

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



**Syntéza a studium subftalocyaninů axiálně modifikovaných  
amino adamantylem**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Eva Danková



Vedoucí diplomové práce: doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ 2022

## **PREHLÁSENIE AUTORA**

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

V Hradci Králové 8.5.2022

## **POĎAKOVANIE**

Srdečne ďakujem vedúcej diplomovej práce doc. PharmDr. Veronike Novákovej, Ph.D. a konzultantke Mgr. Lucii Kočiščákovej za odborné vedenie práce, za ich cenné rady a praktickú pomoc, ústretovosť a trpezlivosť. Ďalej by som rada poďakovala členom Výskumnej skupiny azaftalocyaninových farbív pod vedením prof. PharmDr. Petra Zimčíka, Ph.D. za ich rady a príjemné pracovné prostredie, a kolektívu Katedry organické a bioorganické chemie za zmeranie NMR spektier vzoriek. Takisto ďakujem spolubývajúcemu a všetkým blízkym za podporu pri písaní práce.

Za finančnú pomoc ďakujem Špecifickému vysokoškolskému výzkumu (SVV 260 547) a Univerzite Karlovej (grant PRIMUS/20/SCI/013).

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra	Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy
Kandidát	Eva Danková
Školiteľ	doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.
Názov diplomovej práce	Syntéza a studium subftalocyanínů axiálně modifikovaných amino adamantylem

Fotodynamická terapia je sľubným prístupom liečby rakoviny, ktorý spočíva v aplikácii fotosenzitizéru a následnej iluminácii tumoru. Vzniknutý oxidačný stres aktivuje niekoľko mechanizmov bunkovej smrti. Jednou z nových skupín fotosenzitizérov sú subftalocyaníny s kužeľovitým  $\pi$  povrchom, ktorý ich činí menej náchylnými k agregácii a umožňuje vedľa klasickej periférnej substitúcie aj ich axiálnu modifikáciu. Pretože je makrocyclus sám o sebe pomerne lipofilný, je nutné zvýšiť jeho rozpustnosť vo vode. Táto práca sa zaoberala možnosťou tvorby supramolekulárnych komplexov s navonok hydrofilnými makrocyclami s cieľom zvýšiť hydrofilitu subftalocyanínu. Konkrétne bol vybraný kukurbituril-7 (CB[7]), pretože vytvára vo vode jednu z najstabilnejších supramolekulárnych interakcií s 1-aminoadamantánom, ktorý bol zamýšľaný ako axiálny substituent na subftalocyanínovom jadre.

Syntéza pôvodne plánovaných látok periférne substituovaných etylsulfanylovými skupinami nepriniesla uspokojivé výsledky. Preto boli navrhnuté alternatívne štruktúry s jódom ako periférnym substituentom. Tie boli úspešne pripravené cyklotrimerizáciou príslušného ftalonitrilu pôsobením chloridu boritého, a následnou nukleofilnou substitúciou chlóru aminoadamantánovými derivátmi. Potom boli skúmané ich fotofyzikálne vlastnosti a supramolekulárne interakcie s CB[7].

## ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department	Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Analysis
Candidate	Eva Danková
Supervisor	doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.
Title of Thesis	Synthesis and study of subphthalocyanines axially modified by amino adamantyl

Photodynamic therapy is a promising approach for cancer treatment that relies on the administration of a photosensitizer, followed by illumination of the tumor. The generated oxidative stress subsequently activates several mechanisms of cell death. One of the novel groups of photosensitizers are subphthalocyanines with a conical  $\pi$  surface, which renders them less prone to aggregation and offers the possibility to tune their properties through axial substitution (aside peripheral modification). Due to the lipophilicity of the macrocycle, it is necessary to increase its water solubility. This work focused on the possibility of forming supramolecular host-guest complexes with hydrophilic macrocycles in order to increase the hydrophilicity of a subphthalocyanine. In particular, cucurbituril-7 (CB[7]) was chosen since it forms one of the most stable supramolecular interactions in water with 1-aminoadamantane, which was therefore proposed as the axial substituent on subphthalocyanine core.

Synthesis of the originally intended compounds with ethylsulfanyl moieties at the periphery failed. Therefore, alternative structures bearing iodine as peripheral substituents were designed. They were successfully prepared *via* cyclotrimerization of the respective phthalonitriles with boron trichloride, and subsequent nucleophilic substitution of chlorine by aminoadamantane derivatives. Their photophysical properties and host-guest interactions with CB[7] were investigated.

## OBSAH

1. ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK .....	9
2. TEORETICKÁ ČASŤ.....	11
2.1. FOTODYNAMICKÁ TERAPIA .....	11
2.1.1. Produkcia reaktívnych foriem kyslíka.....	11
2.1.2. Lokalizácia PS.....	12
2.1.3. Mechanizmy účinku PDT.....	13
2.1.4. Požiadavky na fotosenzitizér.....	15
2.1.5. Generácie klinicky používaných PS.....	16
2.1.6. Ďalšie aplikácie PDT.....	22
2.2. SUPRAMOLEKULÁRNE INTERAKCIE FOTOSENZITIZÉROV .....	23
2.2.1. Kukurbit[ <i>n</i> ]urily .....	23
2.3. SUBFTALOCYANÍNY .....	24
3. CIELE PRÁCE.....	26
4. METODICKÁ ČASŤ.....	28
4.1. NUKLEOFILNÁ SUBSTITÚCIA .....	28
4.2. CYKLOTRIMERIZAČNÉ REAKCIE.....	29
4.3. METYLÁCIA SEKUNDÁRNEHO DUSÍKU .....	30
4.4. STANOVENIE PRODUKCIE SINGLETOVÉHO KYSLÍKA .....	31
4.5. STANOVENIE KVANTOVÉHO VÝŤAŽKU FLUORESCENCIE.....	32
5. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ .....	34
5.1. SYNTÉZA PREKURZOROV .....	34
5.1.1. Príprava 2,3-dikyano-1,4-fenylene-bis(4-metylbenzensulfonátu) (1) .....	34
5.1.2. Príprava 3,6-dietylsulfanylfthalonitrilu (2) .....	35
5.1.3. Príprava 4,5-dietylsulfanylfthalonitrilu (3) .....	36
5.1.4. Príprava 3,4,5,6-tetraetylsulfanylfthalonitrilu (4) .....	37
5.1.5. Príprava <i>N</i> -(adamant-1-yl)-2-aminoetanolu (5) .....	37

5.1.6. Príprava <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-2-aminoetanolu (6).....	38
5.1.7. Príprava <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-2-aminoetanolu (6) Eschweilerovou-Clarkovou reakciou .....	39
5.2. SYNTÉZA SUBFTALOCYANÍNOV .....	40
5.2.1. Príprava chloridu 1,4,8,11,15,18-hexaetylsulfanylsubftalocyanínu bóru (7) 40	
5.2.2. Príprava chloridu 2,3,9,10,16,17-hexaetylsulfanylsubftalocyanínu bóru (8) 41	
5.2.3. Príprava chloridu 1,2,3,4,8,9,10,11,15,16,17,18 – dodekaetylsulfanylsubftalocyanínu bóru (9).....	42
5.2.4. Príprava chloridu 2,9,16(17)-trijódsubftalocyanínu bóru (10).....	42
5.2.5. Príprava chloridu 2,9,16(17)-tris[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-2-aminoetoxy]subftalocyanínu bóru (11) .....	43
5.3. AXIÁLNA SUBSTITÚCIA SUBFTALOCYANÍNOV .....	44
5.3.1. Príprava B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)-2-aminoetoxy]-subftalocyanínu bóru (12) postupom A .....	44
5.3.2. Príprava B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-2-aminoetoxy]-subftalocyanínu bóru (13) postupom A.....	45
5.3.3. Príprava B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-2-aminoetoxy]- 2,3,9,10,16,17-hexaetylsulfanylsubftalocyanínu bóru (14) postupom A.....	47
5.3.4. Príprava B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-2-aminoetoxy] 2,3,9,10,16,17-hexaetylsulfanylsubftalocyanínu bóru (14) postupom B .....	48
5.3.5. Príprava B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-2-aminoetoxy] 2,9,16(17)- trijódsubftalocyanínu bóru (15) postupom A .....	49
5.3.6. Príprava B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-2-aminoetoxy]-2,9,16(17)- trijódsubftalocyanínu bóru alternatívnym postupom (15) postupom B .....	50
5.3.7. Príprava B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-6-aminohexoxy]-subftalocyanínu bóru (16) postupom A .....	51
5.3.8. Príprava B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N</i> -metyl-6-aminohexoxy]-2,9,16(17)- trijódsubftalocyanínu bóru (17) postupom B .....	52
5.3.9. Príprava jodidu B-[ <i>N</i> -(adamant-1-yl)- <i>N,N</i> -dimetyl-2-aminoetoxy]- 2,9,16(17)-trijódsubftalocyanínu bóru (18).....	52

5.4. ŠTÚDIUM FOTOFYZIKÁLNYCH VLASTNOSTÍ.....	53
5.4.1. Meranie kvantového výťažku produkcie singletového kyslíka.....	53
5.4.2. Meranie kvantového výťažku fluorescencie .....	54
5.5. ŠTÚDIUM INTERAKCIE S KUKURBITURILMI .....	54
6. VÝSLEDKY A DISKUSIA.....	56
6.1. SYNTÉZA PREKURZOROV .....	56
6.2. SYNTÉZA SUBFTALOCYANÍNOV .....	57
6.3. AXIÁLNA SUBSTITÚCIA SUBFTALOCYANÍNOV .....	60
6.4. FOTOFYZIKÁLNE VLASTNOSTI.....	62
6.5. SUPRAMOLEKULÁRNE INTERAKCIE S KUKURBITURILMI.....	65
7. ZÁVER.....	67
8. ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....	68



## 1. ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

ALA	kyselina 5-aminolevulinová (5-aminolevulinic acid)
CB	kukurbituril (cucurbituril)
DAMPs	molekulárne vzory spojené s poškodením (damage-associated molecular patterns)
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropyletylamín
DLI	interval medzi podaním PS a ožiarením (drug-to-light interval)
DMF	<i>N,N</i> -dimetylformamid
DMSO	dimetylsulfoxid
DPBF	1,3-difenyilizobenzofurán (1,3-diphenylisobenzofuran)
HpD	derivát hematoporfyrínu (hematoporphyrin derivative)
HPLC	vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (high-performance liquid chromatography)
IL-1	interleukín 1
IL-6	interleukín 6
LDL	lipoproteín s nízkou hustotou (low-density lipoprotein)
MS	hmotnostná spektrometria (mass spectrometry)
NIR	žiarenie v blízkosti infračervenej oblasti (near-infrared radiation)
NMR	nukleárna magnetická rezonancia
PDT	fotodynamická terapia (photodynamic therapy)
PpIX	protoporfyrín IX
PS	fotosenzitizér (photosensitizer)
R <sub>f</sub>	retenčný faktor
ROS	reaktívne formy kyslíka (reactive oxygen species)

