

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ CHEMIE A FARMACEUTICKÉ ANALÝZY



PRÍPRAVA FLUORESCENČNÝCH FTALOCYANÍNOV PRE ZNAČENIE
OLIGONUKLEOTIDOVÝCH SOND IV.

DIPLOMOVÁ PRÁCA



DANIEL MIKULA

Vedúci diplomovej práce: doc. PharmDr. Miroslav Miletín, Ph.D.

Konzultantka: Mgr. Michaela Kolářová

„Prehlasujem, že táto práca je mojím pôvodným autorským dielom. Všetka literatúra a ďalšie zdroje, z ktorých som pri spracovaní čerpal, sú uvedené v zozname použitej literatúry a v práci sú riadne citované. Práca nebola použitá k získaniu iného alebo rovnakého titulu.“

V Hradci Králové 1.9.2022

podpis

POĎAKOVANIE

Za odborné vedenie mojej diplomovej práce, trpezlivosť, ochotu a podporu v čase, keď sa nie všetko darilo podľa plánu, by som chcel poďakovať svojmu školiteľovi doc. PharmDr. Miroslavovi Miletínovi, Ph.D. a svojej konzultantke Mgr. Michaela Kolářovej.

Taktiež by som chcel poďakovať celej Azaphthalocyanine group za príjemný kolektív, pomoc a praktické rady nie len do profesného života, menovite Mgr. Filipovi Kostelanskému, PharmDr. Jiřímu Demuthovi, Ph.D. a Mgr. Lucii Kočiščákovéj.

Za zmeranie dát by som chcel poďakovať doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. (NMR spektrá) a Ive Vencovskej (IR spektrá).

Za finančnú podporu chcem poďakovať Univerzite Karlovej, grant SVV 260 574.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra	Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy
Kandidát	Daniel Mikula
Školiteľ	doc. PharmDr. Miroslav Miletín, Ph.D.
Konzultantka	Mgr. Michaela Kolářová
Názov práce	Príprava fluorescenčných ftalocyanínov pre značenie oligonukleotidových sond IV.

Ftalocyaníny (Pcs) sú makrocyclické zlúčeniny s konjugovaným systémom násobných väzieb. Vďaka tomu majú zaujímavé fotofyzikálne a fotochemické vlastnosti, ktoré umožňujú ich praktické použitie vo farmácii a medicíne v oblasti diagnostiky alebo pri liečbe nádorových ochorení. Táto práca sa zaoberá prípravou axiálne disubstituovaných kremičitých komplexov ftalocyanínov (SiPcs) ktoré by mali vhodné vlastnosti pre následné použitie v značení oligonukleotidových sond. Teoretická časť je primárne venovaná metódam prípravy Pcs, od voľby prekursorov, cez tvorbu makrocyclu a inzerciu centrálného atómu, až po modifikácie výslednej molekuly, vrátane špecifik týkajúcich sa SiPcs. Taktiež sú tu popísané základné vlastnosti Pcs a miera vplyvu rôznych obmien molekuly na tieto vlastnosti. Spomenuté sú aj základné oblasti použitia Pcs. Experimentálna časť je zahájená pokusom o *de novo* syntézu SiPc. Na to naväzuje príprava rôznych typov prekursorov, určených pre následnú substitúciu na SiPc do axiálnych polôh. Pripravované boli prekuzory nesúce fragment adamantán-1-amínu (A1A) (pre jeho možnosť nekovalentnej väzby do hydrofóbnej kavity kukurbiturilu) alebo azidovú skupinu, prostredníctvom ktorej možno využiť výsledné molekuly v click chémii. Porovnávané boli substituenty s rôznou dĺžkou spojovacieho uhlíkového reťazca medzi uvedenými funkčnými skupinami a makrocyclom SiPc. Podarilo sa pripraviť zlúčeninu s A1A napojeným na SiPc cez šesťuhlíkový spojovací reťazec a zlúčeninu s azidovou skupinou napojenou na SiPc cez jedenásťuhlíkový reťazec. S SiPcs obsahujúcimi azidové skupiny v axiálnych substituentoch boli uskutočnené click reakcie Huisgenovou cykloadíciou na oligonukleotid a s A1A *N*-substituovaným propargylovou skupinou. Tieto reakcie avšak prebehli neúspešne. Taktiež bola overená možnosť napojenia axiálneho substituentu na SiPc cez dusíkový spojovací atóm, s negatívnym výsledkom.

ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department	Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Analysis
Candidate	Daniel Mikula
Supervisor	doc. PharmDr. Miroslav Miletín, Ph.D.
Consultant	Mgr. Michaela Kolářová
Title of thesis	Preparation of fluorescent phthalocyanines for labeling of oligonucleotide probes IV.

Phthalocyanines (Pcs) are macrocyclic compounds with a conjugated system of double bonds. Thanks to this, they have interesting photophysical and photochemical properties that enable their practical use in pharmacy and medicine in the field of diagnostics or treatment of cancer diseases. This work deals with the preparation of axially disubstituted silicon complexes of phthalocyanines (SiPcs), which would have suitable properties for subsequent use in the labeling of oligonucleotide probes. The theoretical part is primarily devoted to the methods of Pcs preparation, from the choice of precursors, through the formation of the macrocycle and insertion of the central atom, to the modifications of the resulting molecule, including the specifics related to SiPcs. The basic properties of Pcs and the degree of influence of different changes of the molecule on these properties are also described. The basic areas of use of Pcs are also mentioned. The experimental part begins with an attempt of *de novo* synthesis of SiPc. This is followed by the preparation of various types of precursors, intended for subsequent substitution on SiPc in axial positions. Precursors bearing an adamantane-1-amine (A1A) fragment (for its possibility of non-covalent binding into the hydrophobic cavity of cucurbituril) or an azide moiety were prepared, through which the resulting molecules can be used in click chemistry. Substituents with different lengths of the connecting carbon chain between the mentioned functional groups and the SiPc macrocycle were compared. It was possible to prepare a compound with A1A attached to SiPc through a six-carbon connecting chain and a compound with an azide group attached to SiPc through an eleven-carbon chain. With SiPc containing azide groups in axial substituents, click reactions were performed by Huisgen cycloaddition to the oligonucleotide and to *N*-substituted A1A with a propargyl group. However, these reactions were unsuccessful. The possibility of connecting an axial substituent to SiPc through a nitrogen connecting atom was also verified, with a negative result.

Obsah

1. ZOZNAM SKRATIEK.....	10
2. KÓDOVÉ OZNAČENIE PRIPRAVOVANÝCH ZLÚČENÍN	12
3. ÚVOD.....	13
4. CIEĽ PRÁCE.....	14
5. TEORETICKÁ ČASŤ	15
5.1. Základná charakteristika.....	15
5.2. Syntéza.....	16
5.2.1. Prekurzory	16
5.2.2. Cyklotetramerizácia	17
5.2.3. Centrálné atómy	20
5.2.4. Kremičité komplexy ftalocyanínov	21
5.3. Vlastnosti.....	29
5.3.1. Absorpcia UV-Vis žiarenia	29
5.3.2. Fluorescencia a tvorba singletového kyslíku	31
5.3.3. Agregácia	34
5.4. Použitie	38
5.4.1. Oligodeoxyribonukleotidové sondy (ODN).....	38
5.4.2. Fotodynamická terapia (PDT).....	39
6. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	41
6.1. Plán syntézy.....	42
6.1.1. Plán syntézy I	42
6.1.2. Plán syntézy II.....	43
6.2. Príprava SiPcs templátovou metódou.....	44
6.2.1. Príprava zlúčeniny 1	44
6.2.2. Cyklotetramerizácia	45
6.3. Syntéza prekurzorov	48
6.3.1. Aminoalkoholy.....	48
6.3.2. Azidy	57
6.3.3. Alternatívny rad prekurzorov	59
6.4. Syntéza ftalocyanínov.....	61
6.4.1. Príprava zlúčeniny 15	61
6.4.2. Príprava zlúčeniny 16	65
6.4.3. Príprava zlúčeniny 17	67

6.4.4.	Príprava zlúčeniny 18	68
6.4.5.	SiPcCl ₂ /azidy	69
6.5.	Click reakcie.....	73
6.5.1.	Príprava zlúčeniny 22	73
6.5.2.	Zlúčenina 19 / oligonukleotid	74
7.	DISKUSIA	75
7.1.	Príprava SiPcCl ₂ (2) a PhSiPcCl (3).....	75
7.2.	Príprava sekundárnych aminoalkoholov	76
7.3.	Príprava terciárnych aminoalkoholov	77
7.4.	Príprava azidoalkoholov.....	78
7.5.	Príprava <i>N</i> -metyl- <i>N</i> -(prop-2-ín-1-yl)adamantán-1-amínu (14).....	78
7.6.	Substitúcia SiPcCl ₂ adamantylaminoalkoholmi.....	79
7.7.	Substitúcia SiPcCl ₂ piperidínom	80
7.8.	Substitúcia SiPcCl ₂ azidoalkoholmi.....	80
7.9.	Click reakcie.....	80
7.9.1.	Zlúčenina 22	80
7.9.2.	Zlúčenina 19 / oligonukleotid	81
8.	ZÁVER.....	82
9.	ZDROJE	84

1. ZOZNAM SKRATIEK

A1A	adamantán-1-amín
AzaPc/AzaPcs	azaftalocyanín/azaftalocyaníny
CPG	sklenená pevná fáza (Controlled Pore Glass)
DBCO	dibenzocyklooktín
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec7-én
DCM	dichlórmetán
DII	diiminoisoindolín
DIPEA	diisopropyletylamín
DMF	dimetylformamid
DMSO	dimetylsulfoxid
EAC	etylacetát
FRET	fluorescenčný (Försterov) rezonančný prenos energie
H ₂ Pc/H ₂ Pcs	nekovový ftalocyanín/nekovové ftalocyaníny
HEX	hexán
HOMO	najvyšší obsadený molekulový orbitál (highest occupied molecular orbital)
ISC	systémový prechod (intersystem crossing)
ICT	intramolekulárny prenos náboja (intramolecular charge transfer)
LUMO	najnižší neobsadený molekulový orbitál (lowest unoccupied molecular orbital)
MPc/MPcs	kovový ftalocyanín/kovové ftalocyaníny
MeOH	metanol
NIR	blízky infračervenému spektru svetla (near infra-red)

NMR	nukleárna magnetická rezonancia
ODN	oligodeoxyribonukleotid
PCR	polymerázova reťazová reakcia (polymerase chain reaction)
PDT	fotodynamická terapia (photodynamic therapy)
PS	fotosenzitizér (photosensitizer)
Pc/Pcs	ftalocyanín/ftalocyaníny
ROS	reaktívne kyslíkové radikály (reactive oxygen species)
RT	izbová teplota (room temperature)
Rf	retenčný faktor
SiPc/SiPcs	kremičitý komplex ftalocyanínu/kremičité komplexy ftalocyanínov
TBA	tributylamín
TEA	trietylamin
TLC	chromatografia v tenkej vrstve (thin layer chromatography)
TLC_MS	chromatografia v tenkej vrstve spojená s hmotnostnou spektrometriou (thin layer chromatography with mass spectrometry)
TPyzPz/TPyzPzs	tetrapyrazinoporfyrazín/tetrapyrazinoporfyrazíny

2. KÓDOVÉ OZNAČENIE PRIPRAVOVANÝCH ZLÚČENÍN

Zlúčenina 1	isoindolín-1,3-diimín
Zlúčenina 2	dichlóroftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 3	chlórofenylftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 4	2-((adamantán-1-yl)amino)etán-1-ol
Zlúčenina 5	2-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)etán-1-ol
Zlúčenina 6	6-((adamantán-1-yl)amino)hexán-1-ol
Zlúčenina 7	6-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)hexán-1-ol
Zlúčenina 8	3-((adamantán-1-yl)amino)propán-1-ol
Zlúčenina 9	3-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)propán-1-ol
Zlúčenina 10	4-((adamantán-1-yl)amino)fenol
Zlúčenina 11	3-azidopropán-1-ol
Zlúčenina 12	6-azidohexán-1-ol
Zlúčenina 13	<i>N</i> -(prop-2-ín-1-yl)adamantán-1-amín
Zlúčenina 14	<i>N</i> -metyl- <i>N</i> -(prop-2-ín-1-yl)adamantán-1-amín
Zlúčenina 15	<i>bis</i> (2-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)etoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 16	<i>bis</i> (6-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)hexánoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 17	<i>bis</i> (3-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)propoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 18	<i>bis</i> (piperidín-1-yl)ftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 19	<i>bis</i> (11-azidoundekánoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 20	<i>bis</i> (3-azidopropoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 21	<i>bis</i> (6-azidohexánoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex
Zlúčenina 22	<i>bis</i> (11-((4-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)-[1,2,3]-triazol-1-yl)undekánoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex

3. ÚVOD

Ftalocyaníny sú makrocyclické zlúčeniny pripravené syntetickou cestou, štruktúrne patriace medzi analógy porfyrínu (ev. porfyrázinu). Po prvý krát boli popísané v roku 1930 vedcami Lindstead a Robertson a od tej doby stáli v popredí záujmu mnohých intenzívnych výskumov naprieč vedeckou komunitou po celom svete.^[1] Ftalocyaníny (Pcs), ale aj ich dusíkaté analógy, azaftalocyaníny (AzaPcs), sú zaujímavé predovšetkým svojimi optickými, fotofyzikálnymi a fotochemickými vlastnosťami. Svoje uplatnenie sprvu našli ako organické farbivá v potravinárstve či textilnom priemysle.^[2] Postupom času sa, vďaka ich elektrochemickým a magnetickým vlastnostiam, použitie Pcs a AzaPcs rozšírilo aj do ďalších oborov ako je napríklad elektronika či fotovoltaika.^[3,4] V súčasnosti sa značná časť výskumu týchto zlúčenín pohybuje v oblasti medicíny a farmácie. V týchto oboroch sa využívajú už spomínané optické, fotofyzikálne a fotochemické vlastnosti Pcs a AzaPcs. Dominantná je v tomto ohľade ich schopnosť absorpcie svetelného žiarenia, schopnosť emitovať a zhasať fluorescenciu a schopnosť tvoriť reaktívne kyslíkové radikály (reactive oxygen species, ROS) a vysoko reaktívne formy singletového kyslíku ($^1\text{O}_2$).

Výhodou týchto systémov je možnosť derivatizácie molekuly prostredníctvom periférnych, neperiférnych a axiálnych substitúcií, či inkorporáciou rôznych centrálnych atómov. Týmto modifikáciami možno alterovať mieru manifestácie uvedených vlastností, vyjadrenú ich kvantovými výťažkami. Vďaka tomu sa posúvajú aj možnosti ich praktického využitia. V prípade derivátov, u ktorých prevláda emisia fluorescencie, sa ich praktické použitie posúva v prospech napríklad značenia oligonukleotidových sond používaných napr. v metóde multiplikácie DNA, známej ako polymerázová reťazová reakcia (polymerase chain reaction, PCR), či v diagnostike geneticky podmienených alebo nádorových ochorení.^[5] Na druhej strane deriváty, ktoré sú schopné produkcie singletového kyslíku, majú potenciál v tzv. fotodynamickej terapii (photodynamic therapy, PDT).^[6,7] PDT sprvu zahrňovala prevažne liečbu nádorových ochorení, dnes sa rozširuje i na liečbu kožných infekčných (bakteriálnych, mykotických, parazitických) ochorení.

V tejto práci sme sa zamerali na syntézu kremičitých ftalocyanínov (SiPcs), ktoré by vďaka vhodnej axiálnej substitúcií mali potenciálne zvýšenú rozpustnosť a zároveň zníženú tendenciu k agregáciám, ktorá je častým problémom väčšiny doposiaľ pripravených Pcs a AzaPcs a obmedzuje možnosti ich použitia.

4. CIEĽ PRÁCE

Primárnym cieľom tejto práce je pripraviť axiálne substituované SiPcs, u ktorých povaha axiálnych substituentov povedie k zvýšenej rozpustnosti výsledných molekúl v polárnych rozpúšťadlách. Toho sa snažíme dosiahnuť zavedením adamantán-1-amínu (A1A) prostredníctvom uhlíkového spojovacieho reťazca na molekulu SiPc. Fragment A1A sa po kvarternizácii dusíka môže nekovalentne viazať do hydrofóbnej kavity kukurbiturilu.

Druhým hlavným cieľom je zavedenie azidovej skupiny do axiálnych polôh molekuly SiPc. Azidová skupina predstavuje vhodný východiskový bod pred následné click reakcie využiteľné napr. pri značení oligonukleotidových sond, či napojenie ďalších fragmentov obsahujúcich trojitú väzbu.

Substitúciou v axiálnych polohách sa snažíme taktiež zamedziť agregácii SiPcs, ktorá negatívne vplýva na použiteľnosť týchto zlúčenín.

Všetkým substitúciám SiPcs predchádza príprava vhodných prekursorov, s rôznym typom funkčných skupín a rôznou dĺžkou uhlíkového spojovacieho reťazca.

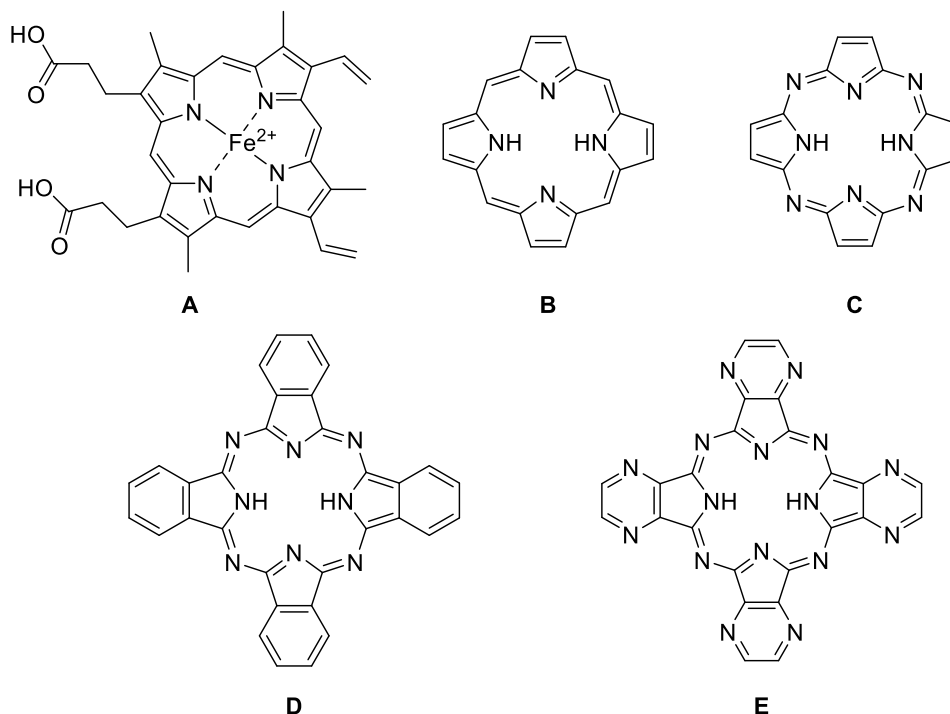
5. TEORETICKÁ ČASŤ

5.1. Základná charakteristika

Ftalocyaníny (Pcs) sú syntetické deriváty porfyrínu (Obr. 1, **B**) (ev. porfyrázínu, Obr. 1, **C**), s dobre definovanou štruktúrou (Obr. 1, **D**). Z porfyrínu, ktorý obsahuje tetrapyrrolové jadro, vznikajú Pcs pomyselným rozšírením každého z pyrrolov o prikondenzované benzénové jadro a nahradením metínových skupín v spojovacom mostíku za mostíky azametínové. Tento planárny makrocyklus obsahuje systém konjugovaných väzieb, ktorý je príčinou vlastností chromofóru (emisia fluorescence, produkcia ROS a $^1\text{O}_2$) a umožňuje použitie Pcs v praxi (napr. PCR, PDT).^[8]

Azaftalocyaníny (AzaPcs) sú analógy Pcs, u ktorých je k tetrapyrrolovému jadru porfyrínu prikondenzovaný dusíkatý heterocyklus (napr. pyridín, pyrazín, pyridazín) namiesto benzénu. V prípade prikondenzovaného pyrazínu vznikajú tzv. tetrapyrazinoporfyrázíny (TPyzPzs; Obr. 1, **E**). Štruktúrna podobnosť medzi Pcs a AzaPcs umožňuje ich použitie v podobných oblastiach.^[9]

Tetrapyrrolové jadro, ktoré tvorí základný skelet molekúl Pcs i AzaPcs, môžeme taktiež nájsť v molekulách prírodného pôvodu. Príkladom môže byť hem (Obr. 1, **A**) ako krvné farbivo transportujúce kyslík, či zelené rastlinné farbivo chlorofyl.



Obrázok 1: Štruktúry hemu (**A**), porfyrínu (**B**), porfyrázínu (**C**), ftalocyanínu (**D**) a tetrapyrazinoporfyrázínu (**E**).

Uvedené štruktúry Pcs a AzaPcs podliehajú rôznym typom obmien, akými sú periférne, neperiférne a axiálne substitúcie, chelatácia s diamagnetickými či paramagnetickými kovmi. Tým možno vystupňovať ich požadované vlastnosti a posunúť možnosti ich použitia preferovaným smerom. O tomto bližšie pojednáva nasledujúci text.

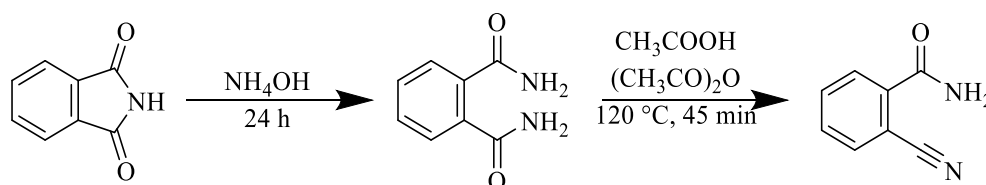
5.2. Syntéza

Syntéza Pcs pozostáva z niekoľkých krokov. Prvým krokom je syntéza vhodného prekursoru, ktorý môže byť substituovaný. Tento prekursor tvorí monoméru jednotku, ktorá následne podstupuje cyklotetramerizačnú reakciu. Výsledkom je Pc s tetraisoindolinovým jadrom bez alebo s centrálnym atómom. Podľa povahy centrálného atómu je možné niekedy zaviesť na Pc substituenty i do axiálnych polôh (viď ďalej).

5.2.1. Prekuzory

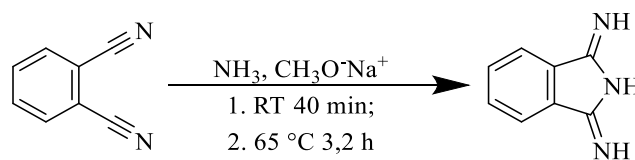
V syntéze Pcs bolo postupom času použitých množstvo rôznych prekursorov, ako napríklad ftalimid^[10], 1,3-diiminoisoindolín, ftalanhydrid či kyselina ftalová.^[11,12,13] V priebehu desaťročí sa však ako vynikajúci prekursor pre následnú cyklotetramerizáciu osvedčil 1,2-dikyanobenzén (ftalonitril).^[14]

Tieto prekuzory sa v prípade potreby môžu ďalej previesť na reaktívnejšiu formu, ktorá následne podstupuje cyklotetramerizačnú reakciu. V prípade ftalimidu je to hydrolyza v prítomnosti koncentrovaného hydroxidu amónneho na 2-kyanobenzamid (Obr. 2).^[15]



Obrázok 2: Príprava 2-kyanobenzamidu z ftalimidu.

Ftalonitril zase podstupuje premenu na 1,3-diiminoisoindolín (DII) metódou amonolýzy plynným amoniakom (Obr. 3).^[15]

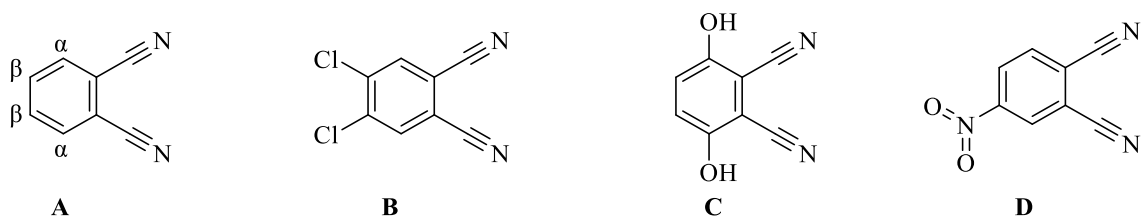


Obrázok 3: Schéma premeny ftalonitrilu na 1,3-diiminoisoindolín.

V priemysle sa často používa cenovo dostupnejší ftalanhydrid, ktorý cyklotetramerizuje (viď. kapitola 5.2.2) po premene na DII v prítomnosti močoviny

a katalytického množstva molybdénanu amónneho, za vzniku med'natého komplexu ftalocyanínu CuPc.^[16]

V prípade potreby prípravy Pc, ktorý je substituovaný v periférnych (β) či neperiférnych (α) polohách benzenového kruhu, je vhodné požadované substituenty zaviesť do molekuly ešte pred samotnou cyklotetramerizáciou, teda pripraviť substituovaný monomérny prekursor. Pre tieto účely sa u Pcs používajú deriváty ftalonitrilu, napríklad 4,5-dichlóftalonitril, 3,6-dihydroxyftalonitril alebo 4-nitroftalonitril (Obr. 4).^[17,18,19] Halogenidové, hydroxylové a nitroskupiny predstavujú výborné východiskové body pre derivatizačné reakcie prostredníctvom rôznych typov substitúcií a možno ich využiť aj pre prípravu nesymetrických Pcs.

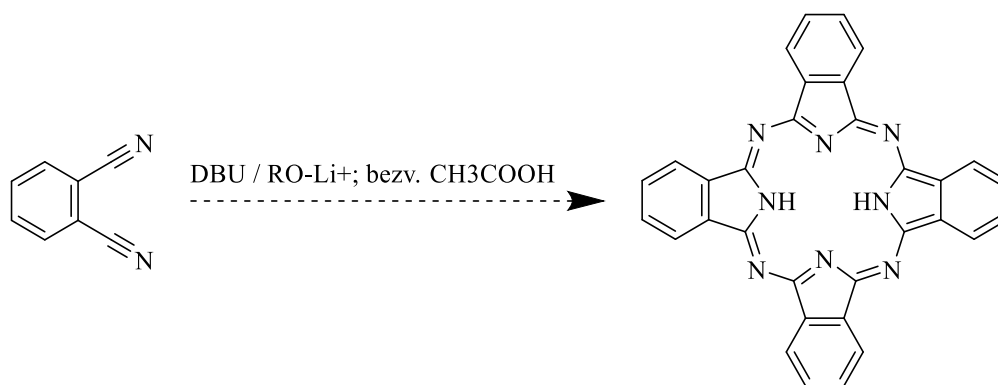


Obrázok 4: Štruktúry ftalonitrilu (A), 4,5-dichlóftalonitrilu (B), 3,6-dihydroxyftalonitrilu (C) a 4-nitroftalonitrilu (D). V molekule A je tiež vyznačená poloha α a β uhlíku benzenového kruhu.

5.2.2. Cyklotetramerizácia

Ďalším krokom po príprave vhodného prekursoru je jeho cyklotetramerizácia za vzniku makrocyclu. Prekursor, monomér, prostredníctvom azametínových mostíkov uzatvára tetraisoindolinový heterocyklus. Jeho vznik môže a nemusí byť viazaný na prítomnosť centrálného koordinovaného iónu.

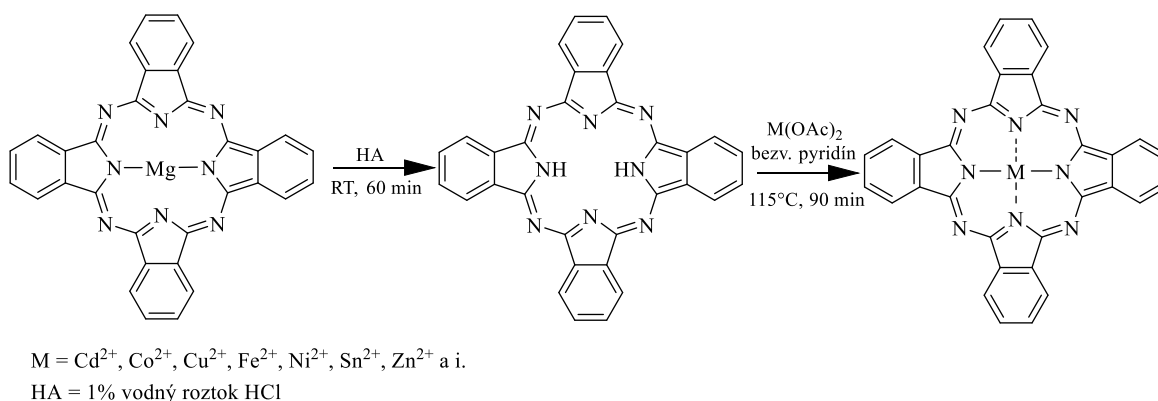
Prípravu nekovových Pcs (H_2Pc) možno uskutočniť dvomi metódami. Najčastejšie používanou je cyklotetramerizácia ftalonitrilu vo vysokovariacom rozpúšťadle (napr. n-pentanol, n-hexanol alebo 2-dimetylaminoetanol) v prítomnosti organickej zásady akou je napríklad 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-én (DBU). V druhej možnosti sa cyklotetramerizácie dosahuje reakciou ftalonitrilu s alkoxidom lítnym. To vyúsťuje v tvorbu odpovedajúceho H_2Pc , pričom vznikajúci hydroxid lítny je v priebehu reakcie zneutralizovaný prítomnou minerálnou kyselinou (napr. bezvodá kyselina octová) (Obr. 5).^[20]



Obrázok 5: Príprava H_2Pc z ftalonitrilu.

