

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie



**Koordinační sloučeniny tetrazolyl-indolů a studium
jejich vlastností**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor: **Petr Halaš**
Studijní program: Chemie
Studijní obor: Bioanorganická chemie
Forma studia: Prezenční
Vedoucí práce: **doc. Ing. Radovan Herchel, Ph.D.**
Rok: 2020

Rád bych poděkoval vedoucímu své práce, doc. Ing. Radovanu Herchelovi, Ph.D. za vedení, asistenci a cenné rady při řešení této diplomové práce. Dále chci poděkovat zaměstnancům katedry anorganické chemie, především pak doc. RNDr. Jurajovi Kuchárovi, Ph.D. a Ing. Ivanu Nemcovi, Ph.D. za změření a dořešení krystalových struktur části vzorků metodou rentgenostrukturní monokrystalové analýzy, RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. a Mgr. Peteru Antalovi, Ph.D. za cenné rady při fyzikálně-chemické charakterizaci látek a organické syntéze a paní Pavle Richterové za provedení měření analýz prvkového složení. Rovněž chci poděkovat doc. Ing. Jánovi Moncoľovi, Ph.D. z katedry anorganické chemie Slovenské technické univerzity v Bratislavě za provedení měření a vyhodnocení zbylé části krystalových struktur metodou rentgenostrukturní monokrystalové analýzy. Řešení diplomové práce bylo podpořeno i projektem IGA PřF UP (IGA_PrF_2020_016).

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním diplomové práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Olomouci dne 10. 6. 2020

.....

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Petr Halaš
Název práce	Koordinační sloučeniny tetrazolyl-indolů a studium jejich vlastností
Typ práce	Diplomová
Pracoviště	Katedra anorganické chemie
Vedoucí práce	doc. Ing. Radovan Herchel, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2020
Klíčová slova	tetrazol, indol, tetrazolyl-indol, komplex
Počet stran	76
Počet příloh	0
Jazyk	Český

Abstrakt: Teoretická část této diplomové práce je zaměřena na popis významu tetrazolů, indolů a tetrazolyl-indolů a jejich komplexů v medicíně, především pak v protinádorové terapii. Velká část rešerše je také věnována výběru ligandů z výše zmíněných sloučenin, spolu s modelovými komplexy pro experimentální část. Ta je pak věnována přípravě těchto ligandů a jejich komplexů spolu s jejich fyzikálně-chemickou charakterizací.

Bibliographical identification

Author's first name and surname	Petr Halaš
Title	Coordination compounds of tetrazolyl-indoles and study of their properties
Type of thesis	Dissertation
Department	Department of inorganic chemistry
Supervisor	doc. Ing. Radovan Herchel, Ph.D.
The year of presentation	2020
Keywords	tetrazole, indole, tetrazolyl-indole, complex
Number of pages	76
Number of appendices	0
Language	Czech

Abstract: Theoretical part of this thesis describes the significance of tetrazoles, indoles and tetrazolyl-indoles and their complexes in medicine, especially in antitumor therapy. Final part of literature search is dedicated to the selection of ligands from the aforementioned group of compounds together with model complexes for the experimental part of this thesis. Experimental part is then aimed at synthesis of these ligands and their complexes together with their characterization by chosen physical and chemical methods.

Obsah

Seznam zkratk	8
1. Úvod	9
2. Cíle práce	10
3. Teoretická část	11
3.1 Tetrazol obsahující sloučeniny v medicíně	11
3.1.1 Antihypertenziva	11
3.1.2 Antibiotika	11
3.1.3 Antihistaminika a další	12
3.2 Sloučeniny tetrazolů s protinádorovými účinky	13
3.2.1 Platinové kovy v protinádorové terapii	13
3.2.2 Komplexní sloučeniny tetrazolů s platinovými kovy	14
3.2.3 Komplexní sloučeniny tetrazolů s neplatinovými kovy	16
3.3 Indol obsahující sloučeniny v medicíně	17
3.3.1 Cytostatika	17
3.3.2 Antihypertensiva	19
3.3.3 Antivirotika a další	19
3.4 Perspektiva indolových derivátů v protinádorové terapii	20
3.5 Výběr modelových komplexů pro experimentální část	24
3.5.1 Casiopéinas	24
3.5.2 Komplexy trojmocného kobaltu jako „drug delivery“ systémy	25
3.6 Výběr ligandů pro experimentální část	27
3.6.1 2-(tetrazol-5-yl)indol (HL ¹)	27
3.6.2 1-methyl-N-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamid (HL ²)	28
3.6.3 3-(2-(tetrazol-5-yl)hydrazon)indol-2,3-dion (HL ³)	29
3.6.4 5-(aminomethyl)tetrazol (HL ⁴)	31
4. Experimentální část	33
4.1 Metody použité k charakterizaci sloučenin a seznam použitých chemikálií	33
4.2 Příprava ligandů	34
4.2.1 Příprava 2-(tetrazol-5-yl)indolu (HL ¹)	34
4.2.2 Příprava 1-methyl-N-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamidu (HL ²)	37
4.2.3 Syntéza 3-(2-(tetrazol-5-yl)hydrazon)indol-2,3-dionu (HL ³)	40
4.2.4 Příprava 5-(aminomethyl)tetrazolu (HL ⁴)	42
4.3 Příprava komplexních sloučenin s 5-(aminomethyl)tetrazolem	45
4.3.1 Obecný postup přípravy komplexů [Cu(N-N)L ⁴]Cl	45
4.3.2 Charakterizace komplexu PH1 (1,10-fenanthrolin)	45
4.3.3 Charakterizace komplexu PH2 (4,7-dimethyl-1,10-fenanthrolin)	46
4.3.4 Charakterizace komplexu PH3 (2,9-dimethyl-1,10-fenanthrolin)	47
4.3.5 Charakterizace komplexu PH4 (4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridin)	49
4.3.6 Zhášení fluorescence ethidium bromidu	50
4.4 Příprava měďnatých komplexů s ligandy HL ¹ , HL ² a HL ³	52

4.4.1	Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{L}^1]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{DMF}$ (PH5).....	52
4.4.2	Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Cu}(\text{phen})_2(\text{L}^1)_2]\text{EtOH}$ (PH6)	54
4.4.3	Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{L}^2]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (PH7).....	55
4.4.4	Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Cu}(\text{bpy})_2\text{L}^2]\text{ClO}_4 \cdot \text{DMF}$ (PH8).....	56
4.4.5	Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Cu}(\text{phen})\text{L}^3]\text{Cl} \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ (PH9)	57
4.5	Příprava kobaltitých komplexů s ligandy HL^1 , HL^2 a HL^3	58
4.5.1	Obecný postup přípravy výchozích komplexů typu $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{salept})]\text{Br}$	58
4.5.2	Charakterizace komplexu PH10 $[\text{Co}(4\text{-OH-salept})]\text{Br} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	59
4.5.3	Charakterizace komplexu PH11 $[\text{Co}(3\text{-OH-salept})]\text{Br} \cdot \text{H}_2\text{O}$	59
4.5.4	Charakterizace komplexu PH12 $[\text{Co}(3\text{-OMe-salept})]\text{Br} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	59
4.5.5	Obecný postup přípravy komplexů typu $[\text{Co}(\text{salept})\text{L}^{1-3}]$	60
4.5.6	Charakterizace komplexu PH13 $[\text{Co}(4\text{-OH-salept})\text{L}^1] \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$	60
4.5.7	Charakterizace komplexu PH14 $[\text{Co}(3\text{-OH-salept})\text{L}^1] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	60
4.5.8	Charakterizace komplexu PH15 $[\text{Co}(3\text{-OMe-salept})\text{L}^1] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	61
4.5.9	Charakterizace komplexu PH16 $[\text{Co}(4\text{-OH-salept})\text{L}^2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	61
4.5.10	Charakterizace komplexu PH17 $[\text{Co}(3\text{-OH-salept})\text{L}^2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	62
4.5.11	Charakterizace komplexu PH18 $[\text{Co}(3\text{-OMe-salept})\text{L}^2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	62
4.5.12	Charakterizace komplexu PH19 $[\text{Co}(4\text{-OH-salept})\text{L}^3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	62
4.5.13	Charakterizace komplexu PH20 $[\text{Co}(3\text{-OH-salept})\text{L}^3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	63
4.5.14	Charakterizace komplexu PH21 $[\text{Co}(3\text{-OMe-salept})\text{L}^3] \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$	63
4.5.15	Měření cyklické voltametrie komplexů PH12, PH15, PH18 a PH21	63
4.6	Příprava komplexů 6d kovů s ligandem HL^1	66
4.6.1	Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{L}^1]$ (PH22).....	66
5.	Závěr.....	69
	Seznam použité literatury.....	70

Seznam zkratek

29Mephen – 2,9-dimethyl-1,10-fenanthrolin

44Mebpy – 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridin

47Mephen – 4,7-dimethyl-1,10-fenanthrolin

bpy – 2,2'-bipyridin

CDI – karbonyldiimidazol

COX – cyklooxygenáza

CV – cyklická voltametrie

DMF – *N,N*-dimethylformamid

DMSO – dimethylsulfoxid

EtBr – ethidium bromid

EtOH – ethanol

HDAC – histon deacetyláza

MDR – multidrug resistance

MeOH – methanol

MRP – multidrug resistance associated protein

MTT – 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenylnitrazolium bromid

NADH – nikotinamidadenindinukleotid (redukovaný)

NADPH – nikotinamidadenindinukleotidfosfát (redukovaný)

OAc – octan

phen – 1,10-fenanthrolin

PPh₃ – trifenylofosfin

RVO – rotační vakuová odparka

salept – 2-[(3-[(2-[(2-hydroxyfenyl)methylidyl]amino)ethyl]amino]propyl]imino)
methyl]fenolát

TrxR – thioredoxin reduktáza

1. Úvod

Tetrazol je pětičlenný heterocyklus, obsahující 4 atomy dusíku a 1 atom uhlíku, který může být modifikován jak na atomu uhlíku, tak na atomech dusíku. Jeho deriváty jsou již dlouhou dobu zájmem výzkumu a u některých již byly prokázány cytostatické [1], antibakteriální [2] i antifungální [3] účinky. S cytostatickou aktivitou byly připraveny i komplexní sloučeniny platiny s deriváty tetrazolu [4], což naznačuje jejich potenciál při přípravě nových komplexních sloučenin s lepšími protirakovinnými účinky a menší toxicitou, než doposud používaná léčiva.

Indol je bicyklický heterocyklus obsahující benzen a pyrrol. V lidském těle se vyskytuje například ve formě aminokyseliny tryptofanu, dále také jako neurotransmitter tryptamin nebo serotonin. Deriváty těchto neurotransmiterů jak syntetické, tak přírodní mají účinek na nervový systém. Mnoho z nich má halucinogenní a psychostimulační účinky, jako například *N,N*-diisopropyltryptamin [5], některé jsou naopak využívány jako léčiva proti migrénám jako sumatriptan [6]. Dále byly připraveny i deriváty s protirakovinnými účinky jako sunitinib, jenž byl v roce 2006 schválen v USA pro použití při léčbě rakoviny ledvin a gastrointestinálních nádorů. [7]

Látky obsahující ve struktuře zároveň tetrazol i indol již v minulosti prokázaly schopnost inhibovat enzymy jako například HIV-1 integrázu [8], nebo také tryptofan 2,3-dioxygenázu [9] za účelem potlačení imunorezistence nádorových buněk. V neposlední řadě stojí za zmínku i derivát BL-R743 s protizánětlivými a analgetickými účinky. [10] Díky přítomnosti lehce deprotonovatelného dusíku ve struktuře tetrazolu by tyto deriváty měly vykazovat tendenci vázat se jako ligandy na řadu přechodných kovů. Tyto komplexy s dalšími vhodnými koligandy by výsledně mohly mít zajímavé biologické vlastnosti.

2. Cíle práce

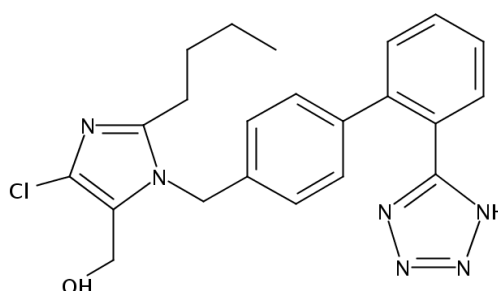
Prvním z cílů práce je vypracovat literární rešerši na téma využití tetrazolů, indolů a tetrazolyl-indolů, a jejich koordinačních sloučenin s důrazem na biologickou aktivitu. Dále bude rešerše zaměřena na výběr vhodných modelových komplexů a ligandů. V experimentální části je pak cílem příprava již známých ale i nových organických derivátů těchto sloučenin, zejména tetrazolyl-indolů dle postupů uvedených v odborné literatuře. Dalším krokem je syntéza nových koordinačních sloučenin s vybranými organickými ligandy a jejich charakterizace za pomoci dostupných fyzikálně-chemických metod.

3. Teoretická část

3.1 Tetrazol obsahující sloučeniny v medicíně

3.1.1 Antihypertenziva

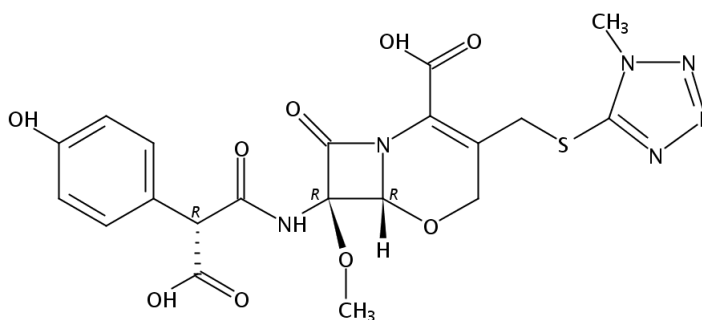
Léčiv schválených k použití na lidech, která obsahují tetrazol je oproti jiným dusík obsahujícím heterocyklům jen malé množství. Mezi nejznámější patří antihypertenziva jako losartan nebo valsartan. Jedná se o antagonisty jednoho z klíčových proteinů systému renin-angiotenzin, angiotensin II receptoru, jenž je zodpovědný za vasokonstrikci. [11]



Obrázek 1: Vzorec antihypertenziva losartanu.

3.1.2 Antibiotika

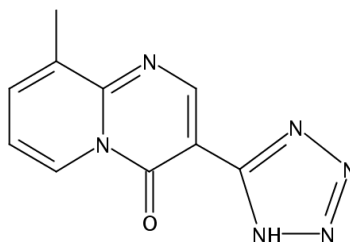
Do této skupiny patří zejména polosyntetické analogy cefalosporinu jako cefazolin nebo latamoxef. [11] Jedná se o širokospektrá antibiotika, která se váží na penicilin vázající proteiny na vnitřní straně buněčné stěny bakterií, čímž blokují její výstavbu. Zničení buňky je následně dosaženo autolytickými enzymy. [12], [13]



Obrázek 2: Vzorec latamoxefu, zástupce třetí generace cefalosporinových antibiotik.

3.1.3 Antihistaminika a další

V neposlední řadě stojí za zmínku i antihistaminika jako jsou pemirolast nebo pranlukast, využívané při léčbě alergií nebo astmatu. [14] Konkrétně pemirolast se prodává ve formě očního přípravku, mimo jiné pro potlačení svědění očí, způsobené alergickou reakcí na různé alergeny jako pyly. Tyto léčiva způsobují inhibici zápalových mediátorů, jako jsou leukotrieny nebo histamin, které jsou uvolněny z tzv. žírných buněk na podnět alergenů. [15], [16]



Obrázek 3: Vzorec pemirolastu.

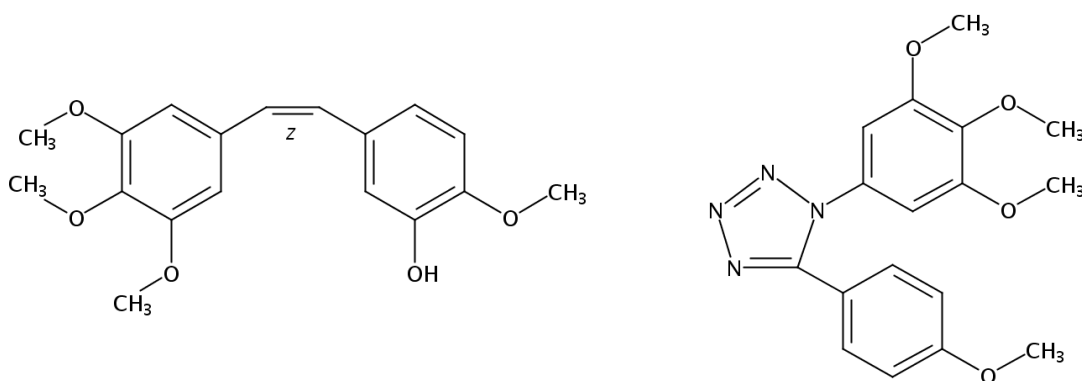
Soli tetrazolů se také využívají při histologickém značení. I když se nejedná o látky s vlastním farmakologickým účinkem, jsou tyto sloučeniny široce využívány při určování životnosti buněk, z nichž je bezpochyby jednou z nejznámějších 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromid, častěji označován ve zkratce jako MTT. Princip spočívá v redukci žlutého MTT na fialový formazan v přítomnosti redukčních činidel, jimiž jsou v buňkách převážně koenzymy NAD(P)H. Tyto redukovačlá jsou však přítomny pouze v živých buňkách, tudíž bude fialové zbarvení úměrné množství živých buněk. Tohoto se zejména využívá při testování cytotoxicity, kdy se inkrementálně zvyšuje koncentrace cytotoxické látky za účelem zjištění hodnoty IC_{50} pro danou látku. Tato hodnota pak odpovídá koncentraci, která zastaví růst nebo zabije polovinu přítomných buněk a je považována za prvotní míru cytotoxické účinnosti látky. [17]

3.2 Sloučeniny tetrazolů s protinádorovými účinky

Samotných derivátů tetrazolů s vlastními protinádorovými účinky je opět jen malé množství. [14] Jedná se především o analogy a deriváty v přírodě se vyskytujících sloučenin. [18]

Jednou z nejvýznamnějších skupin jsou analogy cytostatika combretastatinu A-4 (CA-4), jehož pravděpodobným účinkem je vazba na tubulin při mitóze, avšak jeho nízká rozpustnost a spontánní izomerizace na neaktivní *trans*-izomer vedla mnoho vědeckých skupin k jeho derivatizaci. [19], [20] Několik 1,5-disubstituovaných tetrazolových analogů (viz. Obrázek 4) bylo připraveno, avšak s účinky srovnatelnými nebo horšími, než CA-4. [1], [21]

Dále stojí za zmínku i deriváty biogenních kyselin a peptidů. [18] Jedná se především o tetrazolové analogy inhibitorů enzymů jako thymidylát syntáza, nebo histon deacetyláza (HDAC1). [22], [23]



Obrázek 4: Vzorce combretastatinu A-4 (vlevo) a jeho nejslibnějšího tetrazolového analogu (vpravo).

3.2.1 Platínové kovy v protinádorové terapii

Komplexní sloučeniny platiny jsou již dlouhou dobu známy svými cytostatickými účinky. Světoznámá cisplatina, jejíž protinádorové účinky byly objeveny B. Rosenbergem v 60. letech minulého století, se dodnes používá při léčbě mnoha nádorových onemocnění. Jednou z největších nevýhod je však velké množství vedlejších efektů jako jsou neuropatie, nefrotoxicita nebo zvracení a od jejího objevení byly nasyntetizovány další analogy, např. karboplatina nebo oxaliplatina, které mnohé z nich zmírňují.

Způsob účinku těchto látek spočívá v hydrolýze komplexu v prostředí buňky, kdy se odštěpí jeden z ligandů, čímž vzniká aktivní komplex. Ten se následně váže na

dvoušroubovici DNA - v případě cisplatinu dochází nejčastěji k tvorbě intravláčkového aduktů se sousedícími guaniny (dGpG), jenž způsobuje dvouřetězcové zlomy a následná nemožnost opravit DNA vyvolá apoptózu. [24]

Dalším problémem je také možný vznik rezistence rakovinných buněk vůči cisplatině. Z tohoto důvodu se pacientům většinou podává kombinovaná léčba za využití dalších cytostatik s jiným mechanismem účinku, jako jsou interkalace DNA, inhibice topoisomerázy II nebo narušení mitotického vřeténka při dělbě.

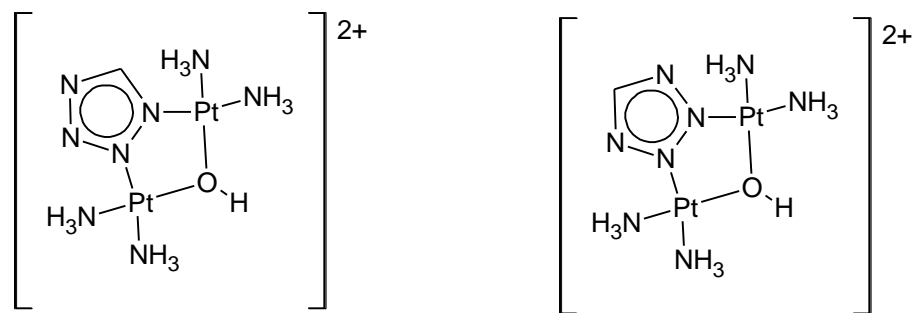
Z výše uvedených důvodů je dodnes zájmem mnoha vědeckých skupin připravit méně toxické komplexní sloučeniny s lepší selektivitou vůči nádorovým buňkám a zvýšit jejich účinnost na cisplatinu rezistentní nádory. Právě s těmito vlastnostmi bylo připraveno několik slibných komplexů platinových kovů s tetrazoly.

3.2.2 Komplexní sloučeniny tetrazolů s platinovými kovy

Kvůli vysoké toxicitě komplexů platiny a možné tvorbě rezistence se staly zájmem mnoha vědeckých skupin i další platinové kovy jako ruthenium nebo iridium. Komplexy ruthenia jako NAMI-A nebo KP1019 již v minulosti prokázaly své antimetastatické a cytotoxické vlastnosti a to i vůči cisplatině rezistentním nádorům. [25]

Právě s rutheniem se podařilo vědecké skupině V. Morena připravit sérii komplexů, obsahující heterocyklické koligandy, mimo jiné i derivát tetrazolu, s vysokou cytotoxicitou vůči buňkám linie HL-60 (leukemické buňky). Všechny tyto komplexy s obecným vzorcem $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{PPh}_3)_2\text{L}](\text{PF}_6)$ vykazovaly při 24 hodinové inkubaci vyšší cytotoxicitu než cisplatinu. Konkrétně u derivátu s 5-fenyltetrazolem byly zjištěny hodnoty $\text{IC}_{50}=0,95 \mu\text{M}$ při 24 hodinové inkubaci a $\text{IC}_{50}=0,69 \mu\text{M}$ při 72 hodinové inkubaci. [26]

S. Komeda a kolektiv dále připravili platnaté komplexy dimerního charakteru přemostěné tetrazolovými ligandy. Reakcí $[\text{cis-Pt}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-OH})_2(\text{NO}_3)_2]$ s mírným nadbytkem tetrazolu vznikly dva izomery přemostěné tetrazolovými dusíky N1,N2 a N2,N3. Ty byly následně rozděleny kapalinovou chromatografií s reverzní fází. [27]



Obrázek 5: Vzorce N1,N2 (vlevo) a N2,N3 izomeru (vpravo).

Oba tyto izomery vykazovaly *in vitro* aktivitu vůči buňkám linie H460 (karcinom plic) s hodnotami $IC_{50}=23,5 \mu M$ pro N1,N2 izomer a $IC_{50}=9,2 \mu M$ pro N2,N3. Cisplatina měla pro srovnání $IC_{50}=23,1 \mu M$. *In vivo* testy na myších se stejným typem nádoru ukázaly větší zmenšení nádoru pro cisplatinu oproti N2,N3 izomeru, avšak toxicita tohoto komplexu byla mnohem menší – nedošlo k žádnému úbytku hmotnosti myši na rozdíl od cisplatinu, u které byl prokázán úbytek hmotnosti vyšší než 20%. Nejzajímavější výsledky poskytly *in vivo* testy N2,N3 izomeru na PANC-1 nádorech slinivky, kdy došlo k 99% redukci objemu nádoru. Gemcitabin, jakožto běžně používané cytostatikum na tento typ nádoru, dosáhl v porovnání redukce o 54%. Dále u 2 ze 6 myší léčených N2,N3 izomerem dokonce došlo k úplnému vymizení nádoru bez významného úbytku na hmotnosti. [27]

Další studie také poukázala na schopnost obejít cisplatinové resistance výše zmíněných platnatých komplexů. Konkrétně N2,N3 izomer vykazoval 3,5krát vyšší účinnost na cisplatinu sensitivní PC-14 linii a 45krát vyšší účinnost na cisplatinu rezistentní PC-14(CDDP) linii oproti cisplatině. Schopnost obejít rezistence, snížit toxicitu a zvýšit účinnost poukazují na potenciál této skupiny platnatých komplexů stát se novou generací cytostatik na bázi platiny. [28]

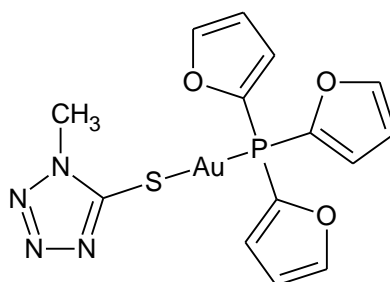
Biologicky zajímavé komplexy platiny byly také připraveny se Schiffovými bázemi a hydrazony tetrazolo[1,5-a]chinolinu vědeckou skupinou A. A. Bekhita. Tyto komplexy byly nasyntetizovány jednoduchou reakcí *cis*-[PtCl₂(DMSO)₂] s předem připravenými ligandy v absolutním ethanolu. Následné testování na HL-60 linii ukázalo vyšší aktivitu Schiffových bází oproti hydrazonům, z nichž byly některé deriváty účinnější, než cisplatina. [4]

V neposlední řadě stojí za zmínku i komplexy paladia a platiny se substituovanými 5-aminotetrazoly, připravené T. V. Serebryanskou a kolektivem. Z následných *in vitro*

testů na HeLa buněčné linii bylo ukázáno, že paladnaté komplexy s těmito ligandy nejsou aktivní v testovaném rozmezí koncentrací. Na druhou stranu některé *cis* izomery komplexů platiny dosáhly hodnot IC_{50} v jednotkách μM , avšak mnohem méně aktivní *trans* izomery dosáhly IC_{50} až v desítkách μM . *Cis* izomer platnatého komplexu s terc-butylovaným ligandem byl aktivnější než cisplatinina na rezistentní linii A2780cisR s hodnotou $IC_{50}=15,2 \mu M$, oproti cisplatině s $IC_{50}=37,1 \mu M$. [29]

3.2.3 Komplexní sloučeniny tetrazolů s neplatinyovými kovy

Komplexy zlata v oxidačním stavu 1 již v minulosti prokázaly nejen své antirevmatické, ale i antiproliferativní vlastnosti, z nichž se některé dostaly i do klinické praxe. [30] Není proto překvapením, že se podařilo připravit řadu biologicky zajímavých zlatných komplexů s tetrazolickými ligandy. Například cytostaticky účinné komplexy s modifikovanými thiotetrazoly a fosfany (viz. Obrázek 6) byly připraveny vědeckou skupinou T. V. Serebryanské. *In vitro* testy těchto sloučenin na MDA-MB-231 (rakovina prsu) a HT-29 (rakovina tlustého střeva) liniích vykazovaly hodnoty IC_{50} v rozmezí zhruba od 8 až po 13 μM , což jsou hodnoty srovnatelné s cisplatinou s hodnotami 4 μM pro MDA-MB-231 a 7 μM pro HT-29. [31], [32] Rentgenostrukturní analýza dále potvrdila vazbu thiotetrazolů na kov přes deprotonovanou $-SH$ skupinu a vazbu fosfanů přes atom fosforu. Za účelem zjištění možných mechanismů účinku byla také testována inhibiční schopnost těchto látek vůči enzymu thioredoxin reduktáze (TrxR), jehož inhibice vede ke změně funkcí mitochondrií, zvýšení tvorby reaktivních forem kyslíku a následné apoptóze. Schopnost těchto komplexů inhibovat TrxR se pohybovala v nanomolárních koncentracích, což potvrzuje tento mechanismus účinku. [33]

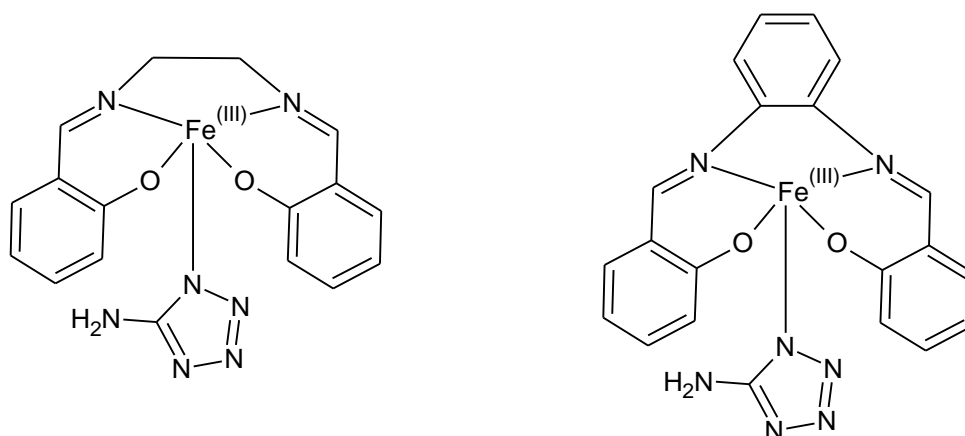


Obrázek 6: Vzorec jednoho ze zlatných komplexů s thiotetrazolátovými ligandy.

