

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

KATEDRA ANORGANICKÉ CHEMIE



**TETRAZOLYL-INDOL DERIVÁTY A JEJICH
KOORDINAČNÍ SLOUČENINY V MEDICÍNĚ**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Michaela Kotková
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Bioanorganická chemie
Typ studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. Ing. Radovan. Herchel. Ph. D.
Termín odevzdání práce:	30.4.2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně pod odborným dohledem doc. Ing. Radovana Herchela, Ph.D. a veškeré literární prameny, které jsem při psaní práce použila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne

.....

Michaela Kotková

Poděkování

Chtěla bych tímto poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce doc. Ing. Radovanu Herchelovi za odborné vedení, cenné rady a připomínky nejen při vypracování literární rešerše, ale i při práci v laboratoři a také za pomoc při interpretaci výsledků. Dále bych chtěla poděkovat paní Pavle Richterové za změření elementární analýzy, Mgr. Aleně Klanicové, Ph.D. za změření infračervených spekter, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za změření NMR spekter, doc. Ing. Radovanu Herchelovi, Ph.D. za změření magnetochemických měření a prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D. za provedení monokrystalové rentgenové strukturní analýzy a za umožnění vypracování této bakalářské práce na Katedře anorganické chemie.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE:

Jméno a příjmení autora:	Michaela Kotková
Název práce:	Tetrazolyl-indol deriváty a jejich koordinační sloučeniny v medicíně
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Vedoucí práce:	doc. Ing. Radovan Herchel, Ph. D.
Rok obhajoby práce:	2018

Abstrakt:

Teoretická část této bakalářské práce je zaměřena na syntézu, a především biologickou aktivitu indolových a tetrazolových komplexů. Navzdory skutečnosti, že některé tetrazolyl-indolové sloučeniny mají významné biologické aktivity, jejich koordinační chemie nebyla dosud dostatečně prozkoumána. V experimentální části jsou popsány syntézy tetrazolyl-indolových ligandů a jejich komplexů s centrálním atomem mědi. Při tvorbě komplexů byly využity i další chelatující N-donorové ligandy jako je 1,10-fenantrolin, 2,2-bypiridin, nebo syntetizovaný dipyrido[3,2-a:2',3'-c]fenazin. K charakterizaci připravených sloučenin byly použity metody jako je elementární analýza, IČ spektroskopie a NMR spektroskopie či RTG strukturní analýza.

Klíčová slova:	tetrazol, indol, koordinační sloučeniny, tetrazolyl-indol, měď, ligand
Počet stran:	42
Jazyk:	Čeština

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

Author's first name and surname: Michaela Kotková
Title: Tetrazolyl-indol derivatives and their coordination compounds in medicine
Type of thesis: Bachelor thesis
Department: Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Czech Republic
Supervisor: doc. Ing. Radovan Herchel, Ph. D.
The year of presentation: 2018

Abstract:

The theoretical part of this bachelor thesis is focused on the synthesis and especially on the biological activity of the coordination compounds comprising indole and tetrazole ligands. Despite the fact that some the tetrazolyl-indole compounds have significant biological activities, their coordination chemistry is not sufficiently explored so far. Therefore, the experimental part was focused on the synthesis of tetrazolyl-indole ligands and their copper complexes. In the synthesis of complexes, we have also utilized other chelating N-donor ligands, such as 1,10-phenanthroline, 2,2-bipyridine and dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazine. Various physical methods, such as elemental analysis, IR spectroscopy, NMR spectroscopy, or X-ray structural analysis were used to characterize the prepared compounds.

Keywords: tetrazole, indole, coordination compounds, tetrazolyl-indole, copper, ligand
Number of pages: 42
Language: Czech

2.4.	Tetrazolyl-indol deriváty	22
2.4.1.	(tetrazol-5-yl)methylindol deriváty.....	22
2.4.2.	1-[(tetrazol-5-yl)methyl]indol deriváty.....	23
2.4.3.	Tetracyklické tetrazolyl-indol deriváty	24
3.	Experimentální část.....	26
3.1.	Chemikálie a přístroje	26
3.2.	Syntéza ligandů	27
3.2.1.	3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]-1H-indol	27
3.2.2.	2-(1H-tetrazol-5-yl)-1H-indol	29
3.2.2.1.	Syntéza 1H-indol-2-karboxamidu	29
3.2.2.2.	Syntéza 1H-indol-2-karbonitrilu	29
3.2.2.3.	Syntéza tetrazolyl-indolu.....	30
3.2.3.	Syntéza dipyrido[3,2-a:2',3'-c]fenazinu (DPPZ)	30
3.3.	Komplexy s 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]-1H-indolem	31
3.3.1.	Komplex č. 1.....	31
3.3.2.	Komplex č. 2.....	32
3.3.3.	Komplex č. 3.....	33
3.3.4.	Komplex č. 4.....	33
4.	Magnetochemická měření	34
5.	Rentgenová strukturní analýza	36
6.	Závěr	37
	Literární zdroje.....	38

1. ÚVOD

Indol je prominentní součástí velkého množství rostlin a je produkován také řadou bakterií. Indol a jeho deriváty jsou součástí kosmetických parfémů, farmakologicky aktivních indolových alkaloidů a některých živočišných hormonů, jako je například serotonin nebo melatonin. Některé deriváty indolu získali schválení FDA (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv) a mezi tyto látky patří vinkristin a vinorelbin pro jejich protinádorovou aktivitu, nebo fyzostigmin pro léčbu Alzheimerovy choroby. Se zavedením využití koordinačních sloučenin v medicíně došlo k rozvoji komplexních sloučenin indolu a jeho derivátů, u nichž byla stejně jako u ligandů zjištěna rozsáhlá biologická aktivita. Mezi základní účinky patří antibakteriální, protinádorová či antifungální.¹

Na tetrazol se spousta vědců zaměřila především díky jeho unikátní struktuře a také kvůli jeho biologickým účinkům. Stejně jako i indolu došlo později ke tvorbě komplexních sloučenin s tetrazolem a mezi jejich biologické aktivity patří především protinádorová a antibakteriální, ale také sloučeniny schopné štěpit DNA v určitých sekvencích. Některé z připravených sloučenin byli také schváleny FDA.²

Co se týče tetrazolyl-indol derivátů a jejich sloučenin, tak ty patří spíše do neprobádané oblasti. Jedním z pozitivních předpokladů těchto sloučenin je vysoký potenciál jejich biologické aktivity, stejně jako u jednotlivých částí. V posledních desetiletích bylo připraveno pouze několik tetrazolyl-indol derivátů, u nichž byly zjištěny významné biologické aktivity, jako například protinádorová či antibakteriální.

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat literární rešerši na téma tetrazolyl-indol deriváty a jejich koordinační sloučeniny v medicíně se zaměřením na samotný tetrazol a indol. Dalším cílem bylo připravit tetrazolyl-indolový ligand a z něj příslušné koordinační sloučeniny. Pro tuhle práci jsme zvolili jako centrální atom měď. Posledním cílem práce bylo charakterizovat připravený ligand a jeho komplexy pomocí vhodných metod – elementární analýzy, IČ spektroskopie, NMR spektroskopie, magnetochemických měření a v případě krystalové struktury i rentgenové strukturní analýzy.

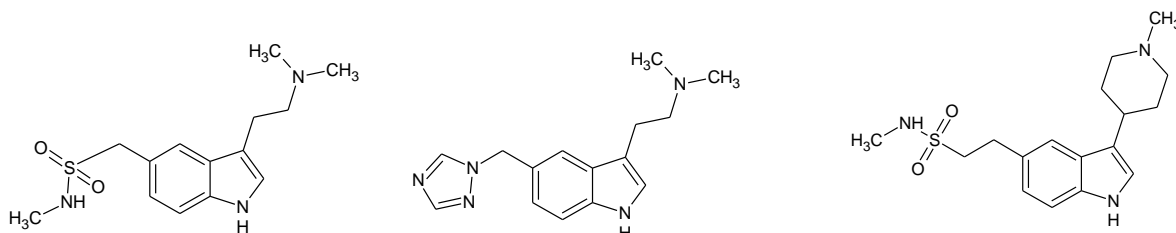
2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. HISTORIE

2.1.1. Historie indolových derivátů

První zmínka o indolu pochází ze šedesátých let devatenáctého století, ve kterém Baeyer a jeho spolupracovníci studovali barvivo s názvem indigo a snažili se jej zpracovat pomocí olea.³ Název indolu pochází tedy ze spojení slov indigo a oleum. Samotné indigo může být převedeno na isatin a poté na oxindol, což jsou deriváty indolu. V roce 1866 Adolf von Baeyer zredukoval oxindol na indol pomocí zinkového prachu³ a v roce 1869 navrhnul vzorec pro indol.⁴ Zpočátku se deriváty indolu využívali jako barviva, ovšem po zjištění, že se vyskytuje v alkaloidech jako je Tryptofan, vzrostla intenzita výzkumu těchto derivátů.⁵

Indol získal obrovskou pozornost a popularitu v řadě farmakologických odvětvích jako farmakofor.⁶ Postupem času se ukázalo, že látky obsahující indolovou jednotku, mají širokou škálu biologických vlastností - antibakteriální⁷, protizánětlivé^{8,9}, antivirové¹⁰, kardiovaskulární¹¹, antihistaminické¹², antidepresivní¹³ a protinádorové¹⁴. Mezi první protinádorové léčivo patří Vincristin, který byl v roce 1963 schválen jako součást chemoterapie Hodgkinovy choroby, akutní lymfoblastické leukémie, folikulární leukémie a jiných nemocí.⁶ V roce 1994 byl schválen Vinorelbin na léčbu nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC), rakoviny prsu a rabdomyosarkomu (sarkom z příčně pruhované svalové hmoty).⁶ Bohužel tyto léky měli nežádoucí vedlejší účinky, jako je vypadávání vlasů, nevolnost, zvracení, deprese a jiné.¹⁵ Acemetacin se řadí k protivirovým léčivům a používá se pro léčbu osteoartritidy a revmatoidní artritidy.¹⁶ Několik sloučenin na bázi indolu se v minulosti používalo k léčbě deprese a úzkosti, například Methylaplysinopsin - inhibuje monoaminoxidázu (MAO) a odstraňuje serotonin z jeho receptorů.¹⁷ Pro léčbu migrény byl v roce 1992 schválen Sumatriptan (Imigran)¹⁸, v roce 1998 Naratriptan¹⁹ a Rizatriptan.²⁰



Obr. č. 1. Strukturní vzorce Sumatriptanu,⁶ Rizatriptanu⁶ a Naratriptanu⁶

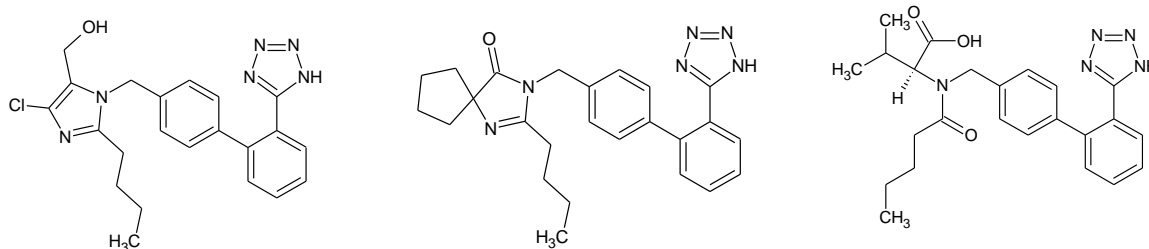
2.1.2. Historie tetrazolových derivátů

Tetrazol je heterocyklická sloučenina skládající se z atomu uhlíku a 4 atomů dusíku seskupených do pěti-členného kruhu. Od roku 1885 do roku 1950 bylo zveřejněno pouze kolem 300 druhů derivátů a první z nich připravil v roce 1885 Bladin.²¹ Od roku 1950, kdy došlo k širokému rozšíření využití sloučenin tetrazolu v biochemii, zemědělství, medicíně, farmakologii, pyrotechnice, se také začal velmi rychle rozvíjet výzkum těchto látek.^{22,23,24,25} Na tetrazol a jeho deriváty se vědci zaměřili díky jeho unikátní struktuře.^{21,26,27}

Deriváty tetrazolu jsou známé jako sloučeniny s vysokou biologickou aktivitou^{28,29} a mají důležitou roli v lékařské chemii, převážně díky jejich schopnosti působit bioekvivalentně vůči skupině karboxylových kyselin.³⁰ Tyto deriváty jsou zkoumány pro různou biologickou aktivitu jako je protivirová, antibakteriální, antifungální, protialergická a protizánětlivá.^{31,32,33} Určitá skupina sloučenin tetrazolu byla používána jako protinádorová a antibakteriální činidla.^{19,24,25} Bylo prokázáno, že toxicita léčiv může být snížena zavedením tetrazolového kruhu do molekuly.³⁴ Tetrazolová část také obecně vykazuje větší odolnost vůči *in vivo* metabolizaci než karboxylová skupina, což dodává léčivům delší živostnost (biologickou dostupnost) v krvi.^{35,36} Pro výrobu farmaceuticky aktivních léčiv se používají zejména tetrazoly substituované v poloze 1 a 5.^{37,38,39,40}

Velmi důležité pro tetrazoly je to, že jsou to vysoce flexibilní ligandy, které se můžou snadněji vázat různými vazbami přes různé atomy.^{41,42,43,44} Tahle vlastnost z nich činí významné ligandy pro různé transformace a také jako prekursory jiných heterocyklických sloučenin obsahujících atom dusíku.⁴⁵

Mezi proslulá antihypertenziva (léky snižující krevní tlak) patří Losartan, Irbesartan a Valsartan, což jsou léčiva patřící do třídy nepeptidových inhibitorů angiotensinu II, a obsahují bifenylnetetrazolylovou část ve své struktuře.⁴⁶



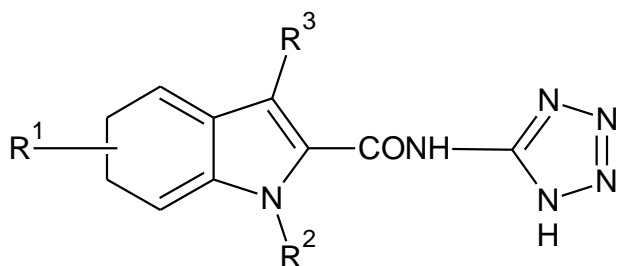
Obr. č. 2. Strukturní vzorce Losartanu,⁴⁶ Irbesartanu⁴⁶ a Valsartanu⁴⁶

2.1.3. Historie tetrazolyl-indol derivátů

V posledních desetiletích byly zveřejněny sloučeniny, které byly připraveny kombinací tetrazolového a indolového kruhu.⁴⁷ Stejně jako u samotného indolu a tetrazolu, i u sloučenin vzniklých jejich kombinací byli prokázány výjimečné farmaceutické účinky.⁴⁸

Jedním z použití tetrazolyl-indolových derivátů je napodobování 17 β -estradiolu. Indol zde vystupuje jako základní část struktury a tetrazolová jednotka je brána jako vedlejší řetězec, který vzniká zavedením substituovaného tetrazolu na vedlejší uhlíkatý řetězec.⁴⁹ Účelem je usnadnit příznivé přijetí ligandu na receptor enzymu, což umožní lepší rozložení náboje kolem tetrazolové skupiny pro zvýšení ER (enzym – receptor) vazebné afinity či aktivity a konečným cílem je nalezení nových antagonistů, agonistů a sloučenin se slibnou anti-implantační aktivitou.^{50,51}