THF	tetrahydrofurán
TLC	tenkovrstvová chromatografia (thin-layer chromatography)
TLC-MS	hmotnostná spektrometria s využitím tenkovrstvovej chromatografie (thin layer chromatography-mass spectrometry)
TNF	tumor nekrotizujúci faktor
UV	ultrafialový (ultraviolet)

## 2. TEORETICKÁ ČASŤ

### 2.1. FOTODYNAMICKÁ TERAPIA

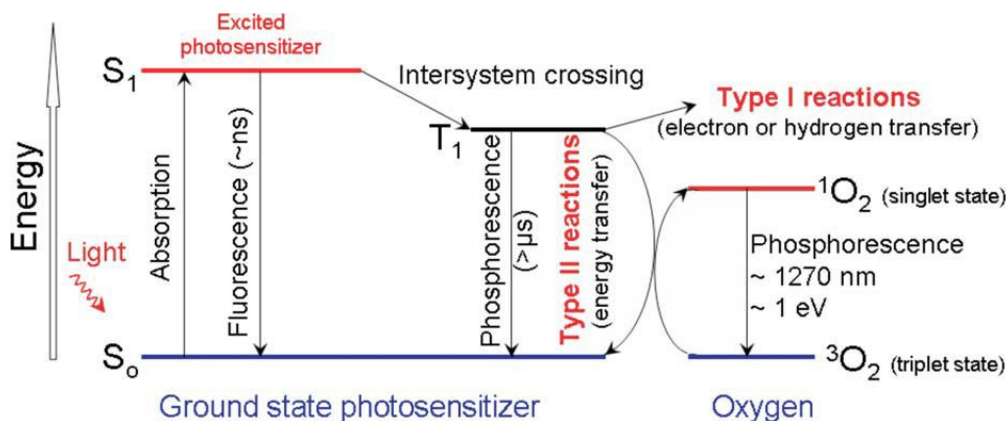
Fotodynamická terapia (PDT) predstavuje modernú a neinvazívnu formu terapie, používanú na liečbu neonkologických ochorení ako i rakoviny rôznych typov.<sup>1</sup> Fotodynamické javy po prvýkrát charakterizoval v roku 1904 profesor Herman von Tappeiner ako interakciu medzi špecifickými chemickými látkami, kyslíkom a svetlom. Princíp PDT spočíva v systémovej alebo topickej aplikácii fotosenzitizéru (PS) pacientovi, jeho selektívnom vychytávaní v cieľovom tkanive a následnom ožiarení svetlom vhodnej vlnovej dĺžky. To spôsobí fotochemickú reakciu, ktorá vedie k deštrukcii postihnutého tkaniva.<sup>2</sup> Vznikajúci oxidatívny stres aktivuje niekoľko mechanizmov bunkovej smrti, proti ktorým bunky vyvinú adaptívnu odpoveď za účelom udržania homeostázy.<sup>3</sup>

#### 2.1.1. Produkcia reaktívnych foriem kyslíka

PS vo svojom základnom singletovom stave obsahuje 2 elektróny s opačnými spinmi umiestnené na energeticky najvýhodnejšom molekulovom orbitáli. Ožiarenie svetlom špecifickej vlnovej dĺžky, ktorá zodpovedá absorpčnému spektru PS, spôsobí prechod elektrónu na orbitál s vyššou energiou.<sup>4,5</sup> PS tak prejde zo svojho základného singletového stavu  $S_0$  do nestabilného excitovaného stavu  $S_1$ . Prebytočnej energie sa rýchlo zbavuje, a to buď emisiou fluorescencie, tepla alebo podstúpením intersystémového prechodu. Ním sa PS dostáva do stabilnejšieho tripletového stavu  $T_1$  s obráteným spinom jedného elektrónu (Obr. 1).<sup>1,4</sup>

V prítomnosti kyslíku môže takto excitovaný PS podstúpiť dva typy fotooxidačných reakcií, pri ktorých vznikajú reaktívne formy kyslíka (ROS). Typ I prebieha v tkanivách, kde medzi organickou molekulou a PS nastáva transfer atómu vodíka alebo elektrónu a vzniká radikál, ktorý následnými reakciami s kyslíkom vedie k tvorbe hydroxylových radikálov, peroxidov a superoxidov.<sup>5</sup> Reakcia typu II je takzvaná triplet-triplet anihilácia, kedy PS reaguje s kyslíkom v základnom tripletovom stave za vzniku vysoko reaktívneho cytotoxického singletového kyslíka  $^1O_2$ .<sup>6</sup>

Obe reakcie prebiehajú súčasne, ich vzájomný pomer závisí na štruktúre PS, pH, dielektrickej konštante tkaniva a dostupnosti kyslíka, pričom Typ I je uprednostňovaný v menej oksyločených tkanivách.<sup>5</sup> Zatiaľ čo generované ROS rapídne reagujú s okolitým prostredím, PS sa vracajú do základného stavu  $S_0$ , pripravené absorbovať ďalšie fotóny.<sup>7</sup>



Obr. 1 Modifikovaný Jablonského diagram ilustrujúci procesy vedúce k tvorbe ROS<sup>4</sup>

Ako tzv. reakcia typu III sa v PDT označuje fotoinaktivácia bez prítomnosti kyslíka, tvorbou kovalentných väzieb medzi DNA a PS. Jej potenciálne využitie je v terapii infekcií spôsobených anaeróbnymi mikróbmi.<sup>5</sup>

### 2.1.2. Lokalizácia PS

Prednostná lokalizácia PS v nádorovom tkanive môže byť vysvetlená preferenčnou extravazáciou PS zo sérových proteínov v miestach zvýšenej vaskulárnej permeability, ktoré sú typické práve pre nádorové tkanivo.<sup>8</sup> Okrem toho sa PS vyznačujú silnou afinitou ku lipoproteínom s nízkou hustotou (LDL), ktoré zásobujú rapídne sa deliace bunky tumoru potrebným cholesterolom. V miestach so zvýšenou mitotickou aktivitou je na bunkovom povrchu zvýšená expresia LDL receptorov, a teda tam prebieha aj vyššia uptake LDL lipoproteínov spolu s naviazanými molekulami PS.<sup>1,9</sup>

Presnú lokalizáciu PS v tumore ovplyvňuje niekoľko faktorov. Patria medzi nich náboj PS, stupeň jeho agregácie, rozpustnosť a časový interval medzi podaním látky a ožiareníím (tzv. drug-to-light interval, DLI).<sup>10</sup> Vyšší DLI umožňuje optimálnu redistribúciu PS do bunkových organel (bunková PDT), zatiaľ čo nižší DLI spravidla spôsobí zásah cievného riečiska nádoru (cievna PDT).<sup>3</sup>

Vzhľadom ku krátkej životnosti a tým pádom aj malému difúznemu polomeru ROS v biologickom prostredí (pre  $^1O_2$  je to menej než 4  $\mu s$  a 150 nm) je subcelulárna

lokalizácia PS dôležitým faktorom rozhodujúcim o mechanizme poškodenia buniek a výsledku PDT.<sup>11</sup> Hydrofóbne nenabité PS sa lokalizujú na úrovni bunkových membrán, vrátane plazmatickej, mitochondriálnej, lyzozomálnej a membrán endoplazmatického retikula a Golgiho aparátu. Hydrofilné a aniónické PS s obmedzenou schopnosťou pasívnej difúzie cez membrány sú naopak internalizované endocytózou do lyzozómov.<sup>10</sup> Naproti tomu kladne nabité PS sa môžu akumulovať v plazmatických, mitochondriálnych a iných membránach, kam sú priťahované elektrostatickými interakciami s negatívne nabitými oblasťami membránových proteínov.<sup>12</sup>

### **2.1.3. Mechanizmy účinku PDT**

Protinádorový efekt PDT je kombináciou troch hlavných mechanizmov:

- a) priameho cytotoxického efektu voči nádorovým bunkám;
- b) deštrukcie cievneho systému tumoru;
- c) stimulácie protinádorovej imunitnej odpovede. Tá zároveň prispieva k dlhodobej kontrole ochorenia, čo predstavuje výhodu oproti klasickým chirurgickým a chemoterapeutickým postupom.<sup>3</sup>

#### **Priamy cytotoxický efekt**

Oxidatívny stres spôsobený tvorbou ROS aktivuje rôzne mechanizmy bunkovej smrti, z ktorých najvýznamnejšími sú apoptóza, nekróza a autofágia.<sup>13</sup>

Apoptóza je regulovaný fyziologický proces, v ktorom bunka podstupuje fragmentáciu DNA a morfológické zmeny – zmršťovanie, kondenzáciu jadrového chromatinu a tvorbu apoptotických teliesok, ktoré sú následne pohltené tkanivovými makrofágmi. Intracelulárny materiál tak neuniká do okolitého prostredia, čo predchádza vzniku zápalu.<sup>14</sup> Najznámejšími molekulárnymi mechanizmami apoptózy sú vnútorná (mitochondriálna) a vonkajšia cesta (skrz receptor smrti). ROS vznikajúce pri PDT môžu aktivovať vnútornú cestu poškodením mitochondrií, v dôsledku ktorého sa do cytoplazmy uvoľňujú pro-apoptotické molekuly (napr. cytochróm c) a spúšťajú kaskádu biochemických procesov vedúcich k smrti bunky.<sup>10</sup> K apoptóze môže viesť tiež deštrukcia anti-apoptotických proteínov (napr. Bcl-2) z mitochondrií alebo endoplazmatického retikula; alebo uvoľnenie proteáz z lyzozómov poškodených ROS.<sup>15</sup>

Nekróza je patologický jav, kedy v dôsledku externého poškodenia (napríklad toxínmi alebo ischémiou) dochádza k edému bunky a jej organel a ku strate membránovej integrity, sprevádzanej efluxom vápenatých iónov z endoplazmatického retikula. Nakoniec nastáva lýza a smrť bunky spojená so zápalovou odpoveďou.<sup>13</sup> V PDT je nekróza vyvolaná podaním supra-letálnej (teda vyššej než je potreba k usmrteniu buniek) dávky PS alebo svetla.<sup>15</sup> Mechanizmus bunkovej smrti je možné v niektorých prípadoch zmeniť z apoptotickej odpovede na nekrotickú zvýšením dávky PS,<sup>16</sup> v terapii sa však nekróza väčšinou účelovo nepoužíva kvôli možným nežiaducim účinkom na zdravé tkanivá.<sup>15</sup>

