7.92 - 7.97 (m, 2 H) 8.28 - 8.33 (m, 1 H) 9.02 - 9.06 (m, 1 H) 9.90 (s, 1 H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 122.76, 124.00, 129.24, 129.34, 129.72, 139.82, 145.31, 147.02, 158.80. HRMS m/z pro $\text{C}_9\text{H}_6\text{N}_3\text{Se}$: 235.9721, nalezeno 235.9721 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

8-methoxy-1,2,3-selenadiazol-[5,4-c]-chinolin 34

Semikarbazon **26** (0,059 g; 0,25 mmol) byl rozsuspendován v dioxanu (1 ml), ke vzniklé suspenzi byl přidán oxid seleničitý (0,059 g; 0,53 mmol) a následně destilovaná voda (0,17 ml). Suspenze byla kontinuálně promíchávána v olejové lázni při 55 °C po dobu 2 hodin. Poté byla suspenze naředěna destilovanou vodou (10 ml) a DCM (10 ml). Roztok byl dále extrahován 7x 15 ml DCM. Spojené dichlometanové extrakty byly vysušeny bezvodým síranem hořečnatým a odpařeny na vakuové odparce. Pevný surový produkt červeno-hnědé barvy byl přečištěn metodou sloupcové chromatografie na silikagelu, jako mobilní fáze byla zvolena směs hexan:ethylacetát (3:2 v/v). Produkt **34** byl získán ve formě světle oranžové pevné látky. Výtěžek reakce byl 9 mg (14 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 4.03 (s, 3 H) 7.55 (dd, $J=9.08, 2.85$ Hz, 1 H) 8.21 (d, $J=9.08$ Hz, 1 H) 8.36 (d, $J=2.85$ Hz, 1 H) 9.71 (s, 1 H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 55.89, 102.84, 121.13, 124.27, 131.02, 140.03, 141.12, 143.88, 158.45, 159.27. HRMS m/z pro $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3\text{OSe}$: 266.9911, nalezeno 265.9812 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

8-nitro-1,2,3-selenadiazol-[5,4-c]-chinolin 36

Semikarbazon **27** (0,205 g; 0,82 mmol) byl rozsuspendován v koncentrované kyselině octové (15 ml) a ke vzniklé suspenzi byl přidán oxid seleničitý (0,100 g; 0,91 mmol). Suspenze byla míchána na olejové lázni při teplotě 65 °C. Po 2 hodinách, od začátku reakce, byl do směsi ještě jednou přidán oxid seleničitý (0,100 g; 0,91 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě 65 °C další dvě hodiny. Poté byla suspenze naředěna destilovanou vodou (15 ml) a vzniklá sraženina byla odfiltrována a promyta vodou.

Surový produkt byl následně přečištěn metodou sloupcové chromatografie na silikagelu s mobilní fází složenou ze 100 % DCM. Produkt **36** byl získán ve formě hnědočervené amorfni pevné látky. Výtěžek reakce byl 72 mg (31 %).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.51 (d, $J=9.20$ Hz, 1 H) 8.64 (dd, $J=9.20$, 2.60 Hz, 1 H) 9.73 (dd, $J=2.58$, 0.57 Hz, 1 H) 10.08 (s, 1 H) ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 120.30, 122.25, 123.21, 131.38, 141.62, 146.26, 147.25, 151.02, 158.73.

5-methyl-1,2,3-selenadiazolo-[5,4-*c*]-chinolin-5-ium hydroxide 39

Semikarbazon **28** (0,160 g; 0,73 mmol) byl rozsuspendován v dioxanu (2 ml), ke vzniklé suspenzi byl přidán oxid seleničitý (0,170 g; 1,54 mmol) a následně destilovaná voda (0,205 ml). Suspenze byla kontinuálně promíchávána v olejové lázni při 55 °C po dobu 2 hodin. Po hodině, od začátku reakce, byl do směsi ještě jednou přidán oxid seleničitý (0,170 g; 1,54 mmol). Poté byla suspenze naředěna destilovanou vodou (10 ml) a DCM (10 ml). Roztok byl dále extrahován 4x 15 ml DCM. Selenadiazol přešel do vodné fáze, která byla poté zfiltrována kvůli přebytečnému selenu a filtrát byl zlyofilizován. Pevný surový produkt tmavě hnědé barvy byl suspendován v DMSO a zfiltrován. Sraženina byla rozpuštěna ve vodě a vysušena pomocí lyofilizátoru. Produkt **39** byl získán ve formě tmavě hnědé pevné látky. Výtěžek reakce byl 42 mg (24 %).