Strukturní modifikací derivátů argininu vznikla série indolkarboxamidotetrazolů, jež vykazují antialergické a inhibiční účinky.⁵² Nejvýraznější inhibiční účinky prokázali sloučeniny obsahující 3-alkoxy, 5-methoxy, či 1-fenyl substituenty na indolové jednotce.⁵²



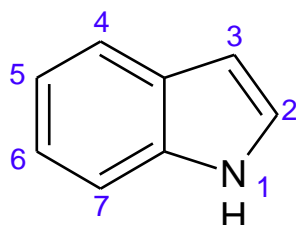
Obr. č.3. Strukturní vzorec 3-Indolkarboxamidotetrazolu⁵²

U sloučenin, které obsahují jak indolovou, tak tetrazolovou jednotku byla objevena a prokázána rozsáhlá biologická aktivita. Například deriváty 1-[(tetrazol-5-yl)methyl]indolu vykazují silnou antibakteriální aktivitu, zejména proti *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* a jiným.⁵³ Protinádorová aktivity byla zjištěna u derivátů (tetrazol-5-yl)methylindolu, ty se připravují z 2-fenylindolu.⁵⁴ U 7-(2H-tetrazol-5-yl)-1H-indolu bylo prokázáno, že je silným inhibitorem HIV-1 vazby, bohužel při testování byla zjištěna nízká biologická dostupnost při ústním podání.^{55,56}

2.2. KOORDINAČNÍ SLOUČENINY INDOLU

Koordinální sloučeniny se již delší dobu zkoumají jakožto potenciální léčiva proti rakovině, malárii a dalším onemocněním.^{57,58,59} Spousta komplexů tvořených přechodnými prvky jako je měď⁶⁰, kobalt⁶¹, železo⁶², vanadium⁶³ nebo nikl, byla prohlášena za účinná činidla při štěpení DNA.⁶⁴

Indol je základní látkou velkého množství významných sloučenin a také je jedním z nejbohatších a nejdůležitějších heterocyklů v přírodních produktech a léčivých přípravcích. Z toho důvodu má důležitou roli v syntéze nových farmaceutických produktů i přesto, že příprava koordinačních sloučenin indolu se potýká s řadou potíží. Jednou z nich je ta, že samotné komplexy se připravují poměrně špatně, protože indol se hůř váže pomocí atomu N1 přímo na kov, než jiné dusíkaté heterocykly (např. pyridin).⁶⁵ Většina reakcí probíhá na uhlíku C3. Cesta k přípravě koordinačních sloučenin indolu vede tedy přes jeho deriváty, které vznikají navázáním různých funkčních skupin, například NH₂, OH nebo SH, právě na již zmíněný uhlík C3.⁶⁵ Komplexotvorné reakce indolových derivátů s bio kovem vedly ke sloučeninám, které se používají k léčbě nemocí jako jsou je deprese, revmatismus, migréna a některým typům rakoviny.⁶⁶



Obr. č. 4. Číslování indolu

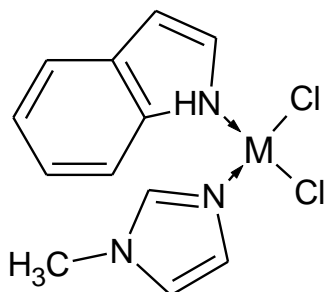
2.2.1. Komplexy s nesubstituovaným indolem

2.2.1.1. Komplexy Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) a Cd(II) s ligandem indolu a imidazolu

Jedná se o komplexy, ve kterých jsou v koordinační sféře smíšené ligandy. Takové komplexy byly studovány mnoha výzkumníky pro jejich antibakteriální, protinádorovou^{67,68} a toxikologickou aktivitu.^{69,70}

Komplexy byly připraveny přidáním ethanolového roztoku indolu k roztoku soli s kovem a následným přidáním imidazolu, vše v poměru 1:1:1. Směs se nechala míchat při 35°C a okamžitě byl získán produkt, který se promyl ethanolem a rekrystalizoval z ethanolu.⁷¹

Veškeré připravené komplexy (obr.č.5) jsou nerozpustné v běžných rozpouštědlech jako je voda, methanol nebo aceton a jsou rozpustné v DMF nebo DMSO. Všechny komplexy se rozkládají při teplotě 240°C.



Obr. č. 5. Předpokládaný strukturní vzorec vznikajícího komplexu⁷¹

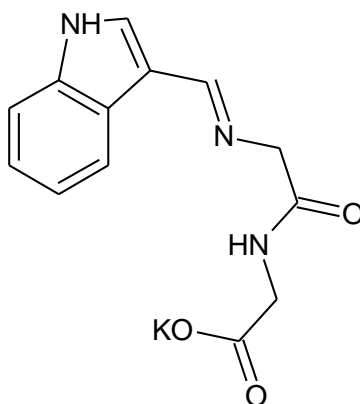
Biologická aktivita syntetizovaných komplexů byla porovnána s volnými ligandy a ověřilo se, že především antibakteriální aktivita komplexů je vyšší.^{72,73} Mezi testované bakterie patří patogenní druhy jako je *E. coli* nebo *S. aureus*. Vzniklé komplexy vykazují inhibiční účinky na růst testovaných bakterií.

2.2.2. Komplexy se substituovaným indolem v poloze 3

2.2.2.1. Komplexy Cu(II), Co(II), Ni(II) s ligandem (indal-glygly)

Ligand (indal-glygly) byl připraven kombinací indol-3-karboxaldehydu (indal) a glycyglycinu (glygly). S tímto ligandem pak byly připraveny komplexy mědi, kobaltu a niklu, u nichž byla testována a prokázána biologická aktivita. Konkrétně se jedná o antibakteriální účinky, antifungální a látky způsobující štěpení DNA.⁷⁴

Výsledný ligand (obr.č.6) je světle žlutá látka rozpustná v běžných organických rozpouštědlech.



Obr. č. 6. Strukturní vzorec ligandu (indal-glygly) ve formě draselné soli⁷⁴

Komplex byl připraven rozpuštěním ligandu v methanolu a přidáním dusičnanu příslušného kovu. Vzniklá směs se 2 hodiny míchala, vzniklá sraženina se odsála, promyla studeným ethanolem, etherem a vysušila bezvodým CaCl_2 .⁷⁴

Antibakteriální i antifungální aktivita ligandu i komplexů byla testována *in vitro* proti druhům bakterií jako je *E. coli*, *S. aureus* nebo *P. aeruginosa* a proti druhům hub *A. flavus*, nebo *A. niger*.⁷⁵ Zjištěná aktivita byla srovnána se standardními antibiotiky jako je Amikacin, Ofloxacin, Ciprofloxacin a Nystatin. Z jednotlivých biologických aktivit ligandu a jeho kovových komplexů bylo zjištěno, že komplexy vykazují vyšší inhibici růstu oproti samotnému ligandu. Antibakteriální aktivita kovových komplexů narůstá se zvyšující se koncentrací komplexů. Hlavním účinkem těchto komplexů je to, že inhibují růst mikrobů blokováním jejich aktivních míst. Bioaktivita ligandu a komplexů byla seřazena v následujícím pořadí: $\text{Cu}^{\text{II}} > \text{Co}^{\text{II}} > \text{Ni}^{\text{II}} > \text{indal-glygly}$.⁷⁴

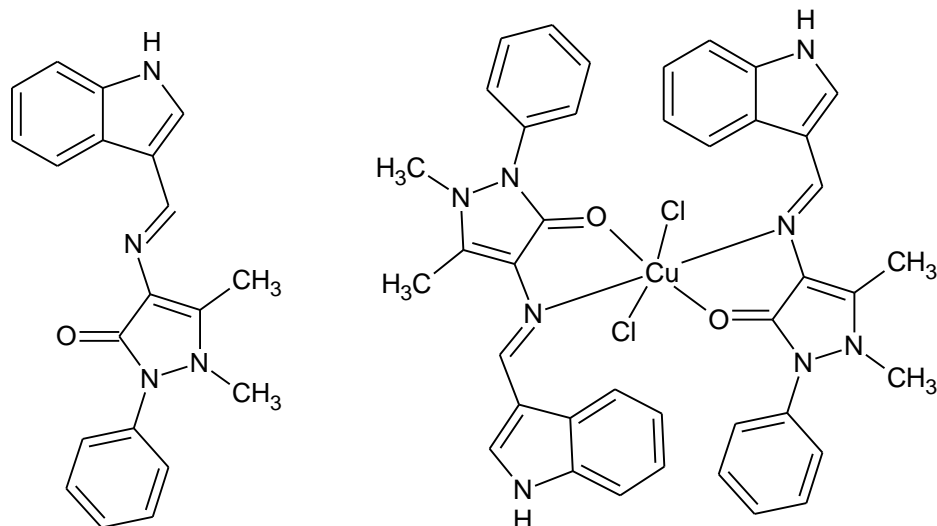
2.2.2.2. Komplexy Cu(II), Ni(II), V(IV) s ligandem 1-fenyl-2,3-dimethyl-4-(1H-indol-3-karboxaldehyd)-3-pyrazolin-5-on

Využívaný ligand byl připraven refluxem ekvimolárního množství 1-fenyl-2,3-dimethyl-4-amino-3-pyrazolin-5-on a 1H-indol-3-karboxaldehydu ve 20 – 30 ml ethanolu.⁷⁶ Komplexy byly připraveny přímou syntézou ligandu a soli obsahující příslušný kov - například $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ nebo $\text{VOSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.⁷⁹

Získané komplexy (obr.č.7) jsou mikrokrytalické pevné látky, stálé na vzduchu a mají rozdílné teploty tání. Jsou nerozpustné v organických rozpouštědlech a rozpustné v DMF nebo DMSO.⁷⁹

Veškeré syntetizované komplexy byly testovány na antibakteriální aktivitu *in vitro* proti gram-pozitivním (*K. pneumoniae*, *S. aureus*) a gram-negativním (*E. coli*) kmenům pomocí techniky difúzního postupu papíru (kvalitativní stanovení)⁷⁷ a sériové ředění v metodě kapalného vývaru (pro stanovení MIC – minimální inhibiční koncentrace).⁷⁸

Výsledky testování ukazují, že samotné ligandy neměly žádnou významnou aktivitu, zatímco kovové komplexy vykazují proti bakteriím aktivity velmi výrazné. Autoři práce to vysvětlili lepší lipofilní povahou těchto komplexů, díky čemuž snadněji proniká přes lipidovou membránu buněk.

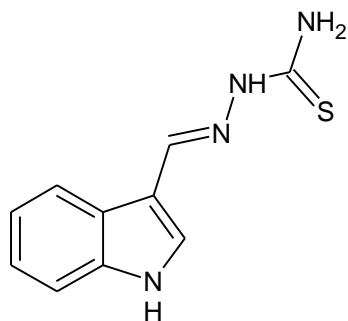


Obr. č. 7. Strukturní vzorce ligandu (vlevo) a jednoho z připravených komplexů (vpravo) ⁷⁹

Jedním z hlavních faktorů ovlivňujících antibakteriální aktivitu je struktura komplexu a aktivnější jsou komplexy s planární strukturou. Dále může být aktivita ovlivněna přítomností aniontových skupin mimo koordinační místo, například skupina SO_4^{2-} vyvolala viditelné zvýšení účinku proti studovaným bakteriím. ⁷⁹

2.2.2.3. Komplex mědi s ligandem na bázi thiosemikarbazonu

Komplex byl připraven 5-7 hodinovým refluxem ethanolové suspenze měďnaté soli s ligandem. Produkt (obr.č.8) byl získán ochlazením směsi, filtrací, promytím ethanolom a vysušením pod vakuem. ⁸⁰



Obr. č. 8. Strukturní vzorec ligandu na bázi thiosemikarbazonu ⁸⁰

Biologická aktivita ligandu i komplexu byla testována *in vitro* proti gram-pozitivním, gram-negativním bakteriím, kvasinkám a plísni. Podobně jako u ostatních sloučenin bylo prokázáno, že volné ligandy nevykazují biologickou aktivitu, zatímco u komplexu byl pozorován pozitivní efekt proti gram-pozitivním bakteriím, jako je například *S. aureus*.⁸¹ Antimikrobiální vlastnosti komplexů mohou být ovlivněny substitučními reakcemi na thiosemikarbazonové skupině. ⁸⁰

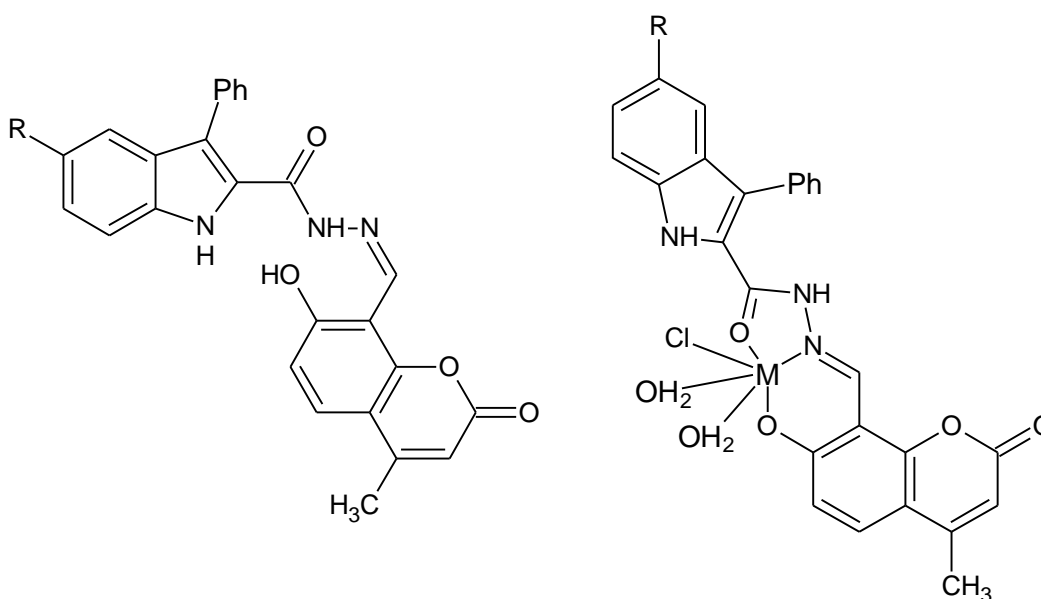
Vztah mezi strukturou a aktivitou ukazuje, že komplexní sloučeniny s mědí vykazují vyšší antimikrobiální aktivitu proti některým mikroorganismům a kov tedy má v těchto sloučeninách významnou roli.⁸²

2.2.3. Komplexy s více substituovaným indolem

2.2.3.1. Komplexy Cu(II), Co(II), Ni(II) a Zn(II) s ligandem 5-substituovaný-N'-((7-hydroxy-4-methyl-2-oxo-2H-chromen-8-yl)methylen)-3-fenyl-1H-indol-2-karbohydrazid

Připravený ligand lze považovat za derivát kumarinu a ty jsou považovány za významnou skupinu sloučenin v lékařském a farmaceutickém odvětví.