Autofágia je za normálnych okolností fyziologický proces selektívnej degradácie poškodených organel, väčšinou v snahe udržať bunku nažive. Komponenty určené k lýze sú enkapsulované do dvojmembránových vezikúl a objem bunky sa zmenší.<sup>13</sup> V PDT môže autofágia vyústiť v prežitie i smrť bunky, a to v závislosti na intenzite cytotoxického pôsobenia. Prežitie je spojené s recykláciou poškodených organel ešte pred plným rozvinutím apoptózy. Pri optimálnej fototoxicite budú mechanizmy apoptózy a autofágie prebiehať súčasne a povedú k smrti bunky.<sup>17</sup>

### **Deštrukcia cievneho systému tumoru**

Pôsobenie na cievny systém nádoru je významnou zložkou PDT, ktorej efekt narastá s použitím relatívne nižšieho DLI.<sup>18,19</sup> ROS spôsobujú oxidatívne poškodenie endotelových buniek, ktoré vedie k zmene usporiadania cytoskeletu a rozpojeniu tesných spojov medzi bunkami. Nasleduje kaskáda dejov, ktorá zahŕňa agregáciu krvných doštičiek, vyplavenie vazoaktívnych molekúl, adhéziu leukocytov, zvýšenie vaskulárnej permeability a zúženie ciev. Tvorí sa trombus, prívod krvi k nádoru je redukovaný, nastáva hypoxia a deprivácia živín.<sup>20</sup> Hypoxia môže limitovať priamy cytotoxický efekt PDT, ktorý je závislý na prítomnosti kyslíka. Celková terapeutická odpoveď je v takom prípade ovplyvnená primárne pôsobením na cievy.<sup>21</sup>

### **Stimulácia protinádorovej imunitnej odpovede**

Chemoterapia a ionizujúce žiarenie, ktoré sú tradičnými prostriedkami v boji proti rakovine, vyvolávajú imunosupresívne účinky svojou toxicitou voči kostnej dreni, hlavnému zdroju buniek imunitného systému.<sup>22</sup> PDT má naopak schopnosť stimulovať

jak vrodenu, tak adaptivnu zložku imunitnej odpovedi, a to aj v prípade smrti buniek mechanizmom apoptózy, ktorá nevedie k zápalovej odpovedi.<sup>3</sup>

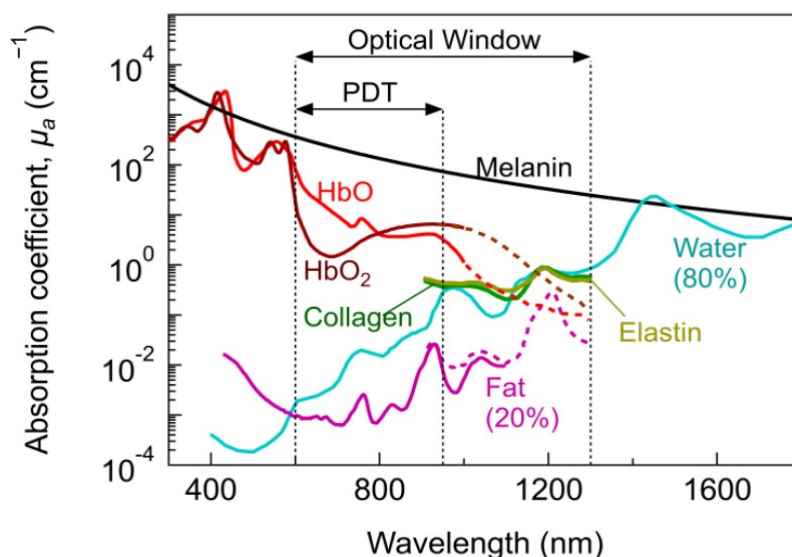
Nádorové bunky zasiahnuté PDT uvoľňujú endogénne signály poškodenia – DAMPs (damage associated molecular patterns), ktoré aktivujú vrodenu imunitnú odpoveď.<sup>23</sup> Na bunky tumoru sa viaže proteín komplementu C3 a indikuje ich tak ku zničeniu nešpecifickými mechanizmami.<sup>24</sup> Z postihnutého tkaniva sa uvoľňujú pro-zápalové mediátory ako cytokíny (napr. TNF, IL-6, IL-1), chemokíny a koagulačné faktory. Na miesto následne migrujú bunky vrodenej imunity – monocyty, makrofágy, dendritické bunky a neutrofilny, ktoré pohlcujú bunky nádorového tkaniva poškodené ROS a okolitý bunkový odpad.<sup>23,24</sup>

Mechanizmus adaptívnej (získanej) imunitnej odpovede začína expresiou nádorových antigénov na povrchu dendritickej bunky, ktorá sa tak stáva antigén prezentujúcou bunkou. Pri jej dozrievaní je upregulovaný povrchový hlavný histokompatibilný komplex I a II a kostimulačné molekuly CD80 a CD86.<sup>24</sup> Prezentáciou antigénu pomocným CD4+ a cytotoxickým CD8+ T-lymfocytom vzniká tumor-špecifická imunitná odpoveď.<sup>22</sup> Tá je dlhodobá a systémová, spôsobuje regresiu cieleného tumoru ako aj jeho vzdialených metastáz.<sup>25</sup>

#### **2.1.4. Požiadavky na fotosenzitizér**

Ideálnym PS pre použitie v PDT je vysoko chemicky čistá látka, ktorú je možné získať jednoduchou a nenákladnou syntézou. PS by mal byť stabilný pri laboratórnej teplote, s minimálnou toxicitou v tme. V organizme by mal byť biologicky neaktívny až do fotoaktivácie svetlom.<sup>1,26</sup> Veľmi dôležitá je efektívnosť fotochemických reakcií PS, ktorá je posudzovaná podľa výťažku produkcie singletového kyslíka. Uvoľnenie absorbovanej energie vo forme fluorescencie napomáha vizualizácii cieľa PDT, a preto je kvantový výťažok fluorescencie tiež skúmanou charakteristikou u potenciálnych PS.<sup>27</sup> PS by ďalej mal byť schopný transportu cievnym systémom bez agregácie alebo rozpadu, a zároveň prestupu do nádorových tkanív. To je možné docieľiť jeho amfifílnym (hydrofílno-lipofílnym) charakterom.<sup>27</sup> Žiaduca je taktiež selektivita voči nádorovým tkanivám – PS by v nich mal zotrvať aspoň niekoľko hodín, zo zdravých tkanív by ale mal byť eliminovaný dostatočne rýchlo na to, aby nevznikali vedľajšie účinky z fototoxicity.<sup>1</sup>

Maximálna absorpcia svetla PS, ktorá koreluje s vlnovou dĺžkou použitou pre PDT, by sa mala pohybovať v rozmedzí 650 – 850 nm.<sup>3</sup> Vo vlnových dĺžkach pod 650 nm nastáva vo väčšej miere rozptyl svetla a jeho absorpcia endogénnymi chromofórmi (napr. hemoglobín, melanín), nad 1300 nm je penetrácia svetla v tkanivách redukovaná absorpciou molekulami vody<sup>11</sup> (Obr. 2). Hĺbka prestupu svetla do tkaniva sa zvyšuje s rastúcou vlnovou dĺžkou,<sup>4</sup> absorpcia fotónov nad 850 nm už ale neposkytuje dostatok energie na excitáciu kyslíka do singletového stavu a dostatočnú tvorbu ROS. Viditeľné svetlo má schopnosť prenikať do tkaniva maximálne do hĺbky 5 – 10 mm, čo limituje použitie PDT na terapiu povrchových lézií.<sup>11</sup>

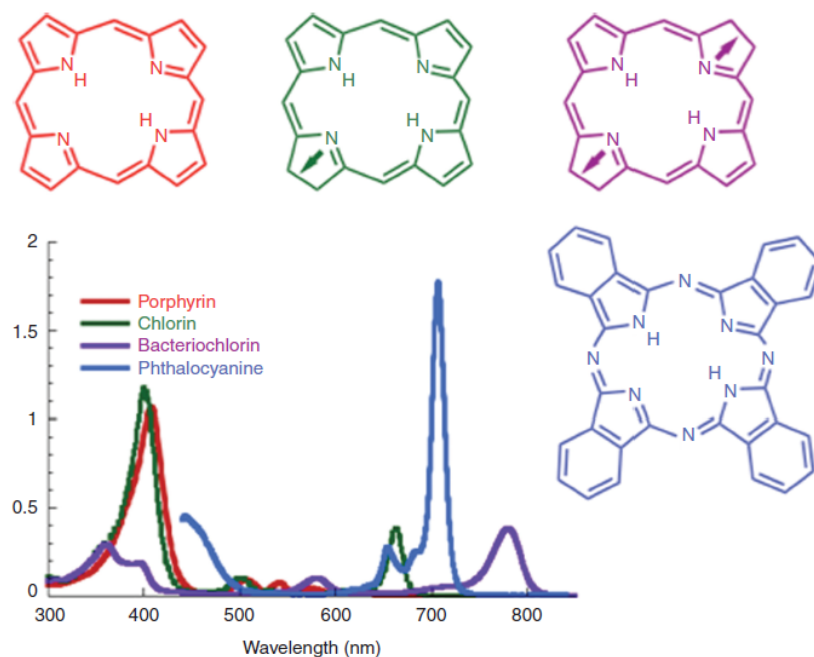


Obr. 2 Absorpčný koeficient ako funkcia vlnovej dĺžky pre rôzne zložky tkaniva<sup>28</sup>

### 2.1.5. Generácie klinicky používaných PS

Väčšina používaných a testovaných PS má tetrapyrrolóvu štruktúru porfyrínov, chlorínov, bakteriochlorínov alebo ftalocyanínov. Postupnou redukciou dvojitých väzieb týchto základných štruktúr sa zvyšuje a zároveň posúva hlavný absorpčný pás (tzv. Q-pás) smerom k červenej časti spektra<sup>29</sup> (Obr. 3).