Biologicky aktivní komplexní sloučeniny s neplatinyovými kovy a tetrazoly se podařilo připravit i na našem pracovišti. Tyto Fe(III) salenové komplexy s 5-methyl a 5-aminotetrazolem byly testovány *in vitro* na liniích K562 (leukemické buňky) a MCF7 (rakovina prsu) s dosaženými hodnotami IC_{50} pohybujícími se v jednotkách až desítkách

μM . Slibnější 5-aminotetrazolátový komplex (viz. Obrázek 7) dosáhl na obou liniích dokonce lepších výsledků, než oxaliplatin. Testy na SOD-mimikující aktivitu a štěpení DNA naznačují, že tvorba reaktivních forem kyslíku je jedním z mechanismů cytotoxického účinku. [34]

V navazujícím výzkumu byly připraveny obdobné komplexy se salphenovými ligandy (viz. Obrázek 7) s výrazným zlepšením účinnosti. Konkrétně u 5-fenyl, 5-methyl a 5-aminotetrazolátových komplexů bylo dosaženo nanomolárních koncentrací IC_{50} na liniích MCF7, HeLa (nádor dělohy), A2780 (nádor vaječníku) a G-361 (buňky melanomu). Cisplatinu byla několikanásobně méně účinná na všech výše zmíněných liniích s hodnotami IC_{50} v jednotkách až desítkách μM . Vazba těchto komplexů na DNA byla potvrzena fluorescenční titrací, kdy bylo pozorováno vytěsnění interkalátoru ethidium bromidu z DNA. Schopnost interkalovat se je pravděpodobně jedním z dalších možných mechanismů cytotoxického účinku, což by mohlo vysvětlit tak radikální zvýšení účinnosti oproti salenovým komplexům. [35]



Obrázek 7: Vzorec salenového (vlevo) a salphenového (vpravo) komplexu s 5-aminotetrazolem.

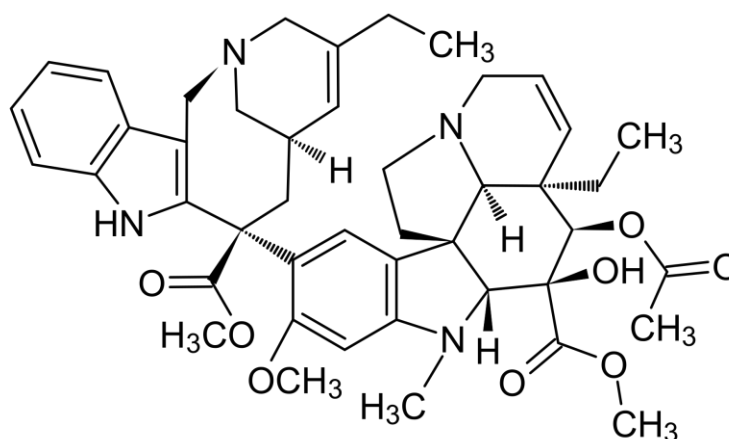
3.3 Indol obsahující sloučeniny v medicíně

Látek používaných v medicíně, co obsahují indol ve struktuře, je již poněkud větší množství oproti tetrazolům a pokrývají široké spektrum použití jako cytostatika, antihypertensiva, antivirotika a další. [36]

3.3.1 Cytostatika

Mezi nejvýznamnější indol obsahující cytostatika patří tzv. *Vinca* alkaloidy. Jedná se o přírodní nebo polosyntetické látky původně izolované z barvíčku (rod *Vinca*). Používají se především při léčbě rakoviny prsu, varlat, lymfomů, neuroblastomů a dalších

nádorových onemocněních. Nejznámější zástupci jsou vinblastin, vinkristin nebo polosyntetický vinorelbin, používaný také při léčbě rakoviny plic. [37] Mechanismus účinku této skupiny spočívá v interakci léčiva s mitotickým vřeténkem při dělbě buněk. Konkrétně vinorelbin interaguje s tubulinem a zastavuje buněčné dělení v G2/M fázi. Vinorelbin je specificky modifikován, aby docházelo k jeho otevření, což vede k tvorbě kovalentních i reversibilních vazeb s tubulinem. Přítomnost neuspořádaných mikrotubulů následně vede k indukci nádorového supresoru p53 a aktivaci nebo deaktivaci řady signálních proteinů jako p21 nebo Ras proteinu. Tato kaskáda způsobí deaktivaci apoptického inhibitoru Bcl2, aktivaci pro-apoptického genu BAX a nakonec indukci apoptózy. Celý mechanismus je mnohem složitější a ještě ne zcela objasněný. [38]

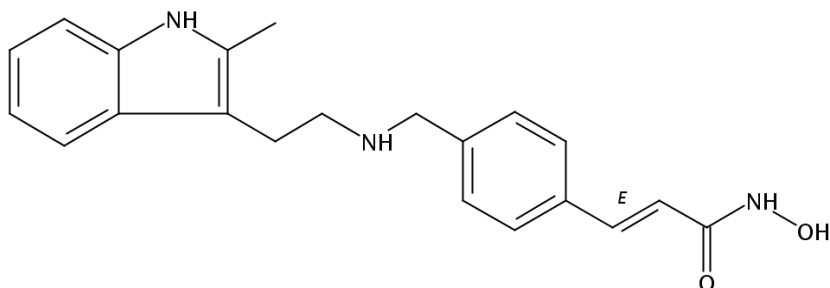


Obrázek 8: Vzorec vinorelbinu. [39]

Vinca alkaloidy mají také značné množství vedlejších efektů, jejichž profily se však mohou výrazně lišit mezi jednotlivými zástupci, přestože je jejich mechanismus účinku podobný. Všechny *Vinca* alkaloidy mají neurotoxické účinky především na periferní nervovou soustavu – způsobují degeneraci axonů interakcemi s tubulinem, což vede ke snížení axonového transportu. Negativní účinky na centrální nervovou soustavu nejsou běžné díky nízké absorpci do mozku. Výrazně však snižují počet neutrofilů v krvi a jedná se o hlavní limitující faktor při určení podávané dávky. Další pozorované účinky zahrnují gastrointestinální problémy, akutní srdeční ischemii nebo hepatotoxicitu. [40]

Dále stojí za zmínku i cytostatika mimo skupinu *Vinca* alkaloidů, a to zejména panobinostat (viz. Obrázek 9), schválený v roce 2015 na použití při léčbě mnohočetného myelomu. Jedná se o neselektivní inhibitor histon deacetyláz (HDAC) – ovlivňuje řadu HDAC proteinů z třídy I, II a IV, a v současné době je jejich nejúčinnější inhibitor

dostupný na trhu. Tyto enzymy, zodpovědné za epigenetickou modulaci genové exprese, jsou více exprimovány právě v buňkách mnohočetného myelomu. Panobinostat má navíc synergický účinek při použití s bortezomibem, který se také již dlouhou dobu používá na léčbu mnohočetného myelomu. [41]



Obrázek 9: Vzorec panobinostatu.

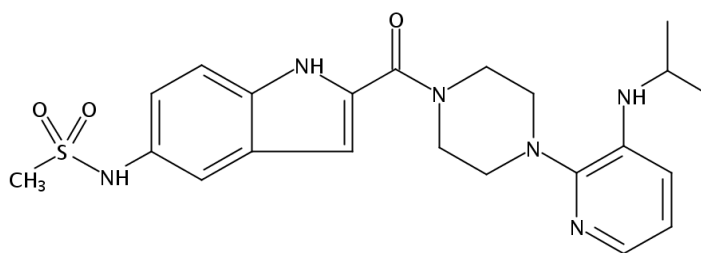
3.3.2 Antihypertensiva

Řada indol obsahujících sloučenin se také používá jako antihypertensiva, z nichž za zmínku stojí například bopindolol, pindolol nebo reserpin. Konkrétně pindolol účinkuje jako neselektivní beta blokátor adrenergních receptorů, především β_1 a β_2 receptoru. Následná inhibice účinku epinefrinu a norepinefrinu má za následek snížení srdečního rytmu a krevního tlaku. Dále je také inhibována produkce reninu, vedoucí k inhibici vasokonstrikce. [42] Mechanismus účinku reserpinu je odlišný, inhibicí ATP/Mg²⁺ pumpy je schopný vyčerpat z nervových zakončení katecholaminy, které se podílí na kontrole srdečního rytmu. [43]

3.3.3 Antivirotika a další

Do této skupiny patří zejména antivirotika delavirdin, používaný při léčbě AIDS, nebo arbidol, schválený v Rusku a Číně pro použití proti chřipce. U arbidolu byly prokázány i účinky vůči žloutence typu C, což poukazuje na jeho širokospektré antivirotické vlastnosti. Účinek spočívá ve schopnosti arbidolu interagovat s membránami a inhibovat splnutí viru a hostitelské buňky. [44]

Delavirdin způsobuje inhibici reversní transkriptázy viru HIV-1 a blokuje její DNA polymerázovou aktivitu, aniž by ovlivňoval lidské DNA polymerázy, čímž znemožňuje inkorporaci virové DNA do hostitelské. [45]



Obrázek 10: Vzorec delavirdinu.

Dále stojí za zmínku indometacin, jako zástupce nesteroidních protizánětlivých léčiv. Jedná se o nespecifický reversibilní inhibitor cyklooxygenáz (COX). Právě COX-2, exprimována především v místech zánětu, je zodpovědná za přeměnu kyseliny arachidonové na prostaglandiny, které regulují zánětlivou odpověď. [46]

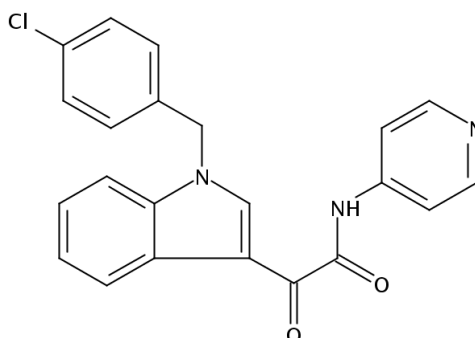
V protinádorové terapii se často používají také antiemetika pro potlačení nevolnosti a zvracení. Mezi ně patří i indol obsahující tropisetron nebo dolasetron. Jedná se o vysoce selektivní antagonisty serotoninových 5-HT₃ receptorů. Chemoterapeutika nejspíše způsobují degeneraci trávicí soustavy a vyplavování serotoninu, který aktivuje receptory vedoucí do center zvracení v medule. Z toho plyne, že jejich inhibicí dochází k potlačení těchto nežádoucích účinků. [47]

3.4 Perspektiva indolových derivátů v protinádorové terapii

Nových derivátů indolů vykazující cytotoxickou aktivitu je nepřehledné množství a vyčerpávající přehled by byl nad rámec této práce. [48], [49] Proto se v následující kapitole zaměřím na deriváty s nejlepšími výsledky a pokud možno nanomolárními hodnotami IC₅₀.

V roce 2001 byl připraven nový inhibitor tubulinu s označením D-24851, později také indibulin, vědeckou skupinou G. Bachera, vykazující vysokou účinnost na rezistentních buňkách. Tato látka také nevykazovala znatelnou neurotoxicitu na rozdíl od již výše zmíněných inhibitorů tubulinu, *Vinca* alkaloidů. Průtoková cytometrie na KB/HeLa buňkách prokázala, stejně jako u *Vinca* alkaloidů, zastavení buněčného cyklu v G2/M fázi s hodnotou IC₅₀=190 nM a při aplikaci indibulinu na purifikovaný tubulin došlo k úplné blokaci polymerizace. Hodnoty IC₅₀ se pohybovaly v rozmezí 36-285 nM při testování na 11 buněčných liniích různých typů nádorů, což jsou horší výsledky v porovnání s vinkristem s hodnotami IC₅₀ v rozmezí 1-27 nM. Avšak v buňkách se zvýšenou expresí transportních proteinů MDR1 a MRP, zodpovědných za rezistenci buněk proti cytotoxickým léčivům, nebyl pozorován výrazný úbytek na účinnosti

indibulinu. Účinnost vinkristinu byla na druhou stranu několikanásobně snížena, v případě transfekovaných MCF-7 buněk až 1200-krát. V *in vivo* testech na myších s nádorem jater typu Yoshida AH13 se podařilo dosáhnout úplné regrese nádoru bez úbytku na hmotnosti nebo přítomnosti hematologické toxicity. Vinkristin a paklitaxel dosáhly pouze středně silné inhibice růstu se značným úbytkem na hmotnosti. [50] V roce 2008 vešel indibulin do první fáze klinického testování při léčbě pokročilých solidních nádorů v kombinaci s erlotinibem, avšak žádný výsledek nebyl doposud zveřejněn. [51]

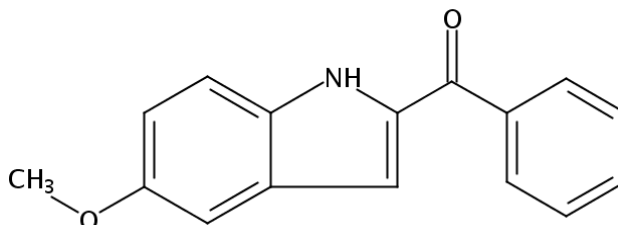


Obrázek 11: Vzorec indibulinu.

Další slibné látky se podařilo připravit vědeckou skupinou S. Vogelové. Tyto substituované 2-fenylindol-3-karbaldehyd benzoyl a pyridoylhydrazony byly testovány na MDA-MB 231 a MCF-7 buněčných liniích, z nichž nejslibnější kandidát vykazoval výsledky srovnatelné s vinkristinem, avšak obecně se u všech pohybovala hodnota IC_{50} v submikromolárních koncentracích. Studie také prokázala, že tyto látky neinteragují s tubulinem, přestože způsobují zastavení buněčného cyklu v G2/M. Testované látky vykazovaly indukcí aktivity kaspázy-3, která korelovala se zjištěnými hodnotami IC_{50} , avšak konkrétní mechanismus není zcela známý. [52]

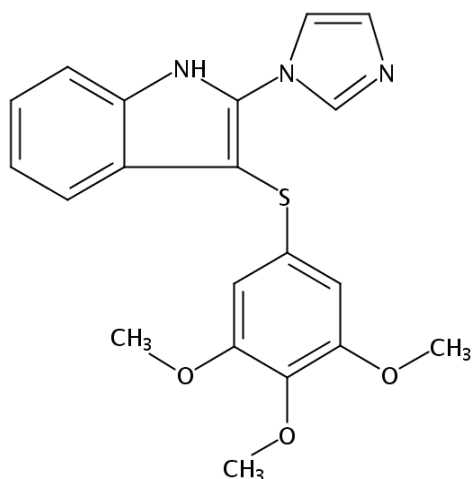
Velkou studovanou skupinou na začátku 21. století byly také deriváty 2-arylindolu. Celkem 52 derivátů 2-arylindolu bylo nasyntetizováno a otestováno na HeLa a SK-OV-3 (nádor vaječníku) buněčných liniích vědeckou skupinou S. Mahboobiho. U více než poloviny látek se pohybovaly hodnoty IC_{50} v submikromolární oblasti, z nichž nejslibnější vykazovaly účinnost vyšší než cytostatikum kolchicin. Inhibice polymerizace tubulinu korelovala ve většině případů s účinností látek na testovaných liniích. Výsledky průtokové cytometrie dále prokázaly inhibici růstu v G2/M fázi a je tedy zřejmé, že narušení mitotického vřetenka je jedním z hlavních mechanismů účinku. Látky také vykazovaly antiangiogenetickou aktivitu, tzn. schopnost narušovat růst nové vaskulatury. [53] Ta často doprovází vznik a růst solidních nádorů a je známo,

že její narušení vede k nekróze nádorových buněk. [54] V navazující studii byly rozšířeny testy neaktivnější látek z výše zmíněné skupiny o další buněčné linie s různými typy rezistencí. V buňkách s MDR1 a MRP typem rezistence (viz. indibulin) nebyl pozorován úbytek na účinnosti, na rozdíl od výrazného snížení aktivity vikristinu, paklitaxelu a kolchicinu. [55]



Obrázek 12: Vzorec D-64131, nejslibnějšího kandidáta ze skupiny 2-aryolindolů.

Novější zajímavou skupinou látek s cytotoxickými účinky jsou substituované arylthioindoly připravené vědeckou skupinou G. La Reginy. Jedná se opět o inhibitory polymerizace tubulinu a mají podobný strukturní motiv jako kolchicin a combretastatin A-4, obsahující tři sousedící methoxy skupiny na benzenovém jádře. Látky byly testovány na řadě buněčných linií, kdy byly všechny vyjma jedné účinné v nanomolárních koncentracích na linii MCF-7. Z této skupiny pak vybrané látky vykazovaly na dalších liniích lepší výsledky než doxorubicin a u linií HT-29 a A549 i lepší výsledky než combretastatin A-4. Nejslibnější derivát byl testován i na cisplatinu citlivé a rezistentní linii A2780, kdy byl dokonce pozorován zhruba trojnásobný nárůst aktivity na rozdíl od cisplatinu, jejíž účinnost klesla skoro 20krát. Stejný jev byl pozorován i u linie OVCAR-8 a linie od ní odvozené NCI/ADR-RES se zvýšenou expresí MRP, kdy byla aktivita derivátů arylthioindolu opět zhruba trojnásobně vyšší a více než 10krát nižší u vinblastinu. Průtoková cytometrie také potvrdila, že látky zastavují buněčný cyklus v G2/M fázi. [56] Stejná vědecká skupina pak tuto skupinu rozšířila o dalších 71 derivátů arylthioindolu s jinými cyklickými substituenty v poloze 2. Nově připravený derivát s imidazolem (viz. Obrázek 13) byl schopný na MCF-7 linii dosáhnout několikanásobně lepšího výsledku ($IC_{50}=1$ nM) než referenční kolchicin a combretastatin A-4 a byl vysoce aktivní na všech testovaných liniích. [57]



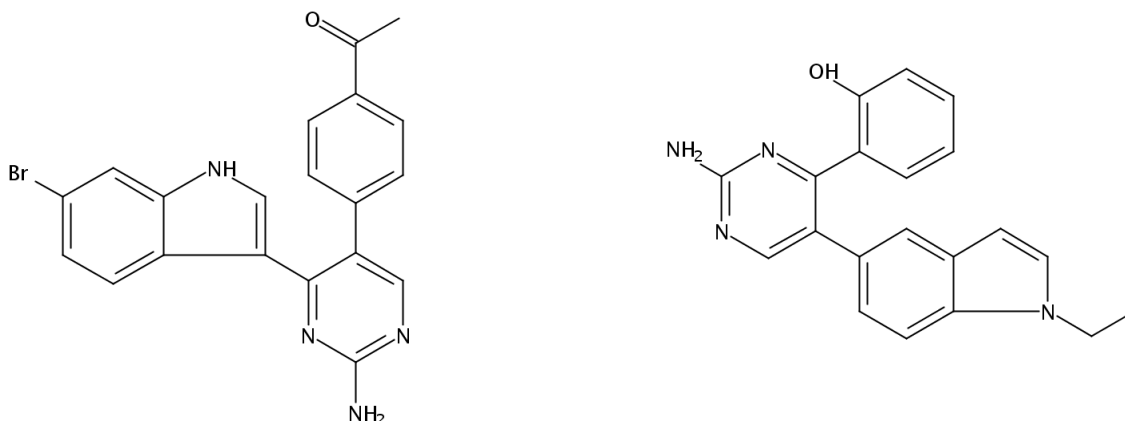
Obrázek 13: Vzorec imidazolového derivátu arylthioindolu, vykazujícího nejlepší výsledky.

Další zajímavou skupinou jsou alkaloidy izolované z pláštěnce *Aplidium meridianum*, známé také jako meridianiny A-E. Strukturně se jedná o bromované nebo hydroxylované indoly s 2-aminopyrimidinovými substituenty v poloze 3. Samotné meridianiny vykazují cytotoxické účinky vůči buňkám adenokarcinomu s nijak výjimečnými hodnotami IC_{50} v rozmezí 9,3 až 33,9 μM , avšak jejich objev inspiroval několik vědeckých skupin k derivatizaci za účelem zvýšení aktivity. [58] Zlepšení vlastností se podařilo debromací meridianinu D a navázání substituentu na pyrimidinový heterocyklus, kdy kyano, karboxy a amidrazonový analog dosáhly hodnot IC_{50} v rozmezí 0,25 až 0,85 $\mu g/ml$ na MCF-7 linii, což v přepočtu odpovídá nízkým mikromolárním koncentracím. [59]

Tato skupina byla obohacena o několik desítek dalších derivátů vědeckou skupinou F. Girauda. Látky byly testovány jak pro svoji inhibiční aktivitu vůči kinázám, jakožto jedním z cílů některých cytostatik, tak i pro cytotoxické účinky na liniích, z nichž se nejslibnějšímu derivátu (viz. Obrázek 14) podařilo dosáhnout submikromolárních koncentrací IC_{50} na téměř všech liniích. Žádná přímá korelace mezi inhibiční aktivitou kináz a antiproliferativními účinky však nebyla pozorována a příčina cytotoxického účinku nejspíše zahrnuje jiné biologické cíle. [60]

Přestože se nejedná o přímé deriváty meridianinů, stojí za zmínku i substituované 2-aminopyrimidiny na indolu v poloze 5, připravené vědeckou skupinou F. Xie. Nejslibnější deriváty z těchto analogů vykazovaly hodnoty IC_{50} řádově v desítkách nM, především N-ethylovaný derivát YHHU0895 (viz. Obrázek 14), na celkem 5 testovaných

liniích. [61] Navazující studie dále zjistila, že cytotoxický účinek je způsoben narušením mikrotubulů a účinnost nebyla ovlivněna zvýšenou expresí MRP. [62]



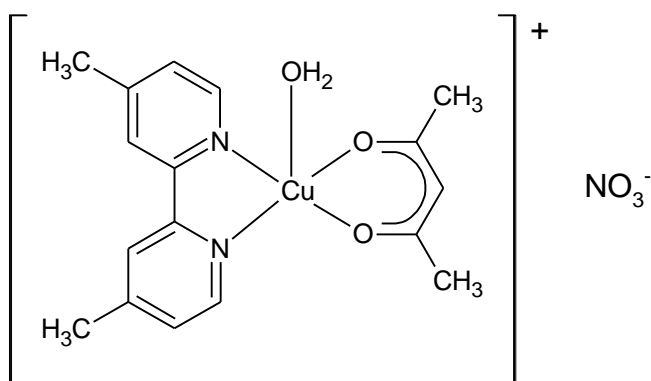
Obrázek 14: Vzorec nejslibnějšího derivátu meridianinů (vlevo) a YHHU0895 (vpravo).

3.5 Výběr modelových komplexů pro experimentální část

Z předchozího přehledu vyplývá, že sloučeniny indolů a komplexy tetrazolů vykazují cytotoxické účinky na širokém spektru buněčných linií. Navíc bylo u některých derivátů dosaženo překonání rezistence vůči léčivům a snížení toxických účinků, jakožto kýžených vlastností nové generace cytostatik. Právě kombinace cytotoxických účinků indolů a přítomnost dobře koordinovatelných atomů tetrazolu by mohla vést k přípravě nových a biologicky zajímavých komplexních sloučenin.

3.5.1 Casiopeínas

Jednou z nejzajímavějších skupin biologicky aktivních sloučenin jsou bezesporu měďnaté komplexy s názvem Casiopeínas. Tyto látky, opatentovány pro své cytotoxické účinky v 90. letech minulého století, obsahují kombinaci dvou bidentátních ligandů a to sice nábojově neutrální modifikované 1,10-fenanthroliny nebo 2,2'-bipyridiny a deprotonované aminokyseliny, především pak glycin nebo alanin, popř. acetylaceton, vystupující jako aniont. Nejslibnější komplex s označením Cas III-ia (*viz.* Obrázek 15) dokonce dokončil preklinické testy a začal první fázi klinického testování v Mexiku. Přesný mechanismus není známý, avšak jasné je že tyto látky způsobují poškození DNA. Nejpravděpodobněji dochází buď k interkalaci komplexní částice do DNA nebo k vazbě do zářezů DNA. [63]–[65]

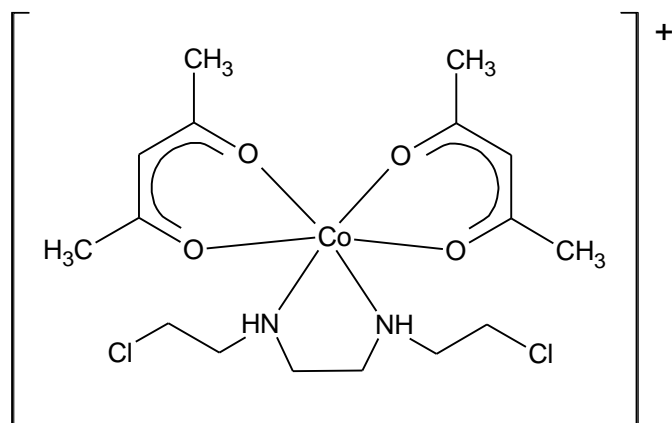


Obrázek 15: Vzorec Cas III-ia.

3.5.2 Komplexy trojmocného kobaltu jako „drug delivery“ systémy

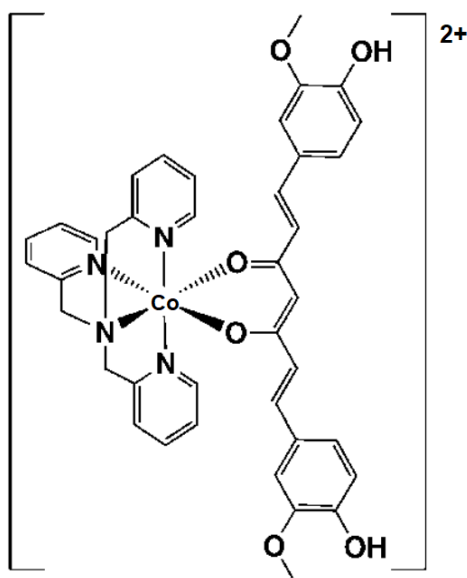
Princip tohoto typu komplexů spočívá v uvolnění navázané cytotoxické látky z kobaltitého komplexu v redukčním prostředí buňky. Tyto kobaltité komplexy v konfiguraci $3d^6$ jsou prakticky výhradně v nízkospinovém stavu, což jim poskytuje kinetickou odolnost např. vůči hydrolyze. Právě po redukci v buněčném prostředí by mělo dojít k vyvázání účinné látky na kýženém místě účinku. Dle literatury by se měl standardní redoxní potenciál $\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{2+}$ těchto komplexů pohybovat v rozmezí $-0,2$ až $-0,4$ V, což odpovídá potenciálu hypoxického prostředí nádoru. [66], [67] Dále předběžné syntézy experimentální práce ukázaly, že tetrazolové ligandy mají díky velkému množství donorových atomů tendenci tvořit ve vodě i v organických rozpouštědlech nerozpustné polymery, které jsou pro jakékoliv biologické testy nepoužitelné. Zablkováním většiny koordinačních míst centrálního atomu silně se vázajícím polydentátním ligandem by se tak dalo vyhnout polymerizaci.