Komplex byl připraven přidáním horkého roztoku ligandu v methanolu k horkému roztoku soli příslušného kovu, také v methanolu. Směs se nechala 4 hodiny pod refluxem, zneutralizovala octanem sodným a opět hodinu refluxovala. Po přidání směsi do destilované vody se vyloučil požadovaný komplex (obr.č.9), ten byl získán filtrací.⁸³



Obr. č. 9. Struktura ligandu (vlevo) a připraveného komplexu (vpravo)⁸³

Všechny připravené komplexy jsou barevné, pevné látky s teplotami tání nad 300°C. Jsou nerozpustné ve vodě, ale rozpustné v DMF a DMSO.

Antibakteriální aktivita syntetizovaných sloučenin byla testována na bakteriích *E. coli*, *S.aureus*, a *A. niger*. Při srovnávání aktivit bylo prokázáno, že komplexy ligandů mají vyšší aktivitu než ligandy volné, nebo než chloridy kovů.

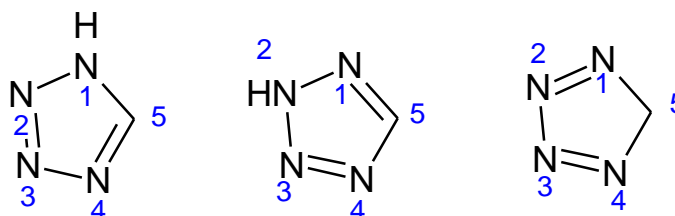
Připravené komplexy byly studovány také jako potenciální činidla DNA štěpení a prokázalo se, že jsou schopny rozvolnit dvoušroubovicovou strukturu DNA na kruhovou DNA. Klíčovou složkou ve štěpných reakcích jsou nejspíš dusíkové a kyslíkové atomy.⁸³

2.3. KOORDINAČNÍ SLOUČENINY TETRAZOLU

Tetrazoly jsou zvláštní skupinou patřící mezi heterocyklické sloučeniny a vykazují jak bazické, tak i kyselé vlastnosti.^{84,85} Mohou existovat v neutrální, aniontové nebo kationtové formě. Vlastnosti koordinačních sloučenin jsou ovlivněny jak povahou atomu kovu, tak i funkčními skupinami připojenými k tetrazolovému kruhu.

Sloučeniny na bázi tetrazolu mají zajímavou strukturu, velmi často vykazují speciální schopnosti a funkce. Interakce tetrazolových sloučenin spolu s kovem a DNA byly značně studovány díky specifickým vazebným vlastnostem a potenciálnímu využití v protinádorové terapii.⁸⁶

Vzhledem k rozmanitosti N-mono a C, N-disubstituovaných sloučenin tetrazolu vystupují tyto sloučeniny jako slibné nosné ligandy pro návrh nových potenciálních protinádorových léčiv, které by byly schopny překonat obvyklé nevýhody používaných platinových léčiv – jedná se o vysokou toxicitu, nízkou rozpustnost nebo rezistenci vůči nádoru.⁸⁷

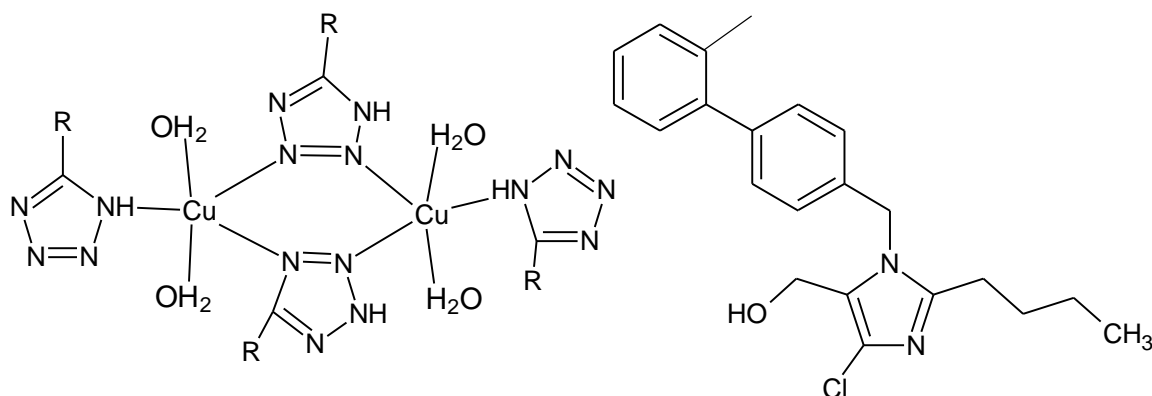


Obr. č. 10. *Struktury izomerních tetrazolových kruhů*

2.3.1. Cu komplex s Losartanem

Losartan má ve své struktuře funkční skupiny schopné na sebe vázat atom mědi ve formě stabilních komplexů.⁸⁸ Biologický efekt může být spojen právě s komplexací Losartanu, přičemž dochází i ke změně homeostáze.⁸⁹

Komplex byl připraven mírným mícháním roztoku acetátu měďnatého s Losartanem draselným. Získaný komplex (obr.č.11) byl zfiltrován, promyt vodou a vysušen při 60°C.⁸⁸



Obr. č. 11. Strukturální vzorec komplexu⁸⁸

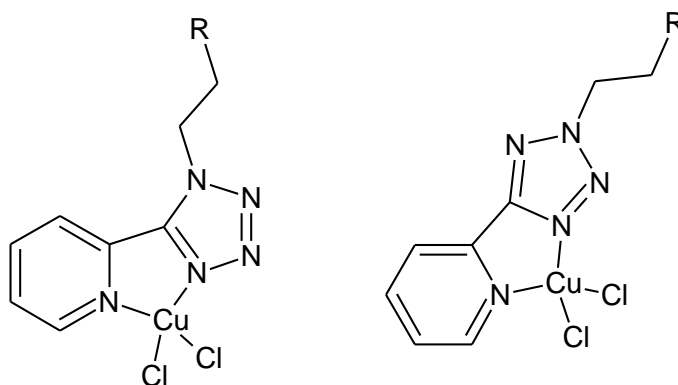
Biologická aktivita komplexů byla testována na dvou osteoblastických liniích, jedna z nich byla normální a druhá nádorová. Zatímco samotný Losartan nevykazoval antioxidační aktivitu, jeho komplex s mědí vykazoval mírnou aktivitu podobnou superoxid dismutáze.⁸⁸

Při testování obou buněčných linií, bylo zjištěno, že komplex má škodlivé účinky na nádorové buňky. Bohužel má toxické účinky i na buňky zdravé, netransformované. Samotný komplex ovlivňuje morfologické změny, jako je například kondenzace cytoplasmy nebo ztráta spojení mezi sousedními buňkami.⁸⁸

2.3.2. Cu komplex s ligandy na bázi pyridylterazolu

Jedná se o jednojaderné komplexy mědi v oxidačním stavu +II s novými bidentátními ligandy na bázi pyridylterazolu spolu s OH skupinou nebo dimethylaminem na dusíku tetrazolu N1 nebo N2.⁹⁰ Všechny komplexy mají planární geometrii.

Komplexy byli připraveny reakcí ligandu rozpuštěného v methanolu s měďnatou solí ($\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), také v methanolu. Směs byla zahřívána pod refluxem 2-3 hodiny a přes noc ponechána při pokojové teplotě. Získaný komplex (obr.č.12) byl zfiltrován a vysušen.⁹⁰



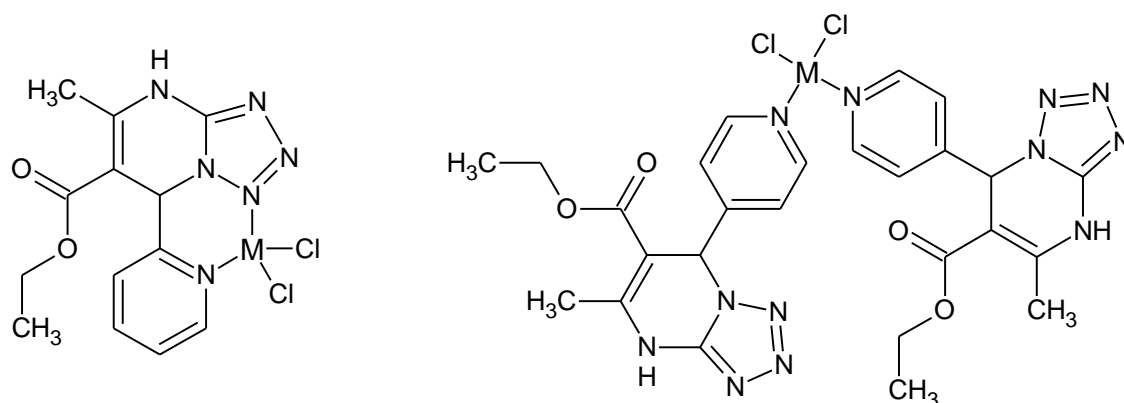
Obr. č. 12. Strukturální vzorce připravených komplexů⁹⁰

U připravených komplexů bylo testováno štěpení DNA a protinádorová aktivita. Ke značnému štěpení DNA dochází jak v přítomnosti, tak v nepřítomnosti H_2O_2 . Bylo ovšem prokázáno, že štěpení DNA je účinnější v přítomnosti peroxidu jakožto oxidačního činidla – při reakci komplexu s H_2O_2 dochází k oxidaci mědi na oxidační stav +III a redukci kyslíku, čímž vzniká velmi reaktivní hydroxylový radikál $OH\cdot$.⁹¹ Protinádorová aktivita byla testována na buňkách MCF-7, což jsou buněčné linie rakoviny prsu. Všechny komplexy snížili značně proliferaci rakovinných buněk v závislosti na koncentraci a bylo zjištěno, že při nižších koncentracích jsou komplexy účinnější.⁹¹ U ligandů biologická aktivita prokázána nebyla a komplexy s navázanou OH skupinou mají výraznější inhibiční efekt, než komplexy s dimethylaminem.⁹⁰

2.3.3. Komplexy Cu(II), Ni(II) a Zn(II) na bázi tetrazolo[1,5-a]pyrimidinu

Tetrazolo-pyrimidinové sloučeniny jsou využívány k léčbě obezity, diabetu, depresí, rakovině štítné žlázy, vysokého tlaku, aterosklerózy nebo šedého zákalu.⁹² Přestože že se o syntézu těchto sloučenin zajímá mnoho výzkumníků, existuje pouze několik publikací zaměřených na protinádorovou aktivitu.

Komplexy byly připraveny reakcí methanolových roztoků ligandu a chloridu kovu za konstantního míchání. Reakce byla ponechána pod refluxem 2 hodiny, za horka zfiltrována a poté se nechala stát 7 dní při pokojové teplotě. Získaný produkt (obr.č.13) se promyl studeným methanolem a vysušil pod vakuem.⁹²



Obr. č. 13. *Strukturální vzorce připravených komplexů*⁹²

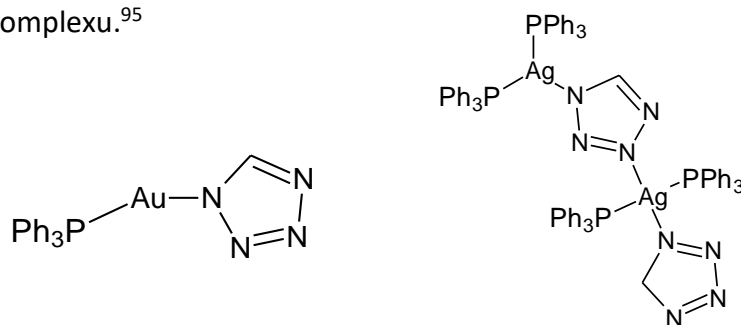
Protinádorová aktivita byla testována proti 3 různým nádorovým liniím – plicním, krčným a tlustého střeva spolu se zdravými embryonálními lidskými ledvinovými liniemi.⁹²

Inhibiční koncentrace se u všech testovaných buněk lišili v závislosti na dávce komplexu. Všechny připravené komplexy byli proti nádorovým buňkám aktivní, ale samotné ligandy žádnou aktivitu nevykazovali. Při srovnání inhibičních účinků všech komplexů se komplexy mědi ukázali jako nejefektivnější a zároveň všechny komplexy vykazovali minimální cytotoxický efekt na zdravé embryonální ledvinové buňky.⁹² Nádorové buňky léčené komplexy mědi prokázali apoptotické vlastnosti. Mezi tyto vlastnosti patří různé morfologické změny jako je jaderná fragmentace nebo smrštění buňky.⁹² Apoptóza eliminuje buňky, které by mohli být pro organismus nebezpečné – poškozená DNA nebo virově infikované buňky.⁹³

2.3.4. Ag(I) a Au(I) komplex s tetrazolem a trifenylofosfinem

V současnosti existuje značný zájem o koordinační sloučeniny kovových prvků, jako je zlato a stříbro, s biologickou aktivitou a léčivými účinky.⁹⁴ Syntéza a strukturní stanovení takových komplexů stříbra a zlata, které mají vázané stejné ligandy, jsou zajímavým předmětem v oblasti bioanorganické chemie, anorganické syntézy a vývoje léčiv na bázi kovu.