Cyklotetramerizáciu možno taktiež využiť pre prípravu asymetricky substituovaných Pcs. Pri zavádzaní funkčných skupín do α či β polohy v kruhu Pc sa totiž najčastejšie postupuje metódou prípravy substituovaných prekursorov, teda monomérov s vhodnými funkčnými skupinami, ktoré podstupujú cyklotetramerizáciu s ďalšími, rôzne substituovanými (alebo aj nesubstituovanými), monomérmi. Táto metóda sa nazýva štatistická kondenzácia, pri ktorej vzniká z monoméru A a monoméru B všetkých šesť štatisticky možných kongenéro. Nevýhodou takejto reakcie je jej nízka výťažnosť a náročná separácia jedného konkrétneho kongeneru.^[21]

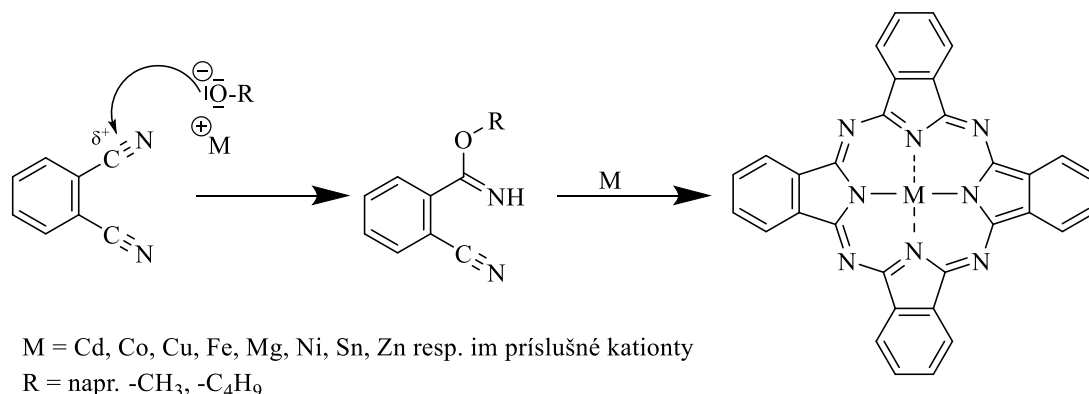
Do takto pripravených H_2Pc možno následne koordinovať centrálny kovový atóm a to buď chemicky alebo elektrochemicky. Podľa odolnosti kovov voči disociácii z výslednej molekuly Pc ich možno rozdeliť na „silné“ (napr. Fe, Cu, Ni) a „slabé“ (napr. Mg, Sb).^[22] H_2Pc možno získať aj syntézou horečnatého Pc ($MgPc$) a jeho následnou demetaláciou.^[19,23] K demetalácii dochádza vystavením $MgPc$ pôsobeniu kyseliny, pričom sa z molekuly odštiepuje horčík vo forme horečnatej soli. Rozpustením vzniknutého H_2Pc v organickom rozpúšťadle (napr. pyridíne) a pridaním bezvodnej soli príslušného kovu (spravidla vo forme acetátu či chloridu) dochádza k inzercii kovu do molekuly Pc (Obr. 6).^[19]



Obrázok 6: Schéma demetalácie $MgPc$ a inzercie centrálného atómu kovu do molekuly H_2Pc .

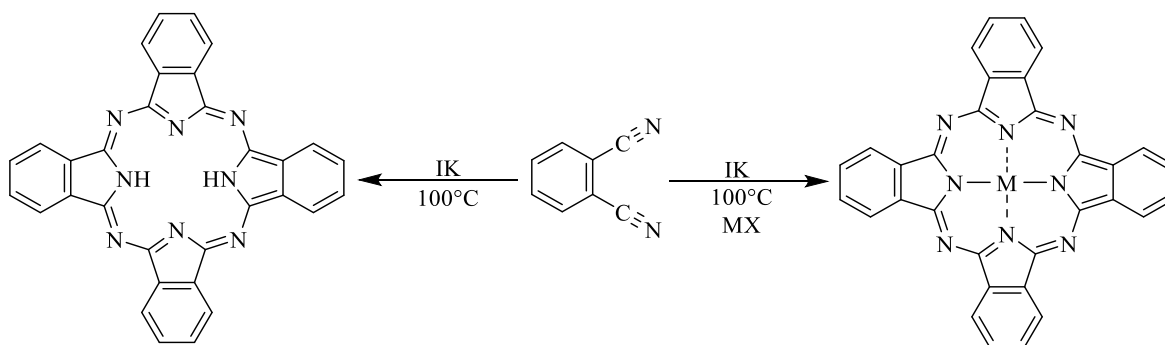
Jednoduchšou a rýchlejšou variantou je inzerčná one-pot metóda. Prekursor rozpustený v organickom rozpúšťadle (napr. pentanol, DMF) cyklotetramerizuje za prítomnosti DBU ako katalyzátoru pri teplote 160 °C. Pridaním solí požadovaných kovových prvkov vznikajú odpovedajúce metaloftalocyaníny (MPcs). Reakcia prebieha 24 hodín.^[24]

Ďalšou možnosťou prípravy MPcs je syntetický postup, pri ktorom zároveň počas cyklotetramerizácie dochádza ku koordinácii vznikajúceho cyklu okolo centrálného iónu - templátu, preto sa táto metóda označuje ako templátová. Pri tomto procese dochádza *in situ* v rovnakú chvíľu k výstavbe tetraisoindolinového jadra a zároveň k jeho koordinácii na templát. Pri cyklotetramerizácii na templát prebieha výstavba makrocyklu v bezvodnom prostredí a za zvýšenej teploty v rozmedzí 80–250 °C. Okrem toho je nutné v niektorých prípadoch použiť vhodný aktivátor reakcie, najčastejšie alkoholátový ión alebo inú silnú zásadu. Pre tieto účely sa často používa bezvodý butanolát horečnatý, ktorý reakciu podporuje svojím templátovým efektom. Ten zaháji nukleofilný atak na elektróndeficientnom uhlíku karbonitrilovej skupiny ftalonitrilu a iniciuje tým cyklotetramerizačný proces (Obr. 7).^[9,10,22,25]



Obrázok 7: Schéma cyklotetramerizácie na templát.

V posledných rokoch sa pozornosť venuje tzv. „zeleným“ metódam syntézy MPcs, ktoré by nevyžadovali použitie silných organických zásad ako DBU, ktoré nie len, že predstavujú záťaž pre životné prostredie, ale prinášajú aj radu ďalších nevýhod ako nutnosť obnovy katalyzátoru, koróziu, či produkciu nadbytočného odpadu.^[16,26] V tomto smere sa využívajú bazické iónové kvapaliny, teda roztoky špecifických solí (imidazolinových, kvartérnych amóniových atp.), ktoré zvyšujú nukleofilitu a rýchlosť nukleofilnej substitúcie na karbonilovom uhlíku ftalonitrilu. Tieto reakcie prebiehajú i pri nižších teplotách, iba 100 °C, bez i s použitím solí príslušných kovov (Obr. 8).^[26]



IK = dimetylaminoetanol, *N*-butyl-*N,N*-dimetyl-*N*-(2-hydroxyetyl)amónium bromid, *N*¹-metyl-*N*³-(2-hydroxyetyl)imidazolínium acetát

M = Co, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn

MX = Co(OAc)₂, Cu(OAc)₂, FeCl₃, Ni(OAc)₂, Pb(OAc)₂, Zn(OAc)₂

Obrázok 8: Schéma syntézy H₂Pc a MPc s využitím iónových kvapalín (IK) v prítomnosti rôznych solí kovov (MX).

Špeciálnymi metódami syntézy Pcs a ich kovových komplexov je syntéza za izbovej teploty (z uvedených prekursorov) na pevnej fázi s použitím kovov s rôznym stupňom aktivácie (Riekeho kovy, slabo stabilné horečnaté komplexy, zeolity, kovy na neaktívnom substráte, elektrosyntéza ftalonitrilu na pevnej fázi).^[25]

5.2.3. Centrálné atómy

Do molekúl Pcs a AzaPcs možno inkorporovať veľké množstvo chemických prvkov. Centrálny atóm ovplyvňuje výsledné elektrochemické, optické, fotofyzikálne i fotochemické vlastnosti celej molekuly. Dôležitá je taktiež väzbovosť centrálného atómu, ktorá prípadne umožňuje ďalšie substitúcie v axiálnych polohách. Používajú sa hlavne kovy (napr. Co, Cu, Fe, Mg, Ni, Ti, Zn) a polokovy (napr. Ge, Sb, Si).

Koordinácia centrálného atómu do molekuly Pc môže prebehnúť metódami uvedenými v kapitole 5.2.2. (inercia kovu do H₂Pc alebo templátovou metódou). Povaha centrálného atómu ovplyvňuje výber vhodnej metódy. Do H₂Pcs ochotne inzertuje napríklad meď (CuPc), opačná situácia nastáva u kremičitých komplexov (SiPcs), kde práve z tohto dôvodu volíme templátovú metódu.^[10,27] Na druhú stranu boli vypracované postupy, ktoré inzerciu kremíka do H₂Pc popisujú (viď kapitola 5.2.4.4.).

Niektoré kovy vďaka konfigurácií v elektrónovom obale atómu dokážu poskytovať väzby i mimo planárny útvar, a to nad a pod rovinu tetraisoindolínového jadra. MPcs s koordinovaným atómom Co, Cu, Mg, Zn poskytujú väzby iba k planárnemu makrocyklu Pc. Naproti tomu MPcs, ktoré ako centrálny atóm obsahujú napr. Al^[28], Fe^[29], Ga^[28], Ge^[30], Hf^[31], Ru^[32], Ti^[33], Zr^[31], sa vyznačujú práve prítomnosťou spomínaných axiálnych väzieb. Je nutné brať tiež na zreteľ atómový polomer uvedených

prvkov vzhľadom na rozmery kavity uprostred tetraisoindolínového kruhu. V niektorých prípadoch spôsobuje veľký atómový polomer centrálného kovu jeho excentrické uloženie, čo môže vyústiť až v tvorbu tzv. „sendvičových“ Pcs (napríklad (Pc)Th(Pc)).^[34] Vyššie uvedené parametre favorizujú využitie kremičitých komplexov ftalocyanínov (SiPcs, vid' ďalej).

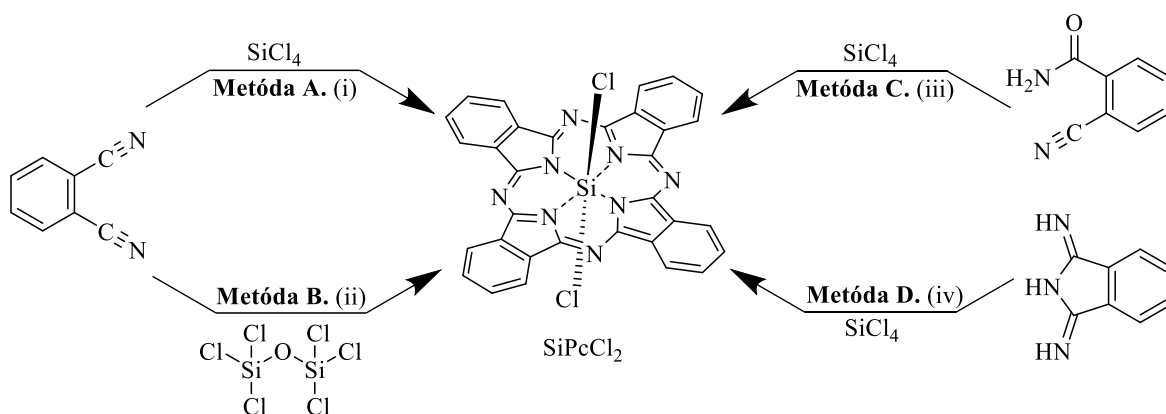
5.2.4. Kremičité komplexy ftalocyanínov

Kremík je vďaka voľným d-orbitálom schopný poskytnúť až šesť väzieb (hybridizácia sp^3d^2), čím umožňuje zavedenie ďalších substituentov do axiálnych polôh SiPcs, vyčnievajúcich nad a pod planárny tetraisoindolínový makrocyklus. Výhodou kremíka je aj jeho atómový polomer, ktorý umožňuje jeho koordináciu do tetraisoindolínového jadra bez značného narušenia planarity systému.^[35,36] Kremík sa v molekule Pcs nachádza väčšinou tetravalentne.^[37]

Molekuly SiPcs môžu v axiálnych polohách obsahovať veľké množstvo substituentov, pričom väčšina z nich sa pripravuje nukleofilnou substitúciou axiálne viazaných atómov chlóru v molekule dichlóroftalocyaninátokremičitého komplexu (silicon phthalocyanine dichloride, SiPcCl₂), napr. za iný halogén, hydroxyl, alkyl alebo aryl. Navyše tieto substitúcie môžu byť symetrické alebo asymetrické. Periférne substitúcie na tetrabenzoporfyrázínovom kruhu SiPcs sú takisto možné.^[10]

5.2.4.1. Syntéza SiPcCl₂

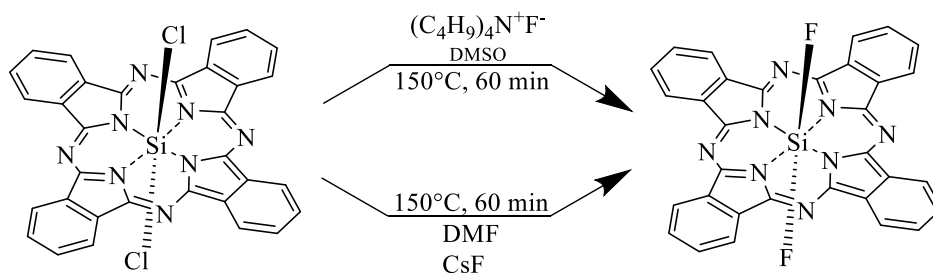
Prvé úspešné pokusy o syntézu kremičitých ftalocyanínov (SiPcs) templátovou metódou boli uskutočnené v 60-tych rokoch 20. storočia v USA. Jednalo sa o cyklotetramerizáciu ftalonitrilu ako monoméru na tetrachlórsilán (Obr. 9, **Metóda A**) alebo hexachlórodisiloxán (Obr. 9, **Metóda B**) ako templát, bez nutnosti použitia alkoholátu. Produktom reakcie bol modrý SiPcCl₂.^[10] Výhodou cyklotetramerizácie na hexachlórodisiloxán je podľa tvrdení autorov vyššia výťažnosť reakcie.^[38]



Obrázok 9: Schéma prípravy SiPcCl_2 . Podmienky a reaktanty: (i) bezvodý chinolín, 237 °C, 2 h; (ii) bezvodý chinolín, 237 °C, 4 h; (iii) bezvodý chinolín, bezvodý 1,2-dichlórbenzén, 205 °C, 5 min; (iv) bezvodý chinolín, 237 °C, 30 min.

Inou možnosťou prípravy SiPcCl_2 je cyklotetramerizácia s použitím vyššie uvedených monomérov: 2-kyanokarbamid (Obr. 9, **Metóda C**) a 1,3-diiminoisoindolínu (Obr. 9, **Metóda D**), podľa uvedenej schémy, s výťažkami ~35 % a ~71 %, v uvedenom poradí. Obe metódy využívajú ako templát tetrachlórsilán. Podnetom pre vývoj posledných dvoch uvedených metód bola ich vysoká výťažnosť a uľahčenie postsyntetickej fázy čistenia produktu.^[10]

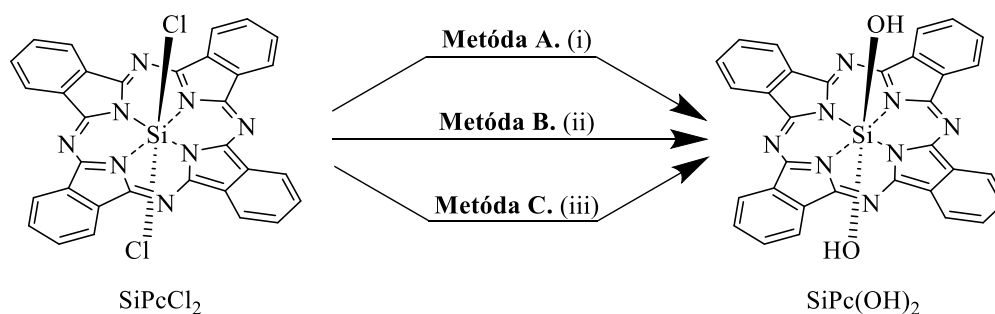
Chlór v molekule SiPcCl_2 možno nahradiť za fluór kvôli úprave reaktivity či iných vlastností Pc. Reakcia prebieha podľa nižšie uvedenej schémy (Obr. 10).^[28]



Obrázok 10: Schéma transhalogenácie.

5.2.4.2. Syntéza SiPc(OH)_2

Bolo vyzorované, že v molekule SiPcCl_2 je väzba Si-Cl za určitých podmienok náchylná k hydrolytickému štiepeniu, za vzniku väzby Si-OH. To viedlo k príprave dihydroxyftalocyanínatokremičitému komplexu (SiPc(OH)_2) za nižšie uvedených podmienok (Obr. 11, **Metóda A, B, a C**). Výťažok **Metódy A a B** predstavuje ~80 %, v prípade **Metódy C** predstavuje ~83 %.^[10] Jedná sa o chemicky a termálne stabilný derivát, ktorý rozširuje spektrum potenciálnych substituentov v axiálnych polohách Pcs, prostredníctvom kondenzačných, dehydratačných a polymerizačných reakcií.^[39]



Obrázok 11: Schéma prípravy SiPc(OH)_2 2. Podmienky a reaktanty: (i) zmes 1 : 1 (v/v) pyridínu a konc. vodného roztoku NH_3 , 115 °C, 10 h; (ii) prebytok H_2SO_4 , RT; (iii) NaOCH_3 , 95% etanol, 78 °C, 1 h.

Poslednou, relatívne novou, metódou je reakcia SiPcCl_2 s 50% vodným roztokom CsOH v DMF v inertnom prostredí argónu.^[40]

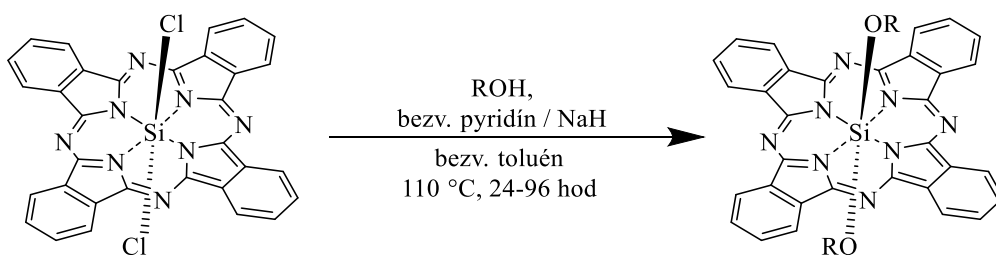
5.2.4.3. Axiálne substitúcie

Substitúciou axiálnych polôh v molekule SiPc je možné do molekuly inkorporovať rôzne druhy funkčných skupín, najčastejšie prostredníctvom éterového, sulfidického či aminového mostíka. Možná je i priama väzba medzi kremíkom a uhlíkom.^[10]

Do MPcs, ktorých centrálné atómy neposkytujú axiálne väzby, sa funkčné skupiny zavádzajú periférne na tetraisoindolínový kruh metódou štatistickej kondenzácie spojenou s radom problémov (kapitola 5.2.2.).^[21] Tieto problémy možno vyriešiť práve presunutím funkčných skupín z kruhu do axiálnych polôh, čím možno utilizovať symetrické SiPcs . Axiálnymi substituentami ďalej možno zvýšiť rozpustnosť či znížiť agregáciu Pcs.^[10] Zaujímavosťou je fotolýza axiálnej Si-O alebo Si-C väzby po iradiácii svetlom o vysokej vlnovej dĺžke (NIR, near infra-red), a skrýva teda potenciál pre vývoj nových aplikácií SiPcs v medicíne.^[41]

5.2.4.3.1. Axiálne substitúcie cez kyslíkový atóm

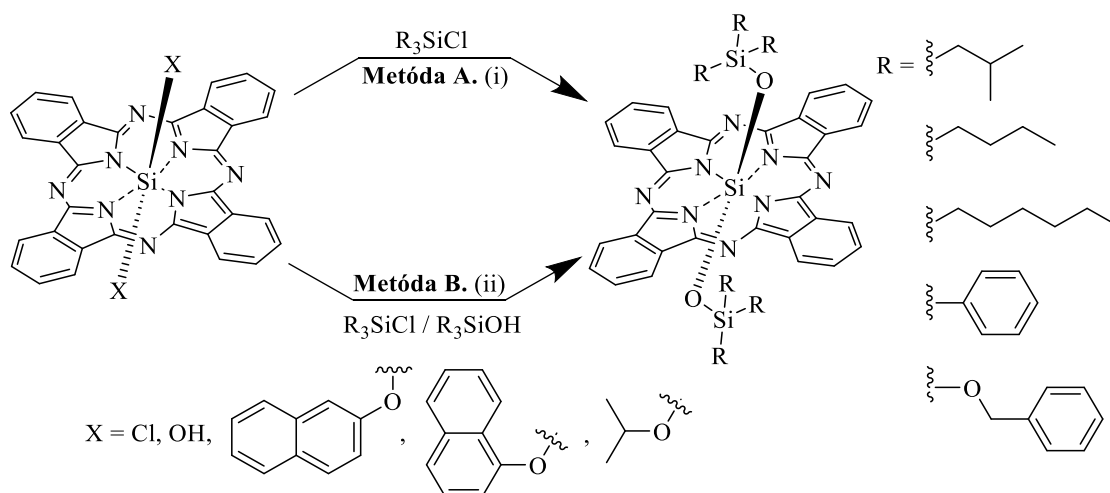
Tento typ substitúcií umožňuje naviazanie alifatických či aromatických alkoholov, silanolov a karboxylových kyselín, a to buď symetricky alebo asymetricky. Typicky sa jedná o zahrievanie SiPcCl_2 s nadbytkom alkoholu (ev. fenolu) pri teplote varu bezvodného rozpúšťadla (DMF, toluén apod.) v inertnej atmosfére a za prítomnosti zásady, najčastejšie pyridínu alebo NaH (Obr. 12).^[42,43]



ROH = 2-naftol, 1-naftol, 4-aminofenol, propán-2-ol

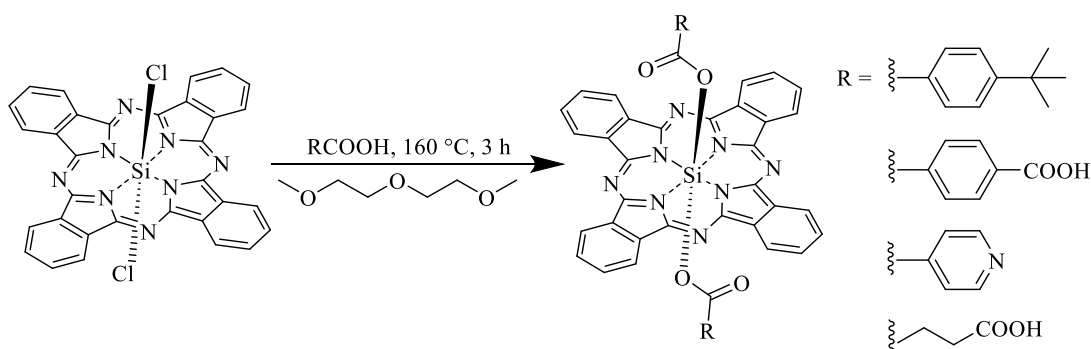
Obrázok 12: Schéma substitúcie axiálne naviazaných Cl skupín za alkoxy skupiny.

Podobne sa postupuje pri vytváraní siloxanovej väzby (Si-O-Si). V takom prípade môže byť východiskovou látkou SiPcCl₂ (Obr. 13, **Metóda A**) alebo SiPc(OH)₂/SiPc(OR)₂ (Obr. 13, **Metóda B**). Tie reagujú so silanolmi alebo monochlórsilánmi.^[38,43,44]



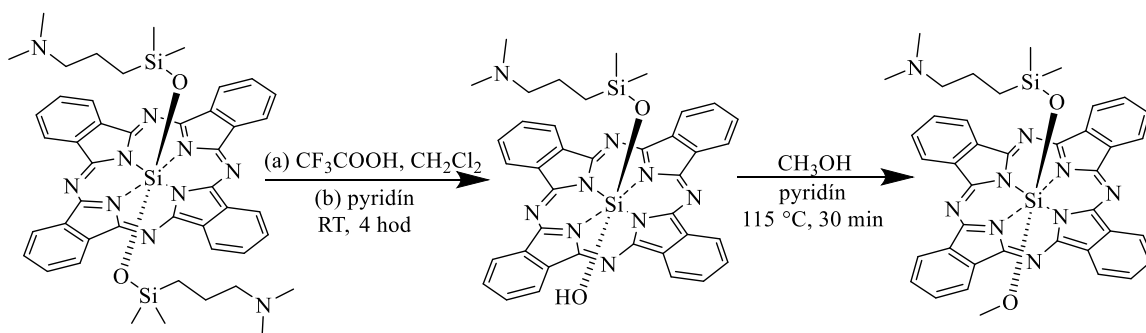
Obrázok 13: Schéma prípravy SiPc so siloxanovými väzbami v axiálnych polohách. Podmienky a reaktanty: (i) NaOH, Aliquat HTA-1®, chlórbenzén, 132 °C, 6 hod; (ii) toluén, pyridín, 110 °C, 3-6 hod.

Axiálny ligand môže byť viazaný aj esterovou väzbou. Reaguje SiPcCl₂ s príslušnou karboxylovou kyselinou v polárnom bezvodom rozpúšťadle (napr. methoxyethyl éter), podľa nižšie uvedenej schémy (Obr. 14). Vznik esterovej väzby prebieha jednoducho i bez prítomnosti organických zásad.^[10,43,45]



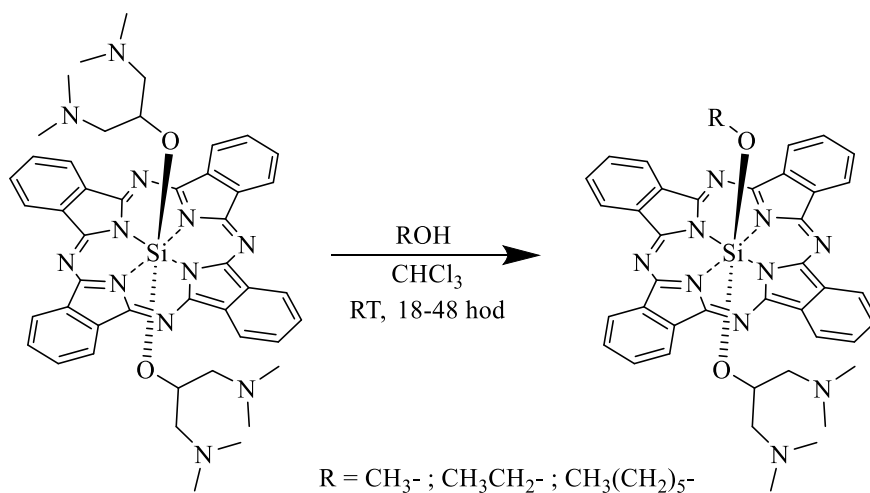
Obrázok 14: Schéma prípravy SiPc s esterovými väzbami v axiálnych polohách.

Situácia je o niečo komplikovanejšia pri syntéze axiálne nesymetrických SiPcs. Vychádza sa z axiálne disubstituovaných SiPcs, u ktorých môže byť substitúcia jedнокroková alebo dvojkroková. Príkladom dvojkrokovej substitúcie môže byť odštiepenie jednej siloxanovej skupiny pôsobením kyseliny trichlóroctovej. Následne takto vzniknutý monosubstituovaný SiPc sa nechá reagovať s alkoholom v prostredí pyridínu (Obr. 15).^[46]



Obrázok 15: Schéma dvojkrokovej syntézy asymetrických SiPcs.