Jedním z nejznámějších příkladů jsou acetylacetonátové Co^{III} komplexy s dusíkatými yperity. Tyto látky byly původně vyvinuty jako chemické zbraně, avšak díky schopnosti alkylovat DNA se historicky používaly také jako první chemoterapeutika při léčbě rakoviny. U nejslibnějšího komplexu (viz. Obrázek 16) došlo na linii AA8 v hypoxickém prostředí k výraznému zvýšení aktivity na hodnotu $\text{IC}_{50}=0,42 \mu\text{M}$ z hodnoty $893 \mu\text{M}$ při dostatku kyslíku. [68]



Obrázek 16: Vzorec kobaltitého komplexu s *N, N'*-bis(2-chloroethyl)ethylenediaminem.

Další zajímavý kobaltitý komplex byl připraven vědeckou skupinou A. K. Renfrewové s přírodním produktem kurkumy, kurkuminem. [69] Kurkumin již v minulosti prokázal své cytotoxické vlastnosti na buněčných liniích, avšak jeho omezená rozpustnost a nízká biodostupnost nevedly ke slibným výsledkům. [70] Výsledný kobaltitý komplex (*viz.* Obrázek 17) vykazoval hodnotu $IC_{50}=39 \mu M$ na buněčné linii kolorektálního karcinomu DRD-1, což je sice hodnota horší než u kurkuminu s $IC_{50}=13 \mu M$, avšak výrazně se zvýšila rozpustnost zároveň se stabilitou kurkuminu vůči metabolizaci. [69]

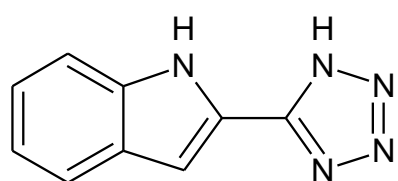


Obrázek 17: Vzorec kobaltitého komplexu s kurkuminem, převzato a upraveno od A. K. Renfrewové a kol. [69]

3.6 Výběr ligandů pro experimentální část

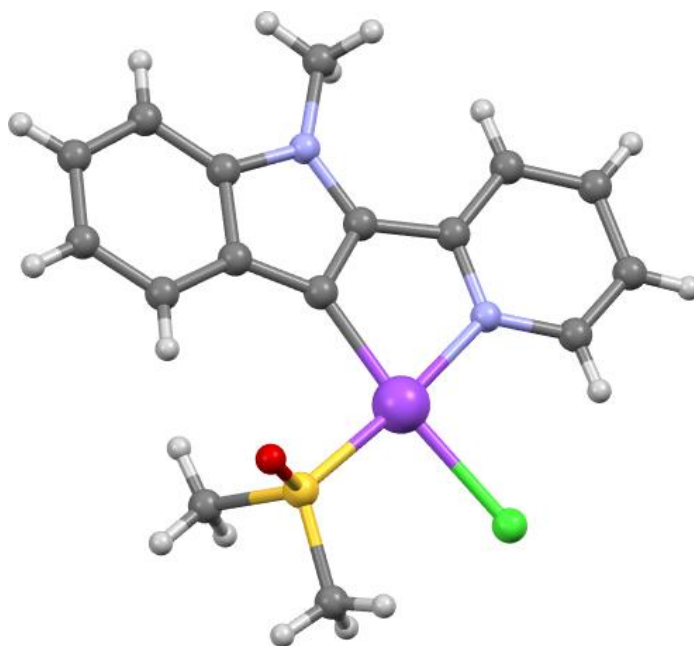
3.6.1 2-(tetrazol-5-yl)indol (HL^1)

Z předchozího přehledu je možné vidět, že mnoho účinných derivátů indolu, jako například arylthioindoly, je modifikováno v poloze 2 a tato látka byla vybrána jako jejich zástupce. Výsledky žádného biologického testování této sloučeniny nebyly doposud publikovány, avšak dle databáze byly některé další deriváty 2-(tetrazol-5-yl)indolu schopny interagovat s různými biomolekulami. Bylo by tedy zajímavé zjistit, zdali má tento jednoduchý derivát alespoň nějakou biologickou aktivitu. Zároveň nebyly doposud připraveny žádné komplexní sloučeniny s tímto ligandem.



Obrázek 18: Vzorec 2-(tetrazol-5-yl)indolu (HL^1).

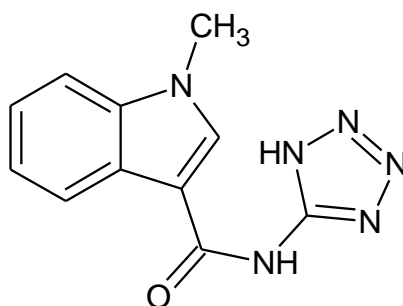
Kvůli nepřítomnosti zřejmého chelátového kruhu se ligand může vázat všemi dusíky tetrazolu, i když jsou známy i případy koordinace uhlíku indolu v poloze 3 jako karben na těžší kovy. [71] Taková vazba však bude nepravděpodobná u lehčích kovů a vyřešení krystalové struktury je tedy nezbytné pro zjištění způsobu vazby na kov.



Obrázek 19: Struktura platnatého komplexu s navázaným indolem jako karben; C – šedá, H – bílá, Pt – fialová, Cl – zelená, S – žlutá, O – červená, N – modrá.

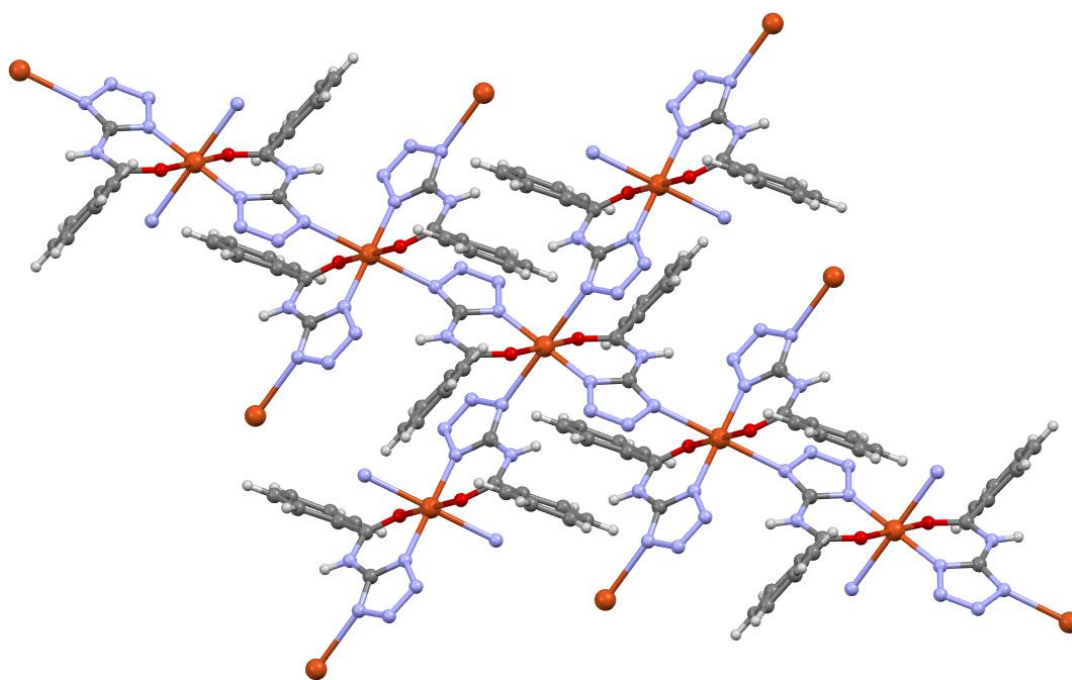
3.6.2 1-methyl-N-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamid (HL²)

Jedná se opět o látku neprozkoumanou z hlediska biologické aktivity. Některé její deriváty vykazují inhibici β -laktamázy, což je enzym zodpovědný za bakteriální rezistenci vůči některým antibiotikům, avšak žádné informace ohledně cytotoxické aktivity nejsou známy. [72] Žádné komplexní sloučeniny, ani s jinými deriváty, nebyly doposud připraveny. Podobné deriváty s amidickou skupinou v poloze 2- byly v minulosti studovány pro své antialergické účinky. [73] Původní záměr byl připravit amid bez 1-methyl skupiny, avšak předběžné syntézy ukázaly, že blokace dusíku indolu je nezbytná pro zabránění polymerizace při aktivaci karboxylové skupiny CDI, popř. SOCl_2 .



Obrázek 20: Vzorec 1-methyl-N-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamidu (HL²).

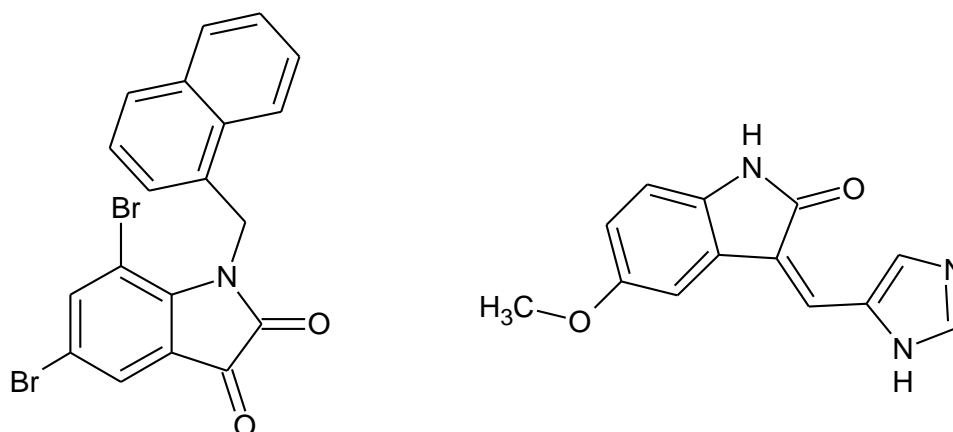
Měďnaté komplexy podobného amidu s 5-aminotetrazolem již byly připraveny vědeckou skupinou Y. B. Wanga. Z krystalové struktury je možné vidět, že se ligand váže kyslíkem karboxylu a deprotonovaným dusíkem tetrazolu v poloze 1. Dále je vidět, že se tetrazol váže dusíkem v poloze 4 na sousední atom mědi. Dá se tedy předpokládat, že se HL² bude vázat stejným způsobem. [74]



Obrázek 21: Část trojrozměrné struktury měďnatého komplexu s amidem 5-aminotetrazolu; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, O – červená, N – modrá.

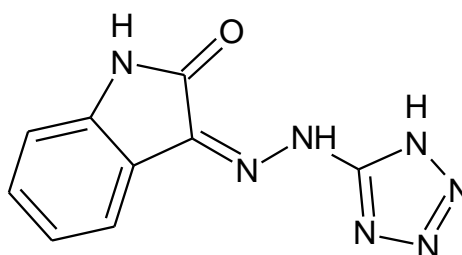
3.6.3 3-(2-(tetrazol-5-yl)hydrazon)indol-2,3-dion (HL^3)

Deriváty indol-2,3-dionu, známého též jako isatin, již v minulosti prokázaly svoji biologickou aktivitu, ať už antimikrobiální nebo cytotoxickou. [75] Právě derivatizace slibného 5,7-dibromo derivátu (viz. Obrázek 22) vytvořením hydrazonu byla záměrem. Tento derivát narušuje tvorbu mikrotubulů a byl schopen dosáhnout nanomolárních hodnot IC_{50} na liniích U937 (lymfom) a Jurkat (leukemie), avšak nepřítomnost vhodných koordinačních atomů znemožňuje jeho komplexaci. [76]



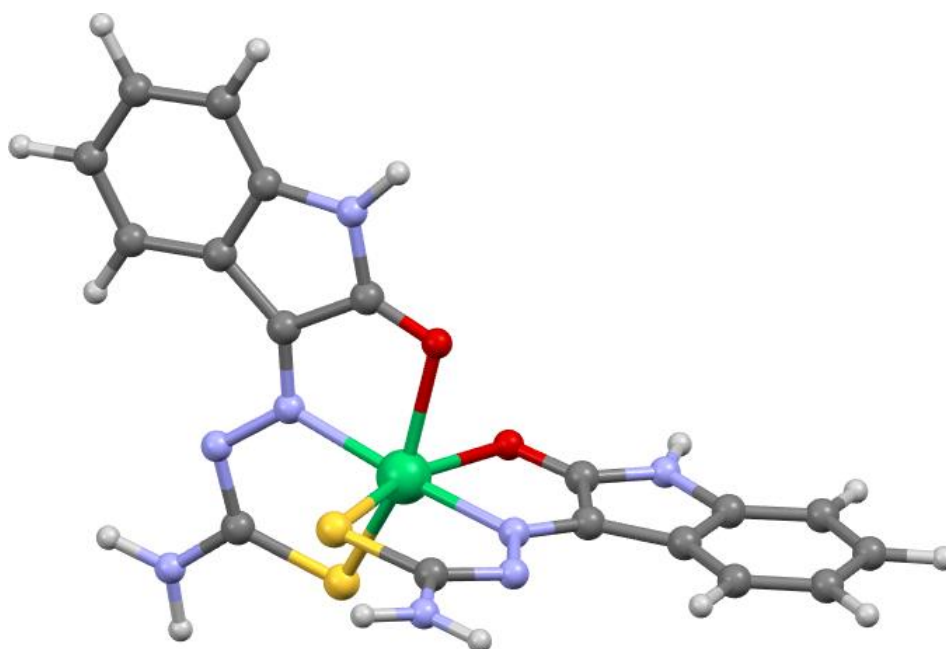
Obrázek 22: Vzorec 5,7-dibromo-1-(1-naftylmethyl)-indol-2,3-dionu (vlevo) a SU9516 (vpravo).

Další inspirací byl i slibný derivát s označením SU9516, jenž selektivně inhibuje cdk2 a je modifikovaný v poloze 3, stejně jako hydrazony isatinu. [75] Naneštěstí předběžné syntézy ukázaly, že výsledný hydrazon s 5,7-dibromo-1-(1-naftylmethyl)-indol-2,3-dionem je velice nestabilní a při jeho komplexaci docházelo rychle k jeho rozpadu. Jiný hydrazon byl tedy připraven s nemodifikovaným isatinem (**HL³**), který již byl stabilní. Žádné publikace ohledně tohoto ligandu ani jeho komplexů nebyly zveřejněny.



Obrázek 23: Vzorec 3-(2-(tetrazol-5-yl)hydrazon)indol-2,3-dionu (**HL³**).

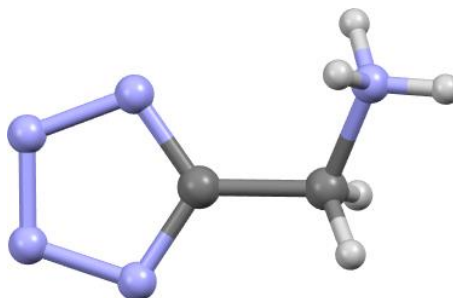
Vědecké skupině M. C. Rodríguez-Argüellesové se podařilo připravit nikelnatý komplex s podobným isatin- β -thiosemikarbazonem, obsahující stejně velký chelátový kruh jako HL³. Z krystalové struktury je možné vidět, že se ligand váže tridentátně, jak je znázorněno na Obrázek 24, a dá se usoudit, že se HL³ bude vázat podobným způsobem na kovy s podobným iontovým poloměrem jako Ni²⁺. [77]



Obrázek 24: Struktura nikelnatého komplexu s isatin- β -thiosemikarbazonem; C – šedá, H – bílá, Ni – zelená, O – červená, S – žlutá, N – modrá.

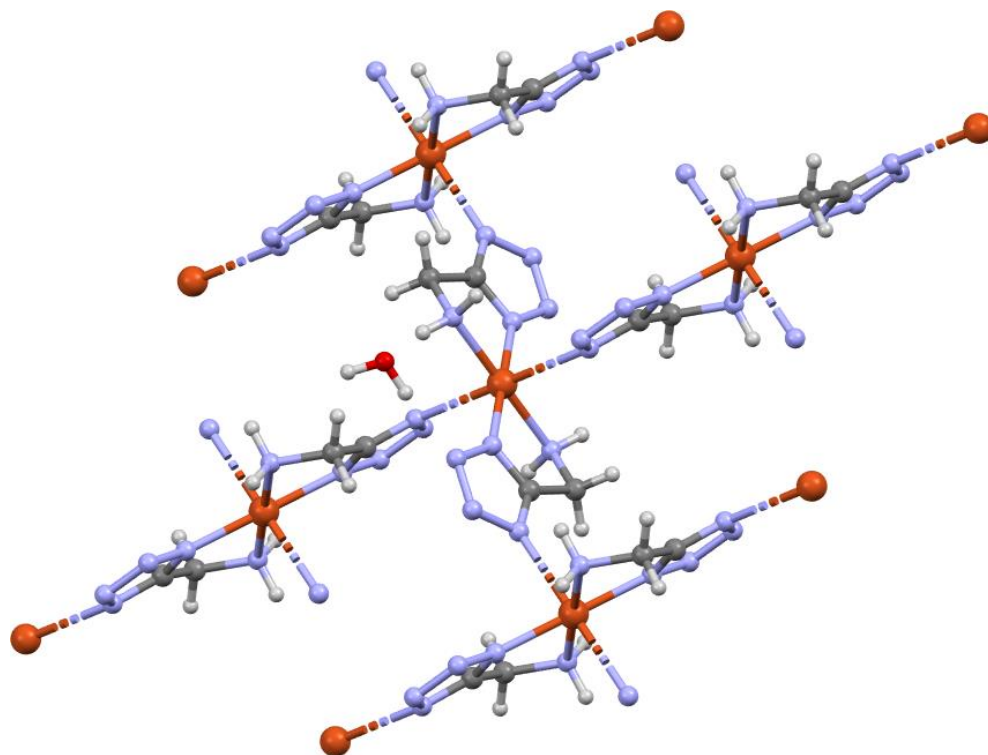
3.6.4 5-(aminomethyl)tetrazol (HL^4)

Tato látka byla poprvé připravena v roce 1959 jako tetrazolový analog aminokyseliny glycinu McManusem a Herbstem [78] za účelem inhibice bakteriálního růstu, avšak tyto závěry se později nepotvrdily a látka nevykazovala žádnou, nebo jen slabou inhibici růstu několika druhů bakterií. [79] Dále již tato látka nebyla zkoumána pro jiné biologické vlastnosti, avšak byla použita jako stavební blok pro syntézu inhibitorů různých biologických molekul, např. bakteriálních methionyl-tRNA syntetáz. [80]



Obrázek 25: Struktura 5-(aminomethyl)tetrazolu (HL^4); C – šedá, H – bílá, N – modrá.

Komplexní chemie tohoto ligandu je také neprozkoumaná, byly pouze připraveny jednoduché komplexní sloučeniny s dvojmocnými kovy, avšak provedena byla jen běžná fyzikálně-chemická charakterizace. [81] V novější publikaci byla provedena také rentgenostrukturní analýza měďnatého komplexu $[\text{Cu}(\text{L}^4)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ i samotného ligandu. Z krystalové struktury vyplývá, že se ligand váže chelátově dusíkem tetrazolu v poloze 1 a dusíkem aminoskupiny. Dusík tetrazolu v poloze 4 se pak váže s vedlejšími jednotkami a koordinační polyedr zaujímá tvar oktaedru (viz. Obrázek 26). Přestože jsou tetrazoly a jejich některé komplexy známy svojí výbušností při zahřátí nebo nárazu, je tento komplex stabilní bez ztráty vody do teploty 514 K, při které se rozkládá. Samotný 5-(aminomethyl)tetrazol se v krystalu vyskytuje jako zwitterion. [82]



Obrázek 26: Část trojrozměrné struktury komplexu $[\text{Cu}(\text{L}^4)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, O – červená, N – modrá.

Během práce na experimentální části měl být 5-(aminomethyl)tetrazol použit na syntézu Schiffových bází s isatinem a indol-3-karboxaldehydem, avšak předběžné syntézy ukázaly, že k žádné tvorbě Schiffových bází nedochází. McManus a Herbst [78] ukázali, že se přibližně v neutrálním pH jedná o zwitterion a ve vodném roztoku se může vyskytovat s naprotonovanou aminoskupinou, což by mohlo bránit tvorbě Schiffovy báze, avšak reakce neprobíhala ani v mírně bazickém prostředí s triethylaminem. Jelikož se jedná o tetrazolový analog aminokyseliny glycinu a některé Casiopeínas se slibnými výsledky ho obsahují jako koligand, byl tento tetrazolový analog použit pro syntézu obdobných komplexů s různě substituovanými 1,10-fenanthroliny a 2,2'-bipyridiny za účelem zjištění vlivu tetrazolického heterocyklu na biologickou aktivitu.

4. Experimentální část

4.1 Metody použité k charakterizaci sloučenin a seznam použitých chemikálií

Pro fyzikálně-chemickou charakterizaci připravených látek byly použity následující přístroje:

- Thermo Scientific Flash 2000 Analyzátor – C, H, N, S chemická analýza prvkového složení.
- Jasco FT/IR-4700 pro měření infračervených spekter ve střední oblasti infračerveného záření.
- 400 MHz NMR spektrometr firmy Varian pro měření spekter vysokého rozlišení vzorků v roztoku.
- Potenciostat CHI600C firmy CH Instruments pro měření cyklické voltametrie.
- Hmotnostní spektrometr s 3D iontovou pastí Thermo LCQ Fleet s ionizací za atmosférického tlaku (ESI).
- Difraktometr Stoe Stadivari s Xenocs Genix3D Cu HF pro RTG monokrystalovou analýzu vzorků PH1-4.
- Difraktometr SuperNova s AtlasS2 CCD detektorem a Cu K α zdrojem pro RTG monokrystalovou analýzu ostatních vzorků
- Konduktometr Eutech Cond 6+ od firmy Eutech Instruments
- Fluorescenční spektrometr AvaSpec HS1024x122TE

Chemikálie byly zakoupeny z dostupných komerčních zdrojů. Jejich čistota byla 97%+ a byly použity bez další purifikace.

Rozpouštědla: methanol, ethanol, 2-propanol, *N,N*-dimethylformamid, diethylether, ethylacetát, chloroform, acetonitril.

Chemikálie: indol-2-karboxylová kyselina, indol-3-karboxylová kyselina, SOCl₂, POCl₃, HCl (aq. 35%), NH₃ (aq. 25%), NaN₃, NH₄Cl, Na₂SO₄, NaOH, NaNO₂, kyselina octová, pyridin, hydrazin monohydrát, triethylamin, CH₃I, karbonyldiimidazol, 5-aminotetrazol monohydrát, 1,10-fenanthrolin monohydrát, 2,2'-bipyridin, neokuproin monohydrát, 4,7-dimethyl-1,10-fenanthrolin, 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridin, SnCl₂·2H₂O, ftalimid draselný, chloroacetonitril, isatin, CuCl₂·2H₂O, Cu(ClO₄)₂·6H₂O, CoBr₂·6H₂O, Cu(OAc)₂·H₂O, *N*-(2-aminoethyl)-propan-1,3-diamin, 2,4-dihydroxybenzaldehyd, 2,3-dihydroxybenzaldehyd, 2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyd, H₂AuCl₄·3H₂O, trifenylofosfin.

4.2 Příprava ligandů

4.2.1 Příprava 2-(tetrazol-5-yl)indolu (HL¹)

Příprava indol-2-karboxamidu

Do 50 ml varné baňky s 25 ml chloroformu bylo přidáno 5 g (31 mmol) indol-2-karboxylové kyseliny. Následně bylo přikapáno 5 ml SOCl₂ se třemi kapkami DMF jako katalyzátoru. Směs byla následně zahřívána pod zpětným chladičem 2 hodiny a ochlazená na pokojovou teplotu. Následně byl tento roztok nalit do směsi 20 ml vodného roztoku amoniaku a 20 g ledu. Tato směs byla míchána 2 hodiny při laboratorní teplotě, během níž se vysrážel žlutý precipitát. Ten byl odsán, promyt vodou a vysušen v exsikátoru. Produkt byl použit v následujícím kroku bez dalšího přečištění a teplota tání byla velice blízká teoretické 225-227 °C [83]. Teplota tání: 227-231 °C. Výtěžek: 4,4 g (89 %).

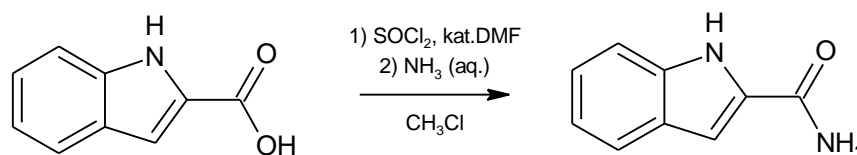


Schéma 1: Příprava indol-2-karboxamidu.

Příprava indol-2-karbonitrilu

6,3 g (39 mmol) indol-2-karboxamidu bylo přidáno k 50 ml POCl₃ v 100 ml varné baňce. Směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 30 minut a následně nalita na 100 g ledu. pH bylo následně upraveno na 8 pomocí vodného roztoku amoniaku, přičemž se vysrážel světlý prášek spolu s tmavou lepivou hmotou. Tato směs byla extrahována 3x 50 ml diethyletheru. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄, zfiltrována a odpařena na rotační vakuové odparce (RVO) do sucha. Nahnědlý prášek byl vysušen v exsikátoru a použit v následujícím kroku bez dalšího přečištění. V IČ spektru byl vidět pík při 2234 cm⁻¹, který je typický pro valenční vibraci -CN skupiny. Výtěžek: 4,12 g (74 %).

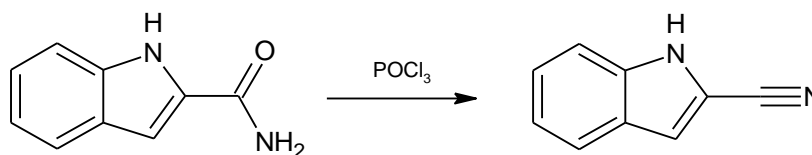


Schéma 2: Příprava indol-2-karbonitrilu.

Elementární analýza pro $C_9H_6N_2$: C, 76.0 %; H, 4.3 %; N, 19.7 %; Nalezeno: C, 74.7 %; H, 4.2 %; N, 19.4 %.

FTIR (cm^{-1}): 381w, 422m, 445w, 482w, 562w, 608w, 628w, 653m, 733m, 807m, 933w, 1006w, 1118w, 1154w, 1224w, 1347w, 1409w, 1496w, 1521w, 1616w, 1649w, 2234m, 3294w.

Příprava 2-(tetrazol-5-yl)indolu

4,12 g (29 mmol) indol-2-karbonitrilu bylo v 50 ml varné baňce rozpuštěno v 25 ml DMF. Následně bylo přidáno 3,77 g (58 mmol) NaN_3 a 1,55 g (29 mmol) NH_4Cl . Tato suspenze byla zahřívána 18 hodin při 120 °C. Směs byla ochlazena na pokojovou teplotu a nalita do 100 ml destilované vody. pH bylo upraveno na 1-2 pomocí 2M HCl a roztok byl extrahován 3x 50ml ethylacetátu. Organická frakce byla promyta solankou a vysušena bezvodým Na_2SO_4 . Po filtraci byla odpařena do sucha na RVO. Hnědý prášek byl následně rekrystalizován z methanolu s aktivním uhlím. Při rekrystalizaci se podařilo vypěstovat monokrystaly vhodné pro rentgenostrukturální analýzu. Výsledný produkt byl nažloutlý prášek. Elementární analýza, NMR spektroskopie i rentgenostrukturální analýza potvrdily, že se ve struktuře nachází methanol jako krystalosolvát. Výtěžek: 2,84 g (45 %).