Byly připraveny 2 komplexy se stejnou heterogenní koordinační sférou, která obsahuje tetrazol a trifenylofosfin (obr.č.14). Zlatý komplex byl připraven rozpuštěním prekursoru $[Ag(tetz)]_n$ a PPh_3 v dichlormethanu, následným mícháním a filtrací. Vzniklý filtrát byl poté rozpuštěn v diethyletheru a po 2 hodinách se zformovaly výsledné krystaly. Zlatý komplex byl připraven rozpuštěním $[AuCl(PPh_3)]$ a tetrazolu v acetonu. K roztoku byl přidán NaOH a 4 hodiny míchán. Filtrací se odstranil vznikající NaCl a filtrát byl odpařen na RVO. Zbytek se rozpustil v benzenu, zfiltroval a filtrát byl přidán k hexanu za tvorby výsledného komplexu.⁹⁵



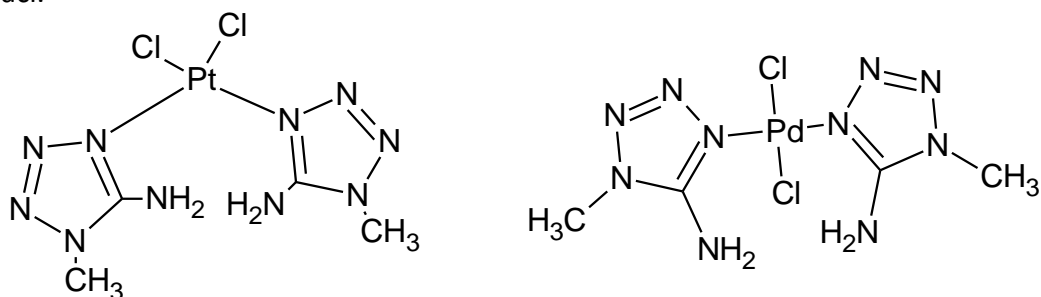
Obr. č. 14. Strukturní vzorce připraveného komplexu zlata $[Au(tetz)(PPh_3)]_n$ (vlevo) a komplexu stříbra $[Ag(tetz)(PPh_3)_2]_n$ (vpravo)⁹⁵

Biologická aktivita zlatého komplexu byla testována na bakteriích, kvasinkách a plísni a antibakteriální aktivita nebyla prokázána. Volný tetrazolový ligand spolu se stříbrným komplexem vykazovali pouze slabou aktivitu proti gram-pozitivním bakteriím, například *S. aureus*. Testován byl také prekurzor $[Ag(tetz)]_n$ a ten má silnější antibakteriální účinky proti gram-negativním a gram-pozitivním bakteriím a kvasinkám, ale ne proti plísni. Z tohoto pozorování byl vyvozen závěr, že polymerní stříbrné komplexy bez stabilizujícího PPh_3 ligandu mají silnější antibakteriální aktivitu než jejich trifenylofosfinové deriváty. Je to způsobeno nejspíš tím, že síla vazby Ag-P omezuje schopnost zaměňovat ligandy komplexu.⁹⁵

2.3.5. Pt(II) a Pd(II) chlorido-komplexy na bázi tetrazolu

Platinové komplexy obsahující dusíkové heterocykly jsou jedny z nejlepších potenciálních protinádorových léčiv. V nedávné době byly syntetizovány a charakterizovány *trans* paladnaté a platnaté chlorido-komplexy s 5-amino-2-tert-butyltetrazolem.⁹⁶ Bylo prokázáno, že platnatý komplex má slibné cytotoxické účinky proti HeLa nádorovým buňkám, což jsou nesmrtelné buněčné linie, které se neustále dělí, a inhibiční koncentrace se nachází mezi cisplatinou a karboplatinou.⁹⁶

Platnatý komplex byl připraven reakcí K_2PtCl_4 rozpuštěného v HCl a tetrazolu rozpuštěného ve vodě a směs se míchala 24 hodin při pokojové teplotě. Žlutý produkt (obr.č.15) byl získán filtrací a promyt destilovanou vodou. Paladnatý komplex byl připraven reakcí $PdCl_2 \cdot 2H_2O$ rozpuštěného v HCl a tetrazolu rozpuštěného v destilované vodě. Směs se míchala 2 hodiny při pokojové teplotě a opět vznikl žlutý produkt (obr.č.15), který byl získán filtrací.⁹⁶



Obr. č. 15. *cis*- $[Pt(1-amt)_2Cl_2] \cdot H_2O$ (vlevo) a *trans*- $[Pd(1-amt)_2Cl_2]$ (vpravo), amt = 5-amino-1-methyltetrazol⁹⁶

Biologická aktivita byla testována jak u komplexů, tak u samotných ligandů. Cytotoxicita platinových komplexů obsahujících tetrazolovou jednotku závisí na jejich lipofilitě a geometrii koordinační sloučeniny. *Cis* platnaté komplexy, které mají místo methylové skupiny na tetrazolu navázaný fenyl, vykazují antiproliferační aktivitu srovnatelnou s cisplatinou. Komplex s 5-amino-2-tert-butyltetrazolem projevil nižší odolnost vůči buňkám odolných na cisplatinu, než samotná cisplatina.⁸⁸ Biofyzikální studie ukázali, že komplexy platiny obsahující tetrazolovou jednotku se chovají většinou jako cisplatina pokud jde o interakci s DNA.⁹⁶

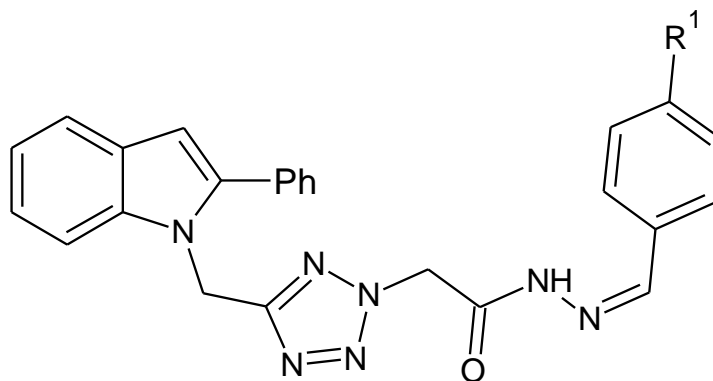
2.4. TETRAZOLYL-INDOL DERIVÁTY

V předchozích kapitolách jsme se věnovali především koordinačním sloučeninám tetrazolu a indolu. Vzhledem k tomu, že komplexy tetrazolyl-indol ligandů patří do neprobádané oblasti, zaměříme se v této části pouze na ligandy a jejich biologickou aktivitu. Důvod syntézy těchto ligandů byl vysoký předpoklad, že u nich bude zjištěna určitá biologická aktivita. Ať už protinádorová, antibakteriální nebo protizánětlivá. K tomuto předpokladu vedl fakt, že samotný tetrazol a indol mají široké spektrum biologických aktivit a jsou v medicíně a farmacii velmi využívané.

2.4.1. (tetrazol-5-yl)methylindol deriváty

V posledních desetiletích byla nalezena nová strategie léčby nádorových buněk, a to indukci apoptózy, což vedlo ke vzniku nové skupiny protinádorových léčiv.⁹⁷ Samotná apoptóza hraje při vzniku různých onemocnění důležitou roli, nejvíce se ovšem uplatňuje při rakovinném bujení.⁹⁸

Výchozí látkou pro tvorbu derivátů byl 1-acetonitril-2-fenylindol. Jeho reakcí s NaN_3 v přítomnosti NH_4Cl byl připraven tetrazolový derivát. Jeho reakcí s ethylem chloroacetátu byl připraven příslušný ethyl ester a z něj byl připraven hydrazinový derivát. Posledními byli halogenidové deriváty připraveny reakcí hydrazinového derivátu s *p*-fluorobenzaldehydem a *p*-bromobenzaldehydem (obr.č.16).⁹⁹



Obr. č. 16. Strukturální vzorec halogenidových tetrazolyl-indol derivátů⁹⁹

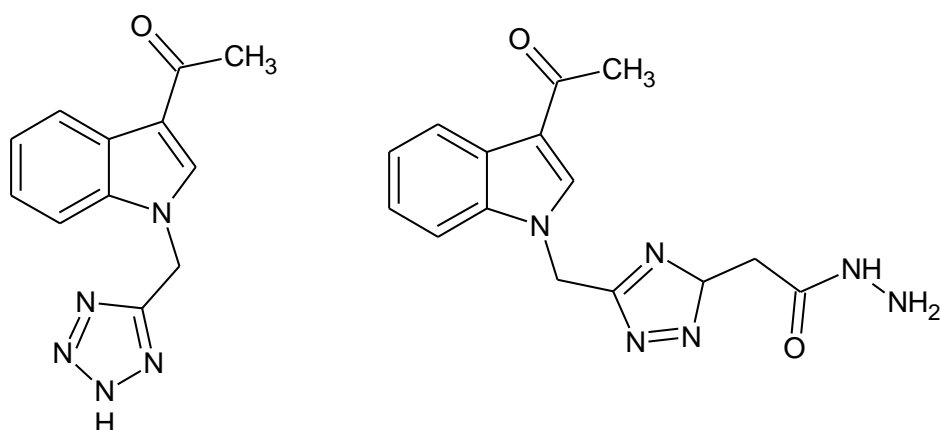
Připravené sloučeniny byly testovány na buněčných liniích karcinomu lidských jater (HepG2) ve čtyřech různých koncentracích. Koncentrace požadovaná pro inhibici 50% nádorových buněk (IC_{50}) byla porovnána s referenčním léčivem – doxorubicinem. Výsledky získané z *in vitro* testování prokázaly, že některé z připravených sloučenin vykazují vysokou inhibiční aktivitu, zatímco jiné sloučeniny mají aktivity pouze mírné a méně účinné.⁹⁹

Bylo zjištěno, že sloučeniny obsahující indolový kruhový systém ve své základní struktuře jsou schopny redukovat expresi cyklooxygenázy-2 (COX-2) v HepG2 buňkách. COX-2 katalyzuje tvorbu prostaglandinů, které při zánětlivém onemocnění stimulují rozvoj, bolest a teplotu. Řada výzkumů naznačuje, že nadměrná exprese COX-2 může být jedním z faktorů rakoviny jater.¹⁰⁰ U sloučenin, které vykazovali vyšší inhibiční aktivitu, dochází ke smrti HepG2 buněk apoptózou.

Protinádorová aktivita připravených tetrazolyl-indol sloučenin může být upravena pomocí strukturálních modifikací. Příkladem může být substituce atomem fluoru v *para* poloze na fenylovém kruhu, která vede k výrazně vyšší protinádorové aktivitě, než je tomu u sloučenin s atomem bromu na stejné pozici.¹⁰⁰ Strukturální změny také odhalily, že i sloučeniny s volnou NH skupinou na tetrazolovém kruhu mají účinnější protinádorové účinky oproti N-substituovaným derivátům, u kterých dochází ke snížení aktivity.⁹⁹

2.4.2. 1-[(tetrazol-5-yl)methyl]indol deriváty

Výchozí látkou pro syntézu všech derivátů byl (3-acetyl-1H-indol-1-yl)acetonitril (obr.č.17). Z něj byl reakcí s NaN_3 v DMF připraven tetrazolový derivát 1-[1-(2H-tetrazol-5-ylmethyl)-1H-indol-3-yl]ethanon (obr.č.17), jehož struktura je základním skeletem ostatních derivátů.¹⁰¹



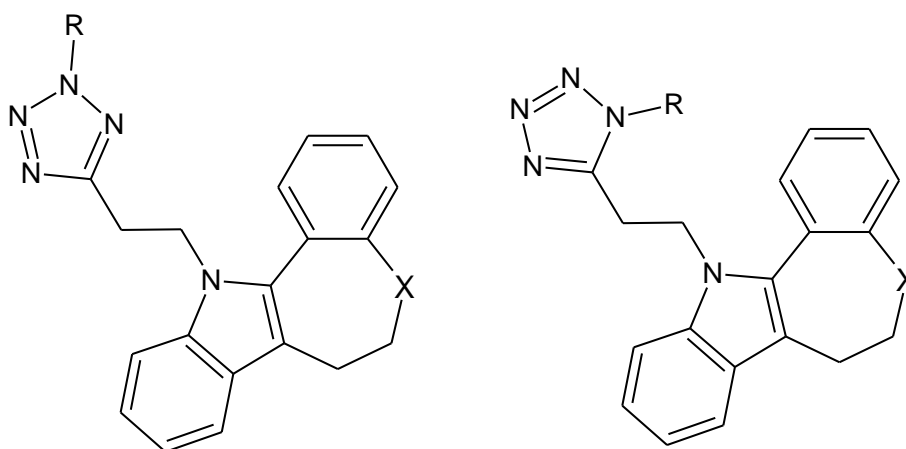
Obr. č. 17. Strukturní vzorec základního derivátu 1-[1-(2H-tetrazol-5ylmethyl)-1H-indol-3-yl]ethanonu (vlevo) a 2-[5-[3-acetyl-1H-indol-1-yl-methyl]-2H-tetrazol-2-yl]acetohydrazid (vpravo) ¹⁰¹

Antibakteriální aktivita připravených sloučenin byla testována proti gram negativním bakteriím, jako je *E. coli*, a gram pozitivním bakteriím, například *B. subtilis* nebo *S. lactis* ve výživovém agarovém médiu. Antifungální aktivita byla testována proti *C. albicans*, *A. niger* a dalším. Výsledky testování prokázali, že sloučeniny vykazovaly různé stupně biologické aktivity vůči testovaným mikroorganismům. Jednu z nejvyšších antibakteriálních aktivit vykazoval 1-[1-(2H-tetrazol-5ylmethyl)-1H-indol-3-yl]ethanon a jeho acetohydrazidový derivát. Srovnáním aktivit jednotlivých sloučenin, včetně výchozí látky, bylo zjištěno, že připojení substituovaných tetrazolů na indolový kruh má za následek značné zvýšení inhibiční aktivity. Stejně jako předchozí skupiny derivátů i zde platí, že tetrazolyl s volnou NH skupinou a N-substituované hydrazidy vykazují vyšší biologickou aktivitu.¹⁰¹

2.4.3. Tetracycklé tetrazolyl-indol deriváty

V oblasti strukturně modifikovaných selektivních estrogenových mimetik, které mohou působit jako antagonisté vůči rakovině prsu či dělohy, došlo k velkému pokroku. Tyhle látky mohou také podporovat úspěšné zachycení vajíčka v děloze, čímž jsou schopny předcházet častým post-implantačním příhodám, tedy předčasným potratům. V současné době se výzkumníci stále snaží minimalizovat nežádoucí vedlejší účinky těchto léčiv.¹⁰² Jednou z prvních látek na bázi estrogenu byl 2-fenylindol a nedávno bylo prokázáno, že některé tetracycklé indoly mají smíšené agonistické / antagonistické účinky na estrogen.¹⁰³ Tyto tetracycklé sloučeniny jsou stabilnější a odolnější než 2-fenylindoly a

připomínají více přirozené estrogenu, i co se týče vazebné afinity k receptoru estrogenu jsou aktivnější.



Obr. č. 18. Strukturní vzorce připravených tetrazolyl-indol derivátů¹⁰³

Pro připravené sloučeniny byla vyhodnocena relativní enzym-receptorová vazebná afinita, která byla porovnána se standardem – estradiolem. Výsledky získané studiem vazebné afinity ukázali, že oba regioizomery vykazovali k receptoru estrogenu slabou vazebnou afinitu a N-2 regioizomery byli o něco více aktivnější, než N-1 regioizomery. Výsledky odhalili také to, že N-1 regioizomery jsou více agonistické vůči estrogenu a podporují tedy jeho účinky, zatímco N-2 regioizomery působí jako antagonisté a účinkům estrogenu brání.¹⁰⁴ Estrogenní aktivita byla hodnocena na základě nárůstu hmotnosti dělohy testovaných krys. Tento nárůst hmotnosti byl prokázán u všech testovaných subjektů. Antiestrogenová aktivita byla naopak hodnocena na základě úbytku hmotnosti. Modifikací délky vedlejšího řetězce lze antiestrogenovou aktivitu upravovat.¹⁰³

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE

Veškeré použité chemikálie byly zakoupeny z komerčních zdrojů (Sigma Aldrich, Penta, VWR, Fisher Scientific). Čistota chemikálií byla nad 99% a byly použity bez další purifikace.

N-donorové ligandy: 1,10-fenatrolin, 2,2-bipyridin, dipyrido[3,2-a:2',3'-c]fenazin, 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indol

Rozpouštědla: methanol MeOH, *N,N'* – dimethylformamid DMF, izopropylalkohol *i*-PrOH, trichlorid fosforu POCl₃.

Ostatní chemikálie: azid sodný NaN₃, bromid zinečnatý ZnBr₂, indol-3-acetonitril, hydroxid sodný NaOH, kyselina chlorovodíková HCl (35%), diethylether Et₂O, aktivní uhlí, indol-2-karboxylová kyselina, chlorid sulfurylu SOCl₂, amoniak NH₃ vodný roztok, síran sodný Na₂SO₄

Přístroje:

Elementární analýza prvků (C, H, N) byla provedena pomocí přístroje Flash 2000 Analyzátor (Thermo Scientific).

Infračervená spektroskopie (FT-IR) byla provedena pomocí přístroje FT-IR spektrometru Nexus 670 s (ThermoNicolet). Měřená oblast vlnočtů byla v rozsahu 4000 – 400 cm⁻¹

Mikrovlňný reakční systém Monowave 300 (Anton Paar) byl použit pro syntézu ligandu.