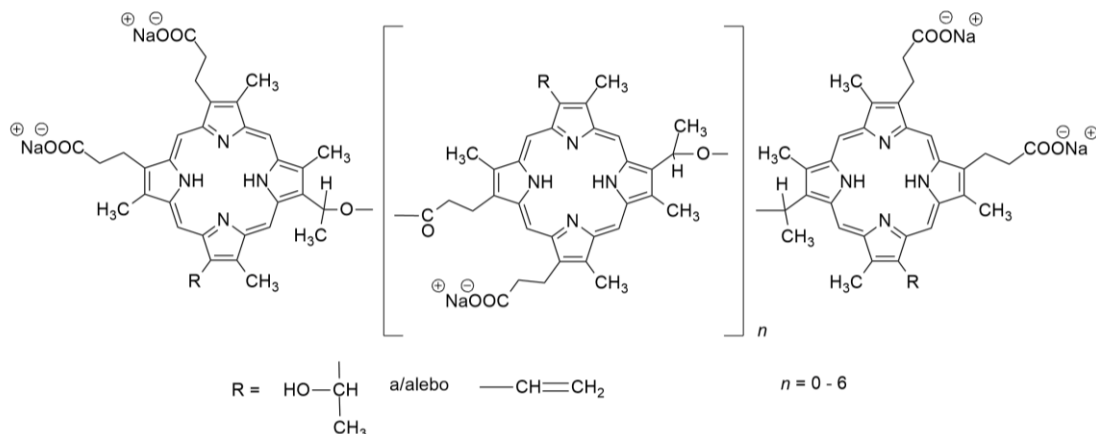




Obr. 3 Tetrapyrrolové štruktúry a ich typické absorpčné spektrá<sup>30</sup>

Podľa historického vývoja sa molekuly terapeuticky využívané v PDT rozdeľujú do troch generácií.<sup>31</sup>

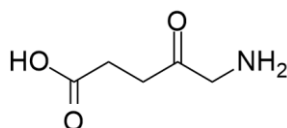
Do **prvej generácie PS** patrí **porfimer sodný** (Photofrin®, Obr. 4), ktorý je zmesou približne 60 porfyrínových dimérov a oligomérov izolovaných z tzv. derivátu hematoporfyrínu (HpD).<sup>32</sup> Od 90. rokov je v USA, Kanade, Japonsku a viacerých európskych krajinách schválený k terapii ezofageálneho a nemalobunkového pľúcneho karcinómu, a rakoviny močového mechúra.<sup>33,34</sup> Aplikuje sa intravenózne, po 40 – 50 hodinách je fotoaktivovaný laserovým svetlom o vlnovej dĺžke 630 nm.<sup>33</sup> Nevýhodou porfiméru sodného je jeho nízky molárny absorpčný koeficient, z čoho vyplýva potreba vysokých koncentrácií PS a svetla k adekvátnej eradikácii tumoru.<sup>35</sup> Jeho klinické použitie limituje okrem nízkej chemickej čistoty taktiež dlhý polčas a akumulácia v koži, ktorá môže spôsobiť nežiadúcu fotosenzitivitu až po dobu troch mesiacov po terapii.<sup>32</sup> Napriek týmto nedostatkom je porfimer sodný stále považovaný za „zlatý štandard“ fotodynamickej terapie.<sup>35</sup>



Obr. 4 Štruktúra porfimeru sodného <sup>33</sup>

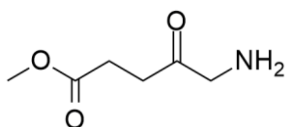
Snahy o vylepšenie vlastností a terapeutického profilu PS viedli k syntéze molekúl **druhej generácie PS**. Tie sú na rozdiel od porfimeru sodného chemicky jednotnými látkami, absorbujú svetlo vo vyšších vlnových dĺžkach a spôsobujú menej nežiaducich účinkov.<sup>35</sup> Z množstva PS spadajúcich do druhej generácie opisuje nasledujúci prehľad látky schválené pre klinické použitie.

**Kyselina 5-aminolevulinová** (ALA, Ameluz®, Levulan Kerastick®, Gliolan®, Obr. 5) sama o sebe nemá tetrapyrrolovú štruktúru a nepôsobí ako PS. Je však prekursorom hému, ktorého syntéza prebieha skrz medziprodukt s fotosenzitizujúcimi vlastnosťami, protoporfyrín IX (PpIX). PpIX je na finálny produkt konvertovaný enzýmom ferrochelatázou, ktorého aktivita je v nádorových bunkách znížená. Vďaka tomu sa PpIX v tumore hromadí a po aktivácii – väčšinou 630 nm svetlom – vyvoláva fotodynamický efekt.<sup>36</sup> V EÚ je ALA schválená vo forme topicky aplikovaného gelu (Ameluz®) k terapii aktinickej keratózy a bazocelulárneho karcinómu,<sup>37</sup> a vo forme perorálneho roztoku (Gliolan®) k vizualizácii malígneho tkaniva počas operácie zhubného gliómu.<sup>38</sup> V USA je registrovaná vo forme roztoku (Levulan Kerastick®) k terapii povrchovej aktinickej keratózy hlavy a horných končatín.<sup>39</sup>



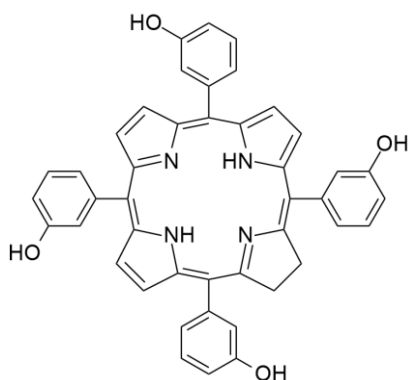
Obr. 5 Štruktúra kyseliny 5-aminolevulinovej <sup>39</sup>

**Metylester kyseliny 5-aminolevulinovej** (Metvix®, Obr. 6) bol vyvinutý za účelom zlepšenia penetrácie hydrofilnej ALA do buniek. Používa sa k terapii aktinickej keratózy a bazocelulárneho karcinómu.<sup>36</sup>



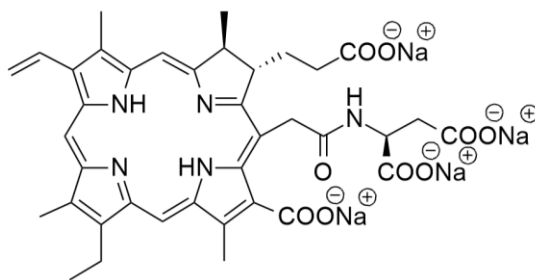
Obr. 6 Štruktúra metylesteru kyseliny 5-aminolevulinovej<sup>36</sup>

**Temoporfín** (*meso-tetra*-hydroxyfenyl-chlorín, Foscan®, Obr. 7) je hydrofóbný PS chlorínovej štruktúry, s výhodnými fotofyzikálnymi vlastnosťami.<sup>35</sup> Je schválený v EÚ k paliatívnej liečbe pokročilého skvamocelulárneho karcinómu hlavy a krku, a to pri zlyhaní alebo nevhodnosti iných terapeutických postupov. Fotoaktivácia nastáva vlnovou dĺžkou 652 nm 96 hodín po intravenóznom podaní Foscanu.<sup>40</sup> Hlavnou nevýhodou je fotosenzitivita, ktorá môže pretrvávajúť až niekoľko týždňov po terapii.<sup>35</sup>



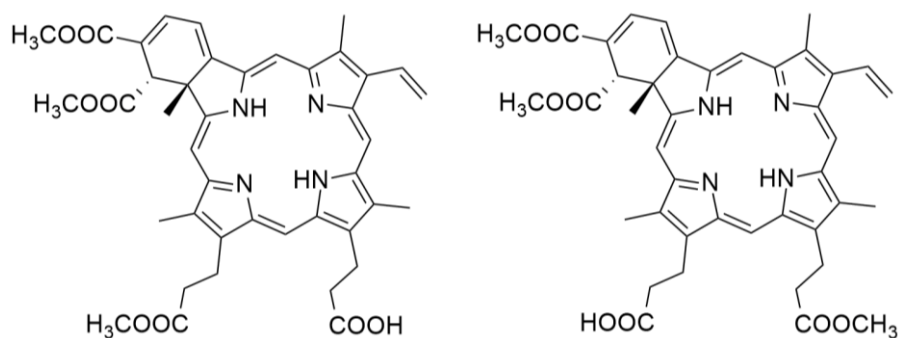
Obr. 7 Štruktúra temoporfínu<sup>35</sup>

**Talaporfín** (Npe6, mono-L-aspartyl chlorín e6, Laserphyrin®, Obr. 8) má štruktúru chlorínu.<sup>35</sup> Je schválený v Japonsku k terapii karcinómu pľúc. Iradiácia svetlom o vlnovej dĺžke 664 nm je indikovaná 4 hodiny po podaní talaporfínu. Ide o pomerne bezpečný PS, s nízkym rizikom rozvoja kožnej fotosenzitivity.<sup>34</sup>



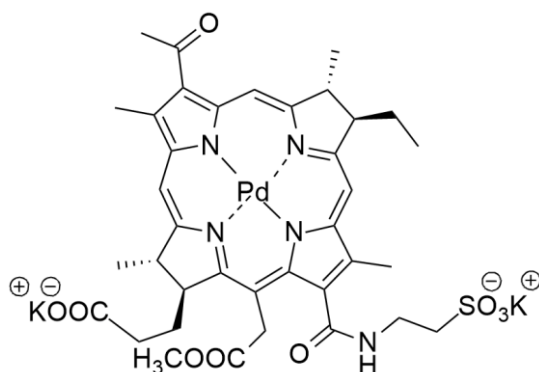
Obr. 8 Štruktúra talaporfínu<sup>35</sup>

**Verteporfín** (Visudyne®, Obr. 9) je derivát chlorínu schválený v USA<sup>41</sup> a v EÚ k terapii vekom podmienenej degenerácie makuly a subfoveálnej choroidálnej neovaskularizácie. Je aktivovaný svetlom vlnovej dĺžky 689 nm 15 minút po započatí intravenózneho aplikácie.<sup>42</sup> Krátky DLI zaisťuje selektivitu fotodynamického účinku voči cievam bez poškodenia príslušného tkaniva sietnice. Verteporfín sa vyznačuje rapidnou klírens, ktorá znižuje riziko nežiaducej fotosenzitívnej reakcie po podaní.<sup>41</sup>



Obr. 9 Štruktúra verteporfínu<sup>43</sup>

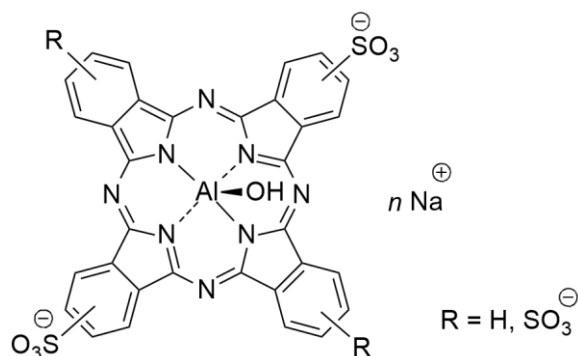
**Padeliporfín** (Tookad®, Obr. 10) vo forme di-draselnej soli je v EÚ schválený na terapiu adenokarcinómu prostaty.<sup>44</sup> Vzhľadom k jeho veľmi dobrej rozpustnosti vo vode je zadržovaný v cirkulácii aj po podaní vysokých dávok. Protinádorový účinok je tak sprostredkovaný deštrukciou cievneho systému tumoru.<sup>45</sup> Tookad sa podáva v intravenózneho injekcii, aktivácia žiarením o vlnovej dĺžke 753 nm nastáva bezodkladne po nej.<sup>44</sup> Táto relatívne vysoká vlnová dĺžka umožňuje lepšiu penetráciu PS do tkaniva. Vďaka extrémne krátkemu polčasu a rýchlej klírens je minimalizované riziko kožnej fotosenzitivity.<sup>35</sup>