Druhým príkladom je reakcia axiálne symetricky substituovaného SiPc s alkoholmi s krátkym uhlíkovým reťazcom (do šiestich uhlíkov) v chloroforme. Reakcia prebieha v jednom kroku (Obr. 16).^[47]



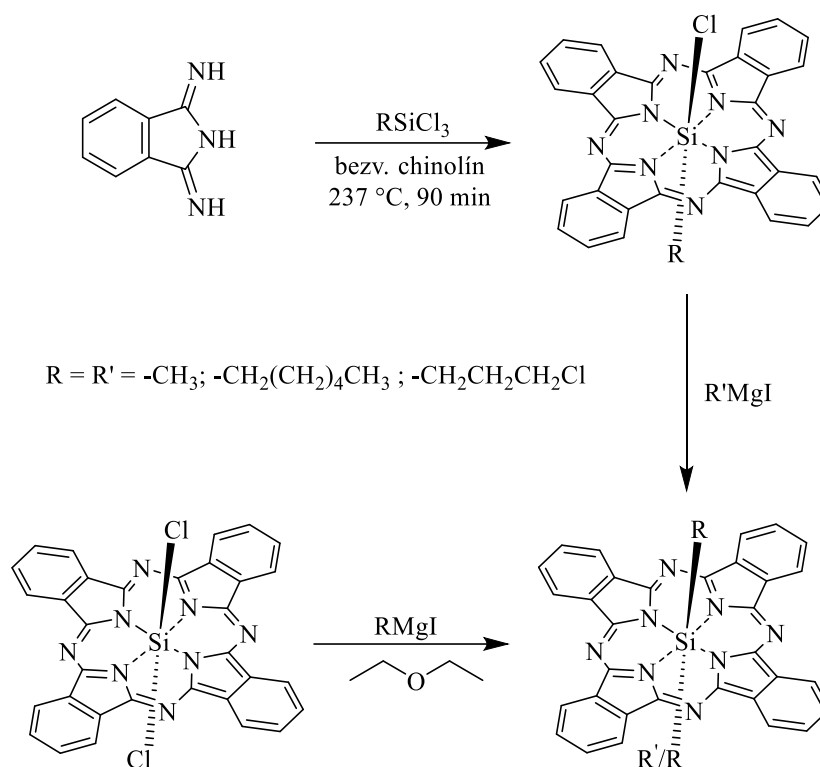
Obrázok 16: Schéma jednokrokovej syntézy asymetrických SiPcs.

5.2.4.3.2. Axiálne organokovové reakcie

Syntéza SiPc s dvoma Si-C axiálnymi väzbami je pomerne náročný proces. Situáciu komplikuje kationická povaha kremíku, ktorý preferuje väzbu s prvkami s vysokou elektronegativitou, ďalej nízky rozdiel elektronegativít kremíku a uhlíku, ale taktiež fotolabilita väzby Si-C. Posledný zmieneny fakt sa niekedy s výhodou využíva pri syntéze axiálne asymetricky substituovaných SiPcs.^[10,48]

Prvou metódou syntézy je reakcia SiPcCl₂ s Grignardovými činidlami RMgI., kde R = primárny alkyl, aryl alebo alkín. V tomto ohľade sú možnosti voľby axiálnych ligandov veľmi limitované. SiPcCl₂ reaguje s nadbytkom Grignardového činidla v bezvodnom THF a v inertnej atmosfére bez prístupu svetla. Pritom vzniká odpovedajúci symetrický SiPcR₂ (Obr. 17).^[49]

Pri syntéze asymetrických SiPcRR' sa najprv pripravuje monosubstituovaný SiPcClR cyklotetramerizáciou DII v bezvodnom chinolíne na modifikovaný templát RSiCl₃.^[50] Ten potom reaguje s Grignardovým činidlom R'MgI, pričom dôjde k nahradeniu druhého chlóru v molekule SiPc a vzniku asymetricky substituovaného SiPcRR' (Obr. 17).^[51]



Obrázok 17: Schéma syntézy organokovových SiPc s využitím Grignardových činidiel.

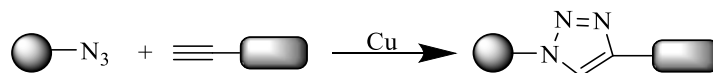
Prostredníctvom niekoľkokrokovej syntézy možno pripraviť i kombinovaný SiPc, ktorý obsahuje rôzne druhy axiálných vazeb. Jedná sa o syntézu monosubstituovaného SiPcClR, jeho následnú hydrolýzu kyselinou sírovou na SiPcOHR. Tento intermediát potom podstupuje dehydratačnú reakciu s alkoholmi/fenolmi na SiPcROR'.^[50]

5.2.4.3.3. Význam click chémie

Pojem click chémie odkazuje na typ biologických syntéz, v ktorých vzájomne reagujú malé jednotky reaktantov, za vzniku presne špecifikovaného produktu. Výhodou sú jednoduché podmienky pre prevedenie a vysoké výťažky reakcií. Patria sem rôzne typy reakcií ako napr. cykloadície, nukleofilné otváranie kruhu, adícia na násobné väzby typu uhlík-uhlík a iné. Význam click chémie v posledných rokoch stúpa hlavne v oblastiach organických syntéz, chémie polymérov, biomedicíny a pri hľadaní nových liečiv.^[52]

Najznámejšou click reakciou je Huisgenova 1,3-dipolárna cykloadícia medzi azidmi a terminálnymi alkinmi katalyzovaná meďou (Obr. 18). Reakcia nevyžaduje žiadne špeciálne podmienky (vysoké teploty či extrémne pH), je spoľahlivá, jednoduchá, s vysokým výťažkom a vysoko špecifická (formácia 1,2,3-triazolového spojovacieho mostíku). Na prevedenie možno použiť veľké množstvo rozpúšťadiel, vrátane vody. Špeciálnym typom tejto cykloadície je adícia na cyklooktín, ktorá sa vďaka vnútornému

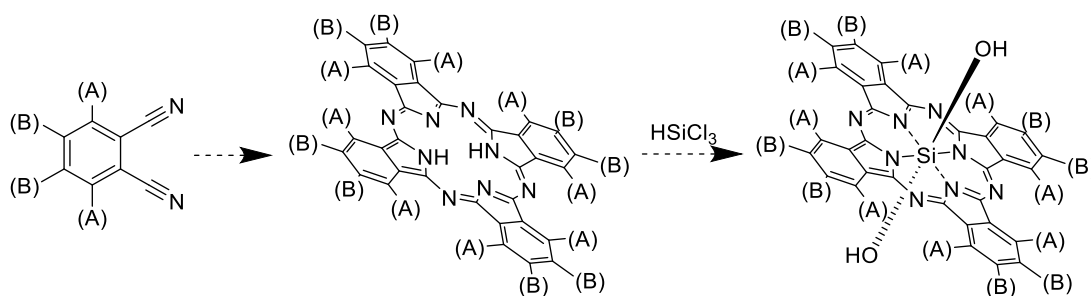
pnutiu v cykle zaobíde bez katalýzy meďou, čo je možné s výhodou použiť pri značení oligonukleotidových sekvencií (viď ďalej).^[52]



Obrázok 18: Schéma Huisgenovej cykloadície.

5.2.4.4. Periférne a neperiférne substituované SiPcs

Pcs substituované na makrocykle sa pripravujú zavedením funkčných skupín do molekuly ftalonitrilu (ešte pred samotnou cyklotetramerizáciou) do periférnych alebo neperiférnych polôh za vzniku 4,5 alebo 3,6-disubstituovaného prekursoru (kapitoly 5.2.1. a 5.2.2.). Produktom sú potom *tetra* či *okta* substituované Pcs.^[10] Využiť možno ako metódu templátovú, tak cyklotetramerizáciu s následnou inzerciou kovu (kapitola 5.2.2.).^[53] Aj keď SiPcs sa pripravujú najčastejšie templátovou metódou, sú popísané postupy, prostredníctvom ktorých možno SiPcs pripraviť tiež inzerciou kremíku do H₂Pc. Kremík do substituovaného H₂Pc možno inzerovať napr. vo forme HSiCl₃ (Obr. 19).^[54]



Obrázok 19: Schématické znázornenie inzercie Si do periférne (ev. neperiférne) substituovaného SiPc.

Periférne substitúcie na hotovom SiPc nie sú častým javom, ale predsa existujú úspešné pokusy o ich prevedenie. Za zmienku stojí príprava SiPc periférne substituovaného sulfónovými skupinami. Vzniká reakciou SiPcCl₂ s kyselinou chlorsírovou (ClSO₃H) a thionyl chloridom.^[10]

5.3. Vlastnosti

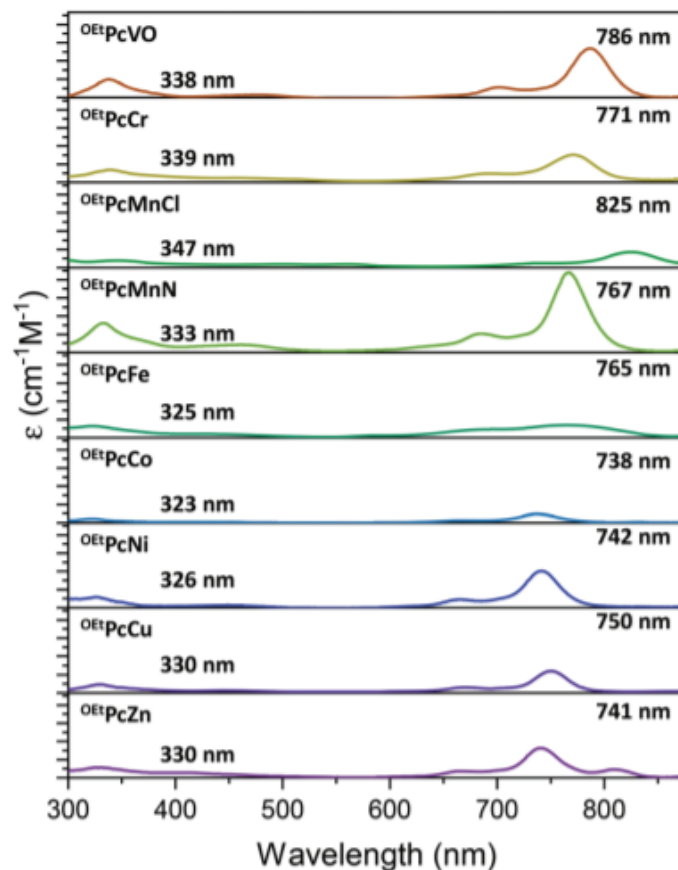
5.3.1. Absorpcia UV-Vis žiarenia

Základná molekula Pc i AzaPc obsahuje vo svojej štruktúre 18 π -delokalizovaných elektrónov. Vďaka tomuto rozsiahlemu konjugovanému makrocyclu majú vysoký extinkčný koeficient a taktiež umožnenú absorpciu fotónov vo vyšších vlnových dĺžkach. V prípade H₂Pcs sa hodnota ich absorpčného maxima pohybuje v rozmedzí 670 - 750 nm.^[55] Pri týchto vlnových dĺžkach sa dostávame do tzv. blízkej infračervenej (near-infrared, NIR) oblasti, charakterizovanej vlnovými dĺžkami 650 - 1350 nm.^[56] Fotóny o tejto vlnovej dĺžke lepšie prenikajú biologickými štruktúrami, sú menej absorbované krvou a taktiež nie sú pohlcované vodou.

Na absorpčnej krivke v absorpčnom spektre Pc pozorujeme dva úseky. Je to takzvaný B-pás (Sorretov pás) pri nižších vlnových dĺžkach (300 - 400 nm) a Q-pás odpovedajúci vlnovým dĺžkam absorpčného maxima v NIR oblasti.^[57] Pre charakteristiku Pcs, AzaPcs ale i ďalších analógov (napr. naftalocyanínov) je dôležitý hlavne Q-pás, jeho tvar, intenzita a poloha. Pre H₂Pcs je typický tzv. rozštiepený Q-pás (Q-band splitting).^[58] Existenciu Q-pásmo možno pripísať excitácii delokalizovaných elektrónov po absorpcii fotónov o určitej vlnovej dĺžke (tzv. π - π^* presun) z HOMO do LUMO. Q-pás preto do určitej miery odzrkadľuje aj vnútorné energetické charakteristiky molekuly.^[59]

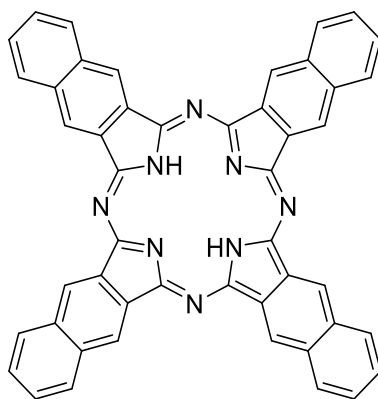
Polohu Q-pásmo Pc možno rôznymi úpravami molekuly meniť buďto k vyšším vlnovým dĺžkam (bathochromný posun, red-shift) alebo k nižším vlnovým dĺžkam (hypsochrómny posun, blue-shift). Pridaním kovového prvku možno modifikovať hodnotu absorpčného maxima Pcs bathochromne i hypsochrómne. Ako príklad môže poslúžiť porovnanie H₂Pc^{OEt} (Pc^{OEt} = 1,4,8,11,15,18,22,25-oktaetoxy-Pc) a MPc^{OEt} (M = Co, Cr, Cu, Fe, Zn, Ni.). Zatiaľ čo H₂Pc^{OEt} má absorpčné maximum pri vlnovej dĺžke 770 nm, MPc^{OEt} obsahujúci Co, Cr, Cu, Fe, Ni alebo Zn má absorpčné maximum pri vlnovej dĺžke 738 nm, 771 nm, 750 nm, 765 nm, 742 nm a 741 nm, v uvedenom poradí (Obr. 20).^[60]

Pre porovnanie, zatiaľ čo Q pás H₂Pc sa nachádza pri vlnovej dĺžke 698,5 nm^[61], Q-pás SiPc(OH)₂ sa nachádza pri vlnovej dĺžke 678 nm a v prípade kondenzácie viacerých molekúl SiPc(OH)₂ prostredníctvom siloxánovej väzby Si-O-Si, sa s pribúdajúcimi SiPc podjednotkami Q-pás posúva hypsochrómne (dimér: 639,5 nm).^[62]



Obrázok 20: Príklady absorpčných spektier rôznych MPcs s vyznačenými hodnotami maxima B-pásu a Q-pásu. Prevzaté z [60].

Prikondenzovaním ďalších benzénových jadier k makrocyklu Pc dochádza k rozšíreniu konjugovaného systému a bathochrómneho posunu. Naftalocyaníny (Obr. 21) preto zobrazujú Q-pás pri vlnových dĺžkach o 100 nm vyšších než im analogické Pcs.^[63] Naopak u AzaPcs zavedenie atómov dusíku do molekuly spôsobuje hypsochrómny posun. Preto je Q-pás u TPyzPzs posunutý oproti im analogickým Pcs približne o 40-60 nm nižšie.^[9,64]



Obrázok 21: Obecná štruktúra naftalocyanínu.

Polohu Q-páasu ovplyvňujú i ďalšie modifikácie molekuly, hlavne substituenty naviazané na makrocyklus Pcs (periférne a neperiférne). U substituentov na makrocykle záleží u Pcs i AzaPcs na tom, akým atómom sú tieto substituenty bezprostredne naviazané na makrocyklus. Bathochrómny posun spôsobujú substituenty, ktoré sa na kruh viažu cez síru, dusík alebo zavedením acetylénovej skupiny.^[64] Napríklad zavedením thioalkyl skupiny je tento efekt najvýraznejší u thioalkylu s dĺžkou 3 uhlíky.^[65] Bathochrómny posun spôsobujú aj substituenty obsahujúce síru alebo dusík v rámci heterocyklu (päťčlenné heterocykly o 50 nm, šesťčlenné o 30 nm) a to i napriek vychýleniu aromatických jadier napojených heterocyklov z roviny makrocyklu. Tento efekt je spôsobený menším stericným bránením medzi dvomi 5-člennými heterocyklami v *ortho* polohách. U heterocyklov je miera posunu závislá aj na polohe heteroatómu voči väzbe na makrocyklus (u 3-yl izomérov o 12 nm viac bathochrómne oproti 2-yl izomérom). Ak je periférny substituent pripojený cez kyslík (napr. alkoxy skupina), posun je naopak hypsochrómny. Alkyl či aryl napojený na makrocyklus priamo cez uhlík žiadny posun nespôsobuje.^[64]

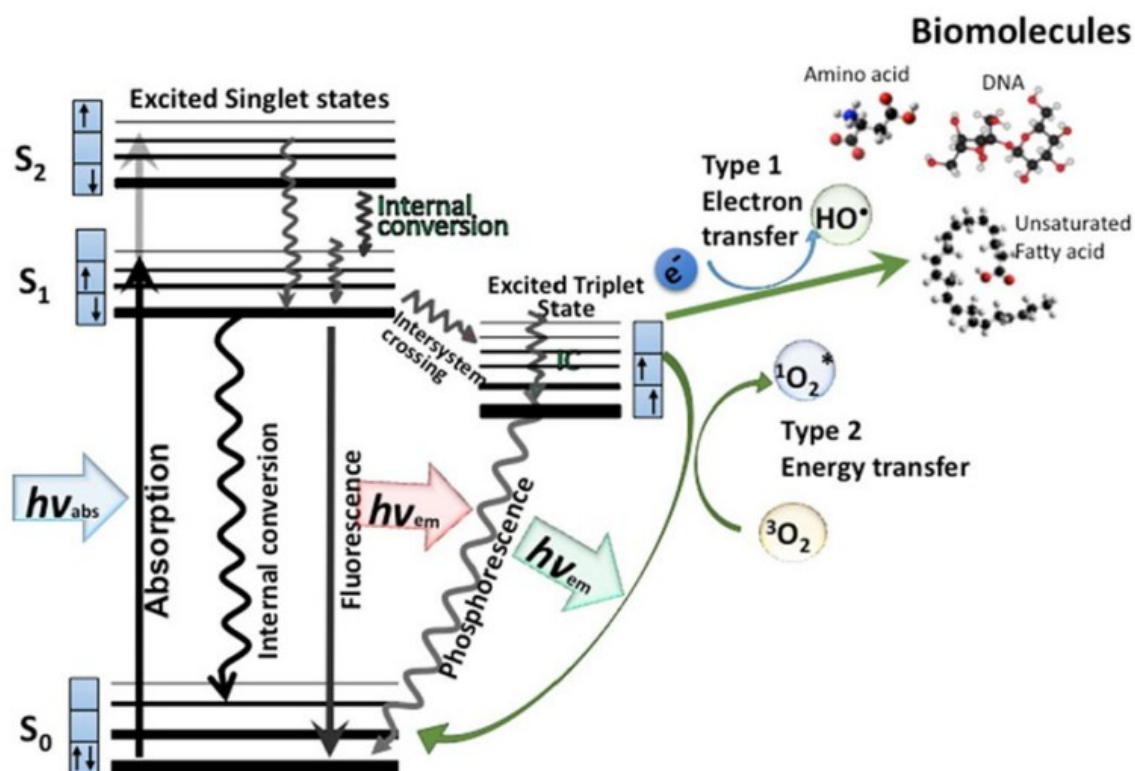
Axiálne substituenty posúvajú polohu Q-páasu len mierne hypsochrómne (v prípade axiálne substituovaných SiPcs o 8-10 nm oproti SiPc(OH)₂).^[66,67] Význam axiálnych substituentov preto zostáva hlavne v ovplyvnení rozpustnosti, agregácie molekuly alebo v zavádzaní potrebných funkčných skupín. Ich efekt na tieto parametre je dokonca väčší, než v prípade substituentov na makrocykle.^[10]

5.3.2. Fluorescencia a tvorba singletového kyslíku

Medzi fotoaktívne látky patrí široká skupina chemických zlúčenín so zvýšenou citlivosťou k svetelnému žiareniu (fotónom) určitej vlnovej dĺžky. Chromofórom Pcs je samotný tetraisoindolinový makrocyklus s možnosťou konjugácie s periférnymi substituentami. Prvý fotoproces, ktorý musí prebehnúť, je absorpcia žiarenia určitej vlnovej dĺžky (kapitola 5.3.1.), nakoľko práve tá iniciuje následné procesy.^[68]

Po absorpcii žiarenia dochádza k excitácii Pc zo základného do excitovaného stavu. Potom sa molekula vracia do pôvodného energetického stavu, pričom nadbytočnej energie sa zbavuje rôznymi spôsobmi: formou tepla, fluorescenciou, odtrhnutím elektrónu a tvorbou voľných kyslíkových radikálov (ROS) (fotoproces typu I) alebo produkciou voľného kyslíkového radikálu ¹O₂ (fotoproces typu II) (Obr. 22). Pravdepodobnosť danej molekuly uskutočniť jeden z uvedených fotofyzikálnych alebo

fotokemických procesov sa vyjadruje pomocou kvantových výťažkov. Prostredníctvom nich možno zhodnotiť potenciál molekuly v zmysle jej praktického použitia.^[69]



Obrázok 22: Modifikovaný Jablonského diagram. Prevzaté z ^[69].

Schopnosť Pcs emitovať fluorescenciu je už dlhoročne predmetom výskumov spojených s ich medicínou využitím hlavne v oblasti diagnostiky. Absorpcia fotónu vhodnej vlnovej dĺžky molekulou Pc vedie k excitácii jedného nízkoenergetického singletového elektrónu do orbitálu s vyššou energiou ($S_0 - S_1$, Obr. 22).^[69] Kvantový výťažok fluorescencie (Φ_F) je u Pcs ovplyvniteľný niekoľkými faktormi, hlavne povahou centrálného atómu a periférnymi substitúciami. Hodnota kvantového výťažku fluorescencie H_2Pc je približne 0,6, s maximom fluorescencie pri 704,5 nm.^[61] MPcs s diamagnetickými kovmi (In, Si, Zn) majú oproti paramagnetickým kovom (Cr, Cu, Fe, Mn) dlhšiu životnosť S_1 a teda i vyššie Φ_F . Na druhú stranu kovy s vyšším protónovým číslom majú zvýraznené spin-orbit interakcie, ktoré facilitujú prechod do tripletového stavu (viď ďalej), na úkor fluorescencie a dochádza k zníženiu Φ_F . Jedná sa o tzv. efekt ťažkého kovu.^[61] Preto majú napríklad H_2Pcs spravidla vyššie Φ_F než im odpovedajúce $ZnPcs$.^[70] Iná štúdia pri porovnávaní rovnako substituovaných $SiPcs$, $ZnPcs$ a $PdPcs$ preukázala pokles Φ_F v rade $Si > Pd/Zn$. V uvedenej štúdií zavádzaním alkylových substituentov do neperiférnych polôh navyše došlo k výraznému poklesu kvantových

výtťažkov fluorescencie oproti nesubstituovaným parentným látkam, výraznejšie s predlžujúcim sa alkylom.^[65] Na makrocykle sa však okrem alkylov môže vyskytovať rada iných funkčných skupín, ktoré v rôznej miere ovplyvňujú hodnotu Φ_F . V závislosti na ich umiestnení (periférne alebo neperiférne), povahe (elektrón-odťahujúce alebo elektrón-dodávajúce) a počte (4 alebo 8 substituentov) sa líši aj vlnová dĺžka emisného maxima. Deriváty s maximom emisie nad 740 nm majú zvyčajne $\Phi_F < 0,1$ v porovnaní s derivátmi emitujúcimi s maximom pri nižších vlnových dĺžkach.^[70]

Ďalším fotofyzikálnym javom je tzv. zhášanie fluorescencie, ktorého sú schopné iba niektoré štrukturálne typy, primárne zo skupiny AzaPcs (tzv. dark quenchers). Tieto zlúčeniny nevykazujú žiadnu vnútornú fluorescenciu, avšak sú schopné efektívne eliminovať fluorescenciu produkovanú fluorofórom v dostatočnej blízkosti dark quencheru.^[71] K tomu dochádza spravidla dvomi mechanizmami, PET (photoinduced electron transfer) alebo ICT (intramolecular charge transfer).^[71,72]

Zatiaľ čo fluorescencia patrí medzi radiačnú formu zbavovania sa nadbytočnej energie, tvorba ROS a singletového kyslíku je umožnená vďaka neradiačnému procesu tzv. intersystem crossing (ISC), teda prechodu elektrónov v Pcs z S_1 do tripletového stavu, pričom proces je spojený so zmenou spinu jedného elektrónu. Tripletový stav sa môže do pôvodného základného stavu dostať buďto emisiou fotónu (fosforescenciou), ktorá je ale za týchto podmienok nepreferovaná (rešpektujúc selekčné kvantové pravidlá), alebo predaním energie na okolité molekuly neradiačným procesom. Tripletový stav je oproti excitovanému singletovému stavu (S_1) stabilnejší a má dlhšiu životnosť (tripletový stav v ráde μs , singletový stav v ráde ns), čo umožňuje dostatočný časový priestor pre transfer energie na okolité molekuly (Obr. 22).^[69] Molekula schopná po excitácii fotónom týmto spôsobom interagovať s neďalekými molekulami sa nazýva fotosenzitizér (PS).