Měření ¹H spekter bylo provedeno na 600 MHz NMR spektrometru firmy Varian pro měření spekter vysokého rozlišení vzorků v roztoku.

Elektronová paramagnetická resonance (EPR) byla provedena na spektrometru od firmy Magnostech MS-5000.

RTG strukturní analýza byla provedena na monokrystalovém difraktometru D8 QUEST (Bruker) vybaveným PHOTON 199 CMOS detektorem pro měření v rozsahu teplot 300 – 90 K.

Magnetochemická měření byla provedena pomocí přístroje PPMS Dynacool s VSM modulem.

3.2. SYNTÉZA LIGANDŮ

3.2.1. 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]-1H-indol

a) Ligand byl připraven modifikací literárního postupu.¹⁰⁵ V Erlenmeyerově baňce byl smíchán NaN_3 (0.78 g, 0,012 mol), ZnBr_2 (2.25 g, 0,01 mol) a indol-3-acetonitril (1.56 g, 0,01 mol) a rozpuštěn ve 20 ml izopropylalkoholu. Reakční směs byla přes noc zahřívána pod refluxem za neustálého míchání. Vzniklá sraženina byla zfiltrována, rozpuštěna v 5% roztoku NaOH (40 ml) a 15-20 minut míchána pro téměř úplné rozpuštění. V zásaditém prostředí byla vyloučena bílá sraženina, která byla zfiltrována. Získaný filtrát byl postupně po kapkách okyselován 35% HCl na kyselou oblast pH tak dlouho, dokud docházelo k vylučování bílého produktu. Výsledný produkt byl zfiltrován, promyt Et_2O a vysušen. Hmotnost získaného ligandu byla 0,62 gramů, což činí 31% výtěžnosti.

Z důvodu nízké výtěžnosti reakce byl pro pozdější syntézy použit jiný postup.

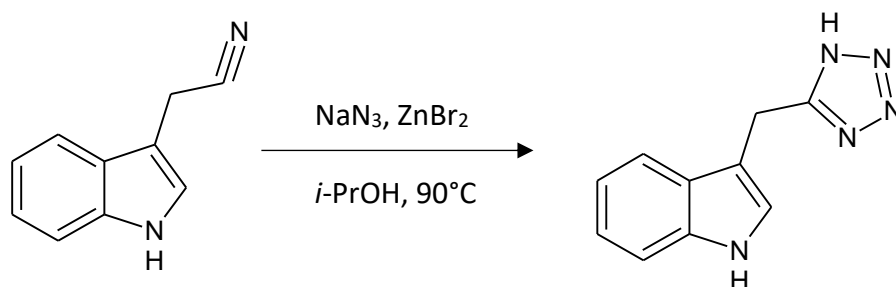


Schéma č. 1. Schéma a) syntézy ligandu 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indol

b) Pro další přípravu ligandu byl použit opět modifikovaný literární postup.¹⁰⁶ Ve speciální vialce byl smíchán indol-3-acetonitril (1.35 g, 0,0087 mol), NH_4Cl (0.60 g, 0,589 mol) a NaN_3 (0.72 g, 0,011 mol) v 10 ml DMF. Reakce byla provedena v mikrovlnném syntetizátoru při 150°C v časovém intervalu jedné hodiny. Poté byl na RVO odpařen přebývající DMF. Zbývá hnědá látka byla promyta ve 30 ml destilované vody za vzniku hnědé sraženiny a celá směs byla upravena na bazické pH pomocí 5% roztoku NaOH. Nerozpuštěné části roztoku byli extrahovány do Et_2O a získaná vodní část byla 20 minut míchána s aktivním uhlím. Poté bylo aktivní uhlí zfiltrováno přes filtrační papír a filtrát byl ochlazen s misce s ledem. K ochlazenému filtrátu byla po kapkách přidávána 35% HCl a v kyselé oblasti pH došlo k vyloučení světle žlutého produktu, který byl zfiltrován, promyt Et_2O a vysušen. Hmotnost produktu byla 1,12 g, což činí 63% výtěžnosti. Produkt byl charakterizovaný pomocí elementární analýzy, NMR spektroskopie (obr. č. 19) a IČ spektroskopie (obr. č. 20 a 21)

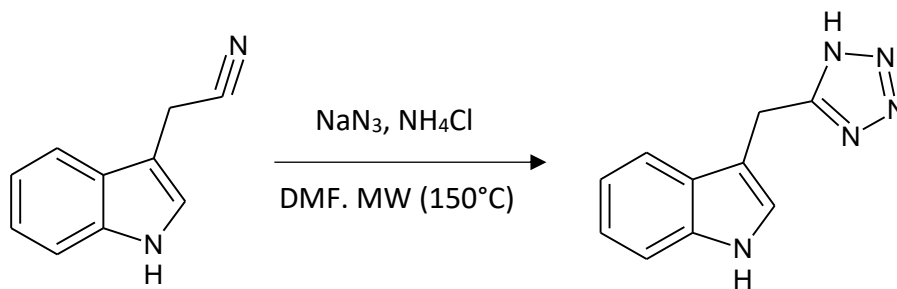
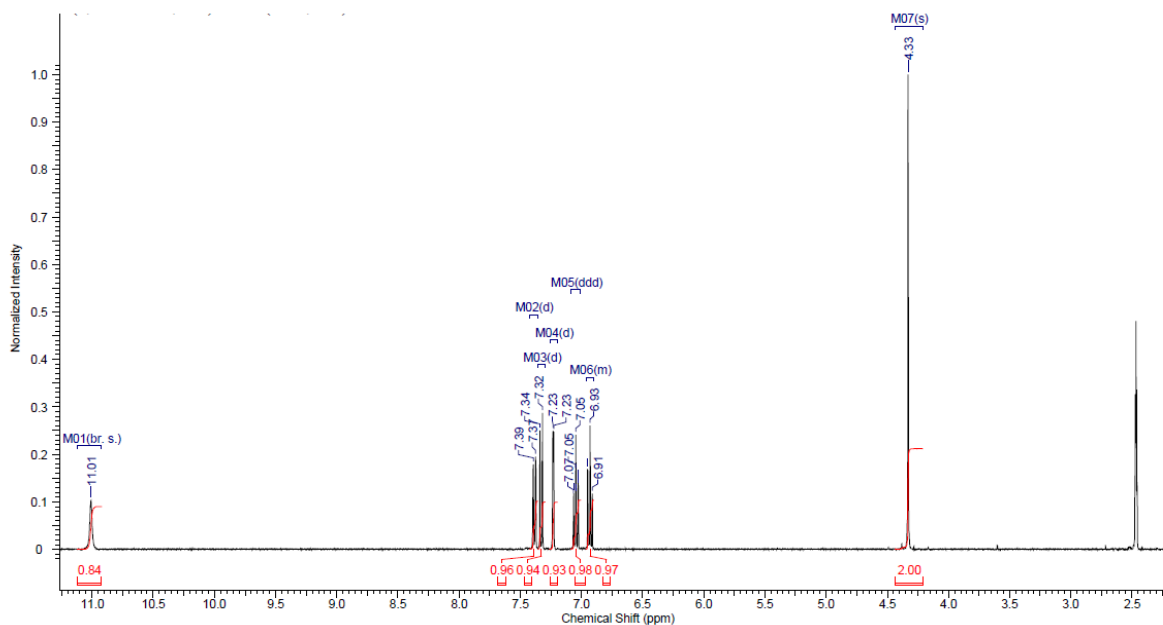


Schéma č. 2. Schéma b) syntézy ligandu 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indol

Elementární analýza ligandu se složením $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_5$ ($M_r = 199,21 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$): Anal. vypočteno: C, 60,29%; H, 4,55%; N, 35,15; Naměřeno: C, 59,89%; H, 4,49%; N, 35,320%.

FTIR (cm^{-1}): valenční vibrace N-H: 3460sh, 3320s; valenční vibrace C-H_{ar}: 3080w, 3038w; valenční vibrace C-H_{alif}: 2975w, 2859w; valenční vibrace C=C/C=N/N=N a vibrace aromatického skeletu: 1654s, 1574s, 1554m, 1455m, 1432s, 1396s, 1337s, 1255s; deformační vibrace C-H a aromatického skeletu: 1117m, 1058s, 998m, 747s.

^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*) δ ppm 4.33 (s, 2H, CH₂) 6.93 (m, 1H, CH_{ar}) 7.05 (ddd, J = 8.22 Hz, 7.04 Hz, 1.17 Hz, 1H, CH_{ar}) 7.23 (d, J = 2.35 Hz, 1H, CH_{ar}) 7.33 (d, J = 8.22 Hz, 1H, CH_{ar}) 7.38 (d, J = 7,83 Hz, 1H, CH_{ar}) 11.01 (br. s, 1H, NH).



Obr. č. 19. ^1H NMR spektrum ligandu 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indol

3.2.2. 2-(1H-tetrazol-5-yl)-1H-indol

Jedná se o tříkrokovou syntézu a cílem bylo připravit ligand, který by měl tetrazolovou jednotku navázanou v blízkosti dusíkového atomu indolu a mohl tedy vystupovat jako chelatující ligand.

3.2.2.1. Syntéza 1H-indol-2-karboxamidu

Výchozí látkou byla indol-2-karboxylová kyselina (2 g, 0.012 mol), která byla rozpuštěna ve 20 ml chloroformu a přidána 1 kapka DMF se 2 ml chloridu sulfurylu. Celá směs byla ponechána 2 hodiny pod refluxem. V průběhu byla připravena do kádinky směs 20g drceného ledu a 20 ml vodného roztoku amoniaku. Ochlazená reakční směs byla přelita do kádinky s ledem a opět 2 hodiny míchána. Výsledný žlutý produkt byl zfiltrován na fritě a vysušen. Výtěžnost reakce byla 85%.¹⁰⁷ Produkt byl charakterizovaný na základě stanovení teploty tání, která se shodovala se zjištěnými údaji.

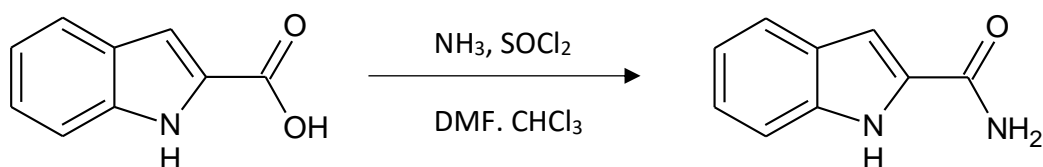


Schéma č. 3. Schéma syntézy 1H-indol-2-karboxamidu

3.2.2.2. Syntéza 1H-indol-2-karbonitrilu

1H-indol-2-karboxamid (2 g, 0.012 mol) byl rozpuštěn v 15 ml POCl₃ a půl hodiny zahříván pod refluxem. Poté byla získána hnědočerná kapalina o pH = 2, která byla přelita na drcený led a míchána. Ke směsi byl postupně přidáván vodný roztok amoniaku pro úpravu pH na mírně zásadité (8 – 9) a došlo ke vzniku hnědé sraženiny. Reakční směs byla extrahována do Et₂O (3 x 15 ml) a extrahovaná sraženina byla zfiltrována přes fritu. Filtrát byl vysušen bezvodným Na₂SO₄ a Et₂O byl odpařen pomocí RVO. Výsledným produktem byl hnědý prášek. Výtěžnost reakce byla 75%.¹⁰⁸ Produkt byl charakterizovaný pomocí elementární analýzy a IČ spektroskopie, kde bylo možné spatřit pík charakteristický pro nitrilovou skupinu.

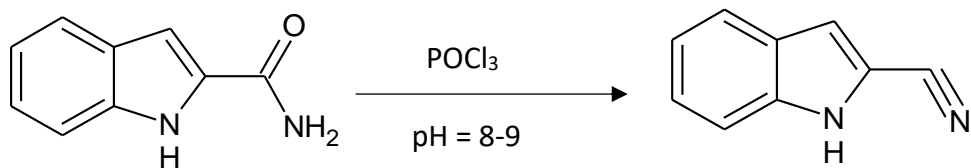


Schéma č. 4. Schéma syntézy 1H-indol-2-karbonitrilu

Elementární analýza předpokládaného produktu se složením $C_9H_6N_2$: Anal. vypočteno: C, 76,04%; H, 4,25%; N, 19,71; Naměřeno: C, 74,60%; H, 4,33%; N, 18,99%.

FTIR (cm^{-1}): valenční vibrace N-H: 3300s; valenční vibrace C-H_{ar}: 3081w, 3056w; valenční vibrace $C\equiv N$: 2237; valenční vibrace $C=C/C=N$ a vibrace aromatického skeletu: 1648m; 1617m, 1521s, 1497s, 1412s, 1348s, 1226s; deformační vibrace C-H a aromatického skeletu: 1120m, 811s, 734s.

3.2.2.3. Syntéza tetrazolyl-indolu

Pro syntézu konečného tetrazolyl-indolu byl použit stejný postup jako je uveden v kap. 3.2.1. a). Bohužel syntéza byla neúspěšná a další způsoby přípravy budou součástí pozdějšího zkoumání.

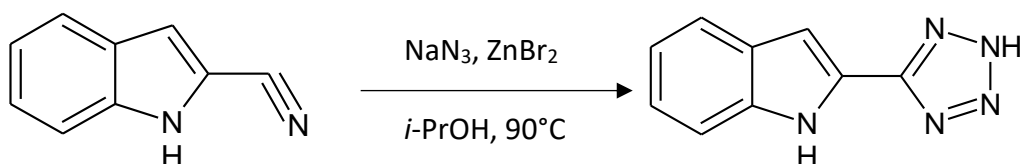


Schéma č. 5. Schéma syntézy 2-(1H-tetrazol-5-yl)-1H-indolu

3.2.3. Syntéza dipyrido[3,2-a:2',3'-c]fenazinu (DPPZ)

Ligand byl připraven podle literárního návodu s drobnými úpravami.¹⁰⁸ Nejprve bylo do kádinky odměřeno 20 ml ethanolu a 3 kapky kyseliny octové a roztok byl ponechán 15 minut pod atmosférou dusíku. Poté byl k roztoku přidán roztok 1,10-fenantrolin-5,6-dionu (0.25 g, 1.19 mmol) a fenyl-1,2-diaminu (0.32 g, 1,76 mmol) ve 20 ml ethanolu a celá směs byla přes zahřívána pod refluxem. Na druhý den po ochlazení v roztoku došlo ke vzniku oranžové sraženiny, která byla zfiltrována, promyta ethanolem a vysušena. Hmotnost získaného produktu byla 0,3g, výtěžnost reakce je 94%. Produkt byl charakterizován pomocí elementární analýzy.