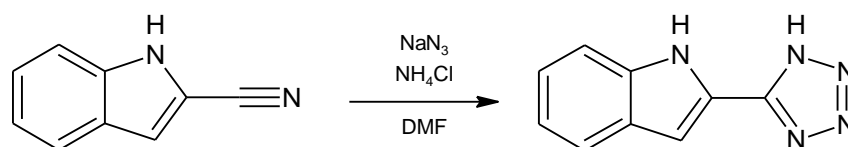


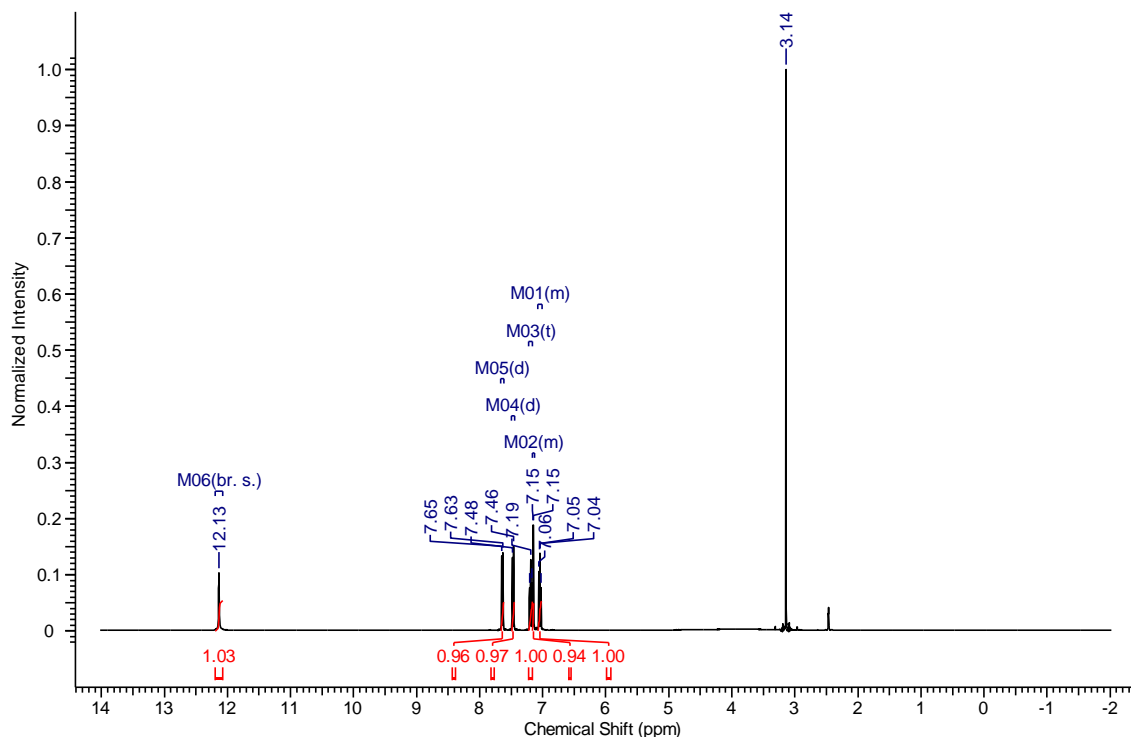
Schéma 3: Příprava 2-(tetrazol-5-yl)indolu.

Elementární analýza pro $HL \cdot MeOH$ se sumárním vzorcem $C_{10}H_{11}N_5O$: C, 55.3 %; H, 5.1 %; N, 32.2 %; Nalezeno: C, 54.9 %; H, 4.9 %; N, 32.3 %.

FTIR (cm^{-1}): 438w, 525w, 709w, 742s, 801m, 892w, 923m, 1005w, 1023w, 1083m, 1118w, 1137w, 1233m, 1249w, 1277w, 1338s, 1378s, 1414w, 1455w, 1509w, 1573w, 1618s, 2640w, 2687w, 2775w, 2832w, 2894w, 2964w, 3034w, 3111w, 3223s, 3362w, 3478w.

1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 7.01 - 7.08 (m, 1 H), 7.13 - 7.16 (m, 1 H), 7.19 (t, $J=7.63$ Hz, 1 H), 7.47 (d, $J=8.61$ Hz, 1 H), 7.64 (d, $J=7.83$ Hz, 1 H), 12.13 (br. s., 1 H);

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 104.05, 112.66, 120.55, 121.58, 122.38, 124.01, 127.88, 137.82, 150.48;

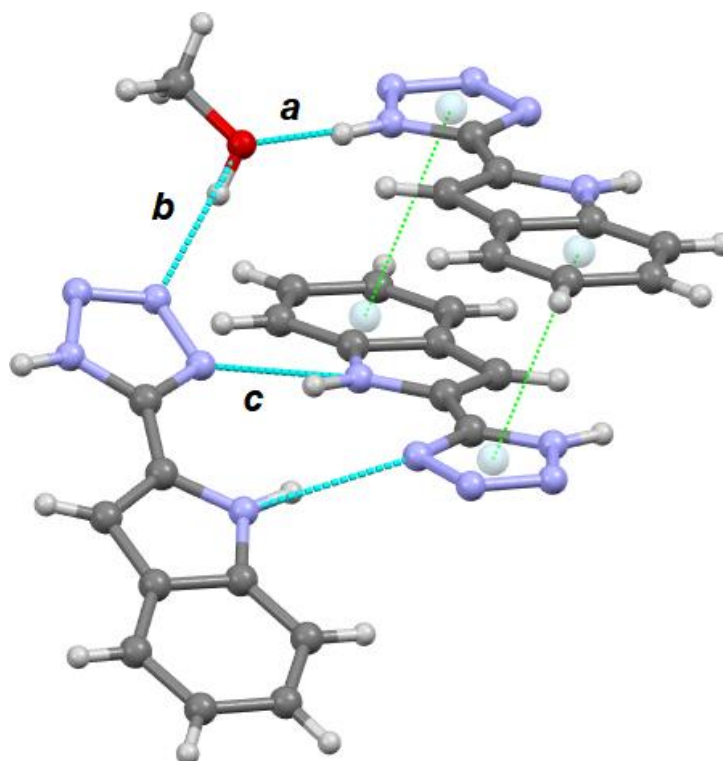


Obrázek 27: ^1H NMR spektrum 2-(tetrazol-5-yl)indolu.

Rentgenostrukturní analýza

Pro tento typ krystalu byla určena prostorová grupa C2/c s parametry základní buňky $a = 22.6910(14)$ Å, $b = 7.0280(3)$ Å a $c = 13.5206(7)$ Å. Krystalografická soustava je monoklinická s úhly základní buňky $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 100.504(5)$ a $\gamma = 90^\circ$.

Ve struktuře se nachází molekula methanolu jako krystalosolvát, což potvrzuje závěry z předchozích měření. Dochází také k tvorbě tří typů vodíkových vazeb, znázorněných na Obrázek 28. Jejich délky jsou $d(\text{N1}_{\text{tet}}\dots\text{O}) = 2.682$ Å, $d(\text{N3}_{\text{tet}}\dots\text{O}) = 2.795$ Å a $d(\text{N4}_{\text{tet}}\dots\text{N1}_{\text{indol}}) = 2.947$ Å. Dále je možné vidět π - π interakce mezi aromatickými jádry, kde vzdálenost mezi jejich centroidy činí 3,567 Å.



Obrázek 28: Struktura 2-(tetrazol-5-yl)indolu se znázorněnými vodíkovými vazbami (tyrkysová) a π - π stackingem (zelená); C – šedá, H – bílá, O – červená, N – modrá.

4.2.2 Příprava 1-methyl-N-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamidu (HL^2)

Příprava 1-methylindol-3-karboxylové kyseliny

1,61 g (10 mmol) kyseliny indol-3-karboxylové bylo rozpuštěno ve 20 ml DMF. Do tohoto roztoku bylo následně přidáno 1,6 g (40 mmol) NaOH a 5,7 g (2,49 ml; 40 mmol) CH_3I . Tato směs byla míchána 18 hodin při pokojové teplotě. Po následném přidání 50 ml vody se vysrážel bílý precipitát. Ten byl zfiltrován, promyt trochou vody a přidán do 50 ml 2M roztoku NaOH. Tato směs byla zahřívána pod zpětným chladičem, dokud nezmizely všechny rozsuspendované kapky roztopeného esteru. Takto vzniklý čirý roztok byl následně ochlazen na pokojovou teplotu a vyextrahován 2x 20ml ethylacetátu. Vodná fáze byla následně okyselena koncentrovanou HCl do pH 1 až 2, přičemž se vysrážel bílý produkt. Ten byl odsát, promyt vodou a vysušen v exsikátoru. Výtěžek: 0,92 g (53 %).

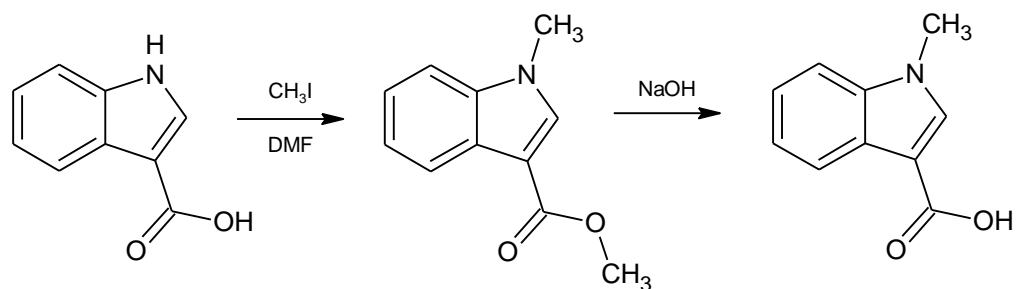


Schéma 4: Příprava 1-methylindol-3-karboxylové kyseliny.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 3.80 (s, 3 H), 7.14 - 7.23 (m, 2 H), 7.48 (d, $J=7.83$ Hz, 1 H), 8.21 (d, $J=7.83$ Hz, 1 H), 7.98 (m, 2 H);

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 33.39, 106.68, 111.02, 121.13, 121.66, 122.58, 126.82, 136.47, 137.42, 166.09;

Příprava 1-methyl-N-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamidu

875 mg (5 mmol) 1-methylindol-3-karboxylové kyseliny bylo rozpuštěno v 10 ml DMF ve 20 ml vialce. Následně bylo přidáno 891 mg (5,5 mmol) karbonyldiimidazolu (CDI) a reakce byla míchána za pokojové teploty pod dusíkem, dokud neustála tvorba bublinek CO_2 . Do reakce pak bylo přidáno 638 mg (7,5 mmol) bezvodého 5-aminotetrazolu, který byl předem vysušen v sušárně při $110\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 2 hodin. Tato směs byla pod dusíkem zahřívána 18 hodin při $50\text{ }^\circ\text{C}$. Následně byla reakční směs nalita do 20 ml destilované vody a okyselena 2M HCl na pH 1-2, přičemž došlo k tvorbě bílé sraženiny. Ta byla odsáta a důkladně promyta destilovanou vodou a vysušena v exsikátoru. Výtěžek: 1,1 g (91 %).

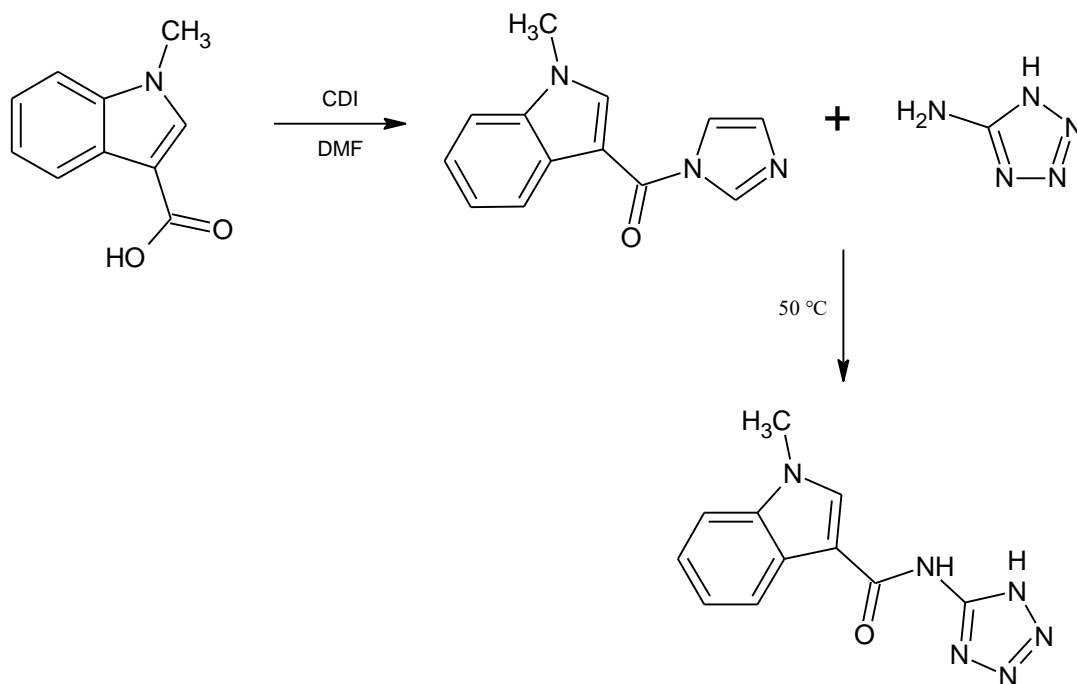


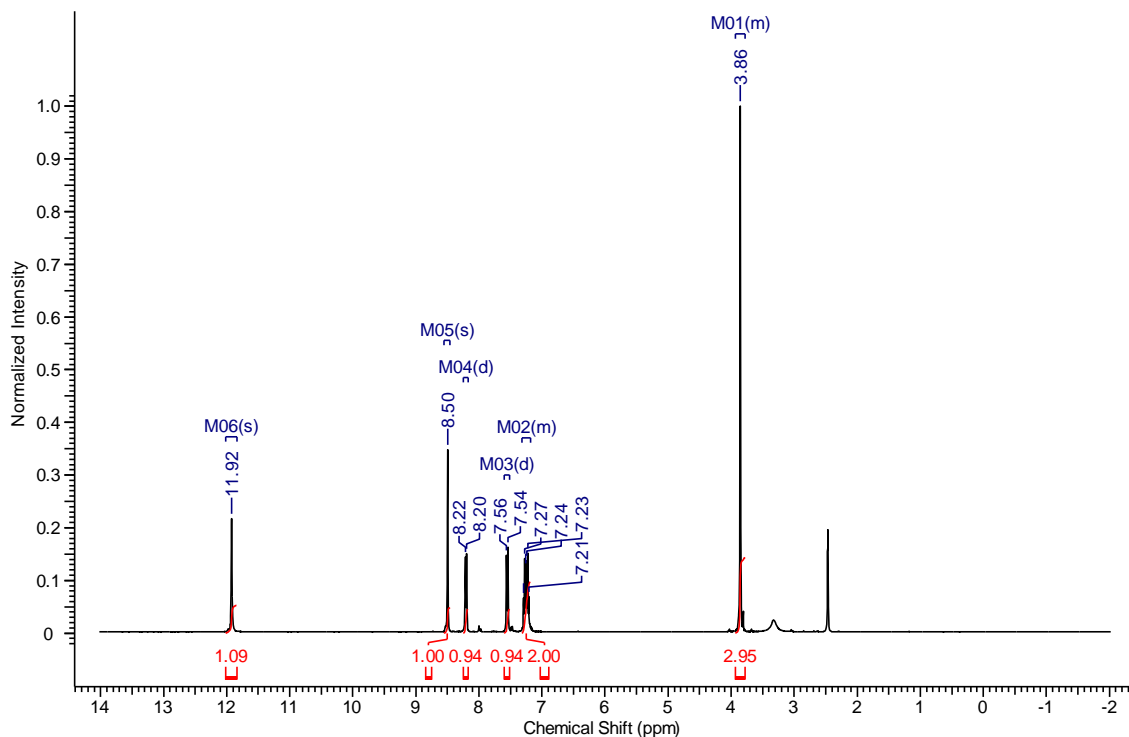
Schéma 5: Příprava 1-methyl-*N*-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamidu.

Elementární analýza pro HL² se sumárním vzorcem C₁₁H₁₀N₆O: C, 54.5 %; H, 4.2 %; N, 34.7 %; Nalezeno: C, 52.2 %; H, 4.0 %; N, 34.4 %.

FTIR (cm⁻¹): 428w, 572w, 657w, 689w, 745m, 857w, 872w, 987m, 1018m, 1098m, 1129w, 1152w, 1183w, 1238s, 1263w, 1337w, 1380m, 1407m, 1465m, 1529s, 1549m, 1593s, 1667s, 3131w, 3330m.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3.78 - 3.93 (s, 3 H), 7.18 - 7.32 (m, 2 H), 7.55 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H), 8.21 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H), 8.50 (s, 1 H), 11.92 (s, 1 H);

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 33.91, 107.13, 111.29, 121.25, 122.27, 123.21, 127.22, 135.23, 137.41, 150.88, 162.55;



Obrázek 29: ^1H NMR spektrum 1-methyl-*N*-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamidu.

4.2.3 Syntéza 3-(2-(tetrazol-5-yl)hydrazon)indol-2,3-dionu (HL^3)

Syntéza byla provedena s modifikacemi dle V. P. Shchipanova a kolektivu. [84] Do ledem zchlazené (0-3 °C) suspenze 4,12 g (40 mmol) 5-aminotetrazolu monohydrátu ve 12 ml destilované vody a 8 ml kyseliny octové byl za míchání přikapán roztok 1,38 g (20 mmol) NaNO_2 ve 12 ml destilované vody tak, aby teplota nepřekročila 4 °C. Reakční směs byla vytažena z ledu, ponechána ohřát na pokojovou teplotu a míchána 2 hodiny, kdy v roztoku vzniklo velké množství nažloutlého precipitátu. Směs byla následně ochlazená v lednici a odsáta. Tento vlhký meziprodukt byl následně vsypán do roztoku 9,04 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v 50 ml koncentrované HCl a míchán 2 hodiny při 35 °C. Během reakce bylo možno pozorovat evoluci dusíku a reakční směs se zakalila. Následně byl roztok zfiltrován a do filtrátu byl přidán roztok 2,94 g (20 mmol) isatinu v minimálním objemu horkého methanolu. Směs byla míchána 1 hodinu při pokojové teplotě, přičemž se vysrážel žlutý precipitát. Před filtrací byla směs vychlazená v lednici a žlutý produkt byl promyt koncentrovanou HCl , vodou a methanolem. Tento nečistý produkt byl rekrystalizován za horka ze směsi DMF a methanolu. Výtěžek: 0,94 g (21 %).

Ligand není dlouhodobě skladovatelný na vzduchu kvůli pravděpodobné hydrolyze a déle skladované vzorky musely být přečištěny rozpuštěním látky v methanolicím

roztoku NaOH, filtrací a přidáním kyseliny octové do mírně kyselého pH. Čistý ligand pak vykrytalizoval ze zchlazeného roztoku a byl odsát a promyt trochou methanolu.

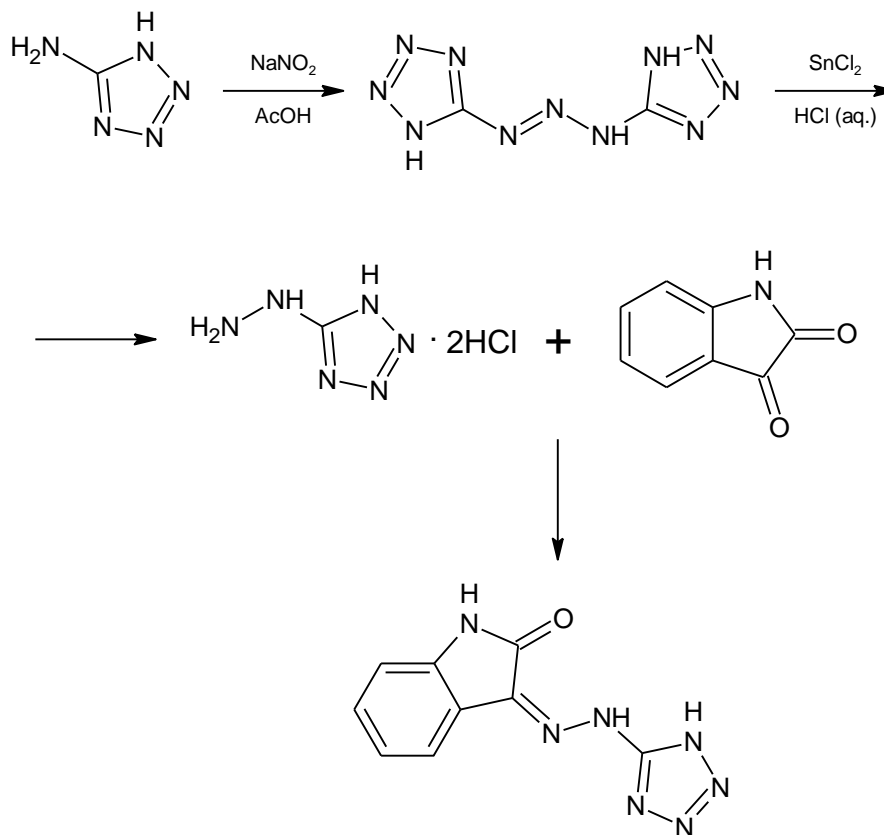


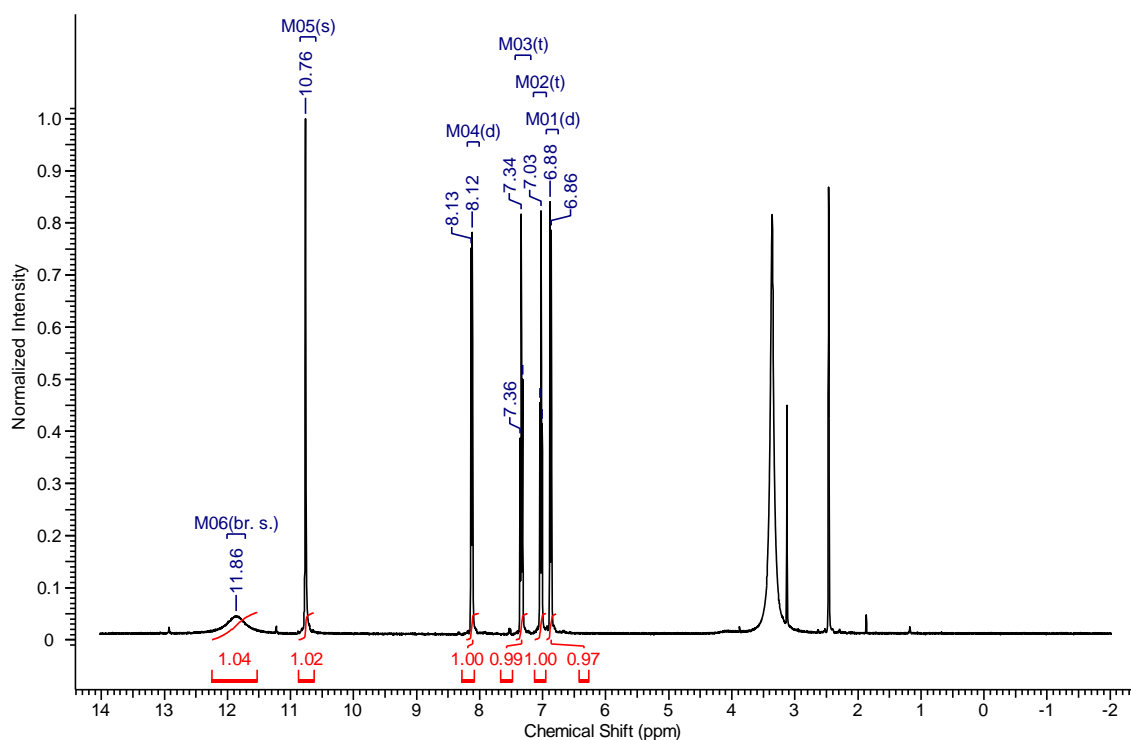
Schéma 6: Příprava 3-(2-(tetrazol-5-yl)hydrazon)indol-2,3-dionu.

Elementární analýza pro $\text{HL}^3 \cdot 1,25\text{H}_2\text{O}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_9\text{H}_{9,5}\text{N}_7\text{O}_{2,25}$: C, 42.9 %; H, 3.8 %; N, 39.0 %; Nalezeno: C, 42.8 %; H, 3.6 %; N, 38.6 %.

FTIR (cm^{-1}): 466w, 492w, 583w, 687w, 784m, 784w, 976w, 1058m, 1130m, 1192m, 1274w, 1348m, 1461m, 1508m, 1593s, 1712s, 2819w, 3132w, 3375w, 3552w.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 6.87 (d, $J=7.43$ Hz, 1 H), 7.03 (t, $J=7.63$ Hz, 1 H), 7.34 (t, $J=7.63$ Hz, 1 H), 8.13 (d, $J=7.43$ Hz, 1 H), 10.76 (s, 1 H), 11.86 (br. s., 1 H);

^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 110.84, 115.95, 122.07, 126.28, 132.60, 137.83, 143.61, 164.86;



Obrázek 30: ^1H NMR spektrum 3-(2-(tetrazol-5-yl)hydrazon)indol-2,3-dionu.

4.2.4 Příprava 5-(aminomethyl)tetrazolu (HL^4)

Syntéza byla provedena s modifikacemi dle J. M. McManuse a R. M. Herbsta. [78]

Příprava ftalimidoacetonitrilu

Do suspenze 6,67 g (36 mmol) ftalimidu draselného v 25 ml DMF bylo přidáno 2,27 g (30 mmol) chloroacetonitrilu. Roztok byl míchán za pokojové teploty 18 hodin a následně nalit do 100 ml destilované vody za vzniku bílé sraženiny. Ta byla odsáta, důkladně promyta vodou a vysušena v sušárně při 80 °C. Výtěžek: 4,43 g (79 %).

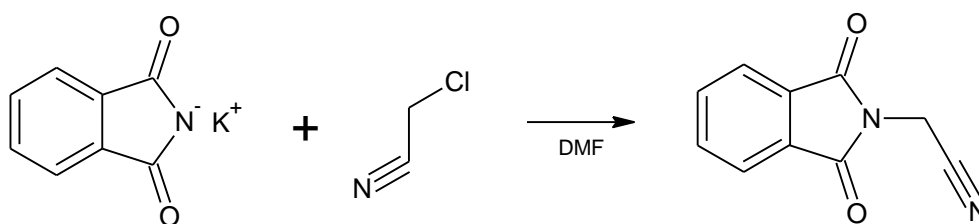


Schéma 7: Příprava *N*-ftalimidoacetonitrilu.

Teplota tání: 124 °C (lit. 124-125 °C [78]).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 4.71 (s, 2 H), 7.76 - 7.93 (m, 4 H);

Příprava 5-ftalimidomethyltetrazolu

10,42 g (56 mmol) *N*-ftalimidoacetonitrilu bylo rozpuštěno v 50 ml DMF a do tohoto roztoku bylo přidáno 7,28 g (112 mmol) NaN₃ a 3 g (56 mmol) NH₄Cl. Tato suspenze byla zahřívána 18 hodin při 120 °C. Po zchlazení na pokojovou teplotu byl tento roztok nalit do 100 ml destilované vody a okyselen na pH = 1 pomocí konc. HCl. Takto vzniklý bílý precipitát byl odsát, promyt destilovanou vodou a vysušen v exsikátoru. Výtěžek: 9,82 g (77 %).