Koncentrácia kyslíku v okolí fotosenzitizéru, rovnako ako stabilita tripletového stavu (triplet state lifetime) hraje kľúčovú rolu v tom, ktorý z fotoprocsov prebehne. Fotoprocsov typu I prebieha hlavne v prostredí so zníženou koncentráciou kyslíku, prípadne pri jeho úplnej absencii. Excitovaný fotosenzitizér interaguje s okolitými biologickým štruktúrami, pričom dochádza k prenosu elektrónu. Za týchto podmienok dochádza k oxidácii biologických štruktúr a k produkcii voľných radikálov.^[73] Pri fotoprocse typu II dochádza po formácii tripletového stavu k tvorbe singletového kyslíku, ktorý je výrazne cytotoxický, poškodzuje štruktúry bunky a narušuje jej biochemické a metabolické dráhy.^[73]

Hodnota kvantového výťažku singletového kyslíku (Φ_{Δ}) závisí na rôznych faktoroch (hodnoty charakterizujúce tripletový stav, schopnosť substituentov zhasať singletový kyslík, účinnosť prenosu energie z excitovaného stavu kyslíku do základného stavu, povaha centrálného atómu, substituenty na Pc, rozpúšťadlo a i.).^[65] Pcs obsahujúce napr. Zn, Al, Mg, majú podstatne vyššie hodnoty Φ_{Δ} než Pcs obsahujúce Co, Ni, Cu.^[74] Podľa už vyššie zmienenej štúdie porovnávajúcej SiPcs, PdPcs a ZnPcs bolo zistené, že vplyvom efektu ťažkého kovu sa hodnota Φ_{Δ} zvyšuje v rade Si < Zn < Pd, tento trend navyše zosilňuje substitúcia dlhšími alkylmi na periférii.^[65]

Na základe inej štúdie bol porovnávaný vplyv periférnych substitúcií ZnPc na hodnoty Φ_{Δ} . Väčšina substituentov (4-metylfenoxy, 4-*tert*-butylfenoxy a chlór skupina) poskytovali nižšie hodnoty Φ_{Δ} oproti nesubstituovanému ZnPc, s výnimkou ZnPc substituovanému štyrmi sulfónovými skupinami ($\Phi_{\Delta(\text{ZnPc})} = 0,67$, $\Phi_{\Delta(\text{ZnPc}(\text{SO}_3^-))} = 0,72$). Tento jav môže byť vysvetlený intramolekulárnymi vibráciami prvých zmienených substituentov, ktoré eliminujú singletový kyslík už vo chvíli jeho vzniku. Ďalším faktorom nižších hodnôt Φ_{Δ} u ZnPcs substituovaných nitro či chlór skupinami je ich zvýšená miera k agregácií. Naproti tomu repulzné sily anionickej sulfo skupiny sa javia dostatočne silné k zabráneniu agregácie, vďaka čomu poskytujú vyššie hodnoty Φ_{Δ} .^[75]

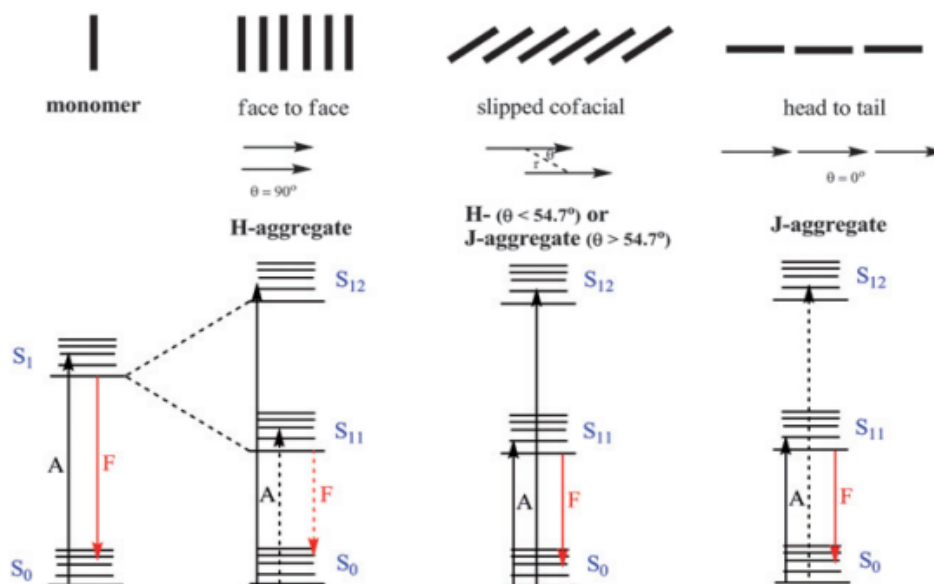
Hodnota Φ_{Δ} môže byť ďalej ovplyvnená i v závislosti na použítom rozpúšťadle. K významnému ovplyvneniu (zníženiu) tejto hodnoty dochádza hlavne v rozpúšťadlách, ktoré absorbujú v NIR oblasti (voda), preto sa zdá byť výhodné použiť ako rozpúšťadlo DMSO, pyridín, DMF, ev. toluén, v závislosti na hydrofilité a lipofilité sledovaného MPC.^[75]

5.3.3. Agregácia

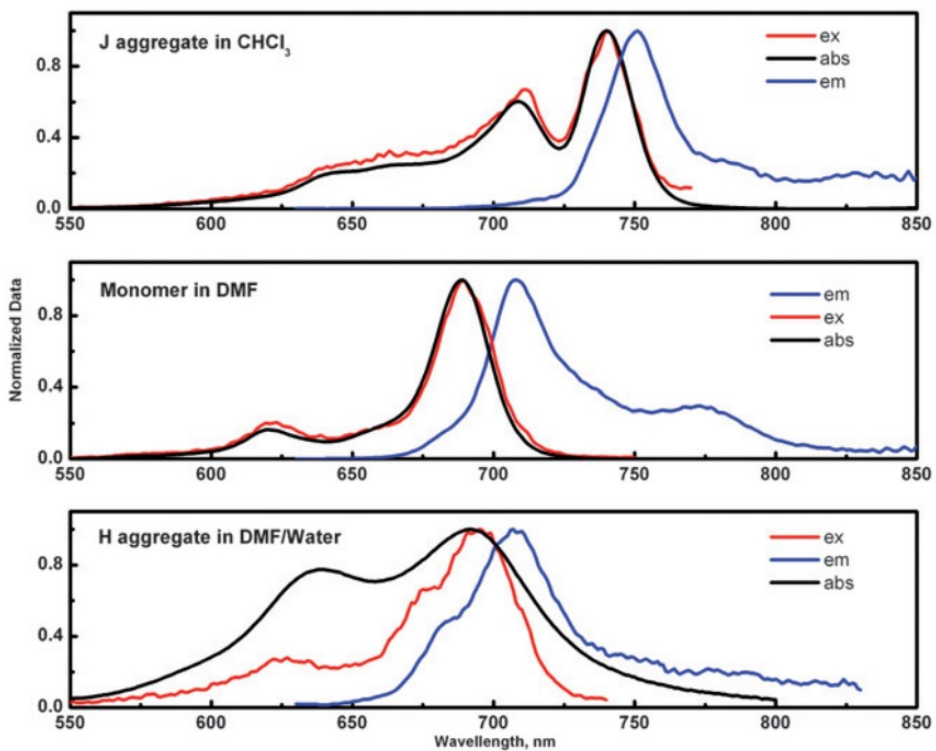
K agregácii dochádza prostredníctvom neväzbových interakcií (π - π interakcie, hydrofóbne interakcie, van der Waalové sily) medzi molekulami chemických látok. V prípade Pcs k tomu prispieva ich hydrofobicita a planarita. Agregácia ovplyvňuje všetky základné vlastnosti Pcs, vrátane absorpcie, fluorescencie, systémového prechodu (ICS), terapeutickú aktivitu, rozpustnosť, a taktiež sťažuje proces izolácie čistých produktov. Agregované Pcs majú totiž vyššiu tendenciu k neradiačnému uvoľňovaniu energie (formou tepla), znižuje sa životnosť excitovaného, a teda i tripletového stavu molekuly, ale aj schopnosť fluorescencie či produkcie singletového kyslíku.^[76]

V prostredí rozpúšťadla môžu chemické látky vytvárať buďto tzv. H-dimér (face-to-face) alebo J-dimér (head-to-tail). Líšia sa hlavne rozmiestnením dipólového momentu

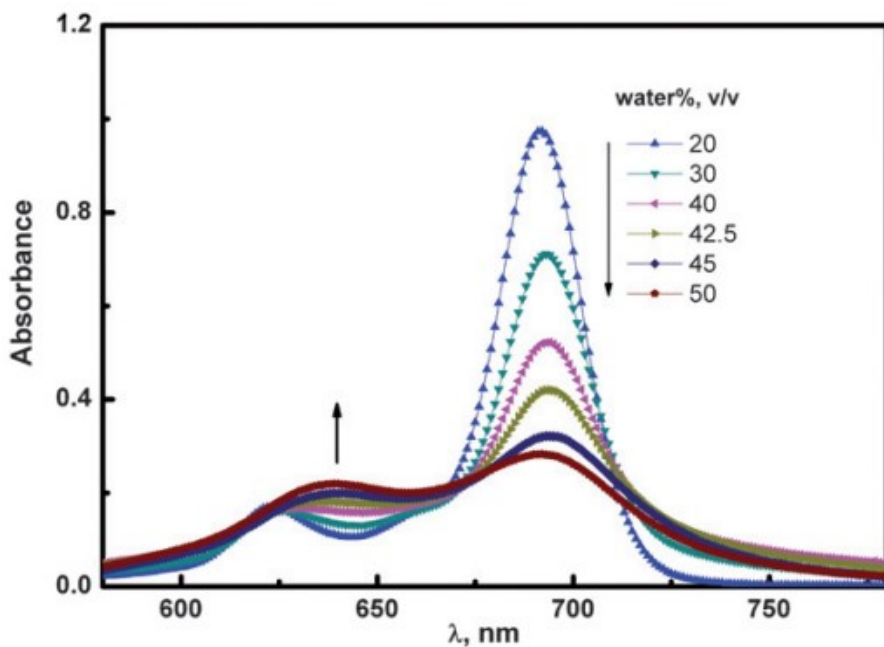
vzhľadom na spojnicu centier dvoch či viacerých molekúl (Obr. 23). Tvorbu agregátu možno detekovať spektroskopicky, vznikom nových absorpčných pásov a následných matematických výpočtov vychádzajúcich z Lambert-Beerovho zákona.^[77,78] Z hľadiska absorpcie a emisie, H-dimér spôsobuje hypsochrómny posun a nevykazuje fluorescenciu, naproti tomu J-dimér spôsobuje v oboch prípadoch bathochrómny posun (Obr. 24). Tvorba agregátu závisí i na použitom rozpúšťadle (Obr. 25). V prípade Pcs sa H-diméry vyskytujú častejšie.^[78]



Obrázok 23: grafické znázornenie usporiadania makrocyclov v $H_2Pcs/MPcs$ v H alebo J agregáte a asociovaný diagram energetických hladín s vyznačenými povolenými (plná šípka) a „zakázanými“ (prerušovaná šípka) energetickými zmenami. A = absorpcia; F = fluorescencia. Prevzaté z ^[78].



Obrázok 24: normalizované absorpčné, excitačné a fluorescenčné spektrá $ZnPc(\alpha\text{-OPh})_4$ v neagregovanej (monomérnej) a agregovanej (H alebo J agregát) forme v rôznych rozpúšťadlách. Prevzaté z [78].



Obrázok 25: absorpčné spektrá $ZnPc(\alpha\text{-OPh})_4$ v zmesi (v/v) DMF/voda s rôznym percentuálnym zastúpením vodnej zložky. Koncentrácia $ZnPc(\alpha\text{-OPh})_4$ bola pri každom meraní konštantná. Prevzaté z [78].

Pcs sú dobre rozpustné v nepolárnych rozpúšťadlách, zvlášť po dekorácií molekuly objemnejšími substituentami nepolárnej povahy, ako napríklad alifatický alkyl, či fenoxyskupinou zabraňujúcou agregácii sterickejším efektom.^[79] So zvyšujúcou sa polaritou rozpúšťadla dochádza i k zosilňovaniu agregácie v médiu. Podľa znižujúcej sa rozpustnosti a zvyšujúcej sa tendencií k agregácií Pcs môžeme niektoré základné organické rozpúšťadlá zoradiť nasledovne: $\text{CHCl}_3 < \text{CH}_2\text{Cl}_2 < \text{pyridín} < \text{1-butanol} < \text{etanol} < \text{metanol}$.^[80] Acidobazické vlastnosti Pcs a pH rozpúšťadla taktiež ovplyvňujú ako rozpustnosť, tak agregáciu.^[58]

Pozitívne ovplyvniť tieto vlastnosti v polárnych rozpúšťadlách možno obmenou centrálného atómu^[81], či zavedením kationických alebo anionických substituentov na perifériu Pcs.^[82] Výhodou SiPcs je možnosť zavedenia ďalších substituentov vplývajúcich na rozpustnosť i agregáciu do axiálnych polôh.^[83]

5.4. Použitie

5.4.1. Oligodeoxyribonukleotidové sondy (ODN)

Niektoré Pcs a AzaPcs možno využiť vďaka ich vlastnostiam ako značky pre naviazanie na ODN. V tejto oblasti sa využíva hlavne ich schopnosť zhasť fluorescenciu (dark quenchers), ev. by bolo možné využiť aj ich schopnosť fluorescencie.^[71,84]

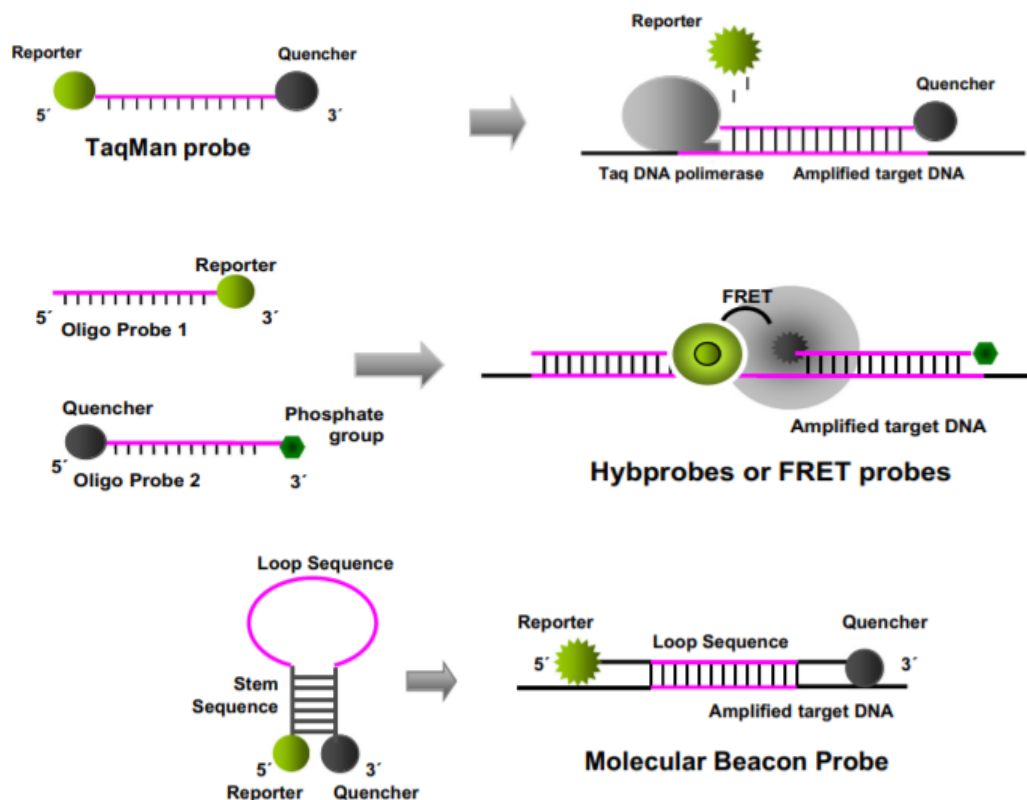
Sonda po naviazaní na krátku sekvenciu oligodeoxyribonukleotidu (napr. click reakciou, vid' kapitola 5.2.4.3.3.) vytvára špecificky usporiadaný komplex, ktorý sa následne viaže na jemu komplementárnu sekvenciu DNA/RNA. To je spojené so zmenou fluorescencie ODN a v posledných rokoch slúži ako významný diagnostický nástroj pre *in vivo* ale aj *in vitro* diagnostiku rozličných infekčných, onkologických, alebo geneticky podmienených chorôb (napr. detekcia SNP – single nucleotide polymorphism).^[84,85] V prípade *in vivo* diagnostiky sú podmienky pre použité molekuly prísnejšie. Pre správnu detekciu emitovaného žiarenia je dôležitá nie len absorpcia v oblasti NIR, aby sa predišlo autofluorescencii a tkanivovej absorpcii, ale aj nízka toxicita Pc a veľký Stokesov posun (u Pcs je typicky >15 nm).^[61]

Významnou diagnostickou metódou, ktorá prakticky využíva princíp ODN a nachádza uplatnenie vo vyššie uvedených oblastiach, je RT-PCR (real-time PCR). Táto metóda zakladá na možnosti vizualizácie PCR v reálnom čase, a to vďaka možnosti značenia oligonukleotidových sekvencií molekulami schopnými emitovať fluorescenciu (fluorofór).^[86] Touto metódou možno nie len detekovať prítomnosť, ale i kvantifikovať určité sekvencie DNA či RNA.^[87,88]

ODN môžu fungovať na rôznych princípoch. Prvou skupinou sú sondy fungujúce na princípe fluorescenčného (Försterovho) rezonančného prenosu energie (FRET). Pri ňom dochádza k prenosu fluorescencie medzi donorom a akceptorom fluorescencie, ktorý vykazuje nižšiu mieru fluorescencie ako donor. Alternatívou je komplexácia donoru s nefluorescenčným zhasiacom (NFQ; non-fluorescent quencher; dark quencher) ktorý sa zbavuje nadbytočnej energie z fotónu neradiačným spôsobom, najčastejšie vo forme tepla.^[84] Fluorofór a NFQ musia byť vo vzdialenosti 10-100 Å a ich absorpčné a emisné spektrá sa musia z väčšej časti prekrývať.^[84,86] Tento komplex drží pohromade pomocou neväzbových interakcií. Hybridizáciou oligonukleotidových sond na im komplementárnu sekvenciu DNA (ev. RNA) dôjde k zmene vzájomnej polohy medzi donorom a akceptorom, čo je spojené so zmenou intenzity emitovanej fluorescencie. Na základe toho môže dôjsť po hybridizácii k zosilneniu fluorescencie, posunu vlnovej dĺžky

fluorescenčného maxima a prípadne, v kombinácii s quencherom, k vymiznutiu fluorescencie.^[84]

Existuje množstvo rôznych typov fluorescenčných sond. Môže sa jednať o sondy obsahujúce donor na jednom a akceptor na druhom oligonukleotidovom vlákne (mono-labeled alebo adjacent probes, napr. Hybprobes), alebo sondy s dvojicou donor-akceptor na jednom oligonukleotide (double-labeled probes, napr. TaqMan) (Obr. 26). Vlákna oligonukleotidov k sebe môžu byť čiastočne komplementárne, a to i v prípade uvedených dvojito značených sond (napr. molecular beacon; Obr. 26).^[86]



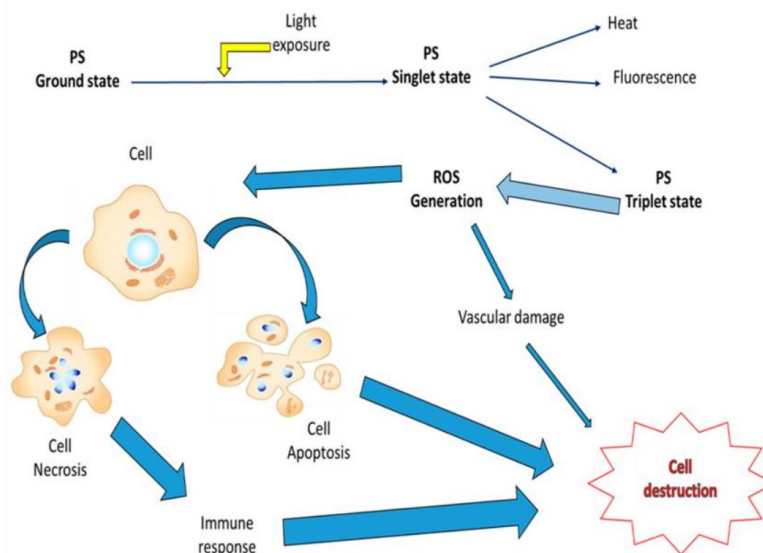
Obrázok 26: mechanizmus niektorých oligonukleotidových sond (TaqMan, Hybprobes, Molecular Beacon). Prevzaté z ^[89].

5.4.2. Fotodynamická terapia (PDT)

PDT predstavuje novodobý prístup k liečbe onkologických^[90], kožných ale i infekčných ochorení.^[91] Jedná sa prevažne o molekuly typu porfyrínu a ich analógy (chloríny, bakteriochloríny, ftalocyaníny). Z historického vývoja sa delia do troch generácií, s postupne zvyšujúcou sa selektivitou k nádorovým a iným štruktúram, čím sa minimalizuje potenciálne riziko poškodenia zdravých, nenádorových tkanív.^[92]

Základným predpokladom úspešnej terapie pomocou Pcs sú ich fotofyzikálne a fotochemické vlastnosti (absorpcia UV-Vis žiarenia, fotosenzitizácia), ktoré boli

popísané v predošlom texte. Kľúčovú rolu pri samotnom farmakoterapeutickom účinku fotosenzitizéru hraje hlavne fotoproces typu II. Výhodou PDT prostredníctvom singletového kyslíku je jeho krátka životnosť (približne 10 - 320 ns), čo limituje jeho pôsobenie výhradne na štruktúry v bezprostrednej blízkosti fotosenzitizéru.^[69] Stručný mechanizmus PDT znázorňuje Obr.27.^[93]



Obrázok 27: mechanizmy účinku fotosenzitizérov (PS) v PDT pri indukcii bunecnej smrti. Prevzaté z ^[93].

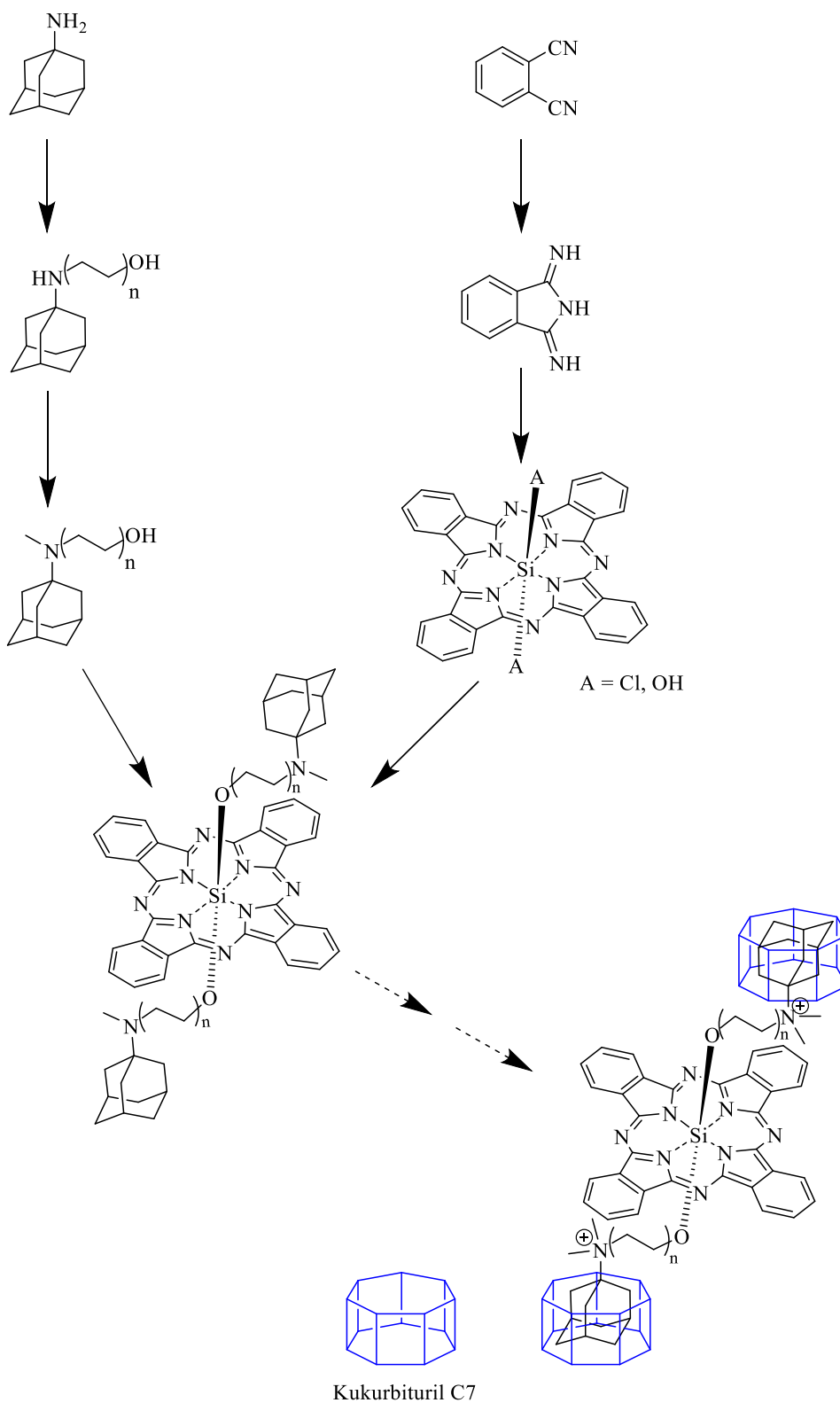
Primárnym požiadavkom pre tento typ molekúl je absorpcia v NIR oblasti (650 - 850 nm), nakoľko fotóny o vyššej vlnovej dĺžke energeticky nepostačujú na excitáciu molekuly. Naopak molekuly s nižšou vlnovou dĺžkou neprenikajú dostatočne hlboko cez biologické štruktúry na to, aby dosiahli miesto s lokalizovaným PS.^[69] Ďalšími požiadavkami sú nízka toxicita, vysoká selektivita i produktivita ROS a $^1\text{O}_2$. Taktiež je dôležitá lokalizácia PS preferenčne v lyzozómoch a mitochondriách, aby sa predišlo prekanceróznym mutáciám DNA v prípade, že je PS lokalizovaný v jadre bunky, ale taktiež aby sa zvýšila pravdepodobnosť apoptózy na úkor nekrózy, ktorá môže viesť k nekontrolovateľnej zápalovej reakcii v mieste účinku. Molekula by mala byť dostatočne fotostabilná, aby sa predišlo tzv. photobleachingu, čo je rozpad molekuly pôsobením $^1\text{O}_2$.^[94] V neposlednom rade by PS mal byť: dostupný jednoduchou, nanajvyš niekoľkokrokovou syntézou s vysokým výťažkom; stabilný pri dlhodobom uskladnení a dekorovaný funkčnými skupinami (polárnymi, amfifilnými), ktoré uľahčia jeho zakomponovanie do liekových foriem s farmakokinetickými parametrami, umožňujúcimi dosiahnutie cieľového miesta účinku^[95]

6. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

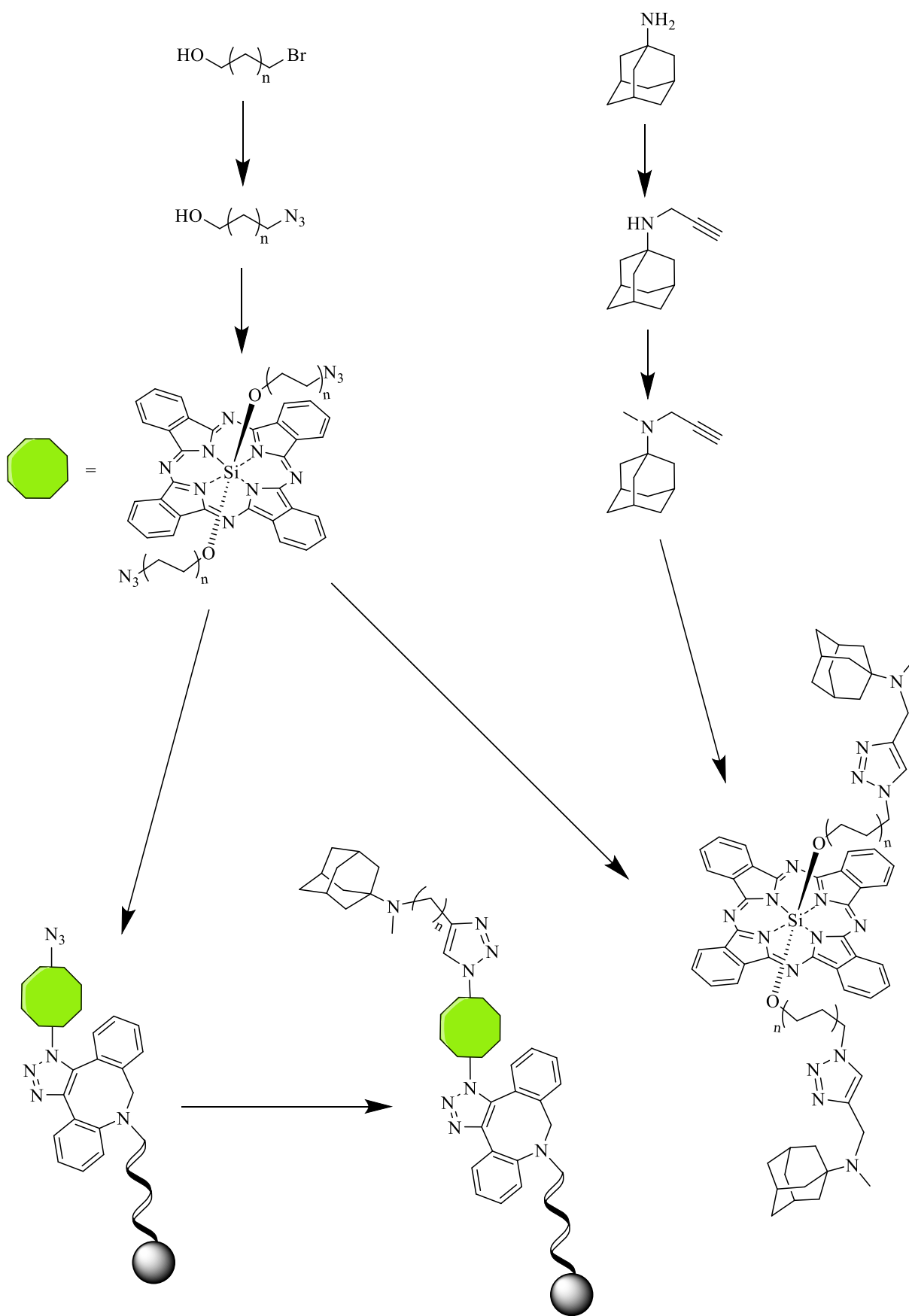
Východiskové látky a rozpúšťadlá, ktoré boli použité v prevedených syntézach, boli zakúpené od firiem: Lach-Ner, Sigma-Aldrich, Merck a Penta. Pre syntézu zlúčenín **17-23** pripravovaných od kapitoly 6.4. bol použitý dichlóroftalocyanínatokremičitý komplex a dihydroxoftalocyanínatokremičitý komplex, zakúpené od firmy Sigma-Aldrich. Priebeh reakcií ako i čistota výsledných produktov boli sledované pomocou tenkovrstvej chromatografie (thin layer chromatography, TLC) na doskách Merck Kieselgel 60 F₂₅₄. Hmotnostné spektrá s nízkym rozlíšením (MS) boli merané na Katedre farmaceutickej chemie a farmaceutickej analýzy na prístroji Expression[®] Compact Mass Spectrometer (Advion, USA) pracujúcom na princípe „single-quad detector“. Čistenie produktov bolo realizované pomocou stĺpcovej chromatografickej kolóny na stacionárnej fáze Merck Kieselgel 60 (0,040 – 0,063 mm). Mobilné fáze použité pre čistenie pri týchto chromatografiách sú uvedené u jednotlivých reakcií. Pri niektorých syntézach boli použité sklenené striekačky značky Hamilton. ¹H NMR (500 MHz a 600 MHz) a ¹³C NMR (126 MHz a 151 MHz) spektrá boli merané na Katedre organickej a bioorganickej chemie na prístrojoch Varian Mercury Vx BB 300 (Varian, USA), Varian VNMR S500 (Varian, USA) a Jeol JNM-ECZ 600R (Jeol, USA). Infračervené (IČ) spektrá boli merané na IČ spektrofotometri Nicolet 6700 v ATR móde na rovnakej katedre. UV-VIS spektrá boli merané na prístroji Shimadzu UV-2600 Spectrophotometer. Detekcia pod UV lampou prebiehala pri vlnovej dĺžke 254 nm alebo 366 nm. Reakčné schémy boli vypracované v programe ChemDraw Professional.