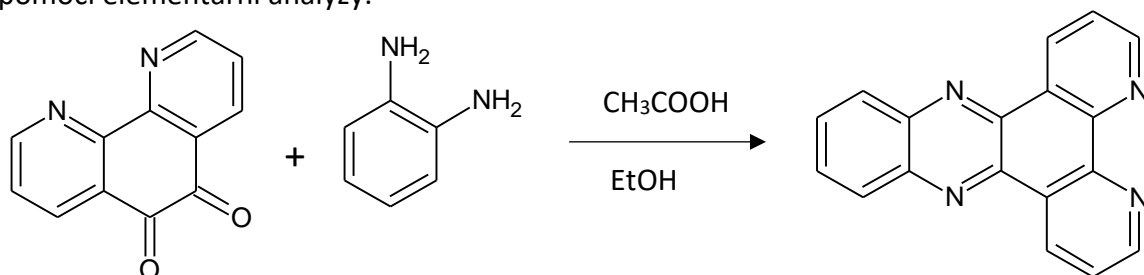


Schéma č. 6. Schéma syntézy DPPZ

Elementární analýza pro předpokládané složení $C_{18}H_{12}N_4O_2$ ($M_r = 269,28$): Anal. vypočteno: C, 72,72%; H, 4,26%; N, 19,28; Naměřeno: C, 71,99%; H, 4,03%; N, 18,66%.

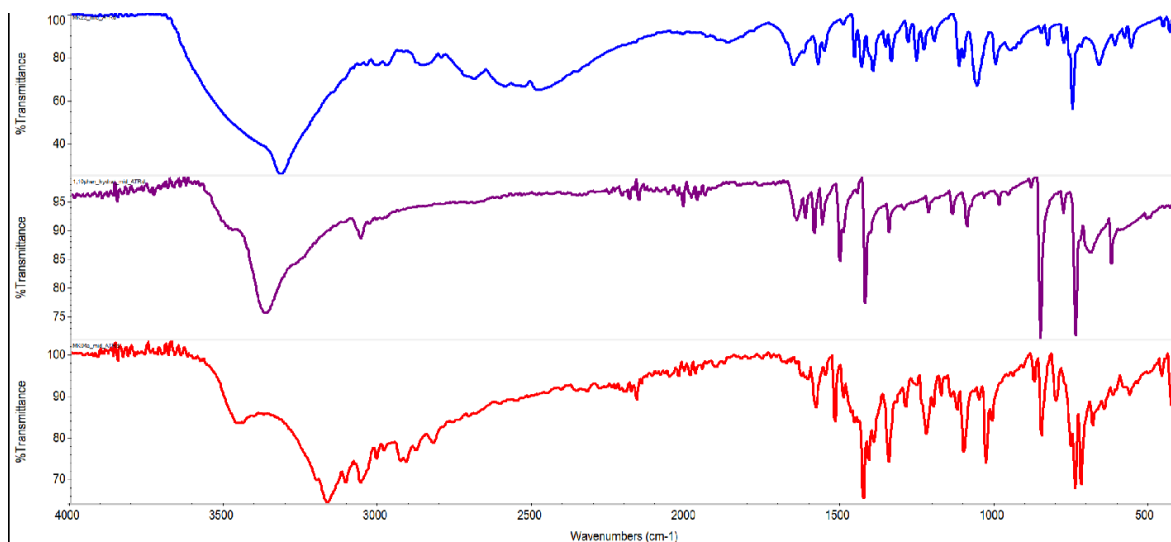
3.3. KOMPLETEXY S 3-[(1H-TETRAZOL-5-YL)METHYL]-1H-INDOLEM

3.3.1. Komplex č. 1

Komplex byl připraven reakcí $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (80 mg, 0.4 mmol) s 1,10-fenantrolinem (158.6 mg, 0.8 mmol) v 10 ml methanolu. Reakční směs byla ponechána na magnetické míchačce 5-10 minut do úplného rozpuštění obou reaktantů. Poté byl ke směsi přidán roztok ligandu 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indolu (80 mg, 0.4 mmol) v 5 ml methanolu. Po smíchání došlo ke změně modrého zbarvení na tmavě zelenou. Reakční směs byla přikryta parafilmem a uložena v digestoři na krystalizaci. Po 3 dnech se v roztoku objevili zelené krystalky, jejichž přítomnost byla potvrzena pod mikroskopem. Vzniklý komplex byl zfiltrován na fritě, promyt Et_2O a vysušen. Výtěžnost reakce je 68%. Produkt byl charakterizovaný pomocí elementární analýzy, IČ spektroskopie s (obr. č. 20), magnetochemického měření (kap. č. 4) a RTG strukturní analýzy (kap. č. 5).

Elementární analýza produktu se složením $[\text{Cu}:\text{H}2\text{L}:\text{phen}:\text{MeOH}, 2:4:2:3]$ a sumárním vzorcem $\text{Cu}_2\text{C}_{67}\text{H}_{60}\text{N}_{24}\text{O}_3$ ($M_r = 1\,376,4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$): Anal. vypočteno: C, 58,46%; H, 4,39%; N, 24,42; Naměřeno: C, 58,40%; H, 4,112%; N, 24,35%.

FTIR (cm^{-1}): valenční vibrace N-H: 3461m; valenční vibrace O-H: 3169s; valenční vibrace C-H_{ar} : 31080w, 3059w; valenční vibrace C-H_{alif} : 2912w, 2824w; valenční vibrace $\text{C}=\text{C}/\text{C}=\text{N}/\text{N}=\text{N}$ a vibrace aromatického skeletu: 1580m, 1518m, 1426s, 1410m, 1345m, 1223m; deformační vibrace C-H a aromatického skeletu: 1101m, 1028s, 848m, 738s, 719s.



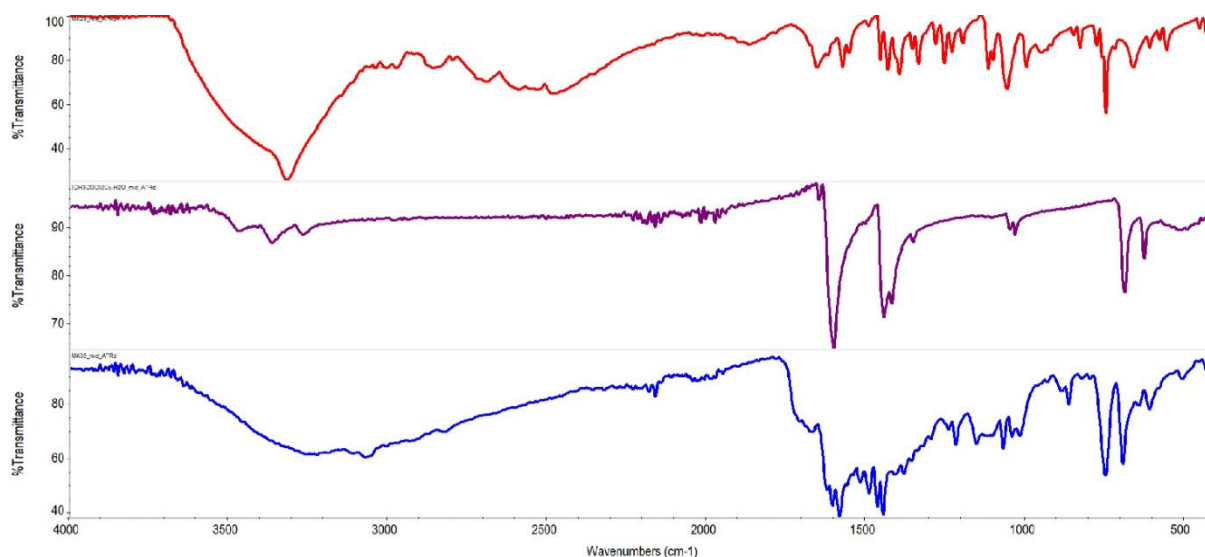
Obr. č. 20. Srovnání FTIR spekter ligandu, fenantrolinu a komplexu č. 1

3.3.2. Komplex č. 2

Komplex byl připraven reakcí $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (80 mg, 0.4 mmol) v 5 ml methanolu se 2 ml pyridinu. Reakční směs byla 5-10 minut míchána pro rozpuštění a poté byl přidán roztok ligandu 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indolu (80 mg, 0.4 mmol) v 5 ml methanolu. Po smísení obou roztoků došlo ke vzniku světle modrého zbarvení, místo původního tmavě modrého zbarvení. Reakční směs byla přelita do vialky s víčkem a ponechána v digestoři. Po měsíci byl získán světle zelený jemný prášek. Podle elementární analýzy se v komplexu pyridin nevyskytuje, jedná se tedy o komplex ligandu a mědi. Výtěžnost reakce je 29%. Produkt byl charakterizovaný pomocí elementární analýzy a IČ spektroskopie (obr. č. 21).

Elementární analýza předpokládaného produktu se složením $[\text{Cu}:\text{H}2\text{L}:\text{ac}:\text{H}_2\text{O}, 1:1:1:0,25]$ a sumárním vzorcem $\text{Cu}_1\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_1$ ($M_r = 325,31 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$): Anal. vypočteno: C, 44,31%; H, 3,56%; N, 21,53; Naměřeno: C, 44,23%; H, 2,61%; N, 21,03%.

FTIR (cm^{-1}): valenční vibrace N-H/O-H: 3255br; valenční vibrace C-H_{ar}: 3072w; valenční vibrace C-H_{alif}: 2918w, 2826w; valenční vibrace C=C/C=N/N=N a vibrace aromatického skeletu: 1625sh, 1607, 1518w, 1465m, 1447s, 1382w, 1218m; asymetrické a symetrické vibrace COO: 1583s, 1491m; deformační vibrace C-H a aromatického skeletu: 1153m, 1069s, 1043m, 747s.



Obr. č. 21. Srovnání FTIR spekter ligandu, $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a komplexu č. 2

3.3.3. Komplex č. 3

Komplex byl připraven reakcí $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (80 mg, 0.4 mmol) s 2,2-bipyridinem (62.5 mg, 0.4 mmol) v 10 ml methanolu. Reakční směs byla ponechána na magnetické míchačce 5-10 minut do úplného rozpuštění obou reaktantů. Poté byl ke směsi přidán roztok ligandu 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indolu (80 mg, 0.4 mmol) v 5 ml methanolu. Po smíchání došlo ke změně světle modrého zbarvení na tmavě zelenou. Reakční směs byla míchána 30 minut a poté vznikla světle zelená sraženina, ta byla zfiltrována a vysušena. Zbylý filtrát byl umístěn do digestoře pro krystalizaci zbylého produktu. V průběhu 5 dnů došlo ke tvorbě tmavě zelených polykrystalů. Vzniklý produkt byl zfiltrován na fritě, promyt Et_2O a vysušen. Výtěžnost reakce je 24%. Produkt byl charakterizovaný pomocí elementární analýzy a IČ spektroskopie (obr. č. 22)

Elementární analýza předpokládaného produktu se složením $[\text{Cu}:\text{H}_2\text{L}:\text{bpy}:\text{ac}:\text{H}_2\text{O}, 2:2:2:2:2]$ a sumárním vzorcem $\text{Cu}_2\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{N}_{14}\text{O}_8$ ($M_r = 990,02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$): Anal. vypočteno: C, 53,38%; H, 4,28%; N, 19,81; Naměřeno: C, 53,34%; H, 4,41%; N, 19,49%.

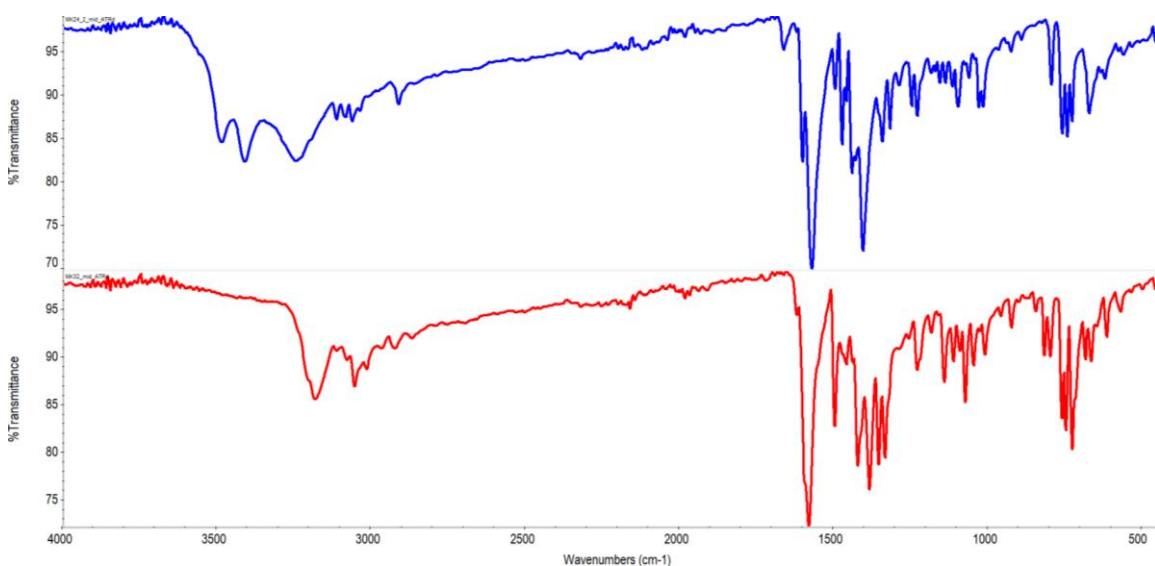
FTIR (cm^{-1}): valenční vibrace O-H: 3486m, 3412s; valenční vibrace N-H: 3248s, 3114m; valenční vibrace C-H_{ar}: 3087m; valenční vibrace C-H_{alif}: 2913w; valenční vibrace C=C/C=N/N=N a vibrace aromatického skeletu: 1603m, 1474w, 1441m, 1407s, 1343m, 1318w, 1248w; asymetrické a symetrické vibrace COO: 1572s, 1496w; deformační vibrace C-H a aromatického skeletu: 1186w, 1117w, 1097m, 1062w, 760m, 742m, 727w.

3.3.4. Komplex č. 4

Komplex byl připraven reakcí $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (80 mg, 0.4 mmol) s dipyrido[3,2-a:2',3'-c]fenazinem (DPPZ) (112 mg, 0.4 mmol). Reakční směs byla ponechána na magnetické míchačce do úplného rozpuštění obou reakčních složek. Poté byl přidán roztok ligandu 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indolu (80 mg, 0.4 mmol) v 5 ml methanolu a vzniknul tmavě zelený roztok. Roztok byl překryt parafilmem a ponechám v digestoři na krystalizaci. Během 4-5 dní se na dně kádinky utvořili tmavě zelené polykrystaly, jejichž tvar byl potvrzen pod mikroskopem. Získaný produkt byl zfiltrován na fritě (S4) a vysušen. Výtěžnost reakce je 41%. Produkt byl charakterizovaný pomocí elementární analýzy a IČ spektroskopie (obr.č. 22)

Elementární analýza předpokládaného produktu se složením [Cu:H2L:DPPZ:ac:H₂O, 1:1:1:1:0,25] a sumárním vzorcem Cu₁C₃₀H₂₂N₉O₃ (M_r = 612,12 g.mol⁻¹): Anal. vypočteno: C, 58,87%; H, 3,62%; N, 20,59; Naměřeno: C, 59,05%; H, 3,47%; N, 20,70%.

FTIR (cm⁻¹): valenční vibrace N-H/O-H: 3207sh, 3185s; valenční vibrace C-H_{ar}: 3084w, 3055m; valenční vibrace C-H_{alif}: 2924w, 2870w; valenční vibrace C=C/C=N/N=N a vibrace aromatického skeletu: 1621sh, 1596m, 1551w, 1460w, 1423s, 1385s, 1355s, 1335m, 1229w; asymetrické a symetrické vibrace COO: 1581s, 1497m; deformační vibrace C-H a aromatického skeletu: 1185w, 1142s, 1113m, 1074s, 761s, 747s, 726s.