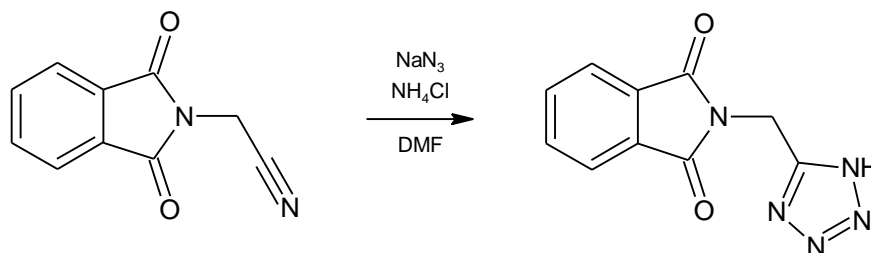


Schéma 8: Příprava 5-ftalimidomethyltetrazolu.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 5.10 (s, 2 H), 7.79 - 7.98 (m, 4 H);

Příprava 5-(aminomethyl)tetrazolu

9,82 g (43 mmol) 5-ftalimidomethyltetrazolu bylo přisypáno do 65 ml absolutního ethanolu a do této suspenze byl přilít roztok 2,15 g (2,1 ml; 43 mmol) hydrazinu monohydrátu v 45 ml absolutního ethanolu. Tato směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 3 hodiny. Po zchlazení v lednici byla reakční směs zfiltrována a pevný podíl byl přidán do 100 ml 2M HCl, kde byl míchán při 50 °C po dobu 15 minut. Tato suspenze byla zfiltrována a pevný podíl byl důkladně promyt vodou. Filtrát byl odpařen do sucha na RVO. 5,7 g (teor. 42 mmol 5-(aminomethyl)tetrazolu hydrochloridu) meziprojektu bylo přidáno do roztoku 90 ml absolutního ethanolu s 3,4 ml (42 mmol) pyridinu. Tato směs byla míchána 2 hodiny při pokojové teplotě a výsledný precipitát byl zfiltrován. Takto vzniklý produkt byl znečištěn hydrazin hydrochloridem, díky kterému byl tento prášek silně hygroskopický, a rekrystalizace z minimálního objemu horké vody byla nezbytná. Výsledné bílé krystaly hygroskopické nejsou. Výtěžek: 2,88 g (68 %).

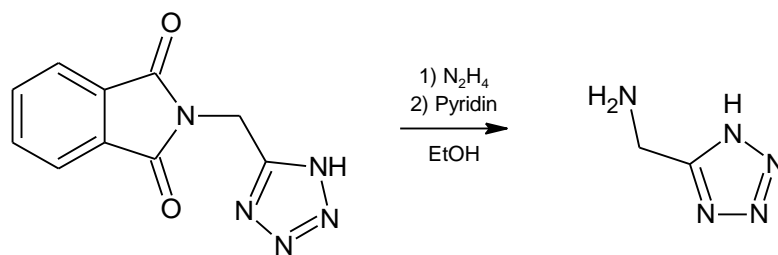


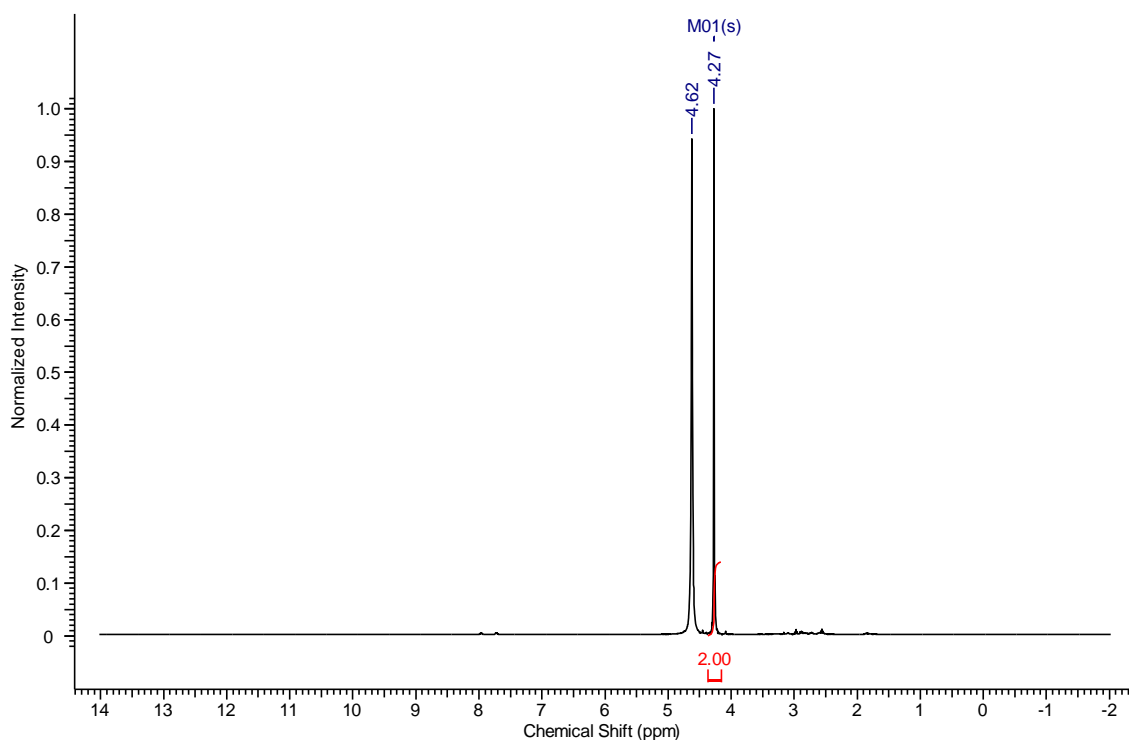
Schéma 9: Příprava 5-(aminomethyl)tetrazolu.

Elementární analýza pro HL⁴ se sumárním vzorcem C₂H₅N₅: C, 24.2 %; H, 5.1 %; N, 70.7 %; Nalezeno: C, 24.1 %; H, 5.0 %; N, 71.1 %.

FTIR (cm⁻¹): 464s, 580w, 688w, 732w, 921s, 1007w, 1032w, 1067w, 1108w, 1125m, 1140m, 1210w, 1349m, 1410s, 1534s, 1621m, 1661m, 2175w, 2448w, 2622m, 2727w, 2836w, 2899w.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm 4.27 (s, 2 H);

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) δ ppm 34.01, 156.18;



Obrázek 31: ¹H NMR spektrum 5-(aminomethyl)tetrazolu.

4.3 Příprava komplexních sloučenin s 5-(aminomethyl)tetrazolem

4.3.1 Obecný postup přípravy komplexů $[Cu(N-N)L^4]Cl$

Ve vialce bylo rozpuštěno 42,6 mg (0,25 mmol) $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ ve 2 ml methanolu a následně byl přidán roztok 0,25 mmol daného derivátu 1,10-fenanthrolinu nebo 2,2'-bipyridinu v 5 ml methanolu. Prakticky okamžitě vznikla sraženina, která byla rozpuštěna zahřátím k varu a přidáním několika mililitrů destilované vody do úplného rozpuštění. Jediný komplex s 4,7-dimethyl-1,10-fenanthrolinem nebyl v této směsi rozpustný, avšak po přidání následujícího roztoku ligandu se všechna sraženina rozpustila a roztok se vyčeřil. Následně byl připraven roztok 24,8 mg (0,25 mmol) 5-(aminomethyl)tetrazolu (HL^4) v 5 ml destilované vody, do kterého bylo přidáno 250 μ l 1M roztoku NaOH pro deprotonaci ligandu. Ten byl následně přidán k připravenému horkému roztoku měďnatého komplexu. Reakční směs byla ochlazená přes noc v lednici za vzniku modrých krystalických produktů. Ty byly odsáty, promyty ledovou vodou, ledovým ethanolem a diethyletherem a vysušeny v exsikátoru.

Ve všech případech se podařilo vypěstovat monokrystaly. Krystaly komplexů PH1 a PH2 byly vytvořeny volným odpařením vodných roztoků daných komplexů. Komplex PH3 není ve vodě stabilní a tudíž byly monokrystaly vytvořeny napařováním methanolického roztoku diethyletherem. Krystaly komplexu PH4 se podařilo připravit volným odpařením vodného roztoku, avšak předběžná měření odhalily, že se jedná o modulovanou strukturu, kterou nebylo možno dořešit. Nové krystaly byly připraveny napařováním methanolického roztoku diethyletherem za účelem tvorby izomorfní struktury a nereflektují tak složení solvátů uvedené v elementární analýze.

Konduktometrická měření byla porovnána s literaturou [85]. Hodnoty molárních konduktivit se ve všech případech pohybovaly v oblasti publikovaných hodnot pro elektrolyt 1:1.

4.3.2 Charakterizace komplexu PH1 (1,10-fenanthrolin)

Výtěžek: 85 mg (86 %).

Elementární analýza pro $[Cu(phen)(H_2O)L^4]Cl$ se sumárním vzorcem $C_{14}H_{14}ClCuN_7O$: C, 42.5 %; H, 3.6 %; N, 24.8 %; Nalezeno: C, 42.7 %; H, 3.4 %; N, 24.8 %.

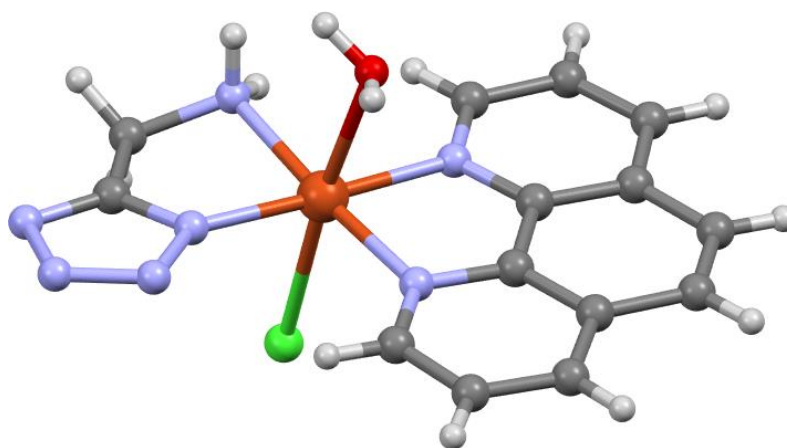
FTIR (cm^{-1}): 431w, 506w, 648w, 721s, 739w, 854s, 939w, 1002w, 1016w, 1091w, 1103w, 1123m, 1158w, 1205w, 1223w, 1347w, 1413m, 1431s, 1494w, 1517m, 1584m, 1628w, 2371w, 3041w, 3059w, 3080w, 3143m, 3217m, 3473m.

Molární konduktivita ve vodě při 25 °C: $\lambda = 95,4 \text{ S}\cdot\text{cm}^2/\text{mol}$.

Rentgenostrukturní analýza

Pro tento typ krystalu byla určena prostorová grupa $P2_1/c$ s parametry základní buňky $a = 6.7742(3) \text{ \AA}$, $b = 18.2860(6) \text{ \AA}$ a $c = 12.1960(6) \text{ \AA}$. Krystalografická soustava je monoklinická s úhly základní buňky $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 94.595(4)$ a $\gamma = 90^\circ$.

Ve struktuře je možné vidět oktaedrickou geometrii koordinačního polyedru. Délky vazeb $N_{\text{phen}}\text{-Cu}$ jsou 2.016 a 2.039 Å a $N_{L^4}\text{-Cu}$ jsou 2.006 a 2.039 Å. Délka Cu-Cl je 2.768 Å, takto dlouhá vazba i ve zbylých komplexech PH2 a PH4 je pravděpodobně zodpovědná za disociaci chloridového aniontu ve vodném prostředí a tvorbu elektrolytu 1:1. Vzdálenost nakoordinované molekuly vody od mědi je 2.410 Å. Z větší vzdálenosti chloridu od atomu mědi oproti zbylým pentakoordinovaným komplexům se dá usoudit, že dochází k Jahn-Tellerovské distorzi.



Obrázek 32: Struktura komplexu PH1; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, O – červená, Cl – zelená, N – modrá.

4.3.3 Charakterizace komplexu PH2 (4,7-dimethyl-1,10-fenanthrolin)

Výtěžek: 76 mg (72 %).

Elementární analýza pro $[\text{Cu}(47\text{Mephen})\text{L}^4\text{Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClCuN}_7\text{O}$: C, 45.4 %; H, 4.3 %; N, 23.2 %; Nalezeno: C, 45.8 %; H, 4.0 %; N, 22.8 %.

FTIR (cm⁻¹): 527w, 554w, 647w, 689w, 727m, 827w, 864s, 932w, 950w, 998w, 1025m, 1086w, 1119m, 1155m, 1177w, 1202m, 1238m, 1272w, 1295w, 1358w, 1375w, 1413s, 1426s, 1524s, 1576s, 1606s, 1620m, 1647w, 1978w, 2019w, 2160w, 2931w, 2952w, 3034w, 3112s, 3188s, 3452w.

Molární konduktivita ve vodě při 25 °C: $\lambda = 99,2 \text{ S}\cdot\text{cm}^2/\text{mol}$.

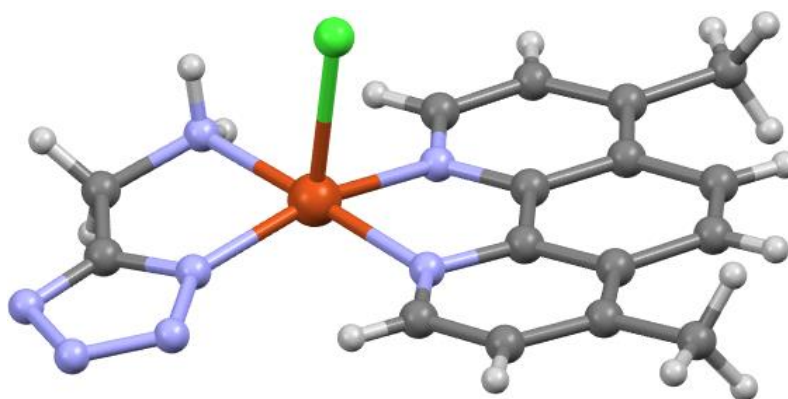
Rentgenostrukturní analýza

Pro tento typ krystalu byla určena prostorová grupa C2/c s parametry základní buňky $a = 15.0004(13) \text{ \AA}$, $b = 11.2484(7) \text{ \AA}$ a $c = 19.7551(16) \text{ \AA}$. Krystalografická soustava je monoklinická s úhly základní buňky $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 98.125(7)$ a $\gamma = 90^\circ$.

Z Addisonova parametru:

$$\tau = \frac{\beta - \alpha}{60^\circ} = \frac{177,5^\circ - 162,0^\circ}{60^\circ} = 0,26$$

se dá usoudit, že koordinační polyedr zaujímá tvar blíže čtvercové pyramidě. Délky vazeb N_{phen}-Cu jsou 2.027 a 2.009 Å a N_{L4}-Cu jsou 1.972 a 2.033 Å. Délka Cu-Cl je 2.523 Å a ve struktuře se nachází jedna molekula vody jako krystalosolvát.



Obrázek 33: Struktura komplexu PH2; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, Cl – zelená, N – modrá.

4.3.4 Charakterizace komplexu PH3 (2,9-dimethyl-1,10-fenanthrolin)

Výtěžek: 89 mg (84 %).

Elementární analýza pro [Cu(29Mephen)L⁴]Cl·H₂O se sumárním vzorcem C₁₆H₁₈ClCuN₇O: C, 45.4 %; H, 4.3 %; N, 23.2 %; Nalezeno: C, 45.1 %; H, 4.3 %; N, 23.0 %.

FTIR (cm⁻¹): 404w, 431w, 455w, 511w, 547w, 580w, 658w, 683w, 702w, 729w, 758w, 778w, 795w, 811w, 844m, 877s, 938w, 1017s, 1049w, 1124m, 1155s, 1200w, 1222w,

1249w, 1306w, 1341w, 1367m, 1377w, 1411s, 1438m, 1505s, 1565m, 1589m, 1620w, 1634w, 2763w, 2901w, 2999m, 3021m, 3131w, 3223m, 3425s, 3475s.

Molární konduktivita ve vodě při 25 °C: $\lambda = 97,1 \text{ S}\cdot\text{cm}^2/\text{mol}$.

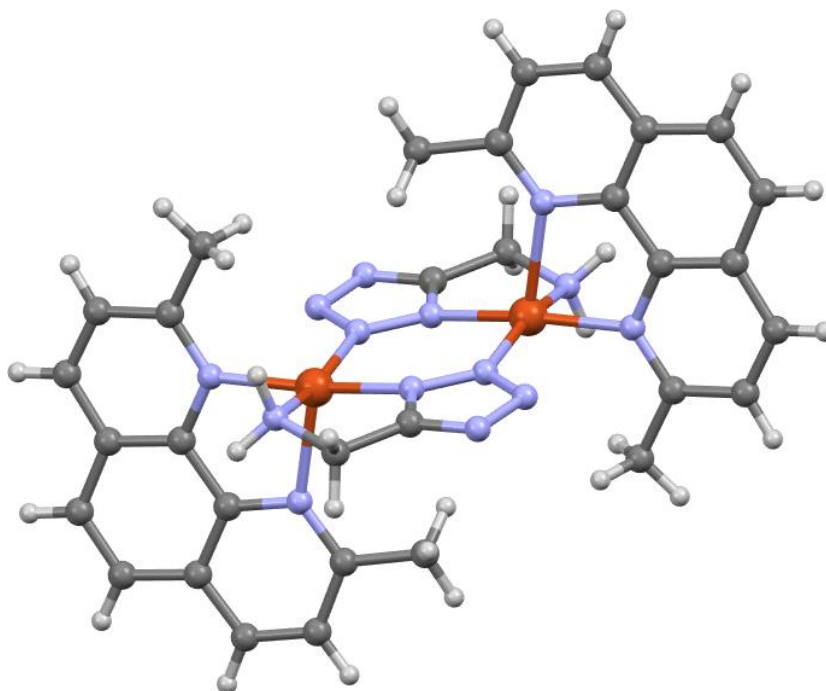
Rentgenostrukturní analýza

Pro tento typ krystalu byla určena prostorová grupa $P\bar{1}$ s parametry základní buňky $a = 10.8986(10) \text{ \AA}$, $b = 12.2439(16) \text{ \AA}$ a $c = 15.6411(14) \text{ \AA}$. Krystalografická soustava je triklinická s úhly základní buňky $\alpha = 99.506(9)^\circ$, $\beta = 95.759(7)^\circ$ a $\gamma = 96.761(9)^\circ$.

Z Addisonova parametru:

$$\tau = \frac{\beta - \alpha}{60^\circ} = \frac{170,1^\circ - 165,1^\circ}{60^\circ} = 0,08$$

se dá usoudit, že koordinační polyedr obou atomů mědi zaujímá tvar velice blízko čtvercové pyramidě. Z dimerní struktury je možné usoudit, že 2,9-dimethyl-1,10-fenanthrolin není vhodným ligandem pro tvorbu analogů Casiopeínas kvůli stericnému bránění obou methylových skupin. To zároveň vysvětluje odchylku hydrolytické stability oproti zbylým komplexům, které jsou ve vodě stabilní. Délky vazeb $N_{\text{phen}}\text{-Cu}$ jsou 2.217 a 1.989 Å a $N_{L^4}\text{-Cu}$ tetrazolického můstku jsou 1.978 a 2.012 Å. Vzdálenost nakoordinované aminoskupiny L^4 je pak 2.035 Å. Chloridové anionty nejsou nakoordinovány a nachází se ve vnější koordinační sféře.



Obrázek 34: Struktura komplexního kationtu komplexu PH3; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, Cl – zelená, N – modrá.

4.3.5 Charakterizace komplexu PH4 (4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridin)

Výtěžek: 91 mg (84 %).

Elementární analýza pro $[\text{Cu}(\text{44Me bpy})\text{L}^4]\text{Cl}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{ClCuN}_7\text{O}_3$: C, 38.6 %; H, 5.1 %; N, 22.5 %; Nalezeno: C, 38.8 %; H, 5.0 %; N, 22.6 %.

FTIR (cm^{-1}): 423w, 511w, 557w, 605w, 671w, 758w, 845m, 924w, 999m, 1022w, 1098w, 1122m, 1174w, 1200w, 1251w, 1316w, 1385w, 1429m, 1497m, 1556w, 1593w, 1614s, 1661m, 1972w, 3082w, 3231w, 3434w.

Molární konduktivita ve vodě při 25 °C: $\lambda = 95,4 \text{ S}\cdot\text{cm}^2/\text{mol}$.

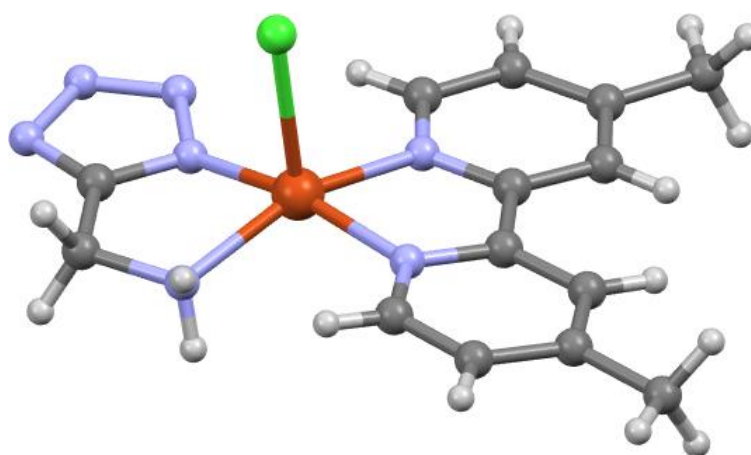
Rentgenostrukturní analýza

Pro tento typ krystalu byla určena prostorová grupa $\text{P}2_1/\text{c}$ s parametry základní buňky $a = 6.9687(5) \text{ \AA}$, $b = 11.1346(9) \text{ \AA}$ a $c = 22.2236(18) \text{ \AA}$. Krystalografická soustava je monoklinická s úhly základní buňky $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 95.143(6)^\circ$ a $\gamma = 90^\circ$.

Z Addisonova parametru:

$$\tau = \frac{\beta - \alpha}{60^\circ} = \frac{167,6^\circ - 159,4^\circ}{60^\circ} = 0,14$$

se dá usoudit, že koordinační polyedr zaujímá tvar velice blízko čtvercové pyramidě. Délky vazeb $\text{N}_{\text{bpy}}\text{-Cu}$ jsou 2.011 a 2.019 Å a $\text{N}_{\text{L}^4}\text{-Cu}$ jsou 1.982 a 2.042 Å. Délka Cu-Cl je 2.515 Å a ve struktuře se nachází jedna molekula methanolu jako krystalosolvát.



Obrázek 35: Struktura komplexu PH4; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, Cl – zelená, N – modrá.

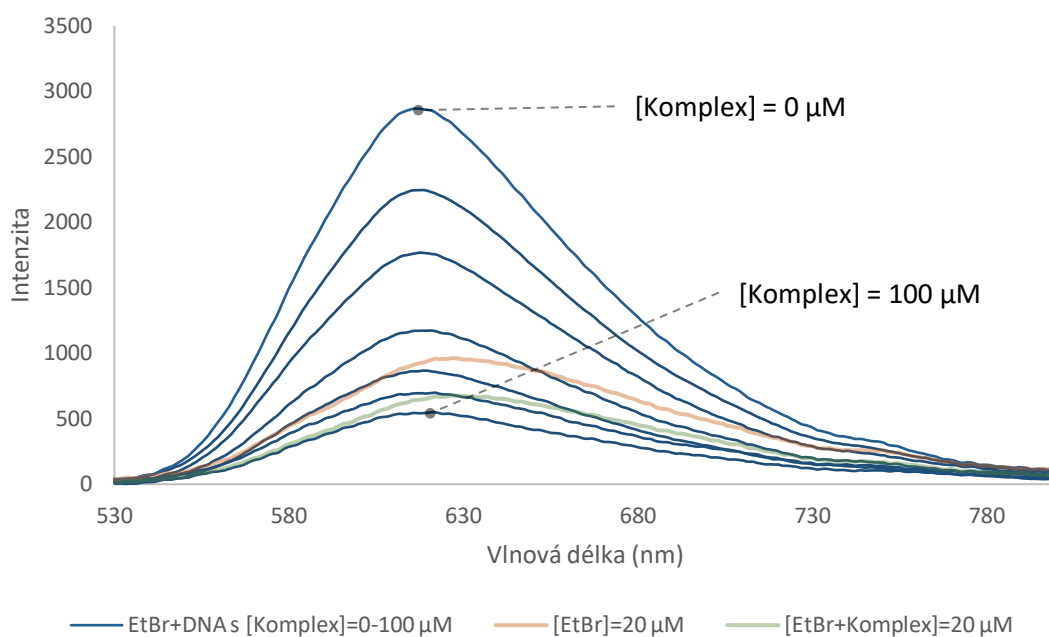
4.3.6 Zhášení fluorescence ethidium bromidu

Za účelem zjištění, zdali se komplexy PH1, PH2 a PH4 váží na DNA, byly provedeny testy na vytěsnění interkalátoru ethidium bromidu z DNA. Obecně se interkalátory vmezeřují podélně mezi báze DNA za pomoci π - π interakcí a blokují tak interakci řady proteinů s DNA. Tohoto využívá například cytostatikum doxorubicin, avšak tato interakce může ovlivnit i zdravé buňky a ethidium bromid je tak považován za mutagen.

Ethidium bromid (EtBr) je také zároveň fluorescenční činidlo, jehož fluorescence se zvyšuje více než 20násobně po interkalaci do DNA. Tohoto se využívá například pro detekci DNA při gelové elektroforéze, nebo právě při odhalování interkalačních schopností testovaných molekul. Po přidání jiného interkalátoru do roztoku DNA s EtBr by tak mělo dojít k poklesu fluorescence v důsledku vytěsnění EtBr z dvoušroubovice testovanou molekulou. Fluorescenční maximum je také nepatrně posunuto pro komplex DNA-EtBr oproti volnému EtBr a mělo by tak potvrdit, že se jedná skutečně o vytěsnění a ne zhášení jiným mechanismem. Pro kovové ionty a potažmo jejich komplexy je však situace složitější a mohou samy způsobovat zhášení, přestože k žádnému vytěsnění EtBr nedochází. S. J. Atherton a kol. [86] navrhli, že se kovové ionty, jako např. Cu^{2+} , vážou na fosfátové skupiny DNA, čímž se dostanou do blízkosti (zhruba 1 nm) interkalovaného EtBr. Následný elektronový transfer z excitované molekuly EtBr na kovový iont pak nejspíše způsobí zhašení.

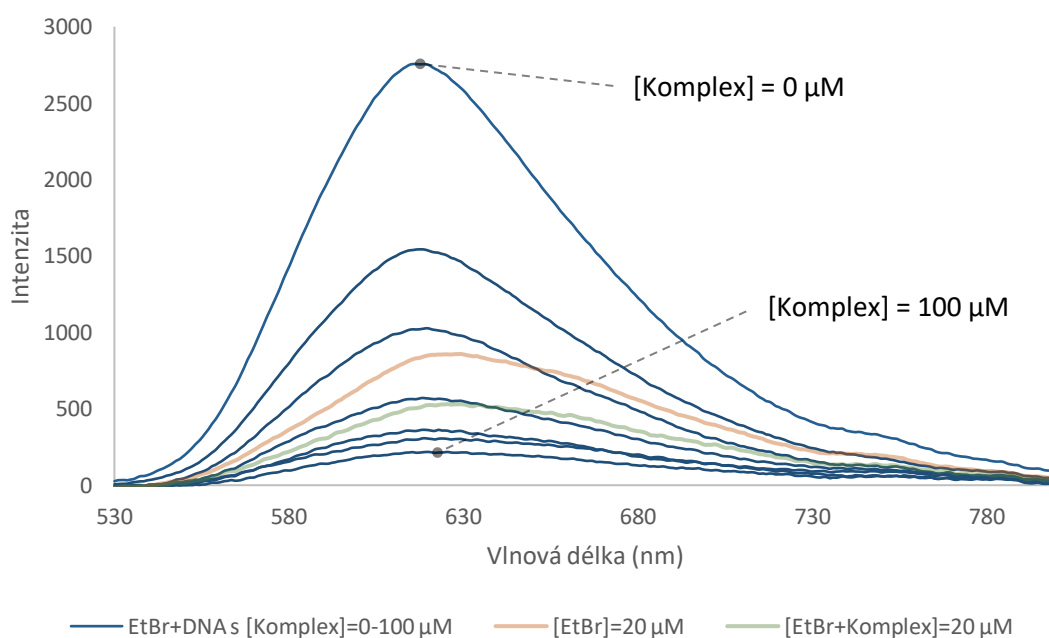
Veškeré roztoky byly připraveny z TRIS/NaCl pufru o $\text{pH}=7,2$. 2 ml 1,95 mM roztoku DNA byly inkubovány 30 minut s 2 ml 0,6 mM roztoku EtBr. Následně bylo 200 μl tohoto roztoku smícháno s 0, 200, 400, 800, 1200, 1600 a 2000 μl 150 μM roztoku komplexu a doplněno pufrům do 3 ml. Po 15minutové inkubaci byla změřena fluorescenční spektra. Výsledné koncentrace odpovídají 65 μM DNA, 20 μM EtBr a 10, 20, 40, 60, 80 a 100 μM komplexu. Komplex PH3 nebyl testován kvůli své nestabilitě ve vodných roztocích.