6.1. Plán syntézy

6.1.1. Plán syntézy I

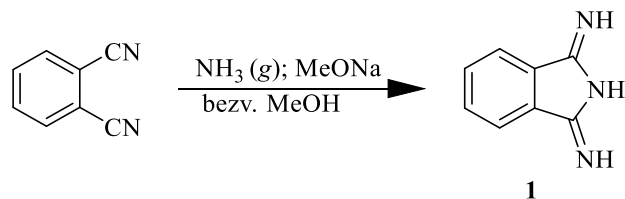


6.1.2. Plán syntézy II



6.2. Príprava SiPcs templátovou metódou

6.2.1. Príprava zlúčeniny 1



Tbl.1: Popis jednotlivých syntéz.

Poradie amonolýzy	Použitý reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Pomery látkových množstiev	Poznámky
1.	Ftalonitril	50,0	128,13	0,3902	1 : 1,74	65 °C, 4 h
2.		50,4		0,3934	1 : 7,09	65 °C, 2 h
1.	Methoxid sodný	12,1	54,03	0,2239	1 : 1,74	65 °C, 4 h
2.		3,0		0,0555	1 : 7,09	65 °C, 2 h

Syntéza prebiehala podľa publikovaného postupu s úpravami.^[43]

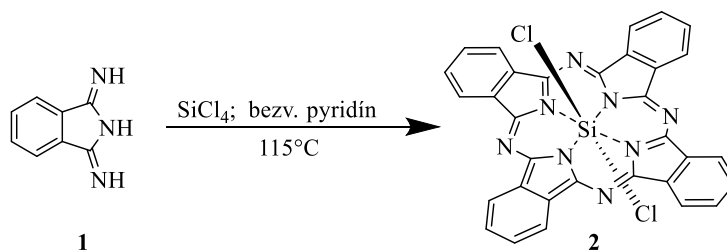
Celá aparátúra (dvojhrdlá destilačná banka, teflonové miešadlo, pasívny chladič a sklenená striekačka) bola pred začiatkom reakcie vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45 °C. Potrebné množstvo ftalonitrilu a methoxidu sodného bolo navážené do destilačnej banky a vyfúkané argónom. Banka bola i s miešadlom a chladičom zazátkovaná gumovým septom a vzduch bol evakuovaný a nahradený argónom. Čerstvo predestilovaný metanol (1,25 mL) bol pridaný k zmesi, ktorá bola zahrievaná pri teplote 65 °C po dobu 2 – 4 hodín za neustáleho miešania a prebublávania amoniakom. Priebeh reakcie bol monitorovaný pomocou TLC (MeOH/DCM v pomere 12:10). Z niekoľkých detekovaných škvŕn bola žltá škvŕna s R_f = 0,4 identifikovaná ako produkt pomocou TLC_MS. Reakcia bola ukončená pridaním vody. Zmes vykryštalizovala za zníženej teploty a následne bola zmes MeOH/H₂O od kryštálov odsatá a premytá EAC (v EAC sa rozpúšťa nezreagovaný ftalonitril). Rozpúšťadlo bolo vákuovo odparené a hrubý produkt zvážený. Prvá amonolýza poskytla 33,2 mg produktu s výťažkom 58,92 %, druhá amonolýza poskytla 36,5 mg produktu s výťažkom 63,92 %.

Na základe predchádzajúcich skúseností s touto reakciou bol produkt identifikovaný len pomocou TLC_MS a použitý v nasledujúcej syntéze.

TLC_MS (APCI): *m/z*: **145,9** [M+H]⁺ (vypočítané pre [M]⁺: 145,06)

6.2.2. Cyklotetramerizácia

6.2.2.1. Príprava zlúčeniny 2



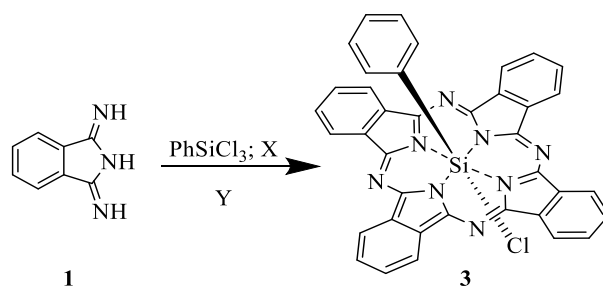
Tbl. 2: Charakteristika reaktantov použitých v syntéze.

Použité reaktanty	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
1	453,5	145,16	3,128	
SiCl_4	664,2	169,90	3,901	0,45
Bezv. pyridín		79,10		2,48

Syntéza prebiehala podľa publikovaného postupu.^[43]

Celá aparatúra (destilačná banka, teflonové miešadlo, pasívny chladič a sklenená striekačka) bola pred začiatkom reakcie vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45°C . Prekurzor **1** bol naváženy do destilačnej banky, s pridaným teflonovým miešadlom, a vyfúkanej argónom. Banka bola aj s nástavcom a chladičom zazátkovaná gumovým septom a vzduch bol nahradený argónom. Následne bol pridaný bezvodný pyridín a po rozpustení prekurzoru bol pridaný SiCl_4 . Za neustáleho miešania bola reakčná zmes zahrievaná 4,5 hodiny pri teplote 115°C pod pretlakom argónu. Priebeh reakcie bol monitorovaný pomocou TLC a TLC_MS (DCM/MeOH v pomere 10:12). Na TLC doske nebola detekovaná tvorba akéhokoľvek produktu – reakcia neprebíhala.

6.2.2.2. Príprava zlúčeniny 3



S templátom PhSiCl_3 boli uskutočnené dve syntézy. V prvej bol použitý tributylamín ($\text{X} = \text{TBA}$) v prostredí tetralínu ($\text{Y} = \text{tetrahydronaftalén}$). V druhej syntéze bol namiesto TBA a tetralínu použitý bezvodný pyridín ($\text{X} = \text{Y} = \text{pyridín}$).

Tbl. 3: Charakteristika reaktantov použitých v syntéze.

Poradie syntézy	Použitie reaktanty	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
1.	1	36,50	145,16	0,252	
	PhSiCl_3	57,09	211,55	0,270	0,0385
	TBA		185,35	0,524	0,1245
	Tetralín		132,20		0,2905
2.	1	2107,00	145,16	14,531	
	PhSiCl_3	3841,70	211,55	18,160	2,91
	Bezv. pyridín		79,10		11,52

Syntéza prebiehala podľa publikovaných postupov s úpravami.^[43,96]

- Prvý syntetický postup: Potrebné množstvo zlúčeniny **1** bolo prevedené do destilačnej banky a rozpustené v tetralíne. Reakčná aparatúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, schlenkový nástavec, pasívny chladič a sklenená striekačka) bola vopred zbavená zvyškov vody a vyfúkaná argónom pre vytvorenie inertnej atmosféry. Následne bol cez septum pridaný TBA a PhSiCl_3 . Reakcia bola za neustáleho miešania pod pasívnym chladičom a pretlakom argónu udržiavaná pri teplote 115 °C po dobu 20 hodín. Následne bola teplota na 1 hodinu zvýšená na 165 °C. Pri monitorovaní reakcie pomocou TLC (DCM/MeOH v pomere 10:12) nevznikal očakávaný produkt,

detekovateľný bol iba úbytok vychádzajúcich látok a formácia hnedých nečistôt v reakčnej zmesi. Reakcia bola preto ukončená.

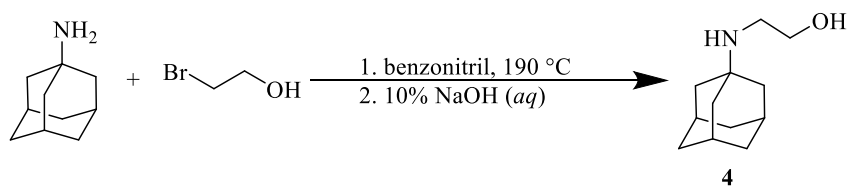
- Druhý syntetický postup: Analogicky k predchádzajúcemu postupu bola reakčná aparátúra zbavená vody a vyfúkaná argónom. Navážené množstvo zlúčeniny **1** bolo rozpustené v bezvodnom pyridíne, následne bol pridaný templát PhSiCl_3 . Reakcia bola zahrievaná pri teplote $115\text{ }^\circ\text{C}$ pod spätným chladičom a pretlakom argónu za neustáleho miešania po dobu 4,5 hodiny. Reakcia bola ukončená ochladením reakčnej zmesi. Pre monitorovanie bolo použité TLC a TLC_MS (EAC/HEX v pomere 1:1). Z reakčnej banky bol pyridín odparený za vákua. Zbytok po odparení bol rozpustený v EAC a prefiltrovaný. Produkt bol vykryštalizovaný zmenou rozpúšťadla za hexán. Výťažok reakcie činil 1056,9 mg, čo odpovedá výťažnosti 44,54 %.

Na základe výsledkov NMR analýzy nebola potvrdená prítomnosť produktu **3** v analyzovanej vzorke.

6.3. Syntéza prekursorov

6.3.1. Aminoalkoholy

6.3.1.1. Príprava zlúčeniny 4



Tbl. 4: Charakteristika reaktantov v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [g]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
Adamantán-1-amín (A1A)	10,06	151,25	66,51	
2-brómethanol	8,82	124,97	70,54	5,00

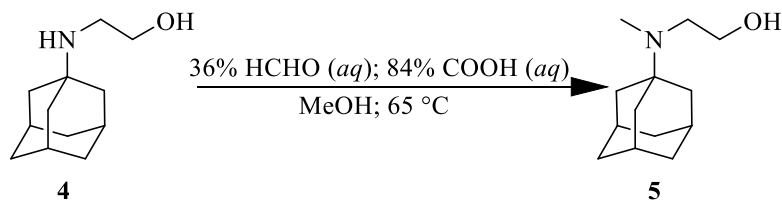
Syntéza prebiehala obmenou publikovaného postupu.^[97]

Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Potrebné množstvo reaktantov bolo umiestnené do reakčnej banky a rozpustené v 50 mL benzonitrilu. Zmes bola zahrievaná pri 190 °C po dobu 2 hodín. Pomocou TLC (MeOH) bol Dragendorffovým činidlom detekovaný vznik produktu ako škvrny s vyšším R_f než R_f vychádzajúceho A1A (pozn.: M_{r(1)}: 195,34; M_{r(1.HBr)}: 276,21). Po ukončení reakcie ochladením sa zo zmesi vyzrážal precipitát. Ten bol následne sfiltrovaný na Büchnerovom lieviku a premytý diethyléterom. Zvyšok na filtračnom papieri bol ďalej rozpustený vo vode. K tomuto roztoku bol pridávaný 10% vodný roztok NaOH až do tvorby bielej zrazeniny. Z vodnej fázy bol produkt extrahovaný do chloroformu. Chloroform bol vysušený pridaním bezvodného Na₂SO₄, následne sfiltrovaný a vákuovo odparený. Z reakcie bolo získaných 11,1535 g produktu 4, s výťažnosťou 85,83%.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.52 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.60 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.12 – 2.07 (m, 3H), 1.68 (s, 4H), 1.67 – 1.53 (m, 6H) ppm.

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 77.26, 77.00, 76.75, 58.19, 53.80, 49.54, 39.00, 38.02, 37.08, 36.89, 36.79, 32.69, 29.57 ppm.

6.3.1.2. Príprava zlúčeniny 5



Tbl. 5: Charakteristika reaktantov použitých v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [g]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
4	11,15	195,31	57,09	
36% HCHO (aq)		30,03	79,53	8,14
84% HCOOH (aq)		46,03	571,06	25,65

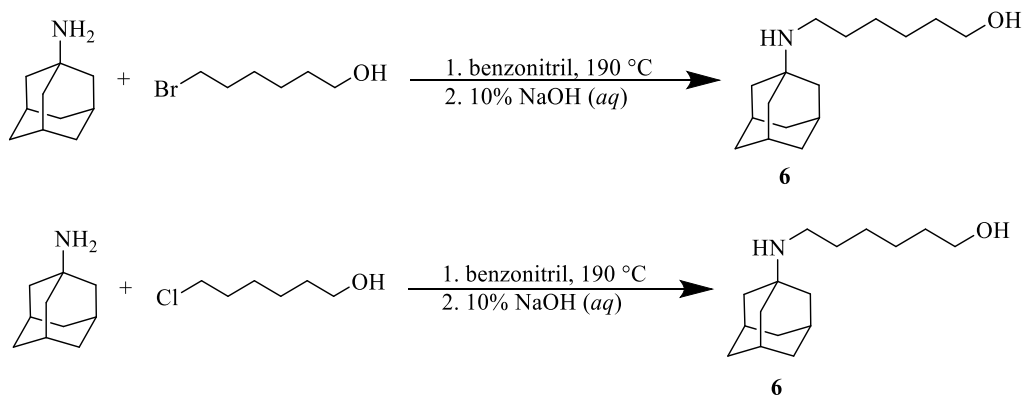
Syntéza prebiehala podľa publikovaného postupu s obmenami.^[98]

Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflonové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Potrebné množstvo reaktantov bolo umiestnené do reakčnej banky a rozpustené v 55,77 mL MeOH. Reakcia bola zahrievaná pri 65 °C po dobu 3 dní. V priebehu reakcie bol detekovaný pomocou TLC (MeOH) a Dragendorffového činidla úbytok vychodiskovej látky **4** ($R_f = 0,15$) a vznik novej škvrny odpovedajúcej produktu **5** ($R_f = 0,35$). Po ukončení reakcie ochladením bol z reakčnej banky vákuovo odparený MeOH a zvyšok bol rozpustený vo vode. K tomuto roztoku bolo pridaných 50 mL 10% vodného roztoku NaOH a vznikajúca biela zrazenina bola extrahovaná do chloroformu. Chloroform bol vysušený pridaním bezvodného Na₂SO₄, následne sfiltrovaný a vákuovo odparený. Produktom bola pomaly tuhnuca olejovitá hmota mierne oranžovej farby. Pre čistenie produktu bol použitý chromatografický stĺpec, kde ako mobilná fáza bola použitá zmes MeOH/TEA v pomere 100:1. Z reakcie bolo získaných 11,5245 g produktu **5** olejovitej konzistencie, výtťažnosť reakcie bola teda 96,4 %.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.52 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.60 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.12 – 2.07 (m, 3H), 1.68 (s, 4H), 1.67 – 1.53 (m, 6H) ppm.

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 77.25, 77.00, 76.74, 58.10, 49.51, 39.82, 38.92, 36.73, 36.59, 32.66, 29.51, 29.47 ppm.

6.3.1.3. Príprava zlúčeniny 6



Tbl. 6: Charakteristika reaktantov použitých v syntéze.

Br derivát	Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
	A1A	500,90	151,25	3,112	0,48
6-brómhexanol	651,85	181,07	3,600		
Cl derivát	Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
	A1A	506,40	151,25	3,348	0,48
6-chlórhexanol	491,82	136,62	3,600		

Syntéza prebiehala obmenou publikovaného postupu.^[97]

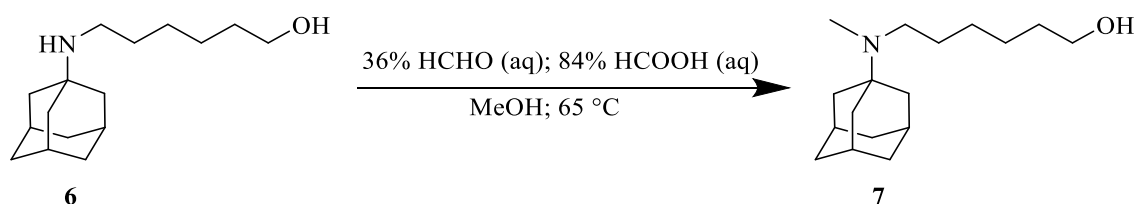
Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Potrebné množstvo reaktantov bolo umiestnené do reakčnej banky a rozpustené v 2,50 mL benzonitrilu. Zmes bola zahrievaná pri teplote 190 °C po dobu 3,5 hodín. Reakcia bola monitorovaná pomocou TLC (MeOH) a Dragendorffovým činidlom. Produkt na TLC bol detekovaný ako vznik škvrny s R_f = 0,63 u hydrobromidovej soli a škvrny s R_f = 0,60 v prípade hydrochloridovej soli. Po ukončení reakcie ochladením sa zo zmesi vyzrážal precipitát. Ten bol následne odsatý na Büchnerovom lieviku a premytý diethyléterom. Zvyšok na filtračnom papieri bol ďalej rozpustený vo vode. K roztoku bol následne pridávaný 10% vodný roztok NaOH do tvorby bielej zrazeniny. Z vodnej fázy bol produkt extrahovaný do chloroformu. Chloroform bol vysušený pridaním bezvodného Na₂SO₄, následne sfiltrovaný a vákuovo odparený. Získaných bolo 681,6 mg produktu **6** v prípade reakcie vychádzajúcej z bróm derivátu a 299,0 mg produktu **6** v prípade reakcie vychádzajúcej z chlór derivátu.

Výtťažnosť reakcie s použitím 6-brómhexanolu bola 82 % a v prípade reakcie s použitím 6-chlórhexanolu bola 36 %.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 3.63 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.63 – 2.56 (m, 2H), 2.06 (dt, $J = 8.9, 4.2$ Hz, 4H), 1.66 (d, $J = 3.0$ Hz, 9H), 1.61 (dq, $J = 12.7, 2.6$ Hz, 4H), 1.59 - 1.55 (m, 3H), 1.50 (p, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.45 – 1.30 (m, 4H) ppm.

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 77.26, 77.00, 76.75, 62.65, 50.91, 46.19, 42.39, 40.22, 36.66, 36.25, 32.64, 30.65, 29.76, 29.53, 27.19, 25.61 ppm.

6.3.1.4. Príprava zlúčeniny 7



Tbl. 7: Charakteristika reaktantov v syntézach.

	Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
6 z Br derivátu	6	221,20	251,41	0,880	/
	36% HCHO (aq)	/	30,03	4,367	0,12
	84% HCOOH (aq)	/	46,03	8,807	0,33
	Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
6 z Cl derivátu	6	73,2	251,41	0,291	/
	36% HCHO (aq)	/	30,03	1,444	0,04
	84% HCOOH (aq)	/	46,03	2,918	0,11

Syntéza prebiehala obmenou publikovaného postupu.^[98]

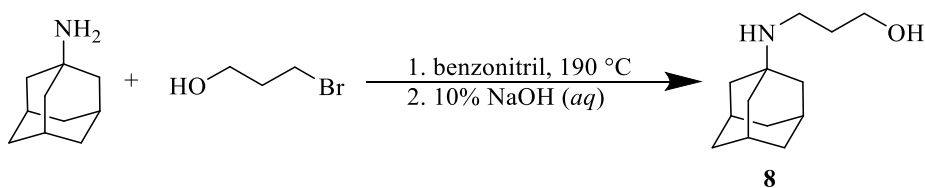
Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Potrebné množstvo reaktantov bolo umiestnené do reakčnej banky. 6 z Br derivátu a 6 z Cl derivátu boli rozpustené v 0,86 mL MeOH a 0,29 mL MeOH, v uvedenom poradí. Reakčná zmes bol zahrievaná pri teplote 65 °C po dobu 6 dní. V priebehu reakcie bol detekovaný pomocou TLC (MeOH) a Dragendorffovho činidla úbytok vychádzajúcej látky a vznik novej škvrny s vyšším R_f. Po ukončení reakcie ochladením bol z reakčnej banky vákuovo odparený MeOH a zvyšok bol rozpustený vo vode. K tomuto roztoku bol pridaný 10% vodný roztok NaOH a vznikajúca biela zrazenina bola extrahovaná do chloroformu. Chloroform bol vysušený pridaním bezvodným Na₂SO₄, následne sfiltrovaný a vákuovo odparený. Produktom bola pomaly

tuhnúca olejovitá hmota bielo-oranžovej farby. Po zväžení produktu bolo z reakcie s pôvodným bróm derivátom získaných 135,0 mg produktu **7** s výťažnosťou reakcie 58 % a z reakcie s pôvodným chlór derivátom získaných 34,0 mg produktu **7** s výťažnosťou reakcie 44 %. Obe produkty boli olejovitej konzistencie.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 3.63 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.41 – 2.32 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.09 – 2.04 (m, 3H), 1.68 (d, $J = 3.0$ Hz, 7H), 1.66 – 1.54 (m, 10H), 1.49 – 1.42 (m, 2H), 1.41 – 1.35 (m, 2H), 1.34 – 1.27 (m, 2H) ppm.

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 77.29, 77.03, 76.78, 62.88, 62.85, 54.19, 49.32, 48.34, 39.87, 38.51, 37.93, 36.89, 36.85, 33.65, 32.83, 32.77, 31.51, 29.71, 29.67, 29.63, 27.46, 27.35, 25.76 ppm.

6.3.1.5. Príprava zlúčeniny 8



Tbl. 8: Charakteristika reaktantov v syntéze.

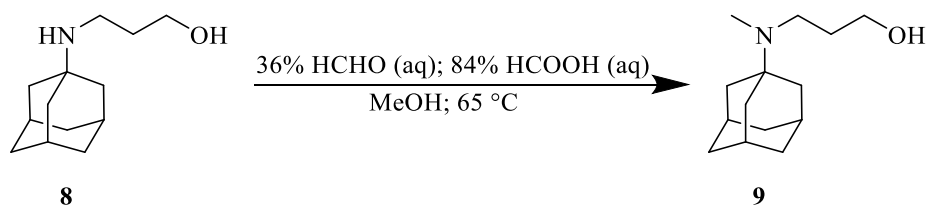
Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
A1A	501,30	151,25	3,310	/
3-brómpropanol	500,36	138,99	3,600	

Syntéza prebiehala podľa publikovaného postupu s obmenami.^[97]

Reakčná aparatúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Potrebné množstvo reaktantov bolo umiestnené do reakčnej banky a rozpustené v 2,50 mL benzonitrilu. Zmes bola zahrievaná pri teplote 190 °C po dobu 6 hodín. Pomocou TLC (MeOH) bol Dragendorffovým činidlom detekovaný vznik produktu ako škvrny s $R_f = 0,35$. Po ukončení reakcie ochladením sa zo zmesi vyzrážal precipitát. Ten bol následne odsatý na Büchnerovom lieviku a premytý dietyléterom. Zvyšok na filtračnom papieri bol ďalej rozpustený vo vode. K tomuto roztoku bol následne pridávaný 10% vodný roztok NaOH do tvorby bielej zrazeniny. Z vodnej fázy bol produkt extrahovaný do chloroformu. Chloroform bol vysušený pridaním bezvodného Na₂SO₄, následne sfiltrovaný a vákuovo odparený. Z reakcie bolo získaných 510,7 mg produktu **8** olejovitej konzistencie, čo odpovedá výťažnosti reakcie 73,61 %.

Na základe predchádzajúcich skúseností bola zlúčenina **8** podstúpená do následnej syntézy bez prevedenia NMR analýzy.

6.3.1.6. Príprava zlúčeniny 9



Tbl. 9: Charakteristika reaktantov v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
8	510,70	209,33	2,440	/
36% HCHO (aq)	/	30,03	11,943	0,35
84% HCOOH (aq)	/	46,03	23,885	1,10

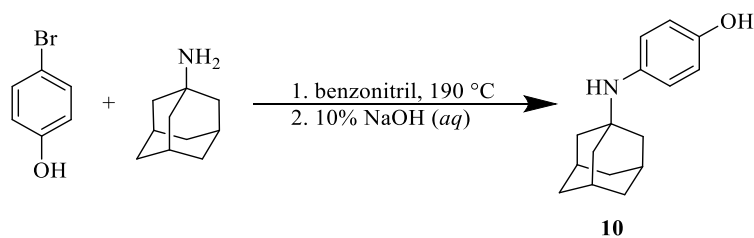
Syntéza prebiehala obmenou publikovaného postupu.^[98]

Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Potrebné množstvo reaktantov bolo umiestnené do reakčnej banky a rozpustené v 2,90 mL MeOH. Reakcia bola zahrievaná pri teplote 65 °C po dobu 6 dní. V priebehu reakcie bol detekovaný pomocou TLC (MeOH) a Dragendorffového činidla úbytok vychádzajúcej látky a vznik novej škvrny s $R_f = 0,25$, ktorá bola pomocou TLC_MS identifikovaná ako zlúčenina 9 ($M_r=223,33$). Po ukončení reakcie ochladením bol z reakčnej banky vákuovo odparený MeOH a zvyšok bol rozpustený vo vode. K tomuto roztoku bol pridaný 10% vodný roztok NaOH a vznikajúca biela zrazenina bola extrahovaná do chloroformu. Chloroform bol vysušený pridaním bezvodného Na₂SO₄, následne sfiltrovaný a vákuovo odparený. Pre čistenie produktu bol použitý chromatografický stĺpec, kde ako mobilná fáza bola použitá zmes MeOH/TEA v pomere 100:1. Takto bolo získaných 138,3 mg produktu 9 olejovitej konzistencie s výtťažnosťou reakcie 25,42 %.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 3.80 – 3.76 (m, 2H), 2.70 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.23 (s, 3H), 2.07 (q, J = 3.5 Hz, 4H), 1.69 (d, J = 3.0 Hz, 6H), 1.68 – 1.61 (m, 7H), 1.60 – 1.55 (m, 4H) ppm.

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 77.32, 77.11, 76.90, 70.34, 69.69, 64.97, 62.31, 54.63, 49.71, 46.22, 38.54, 38.37, 36.89, 36.80, 33.67, 32.87, 32.11, 29.70, 29.58, 28.22 ppm.

6.3.1.7. Príprava zlúčeniny **10**



Tbl. 10: Charakteristika reaktantov v syntéze.

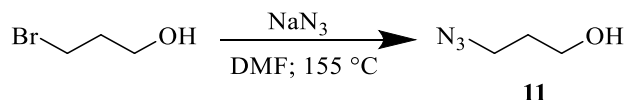
Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]
A1A	505,6	151,25	3,34
<i>p</i> -brómfenol	779,0	173,01	4,50

Syntéza prebiehala obmenou publikovaného postupu.^[97]

Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Navážené množstvo reaktantov bolo umiestnené do reakčnej banky a rozpustené v 2,85 mL benzonitrilu. Zmes bola zahrievaná 24 hodín pri teplote 190 °C. Reakcia bola monitorovaná pomocou TLC (MeOH/TEA v pomere 50:1) a Dragendorffovým činidlom. Detekovaný bol vznik veľmi slabej škvrny s $R_f = 0,42$. Reakcia bola ukončená ochladením a doplnením banky po okraj hexánom. Tá bola ďalej cez noc uskladnená za zníženej teploty v chladničke. Benzonitril bol následne vákuovo odparený a zvyšok po odparení bol rozpustený v malom množstve chloroformu. K tomuto roztoku bol pridaný 10% vodný roztok NaOH a následne bola celá zmes extrahovaná chloroformom. Porovnaním TLC (MeOH/TEA 50:1) boli detekované škvrny v chloroformovej fáze. Následne bolo spravené TLC, v ktorom boli porovnané 4-brómfenol, A1A a produkt **10** v chloroforme. V chloroforme bola oproti škvrnám odpovedajúcim vychádzajúcim reaktantom zistená i prítomnosť škvrny s $R_f = 0,14$, avšak len v nepatrnom množstve. Reakcia teda pravdepodobne prebieha, ale veľmi neochotne.

6.3.2. Azidy

6.3.2.1. Príprava zlúčeniny **11**



Tbl. 11: Charakteristika reaktantov v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [g]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
3-brómpropanol	2,000	138,99	14,39	1,30
NaN ₃	1,876	65,01	28,78	

Syntéza prebiehala obmenou doporučeného postupu.^[99]

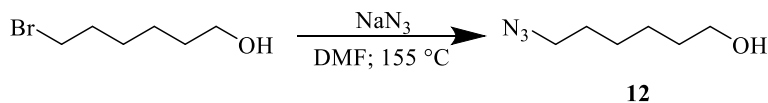
Reakčná aparátúra (destilačné banky, pasívny chladič, teflónové miešadlá) bola premytá acetónom. Navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky a rozpustené v 20,00 mL DMF. Zmes bola zahrievaná pri teplote 155 °C po dobu 2 dní. Potom bola teplota reakcie na 2 hodiny navýšená na 130 °C. Reakcia bola ukončená ochladením a doplnením banky až po okraj EAC. Nezreagovaný NaN₃ bol odstránený centrifugáciou. K zliatemu DMF bol pridaný nasýtený roztok NaCl a produkt bol extrahovaný do EAC. Zvyšok DMF bol z roztoku EAC extrahovaný pomocou nasýteného roztoku NaCl. Organická fáza bola vysušená pomocou bezvodného Na₂SO₄, sfiltrovaná a EAC vákuovo odparený. Reakciou bolo získaných 1,6705 g produktu **11** olejovitej konzistencie, čo odpovedá výťažku 114,81 %. Výťažok produktu nad 100 % je spôsobený neúplným vákuovým odparením rozpúšťadla kvôli vysokej pravdepodobnosti odparenia produktu.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (s, 1H), 3.75 – 3.63 (m, 2H), 3.51 – 3.32 (m, 3H), 2.92 (s, 2H), 2.84 (d, J = 0.8 Hz, 2H), 1.85 – 1.76 (m, 2H), 1.19 (td, J = 7.0, 0.9 Hz, 1H) ppm.