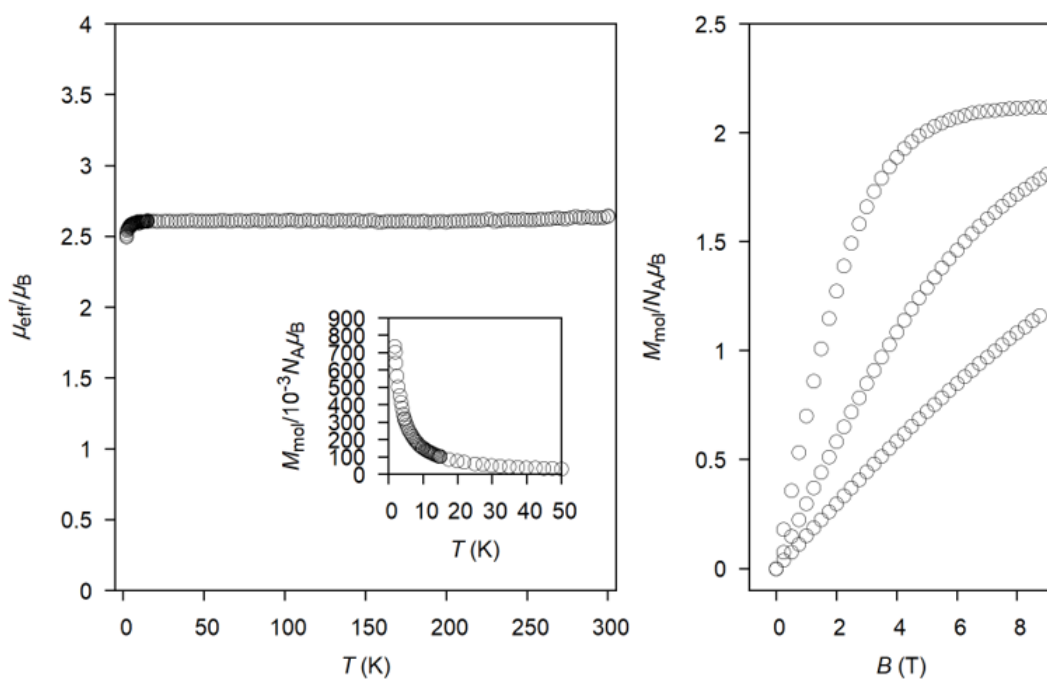


Obr. č. 22. Srovnání FTIR spekter komplexu č. 3 a komplexu č. 4, ve kterých je přítomna octanová skupina

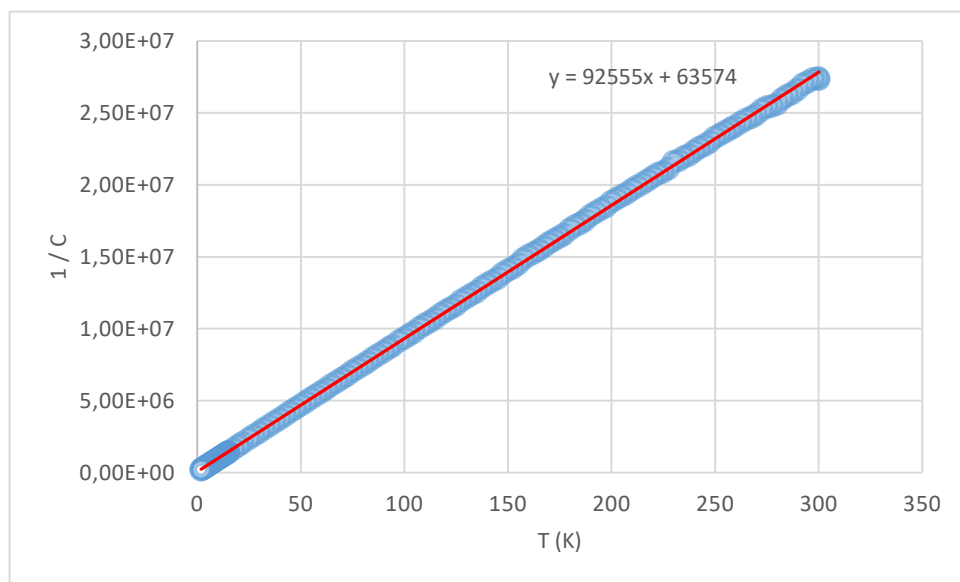
4. MAGNETOCHEMICKÁ MĚŘENÍ

Magnetická data pro komplex č. 1 byli měřeny na přístroji PPMS Dynacool v rozmezí teplot 1,9 – 300 K v magnetickém poli 1 T a izotermické magnetizace v poli až do 9 T při teplotách 2,5 a 10 K (obr.č. 23). Z analýzy teplotní závislosti susceptibility na Curie-Weissův zákon byli vypočteny hodnoty Weissovy konstanty – $\theta = -0,69$ K a hodnota g faktoru $g = 2,14$ (obr. č. 24).

Záporná hodnota Weissovy konstanty poukazuje na slabou antiferomagnetickou interakci mezi centrálními atomy mědi.



Obr. č. 23. Teplotní závislost efektivního magnetického momentu na teplotě (vlevo) a polová závislost izotermické magnetizace při teplotě 2,5 a 10 K (vpravo)



Obr. č. 24. Analýza susceptibility na Curie-Weissův zákon

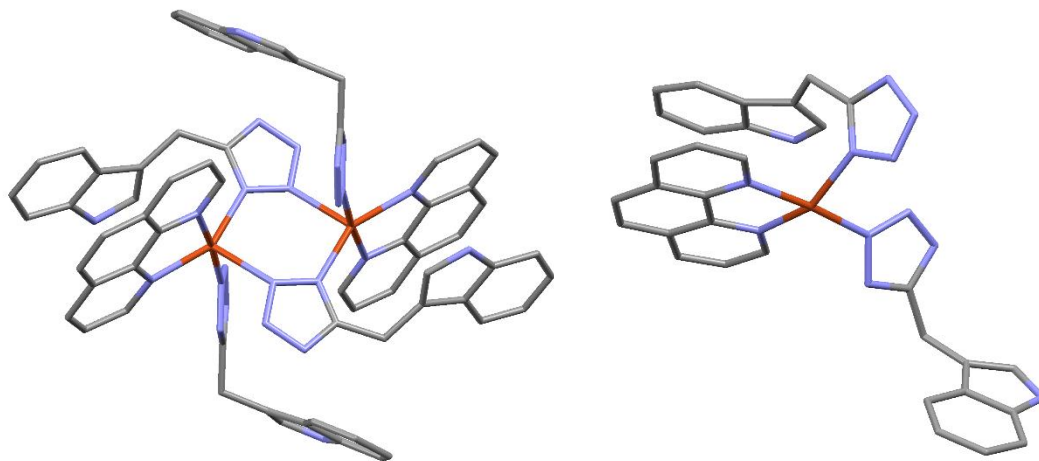
5. RENTGENOVÁ STRUKTURNÍ ANALÝZA

Rentgenová strukturní analýza byla provedena na komplexu č. 1, protože pouze ten se nám podařilo připravit ve formě vhodných monokrystalů.

Jedná se o dimerní koordinační sloučeninu, kde můžeme pozorovat 2 centrální atomy mědi, které jsou spojeny přes můstkující tetrazolyl-indolový ligand. Ve struktuře jsou celkem 4 tetrazolyl-indolové ligandy, z nichž 2 vystupují jako můstkující a 2 jako terminální. Dále můžeme vidět chelatující fenantrolinový ligand. Vazebné délky mezi centrálním atomem mědi a jednotlivými atomy dusíku jsou následující: Cu-N_{fen.}: 2,014 a 2,055 Å, Cu-N_{tetr.term.}: 1,981 Å, Cu-N_{tetr.můstk.}: 2,003 a 2,249 Å

Koordinační číslo centrálního atomu je 5, pro které existují 2 tvary koordinačního polyedru: čtvercová pyramida a tetragonální bipyramida. Podle vypočteného Addisonova parametru τ ($\tau = \frac{\alpha - \beta}{60}$), který vyšel 0,388 (pro $\alpha = 174,09^\circ$ a $\beta = 150,84^\circ$) odpovídá tvar koordinačního polyedru deformované čtvercové pyramidě.

Pro znázorněnou strukturu byly stanoveny následující mřížkové parametry: $a = 11.1245$ (15) Å, $b = 11.9760$ (15) Å, $c = 22.777$ (3) Å, $\alpha = \gamma = 90^\circ$, $\beta = 97,303$ (4) $^\circ$ a prostorová grupa P 2₁/n.



Obr. č. 24. *Struktura komplexu č. 1 [Cu₂(μ -HL)₂(HL)₂(phen)₂] \cdot 2CH₃OH (vlevo) a asymetrická jednotka (vpravo). Atomy vodíku a solventu nejsou zobrazeny.*

6. ZÁVĚR

V rámci bakalářské práce byla vypracována literární rešerše na základě odborné literatury zaměřenou na biologickou aktivitu koordinačních sloučenin tetrazolu a indolu a nastínění biologických aktivit tetrazolyl-indolových ligandů. V kapitole koordinačních sloučenin indolu byly zmíněny komplexy se značnou antibakteriální či antifungální aktivitou, jejichž testování prokázalo, že koordinační sloučeniny vykazují zřetelně vyšší aktivity, než ligandy samotné. V případě koordinačních sloučenin obsahující tetrazolový ligand vykazovaly spíše protinádorovou aktivitu či schopnost daných sloučenin štěpit DNA a opět bylo zjištěno, že tetrazolové komplexy měli výraznější biologické aktivity, než ligandy samotné. V poslední kapitole teoretické části jsme poukázaly na tetrazolyl-indolové ligandy, u nichž byla zjištěna protinádorová či antibakteriální aktivita. Dle dostupné literatury nebyla zatím zkoumána biologická aktivita koordinačních sloučenin obsahujících tetrazolyl-indolové ligandy.

Dalším cílem této bakalářské práce bylo připravit tetrazolyl-indolové ligandy a následně koordinační sloučeniny s potenciální biologickou aktivitou. Jako ligand jsme zvolili 3-[(1H-tetrazol-5-yl)methyl]1H-indol, který obě části propojuje jednou methylovou skupinou a jako centrální atom jsme určili měď u všech cílených komplexů. Celkem se podařilo připravit 4 komplexy obsahující námi připravený tetrazolyl-indolový ligand a 3 z nich obsahovaly i chelatuující ligandy, konkrétně 1,10-fenantrolin, 2,2-bipyridin a syntetizovaný dipyrido[3,2-a:2',3'-c]fenazin. U komplexu č.1, tedy komplexu obsahující fenatrolin, se podařilo určit krystalovou strukturu pomocí rentgenové strukturní analýzy. Pomocí RTG strukturní analýzy bylo zjištěno, že tetrazolyl-indolový ligand se může vázat terminálně pouze přes jeden atom dusíku, nebo může vystupovat jako můstkující ligand, přičemž k navázání dochází přes atomy tetrazolové jednotky. Z magnetochemického měření vyplynulo, že mezi centrálními atomy mědi dochází ke slabé antiferomagnetické interakci. Ostatní komplexy byly získány pouze ve formě polykrystalické a byly proto analyzovány pomocí dostupných nepřímých fyzikálních metod (elementární analýza, IČ spektroskopie).

LITERÁRNÍ ZDROJE

- ¹ N. Chadha, O. Silikari, *Eur. Jour. Of Med. Chem.* 134 (2017) 159 - 184
- ² Ch. N. S. S. P. Kumar, D. K. Parida, A. Santhoshi, A. K. Kota, B. Sridhar, V. J. Rao, *Med. Chem. Commun.* 2 (2011) 486
- ³ A. Baeyer, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 140 (1866) 295 – 296
- ⁴ A. Baeyer, A. Emmerling, *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* 2 (1869) 679 – 682
- ⁵ R.B Van Order, H.G Lindwall, *Indole, Chem. Rev.* 30 (1942) 69 – 96
- ⁶ Navriti Chadha, Om Silakari, *Eur. Jour. of Med. Chem.* 134 (2017) 159 – 184
- ⁷ I. Avan, G. Alaattin, G. Kiyemet, *Turk. J. Chem.* 37 (2013) 271 – 291
- ⁸ S.S. El-Nakkady, S.E.-S. Abbas, H.M Roaiah, I.H. Ali, *Global J Pharm.* 6 (3) (2012) 166 – 177
- ⁹ P. Rani, V.K. Srivastava, K. Ashok, *Eur. J. Med. Chem.* 39 (2004) 449 – 452
- ¹⁰ H. Chai, Y. Zhao, C.P. Gong, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 911 – 917
- ¹¹ N. Karali, A. Gursoy, F. Kandemirli, N. Shvets, F.B. Kaynak, S. Ozbey, V. Kovalishyn, A. Dimoglo, *Bioorg. Med. Chem.* 15 (17) (2007) 5888 – 5904
- ¹² A.Y. Merwade, S.B. Rajur, L.D. Basngoudar, *Indian J. Chem. Sec. B* 29 (1990) 1113 – 1117
- ¹³ S. Vikas, K. Pradeep, P. Devender, *J. Hetero. Chem.* 47 (3) (2010) 491 – 502
- ¹⁴ S.M.S. Chauhan, P.P. Mohapatra, T.S. Kohli, S. Satapaty, *J. Mol. Catal. A: Chem.* 113 (1-2) (1996) 239 – 247
- ¹⁵ A. Coates, S. Abraham, S.B. Kaye, T. Sowerbutts, C. Frewin, R. Fox, M. Tattersall, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 19 (1983) 203 – 208
- ¹⁶ H. Jacobi, H. Dell, *Arzneimittel-Forschung* 30 (1979) 1348 – 1362
- ¹⁷ J. Baird-Lambert, P. Davis, K. Tylor, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 9 (1982) 203 – 212
- ¹⁸ S.S.I.S. Group, *N. Eng. J. Med.* 325 (1991) 316 – 321
- ¹⁹ H. Havanka, C. Dahlof, P.H. Pop, H.-C. Diener, P. Winter, H. Whitehouse, H. Hassani, N.S.W.S. Group, *Clin. Ther.* 22 (2000) 970 – 980
- ²⁰ W.H. Visser, G.M. Terwindt, S.A. Reines, K. Jiang, C.R. Lines, M.D. Ferrari, *Arch. Neurol.* 53 (1996) 1132 – 1137
- ²¹ A.R. Katritsky, C.W. Rees, K.T. Potts, Eds, 1st ed, Pergamon Press: Oxford, UK, 5 (1984) 791 – 828
- ²² W.K. Su, Z. Hong, W.G. Shan, X.X. Zhang, *Eur. J. Org. Chem.* 27 (2006) 2723 – 2726
- ²³ C. Kikuchi, H. Nagaso, T. Hiranuma, M. Koyama, *J. Med. Chem.* 42 (1999) 533
- ²⁴ Y. Tamura, F. Watanabe, T. Nakatani, K. Yasui, M. Fuji, T. Komurasaki, H. Tsuzuki, R. Maekawa, T. Yoshioka, K. Kawada, K. Sugita, M. Ohtani, *J. Med. Chem.* 41 (1998) 640