Obr. 10 Štruktúra padeliporfínu<sup>35</sup>

**Sulfónovaný hlinitý ftalocyanín** (Photosens®, Obr. 11) je zatiaľ jediným ftalocyanínom registrovaným pre klinické použitie. Jedná sa o zmes chloridov tetra-, tri-, di- a mono-

sulfónovaných hlinitých ftalocyanínov, z ktorých sa najväčšou mierou na fotodynamickom efekte podieľa amfifilný disulfónovaný derivát. Photosens je schválený v Rusku k terapii karcinómu pľúc, kože, prsníkov, hlavy a krku, a vekom podmienenej degenerácie makuly. Fotoaktivácia nastáva po 24-hodinovom DLI svetlom s vlnovou dĺžkou 675 nm.<sup>46</sup>



Obr. 11 Štruktúra sulfónovaného hlinitého ftalocyanínu<sup>47</sup>

Do druhej generácie sa radia aj PS bez tetrapyrolovej štruktúry, ako napr. antrachinón hypericín, fenotiazínové farbivá metylénová a toluidínová modrá, cyanínový derivát merocyanín 540. Pre klinické použitie v PDT tieto látky zatiaľ neboli schválené.<sup>35</sup>

Za účelom zvýšenia akumulácie PS v nádore a minimalizácie nežiaducich účinkov voči okolitému zdravému tkanivu sú v súčasnosti vyvíjané **PS tretej generácie**. Vznikajú enkapsuláciou druhogeneračných PS do nosičov, alebo ich konjugáciou s cieľiacim substituentom s vysokou afinitou voči nádorovému tkanivu.<sup>31</sup>

Enkapsulácia PS v nanoštruktúrovaných nosičoch je metódou tzv. pasívneho targetingu, ktorý využíva efekt zvýšenej permeability a retencie v tkanivách nádoru. Nanočastice s relatívne veľkou molekulovou hmotnosťou nie sú schopné preniknúť cez tesné spoje zdravých endotelových buniek. Môžu ale selektívne extravazovať do nádorového tkaniva so zvýšenou cievnou priepustnosťou a vďaka zhoršenej funkcii lymfatického systému sa v ňom kumulovať.<sup>48</sup> Tieto nosiče je možno rozdeliť na biodegradovateľné, ako napríklad lipozómy, micely na bázi syntetických polymérov, konjugáty s cyklodextrínom alebo kyselinou hyalurónovou; a nebiodegradovateľné (z pravidla odolnejšie voči zmenám teploty a pH), medzi ktoré patria polyakrylamidové polyméry a častice oxidu kremíku a zlata.<sup>49</sup>

Aktívny targeting využíva konjugáciu PS s ligandom, ktorým môže byť uhl'ovodíkový zvyšok, aminokyselina, peptid, protilátka alebo jej fragment, a ktorý sa špecificky viaže na príslušný antigén alebo receptor nádorových buniek.<sup>31</sup> Medzi vhodné ligandy, ktorých receptory sú v nádorovom tkanive upregulované, patria napríklad epidermálny rastový faktor, LDL lipoproteín, inzulín a transferín, z neproteínových ligandov to sú napríklad foláty alebo kyselina retinová.<sup>49</sup>

Ďalším skúmaným konceptom je aplikácia PS vo forme inaktívneho prekurzoru, ktorý je aktivovaný v prostredí nádoru prítomnými proteázami alebo špecifickým pH.<sup>24</sup>

### 2.1.6. Ďalšie aplikácie PDT

Vzhľadom k rastúcej antibiotickej rezistencii v súčasnosti narastá význam využitia PDT k fotoinaktivácii mikróbov. Na rozdiel od PS určených k terapii rakoviny, je u antimikrobiálnych PS prítomnosť viacerých kladných nábojov výhodou, a to hlavne pri eradikácii gram-negatívnych baktérií. Absorpcia PS pri čo najvyšších vlnových dĺžkach nehrá takú dôležitú úlohu ako pri terapii rakoviny, vzhľadom k prevažne povrchovému charakteru infekcií liečených fotodynamicky.<sup>29</sup>

PDT môže byť tiež úspešne uplatnená v inaktivácii vírusov, ktorá nastáva oxidačným poškodením lipidového obalu, proteínovej kapsidy alebo nukleových kyselín vírusu.<sup>50</sup> Ďalšie možné využitia PDT zahrňujú inaktiváciu rezistentných húb, patogénov v krvných produktoch, sterilizáciu vody či dezinfekciu povrchov.<sup>11</sup>

Sľubnú terapeutickú stratégiu predstavujú taktiež protinádorové vakcíny založené na imunologických efektoch PDT. Obsahom vakcíny sú dendritické bunky, prezentujúce tumor-asociované antigény z rakovinových buniek usmrtených *ex vivo* PDT. Aplikácia vakcíny vedie k dozrievaniu interferón produkujúcich T-lymfocytov. Vzniknutá dlhodobá imunitná odpoveď je špecifická voči konkrétnemu typu nádoru a bráni jeho rekurencii.<sup>3</sup>

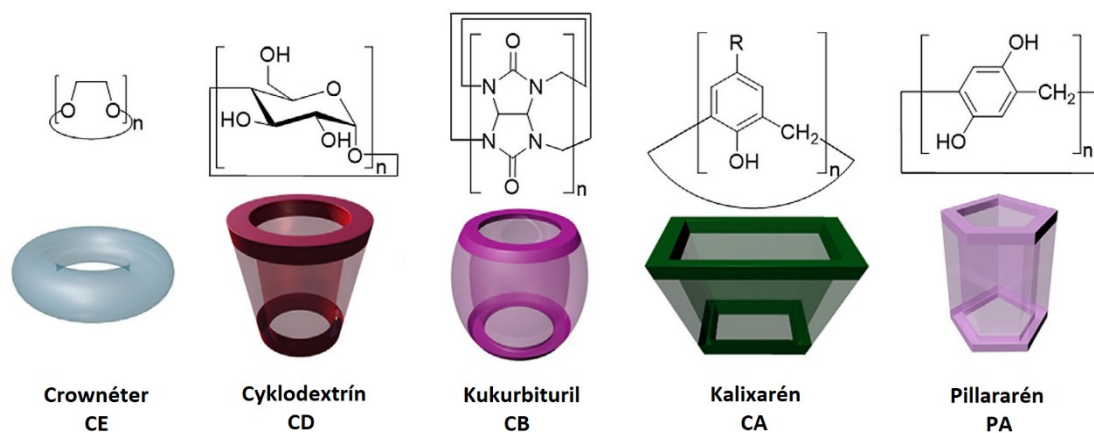
Vďaka fluorescenčným vlastnostiam PS je takisto možné využívať ich k diagnostickému zobrazovaniu nádorového tkaniva, a to predovšetkým špecifické PS tretej generácie.<sup>24</sup>

## 2.2. SUPRAMOLEKULÁRNE INTERAKCIE FOTOSENZITIZÉROV

Jednou z typických nežiaducich vlastností PS je ich tendencia vytvárať v polárnych rozpúšťadlách fotodynamicky neaktívne agregáty. Deje sa tak v dôsledku vzniku  $\pi$ - $\pi$  interakcií medzi jednotlivými molekulami PS s obsahom konjugovaných aromatických  $\pi$ -systémov.<sup>51</sup>

Tvorba agregátov môže byť potlačená zavedením objemných skupín, ako napríklad rozvetvených uhl'ovodíkových zvyškov alebo polyaromátov, do štruktúry PS. Takisto je možné využiť elektrostatické odpudivé sily medzi jednotlivými molekulami zavedením kladných či negatívnych nábojov do štruktúry PS, napríklad vo forme kvartérnych amínov či karboxylátov.<sup>52</sup>

Ďalším potenciálnym prístupom, ako dosiahnuť monomélnosť PS vo vode, je tvorba supramolekulárnych komplexov. PS alebo jeho časť je ako „host“ enkapsulovaný do „hostiteľskej“ molekuly, ktorou býva najčastejšie crownéter, cyklodextrín, kukurbit[ $n$ ]uril, kalix[ $n$ ]arén alebo pillar[ $n$ ]arén<sup>51</sup> (Obr. 12). Supramolekulárna komplexácia využíva nekovalentné interakcie, medzi ktoré patria van der Waalsove,  $\pi$ - $\pi$ , hydrofóbne interakcie a tvorba koordinačných a vodíkových väzieb.<sup>51</sup>



Obr. 12 Hostiteľské molekuly pre tvorbu supramolekulárnych komplexov s PS<sup>53</sup>

### 2.2.1. Kukurbit[ $n$ ]urily

Kukurbit[ $n$ ]urily (CB) sú symetrické makrocykly dyňového tvaru, zložené z  $n$  glykolurilových jednotiek prepojených metylénovými mostíkmi. Najpoužívanejšími sú CB[5], CB[6], CB[7], CB[8] a CB[10], pričom priemer dutiny CB rastie so zvyšujúcim sa počtom glykolurilových jednotiek makrocyklu.<sup>53</sup>

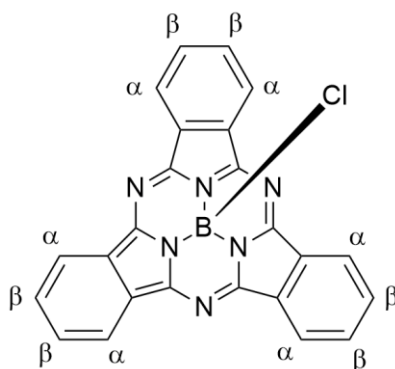
Zmes CB vzniká kondenzačnou reakciou glykolurilu s formaldehydom v prostredí koncentrovanej kyseliny. Následná izolácia jednotlivých CB je možná vďaka ich odlišnej rozpustnosti v rôznych zmesiach rozpúšťadiel. Relatívne vyššou rozpustnosťou vo vode (20 – 30 mM) sa zo skupiny CB vyznačujú CB[5] a CB[7].<sup>54</sup>

Pre supramolekulárne komplexy s CB ako hostiteľskými molekulami sú typické vysoké hodnoty asociačných konštánt ( $K_a$ ), ktoré bývajú až o niekoľko rádov vyššie oproti hodnotám získaným s cyklodextrínmi.<sup>54</sup> Samotná tvorba komplexu je sprostredkovaná hydrofóbnymi interakciami a interakciou ión – dipól medzi kladným nábojom molekuly hosťa a elektronegatívnym kyslíkom močovínových skupín CB.<sup>55</sup>