^1H NMR (500 MHz, DEUTERIUM OXIDE) δ ppm 4.69 (s, 3 H) 8.18 (t, $J=8.02$ Hz, 1 H) 8.22 (t, $J=7.50$ Hz, 1 H) 8.49 (d, $J=7.50$ Hz, 1 H) 9.26 (d, $J=8.02$ Hz, 1 H) 10.22 (s, 1 H). ^{13}C NMR (126 MHz, DEUTERIUM OXIDE) δ ppm 46.81, 119.36, 124.08, 126.40, 132.48, 133.99, 137.22, 137.74, 149.07, 159.93. HRMS m/z pro $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_3\text{Se}^+$: 249.9878, nalezeno 249.9878 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

6. ZÁVĚR

Cílem předložené bakalářské práce bylo připravit 1,2,3-selenadiazoly odvozené od 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onů a podrobit tyto sloučeniny testování na antibakteriální aktivitu *in vitro*.

Nejprve byla provedena příprava derivátů 2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)-onů, které byly substituovány na aromatickém jádře skupinami dodávající či odčerpávajícími ze systému elektrony. Cílem bylo též připravit deriváty substituované na dusíkovém atomu. Tyto chinolinony byly poté převedeny nukleofilní substitucí na odpovídající semikarbazony, které byly následně cyklizovány oxidem seleničitým za vzniku 1,2,3-selenadiazolů.

2,3-dihydrochinolin-4(1*H*)ony **14**, **15**, **23** a **24** byly úspěšně připraveny pomocí v literatuře popsaných postupů. Komplikovanější bylo najít vhodné podmínky pro přípravu nitroderivátu **18**. Metoda využívající Friesův přesmyk, použitá pro přípravu chinolinonů **14** a **15**, je pro přípravu tohoto dezaktivovaného systému neúčinná. Nakonec se jako úspěšná ukázala metoda využívající 2-chloro-5-nitrobenzoovou kyselinu, β -alanin a octan měďnatý jako katalyzátor.

Připravené chinolinony byly následně poměrně jednoduchým způsobem převedeny na odpovídající semikarbazony **25-30**, které byly po filtraci získány ve formě jehliček o vysoké čistotě.

Největší pozornost pak byla věnována přípravě 1,2,3-selenadiazolů. Příprava jednotlivých derivátů byla poměrně komplikovaná, jelikož úspěšné přípravě předcházela řada neúspěšných pokusů. U derivátů **31** a **33** bylo na základě NMR analýzy zjištěno, že sloučeniny vytvářejí plně aromatizovaný systém **32** a **34**. K aromatizaci docházelo také u alkylovaných 1,2,3-selenadiazolů, které byly izolovány ve formě soli **39** a **41**. Po jejich přečištění pomocí semipreparativní HPLC a lyofilizaci se obě látky bohužel rychle rozkládaly. Derivát **39** se podařilo izolovat pomocí jeho suspendování v DMSO. 1,2,3-selenadiazol **41** se bohužel izolovat nepodařilo. Syntéza 1,2,3-selenadiazolů obsahujících na aromatickém jádře nitro skupinu se obecně ukázala jako nejkomplikovanější. Ačkoliv derivát **36** se podařilo úspěšně připravit, v případě derivátu **37** bylo vyzkoušeno několik různých metod, ale ani jedna nevedla k tvorbě požadovaného produktu.