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 162.68, 77.36, 77.15, 76.93, 70.29, 69.95, 68.31, 68.00, 67.93, 67.88, 67.62, 67.47, 62.07, 61.62, 59.75, 58.38, 48.58, 48.54, 48.51, 36.56, 32.16, 32.06, 31.59, 31.51, 30.03, 29.25, 29.20, 28.37, 18.45 ppm.

IČ (ATR) ν_{max} = 3420, 2943, 2874, 2096, 1668

6.3.2.2. Príprava zlučeniny **12**



Tbl. 12: Charakteristika reaktantov v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [g]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
6-brómhexanol	1,000	181,07	5,52	0,73
NaN ₃	0,726	65,01	11,04	

Syntéza prebiehala obmenou doporučeného postupu.^[99]

Reakčná aparátúra (destilačné banky, pasívny chladič, teflónové miešadlá) bola premytá acetónom. Navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky a rozpustené v 10,00 mL DMF. Zmes bola zahrievaná pri teplote 155 °C po dobu 2 dní. Potom bola teplota reakcie na 2 hodiny navýšená na 130 °C. Reakcia bola ukončená ochladením a doplnením banky až po okraj EAC. Nezreagovaný NaN₃ bol odstránený centrifugáciou. K zliatemu DMF bol pridaný nasýtený roztok NaCl a produkt bol extrahovaný do EAC. Zvyšok DMF bol z roztoku EAC extrahovaný pomocou nasýteného roztoku NaCl. Organická fáza bola vysušená pomocou bezvodného Na₂SO₄, sfiltrovaná a EAC vákuovo odparený. Reakciou bolo získaných 0,8873 g produktu **12** olejovitej konzistencie, čo odpovedá výtazku 112,20 %. Výtazok produktu nad 100 % je spôsobený neúplným vákuovým odparením rozpúšťadla kvôli vysokej pravdepodobnosti odparenia produktu.

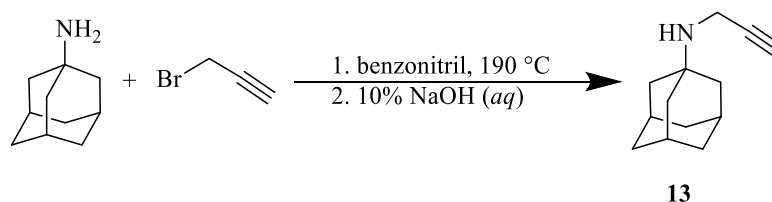
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.96 (s, 0H), 3.66 (q, J = 7.0 Hz, 1H), 3.59 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.23 (t, J = 6.9 Hz, 1H), 2.92 (d, J = 0.5 Hz, 1H), 2.84 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 1.61 – 1.50 (m, 1H), 1.41 – 1.31 (m, 2H), 1.19 (t, J = 7.0 Hz, 2H) ppm.

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 162.71, 77.36, 77.15, 76.93, 70.74, 62.68, 58.35, 51.45, 36.58, 32.74, 32.59, 31.52, 29.73, 28.86, 26.58, 25.66, 25.40, 18.42 ppm.

IČ (ATR) ν_{max} = 3374, 2937, 2861, 2095, 1668

6.3.3. Alternatívny rad prekursorov

6.3.3.1. Príprava zlúčeniny 13



Tbl. 13: Charakteristika reaktantov v syntéze.

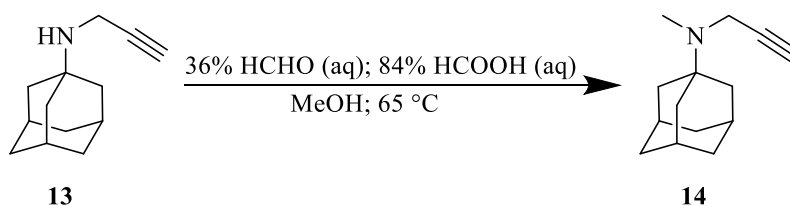
Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
A1A	1000,0	151,25	6,612	
3-brómpropín	1179,77	118,96	9,917	0,86

Syntéza prebiehala obmenou doporučeného postupu.^[97]

Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Navážené reaktanty boli umiestnené do reakčnej banky a rozpustené v 5,00 mL benzonitrilu. Zmes bola zahrievaná pri teplote 190 °C 3 hodiny. Reakcia bola monitorovaná pomocou TLC (MeOH) a Dragendorffového činidla, kde ako produkt bola identifikovaná vznikajúca škvrna s $R_f = 0,55$. Reakcia bola ukončená ochladením a banka bola následne doplnená po okraj hexánom. Zmes vykryštalizovala pri zníženej teplote. Kryštály boli odsaté na Büchnerovom lieviku, premyté dietyléterom a následne rozpustené vo vode. K tomuto roztoku bol následne pridávaný 10% vodný roztok NaOH do tvorby bielej zrazeniny. Precipitát bol ďalej extrahovaný do chloroformu. Chloroform bol následne odparený a produkt zvážený. Reakciou bolo získaných 842,2 mg produktu **13** olejovitej konzistencie, s výťažnosťou reakcie 67,20 %.

Na základe predchádzajúcich skúseností bola zlúčenina **13** podstúpená do následnej syntézy bez prevedenia NMR analýzy.

6.3.3.2. Príprava zlúčeniny 14



Tbl 14: Charakteristika reaktantov v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
13	842,20	189,30	4,450	/
36% HCHO (aq)	/	30,03	8,363	0,64
84% HCOOH (aq)	/	46,03	44,571	2,05

Syntéza prebiehala obmenou doporučeného postupu.^[98]

Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič) bola vymytá acetónom. Potrebné množstvo reaktantov bolo umiestnené do reakčnej banky a rozpustené v 4,40 mL MeOH. Zmes bola zahrievaná pri teplote 65 °C po dobu 5 dní. Reakcia bola ukončená ochladením reakčnej banky. Pre monitorovanie reakcie pomocou TLC i TLC_MS bola použitá mobilná fáza o zložení MeOH/TEA v pomere 100:1 a Dragendorffovo činidlo. Na TLC bolo pozorovaných niekoľko vznikajúcich škvŕn, pričom škvŕna s $R_f = 0,61$ bola pomocou TLC_MS identifikovaná ako produkt ($M_r = 203,3$). Identifikovaná bola i škvŕna s $R_f = 0,8$ a $M_r = 228,3$, odpovedajúca *N,N*-dipropargyladamantán-1-amínu, ale taktiež škvŕna s $R_f = 0,18$ a $M_r = 179,9$ odpovedajúca *N,N*-dimetyladamantán-1-amínu. Na chromatografickej kolóne sa čistý *N*-metyl-*N*-propargyladamantán-1-amín (produkt **14**) nepodarilo izolovať od disubstituovaného *N,N*-dipropargyladamantán-1-amínu. Olejovitá zmes zlúčeniny **14** a *N,N*-dipropargyladamantán-1-amínu tvorila dohromady 213,5 mg, čo predstavuje 26,04 % zo zmesi získanej syntetickým postupom uvedeným v tejto kapitole.

TLC_MS (APCI): m/z : 228,0; **203,3**; 179,9; 181,4; 224,0 $[M+H]^+$ (vypočítané pre $[M]^+$: 203,17)

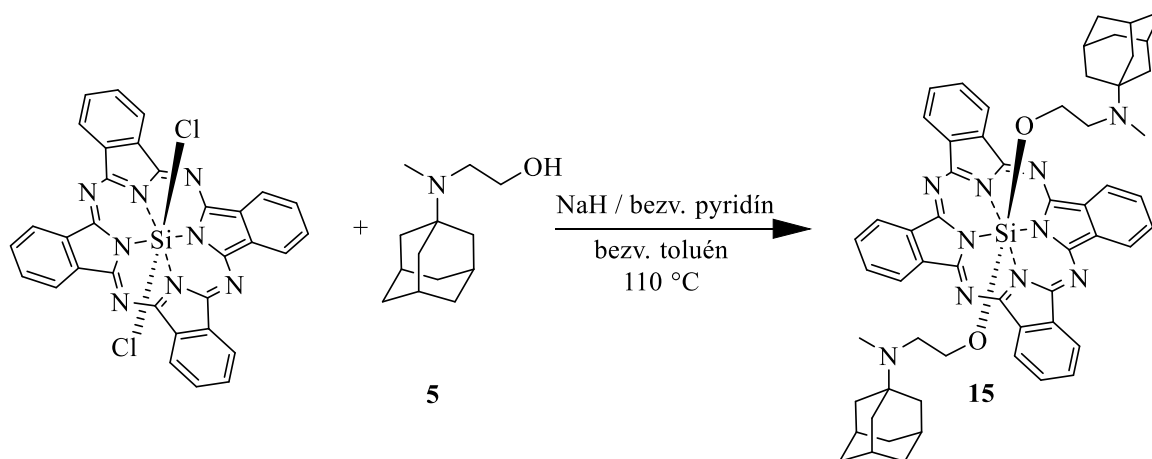
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 3.41 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 2.41 (s, 3H), 2.17 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 2.11 – 2.06 (m, 3H), 1.74 (d, $J = 3.0$ Hz, 3H), 1.65 (dt, $J = 14.3, 2.6$ Hz, 4H), 1.62 – 1.57 (m, 3H) ppm.

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 77.37, 77.16, 76.95, 72.16, 71.94, 54.63, 40.11, 39.13, 38.96, 36.86, 36.74, 36.69, 33.79, 29.85, 29.76 ppm.

6.4. Syntéza ftalocyanínov

6.4.1. Príprava zlúčeniny 15

6.4.1.1. Nukleofilná substitúcia



Tbl. 15: Charakteristika reaktantov v syntézach.

Poradie syntézy	Použité reaktanty	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
1.	SiPcCl ₂	146,09	611,52	0,239	
	5	151,40	209,33	0,717	
	NaH	34,39	23,99	1,433	
2.	SiPcCl ₂	983,20	611,52	1,593	
	5	1018,00	209,33	4,780	
	NaH	229,30	23,99	9,546	
3.	SiPcCl ₂	57,00	611,52	0,093	
	5	117,22	209,33	0,560	
	K ₂ CO ₃	103,05	138,05	0,746	
	Bezv. pyridín				1,00
4.	SiPcCl ₂	61,10	611,52	0,099	
	5	747,31	209,33	3,57	
	Bezv. pyridín				0,86

Tbl. 16: Reakčné podmienky jednotlivých syntéz.

Poradie syntézy	Teplota	Doba reakcie	Poznámka
1.	110 °C	3 dni	Rozpúšťadlá: bezvodý toluén 3,26 mL
2.	110 °C	7 dní	Rozpúšťadlá: bezvodý toluén 22,00 mL
3.	110 °C	22 hod	Rozpúšťadlá: bezvodý toluén 15,00 mL
4.	110 °C	20 hodín	Rozpúšťadlá: bezvodý toluén 12,86 mL

Syntézy prebiehali podľa publikovaných postupov, prípadne ich obmenami.^[42,47]

Reakčná aparatura (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45 °C. Destilačná banka s miešadlom a chladičom boli uzavreté gumovým septom a navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky. Cez gumové septum bol pridaný bezvodný toluén, prípadne aj bezvodný pyridín. Po rozpustení reaktantov bola reakcia udržiavaná za neustáleho miešania pod pretlakom argónu za vyššie uvedených podmienok (Tbl. 16). Na monitorovanie reakcie pomocou TLC a následnú detekciu produktu pomocou TLC_MS bola použitá mobilná fáza o zložení THF/TEA v pomere 100:1. TLC_MS potvrdilo prítomnosť produktu o $M_r = 957,27$ s $R_f = 0,68$. Po ukončení reakcie znížením reakčnej teploty bola banka doplnená po okraj toluénom. Reakčná zmes bola následne odparená. Zvyšok po odparení bol rozpustený v 10 mL dichlórmetánu. Z dichlórmetánu bol produkt rekryštalizovaný za zníženej teploty po doplnení banky nadbytkom dietyléteru. Produkt bol následne odsatý, zvyšok na filtračnom papieri rozpustený v chloroforme a vyčistený pomocou chromatografickej kolóny v mobilnej fáze THF/TEA v pomere 100:1 ($R_f = 0,68$) a následne ďalším stĺpcom so zložením chloroform/etanol/TEA v pomere 90:10:1 ($R_f = 0,35$). Z prvej reakcie bolo získaných 147,1 mg produktu (64,32 %), z druhej 386,3 mg produktu (25,32 %) a z tretej 27,6 mg produktu (30,98 %).

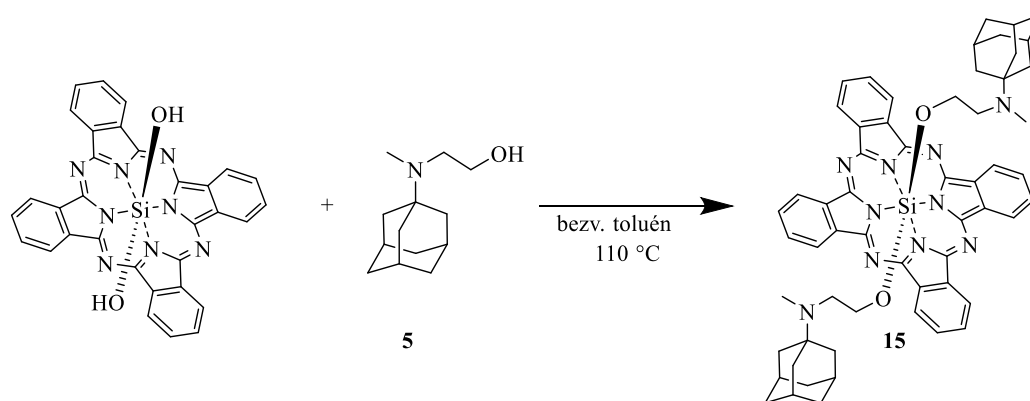
Poznámky k špecifikám niektorých postupov:

- Syntéza č. 2: v chromatografických kolónach boli alternatívne použité mobilné fáze chloroform/acetón v pomere 9:2 a v druhej kolóne THF/TEA v pomere 4:1.
- Syntéza č. 3: namiesto chromatografickej kolóny bola pre čistenie použitá extrakcia 1M HCl.
- Syntéza č. 4: po odparení toluénu a pyridínu bol zvyšok rozpustený v chloroforme, extrahovaný pomocou nasýteného roztoku NaCl a 10% NaOH, do organickej fáze bol

pridaný bezvodný Na_2SO_4 . Zmes sa nečakane naadsorbovala na Na_2SO_4 , preto možno predpokladať, že reakcia neprebehla.

Na základe výsledkov NMR analýzy vyššie uvedených výťažkov nebola potvrdená prítomnosť zlúčeniny **15** v analyzovaných vzorkách, preto možno konštatovať, že reakcia neprebehla.

6.4.1.2. Dehydratácia



Tbl. 17: Charakteristika reaktantov v syntéze.

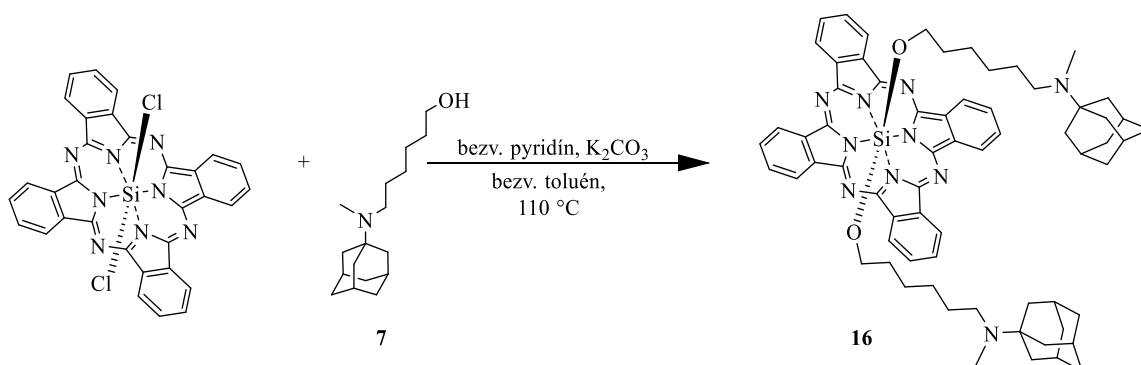
Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]
SiPc(OH) ₂	60,0	574,64	0,104
5	438,0	209,33	2,092

Syntéza prebiehala obmenou publikovaného postupu.^[100]

Reakčná aparatura (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom a cez noc vysušená v peci pri teplote 45 °C. Destilačná banka s miešadlom a chladičom boli uzavreté gumovým septom, navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky a cez gumové septum bolo pridaných 13,00 mL bezvodého toluénu. Reakcia bola zahrievaná pri teplote 110 °C pod pretlakom argónu 42 hodín. Na monitorovanie reakcie pomocou TLC a následnú detekciu produktu ($R_f = 0,45$) pomocou TLC_MS ($M_r = 957,27$) bola použitá mobilná fáza o zložení THF/TEA v pomere 100:1. Po ochladení bola reakčná zmes odparená. Zvyšok bol rozpustený v 5 mL chloroformu. Produkt bol z chloroformu následne rekryštalizovaný po doplnení banky nadbytkom hexánu za nižšej teploty. Hexán bol následne vákuovo odsatý, zvyšok na filtračnom papieri bol rozpustený v dichlórmetáne a odparený. Z reakcie bolo získaných 87,0 mg produktu, výťažnosť reakcie činila 87,03 %.

Na základe výsledkov NMR analýzy vyššie uvedeného výtlačku nebola potvrdená prítomnosť zlúčeniny **15** v analyzovanom vzorku, preto možno konštatovať, že reakcia neprebehla.

6.4.2. Príprava zlúčeniny 16



Tbl. 18: Charakteristika reaktantov v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
SiPcCl ₂	77,50	611,52	0,125	
7	200,00	265,44	0,751	
K ₂ CO ₃	141,30	138,21	0,971	
Bezv. pyridín				1,34

Syntéza prebiehala obmenou publikovaných postupov.^[42]

Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45 °C. Destilačná banka s miešadlom a chladičom boli uzavreté gumovým septom, navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky. Cez gumové septum bolo striekačkami pridaných 20,13 mL bezvodného toluénu a 1,34 mL bezvodného pyridínu. Po rozpustení reaktantov bola reakcia zahrievaná pri teplote 110 °C pod pretlakom argónu 5,5 hodiny. Priebeh reakcie bol monitorovaný pomocou TLC (EAC/TEA v pomere 100:1). Detekovaný bol úbytok vychádzajúceho SiPcCl₂ a vznik produktu **16** ako modrej škvrny s R_f = 0,85. Reakcia bola ukončená ochladením reakčnej zmesi. Následne bola reakčná zmes vákuovo odparená. Na čistenie produktu bol najprv použitý chromatografický stĺpec s mobilnou fázou o zložení EAC/TEA v pomere 40:1, potom stĺpec s mobilnou fázou o zložení toluén/TEA v pomere 15:1 a nakoniec stĺpec s mobilnou fázou o zložení toluén/HEX/TEA v pomere 15:2:1. Takto bolo získaných 90,2 mg čistého produktu **16**, výťažnosť reakcie teda bola 67,42 %.

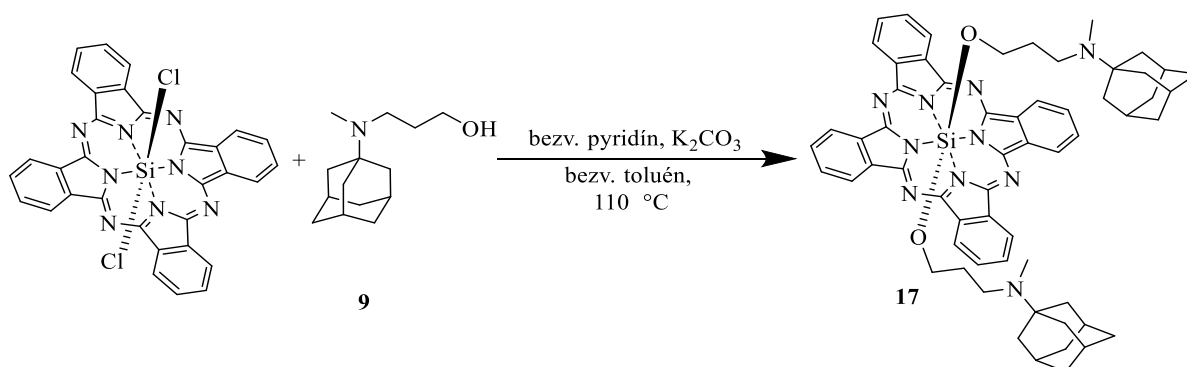
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.69 – 9.61 (m, 8H), 8.38 – 8.29 (m, 8H), 2.04 – 1.99 (m, 6H), 1.92 (s, 6H), 1.67 – 1.59 (m, 12H), 1.54 (dq, J = 12.4, 2.2 Hz, 6H), 0.43 – 0.33

(m, 4H), -0.46 (ddd, J = 15.5, 8.6, 6.7 Hz, 4H), -1.32 – -1.42 (m, 4H), -1.58 – -1.69 (m, 4H), -2.09 (t, J = 6.2 Hz, 4H) ppm.

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 149.23, 136.10, 130.66, 130.58, 123.61, 77.28, 77.23, 77.03, 76.78, 54.62, 53.81, 48.81, 38.62, 38.41, 36.90, 33.42, 29.66, 29.58, 29.22, 29.06, 25.90, 23.77 ppm.

UV/VIS λ_{max} (CHCl_3)/nm ($\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$): 672,5 (1,56670), 642,5 (0,20479), 605,0 (0,24244), 355,0 (0,45022)

6.4.3. Príprava zlúčeniny 17



Tbl. 19: Charakteristika reaktantov v syntéze.

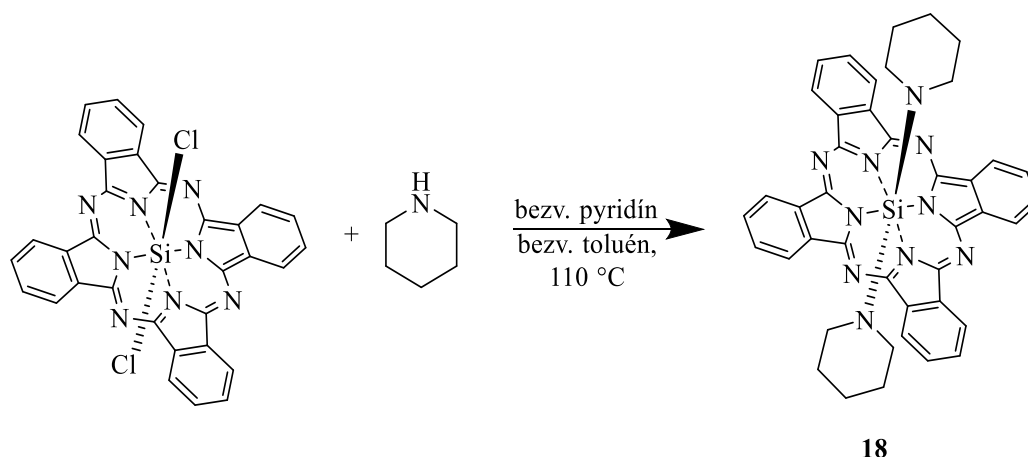
Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
9	138,30	223,36	0,619	
SiPcCl ₂	63,11	611,52	0,103	
K ₂ CO ₃	110,73	138,21	0,801	
Bezv. pyridín				1,11

Syntéza prebiehala obmenou publikovaných postupov.^[42]

Reakčná aparátúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45 °C. Destilačná banka s miešadlom a chladičom boli uzavreté gumovým septom, navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky. Cez gumové septum bolo striekačkami pridaných 16,61 mL bezvodného toluénu a 1,11 mL bezvodného pyridínu. Po rozpustení reaktantov bola reakcia zahrievaná pri teplote 110 °C pod pretlakom argónu 2 hodiny. Priebeh reakcie bol monitorovaný pomocou TLC (EAC/TEA v pomere 100:1). Detekovaný bol úbytok vychádzajúceho SiPcCl₂ a vznik produktu 17 ako modrej škvrny s R_f = 0,66. Reakcia bola ukončená ochladením reakčnej zmesi. Následne bola reakčná zmes vákuovo odparená. Zvyšok po odparení bol rozpustený v malom množstve chloroformu. Produkt z chloroformu vykryštalizoval po pridaní nadbytku hexánu za zníženej teploty v chladničke. Na Büchnerovom lieviku boli kryštály odfiltrované od hexánu. Na ďalšie čistenie produktu bol použitý chromatografický stĺpec s mobilnou fázou o zložení toluén/HEX/TEA v pomere 15:4:1.

Na základe výsledkov NMR analýzy nebola potvrdená prítomnosť zlúčeniny 17 v analyzovanom vzorku, preto možno konštatovať, že reakcia neprebehla.

6.4.4. Príprava zlúčeniny 18



Tbl. 20: Charakteristika reaktantov v syntéze.

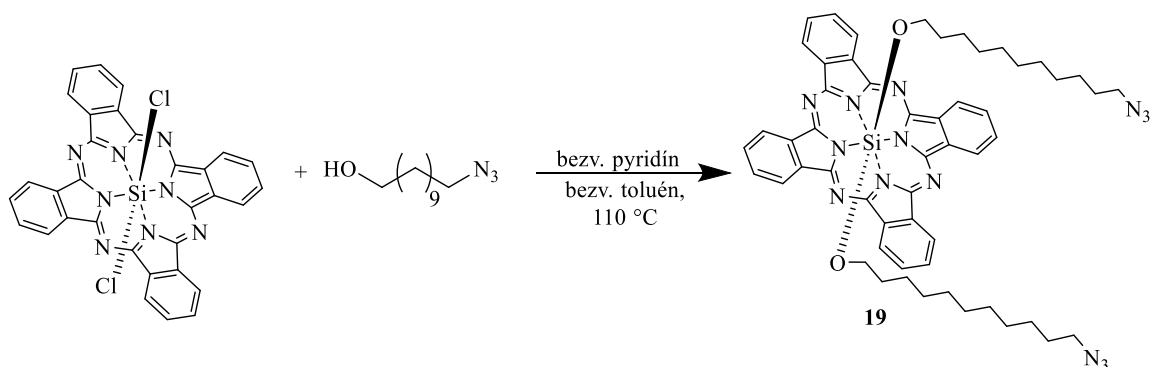
Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [μL]
SiPcCl ₂	30,30	611,52	0,049	
Piperidín	85,56	85,15	0,981	97,00
Bezv. pyridín				340,00

Syntéza prebiehala upravením publikovaného postupu.^[101]

Reakčná aparatúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45 °C. Reaktanty boli navážené a rozpustené v potrebnom množstve bezvodného toluénu v reakčnej banke. Následne bola reakčná zmes zahrievaná pri teplote 110 °C za neustáleho miešania po dobu 6 hodín. Reakcia bola monitorovaná pomocou TLC (chloroform/HEX v pomere 5:1). Reakcia bola ukončená ochladením. Reakčná zmes bola následne odparená. Podľa TLC v priebehu reakcie produkt nevznikal. Reakcia neprebíhala ani bez prídavku pyridínu.

6.4.5. SiPcCl₂/azidy

6.4.5.1. Príprava zlúčeniny 19



Tbl. 21: Charakteristika reaktantov v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
SiPcCl ₂	50,10	611,52	0,082	
11-azidoundekanol	183,10	213,32	0,818	
Bezv. pyridín				0,34

Syntéza prebiehala obmenou publikovaných postupov.^[42]

Reakčná aparatúra (destilačná banka, teflonové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45 °C. Destilačná banka s miešadlom a chladičom boli uzavreté gumovým, navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky a cez gumové septum bolo pridaných 5,00 mL bezvodného toluénu a 0,34 mL bezvodného pyridínu. Reakčná zmes bola zahrievaná 6 hodín pri teplote 110 °C pod pretlakom argónu. Priebeh reakcie bol monitorovaný pomocou TLC (chloroform). Ako produkt bola identifikovaná modrá škvrna s R_f = 0,52. Po ochladení bola reakčná zmes vákuovo odparená. K zvyšku po odparení bol pridaný acetón a zmes sfiltrovaná. Acetón z filtrátu bol následne vákuovo odparený a zvyšok po odparení bol rozpustený v 1 mL chloroformu. Zmes kryštalizovala za zníženej teploty po doplnení banky nadbytkom hexánu. Kryštály boli od hexánu odfiltrované a následne rozpustené v chloroforme. Pre ďalšie čistenie produktu bol použitý chromatografický stĺpec, kde bol použitý chloroform ako mobilná fáza. Po vyčistení bolo získaných 20,9 mg produktu čo odpovedá výťažnosti reakcie 26,62 %.