Fluorescenční spektrum komplexu PH1



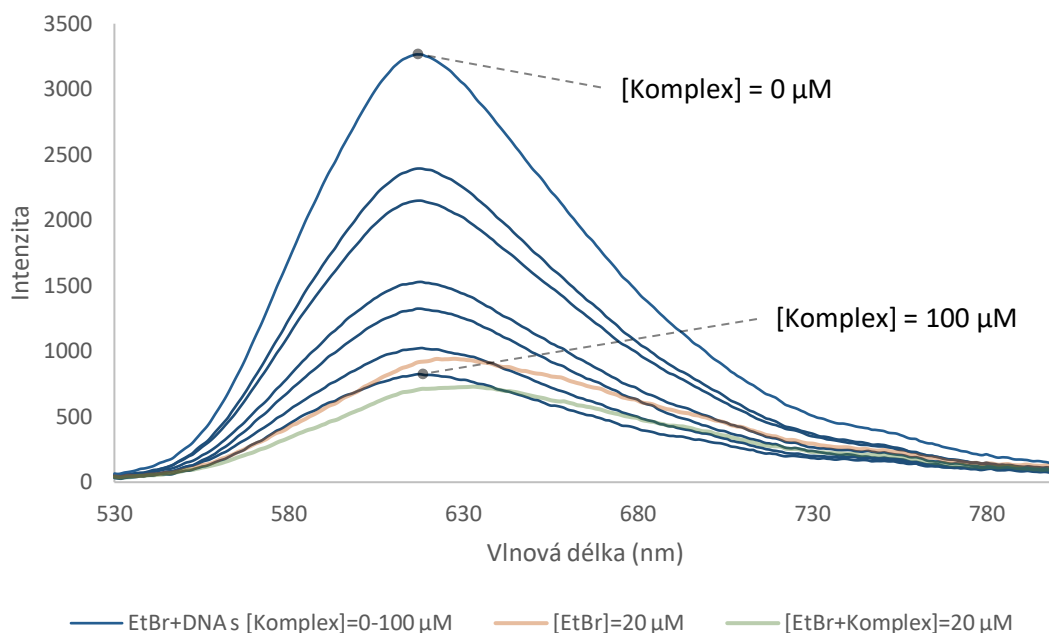
Obrázek 36: Zhášení fluorescence interkalovaného EtBr v DNA komplexem PH1; modrá – úbytek fluorescence s rostoucí koncentrací komplexu (0, 10, 20, 40, 60, 80 a 100 μM), oranžová – čistý EtBr, zelená – zhášení fluorescence EtBr v přítomnosti komplexu.

Fluorescenční spektrum komplexu PH2



Obrázek 37: Zhášení fluorescence interkalovaného EtBr v DNA komplexem PH2; modrá – úbytek fluorescence s rostoucí koncentrací komplexu (0, 10, 20, 40, 60, 80 a 100 μM), oranžová – čistý EtBr, zelená – zhášení fluorescence EtBr v přítomnosti komplexu.

Fluorescenční spektrum komplexu PH4



Obrázek 38: Zhášení fluorescence interkalovaného EtBr v DNA komplexem PH4; modrá – úbytek fluorescence s rostoucí koncentrací komplexu (0, 10, 20, 40, 60, 80 a 100 μM), oranžová – čistý EtBr, zelená – zhášení fluorescence EtBr v přítomnosti komplexu.

Závěr měření fluorescenční spektroskopie

Z měření se dá usoudit, že k interkalaci nejspíše nedochází – přestože dochází k úbytku fluorescence s rostoucí koncentrací komplexu, jsou emisní maxima stále stejná a posunuta k vyšším energiím oproti volnému EtBr, jak je možné vidět ze spekter. Dále by při vytěsnění nemělo docházet k poklesu intenzity fluorescence pod úroveň volného EtBr. V případě vytěsnění veškerého EtBr testovanou látkou by tedy spektrum mělo odpovídat volnému EtBr. Pokles intenzity je tedy nejspíše způsoben přítomností komplexních iontů, které se pravděpodobně vážou neinterkalačně na fosfátové skupiny DNA. To je podpořeno i měřením roztoku volného EtBr s komplexem v ekvimolárních poměrech, kdy došlo k poklesu intenzity beze změny emisního maxima.

4.4 Příprava měďnatých komplexů s ligandy HL¹, HL² a HL³

4.4.1 Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{L}^1]\text{ClO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot 2\text{DMF}$ (PH5)

Ve vialce bylo rozpuštěno 42,7 mg (0,115 mmol) $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ v 5 ml DMF spolu s 45,6 mg (0,23 mmol) 1,10-fenanthrolinu monohydrátu. Následně bylo do tohoto roztoku přisypáno 25 mg (0,115 mmol) 2-(tetrazol-5-yl)indolu (**HL¹**). Po rozpuštění ligandu bylo do roztoku přidáno 115 μl 1M roztoku NaOH na deprotonizaci ligandu.

Roztok byl následně napařován diethyletherem za vzniku zelených krystalů. Vhodné krystaly byly vybrány do oleje na rentgenostrukturní analýzu a zbytek byl odsát, promyt diethyletherem a vysušen v exsikátoru. Výtěžek: 56,8 mg (56 %).

Elementární analýza pro $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{L}^1]\text{ClO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot 2\text{DMF}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{39}\text{H}_{38}\text{ClCuN}_{11}\text{O}_7$: C, 53.7 %; H, 4.4 %; N, 17.7 %; Nalezeno: C, 53.6 %; H, 4.2 %; N, 17.3 %.

FTIR (cm^{-1}): 427w, 521w, 620m, 660w, 721m, 755w, 847m, 1084s, 1145w, 1193w, 1223w, 1254w, 1308w, 1339w, 1362w, 1387w, 1424m, 1496w, 1518m, 1585w, 1604w, 1655s, 2924w, 3159w, 3380w.

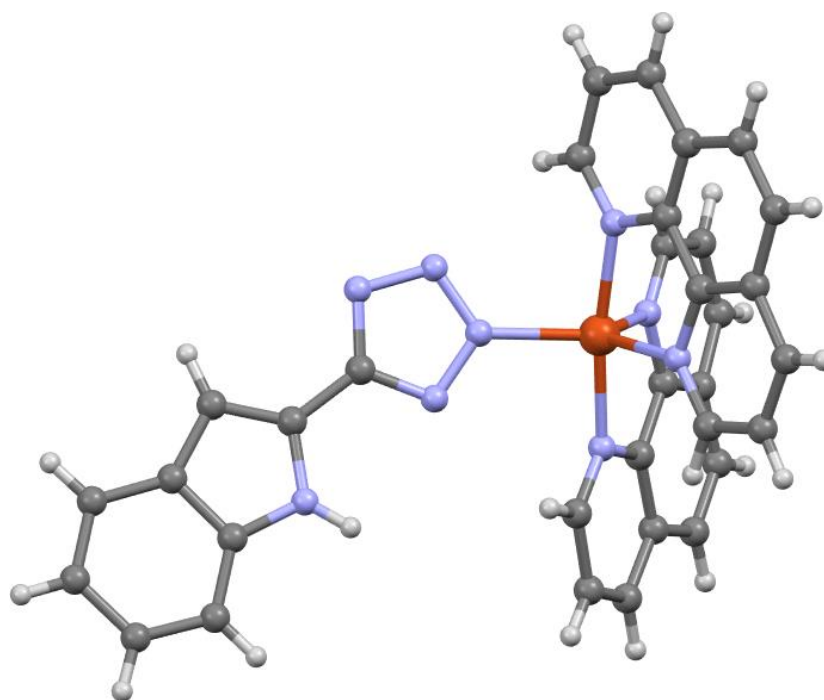
Rentgenostrukturní analýza

Pro tento typ krystalu byla určena prostorová grupa P-1 s parametry základní buňky $a = 8.7021(3) \text{ \AA}$, $b = 14.9324(4) \text{ \AA}$ a $c = 15.1651(4) \text{ \AA}$. Krystalografická soustava je triklinická s úhly základní buňky $\alpha = 93.247(2)^\circ$, $\beta = 97.194(2)$ a $\gamma = 102.134(2)^\circ$.

Z Addisonova parametru:

$$\tau = \frac{\beta - \alpha}{60^\circ} = \frac{171,7^\circ - 122,0^\circ}{60^\circ} = 0,83$$

se dá usoudit, že koordinační polyedr zaujímá tvar deformované trigonální bipyramidy, kde donorové atomy poskytují dva 1,10-fenanthroliny a jeden 2-(tetrazol-5-yl)indol. Chloristanový aniont, molekuly vody a DMF se nacházejí ve vnější koordinační sféře. Vzdálenosti 4 atomů dusíku, náležící 1,10-fenanthrolinům, od atomu mědi jsou 2.004, 2.045, 2.107 a 2.091 Å. Vzdálenost jediného nakoordinovaného atomu dusíku 2-(tetrazol-5-yl)indolu od atomu mědi je 2.045 Å.



Obrázek 39: Struktura komplexního kationtů komplexu PH5; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, N – modrá.

4.4.2 Příprava a charakterizace komplexu $[Cu(phen)_2(L^1)_2] \cdot EtOH$ (PH6)

Ve vialce bylo rozpuštěno 46,0 mg (0,23 mmol) $Cu(OAc)_2 \cdot H_2O$ v 10 ml ethanolu spolu s 91,2 mg (0,46 mmol) 1,10-fenanthrolinu monohydrátu. Po úplném rozpuštění reaktantů bylo do roztoku přisypáno 50 mg (0,23 mmol) 2-(tetrazol-5-yl)indolu (HL^1). Po rozpuštění ligandu byl roztok ponechán pomalu odpařovat za tvorby zelených krystalů vhodných pro rentgenostrukturní analýzu. Ty byly odsáty, promyty diethyletherem a vysušeny v exsikátoru. Výtěžek: 67 mg (35 %).

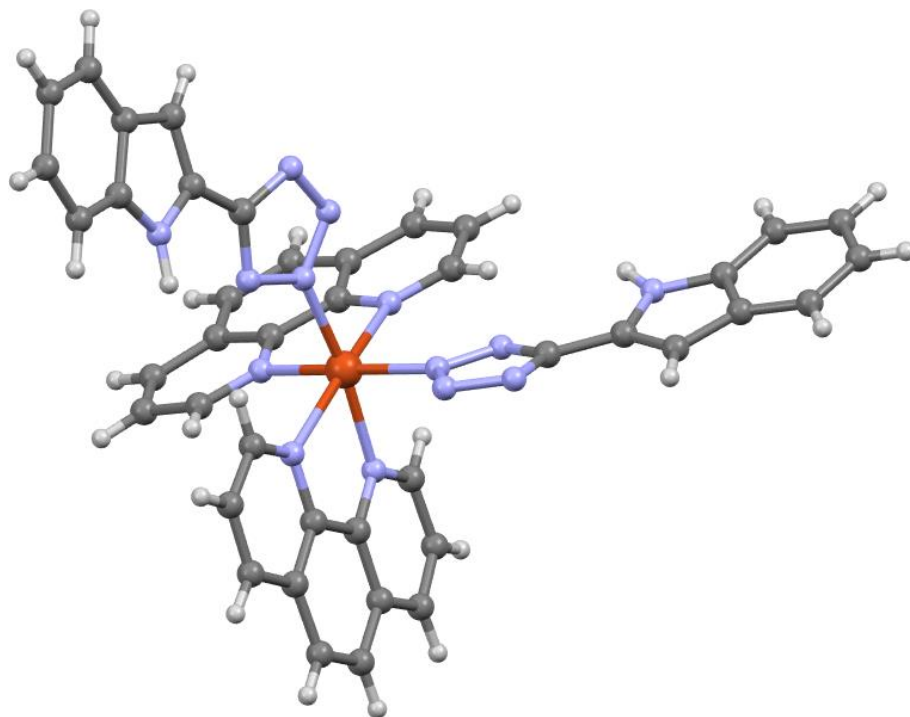
Elementární analýza pro $[Cu(phen)_2(L^1)_2] \cdot EtOH$ se sumárním vzorcem $C_{44}H_{34}CuN_{14}O$: C, 63.0 %; H, 4.1 %; N, 23.4 %; Nalezeno: C, 62.6 %; H, 3.8 %; N, 23.1 %.

FTIR (cm^{-1}): 419w, 446w, 520w, 582w, 662w, 723s, 750m, 808w, 840m, 863w, 930w, 1035w, 1100w, 1143w, 1222w, 1306w, 1335s, 1363w, 1409m, 1423m, 1496w, 1514w, 1590w, 1625w, 3057w, 3345m.

Rentgenostrukturní analýza

Pro tento typ krystalu byla určena prostorová grupa P-1 s parametry základní buňky $a = 11.9157(5)$ Å, $b = 13.0812(6)$ Å a $c = 13.3817(7)$ Å. Krystalografická soustava je triklinická s úhly základní buňky $\alpha = 68.410(5)^\circ$, $\beta = 71.957(4)$ a $\gamma = 89.768(4)^\circ$.

Na rozdíl od komplexu PH5 se v tomto případě jedná o oktaedrický komplex, kde ve vrcholech vystupují 4 atomy dusíku náležící dvěma 1,10-fenanthrolinům a 2 atomy dusíku patřícím dvěma 2-(tetrazol-5-yl)indolům. Meziatomové vzdálenosti $N_{\text{phen}}\text{-Cu}$ jsou 2.077, 2.057, 2.362 a 2.354 Å. Ze zvětšených vzdáleností $N_{\text{phen}}\text{-Cu}$ v axiálních polohách je jasné, že dochází k Jahn-Tellerovské distorzi. Vzdálenosti $N_{\text{L}^1}\text{-Cu}$ jsou pak 2.015 a 2.053 Å. Ve vnější koordinační sféře se nachází jedna molekula ethanolu.



Obrázek 40: Struktura komplexní částice komplexu PH6; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, N – modrá.

4.4.3 Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{L}^2]\text{ClO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ (PH7)

Ve vialce bylo rozpuštěno 38,3 mg (0,103 mmol) $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ v 5 ml DMF spolu s 40,9 mg (0,206 mmol) 1,10-fenanthrolinu monohydrátu. Následně bylo do roztoku přisypáno 25 mg (0,103 mmol) 1-methyl-*N*-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamidu (**HL**²). Dále bylo do roztoku přidáno 100 μl 1M roztoku NaOH na deprotonizaci ligandu. Tento roztok byl následně napařován diethyletherem za vzniku zelených krystalů, vhodných pro rentgenostrukturní analýzu. Krystaly byly odsáty, promyty diethyletherem a vysušeny v exsikátoru. Bohužel krystalovou strukturu se kvůli komplikacím nepodařilo úplně dořešit, avšak z předběžného řešení je možné ve struktuře vidět částici $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{L}^2]\text{ClO}_4$, kde se L^2 váže bidentátně přes N2 dusík tetrazolu a kyslík karboxylu, obdobně jako u komplexu PH8.

Výtěžek: 61 mg (76 %).

Elementární analýza pro $[\text{Cu}(\text{phen})_2\text{L}^2]\text{ClO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{35}\text{H}_{27}\text{ClCuN}_{10}\text{O}_6$: C, 53.7 %; H, 3.5 %; N, 17.9 %; Nalezeno: C, 54.1 %; H, 3.1 %; N, 17.6 %.

FTIR (cm^{-1}): 425w, 620m, 721s, 744w, 770w, 845m, 1075s, 1146w, 1227w, 1263w, 1342w, 1359w, 1376w, 1399w, 1427m, 1461w, 1496w, 1519w, 1648m, 2885w, 3056w, 3119w.

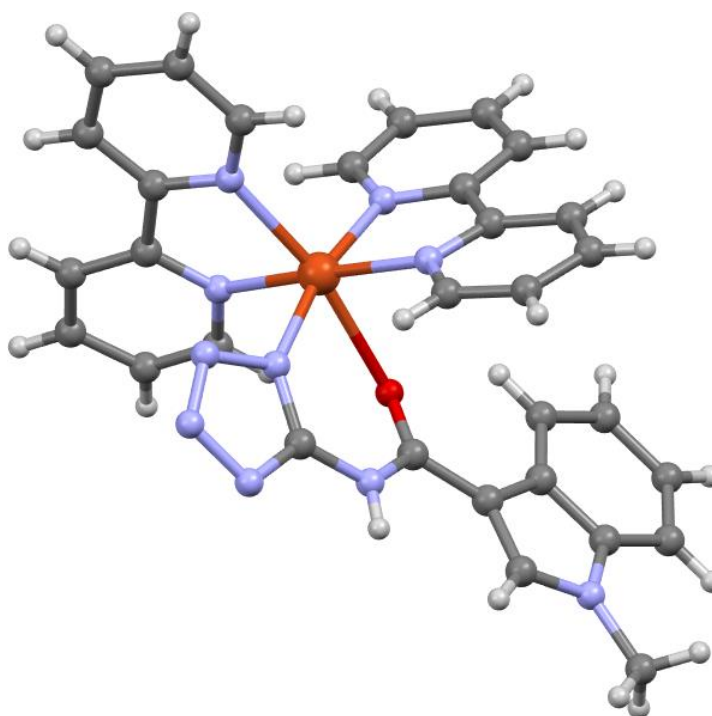
4.4.4 Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Cu}(\text{bpy})_2\text{L}^2]\text{ClO}_4\text{DMF}$ (PH8)

Ve vialce bylo rozpuštěno 38,3 mg (0,103 mmol) $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ v 5 ml DMF spolu s 32,2 mg (0,206 mmol) 2,2'-bipyridinu. Následně bylo do roztoku přisypáno 25 mg (0,103 mmol) 1-methyl-*N*-(tetrazol-5-yl)-indol-3-karboxamidu (**HL**²). Dále bylo do roztoku přidáno 100 μl 1M roztoku NaOH na deprotonizaci ligandu. Roztok byl následně napařován diethyletherem za tvorby bílo-zelené želatinovité sraženiny polymerního charakteru, v níž bylo nalezeno několik zelených monokrystalů, které byly vybrány do oleje. Bohužel se nepodařilo ani v dalších pokusech připravit významné množství těchto zelených krystalů a jedinou charakterizací je tedy rentgenostrukturní analýza. Jedná se o stejný strukturní motiv jako v komplexu PH7.

Rentgenostrukturní analýza

Pro tento typ krystalu byla určena prostorová grupa P-1 s parametry základní buňky $a = 8.4893(2)$ Å, $b = 14.5868(4)$ Å a $c = 15.0993(4)$ Å. Krystalografická soustava je triklinická s úhly základní buňky $\alpha = 103.864(2)^\circ$, $\beta = 97.269(2)$ a $\gamma = 103.315(2)^\circ$.

Jedná se o oktaedrický komplex, kde dva 2,2'-bipyridiny poskytují 4 donorové atomy dusíku. Ligand L^2 se váže chelátově dusíkem N2 tetrazolu a kyslíkem karboxylu. Meziatomové vzdálenosti $\text{N}_{\text{bpy}}\text{-Cu}$ jsou 2.033, 2.032, 2.029 a 2.219 Å. Dále pak vzdálenosti mezi L^2 a Cu jsou pro dusík 2.000 Å a pro kyslík 2.387 Å. Z evidentního prodloužení vazeb v axiálních polohách je zřejmé, že dochází k Jahn-Tellerovské distorzi. Ve vnější koordinační sféře se pak nachází chloristanový aniont a jedna molekula DMF.



Obrázek 41: Struktura komplexního kationtu komplexu PH8; C – šedá, H – bílá, Cu – oranžová, O – červená, N – modrá.

4.4.5 Příprava a charakterizace komplexu $[Cu(phen)L^3]Cl \cdot 1,5H_2O$ (PH9)

Ve vialce bylo rozpuštěno 16,9 mg (0,1 mmol) $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ v 5 ml methanolu spolu s 19,6 mg (0,1 mmol) 1,10-fenanthrolinu monohydrátu. Vzniklá sraženina byla rozpuštěna přidáním několika mililitrů destilované vody. Do této směsi byl následně přilít roztok 25 mg (0,1 mmol) 3-(2-(tetrazol-5-yl)hydrazon)indol-2,3-dionu (**HL³**) v 5 ml směsi methanol:voda v poměru 1:1, který byl předem zneutralizován 100 μ l 1M roztoku NaOH. Okamžitě vznikla žlutá sraženina a suspenze byla dále míchána přes noc. Žlutý produkt byl odsát a promyt vodou, methanolem a diethyletherem a vysušen v exsikátoru. Výtěžek: 28 mg (52 %).

Elementární analýza pro $[Cu(phen)L^3]Cl \cdot 1,5H_2O$ se sumárním vzorcem $C_{21}H_{17}ClCuN_9O_{2,5}$: C, 47.1 %; H, 3.4 %; N, 23.5 %; Nalezeno: C, 46.9 %; H, 3.0 %; N, 23.9 %.

FTIR (cm^{-1}): 503w, 585w, 649w, 722m, 742w, 783w, 845w, 1016w, 1115w, 1157w, 1194m, 1342m, 1427m, 1466w, 1504w, 1520w, 1561s, 1620w, 1710m, 2885w, 3093w, 3193w.

4.5 Příprava kobaltitých komplexů s ligandy HL¹, HL² a HL³

4.5.1 Obecný postup přípravy výchozích komplexů typu [Co^{III}(salept)]Br

Jako polydentátní ligand byla zvolena Schiffova báze, vzniklá kondenzací asymetrického *N*-(2-aminoethyl)-propan-1,3-diaminu s dvěma ekvivalenty derivátu salicylaldehydu. Tento pentadentátní ligand navázaný na dvojmocný kobalt způsobuje v přítomnosti kyslíku jeho okamžitou oxidaci na kobalt trojmocný. Chlorido komplexy tohoto typu již byly připraveny L. Pogánym a kol. a postup přípravy byl s modifikacemi přebrán z jejich publikace. [87] Pro maximalizaci rozpustnosti výsledných komplexů ve vodě byly zvoleny deriváty salicylaldehydu obsahující hydroxy a methoxy skupiny.

4 milimoly derivátu salicylaldehydu byly přidány do roztoku 234 mg (2 mmol) *N*-(2-aminoethyl)-propan-1,3-diaminu ve 20 ml methanolu. Roztok byl zahřát k varu a míchán 15 minut. Následně byl do něj přilít roztok 653 mg (2 mmol) CoBr₂·6H₂O v 10 ml methanolu. Pro neutralizaci vzniklé kyseliny bylo do roztoku přidáno 275 μl (2 mmol) triethylaminu. Tato směs byla míchána za pokojové teploty přes noc. Roztok byl následně zahuštěn, dokud v baňce nezbyla hustá suspenze. Směs se nesmí odpařit do sucha, jelikož by bylo obtížné zbavit se vzniklého triethylamonium bromidu. Následně bylo do této suspenze nalito 20 ml 2-propanolu. Směs byla sonikována na ultrazvuku 10 minut a vzniklá hnědočerná sraženina byla odsáta, promyta propanolem, diethyletherem a vysušena v exsikátoru.

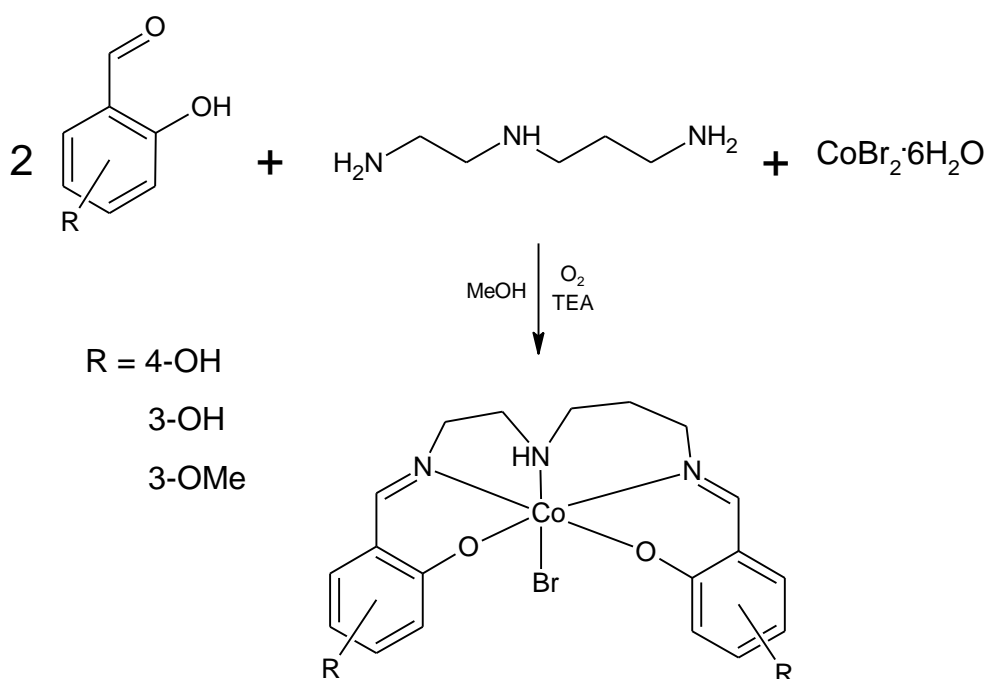


Schéma 10: Příprava výchozích [Co^{III}(salept)]Br komplexů.

4.5.2 Charakterizace komplexu PH10 [Co(4-OH-salept)]Br·3H₂O

Výtěžek: 608 mg (55 %).

Elementární analýza pro [Co(4-OH-salept)]Br·3H₂O se sumárním vzorcem C₁₉H₂₇BrCoN₃O₇: C, 41.6 %; H, 5.0 %; N, 7.7 %; Nalezeno: C, 41.4 %; H, 5.2 %; N, 7.6 %.

FTIR (cm⁻¹): 467w, 581w, 647w, 756w, 794w, 843w, 985w, 1056w, 1124m, 1168m, 1224s, 1323w, 1388w, 1442s, 1483w, 1538s, 1600s, 2679w, 2939w, 2975w, 3133w.

ESI+MS (*m/z*): 414.10 [Co(4-OH-salept)]⁺.

4.5.3 Charakterizace komplexu PH11 [Co(3-OH-salept)]Br·H₂O

Výtěžek: 677 mg (66 %).

Elementární analýza pro [Co(3-OH-salept)]Br·H₂O se sumárním vzorcem C₁₉H₂₃BrCoN₃O₅: C, 44.6 %; H, 4.5 %; N, 8.2 %; Nalezeno: C, 44.3 %; H, 4.4 %; N, 8.2 %.

FTIR (cm⁻¹): 355w, 395w, 501w, 527w, 563w, 621w, 737s, 789w, 826w, 863m, 890w, 963w, 1021w, 1061m, 1085w, 1170m, 1237s, 1271w, 1301m, 1387w, 1414w, 1451s, 1480w, 1556w, 1629s, 1642s, 2866w, 2937w, 3058w, 3240m, 3384m, 3437w.

ESI+MS (*m/z*): 414.07 [Co(3-OH-salept)]⁺.

4.5.4 Charakterizace komplexu PH12 [Co(3-OMe-salept)]Br·2H₂O

Výtěžek: 854 mg (76 %).

Elementární analýza pro [Co(3-OMe-salept)]Br·2H₂O se sumárním vzorcem C₂₁H₂₉BrCoN₃O₆: C, 45.2 %; H, 5.2 %; N, 7.5 %; Nalezeno: C, 45.3 %; H, 5.5 %; N, 7.5 %.

FTIR (cm⁻¹): 375w, 416w, 446w, 464w, 515w, 559w, 628w, 746s, 782w, 826w, 863m, 894w, 964w, 1003w, 1018w, 1036w, 1057w, 1083w, 1102w, 1167w, 1184w, 1226s, 1240s, 1310s, 1347w, 1395m, 1429s, 1469m, 1545m, 1595m, 1622m, 1650m, 2829w, 2867w, 2907w, 2935w, 3051w, 3127w, 3362w.