- ²⁵ M.J. Schocken, R.W. Creekmore, G. Theodoridis, G.J. Nystrom, R.A. Robinson, *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989) 1220
- ²⁶ L.V. Myznikov, A. Hrabalek, G.I. Koldobskii, *Chem. Heterocycl. Compd.* 43 (2007) 1
- ²⁷ H.D. Klaubert, J.H Sellstedt, C.J. Guinosso, S.C. Bell, R.J. Capetola, *J. Med. Chem.* 24 (1981) 748
- ²⁸ B. Schmidt and B. Schieffer, *J. Med. Chem.* 46 (2003) 2261
- ²⁹ A.A. Bekhit, O.A: El-Sayed, E. Aboulmagd, J.Y. Park, *Eur. J. Med. Chem.* 29 (2004) 249
- ³⁰ A. Burger, *Prog. Drugs Res.* 37 (1991) 287
- ³¹ V.V Zarubaev, E.L. Golod, P.M. Anfimov, A.A. Shtro, V.V. Saraev, A.S. Gavrillov, A.V. Logvinov, O.I. Kiselev, *Bioorg. Med. Chem.* 18 (2010) 839
- ³² C.L. Mitchell, *TOxicol. Appl. Pharmacol.* 6 (1964) 23
- ³³ K. Raman, S.S. Parmar, S.P. Singh, *J. Heterocycl. Chem.* 17 (1980) 1137
- ³⁴ A.A. Bekhit, O.A. El-Sayed, T.A.K. Al-Allaf, H.Y. Aboul-Enein, M. Kunhi, S.M. Pulicat, K. Al-Hussain, F. Al-Khodairy, J. Arif, *Eur. J. Med. Chem.* 39 (2004) 499
- ³⁵ R.J. Herr, *Bioorg. Med. Chem.* 10 (2002) 3379
- ³⁶ S.J. Wittenberger, *Org. Prep. Proced. Int.* 26 (1994) 499
- ³⁷ J. Buynak, V. Doppalapudi, A.S. Rao, D.N. Srishkumar, G. Adam, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10 (2000) 847
- ³⁸ K.J. Shin, K.D. Koo, K.H. Yoo, D.C. Kim, D.J. Kim, S.W. Park, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 10 (2000) 1251
- ³⁹ J.A. O'Meara, A. Jakalian, S. La Plante, P.R. Bonneau, R. Coulombe, A.M. Faucher, I. Guse, S. Landry, J. Racine, B. Simoneau, B. Thavonrkham, C. Yoakim, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 3362
- ⁴⁰ E. Muraglia, O.D. Kinzel, R. Laufer, M.D. Miller, G. Moyer, V. Munshi, F. Orvieto, M.C. Palumbi, G. Pescatore, M. Rowley, P.D. Williams, V. SUmma, *Bioorgm. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 2748
- ⁴¹ R.R. Wexler, W.J. Greenlee, J.D. Irvin, M.R. Goldberg, K. Prendergast, R.D. Smith, P.B.W.M.J. Timmermans, *J. Med. Chem.* 39 (1996) 625
- ⁴² K. Noda, Y. Saad, A. Kinoshita, T.B. Boyle, R.M. Graham, A. Husian, S.S. Karnik, *J. Biol. Chem.* 270 (1995) 2284
- ⁴³ Y. Goldgur, R. Craigie, G.H. Cohen, T. Fujiwara, T. Yoshinaga, T. Fujishita, H. Sugimoto, T. Endo, H. Murai, D.R. Davies, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 96 (1999) 13040
- ⁴⁴ A. Kraft, F. Osterod, R. Frolich, *J. Org. Chem.* 64 (1999) 6425
- ⁴⁵ A.M. Faucher, P.W. White, C. Brochu, C. Grand-Maitre, J. Rancourt, G. Fazal, *J. Med. Chem.* 47 (2004) 18
- ⁴⁶ CH.N.S.S.P. Kumar, D. K. Parida, A. Santhoshi, A.K. Kota, B. Sridhar, V.J. Rao, *Med. Chem. Commun.* 2 (2011) 486
- ⁴⁷ F. Itoh, K. Yukishige a M. Wajima, *Chem. Pharm. Bull.* 43 (1995) 230 – 235

- ⁴⁸ B.B. Semenov, Russ Chem. Bull. 51 (2002) 357 – 358
- ⁴⁹ U. S. Singh, R. Shankar, G.P. Yadav, G. Kharkwal, A. Dwivedi, G. Keshri, M.M. Singh, P.R. Moulik, K. Hajela, Eur. Jour. Med. Chem. 43 (2008) 2149 – 2158
- ⁵⁰ K. Hajela, J. Pandey, A. Dwivedy, J.D. Dhar, S. Sarkhel, P.R. Maulik, D. Velumurugan, Bioorg. Med. Chem. 7 (1999) 2083 – 2090
- ⁵¹ J. Pandey, A.K. Jha, G. Keshri, M.M. Singh, A. Dwivedi, K. Hajela, Bioorg. Med. Chem. 12 (2004) 2239 – 2249
- ⁵² C.P. Unangst, D.T. Connor, S.R. Stabler, R.J. Weikert, M.E. Carethers, J.A. Kennedy, D.O. Thueson, J.C. Chestnut, R.L. Adolphson, M.C. Conroy, J. Med. Chem. 32 (1989) 1360 – 1366
- ⁵³ W.A. El-Sayed, R.E. Abdel Megeid, H.A. Abbas, Arch. Pharm. Res. 34 (2011) 1085 – 1096
- ⁵⁴ W.A. El-Sayed, S.M. EL-Kosy, O.M. Ali, H.M. Emselm, A.A. Abdel-Rahman, Acta Pol. Pharm. 69 (2012) 669 – 677
- ⁵⁵ K.S. Yeung, Z. Qiu, Z. Yin, A. Trehan, H. Fang, B. Pearce, Z. Yang, L. Zadjura, C.J. D'Arienzo, K. Riccardi et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 23 (2013), 203 – 208
- ⁵⁶ K.S. Yeung, Z. Qiu, Z. Yang, L. Zadjura, C.J. D'Arienzo, M.R. Browning, S. Hansel, X.S. Huang, B.J. Eggers, K. Riccardi et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 23 (2013) 209 – 212
- ⁵⁷ M.J. Clarke, Coord. Chem. Rev. 236 ((2003) 209 – 233
- ⁵⁸ C.G. Hartinger, P.J. Dyson, Chem. Soc. Rev. 38 (2009) 391 – 401
- ⁵⁹ M. Navarro, Coord. Chem. Rev. 253 (2009) 1619 – 1626
- ⁶⁰ K. Selmečzi, M. Giorgi, G. Speier, E. Farkas, M. Reglier, Eur. J. Inorg. Chem. 2006 (2006) 1022 – 1031
- ⁶¹ N.H. Williams, B. Takasaki, M. Wall, J. Chin, Acc. Chem. Res. 32 (1999) 485 – 493
- ⁶² G. Roelfes, M.E. Braunn, L. Wang, L. Que, B.L. Feringa, J. Am. Chem. Soc. 122 (2000) 11517 – 11518
- ⁶³ M. Sam, J.H. Hwang, G. Chanfreau, M.M. Abu-Omar, Inorg. Chem. 43 (2004) 8447 – 8455
- ⁶⁴ L. Liu, J.J. Huang, J. Zhang, G. Liu, X. Wang, H. Lin, N. Chen, Y. Qu, Trans. Met. Chem. 27 (2002) 689 – 697
- ⁶⁵ MÉZLOVÁ, Alena. *Koordináční sloučeniny přechodných kovů palladia a platiny s deriváty indolu* [online]. Olomouc, 2013 [cit. 2017-11-25]. Dostupné z: https://theses.cz/id/fj0n1q/bakalsk_prce_erven_2013.pdf. Bakalářská práce. Univerzita Palackého v Olomouci. Vedoucí práce RNDr. Roman Buchtík, Ph.D.
- ⁶⁶ S.M.S. Chauhan, P.P. Mohapatra, T.S. Kohli, S. Satapaty, J. Mol. Catal. A: Chem. 113 (1-2) (1996) 239 – 247
- ⁶⁷ R.K. Agarwal, S. Prasad, J. Iran. Chem. Soc. 2 (2005) 168

- ⁶⁸ S.I. Mustafa, N. Hadjiladias, *Inorg. Chem. J.* 2 (2007) 186
- ⁶⁹ S.A.I. Sharif, A.N. El-Tajoury, A.A. El-Amari, *E-J. Chem.* 8 (2011) 43
- ⁷⁰ M. Galanski, M.A. Jakupcic, B.K. Keppler, *Curr. Med. Chem.* 12 (2005) 2075
- ⁷¹ O. Hamad, S. Al-Obaidi, *Asian Jour. Of Chem.* 24 (2012) 5275 - 5278
- ⁷² M.A. Pujar, B.S. Hadimani, S. Meenakumari, S.M. Gaddad, Y.F. Neelgund, *Curr. Sci.* 55 (1986) 353
- ⁷³ S. Chandra, S.D. Sharma, *J. Ind. Chem. Soc.* 79 (2002) 495
- ⁷⁴ R. S. Joseyphus, M.S. Nair, *Arab. Jour. Chem.* 3 (2010) 195-204
- ⁷⁵ A.W. Bayer, M.M.W. Kirby, J.C. Sherries, M. Truck, *Am. J. Clin. Pathol.* 45 (1996) 493
- ⁷⁶ T. Rosu, S. Pasculescu, V. Lazar, C. Chifiriuc, R. Cernat, *Molecules* 11 (2006) 904 - 914
- ⁷⁷ A. Barry, *Procedures and Theoretical Considerations for Testing Antimicrobial Agents in Agar Media*, in: Lorian (Ed.), *Antibiotics in Laboratory Medicine*, fifth ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 1991
- ⁷⁸ *Methods for Anti-microbial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria*, Approved Guideline Document M45-A 26 (19), National Committee for Clinical Laboratory Standard, NCCLS, Villanova PA, USA, 1999
- ⁷⁹ T. Rosu, E. Pahontu, D.C. Ilies, R. Georgescu, M. Mocanu, M. Leabu, S. Shova, A. Gulea, *Eur. Jour. Of Med. Chem.* 53 (1012) 380 - 389
- ⁸⁰ M.C. Rodríguez-Arguelles, E.C. López-Silva, J. Sanmartín, P. Pelagatti, F. Zani, *Jour. Of Inorg. Biochem.* 99 (2005) 2231 - 2239
- ⁸¹ D.X. West, A.E. Liberta, S.B. Padhye, R.C. Chikate, P.B. Sonawane, A.S. Kumbhar, R.G. Yerande, *Coord. Chem. Rev.* 123 (1993) 49-71
- ⁸² M.C. Rodríguez-Arguelles, E.C. López-Silva, J. Sanmartín, A. Bacchi, C. Pelizzi, F. Zani, *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 2543 - 2552
- ⁸³ B.H.M. Mruthyunjayaswamy, K. Mahendra, *Jour. Of Saudi Chem. Soc.* 21 (2017) 202 - 218
- ⁸⁴ R.N. Butler, A.R. Katritzky, C.W. Rees, E.F.V. Scriven, *Comprehensive Heterocyclic Chem.* 4 (1996) 621
- ⁸⁵ G.I. Koldobskii, V.A. Ostrovskii, *Russ. Chem. Rev.* 63 (1994) 847
- ⁸⁶ A. Terenzi, G. Barone, A.P. Piccionello, G. Giorgi, A. Guarcello, P. Portanova, G. Calvaruso, S. Buscemi, N. Vivona, A. Pace, *Dalton Trans.* 39 (2010) 9140 - 9145
- ⁸⁷ T.V. Serebryanskaya, T. Yung, A.A. Bogdanov, A. Shchebet, S.A. Johnsen, A.S. Lyakhov, L.S. Ivashkevich, Z.A. Ibrahimava, T.S. Garbuzenco, T.S. Kolesnikova, N.I. Melnova, P.N. Gaponik, O.A. Ivashkevich, *Jour. Of Inorg. Biochem.* 120 (2013) 44 – 53
- ⁸⁸ S.B. Etcheverry et al. *I Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 6418 - 6424
- ⁸⁹ P.R. Bontchev, G. Gochev, B. Evtimova, H. Kadum, C.J. Nachev, *Inorg. Biochem.* 26 (1992) 23

- ⁹⁰ S. Mustafa, B.U. Rao, M.S. Surendraababu, K.K. Raju, G.N. Rao, *Chemistry and Biodiversity* 12 (2015) 1516 - 1530
- ⁹¹ K. Yamamoto, S. Kawanishi, *J. Biol. Chem.* 264 (1989) 15435
- ⁹² A.M. Hussein, O.M. Ahmed, *Bioorg. Med. Chem.* 18 (2010) 2639 - 2644
- ⁹³ D.R. Green, S.J. Martin, *Curr. Opin. Immunol.* 7 (1995) 694 - 703
- ⁹⁴ R.C. Elder, M.K. Eidsness, *Chem. Rev.* 87 ((1987) 1027
- ⁹⁵ K. Nomiya, R. Noguchi, M. Oda, *Inorg. Chem. Acta* 298 (2000) 24 - 32
- ⁹⁶ S.V. Voitekhovich, T.V. Serebryanskaya, A.S. Lyakhov, P.N. Gaponik, O.A. Ivashkevich, *POlyhedron* 28 ((2009) 3614 - 3620
- ⁹⁷ R.G. Panchal, *Biochem. Pharmacol.* 55 (1998) 247
- ⁹⁸ D.E. Fisher, *Cell* 78 (1994) 539
- ⁹⁹ W.A. El-Sayed, S.M. El-Kosy, O.M. Ali, H.M. Emselm, A. Adel, H. Abdel-Rahman, *Acta Pol. Pharm.* 69 (2012) 669 - 677
- ¹⁰⁰ H. Koga, S. Sakisaka, M. Ohishi, *Hepatology* 29 (1999) 688
- ¹⁰¹ W.A. El-Sayed, R.E.A. Megeid, H.A.S. Abbas, *Arch. Pharm. Res.* 34 (2011) 1085 - 1096
- ¹⁰² V.C. Jordan, *J. Med Chem.* 46 (2003) 993 – 908
- ¹⁰³ C.P. Millar, M.D. Collini, B.D. Tran, U.S. Patent 6,069,153 (2000) 1 - 30
- ¹⁰⁴ U.S. Singh et al. *Eur. Jour. Of Med. Chem.* 43 (2008) 2149 - 2158
- ¹⁰⁵ Z. Du, Y. Zhang, Z. Han, Q. Yao, *Propellants Explos. Pyrotech.* 40 (2015) 954 - 959
- ¹⁰⁶ P.F. Juby, T.W. Hudyma, *Preparation and Antiinflammatory Properties of Some 1-Substituted 3-(5-Tetrazolylmethyl)indoles and Homologs*, 12 (1969) 400
- ¹⁰⁷ I. Borza, S. Kolok, G. Ignacz-Szendrei, I. Greiner, G. Tarkanyi, K. Galgoczy, C. Horvath, S. Farkas, G. Domany, *Bioorg. And Med. Chem. Letters*, 15 (2005) 5439 - 5441
- ¹⁰⁸ Z. Molphy, A. Prisecaru, C. Slator, N. Barron, M. McCann, J. Colleran, D. Chandran, N. Gathergood, A. Kellett, *Inorg. Chem.* 53 (2014) 5401