V rámci rodiny CB je pravdepodobne najčastejšie využívaným makrocyklom CB[7], a to vďaka jeho dobrej rozpustnosti vo vode a typicky vysokým väzbovým afinitám.<sup>56</sup> Napríklad jeho interakciou s dikatióntovým ferocénovým derivátom vo vode vzniká extrémne stabilný supramolekulárny komplex s  $K_a$  až s  $3 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ , čo sa približuje hodnote  $K_a$  komplexu avidín-biotín.<sup>57</sup> Výnimočnú afinitu vykazuje CB[7] aj voči derivátom adamantánu, s hodnotami  $K_a$  presahujúcimi  $10^{12} \text{ M}^{-1}$ .<sup>58</sup>

### 2.3. SUBFTALOCYANÍNY

Subftalocyaníny (Obr. 13) sú pyrolické makrocykly odvodené od ich vyšších homológov ftalocyanínov. Obsahujú aromatický systém so 14tými  $\pi$  elektrónmi, tvorený tromi diiminoizoindolovými jednotkami premostenými atómami dusíku okolo štvorväzbového atómu bóru.<sup>59</sup>

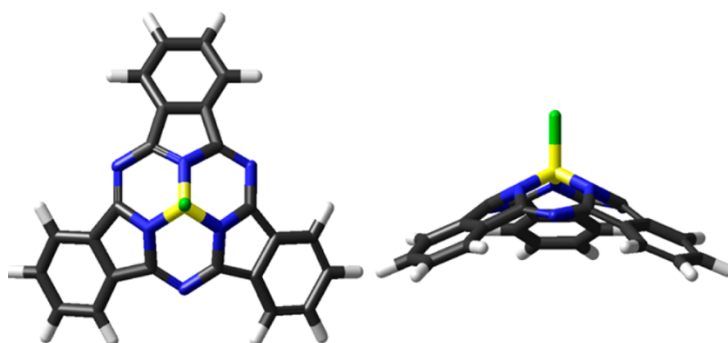


Obr. 13 Štruktúra nesubstituovaného subftalocyanínu

Na rozdiel od takmer všetkých ostatných štruktúrne podobných makrocyklov, ktoré sú planárne, majú subftalocyaníny konvexný  $\pi$  povrch (Obr. 14). Táto ich vlastnosť môže

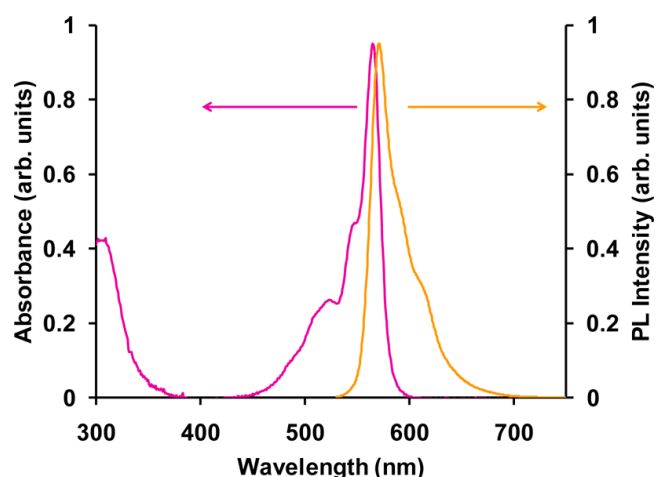


častočne zabraňovať nežiaducej agregácii jednotlivých molekúl obmedzením  $\pi - \pi$  interakcií.<sup>60</sup> Synteticky ide o pomerne verzatilné molekuly, ktoré je možné modifikovať periférne i axiálne.<sup>61</sup>



Obr. 14 3D štruktúra chloridu subftalocyanínu bóru<sup>62</sup>

Vyznačujú sa intenzívnou absorpciou a emisiou vo vlnových dĺžkach v zelenej oblasti spektra, blízko terapeutickému oknu (približne pri 560 nm a 570 nm, v tomto poradí)<sup>59</sup> (Obr. 15).



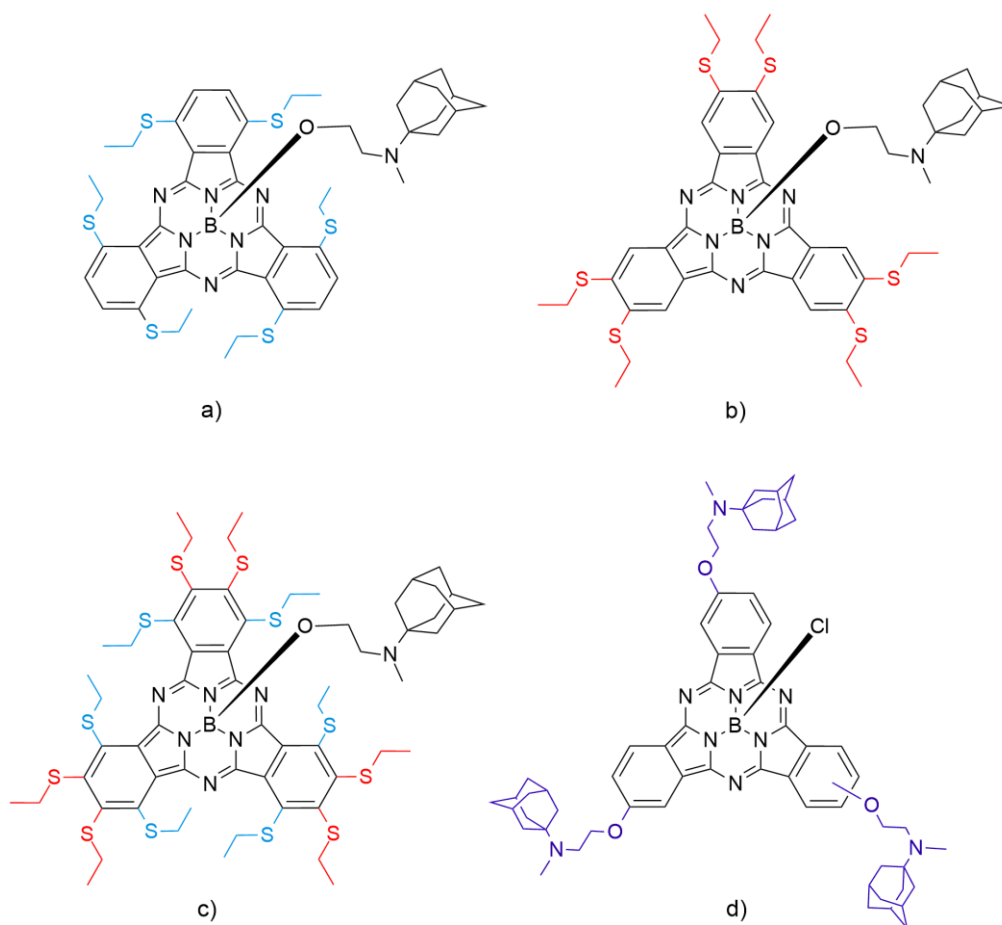
Obr. 15 Absorpčné (ružovým) a emisné (oranžovým) spektrum chloridu subftalocyanínu bóru v toluéne<sup>62</sup>

Vysoké kvantové výťažky fluorescence a produkcie singletového kyslíka ( $\Phi_F = 0,25$  a  $\Phi_\Delta = 0,61$  pre nesubstituovaný chlorid subftalocyanínu bóru<sup>63</sup>) ich robia vhodnými kandidátmi pre použitie vo fluorescenčných zobrazovacích technikách<sup>60</sup> i ako PS<sup>64</sup>. Sú aplikovateľné predovšetkým v terapii povrchových kožných lézií, kde je žiaduce zabrániť poškodeniu okolitého zdravého tkaniva.<sup>65</sup> Pre subftalocyaníny je typické výrazné fialové sfarbenie, vďaka ktorému sú taktiež atraktívnymi farbivami.<sup>63</sup>

### 3. CIELE PRÁCE

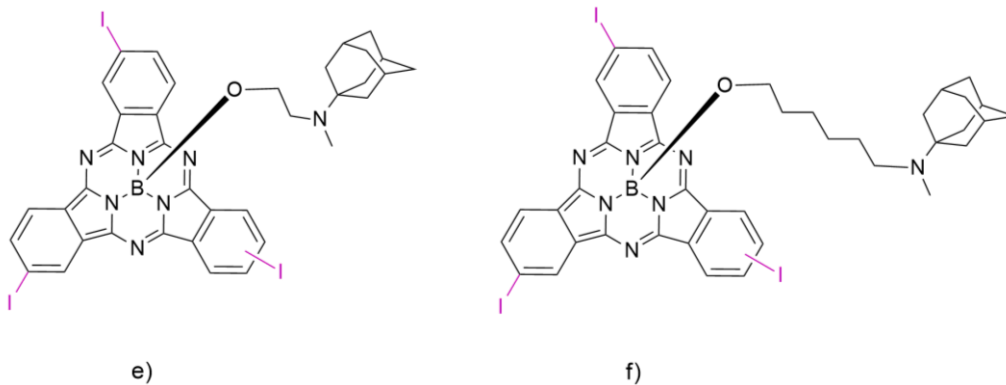
Cieľom tejto diplomovej práce bolo pripraviť subftalocyaníny modifikované derivátom aminoadamantánu pre tvorbu supramolekulárnych komplexov s kukurbiturilmi. Tým by potenciálne mohla byť dosiahnutá rozpustnosť fotosenzitizéru vo vodnom prostredí.

Primárnym cieľom bola syntéza látok s aminoadamantánovým derivátom pripojením na subftalocyanínové jadro axiálne, a to skrz uhl'ovodíkový spojovací reťazec. Ako periférne substituenty boli za účelom posunu hlavného absorpčného pásu látok do oblasti vyšších vlnových dĺžok v porovnaní s nesubstituovanými subftalocyanínmi zvolené etylsulfanylové skupiny. Tie boli zamýšľané ako hexasubstitúcia v polohách alfa (Obr. 16 a) alebo beta (Obr. 16 b), alebo ako dodekasubstitúcia v oboch týchto polohách (Obr. 16 c). V jednom prípade bol aminoadamantánový derivát zamýšľaný ako periférny substituent v beta polohe subftalocyanínového jadra (Obr. 16 d).



Obr. 16 Štruktúry zamýšľaných subftalocyanínov

K cieľovým štruktúram boli ďalej pridané trijódsubftalocyaníny s aminoadamantylovým derivátom situovaným opäť axiálne (Obr. 17 e, f), u ktorých boli vďaka prítomnosti jódu ako atómu s vysokým atómovým číslom očakávané výhodné fotofyzikálne vlastnosti.



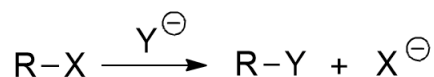
Obr. 17 Štruktúry zamýšľaných subftalocyanínov

U úspešne syntetizovaných subftalocyanínov budú charakterizované ich fotofyzikálne vlastnosti (kvantový výťažok produkcie singletového kyslíka a kvantový výťažok fluorescencie) a určený vplyv supramolekulárnej komplexácie na ich monoméritosť vo vode.