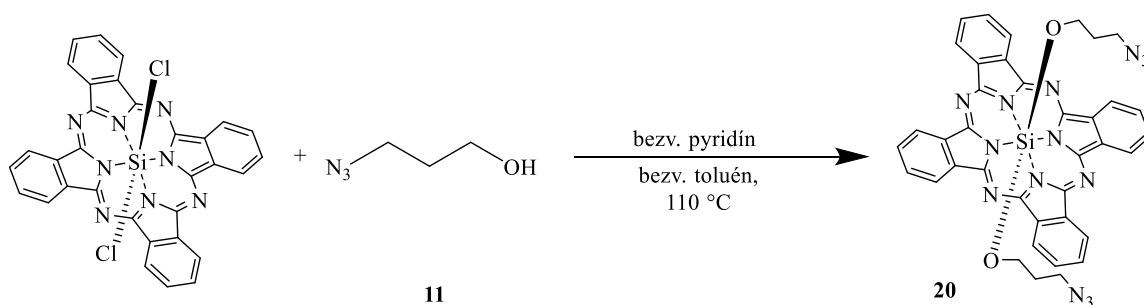
^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 9.65 – 9.59 (m, 8H), 8.33 – 8.30 (m, 8H), 3.22 (t, $J = 7.0$ Hz, 4H), 1.57 – 1.52 (m, 4H), 1.23 (dd, $J = 15.2, 7.6$ Hz, 4H), 1.04 (p, $J = 7.6$ Hz, 4H), 0.83 (p, $J = 7.6$ Hz, 4H), 0.50 (p, $J = 7.7$ Hz, 4H), 0.15 (p, $J = 7.6$ Hz, 4H), -0.49 (p, $J = 7.6$ Hz, 4H), -1.46 (p, $J = 7.4$ Hz, 4H), -1.70 (p, $J = 6.6$ Hz, 4H), -2.12 (t, $J = 6.2$ Hz, 4H) ppm.

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 149.31, 136.22, 130.73, 123.66, 77.30, 77.09, 76.88, 54.72, 51.59, 29.24, 29.13, 29.05, 28.90, 28.85, 28.76, 27.71, 26.74, 23.70 ppm.

UV/VIS λ_{max} (CHCl_3)/nm ($\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$): 672,0 (0,72130), 642,0 (0,09832), 604,5 (0,11543), 355,0 (0,20885)

IČ (ATR) ν_{max} : 2924, 2852, 2094, 1613, 1520

6.4.5.2. Príprava zlúčeniny 20



Tbl. 22: Charakteristika reaktantov v syntéze.

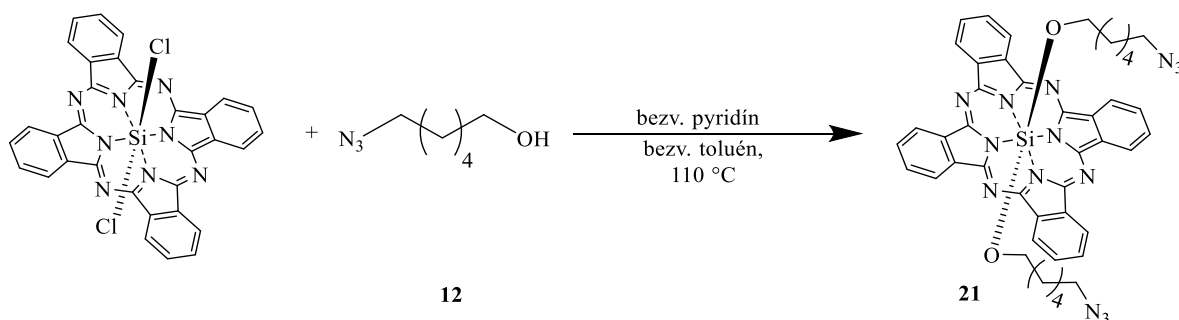
Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
SiPcCl ₂	301,3	611,52	0,493	
11	501,9	101,09	4,965	
Bezv. pyridín				2,04

Syntéza prebiehala obmenou publikovaných postupov.^[42]

Reakčná aparatúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45 °C. Destilačná banka s miešadlom a chladičom boli uzavreté gumovým septom, navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky. Cez gumové septum bolo pridaných 30,00 mL bezvodného toluénu a 2,04 mL bezvodného pyridínu. Po rozpustení reaktantov bola reakčná zmes 6 hodín zahrievaná pri teplote 110 °C za neustáleho miešania pod pretlakom argónu. Reakcia bola monitorovaná pomocou TLC (toluén/TEA v pomere 5:1). Detekovaných bolo niekoľko škvŕn, pričom ako produkt **20** bola identifikovaná modrá škvŕna s R_f = 0,9. Po ukončení reakcie ochladením bola reakčná zmes vákuovo odparená, zvyšok po odparení bol rozpustený v chloroforme. Z chloroformu bol produkt rekryštalizovaný za zníženej teploty po pridaní nadbytku hexánu. Následne boli kryštály vákuovo odfiltrované. Reakciou bolo získaných 543,0 mg produktu **20**.

Pre ďalšie čistenie produktu bol použitý chromatografický stĺpec so silikagélom a ako mobilná fáza bola použitá zmes toluén/HEX/TEA v pomere 15:4:3. Zlúčenina **20** sa na stĺpci pravdepodobne rozložila. Tento predpoklad potvrdila NMR analýza, na základe ktorej nebola preukázaná prítomnosť zlúčeniny **20** v analyzovanom vzorku.

6.4.5.3. Príprava zlúčeniny 21



Tbl. 23: Charakteristika reaktantov v syntéze.

Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
SiPcCl ₂	300,7	611,52	0,492	
12	702,3	143,17	4,905	
Bezv. pyridín				2,04

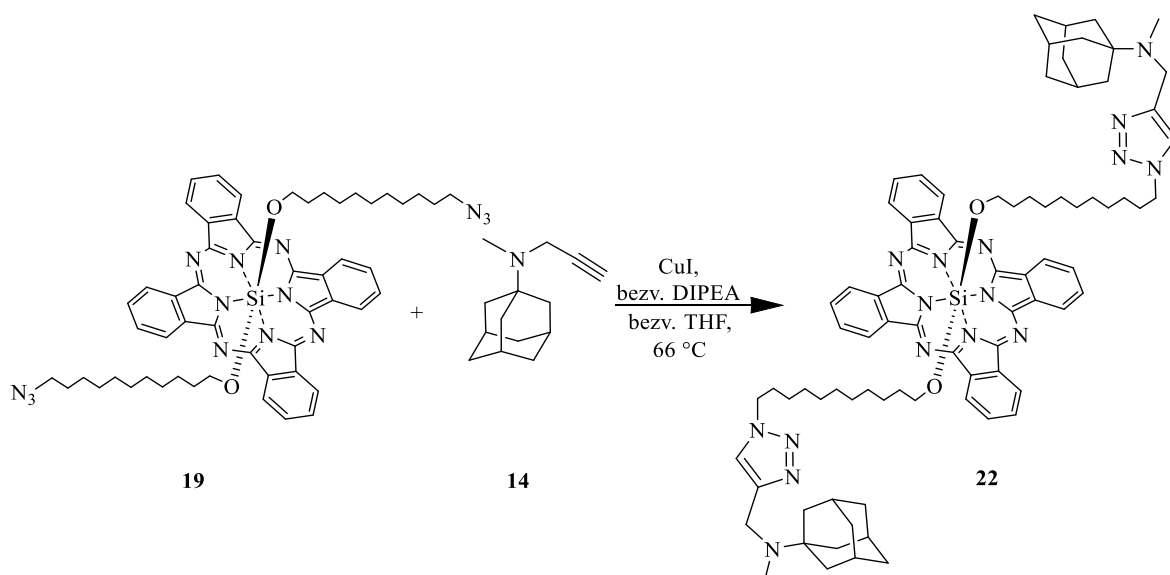
Syntéza prebiehala obmenou publikovaných postupov.^[42]

Reakčná aparatura (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom a cez noc vysušená v sušiarňi pri teplote 45 °C. Destilačná banka s miešadlom a chladičom boli uzavreté gumovým septom, navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky. Cez gumové septum bolo pridaných 30,00 mL bezvodného toluénu a 2,04 mL bezvodného pyridínu. Po rozpustení reaktantov bola reakcia 6 hodín zahrievaná pri teplote 110 °C za neustáleho miešania pod pretlakom argónu. Pre monitorovanie reakcie bolo použité TLC (toluén/TEA v pomere 5:1). Detekovaných bolo niekoľko škvŕn, pričom ako produkt bola identifikovaná modrá škvŕna s R_f = 0,9. Po ukončení reakcie ochladením bola reakčná zmes vákuovo odparená a zvyšok v banke rozpustený v chloroforme. Z chloroformu bol produkt rekryštalizovaný za zníženej teploty po pridaní nadbytku hexánu. Následne boli kryštály vákuovo odfiltrované. Reakciou bolo získaných 826,1 mg zlúčeniny **21**.

Pre ďalšie čistenie produktu bol použitý chromatografický stĺpec so silikagélom a ako mobilná fáza bola použitá zmes toluén/HEX/TEA v pomere 15:4:3. Zlúčenina **21** sa na stĺpci pravdepodobne čiastočne rozložila. Zo získaného množstva bola spravená NMR analýza, ktorá neodpovedala očakávanému spektru pre zlúčeninu **21**.

6.5. Click reakcie

6.5.1. Príprava zlúčeniny 22



Tbl.24 : Charakteristika reaktantov v syntéze.

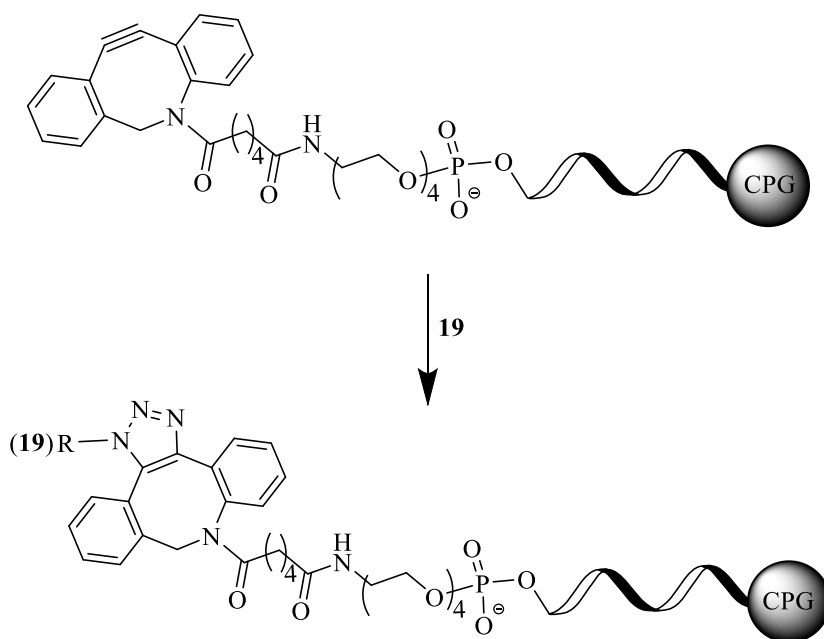
Reaktant	Hmotnosť [mg]	Molárna hmotnosť [g.mol ⁻¹]	Látkové množstvo [mmol]	Objem [mL]
19	140,0	967,24	0,145	
14	147,1	203,30	0,724	
CuI	423,6	190,45	2,224	
Bezv. DIPEA				1,33

Syntéza prebiehala obmenou publikovaného postupu.^[102]

Reakčná aparatúra (destilačná banka, teflónové miešadlo, pasívny chladič, sklenené striekačky) bola vymytá acetónom. Destilačná banka s miešadlom a chladičom boli uzavreté gumovým septom, navážené reaktanty boli prevedené do reakčnej banky a cez gumové septum bolo pridaných 1,33 mL bezvodného diisopropyletylamínu (DIPEA) a 2,67 mL bezvodného THF. Zmes bola zahrievaná pri teplote 66 °C po dobu 6 dní pod pretlakom argónu. Pre monitorovanie reakcie bolo použité TLC (chloroform/HEX v pomere 3:1). Reakcia bola ukončená ochladením. Reakčná zmes bola vákuovo odparená. Zvyšok po odparení bol rozpustený v chloroforme, pevný nerozpustený podiel bol následne vákuovo odsatý. Chloroformová frakcia bola odparená.

Na základe výsledkov NMR analýzy nebola potvrdená prítomnosť zlúčeniny 22 v analyzovanom vzorku, preto možno konštatovať, že reakcia neprebehla.

6.5.2. Zlúčenina **19** / oligonukleotid



Sekvencia: **DBCO-5'**-GTG GAT GAC CAG CTG TTC GTG TT-3'

Tbl. 25: charakteristiky oligonukleotidu a SiPcDM-22.

Oligonukleotid		19	
Pevná fáza	500 Å CPG	Koncentrácia	10 mmol/L
Loading	40 000 nmol/g	bezv. THF	0,200 mL
Potrebné množstvo	30 nmol		

Syntéza prebiehala podľa publikovaného postupu.^[102]

Pridaním 0,280 mL THF k 2,7 mg zlúčeniny **19** sme pripravili roztok o koncentrácií 10 mmol/L. Z tohto roztoku bolo odobraných 0,200 mL. Tie boli pridané k 0,617 mg 24 bázovej sekvencii oligonukleotidu viazaného na sklenenú pevnú fázu (CPG). Táto zmes bola trepaná po dobu 24 hodín pri RT.

Následne bola zmes dekantovaná a pomocou THF vymytý roztok zlúčeniny **19**. Pre deprotekcii báz a uvoľnenie oligonukleotidu s naviazanou zlúčeninou **19** z pevnej fázy bol pridaný 32% roztok NH₃. Zmes bola trepaná ďalších 24 hodín. Nízkomolekulárne nečistoty boli odseparované s využitím gelovej chromatografie (Size-exclusion Chromatography). Po zmeraní UV/Vis spektra bol pozorovaný pás charakteristický pre oligonukleotidové sekvencie (258,5 nm (0,18613)), avšak bez pásu charakteristického pre zlúčeninu **19** (672,0 nm (0,00179)).

7. DISKUSIA

V tejto práci sme sa zamerali na syntézu axiálne disubstituovaných SiPcs. V úvode sme sa pokúsili optimalizovať syntetický postup prípravy samotného makrocyklu. Účelom následných modifikácií axiálnych polôh bolo predstaviť Pcs s funkčnými skupinami priaznivo ovplyvňujúcimi ich fyzikálne-chemické vlastnosti a umožňujúcimi ich aplikáciu v click chémii. Z hľadiska fyzikálne-chemických vlastností bolo primárnym cieľom zvýšiť rozpustnosť SiPcs zavedením A1A, s postranným reťazcom rôzneho charakteru, naviazaným na molekulu SiPc prostredníctvom kyslíkového mostíku. Takto upravená molekula sa môže práve prostredníctvom napojeného A1A nekovalentne viazať do hydrofóbnej kavite molekuly kukurbiturilu, ktorý sa používa ako solubilizátor.^[103] Zároveň sa predpokladalo, že uvedené obmeny zamedzia stérickým bránením agregácii, ktorá negatívne vplýva na požadované vlastnosti výsledných makrocyklov. Pre možnosť využitia v click chémii sme zvolili azidovú skupinu, napojenú na SiPc obdobným spojovacím reťazcom ako v prípade A1A. Azidová skupina môže následne podstúpiť Huisgenovu cykloadíciu na trojitou väzbou modifikovaný oligonukleotid. V jednom z experimentov sme sa taktiež pokúsili overiť možnosť napojenia A1A s *N*-substitutovaným propargylom na SiPc s azidovou skupinou v axiálnom substituent, rovnako Huisgenovou cykloadíciou.

7.1. Príprava SiPcCl₂ (**2**) a PhSiPcCl (**3**)

V počiatočnej fáze tejto práce sme sa pokúsili nasyntetizovať *de novo* kremičitý komplex ftalocyanínu templátovou metódou. Na tento účel sme ako prekursor zvolili zlúčeninu **1** (DII). Pre jej syntézu sme použili metódu amonolýzy.^[43] Ako východiskový reaktant bol použitý ftalonitril, ktorý s metoxidom sodným a plynným amoniakom v prostredí bezvodného metanolu poskytuje zlúčeninu **1**. Celkovo boli uskutočnené dve syntézy. Pomery látkových množstiev ftalonitrilu a metoxidu sodného v prvej a druhej syntéze boli 1:1,7 a 1:7, v uvedenom poradí. Druhá z uvedených reakcií poskytovala o niečo vyšší výtazok, pravdepodobne kvôli prebytku metoxidu sodného.

Druhým krokom bola samotná cyklotetramerizácia pripravenej zlúčeniny **1** na templát. Ako templát boli zvolené dve zlúčeniny, tetrachlór-silán (SiCl₄) a fenyiltrichlór-silán (PhSiCl₃). Pokus o prípravu zlúčeniny **2** bol uskutočnený pomocou reakcie zlúčeniny **1** s SiCl₄, pyridín v tomto prípade slúžil aj ako reakčné prostredie a zároveň na vychytávanie vznikajúceho HCl.^[43] Rozdiel oproti bežne používaným postupom (viď

kapitola 5.2.4.1.) spočíva v neprítomnosti chinolínu. Použitie pyridínu samotného malo umožniť jednoduchšiu purifikáciu vznikajúceho produktu **2** podľa zavedeného postupu na našom pracovisku. Monitorovaním reakcie pomocou TLC avšak nebol detekovaný vznik produktu, preto možno konštatovať, že reakcia za uvedených podmienok neprebíhala.

Pre prípravu zlúčeniny **3** bola opäť použitá zlúčenina **1** a ako templát bol využitý PhSiCl_3 . Uskutočnené boli dve syntézy za rozdielnych reakčných podmienok.^[43,96] TLC ani TLC_MS v priebehu syntézy nepotvrdilo vznik zlúčeniny **3**, preto bolo konštatované, že za uvedených podmienok cyklotetramerizácia na PhSiCl_3 ako templát taktiež neprebíha.

Vzhľadom k primárnemu cieľu diplomovej práce sme sa pre neúspech rozhodli z časových dôvodov nepokračovať v optimalizácii reakčných podmienok týchto syntéz a pre nasledujúce syntézy bol použitý komerčne dostupný SiPcCl_2 .

7.2. Príprava sekundárnych aminoalkoholov

Jedným z hlavných cieľov tejto práce bola snaha o modifikáciu SiPcCl_2 v axiálnych polohách substituentami nesúcimi A1A. Bolo pripravených niekoľko prekursorov s rôzne dlhými spojovacími reťazcami, nesúcimi fragment A1A na jednom konci a hydroxylovú skupinu na konci druhom. Zámerom bolo dostať A1A čo najbližšie k makrocyklu SiPc prostredníctvom čo možno najkratšieho uhlíkového reťazca, čím by sme zároveň zabránili agregácii molekúl SiPcs. Z tohto dôvodu bol ako prvý zvolený dvojuhlíkový spojovací reťazec (v zlúčenine **4**). Po neúspešnom pokuse o jeho naviazanie na SiPc (viď ďalej) sme pristúpili k syntéze prekursorov **6** a **8** s trojuhlíkovým a šesťuhlíkovým spojovacím reťazcom. Pre nedostupnosť vhodného spojovacieho linkeru o dĺžke štyri a päť uhlíkov bola alternatívne vyvinutá snaha o prípravu zlúčeniny **10**. V prípade zlúčeniny **10** mala vzdialenosť medzi halogénom a hydroxylovou skupinou vo vzájomnej polohe 1,4 na benzénovom jadre približne odpovedať vzdialenosti štyroch uhlíkov 4-brómbutanolu.

Reakcia A1A s odpovedajúcim halogénalkoholom prebiehala mechanizmom nukleofilnej substitúcie. Syntéza prebiehala v dvoch krokoch a pre všetky štyri zlúčeniny boli zvolené podobné reakčné podmienky, upravené vzhľadom k publikovaným postupom.^[97] Reakcia A1A s 2-brómetanolom poskytla produkt **4** vo výťažku 86 %, s 6-brómhexanolom produkt **6** vo výťažku 82 %, s 3-brómpropanolom produkt **8** vo výťažku 74 %. V prípade zlúčeniny **4** bola totožnosť produktu overená pomocou NMR

analýzy, zlúčeniny **6** a **8** boli v ďalších syntézach použité na základe predchádzajúcich skúsenosti bez preukázania totožnosti pomocou NMR analýzy. Syntéza zlúčeniny **10** očakávaný produkt neposkytla. Dôvodom bola pravdepodobne znížená reaktivita brómu na benzénovom jadre, resp. neochota molekuly vytvárať na uhlíku aromatického benzénového kruhu karbokatión, čo znemožňuje priebeh nukleofilnej substitúcie.

Pre syntézu zlúčeniny **6** bol okrem 6-brómhexanolu použitý aj 6-chlórhexanol, za účelom porovnania miery vplyvu rôznych halogénov na výťažok a čistotu výsledného produktu **6**. Pri použití chlórderivátu sa výťažnosť reakcie znížila o viac než dvojnásobok, konkrétne na 36 % oproti vyššie uvedeným 82 % v prípade použitia brómderivátu. Na druhej strane produkt **6** získaný po reakcii A1A s chlórderivátom vykazoval vyššiu čistotu. Dôvodom môže byť pravdepodobne nižšia reaktivita chlórderivátu, a teda i nižšia pravdepodobnosť priebehu vedľajších reakcií a vzniku vedľajších produktov.

7.3. Príprava terciárnych aminoalkoholov

U zlúčenín **4**, **6**, **8** diskutovaných v predchádzajúcej kapitole sme následne pristúpili k ďalším syntézam, ktoré poskytli produkty **5**, **7** a **9**. Jednalo sa o Eschweiler-Clarkovú redukčnú metyláciu, pričom všetky tri reakcie prebiehali za analogických podmienok.^[98] Sekundárne amíny boli zahrievané v metanole pri teplote 65 °C spolu s 36% vodným roztokom HCHO ako metylačným činidlom a 84% vodným roztokom HCOOH, ktorá slúžila ako zdroj protónov. Reakcie boli monitorované pomocou TLC a identita produktov **5**, **7** a **9** bola potvrdená pomocou NMR analýzy. Najvýťažnejšou reakciou bola reakcia poskytujúca produkt **5** (96 %), najmenej výťažnou naopak reakcia poskytujúca produkt **9** (25 %). V prípade produktu **7** boli prevedené dve reakcie, prvá so zlúčeninou **6** získanou z 6-brómhexanolu, druhá so zlúčeninou **6** získanou z 6-chlórhexanolu, s výťažkami 58 % a 44 %, v uvedenom poradí. Nebola teda pozorovaná lineárna závislosť medzi dĺžkou spojovacieho reťazca v použitých reaktantoch a výťažnosťou reakcie. Všetky produkty získané Eschweiler-Clarkovou redukčnou metyláciou boli olejovitej konzistencie.

Zmyslom prípravy terciárnych aminov bolo ich zamýšľané použitie v kombinácií s kukurbiturilom. Do hydrofóbnej kavity kukurbiturilu sa totiž fragment molekuly odpovedajúci A1A viaže lepšie po kvarternizácii aminovej skupiny.^[103] Zároveň terciárne amíny **5**, **7** a **8** majú nižšiu reaktivitu v porovnaní so sekundárnymi amínmi **4**, **6**, **7**, preto

je možný predpoklad, že ich použitie v ďalších syntézach bude viesť v menšej miere k vzniku vedľajších produktov.

7.4. Príprava azidoalkoholov

Východiskovými látkami pre syntézu zlúčenín **11** a **12** boli 3-brómpropanol a 6-brómhexanol, v uvedenom poradí. Obe syntézy prebiehali za rovnakých podmienok, upraveným vzhľadom k publikovaným postupom.^[99] Pri čistení produktu nebolo možné dokonale odpariť z reakčnej zmesi všetok DMF kvôli riziku odparenia produktu s ohľadom na nízke teploty varu nízkomolekulárnych azidov. To malo za následok, že výťažnosť reakcií bola v oboch prípadoch nad 100 %. Totožnosť produktu **11** a **12** bola potvrdená pomocou NMR a IČ analýzy. Dôvodom syntézy týchto azidov bola snaha o prípravu azidoalkoholov s rôzne dlhým uhl'ovodíkovým reťazcom, ktoré možno následne nasubstituovať na SiPcCl₂ cez hydroxylovú skupinu. SiPcs s azidovou skupinou v axiálnych substituentoch možno následne použiť do rôznych click reakcií (viď ďalej).

7.5. Príprava *N*-metyl-*N*-(prop-2-ín-1-yl)adamantán-1-amínu (**14**)

V tomto experimente boli pripravené prekurzory, zlúčeniny **13** a **14**, nesúce propargylovú skupinu na dusíku A1A, ktoré by prostredníctvom prítomnej trojitej väzby mohli byť využiteľné v click chémii. Východiskovými látkami boli A1A a 3-brómpropín. Postup prípravy sekundárneho amínu **13** a terciárneho amínu **14** bol obdobný ako postupy prípravy sekundárnych a terciárnych aminoalkoholov nesúcich A1A (viď kapitoly 7.3. a 7.4.).^[97,98] Na základe predchádzajúcich skúseností s priebehom tohto typu reakcie bola zlúčenina **13** použitá k príprave zlúčeniny **14** bez potvrdenia totožnosti NMR analýzou. Totožnosť zlúčeniny **14** bola potvrdená pomocou TLC_MS a NMR analýzy. Obe zlúčeniny boli olejovitej konzistencie.

Behom monitorovania reakcie bola vo výslednej zmesi detekovaná prítomnosť zlúčeniny **14** a ďalších dvoch vedľajších produktov (*N,N*-dimetyladamantán-1-amín, *N,N*-dipropargyladamantán-1-amín). Izolácia čistého produktu **14** pomocou chromatografickej kolóny dopadla neúspešne, keďže spolu s žiadaným produktom bol izolovaný aj *N,N*-dipropargyladamantán-1-amín. Táto skutočnosť avšak nebránila ďalšiemu použitiu tejto zmesi vzhľadom na náš zámer, ktorým bolo otestovať možnosť alternatívneho pripojenia A1A na SiPc, a to prostredníctvom click reakcie produktu **14** s azidovou skupinou v axiálnom substituentе SiPc. Zo sterických dôvodov sa

nepredpokladalo, že by *N,N*-dipropargyladamantán-1-amín ochotne podstupoval click reakciu s trojitou väzbou na oboch propargylových zvyškoch.

7.6. Substitúcia SiPcCl₂ adamantylaminoalkoholmi

Cieľom týchto syntéz bolo otestovať možnosť substitúcie prekursoru nesúceho A1A na molekulu SiPc do axiálnych polôh a zistiť minimálnu dĺžku spojovacieho reťazca medzi A1A a SiPc, ktorá by úspešne viedla k tvorbe stabilného produktu.

Pri príprave zlúčeniny **15** boli vyskúšané dva postupy, líšiace sa mechanizmom reakcie - nukleofilná substitúcia a dehydratácia. V prípade nukleofilnej substitúcie boli ako reaktanty zvolené SiPcCl₂ a zlúčenina **5**. Celkom boli prevedené štyri syntézy. Reakčné podmienky boli upravované obmenou publikovaných postupov, a to dĺžkou reakcie, zmenou reakčného prostredia (výmena NaH za pyridín), či prídavkom K₂CO₃.^[42,47] V prípade dehydratácie bol namiesto SiPcCl₂ použitý SiPc(OH)₂.^[100] Na základe NMR analýz zo vzoriek získaných z jednotlivých syntéz nebola v žiadnom z nich potvrdená prítomnosť produktu **15**. Preto konštatujeme, že aj napriek optimalizácií reakčných podmienok táto reakcia neprebíha.

Po tomto neúspešnom pokuse boli pripravené ďalšie prekursori (zlúčenina **7** a **9**) s dlhším spojovacím reťazcom. Následne sme sa pokúsili o ich nukleofilnú substitúciu do axiálnych polôh SiPcCl₂, očakávajúc vznik produktov **16** a **17**. Reakcie boli uskutočnené podľa publikovaného postupu (s úpravou reakčných časov), ktorý bol použitý i pri príprave zlúčeniny **15** (t.j. bezvodný pyridín, K₂CO₃, 110 °C, bezvodný toluén).^[42] V prípade zlúčeniny **16** bola výťažnosť reakcie po purifikácii 67 % a jej totožnosť bola preukázaná pomocou NMR analýzy a UV/VIS spektrofotometrie. Naopak u zlúčeniny **17** NMR analýza nepotvrdila prítomnosť požadovaného produktu, preto môžeme konštatovať, že použitým postupom sa uvedenú zlúčeninu nepodarilo pripraviť.

Vzhľadom k úspešnej príprave zlúčeniny **16** usudzujeme, že spomedzi nami pripravovaných zlúčenín, je vhodná dĺžka uhlíkového spojovacieho mostíku medzi A1A a SiPc potrebná pre naviazanie substituentu šesť uhlíkov. Dvojuhlíkové a trojuhlíkové spojovacie reťazce v zlúčeninách **5** a **9** medzi fragmentom A1A a SiPc pravdepodobne nie sú dostatočne dlhé na to, aby zamedzili vzájomným stericným vplyvom, preto odpovedajúce axiálne disubstituované SiPcs **15** a **17** neposkytujú. Vplyv štvoruhlíkového a päťuhlíkového spojovacieho reťazca na výsledok reakcie nebol overený a môže byť predmetom ďalšieho výskumu.