ESI+MS (*m/z*): 442.06 [Co(3-OMe-salept)]⁺.

4.5.5 Obecný postup přípravy komplexů typu $[Co(salept)L^{1-3}]$

V kádince bylo rozpuštěno 25 mg ligandu HL¹⁻³ v 10 ml směsi methanol:voda (1:1) spolu s ekvimolárním množstvím 1M roztoku NaOH pro vytvoření soli ligandu. Tento roztok byl následně přilít k roztoku ekvimolárního množství výchozího kobaltitého komplexu v 20 ml směsi methanol:voda (1:1). Prakticky okamžitě se vytvořila sraženina. Tato suspenze byla nadále míchána přes noc a následně zfiltrována, promyta vodou a vysušena v exsikátoru.

Pokusy o vytvoření monokrystalu byly provedeny, avšak napařování roztoků komplexů v DMF nebo methanolu diethyletherem vždy vedlo k práškovité sraženině. Obecně byly komplexy s 4-OH a 3-OH saleptovými ligandy obtížné na přípravu v čisté podobě, pravděpodobně kvůli různým dimerizačním a polymerizačním reakcím, způsobenými přítomností volných –OH skupin a mírně zásaditého prostředí roztoku deprotonovaného ligandu. Reakce tudíž musela být ve většině případů opakována několikrát. Z tohoto důvodu byly vybrány pro měření cyklické voltametrie pouze komplexy s 3-OMe saleptovým ligandem, jenž by neměly těmito nechtěným reakcím podléhat.

4.5.6 Charakterizace komplexu PH13 $[Co(4-OH-salept)L^1] \cdot 2,5H_2O$

Výtěžek: 22 mg (30 %).

Elementární analýza pro $[Co(4-OH-salept)L^1] \cdot 2,5H_2O$ se sumárním vzorcem C₂₈H₃₂CoN₈O_{6,5}: C, 52.3 %; H, 5.0 %; N, 17.4 %; Nalezeno: C, 52.1 %; H, 4.6 %; N, 17.6 %.

FTIR (cm⁻¹): 446w, 584w, 608w, 657w, 748m, 790w, 844w, 985w, 1055w, 1124m, 1173m, 1225s, 1338m, 1443m, 1540s, 1605s, 2874w, 2932w, 3210w.

4.5.7 Charakterizace komplexu PH14 $[Co(3-OH-salept)L^1] \cdot 2H_2O$

Výtěžek: 56 mg (77 %).

Elementární analýza pro $[Co(3-OH-salept)L^1] \cdot 2H_2O$ se sumárním vzorcem C₂₈H₃₁CoN₈O₆: C, 53.0 %; H, 4.9 %; N, 17.7 %; Nalezeno: C, 53.3 %; H, 4.6 %; N, 17.6 %.

FTIR (cm⁻¹): 443w, 546w, 582w, 625w, 738m, 803w, 864w, 1027w, 1055w, 1086w, 1234s, 1308m, 1335w, 1384w, 1451s, 1555w, 1624s, 2873w, 2932w, 3058w, 3210w, 3396w.

4.5.8 Charakterizace komplexu PH15 [Co(3-OMe-salept)L¹] \cdot 2H₂O

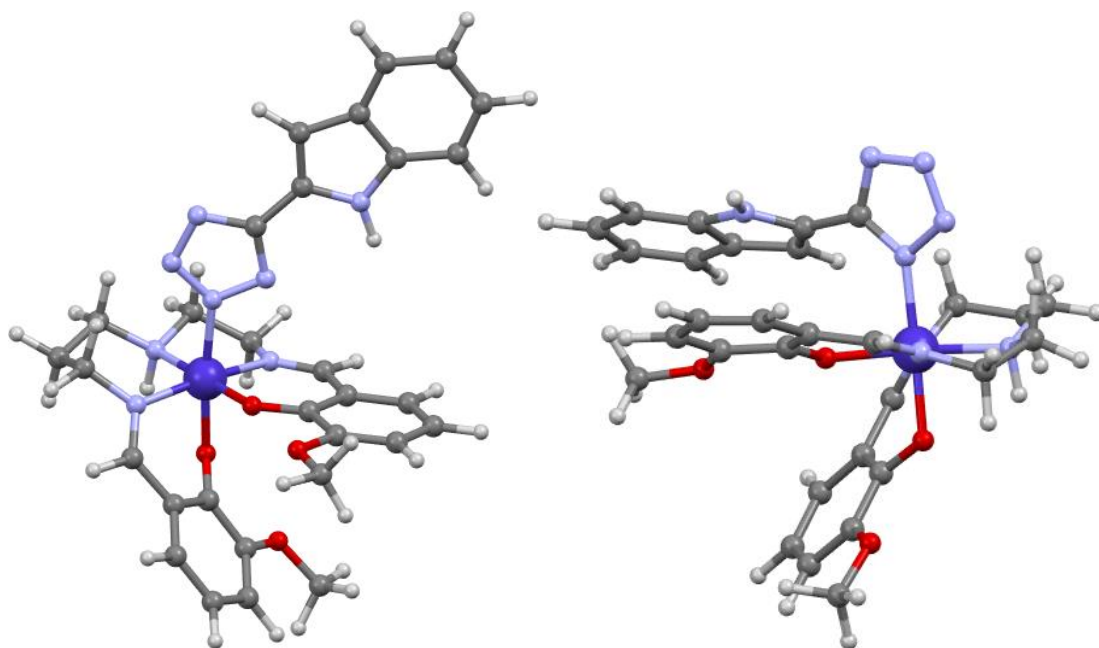
Výtěžek: 52 mg (68 %).

Elementární analýza pro [Co(3-OMe-salept)L¹] \cdot 2H₂O se sumárním vzorcem C₃₀H₃₅CoN₈O₆: C, 54.4 %; H, 5.3 %; N, 16.9 %; Nalezeno: C, 54.8 %; H, 4.9 %; N, 17.0 %.

FTIR (cm⁻¹): 444w, 581w, 623w, 736m, 802w, 859w, 959w, 1046m, 1081m, 1168w, 1224s, 1243s, 1307m, 1338m, 1437s, 1470m, 1550w, 1600m, 1620m, 1643m

DFT výpočet optimalizace struktury

Jelikož se nepodařilo vypěstovat monokrystal žádného z kobaltitých komplexů, byly alespoň provedeny teoretické výpočty za účelem zjištění způsobu koordinace L¹. Výchozí struktura byla použita z krystalografických dat Pogányho a kol. a dále modifikována o ligand L¹. [87] Výpočty byly provedeny v softwaru ORCA 4.2.1 s funkcionálem elektronové hustoty ω B97X-D3BJ a funkcí CPCM pro simulaci polárního prostředí. Výsledná energie systému s koordinací přes N1 je o 17,6 kJ/mol nižší než přes N2 a je tedy pravděpodobné, že se ligand bude právě přes N1 vázat.



Obrázek 42: Optimalizované struktury komplexu PH15, vazba přes N2 vlevo a přes N1 vpravo; C – šedá, H – bílá, Co – fialová, O – červená, N – modrá.

4.5.9 Charakterizace komplexu PH16 [Co(4-OH-salept)L²] \cdot 3H₂O

Výtěžek: 38 mg (52 %).

Elementární analýza pro $[\text{Co}(4\text{-OH-salept})\text{L}^2]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{CoN}_9\text{O}_8$: C, 50.8 %; H, 5.1 %; N, 17.8 %; Nalezeno: C, 50.1 %; H, 4.5 %; N, 18.4 %.

FTIR (cm^{-1}): 464w, 580w, 608w, 645w, 747m, 844w, 885w, 987w, 1054w, 1098m, 1126m, 1174m, 1227s, 1334w, 1376w, 1442m, 1460m, 1537s, 1605s, 2875w, 2930w, 3056w, 3212w.

4.5.10 Charakterizace komplexu PH17 $[\text{Co}(3\text{-OH-salept})\text{L}^2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Výtěžek: 24 mg (32 %).

Elementární analýza pro $[\text{Co}(3\text{-OH-salept})\text{L}^2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{CoN}_9\text{O}_9$: C, 49.5 %; H, 5.3 %; N, 17.3 %; Nalezeno: C, 48.9 %; H, 4.8 %; N, 17.3 %.

FTIR (cm^{-1}): 428w, 505w, 547w, 625w, 740m, 783w, 865w, 957w, 1056w, 1104w, 1153w, 1235s, 1261w, 1304m, 1381m, 1454s, 1533m, 1624m, 1644m, 2876w, 2935w, 3058e, 3212w, 3045w.

4.5.11 Charakterizace komplexu PH18 $[\text{Co}(3\text{-OMe-salept})\text{L}^2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Výtěžek: 45 mg (61 %).

Elementární analýza pro $[\text{Co}(3\text{-OMe-salept})\text{L}^2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{CoN}_9\text{O}_7$: C, 53.4 %; H, 5.3 %; N, 17.5 %; Nalezeno: C, 52.9 %; H, 4.9 %; N, 17.8 %.

FTIR (cm^{-1}): 373w, 438w, 506w, 567w, 623w, 741m, 781w, 856w, 891w, 948w, 967w, 1024w, 1053w, 1087m, 1125w, 1154w, 1172w, 1196w, 1224s, 1242s, 1295m, 1373w, 1387w, 1439m, 1463m, 1502w, 1532w, 1550w, 1600w, 1618m, 1654m, 2829w, 2924w, 2989w, 3053w, 3101w, 3217w, 3245w.

4.5.12 Charakterizace komplexu PH19 $[\text{Co}(4\text{-OH-salept})\text{L}^3]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Výtěžek: 35 mg (46 %).

Elementární analýza pro $[\text{Co}(4\text{-OH-salept})\text{L}^3]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{CoN}_{10}\text{O}_8$: C, 48.3 %; H, 4.8 %; N, 20.1 %; Nalezeno: C, 47.7 %; H, 4.4 %; N, 20.2 %.

FTIR (cm^{-1}): 497w, 585w, 664w, 749w, 785w, 847w, 988w, 1055w, 1123m, 1166w, 1198w, 1227m, 1337w, 1445m, 1542s, 1614s, 1698w, 2874w, 2936w, 3211w.

4.5.13 Charakterizace komplexu PH20 [Co(3-OH-salept)L³] \cdot 3H₂O

Výtěžek: 36 mg (47 %).

Elementární analýza pro [Co(3-OH-salept)L³] \cdot 3H₂O se sumárním vzorcem C₂₈H₃₃CoN₁₀O₈: C, 48.3 %; H, 4.8 %; N, 20.1 %; Nalezeno: C, 47.9 %; H, 4.4 %; N, 19.2 %.

FTIR (cm⁻¹): 497w, 546w, 587w, 624w, 741m, 789w, 863w, 888w, 987w, 1087w, 1164w, 1197w, 1234m, 1303w, 1338w, 1384w, 1452s, 1553s, 1620s, 1689m, 2873w, 2937w, 3211w, 3384w.

4.5.14 Charakterizace komplexu PH21 [Co(3-OMe-salept)L³] \cdot 2,5H₂O

Výtěžek: 50 mg (64 %).

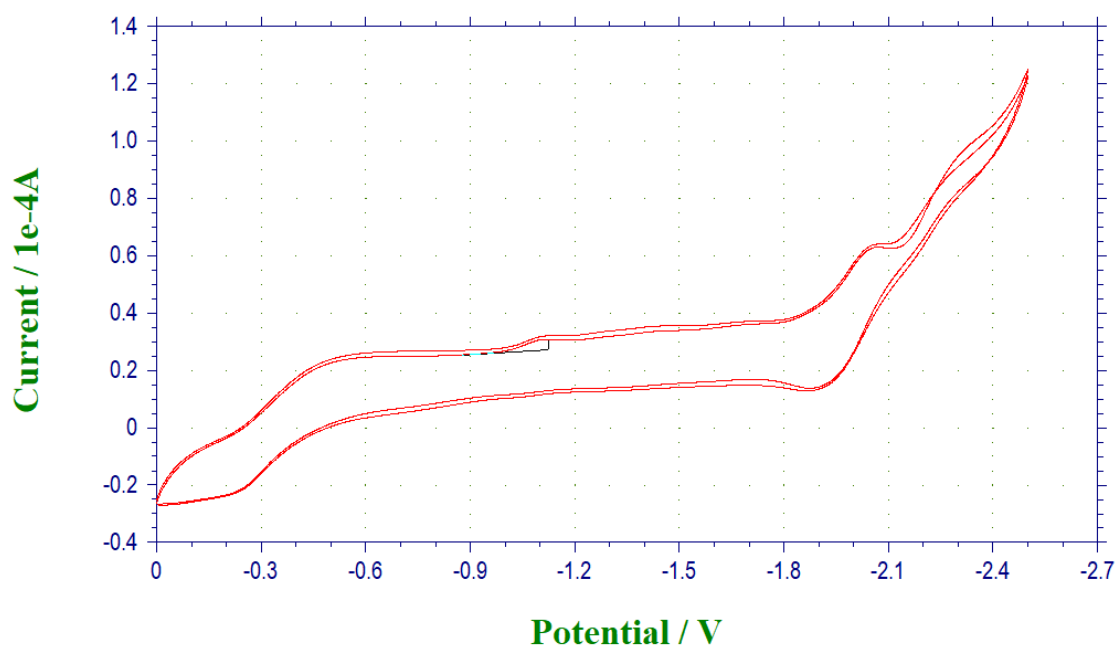
Elementární analýza pro [Co(3-OMe-salept)L³] \cdot 2,5H₂O se sumárním vzorcem C₃₀H₃₆CoN₁₀O_{7,5}: C, 50.4 %; H, 5.1 %; N, 19.6 %; Nalezeno: C, 50.3 %; H, 4.8 %; N, 19.6 %.

FTIR (cm⁻¹): 440w, 494w, 547w, 584w, 623w, 741m, 786w, 853w, 887w, 984w, 1052w, 1085m, 1162m, 1197m, 1224s, 1243s, 1303m, 1390w, 1438s, 1464m, 1540s, 1600m, 1619m, 1651w, 1696m, 2827w, 2874w, 2933w, 3059w, 3195w.

4.5.15 Měření cyklické voltametrie komplexů PH12, PH15, PH18 a PH21

Hodnoty půlvlnových potenciálů ($E_{1/2}$) byly upraveny podle naměřené hodnoty $E_{1/2}$ pro ferocen, jehož standardní $E_{1/2}$ se rovná 0,40 V. Všechna měření byla provedena v 0,1M roztoku chloristanu tetrabutylamonného v acetonitrilu s rychlostí skenování 200 mV/s. Zobrazena je část voltamogramu se zápornými potenciály, jelikož v kladné části nedocházelo k viditelným elektrochemickým dějům.

Výchozí komplex PH12

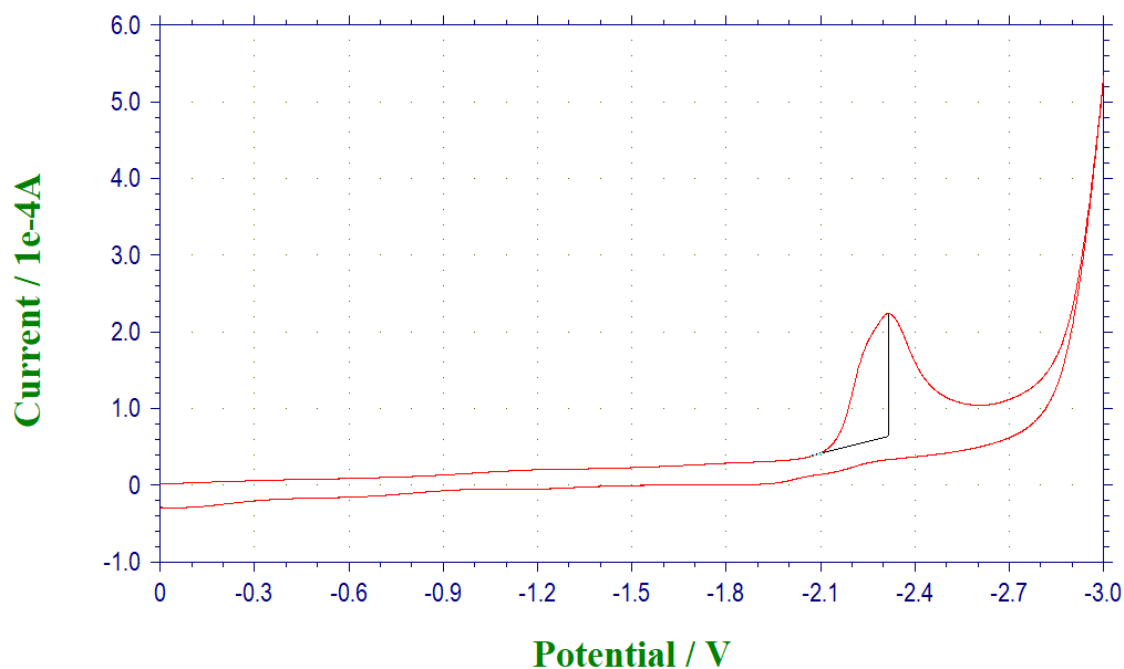


Obrázek 43: CV měření komplexu PH12.

$$E_{1/2}(\text{Co}^{\text{III}}/\text{Co}^{\text{II}}) = -0,43 \text{ V.}$$

$$E_{1/2}(\text{Co}^{\text{II}}/\text{Co}^{\text{I}}) = -2,04 \text{ V.}$$

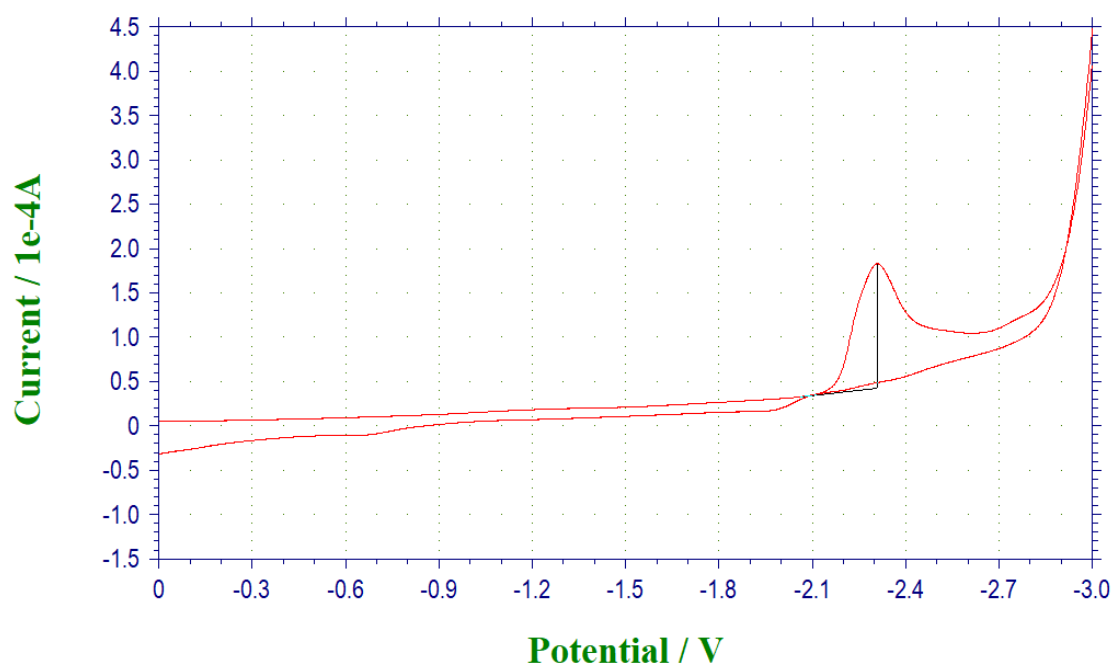
Komplex PH15



Obrázek 44: CV měření komplexu PH15.

$$E_{1/2}(\text{Co}^{\text{II}}/\text{Co}^{\text{I}}) = -2,37 \text{ V.}$$

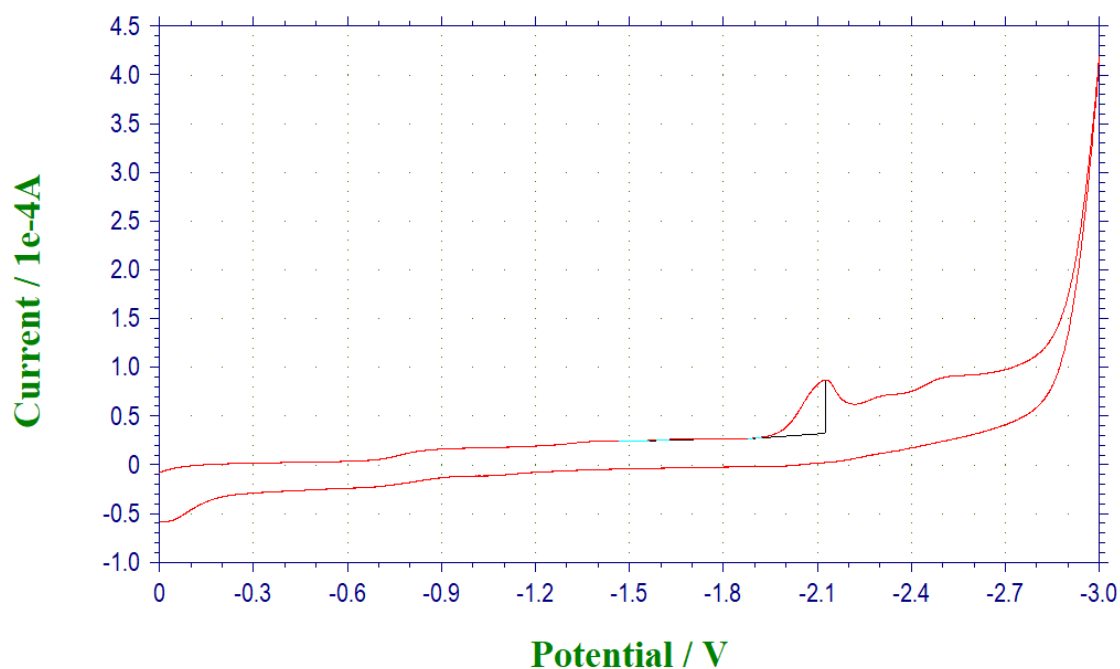
Komplex PH18



Obrázek 45: CV měření komplexu PH18.

$$E_{1/2}(\text{Co}^{\text{II}}/\text{Co}^{\text{I}}) = -2,36 \text{ V.}$$

Komplex PH21



Obrázek 46: CV měření komplexu PH21.

$$E_{1/2}(\text{Co}^{\text{II}}/\text{Co}^{\text{I}}) = -2,18 \text{ V.}$$

Závěr měření cyklické voltametrie

Z měření se bohužel nedá usoudit, zdali jsou připravené systémy vhodné pro „drug delivery“ účely. Půlvalnové potenciály výsledných komplexů nejspíše odpovídají redukci $\text{Co}^{\text{II}}/\text{Co}^{\text{I}}$ a redukce $\text{Co}^{\text{III}}/\text{Co}^{\text{II}}$ je pravděpodobně elektrochemicky tichá. Tuto hypotézu potvrzuje měření výchozího komplexu PH12, jehož půlvalnový potenciál redukce $\text{Co}^{\text{III}}/\text{Co}^{\text{II}}$ odpovídal hodnotě $-0,43\text{ V}$ a k redukci $\text{Co}^{\text{II}}/\text{Co}^{\text{I}}$ docházelo až při $-2,04\text{ V}$. Je velice nepravděpodobné, že by nahrazení jednoho donorového atomu vedlo k tak výraznému poklesu redoxního potenciálu. Ke zjištění vhodnosti těchto systémů by se dala uplatnit UV/Vis studie komplexů s NADH. V případě redukce komplexu by pak mělo dojít k úbytku absorbance NADH a vyplývalo by, že se tyto komplexy budou v buňce redukovat a jsou tedy vhodné „drug delivery“ činidla. Jelikož byl půlvalnový potenciál redukce $\text{Co}^{\text{III}}/\text{Co}^{\text{II}}$ výchozího komplexu PH12 tak blízko kýženému rozmezí $-0,2$ až $-0,4\text{ V}$, dá usoudit, že je tento systém vhodný alespoň jako výchozí látka pro přípravu „drug delivery“ komplexů.

4.6 Příprava komplexů 6d kovů s ligandem HL¹

Komplexy se slibnou protinádorovou aktivitou byly připraveny i s těžkými kovy jako platina nebo zlato, jak je možné vidět v kap. 3.2.2 a 3.2.3. Z tohoto důvodu byly na závěr experimentální části vybrány podobné systémy pro syntézu komplexů s ligandem HL¹. Pokusy o přípravu platnatých komplexů z $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ a *cis*- $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$ byly bohužel neúspěšné a nejsou zde uvedeny.

4.6.1 Příprava a charakterizace komplexu $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{L}^1]$ (PH22)

Syntéza byla provedena s modifikacemi dle K. Nomiya [88] a M. Bruce a kol. [89]

Příprava $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$

V 10 ml absolutního ethanolu bylo rozpuštěno 98,5 mg (0,25 mmol) $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ a 131 mg (0,5 mmol) trifenylofosfinu. Tato směs byla míchána 15 minut, během nichž se vysrážel bílý precipitát. Objem byl následně zredukován na polovinu za pomoci plynného dusíku. Sraženina byla odsána, promyta absolutním ethanolom a vysušena v exsikatoru. Výtěžek: 96 mg (78 %).

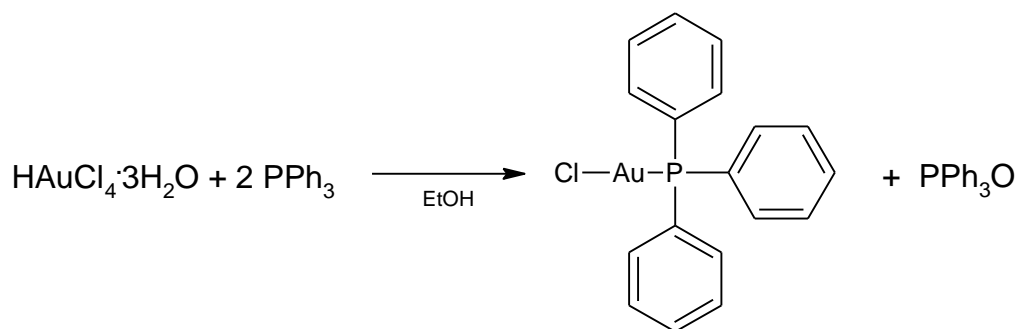


Schéma 11: Příprava $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$.

^1H NMR (400 MHz, aceton- d_6) δ ppm 7.45 - 7.75 (m, 15 H);

^{13}C NMR (100 MHz, aceton- d_6) δ ppm 129.43, 129.56, 132.16, 132.19, 133.99, 134.12;

FTIR (cm^{-1}): 446w, 499s, 544s, 690s, 712m, 746s, 998w, 1026w, 1100s, 1178w, 1311w, 1433s, 1478m, 1585w, 2989w, 3057w.

Příprava $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{L}^1]$

V 10 ml acetonu bylo rozpuštěno 99 mg (0,2 mmol) $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$ s 43,4 mg (0,2 mmol) HL^1 . Následně bylo do roztoku přidáno 200 μl 1M roztoku NaOH a směs byla míchána přes noc za pokojové teploty. Během první hodiny se vysrážel bílý precipitát, obsahující vzniklý NaCl i výsledný komplex. Následně bylo všechno rozpouštědlo odpařeno za pomoci plynného dusíku. Pevné reziduum bylo rozsuspendováno v 10 ml chloroformu a tato směs byla sonikována 5 minut na ultrazvuku a následně míchána hodinu při pokojové teplotě. Nerozpustný NaCl byl zfiltrován a filtrát byl odpařen do sucha. Takto vzniklý bílý prášek byl rozsuspendován v 5 ml acetonu, sonikován 5 minut na ultrazvuku a míchán hodinu za pokojové teploty. Následně byl bílý produkt odsán, promyt malým množstvím acetonu a vysušen v exsikátoru. Výtěžek: 90 mg (70 %).