Všech šest připravených semikarbazonů **25-30** a 1,2,3-selenadiazoly **32, 34, 36** a **39** byly na závěr testovány na svoji antibakteriální aktivitu *in vivo*. Ačkoliv jednotlivé semikarbazony vykazovaly pouze slabou či žádnou antibakteriální aktivitu, v případě 1,2,3-selenadiazolů byla pozorována střední až vysoká aktivita pro všechny připravené deriváty. U 1,2,3-selenadiazolů **32** a **34** pak byla zaznamenána významná hodnota minimální inhibiční koncentrace proti bakterii *Micrococcus luteus*. Uvedené výsledky naznačují, že kombinací chinolinu a 1,2,3-selenadiazolu lze získat sloučeniny se zajímavou antibakteriální aktivitou.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Jadhav, A. A.; Dhanwe, V. P.; Joshi, P. G.; Khanna, P. K.; *Chem. Heterocycl. Compd.* **2015**, *51(1)*, 102 – 106.
2. Arsenyan, P.; Rubina, K.; Shestakova, I.; Domracheva, I.; *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 635 – 640.
3. Karnik, A. V.; Kulkarni, A. M., Malviya, N. J.; Mourya, B. R.; Jadhev, B. L.; *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 2615 – 2617.
4. Zhan, P.; Liu, X.; Fang, Z.; Pannecouque, C.; De Clercq, E.; *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6374 – 6379.
5. Chitra, S.; Paul, N.; Muthusubramanian, S.; Manisankar, P.; Yogeeswari, P.; Sriram, D.; *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5465 – 5472.
6. El-Desoky, S. I.; Badria, F. A.; Abozeid, M. A.; *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 2105 – 2114.
7. Pawar, M. J.; Burungale, A. B.; Karale, B. K.; *ARKIVOC* **2009**, *8*, 97 – 107.
8. Todres Z. V.; *Chalcogenadiazoles: Chemistry and Applications.*: CRC Press **2012**, 290 s. ISBN 978-1-4200-6607-4.
9. Suchar, G.; Kristian, P.; *Chem. Zvesti* **1975**, *29 (2)*, 244 - 249.
10. Lalezari, I.; Shafiee, A.; Yalpani, M.; *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 338 - 340.
11. Hurd, C. D.; Mori, R. I.; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 5359 - 5364.
12. Al-Smadi, M.; Ratrou, S.; *Molecules* **2004**, *9*, 957 - 967.
13. Jalilian, A. R.; Sattari, S.; Bineshmarvasti, M.; Daneshtalab, M.; Shafiee, A.; *Farmaco* **2003**, *58*, 63 – 68.
14. Balasankar, T.; Gopalakrishnan, M.; Nagarajan, S.; *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2007**, *22 (2)*, 171 – 175.
15. Shinde, A. D.; Sonar, S. S.; Shingate, B. B.; Shingare, M. S.; *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2010**, *185*, 1594 – 1603.
16. Padmavathi, V.; Mahesh, K.; Mohan, A. V. N.; Padmaja, A.; *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, *57 (6)*, 561 – 566.
17. Al-Smadi, M.; Al-Momani, F.; *Molecules* **2008**, *13*, 2740 – 2749.
18. Padmavathi, V.; Mahesh, K.; Subbaiah, D. R. C. V.; Padmaja, A.; *Heteroat. Chem.* **2008**, *19 (3)*, 261 – 265.

19. Gopalakrishnan, M.; Sureshkumar, P.; Thanusu, J.; Kanagarajan, V.; *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2008**, *23* (3), 347 – 351.
20. Mandour, A. H.; El-Shihi, T. H.; Nehad, A. A. L.; El-Bazza, Z. E.; *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1996**, *113*, 155 – 163.
21. Bassyouni, F. A.; Abu-Baker, S. M.; Mahmoud, K.; Moharam, M.; El-Nakkady, S. S.; Rehim, M. A.; *RSC Adv.* **2014**, *4*, 24131 – 24141.
22. Atta, S. M. S.; Farrag, D. S.; Sweed, A. M. K.; Abdel-Rahman, A. H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4920 – 4927.
23. Hayat, F.; Salahuddin, A.; Zargan, J.; Azam, A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 6127 – 6134.
24. Ostrovidov, S.; Franck, P.; Joseph, D.; Martarello, L.; *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1762 – 1769.
25. Zsótér, Z.; Tímár, T.; Kónya, K.; Patonay, T.; *J. Heterocycl. Chem.* **2015**, *52*, 1677 – 1683.
26. Chianelli, D.; Yong-Chul, K.; Lvovskiy, D.; Webb, T. T.; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5059 – 5068.
27. Schmidt, R. G.; Bayburt, E. K.; Latshaw, S. P.; *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *21*, 1338 – 1341.
28. Anderson, K. W.; Tepe, J. J.; *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8475 – 8481.
29. Song, J.; Jones, L. M.; Chavarria, G. E.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2801 - 2807.
30. Metz, S.; Clare, M.; Crich, J. Z.; Hagen; *Preparation of pyrazolo[4,3-c]quinolines, chromeno[4,3-c]pyrazoles, and analogs for the treatment of inflammation*, WO2003024936A1 **2003**, 60.
31. Fang, Y.; Rogness, D. C.; Larock, R. C.; Shi, F.; *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 6262 – 6270.