7.7. Substitúcia SiPcCl₂ piperidínom

Účelom prípravy zlúčeniny **18** bolo overiť možnosť napojenia axiálneho substituentu na SiPcCl₂ cez iný než kyslíkový mostík. Postup bol zvolený analogicky k publikovaným postupom reakcií chlór-silánov so sekundárnymi amínmi.^[101] V našom prípade bol ako sekundárny amín zvolený piperidín. Počas monitorovania priebehu reakcie pomocou TLC nebol detekovaný vznik akéhokoľvek produktu, bolo teda konštatované, že reakcia neprebíha.

7.8. Substitúcia SiPcCl₂ azidoalkoholmi

Pri príprave zlúčenín **19**, **20** a **21** bolo zámerom pripraviť axiálne disubstituované SiPc, s rôzne dlhým spojovacím reťazcom v axiálnom substituentu, nesúce azidovú skupinu na koncovom uhlíku. Takéto SiPcs by bolo možné následne použiť v click chémii.

Ako substituenty na SiPcCl₂ pre prípravu zlúčenín **19**, **20** a **21** boli použité 11-azidoundekanol (pripravený v minulosti na našej katedre), zlúčenina **11** a zlúčenina **12**, v uvedenom poradí. Všetky reakcie prebiehali za rovnakých podmienok, upravením publikovaných postupov.^[42] Po vyčistení a izolácii produktu bola potvrdená prítomnosť produktu **19** v analyzovanej vzorke pomocou NMR, IČ a UV/VIS analýzy. Výťažnosť reakcie poskytujúcej zlúčeninu **19** bola 27 %. Naopak NMR analýza nepotvrdila prítomnosť zlúčenín **20** a **21** v analyzovaných vzorkách. Neúspech pri syntéze zlúčenín **20** a **21** mohol byť spôsobený prítomnosťou DMF ako nečistoty v použitých prekursoroch (zlúčeniny **11** a **12**, viď kapitola 7.4.). Proces purifikácie nízkomolekulárnych azidov sa z časových dôvodov nepodarilo optimalizovať.

7.9. Click reakcie

7.9.1. Zlúčenina **22**

Syntéza zlúčeniny **22** predstavuje alternatívny pokus pripojenia fragmentu A1A na molekulu SiPc, ktorá bola vopred axiálne dekorovaná substituentom s azidovou skupinou. Princípom reakcie mal byť teda click zlúčeniny **19** a **14** za vzniku produktu **22**, mechanizmom Huisgenovej cykloadície, úpravou publikovaného postupu.^[102] Po prevedení reakcie podľa upraveného publikovaného postupu NMR analýza nepotvrdila prítomnosť produktu **22** v analyzovanej vzorke. Dôvodom môže byť dĺžka uhlíkovodíkového reťazca axiálneho substituentu v použítom reaktante **19**. Vďaka voľnej rotácii jednoduchých sigma väzieb v 11-azidoundekánoxy substituentu a jeho vysokej lipofilite, mohlo dôjsť k ovplyvneniu priestorovej konformácie substituentu a jeho

interakcii s lipofilným skeletom Pc do takej miery, že došlo k zneprístupneniu terminálnych azidových skupín voči trojitej väzbe prítomnej v reakčnej zmesi vo forme zlúčeniny **14**, a tým pádom k znemožneniu priebehu samotnej Huisgenovej cykloadície.

7.9.2. Zlúčenina **19** / oligonukleotid

Posledným prevedeným experimentom bol click zlúčeniny **19** na oligonukleotid značený DBCO a naviazaný na pevnú fázu (500 Å CPG, loading 40 000 nmol/g). Po prevedení click reakcie^[102] a následnom spracovaní ODN nebol pomocou UV/Vis spektrofotometrie pozorovaný absorpčný pás charakteristický pre zlúčeninu **19**. Dôvodom môže byť opäť charakter spojovacieho reťazca medzi azidovou skupinou a SiPc (vid' kapitola 7.9.1.).

8. ZÁVER

V tejto diplomovej práci bolo primárnym cieľom pripraviť axiálne disubstituované SiPcs, ktoré by mali vhodné vlastnosti pre ich následné použitie v značení oligonukleotidových sond, resp. pre ich solubilizáciu prostredníctvom kukurbiturilu. Toho sme sa snažili dosiahnuť zavedením vhodných funkčných skupín, zvyšujúcich rozpustnosť výsledných SiPcs v polárnych rozpúšťadlách, zároveň znižujúcich negatívny jav agregácie SiPcs, prípadne umožňujúcich ich následné použitie v click chémii.

V úvode práce sme sa pokúsili o *de novo* syntézu SiPcCl₂ (**2**) a PhSiPcCl (**3**) z diiminoisoindolínu (**1**) metódou cyklotetramerizácie na templát (SiCl₄ a PhSiCl₄). Pomocou nami vyskúšaných postupov sa nepodarilo uvedené zlúčeniny pripraviť.

Bolo pripravených niekoľko prekursorov typu aminoalkoholov, vychádzajúc z adamantán-1-amínu (A1A), na ktorý bol naviazaný nukleofilnou substitúciou alkyl o rôznej dĺžke uhlíkového reťazca. Takto pripravené sekundárne aminoalkoholy boli následne Eschweiler-Clarkovou redukčnou metyláciou prevedené na tieto terciárne aminoalkoholy:

- 2-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)etán-1-ol (zlúčenina **5**),
- 6-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)hexán-1-ol (zlúčenina **7**),
- 3-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)propán-1-ol (zlúčenina **9**).

Pripravené boli nasledujúce azidoalkoholové prekursorzy:

- 3-azidopropán-1-ol (zlúčenina **11**),
- 6-azidohexan-1-ol (zlúčenina **12**).

Z A1A bol pripravený aj prekursor *N*-metyl-*N*-(prop-2-ín-1-yl)adamantán-1-amín (zlúčenina **14**).

Z uvedených prekursorov boli úspešne pripravené nasledujúce axiálne disubstituované SiPcs:

- *bis*(6-((adamantán-1-yl)(metyl)amino)hexánoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex (zlúčenina **16**),
- *bis*(11-azidoundekánoxy)ftalocyaninátokremičitý komplex (zlúčenina **19**).

Pri príprave SiPcs s fragmentom A1A v axiálnom substituentе bol porovnávaný vplyv dĺžky spojovacieho uhlíkového reťazca na výsledok reakcie. Z nami prevedených reakcií úspešne prebehla príprava zlúčeniny **16** so spojovacím reťazcom o dĺžke šesť uhlíkov. Význam zlúčeniny **16** spočíva hlavne v možnosti jej naviazania (vdďaka prítomnosti fragmentu A1A v axiálnych substituentoch) do hydrofóbnej kavity kukurbiturilu, v zmysle zvýšenia rozpustnosti výslednej molekuly. Axiálne substituenty taktiež obmedzujú mieru agregácie SiPcs.

Dôvodom prípravy SiPcs s azidovými skupinami na koncových uhlíkoch axiálnych substituentov je možnosť ich využitia v click chémií, a to Huisgenovou cykloadíciou. Z použitých prekursorov prebehla úspešne len syntéza zlúčeniny **19**, so spojovacím reťazcom o dĺžke jedenásť uhlíkov. Následné pokusy o click reakciu azidovej skupiny prítomnej v zlúčenine **19** na trojitú väzbu zlúčeniny **14** (obsahujúcej fragment A1A) a oligonukleotid modifikovaný DBCO prebehli neúspešne. Dôvodom môže byť charakter spojovacieho reťazca, ktorý v dôsledku voľnej rotácie jednoduchých sigma väzieb typu uhlík-uhlík a vysokej lipofilite spôsobí znepřístupnenie azidovej skupiny voči trojitej väzbe.

9. ZDROJE

- [1] LU, H. - KOBAYASHI, N. Optically Active Porphyrin and Phthalocyanine Systems. *Chem. Rev.* 2016, 116(10), 6184-6261.
- [2] WÖHRLE, D. et al. Practical Applications of Phthalocyanines – from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices. *Macroheterocycles* 2012, 5(3), 191-202.
- [3] ARMSTRONG, N.R. Phthalocyanines and porphyrins as materials. *J. Porphyr. Phthalocyanines.* 2000, 4(4), 414-417.
- [4] MARTÍNEZ-DÍAZ, M.V. et al. Lighting porphyrins and phthalocyanines for molecular photovoltaics. *Chem. Commun.* 2010, 46(38), 7090-7108.
- [5] ZHANG, Y. - LOVELL, J.F. Recent applications of phthalocyanines and naphthalocyanines for imaging and therapy. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2017, 9(1), e1420.
- [6] DE ANNUNZIO, S.R. et al. Chlorin, Phthalocyanine, and Porphyrin Types Derivatives in Phototreatment of Cutaneous Manifestations: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20(16), 3861.
- [7] MARTINEZ DE PINILLOS BAYONA, A. et al. Design features for optimization of tetrapyrrole macrocycles as antimicrobial and anticancer photosensitizers. *Chem. Biol. Drug Des.* 2017, 89(2), 192-206.
- [8] ROSENTHAL, I. Phthalocyanines as photodynamic sensitizers*. *Photochem. Photobiol.* 1991, 53(6), 859-870.
- [9] KOSTKA, M. et al. Comparison of aggregation properties and photodynamic activity of phthalocyanines and azaphthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol. A.* 2006, 178(1), 16-25.
- [10] MITRA, K. - HARTMAN, M.C.T. Silicon phthalocyanines: synthesis and resurgent applications. *Org. Biomol. Chem.* 2021, 19(6), 1168-1190.
- [11] KHARISOV, B.I. et al. Electrosynthesis of Phthalocyanines: Influence of Solvent. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1999, 38(8), 2880-2887.
- [12] CHAUHAN, S.M.S. et al. Solvent-free synthesis of phthalocyanines. *J. Porphyr. Phthalocyanines.* 2003, 7(8), 548-550.

- [13] NEMYKIN, V.N. - LUKYANETS, E.A. Synthesis of substituted phthalocyanines. *Arkivoc* 2010, 2010(1), 136-208.
- [14] JOYNER, R.D. et al. Diphenoxysilicon phthalocyanine. *J. Inorg. Nucl.* 1960, 15(3-4), 387-388.
- [15] LOWERY, M.K. et al. Dichloro(phthalocyanino)silicon. *Inorg. Chem.* 1965, 4(1), 128-128.
- [16] ZANOTTI, G. et al. Sustainable Approaches to the Synthesis of Metallophthalocyanines in Solution. *Molecules* 2021, 26(6), 1760.
- [17] GHAZAL, B. et al. Phthalocyanines and Tetrapyrizinoporphyrazines with Two Cationic Donuts: High Photodynamic Activity as a Result of Rigid Spatial Arrangement of Peripheral Substituents. *J. Med. Chem.* 2017, 60(14), 6060-6076.
- [18] HALASKOVA, M. et al. Peripherally Crowded Cationic Phthalocyanines as Efficient Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *ACS Medicinal Chem. Lett.* 2021, 12(3), 502-507.
- [19] MACHACEK, M. et al. Far-Red-Absorbing Cationic Phthalocyanine Photosensitizers: Synthesis and Evaluation of the Photodynamic Anticancer Activity and the Mode of Cell Death Induction. *J. Med. Chem.* 2015, 58(4), 1736-1749.
- [20] PEKBELGIN KARAOĞLU, H. - KALKAN BURAT, A. α - and β -Substituted Metal-Free Phthalocyanines: Synthesis, Photophysical and Electrochemical Properties. *Molecules* 2020, 25(2), 363.
- [21] LINSSEN, T.G. - HANACK, M. Synthesis, Separation and Characterization of Unsymmetrically Substituted Phthalocyanines. *Chem. Ber.* 1994, 127(10), 2051-2057.
- [22] KHARISOV, B.I. et al. Synthesis of non-substituted phthalocyanines by standard and non-standard techniques. Influence of solvent nature in phthalocyanine preparation at low temperature by UV-treatment of the reaction system. *New J. Chem.* 2005, 29(5), 686-692.
- [23] TANNO, T. et al. Rapid Photoreduction of Methyl Viologen with Visible Light using Metal-Phthalocyanines as Sensitizers. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 1980, 84(10), 1032-1034.

- [24] DEDE, G. et al. DBU-catalyzed condensation of metal free and metallophthalocyanines containing thiazole and azine moieties: Synthesis, characterization and electrochemical properties. *J. Organomet. Chem.* 2013, 740, 70-77.
- [25] KHARISOV, B.I. et al. Low-temperature synthesis of phthalocyanine and its metal complexes. *Russ. J. Coord. Chem.* 2006, 32(9), 617-631.
- [26] YADAV, K.K. et al. Convenient and Efficient Method for the Synthesis of Phthalocyanines and Metallophthalocyanines in Task-Specific 2-Hydroxyethyl Ionic Liquids. *Synth. Commun.* 2014, 44(19), 2797-2807.
- [27] AS, A. VAN et al. Tetrabenzoporphyrin and -mono-, - cis -di- and Tetrabenzotriazaporphyrin Derivatives: Electrochemical and Spectroscopic Implications of meso CH Group Replacement with Nitrogen. *Inorg. Chem.* 2015, 54(11), 5329-5341.
- [28] GRANT, T.M. et al. Straightforward and Relatively Safe Process for the Fluoride Exchange of Trivalent and Tetravalent Group 13 and 14 Phthalocyanines. *ACS Omega* 2019, 4(3), 5317-5326.
- [29] OYARZÚN, M.P. et al. Enhancing the electrocatalytic activity of Fe phthalocyanines for the oxygen reduction reaction by the presence of axial ligands: Pyridine-functionalized single-walled carbon nanotubes. *Electrochim. Acta.* 2021, 398, 139263.
- [30] LESSARD, B.H. et al. Assessing the Potential Roles of Silicon and Germanium Phthalocyanines in Planar Heterojunction Organic Photovoltaic Devices and How Pentafluoro Phenoxylation Can Enhance π - π Interactions and Device Performance. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2015, 7(9), 5076-5088.
- [31] OU, Z. et al. Electrochemistry and spectroelectrochemistry of zirconium(IV) and hafnium(IV) phthalocyanines with b-diketone axial ligands. *Macroheterocycles* 2011, 4(3), 164-170.
- [32] SHIMIZU, E. - ETHELBHERT YU, D. Synthesis of Highly Soluble Axially-Ligated Ruthenium(III) Phthalocyanine Salt: Potassium Dithiocyanato(phthalocyaninato)ruthenium(III). *Orient. J. Chem.* 2018, 34(6), 3157-3160.
- [33] JIANG, Y. et al. Photophysical properties of a novel axially substituted tetra- α -(pentyloxy) Titanium(IV) Phthalocyanine - Hematoxylin. *J. Phys.: Conf. Ser.* 2017, 844, 012049.

- [34] GUILARD, R. et al. First example of 1:1 actinide-phthalocyanine complexes: synthesis, electrochemical, and spectral characterization of bis(diketonato)thorium(IV) and -uranium(IV) phthalocyaninates. *Inorg. Chem.* 1987, 26(9), 1410-1414.
- [35] HUSSEIN, B.A. et al. Control of Porphyrin Planarity and Aggregation by Covalent Capping: Bissilyloxy Porphyrin Silanes. *Inorg. Chem.* 2020, 59(18), 13533-13541.
- [36] VANGBERG, T. - GHOSH, A. A First-Principles Quantum Chemical Analysis of the Factors Controlling Ruffling Deformations of Porphyrins: Insights from the Molecular Structures and Potential Energy Surfaces of Silicon, Phosphorus, Germanium, and Arsenic Porphyrins and of a Peroxidase Compound I Model. *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121(51), 12154-12160.
- [37] WINCKEL, E. VAN DE et al. Octacationic and axially di-substituted silicon (IV) phthalocyanines for photodynamic inactivation of bacteria. *Dyes Pigm.* 2017, 145, 239-245.
- [38] JOYNER, R.D. - KENNEY, M.E. Phthalocyaninosilicon Compounds. *Inorg. Chem.* 1962, 1(2), 236-238.
- [39] GÜREK, A.G. et al. Synthesis of dihydroxy silicon phthalocyanine tetrasulfonic acid and poly- μ -oxo silicon phthalocyanine tetrasulfonic acid. *J. Porphyr. Phthalocyanines.* 2001, 5(10), 751-757.
- [40] LESSARD, B.H. et al. Bis(tri-*n*-hexylsilyl oxide) Silicon Phthalocyanine: A Unique Additive in Ternary Bulk Heterojunction Organic Photovoltaic Devices. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2014, 6(17), 15040-15051.
- [41] SATO, K. et al. Photoinduced Ligand Release from a Silicon Phthalocyanine Dye Conjugated with Monoclonal Antibodies: A Mechanism of Cancer Cell Cytotoxicity after Near-Infrared Photoimmunotherapy. *ACS Cent. Sci.* 2018, 4(11), 1559-1569.
- [42] LUAN, L. et al. Effect of Axial Ligands on the Molecular Configurations, Stability, Reactivity, and Photodynamic Activities of Silicon Phthalocyanines. *Chem. Asian J.* 2014, 9(12), 3491-3497.
- [43] MAREE, M.D. et al. Silicon octaphenoxypthalocyanines: photostability and singlet oxygen quantum yields. *J. Photochem. Photobiol. A.* 2001, 140(2), 117-125.
- [44] RAFAELOFF, R. et al. New group IV phthalocyanines. *J. Inorg. Nucl.* 1966, 28(3), 899-902.

- [45] FARREN, CH. et al. Synthesis, structure and optical characterisation of silicon phthalocyanine bis-esters. *J. Chem Soc., Perkin trans. II.* 2001, 59-66.
- [46] LI, J. et al. Synthesis, properties and drug potential of the photosensitive alkyl- and alkylsiloxy-ligated silicon phthalocyanine Pc 227. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2014, 13(12), 1690-1698.
- [47] LO, P.-C. et al. New Amphiphilic Silicon(IV) Phthalocyanines as Efficient Photosensitizers for Photodynamic Therapy: Synthesis, Photophysical Properties, and in vitro Photodynamic Activities. *Chem. Eur. J.* 2004, 10(19), 4831-4838.
- [48] OLEINICK, N.L. et al. New phthalocyanine photosensitizers for photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.* 1993, 57(2), 242-247.
- [49] HANACK, M. et al. Synthesis and properties of a new kind of one-dimensional conductor VIII. Synthesis and characterization of trans-bis-1-alkynyl substituted silicon, germanium, tin phthalocyanines and germanium hemiporphyrazines. *J. Organomet. Chem.* 1981, 204(3), 315-325.
- [50] ESPOSITO, J.N. et al. The Synthesis and Physical Properties of Some Organo- and Organosiloxysilicon Phthalocyanines. *Inorg. Chem.* 1966, 5(11), 1979-1984.
- [51] TAMAO, K. et al. Electrophilic cleavage reactions of carbon-silicon bonds in neutral hexacoordinate silicon compounds: diorgano(phthalocyaninato)silicon. *J. Organomet. Chem.* 1988, 341(1-3), 165-179.
- [52] DUMOULIN, F. - AHSEN, V. Click chemistry: the emerging role of the azide-alkyne Huisgen dipolar addition in the preparation of substituted tetrapyrrolic derivatives. *J. Porphyr. Phthalocyanines.* 2011, 15(07n08), 481-504.
- [53] FOLEY, S. et al. The synthesis and photophysical properties of polyether substituted phthalocyanines of potential use in photodynamic therapy. *J. Chem Soc., Perkin trans. II.* 1997, 1725-1730.
- [54] CHENG, G. et al., Methods for inserting silicon into phthalocyanines and naphthalocyanines. US5872248A. Cleveland, Ohio 1999.
- [55] PARK, E.-Y. et al. New contrast agents for photoacoustic imaging and theranostics: Recent 5-year overview on phthalocyanine/naphthalocyanine-based nanoparticles. *APL Bioeng.* 2021, 5(3), 031510.

- [56] KENRY et al. Recent Advances of Optical Imaging in the Second Near-Infrared Window. *Adv. Mater.* 2018, 30(47), 1802394.
- [57] SOUZA, T. DE et al. Photophysical and Photochemical Properties and Aggregation Behavior of Phthalocyanine and Naphthalocyanine Derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.* 2018, 29(6), 1199-1209.
- [58] WANG, T. et al. Metal-free phthalocyanine aggregation and binding with amines: Specific and general solvent effects on absorption and fluorescence properties. *J. Mol Struct.* 2015, 1084, 319-325.
- [59] SAKAMOTO, K. - OHNO-OKUMURA, E. Syntheses and Functional Properties of Phthalocyanines. *Materials* 2009, 2(3), 1127-1179.
- [60] PETERSON, M. et al. Synthesis, characterization, and electrochemical properties of a first-row metal phthalocyanine series. *Dalton Trans.* 2020, 49(45), 16268-16277.
- [61] LOBO, A.C.S. et al. Phthalocyanine Labels for Near-Infrared Fluorescence Imaging of Solid Tumors. *J. Med. Chem.* 2016, 59(10), 4688-4696.
- [62] ISHII, K. - SAKAI, N. Wavelength-tunable excited-state absorption and optical limiting effects in the Q band region based on silicon phthalocyanine oligomers. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, 12(47), 15354-15357.
- [63] WHEELER, B.L. et al. A silicon phthalocyanine and a silicon naphthalocyanine: synthesis, electrochemistry, and electrogenerated chemiluminescence. *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106(24), 7404-7410.
- [64] ZIMCIK, P. et al. Azaphthalocyanines Containing Pyrazine Rings with Focus on the Alkylheteroatom, Aryl and Heteroaryl Substitution and Properties Important in Photodynamic Therapy. *Macroheterocycles* 2008, 1(1), 21-29.
- [65] LEEUWEN, M. VAN et al. The photochemistry and photophysics of a series of alpha octa(alkyl-substituted) silicon, zinc and palladium phthalocyanines. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2014, 13(1), 62-69.
- [66] ANULA, H.M. et al. Synthesis and Photophysical Properties of Silicon Phthalocyanines with Axial Siloxy Ligands Bearing Alkylamine Termini. *J. Phys. Chem. A.* 2006, 110(15), 5215-5223.

- [67] AĞIRTAŞ, M.S. Fluorescence properties in different solvents and synthesis of axially substituted silicon phthalocyanine bearing bis-4-tritylphenoxy units. *Heterocycl. Comm.* 2020, 26(1), 130-136.
- [68] HENDERSON, B.W. - DOUGHERTY, T.J. How does photodynamic therapy work? *Photochem. Photobiol.* 1992, 55(1), 145-157.
- [69] ABRAHAMSE, H. - HAMBLIN, M.R. New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochem. J.* 2016, 473(4), 347-364.
- [70] KOBAYASHI, N. et al. Effect of Peripheral Substitution on the Electronic Absorption and Fluorescence Spectra of Metal-Free and Zinc Phthalocyanines. *Chem. Eur. J.* 2003, 9(20), 5123-5134.
- [71] KOPECKY, K. et al. Synthesis of new azaphthalocyanine dark quencher and evaluation of its quenching efficiency with different fluorophores. *Tetrahedron* 2011, 67(33), 5956-5963.
- [72] BRUSEGHINI, I. et al. Coordinative control of photoinduced electron transfer: bulky carboxylates as molecular curtains. *Chem. Commun.* 2002, 1348-1349.
- [73] BAPTISTA, M.S. et al. Type I and Type II Photosensitized Oxidation Reactions: Guidelines and Mechanistic Pathways. *Chem. Commun.* 2017, 93(4), 912-919.
- [74] CHAN, W.-S. et al. Photosensitising activity of phthalocyanine dyes screened against tissue culture cells. *Photochem. Photobiol.* 1987, 45(6), 757-761.
- [75] OGUNSIPE, A. et al. Photophysical and photochemical studies of zinc(II) phthalocyanine derivatives—effects of substituents and solvents. *New J. Chem.* 2004, 28(7), 822-827.
- [76] NG, D.K.P. Dendritic phthalocyanines: synthesis, photophysical properties, and aggregation behavior. *C. R. Chim.* 2003, 6(8-10), 903-910.
- [77] ABKOWITZ, M. - MONAHAN, A.R. ESR and electronic spectral investigation of the self-association of phthalocyanine dyes in solution. *J. Chem. Phys.* 1973, 58(6), 2281-2287.
- [78] ZHANG, X.-F. et al. Fluorescent and triplet state photoactive J-type phthalocyanine nano assemblies: controlled formation and photosensitizing properties. *J. Mater. Chem.* 2010, 20(32), 6726-6733.

- [79] ZIMCIK, P. et al. Bulky 2,6-diphenylphenylsulfanyl substituents efficiently inhibit aggregation in phthalocyanines and tetrapyrazinoporphyrazines and control their photophysical and electrochemical properties. *Dyes Pigm.* 2017, 136, 715-723.
- [80] SIELCKEN, O.E. et al. Synthesis and aggregation behavior of hosts containing phthalocyanine and crown ether subunits. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109(14), 4261-4265.
- [81] PALEWSKA, K. et al. Molecular aggregation in soluble phthalocyanines – Chemical interactions vs. π -stacking. *Opt. Mater.* 2012, 34(10), 1717-1724.
- [82] KOLLAR, J. et al. Cationic Versus Anionic Phthalocyanines for Photodynamic Therapy: What a Difference the Charge Makes. *J. Med. Chem.* 2020, 63(14), 7616-7632.
- [83] BIYIKLIOĞLU, Z. Water-soluble axially disubstituted non-aggregated silicon phthalocyanines and their electrochemical properties. *Dyes. Pigm.* 2013, 99(1), 59-66.
- [84] DIDENKO, V.V. DNA Probes Using Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET): Designs and Applications. *BioTechniques* 2001, 31(5), 1106-1121.
- [85] KLEIN, D. Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations. *Trends Mol. Med.* 2002, 8(6), 257-260.
- [86] MACKAY, I.M. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004, 10(3), 190-212.
- [87] GAUSE, W.C. - ADAMOVICZ, J. The use of the PCR to quantitate gene expression. *Genome Res.* 1994, 3(6), S123-S135.
- [88] BUSTIN, S. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J. Mol. Endocrinol.* 2000, 25(2), 169-193.
- [89] NAVARRO, E. et al. Real-time PCR detection chemistry. *Clin. Chim. Acta.* 2015, 439, 231-250.
- [90] BORZECKA, W. et al. Recent Progress in Phthalocyanine-Polymeric Nanoparticle Delivery Systems for Cancer Photodynamic Therapy. *Nanomaterials* 2021, 11(9), 2426.
- [91] RAK, J. et al. Drug Delivery Systems for Phthalocyanines for Photodynamic Therapy. *Anticancer Res.* 2019, 39(7), 3323-3339.
- [92] BASKARAN, R. et al. Clinical development of photodynamic agents and therapeutic applications. *Biomater Res.* 2018, 22, 25.

- [93] MFOUO-TYNGA, I. - ABRAHAMSE, H. Cell Death Pathways and Phthalocyanine as an Efficient Agent for Photodynamic Cancer Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16(12), 10228-10241.
- [94] LANGE, N. et al. Potential of Cyanine Derived Dyes in Photodynamic Therapy. *Pharmaceutics* 2021, 13(6), 818.
- [95] GOMES, A.T.P.C. et al. Cancer, Photodynamic Therapy and Porphyrin-Type Derivatives. *An. Acad. Bras. Cienc.* 2018, 90(1 suppl2), 993-1026.
- [96] BARKER, C.A. et al. Synthesis of new axially-disubstituted silicon-phthalocyanine derivatives: optical and structural characterisation. *Tetrahedron* 2006, 62(40), 9433-9439.
- [97] HASHMI, A.S.K. et al. Carbenes Made Easy: Formation of Unsymmetrically Substituted N-Heterocyclic Carbene Complexes of Palladium(II), Platinum(II) and Gold(I) from Coordinated Isonitriles and their Catalytic Activity. *Adv. Synth. Catal.* 2010, 352(17), 3001-3012.
- [98] BRUNET, J.-J. et al. New chiral zwitterionic iron hydride complexes with 'ephosium' and 'valphosium' ligands. *J. Organomet. Chem.* 1998, 566(1-2), 117-123.
- [99] ANDERSEN, S.M. et al. Synthesis of ganglioside epitopes for oligosaccharide specific immunoadsorption therapy of Guillian-Barré syndrome. *Org. Biomol. Chem.* 2004, 2(8), 1199-1212.
- [100] HARADA, W. et al. Wisely Designed Phthalocyanine Derivative for Convenient Molecular Fabrication on a Substrate. *Langmuir* 2018, 34(4), 1321-1326.
- [101] PASSARELLI, V. et al. Aminolysis of the Si–Cl bond and ligand exchange reaction between silicon amido derivatives and SiCl₄: synthetic applications and kinetic investigations. Electronic supplementary information (ESI) available: details of the aminolysis and the ligand exchange reaction. *Dalton Trans.* 2003, 413-419.
- [102] DEMUTH, J. et al. Efficient Synthesis of a Wide-Range Absorbing Azaphthalocyanine Dark Quencher and Its Application to Dual-Labeled Oligonucleotide Probes for Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reactions. *Chem. Eur. J.* 2018, 24(38), 9658-9666.
- [103] DRAČÍNSKÝ, M. et al. Stuffed pumpkins: mechanochemical synthesis of host-guest complexes with cucurbit[7]uril. *Chem. Commun.* 2021, 57(17), 2132-2135.