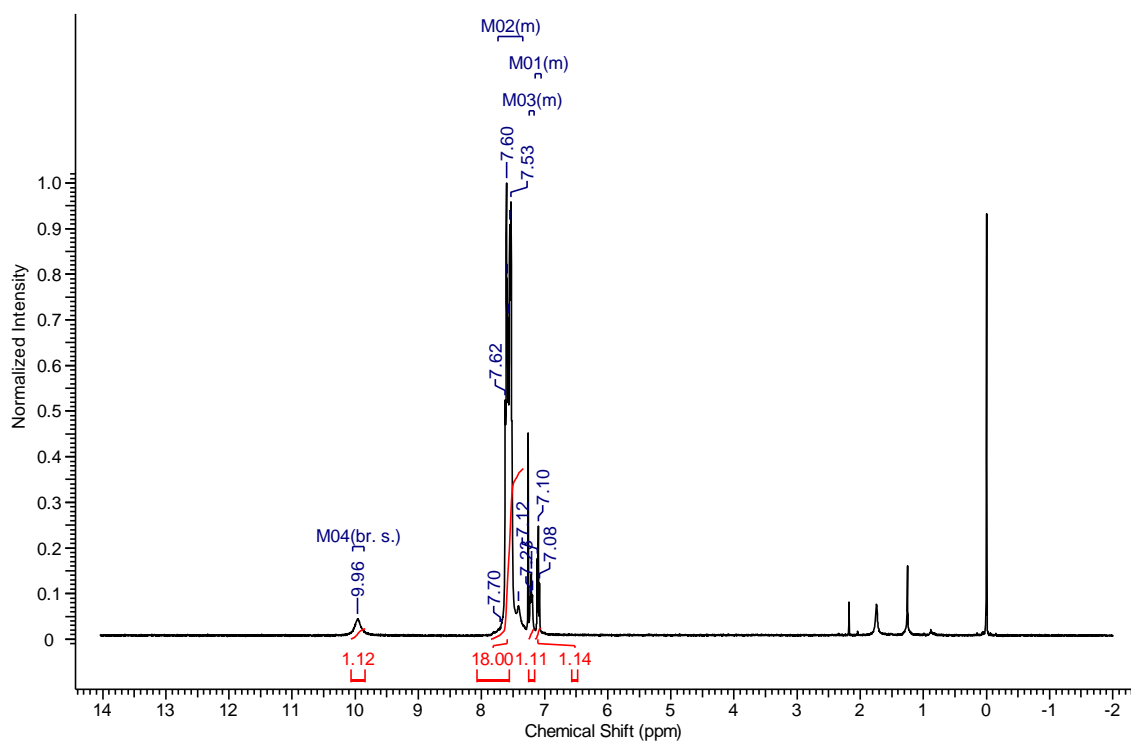
Za účelem zjištění způsobu vazby na kov byly vypěstovány monokrystaly z roztoku acetonu, avšak na změření krystalů již nezbyl čas. Z ^1H NMR spekter není bohužel možné určit způsob vazby kvůli překrytí signálu L^1 signálem PPh_3 .

Elementární analýza pro $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{L}^1]$ se sumárním vzorcem $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{AuN}_5\text{P}$: C, 50.4 %; H, 3.3 %; N, 10.9 %; Nalezeno: C, 50.2 %; H, 3.3 %; N, 10.8 %.

FTIR (cm^{-1}): 442w, 495m, 507m, 545s, 691s, 715m, 742s, 793m, 998w, 1075w, 1103s, 1138w, 1276w, 1318w, 1340m, 1374s, 1435s, 1481w, 1569w, 1602w, 1712w, 2984w, 3107w, 3198s.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.10 (m, 1 H), 7.21 (m, 1 H), 7.35 - 7.74 (m, 18 H)
9.96 (br. s., 1 H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 101.83, 111.72, 120.21, 120.79, 123.18, 127.33,
127.96, 129.48, 129.60, 132.41, 132.44, 134.12, 134.26, 136.60;



Obrázek 47: ^1H NMR spektrum komplexu $[\text{Au}(\text{PPh}_3)\text{L}^1]$.

5. Závěr

V teoretické části byl shrnut význam derivátů indolů, tetrazolů a jejich komplexů především v protinádorové terapii. Bylo ukázáno, že tyto skupiny látek jsou velice perspektivní nejen z hlediska protinádorové aktivity a minimální toxicity, ale i díky jejich schopnostem překonat léčivovou rezistenci. Mnoho z těchto látek vykazovalo lepší účinky, než doposud používaná léčiva jako cisplatina. Dále byl na základě literární rešerše odůvodněn výběr ligandů a komplexních systémů pro experimentální část. Jako první byla vybrána skupina měďnatých komplexů Casiopeínas, známá svojí schopností interagovat s DNA a způsobovat její poškození. Jednoduchost přípravy a nízká toxicita jsou hlavními výhodami této skupiny, nejslibnější derivát se dokonce nachází v 1. fázi klinického testování. Druhou skupinou jsou kobaltité komplexy, jakožto systémy schopné doručit cytotoxicky aktivní látku přímo do rakovinné buňky svojí redukcí v jejím hypoxickém prostředí a minimalizovat tak toxický účinek ve zdravých buňkách.

Experimentální část byla věnována přípravě a charakterizaci celkem 4 ligandů a 19 finálních komplexů. Nejzajímavější připravenou skupinou jsou analogy komplexů Casiopeínas s 5-(aminomethyl)tetrazolem. Tyto čtyři analogy (PH1-4) jsou na rozdíl od ostatních připravených komplexů dobře rozpustné ve vodě a díky jejich strukturní podobnosti je pravděpodobné, že budou mít při testování na buňkách podobné, ne-li lepší výsledky, než samotné Casiopeínas. Plánováno je biologické testování na vybraných nádorových liniích a výsledky pak následně budou zpracovány ve formě vědecké publikace. Další zajímavou skupinou jsou i analogy Casiopeínas se zbylými ligandy. Přestože se nejedná o komplexy se stejným strukturním motivem jako Casiopeínas, bylo by zajímavé otestovat i tyto látky spolu s ligandy, které zatím pro svoji cytotoxickou aktivitu testovány nebyly. Bohužel jsou tyto látky prakticky nerozpustné ve vodě, což tyto testy znemožňuje. Dále pak bylo připraveno 9 kobaltitých komplexů. Přestože byly vybrány co nejpolarnější deriváty salicylaldehydu, nebyly výsledné komplexy rozpustné ve vodě a přítomnost volných –OH skupin velice ztěžovala jejich přípravu v adekvátní čistotě. Z měření cyklické voltametrie se bohužel nedá usoudit, zdali jsou tyto komplexy vhodnými „drug delivery“ činidly a je nutné provést více experimentů. Na závěr byl připraven zlatný komplex s 2-(tetrazol-5-yl)indolem, který by mohl být v navazující práci opět otestován na vybraných liniích, spolu s NMR roztokovou studií.

Seznam použité literatury

- [1] R. Romagnoli *et al.*, “Synthesis and evaluation of 1,5-disubstituted tetrazoles as rigid analogues of combretastatin A-4 with potent antiproliferative and antitumor activity,” *J. Med. Chem.*, 2012.
- [2] J. Dudley, L. Feinn, H. DeFrancesco, E. Lindsay, A. Coca, and E. L. Roberts, “Antibacterial Assessment of Heteroaryl, Vinyl, Benzyl, and Alkyl Tetrazole Compounds,” *Med. Chem. (Los. Angeles)*, 2017.
- [3] E. Łukowska-Chojnacka, J. Mierzejewska, M. Milner-Krawczyk, M. Bondaryk, and M. Staniszevska, “Synthesis of novel tetrazole derivatives and evaluation of their antifungal activity,” *Bioorganic Med. Chem.*, 2016.
- [4] A. A. Bekhit *et al.*, “Synthesis, characterization and cytotoxicity evaluation of some new platinum(II) complexes of tetrazolo[1,5-a]quinolines,” *Eur. J. Med. Chem.*, 2004.
- [5] M. B. Gatch, M. J. Forster, A. Janowsky, and A. J. Eshleman, “Abuse Liability Profile of Three Substituted Tryptamines,” vol. 338, no. 1, pp. 280–289, 2011.
- [6] “Sumatriptan.” [Online]. Available: <https://www.webmd.com/drugs/2/drug-7741/sumatriptan-oral/details>.
- [7] “Sunitinib.” [Online]. Available: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01268>.
- [8] G. Zhao, C. Wang, C. Liu, and H. Lou, “New Developments in Diketo-Containing Inhibitors of HIV-1 Integrase,” pp. 707–725, 2007.
- [9] L. Pilotte *et al.*, “Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2012.
- [10] Fleming, J. S., M. E. Bierwagen, A. W. Pircio, and M. H. Pindell, “A new anti-inflammatory agent 1-(4-chlorobenzoyl)-3-(5-tetrazolylmethyl) indole (BL-R743),” *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, vol. 178, no. 2, pp. 423–436, 1969.
- [11] V. A. Ostrovskii, E. A. Popova, and R. E. Trifonov, *Developments in Tetrazole Chemistry (2009–16)*, vol. 123. Elsevier Ltd, 2017.
- [12] “Cefazolin.” [Online]. Available: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01327>.
- [13] A. Yotsuji *et al.*, “Mechanism of action of cephalosporins and resistance caused by decreased affinity for penicillin-binding proteins in *Bacteroides fragilis*,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1988.
- [14] V. A. Ostrovskii, R. E. Trifonov, and E. A. Popova, “Medicinal chemistry of tetrazoles,” *Russian Chemical Bulletin*. 2012.
- [15] D. G. Tinkelman and R. B. Berkowitz, “A pilot study of pemirolast in patients with seasonal allergic rhinitis,” *Ann. Allergy*, 1991.
- [16] S. Nakade *et al.*, “Population pharmacokinetics of pranlukast hydrate dry syrup in children with allergic rhinitis and bronchial asthma,” *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 2006.
- [17] J. C. Stockert, R. W. Horobin, L. L. Colombo, and A. Blázquez-Castro, “Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment,

- fluorescence imaging, and labeling perspectives,” *Acta Histochem.*, vol. 120, no. 3, pp. 159–167, 2018.
- [18] E. A. Popova, A. V. Protas, and R. E. Trifonov, “Tetrazole Derivatives as Promising Anticancer Agents,” *Anticancer. Agents Med. Chem.*, vol. 17, no. 14, pp. 1856–1868, 2017.
- [19] A. Chaudhary *et al.*, “Combretastatin A-4 Analogs as Anticancer Agents,” *Mini-Reviews Med. Chem.*, vol. 7, no. 12, pp. 1186–1205, 2007.
- [20] G. C. Tron, T. Pirali, G. Sorba, F. Pagliai, S. Busacca, and A. A. Genazzani, “Medicinal chemistry of combretastatin A4: Present and future directions,” *J. Med. Chem.*, vol. 49, no. 11, pp. 3033–3044, 2006.
- [21] G. S. Jedhe *et al.*, “Correlation of hydrogen-bonding propensity and anticancer profile of tetrazole-tethered combretastatin analogues,” *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 23, no. 16, pp. 4680–4684, 2013.
- [22] V. Bavetsias *et al.*, “Design and synthesis of cyclopenta[g]quinazoline-based antifolates as inhibitors of thymidylate synthase and potential antitumor agents,” *J. Med. Chem.*, vol. 43, no. 10, pp. 1910–1926, 2000.
- [23] X. Li *et al.*, “Biological evaluation of new largazole analogues: Alteration of macrocyclic scaffold with click chemistry,” *ACS Med. Chem. Lett.*, vol. 4, no. 1, pp. 132–136, 2013.
- [24] D. Shaloam and P. B. Tchounwou, “Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 740, pp. 364–378, 2014.
- [25] E. Alessio and L. Messori, “NAMI-A and KP1019/1339, two iconic ruthenium anticancer drug candidates face-to-face: A case story in medicinal inorganic chemistry,” *Molecules*, vol. 24, no. 10, pp. 1–20, 2019.
- [26] V. Moreno *et al.*, “Studies of the antiproliferative activity of ruthenium (II) Cyclopentadienyl-derived complexes with nitrogen coordinated ligands,” *Bioinorg. Chem. Appl.*, vol. 2010, 2010.
- [27] S. Komeda, Y. L. Lin, and M. Chikuma, “A tetrazolato-bridged dinuclear platinum(II) Complex exhibits markedly high in vivo antitumor activity against pancreatic cancer,” *ChemMedChem*, vol. 6, no. 6, pp. 987–990, 2011.
- [28] M. Uemura, T. Suzuki, K. Nishio, M. Chikuma, and S. Komeda, “An in vivo highly antitumor-active tetrazolato-bridged dinuclear platinum(II) complex largely circumvents in vitro cisplatin resistance: Two linkage isomers yield the same product upon reaction with 9-ethylguanine but exhibit different cytotoxic profiles,” *Metallomics*, vol. 4, no. 7, pp. 686–692, 2012.
- [29] T. V. Serebryanskaya *et al.*, “Synthesis, characterization, and biological evaluation of new tetrazole-based platinum(II) and palladium(II) chlorido complexes - Potent cisplatin analogues and their trans isomers,” *J. Inorg. Biochem.*, vol. 120, pp. 44–53, 2013.
- [30] I. S. Kim, J. Y. Jin, I. H. Lee, and S. J. Park, “Auranofin induces apoptosis and when combined with retinoic acid enhances differentiation of acute promyelocytic leukaemia cells in vitro,” *Br. J. Pharmacol.*, vol. 142, no. 4, pp. 749–755, 2004.

- [31] I. Ott, K. Schmidt, B. Kircher, P. Schumacher, T. Wiglenda, and R. Gust, "Antitumor-active cobalt-alkyne complexes derived from acetylsalicylic acid: Studies on the mode of drug action," *J. Med. Chem.*, vol. 48, no. 2, pp. 622–629, 2005.
- [32] S. Schäfer, I. Ott, R. Gust, and W. S. Sheldrick, "Influence of the polypyridyl (pp) ligand size on the DNA binding properties, cytotoxicity and cellular uptake of organoruthenium(II) complexes of the type $[(\eta^6\text{-C}_6\text{Me}_6)\text{Ru}(\text{L})(\text{pp})]^{n+}$ [L = Cl, n = 1; L = (NH₂)₂CS, n = 2]," *Eur. J. Inorg. Chem.*, no. 19, pp. 3034–3046, 2007.
- [33] T. V. Serebryanskaya *et al.*, "Gold(I) thiotetrazolates as thioredoxin reductase inhibitors and antiproliferative agents," *Dalt. Trans.*, vol. 44, no. 3, pp. 1161–1169, 2014.
- [34] R. Herchel, Z. Šindelář, Z. Trávníček, R. Zbořil, and J. Vančo, "Novel 1D chain Fe(III)-salen-like complexes involving anionic heterocyclic N-donor ligands. Synthesis, X-ray structure, magnetic, 57 Fe Mössbauer, and biological activity studies," *Dalt. Trans.*, no. 44, pp. 9870–9880, 2009.
- [35] J. Vančo, Z. Šindelář, Z. Dvořák, and Z. Trávníček, "Iron-salophen complexes involving azole-derived ligands: A new group of compounds with high-level and broad-spectrum in vitro antitumor activity," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 142, pp. 92–100, 2015.
- [36] N. K. Kaushik *et al.*, "Biomedical importance of indoles," *Molecules*, vol. 18, no. 6, pp. 6620–6662, 2013.
- [37] B. A. Faller and T. N. Pandit, "Safety and efficacy of vinorelbine in the treatment of non-small cell lung cancer," *Clin. Med. Insights Oncol.*, vol. 5, pp. 131–144, 2011.
- [38] R. K. Gregory and I. E. Smith, "Vinorelbine - A clinical review," *British Journal of Cancer*. 2000.
- [39] R. Mattern, "Vinorelbine," 2010. [Online]. Available: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/1c/Vinorelbine.svg>.
- [40] M. Moudi, R. Go, C. Y. S. Yien, and M. Nazre, "Vinca alkaloids," *Int. J. Prev. Med.*, vol. 4, no. 11, pp. 1231–1235, Nov. 2013.
- [41] J. P. Laubach, P. Moreau, J. F. San-Miguel, and P. G. Richardson, "Panobinostat for the treatment of multiple myeloma," *Clin. Cancer Res.*, vol. 21, no. 21, pp. 4767–4773, 2015.
- [42] "Pindolol." [Online]. Available: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00960>.
- [43] L. E. Eiden and E. Weihe, "VMAT2: A dynamic regulator of brain monoaminergic neuronal function interacting with drugs of abuse," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2011.
- [44] Y. S. Boriskin, E. I. Pécheur, and S. J. Polyak, "Arbidol: A broad-spectrum antiviral that inhibits acute and chronic HCV infection," *Virology*, vol. 3, pp. 1–9, 2006.
- [45] "Delavirdine." [Online]. Available: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00705>.
- [46] S. Lucas, "The Pharmacology of Indomethacin," *Headache*, vol. 56, no. 2, pp. 436–446, 2016.

- [47] J. A. Balfour and K. L. Goa, "Dolasetron. A review of its pharmacology and therapeutic potential in the management of nausea and vomiting induced by chemotherapy, radiotherapy or surgery," *Drugs*, vol. 54, no. 2, pp. 273–298, 1997.
- [48] M. Kumar and D. Kumar, "Recent Developments on Synthetic Indoles as Potent Anticancer Agents," *Chem. Biol. interface*, vol. 3, pp. 276–303, Oct. 2013.
- [49] K. Kaur and V. Jaitak, "Recent Development in Indole Derivatives as Anticancer Agents for Breast Cancer," *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, vol. 19, no. 8, pp. 962–983, 2019.
- [50] G. Bacher *et al.*, "D-24851, a novel synthetic microtubule inhibitor, exerts curative antitumoral activity in vivo, shows efficacy toward multidrug-resistant tumor cells, and lacks neurotoxicity," *Cancer Res.*, vol. 61, no. 1, pp. 392–399, 2001.
- [51] "Phase I Study of Indibulin in Combination With Erlotinib in Advanced Solid Tumors." [Online]. Available: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00591383>.
- [52] S. Vogel *et al.*, "Aroyl hydrazones of 2-phenylindole-3-carbaldehydes as novel antimitotic agents," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 16, no. 12, pp. 6436–6447, 2008.
- [53] S. Mahboobi *et al.*, "Synthetic 2-aroylindole derivatives as a new class of potent tubulin-inhibitory, antimitotic agents," *J. Med. Chem.*, vol. 44, no. 26, pp. 4535–4553, 2001.
- [54] G. M. Tozer *et al.*, "Combretastatin A-4 phosphate as a tumor vascular-targeting agent: Early effects in tumors and normal tissues," *Cancer Res.*, vol. 59, no. 7, pp. 1626–1634, 1999.
- [55] T. Beckers *et al.*, "2-Aroylindoles, a novel class of potent, orally active small molecule tubulin inhibitors," *Cancer Res.*, vol. 62, no. 11, pp. 3113–3119, 2002.
- [56] G. La Regina *et al.*, "Design and synthesis of 2-heterocyclyl-3-arylthio-1H-indoles as potent tubulin polymerization and cell growth inhibitors with improved metabolic stability," *J. Med. Chem.*, vol. 54, no. 24, pp. 8394–8406, 2011.
- [57] G. La Regina *et al.*, "Toward highly potent cancer agents by modulating the C-2 group of the arylthioindole class of tubulin polymerization inhibitors," *J. Med. Chem.*, vol. 56, no. 1, pp. 123–149, 2013.
- [58] L. H. Franco, E. B. De Kier Joffé, L. Puricelli, M. Tatian, A. M. Seldes, and J. A. Palermo, "Indole alkaloids from the tunicate *Aplidium meridianum*," *J. Nat. Prod.*, vol. 61, no. 9, pp. 1130–1132, 1998.
- [59] M. A. A. Radwan and M. El-Sherbiny, "Synthesis and antitumor activity of indolylpyrimidines: Marine natural product meridianin D analogues," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 15, no. 3, pp. 1206–1211, 2007.
- [60] F. Giraud *et al.*, "Synthesis, protein kinase inhibitory potencies, and in vitro antiproliferative activities of meridianin derivatives," *J. Med. Chem.*, vol. 54, no. 13, pp. 4474–4489, 2011.
- [61] F. Xie *et al.*, "Synthesis and biological evaluation of 2,4,5-substituted pyrimidines as a new class of tubulin polymerization inhibitors," *J. Med. Chem.*, vol. 54, no. 9, pp. 3200–3205, 2011.
- [62] H. Zhao *et al.*, "YHHU0895, a novel synthetic small-molecule microtubule-

- destabilizing agent, effectively overcomes P-glycoprotein-mediated tumor multidrug resistance,” *Cancer Lett.*, vol. 314, no. 1, pp. 54–62, 2012.
- [63] A. Rivero-Müller, A. De Vizcaya-Ruiz, N. Plant, L. Ruiz, and M. Dobrota, “Mixed chelate copper complex, Casiopeina IIgly®, binds and degrades nucleic acids: A mechanism of cytotoxicity,” *Chem. Biol. Interact.*, vol. 165, no. 3, pp. 189–199, 2007.
- [64] M. E. Bravo-Gómez, C. Campero-Peredo, D. García-Conde, M. J. Mosqueira-Santillán, J. Serment-Guerrero, and L. Ruiz-Azuara, “DNA-binding mode of antitumoral copper compounds (Casiopeinas®) and analysis of its biological meaning,” *Polyhedron*, vol. 102, pp. 530–538, 2015.
- [65] J. Serment-Guerrero, M. E. Bravo-Gomez, E. Lara-Rivera, and L. Ruiz-Azuara, “Genotoxic assessment of the copper chelated compounds Casiopeinas: Clues about their mechanisms of action,” *J. Inorg. Biochem.*, vol. 166, pp. 68–75, 2017.
- [66] P. Zhang and P. J. Sadler, “Redox-Active Metal Complexes for Anticancer Therapy,” *Eur. J. Inorg. Chem.*, vol. 2017, no. 12, pp. 1541–1548, 2017.
- [67] A. F. M. Da Silva *et al.*, “Investigation of cobalt(III)-TPA complexes as potential bioreductively activated carriers for naphthoquinone-based drugs,” *New J. Chem.*, vol. 41, no. 24, pp. 14960–14965, 2017.
- [68] D. C. Ware, W. R. Wilson, W. A. Denny, and C. E. F. Rickard, “Design and synthesis of cobalt(III) nitrogen mustard complexes as hypoxia selective cytotoxins. The X-ray crystal structure of bis(3-chloropentane-2,4- dionato)(RS-N,N'-bis(2-chloroethyl)ethylenediamine)cobalt(III) perchlorate, [Co(Clacac)2(bce)]ClO4,” *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, no. 17, pp. 1171–1173, 1991.
- [69] A. K. Renfrew, N. S. Bryce, and T. W. Hambley, “Delivery and release of curcumin by a hypoxia-activated cobalt chaperone: A XANES and FLIM study,” *Chem. Sci.*, vol. 4, no. 9, pp. 3731–3739, 2013.
- [70] G. Bar-Sela, R. Epelbaum, and M. Schaffer, “Curcumin as an Anti-Cancer Agent: Review of the Gap Between Basic and Clinical Applications,” *Curr. Med. Chem.*, 2009.
- [71] S. Tollari, S. Cenini, A. Penoni, G. Granata, G. Palmisano, and F. Demartin, “Carbene complexes of cycloplatinated 1H-indole-1-methyl-2-(2'-pyridine). The crystal and molecular structure of σ -{Pt[1H-indole-1-methyl-2-(2'-pyridinyl-C 3,N')-(DMSO)Cl]} and of σ -{Pt[1H-indole-1-methyl-2-(2'pyridinyl-C 3,N')][=C(OCH2CH3)(CH2C 6H5)]Cl},” *J. Organomet. Chem.*, 2000.
- [72] Y. Chen *et al.*, “ β -Lactamase inhibitor compositions for treating infections,” WO 2017152033, 2017.
- [73] D. T. Connor, P. C. Unangst, and S. R. Stabler, “Acidic indole compounds and their use as antiallergy agents,” EP 186367 A2 19860702, 1986.
- [74] Y. B. Wang *et al.*, “Structural variation from 1D to 3D: Effect of metal centers on the construction of metal-organic coordination polymers with N-(1H-tetrazol-5-yl) benzamide ligand,” *CrystEngComm*, vol. 12, no. 11, pp. 3886–3893, 2010.
- [75] M. E. Lane *et al.*, “A novel cdk2-selective inhibitor, SU9516, induces apoptosis in

- colon carcinoma cells,” *Cancer Res.*, vol. 61, no. 16, pp. 6170–6177, 2001.
- [76] L. Matesic *et al.*, “N-Phenethyl and N-naphthylmethyl isatins and analogues as in vitro cytotoxic agents,” *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 16, no. 6, pp. 3118–3124, 2008.
- [77] M. C. Rodríguez-Argüelles *et al.*, “Transition-metal complexes of isatin- β -thiosemicarbazone. X-ray crystal structure of two nickel complexes,” *J. Inorg. Biochem.*, vol. 73, no. 1–2, pp. 7–15, 1999.
- [78] J. M. McManus and R. M. Herbst, “Tetrazole Analogs of Amino Acids,” *J. Org. Chem.*, vol. 24, no. 11, pp. 1643–1649, 1959.
- [79] W. A. Zygmunt, “Tetrazole analogs of various amino acids as possible bacterial antagonists,” *J. Pharm. Sci.*, vol. 51, no. 2, pp. 189–189, 1962.
- [80] J. Finn *et al.*, “Discovery of a potent and selective series of pyrazole bacterial methionyl-tRNA synthetase inhibitors,” *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 13, no. 13, pp. 2231–2234, 2003.
- [81] N. I. Latosh, M. I. Ermakova, and I. A. Shikhova, “Aminoalkyltetrazoles. I. Complexing of 5-(aminoalkyl)tetrazoles with heavy metal ions,” *Zhurnal Obs. Khimii*, vol. 48, no. 10, pp. 2287–91, 1978.
- [82] A. S. Lyakhov, S. V. Voitekhovich, L. S. Ivashkevich, and P. N. Gaponik, “A tetrazol-5-yl analogue of glycine, 5-ammoniomethyl-1H-tetrazolide, and its copper(II) complex,” *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.*, vol. 66, no. 2, pp. 22–25, 2010.
- [83] “Indole-2-carboxamide.” [Online]. Available: <http://synquestlabs.com/product/id/110992.html>.
- [84] V. P. Shchipanov, A. I. Zabolotskaya, and R. A. Badryzlova, “Tetrazole derivatives. XII. Synthesis and certain properties of 5-tetrazolylhydrazones,” *Khimiya Geterotsiklicheskih Soedin.*, vol. 6, pp. 850–854, 1975.
- [85] I. Ali, W. A. Wani, and K. Saleem, “Empirical formulae to molecular structures of metal complexes by molar conductance,” *Synth. React. Inorganic, Met. Nano-Metal Chem.*, vol. 43, no. 9, pp. 1162–1170, 2013.
- [86] S. J. Atherton and P. C. Beaumont, “Quenching of the fluorescence of DNA-intercalated ethidium bromide by some transition-metal ions,” *J. Phys. Chem.*, vol. 90, no. 10, pp. 2252–2259, 1986.
- [87] L. Pogány, J. Moncol, M. Gál, I. Šalitraš, and R. Boča, “Four cobalt(III) Schiff base complexes – Structural, spectroscopic and electrochemical studies,” *Inorganica Chim. Acta*, vol. 462, pp. 23–29, 2017.
- [88] K. Nomiya, R. Noguchi, and M. Oda, “Synthesis and crystal structure of coinage metal(I) complexes with tetrazole (Htetz) and triphenylphosphine ligands, and their antimicrobial activities. A helical polymer of silver(I) complex [Ag(tetz)(PPh₃)₂](n) and a monomeric gold(I) complex [Au(tetz)(,” *Inorganica Chim. Acta*, vol. 298, no. 1, pp. 24–32, 2000.
- [89] M. I. Bruce, B. K. Nicholson, O. Bin Shawkataly, J. R. Shapley, and T. Henly, “Synthesis of Gold-Containing Mixed-Metal Cluster Complexes,” in *Inorganic*

Syntheses, John Wiley & Sons, Ltd, 2007, pp. 324–328.