## 4. METODICKÁ ČASŤ

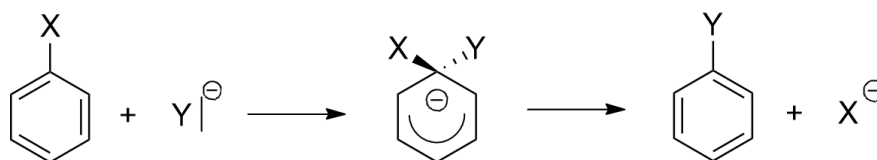
### 4.1. NUKLEOFILNÁ SUBSTITÚCIA

Pomerne často využívaným reakčným postupom v tejto práci bola nukleofilná substitúcia (Obr. 18). Táto reakcia prebieha medzi substrátom a činidlom monomolekulárnym alebo bimolekulárnym mechanizmom v závislosti na reakčných podmienkach. Činidlom, resp. nukleofilom, je malá molekula s voľným elektrónovým párom, ktorá sa ochotne viaže do miesta substrátu s nedostatkom elektrónov, napr.  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HO}^-$ ,  $\text{HS}^-$ ,  $\text{NHR}_2$ . Substrát naopak obsahuje substituenty, ktoré polarizujú väzby a tým ich činia vhodnými pre nukleofilný atak. Pre odstupujúcu skupinu substrátu platí, že má spravidla menšiu bazicitu než činidlo.<sup>66</sup> Schopnosť skupiny odstupovať je závislá na sile väzby medzi touto skupinou a uhlíkom.<sup>67</sup> Medzi ochotne odstupujúce skupiny patria napríklad perfluoroalkylsulfonáty (napr. trifluorometylsulfonát) alebo *p*-toluénsulfonát.<sup>68</sup>



Obr. 18 Obecná schéma nukleofilnej substitúcie<sup>66</sup>

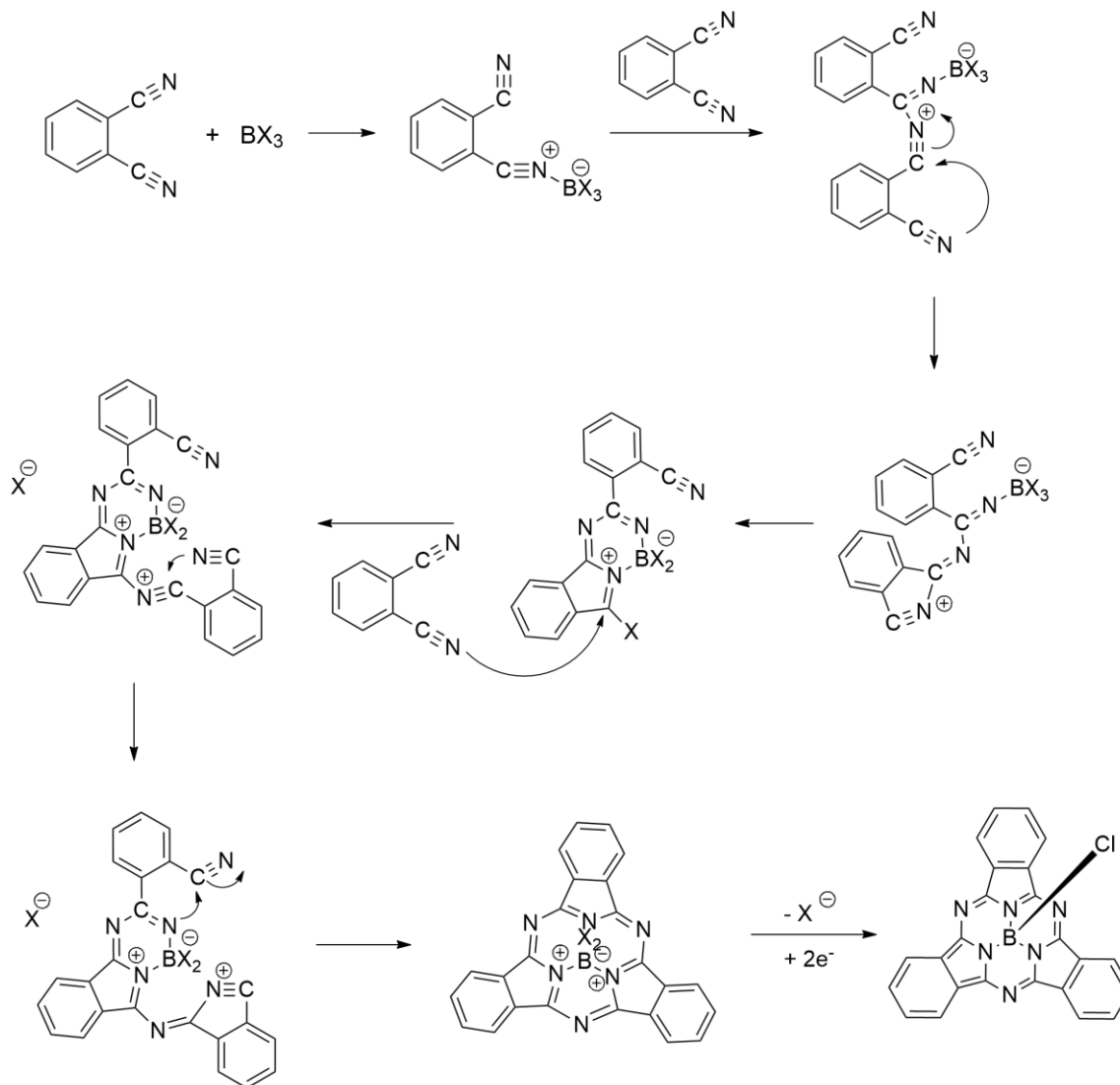
Pri aromatickej nukleofilnej substitúcii je nukleofilnou časticou nahradzovaný substituent naviazaný na aromatickom jadre. Vzhľadom k značnej stabilite aromatických systémov prebiehajú tieto reakcie pomerne neochotne. Pokiaľ je však nahradzovaná skupina aktivovaná záporným indukčným alebo mezomérym efektom iného substituentu (napríklad nitrilovou alebo aldehydickou skupinou), priebeh reakcie je značne uľahčený.<sup>66</sup> Reaktivitu ovplyvňuje takisto povaha nahradzovanej skupiny. Nukleofilná aromatická substitúcia môže prebiehať mechanizmom monomolekulárnym (typicky u diazóniových solí) alebo bimolekulárnym, ktorý sa ďalej delí na adične-elimináčny (Obr. 19) a eliminačne-adičný (ten sa uplatňuje pri reakcii s veľmi silnými bázami).<sup>66</sup>



Obr. 19 Priebeh adične-elimináčného mechanizmu  $S_{\text{N}2}\text{-Ar}$ <sup>66</sup>

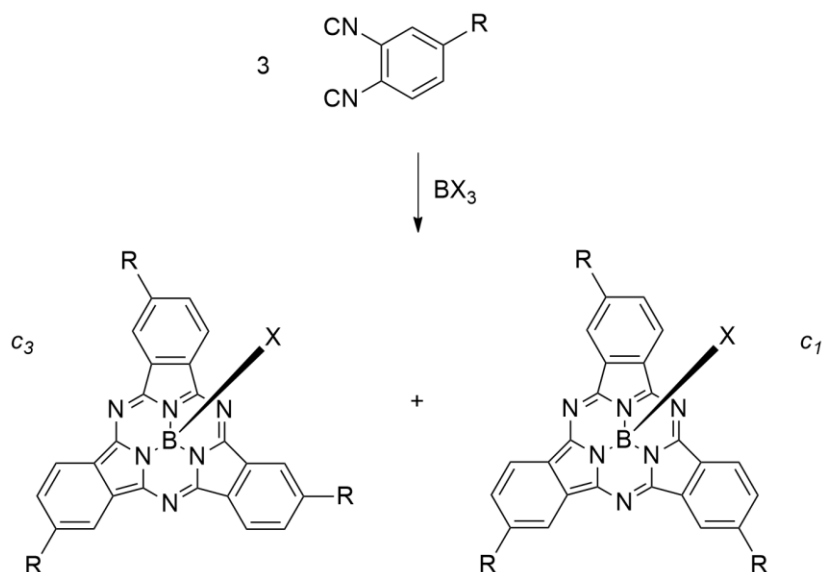
## 4.2. CYKLOTRIMERIZAČNÉ REAKCIE

Syntéza subftalocyanínov prebieha reakciou derivátov ftalonitrilu so zlúčeninami typu  $BX_3$  alebo  $BX_2Y$ , kde X a Y môžu byť butyl, fenyl, fluorid, chlorid alebo bromid<sup>63</sup> (Obr. 20). Reaktivita týchto činidiel stúpa s ich rastúcou zásaditosťou podľa Lewisovej teórie. Najochotnejšie vznikajú bromosubftalocyaníny pôsobením  $BBr_3$ , sú však pomerne nestále a náročné na izoláciu. Najčastejšie je k cyklotrimerizácii používaný roztok chloridu boritého v *p*-xyléne, hexáne alebo heptáne.<sup>63</sup>



Obr. 20 Mechanizmus cyklotrimerizácie ftalonitrilu na subftalocyanín<sup>69</sup>

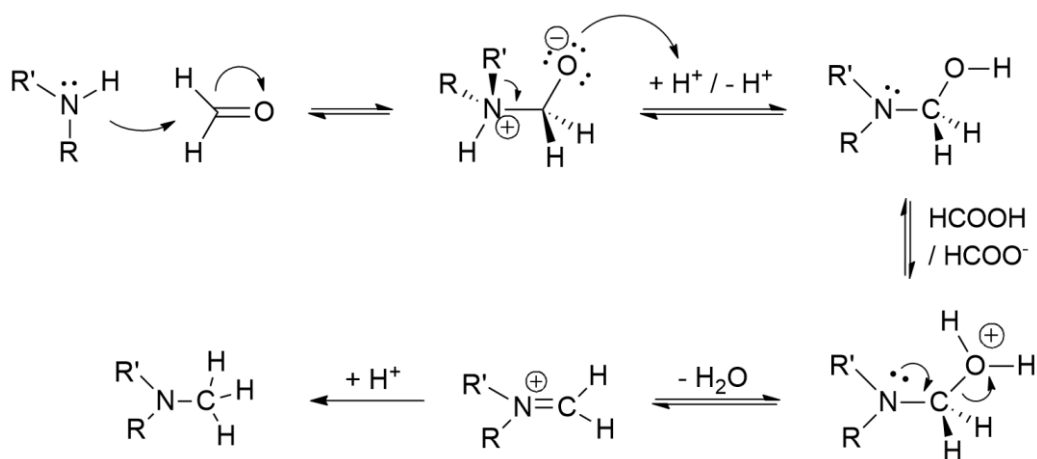
Pokiaľ do reakcie vstupuje asymetrický ftalonitril, výsledkom syntézy bude zmes dvoch regioizomérov  $c_3$  a  $c_1$  v pomere 1 : 3 (Obr. 21).<sup>63</sup>



Obr. 21 Regioizoméry vznikajúce trimerizáciou asymetrického ftalonitrilu <sup>63</sup>

#### 4.3. METYLÁCIA SEKUNDÁRNEHO DUSÍKU

Vzhľadom k tomu, že jodid je dobrou odstupujúcou skupinou, je metyljodid vhodným substrátom pre priebeh bimolekulárnej nukleofilnej substitúcie a používa sa ako bežné metylačné činidlo v organických syntézach.<sup>70</sup> Nevýhodou jeho použitia je okrem jeho toxicity a potenciálnej karcinogenity aj fakt, že N-metylácia prebieha až na kvartérny amín. Alternatívou tejto metylačnej cesty je preto použitie Eschweilerovej-Clarkovej reakcie.<sup>71</sup>



Obr. 22 Mechanizmus Eschweilerovej-Clarkovej metylácie <sup>72</sup>

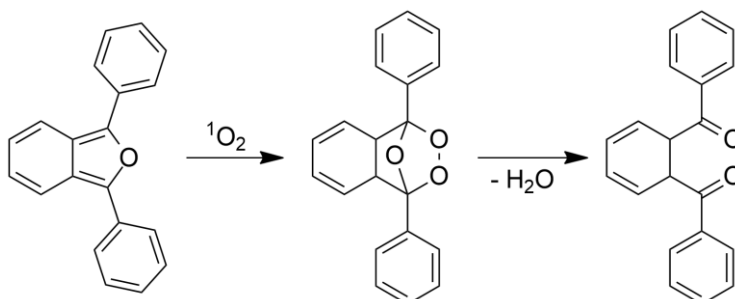
Táto redukčná metylácia primárnych a sekundárnych amínov prebieha za prítomnosti formaldehydu a kyseliny mravčej. Reakciou aldehydu a amínu vzniká imíniový ión,

ktorý je pôsobením kyseliny mravčej redukovaný na príslušný metylamín (Obr. 22).<sup>72</sup> Z primárneho alebo sekundárneho amínu takto môže vzniknúť N-metylovaný alebo N,N-dimetylovaný terciárny amín. Keďže terciárny amín nemôže vytvoriť ďalší imín, kvartérny amín pri Eschweilerovej-Clarkovej reakcii na rozdiel od nukleofilnej substitúcie nevzniká.<sup>70</sup>

#### 4.4. STANOVENIE PRODUKCIE SINGLETOVÉHO KYSLÍKA

Kvantový výťažok produkcie singletového kyslíka  $\Phi_{\Delta}$  je pomer medzi počtom generovaných molekúl  $^1\text{O}_2$  a počtom fotónov absorbovaných fotosenzitizérom. Charakterizuje efektívnosť procesu, pri ktorom fotoexcitovaná molekula prenáša svoju získanú energiu na molekulu  $\text{O}_2$ .<sup>73</sup> Jeho stanovenie je možné priamo, napríklad využitím NIR luminescencie, ktorá sleduje javy pri rozpade  $^1\text{O}_2$  na  $^3\text{O}_2$ . Táto metóda je použiteľná v biologickom prostredí, avšak jej nevýhodou je potreba veľmi citlivého sofistikovaného príslušenstva.<sup>74</sup>

Dostupnejšou alternatívou sú nepriame metódy založené na prítomnosti chemickej pasce – scavengeru, napríklad 1,3-difenylyzobenzofuránu (DPBF), furfuralu, histidínu alebo tryptofánu. Scavenger má schopnosť selektívne interagovať so vznikajúcim  $^1\text{O}_2$  a podstupovať štrukturálne zmeny vedúce k zmene jeho spektrálnych vlastností. Pokles jeho koncentrácie je preto možné sledovať bežnými analytickými technikami, akými sú absorpčná a fluorescenčná spektroskopia, chemiluminescencia alebo elektronická paramagnetická rezonancia.<sup>73</sup> Napríklad vyššie uvedený DPBF vytvára po cykloadícii  $^1\text{O}_2$  o-dibenzoylbenzén (Obr. 23), pričom pokles DPBF je monitorovaný meraním absorbancie.<sup>75</sup>



Obr. 23 Štrukturálne zmeny DPBF vyvolané pôsobením singletového kyslíka

Pri meraní kvantového výťažku singletového kyslíka vzorky  $\Phi_{\Delta}^S$  je stanovovaná látka porovnávaná s referenčnou látkou (štandardom) so známym  $\Phi_{\Delta}$ . Štandard musí spĺňať

určité požiadavky, ako vysoký  $\Phi_{\Delta}$  a jeho nezávislosť na koncentrácii štandardu, fotostabilita, nezhášanie  $^1\text{O}_2$ .<sup>73</sup>

Pri výpočte  $\Phi_{\Delta}^S$  je používaný vzorec (1)<sup>76</sup>

$$\Phi_{\Delta}^S = \Phi_{\Delta}^R \frac{k^S I_{aT}^R}{k^R I_{aT}^S} \quad (1)$$

v ktorom  $\Phi_{\Delta}^R$  je kvantový výťažok singletového kyslíka referenčnej látky,  $k$  je smernica závislosti hodnoty  $\ln(A_0/A_t)$  na čase ožiarenia  $t$ ,  $A_0$  a  $A_t$  sú hodnoty absorbancie akceptoru v maxime pred ožiareními a v čase  $t$  po ožiarení.  $R$  a  $S$  označujú referenčnú látku a vzorku.  $I_{aT}$  je celkové množstvo svetla absorbované látkou, počíta sa ako súčet všetkých intenzít absorbovaného svetla  $I_a$ .  $I_a$  pri danej vlnovej dĺžke sa počíta podľa Beerovho zákona (2)

$$I_a = I_0 - (e^{-2,3A}) \quad (2)$$

kde  $I_0$  je transmitancia filtru pri danej vlnovej dĺžke a  $A$  je absorbancia látky pri tejto vlnovej dĺžke.<sup>76</sup>

Pri meraní produkcie singletového kyslíka sa používa vhodný filter, ktorý má schopnosť pohltiť svetlo určitých vlnových dĺžok. Tým sa zabráni rozkladu akceptoru svetlom a pokles jeho absorbancie bude tak pripisovaný výhradne pôsobeniu singletového kyslíka.

#### **4.5. STANOVENIE KVANTOVÉHO VÝŤAŽKU FLUORESCENCIE**

Kvantový výťažok fluorescencie  $\Phi_F$ , ktorý je primárnym parametrom charakterizujúcim emisívne vlastnosti chromofóru, je definovaný ako pomer počtu emitovaných fotónov voči celkovému počtu fotónov absorbovaných vzorkou.<sup>77</sup> Metódy jeho stanovenia je možno rozdeliť na relatívne (porovnávaním so štandardnou látkou so známym  $\Phi_F$ ) a absolútne (stanovenie kalorimetricky alebo pomocou integračnej sféry).<sup>78</sup>

Relatívna metóda je menej náročná na vybavenie, používa sa pri nej klasický fluorescenčný spektrometer, ktorý je ale schopný zachytiť len určitú frakciu emitovaného svetla. Jej nevýhodou je nutnosť použitia štandardu s optickými vlastnosťami veľmi blízkymi skúmanej vzorke.<sup>79</sup>

Naproti tomu absolútna metóda využíva integračnú sféru, ktorá je schopná zachytiť všetko svetlo emitované z excitovanej vzorky, a tým umožňuje stanovenie  $\Phi_F$  priamym



porovnaním počtu emitovaných a absorbovaných fotónov. Počet absorbovaných fotónov je určený z poklesu intenzity dopadajúceho excitačného svetla, spôsobeného absorpciou vzorky, oproti spektru blanku, ktorým je pri meraní z roztoku čisté rozpúšťadlo.<sup>79</sup>

Kvantový výťažok fluorescencie  $\Phi_F$  meraný pomocou integračnej sféry sa počíta zo vzorcov (3) a (4):

$$\Phi_F = \frac{E_{in}(\lambda) - (1 - \alpha)E_{out}(\lambda)}{X_{empty}(\lambda)\alpha} \quad (3)$$

$$\alpha = \frac{X_{out}(\lambda) - X_{in}(\lambda)}{X_{out}(\lambda)} \quad (4)$$

kde  $E_{in}$  a  $E_{out}$  sú integrály emisného spektra získaného priamou a sekundárnou excitáciou vzorky, v tomto poradí. Sekundárna excitácia je spôsobená svetlom odrazeným od stien sféry, ktoré zasahuje vzorku.  $X_{empty}$  je integrovaný excitačný profil blanku a  $\alpha$  je absorptancia vzorky (časť svetla, ktorá bola absorbovaná). Vypočíta sa z integrálov excitačného spektra vzorky  $X_{in}$  (priama excitácia, vzorka je v dráhe dopadajúceho svetla) a  $X_{out}$  (sekundárna excitácia svetlom odrazeným od stien sféry).<sup>80</sup>

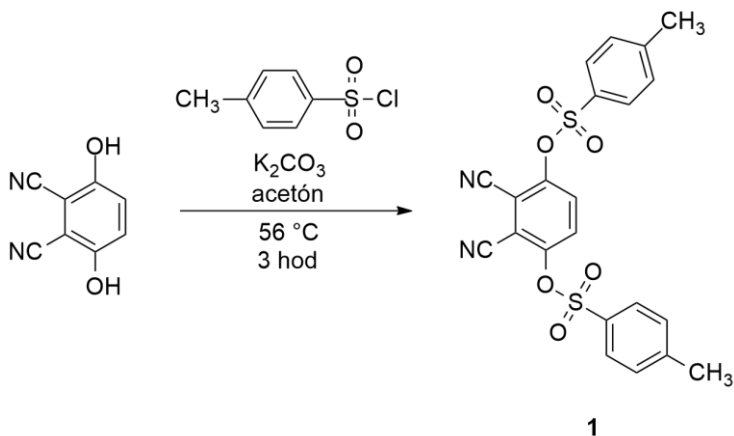
Nežiaducim javom, ktorý môže nastať pri meraní koncentrovaných vzoriek, je efekt vnútorného filtra. Nastáva pri ňom autoabsorpcia už emitovaného svetla, ktorá okrem znižovania intenzity signálu spôsobuje skreslenie tvaru emisného spektra. Tomuto javu je možné predchádzať použitím málo koncentrovaných vzoriek, s absorptanciou nepresahujúcou 0,1. Takisto je vhodné použiť k excitácii svetlo vlnovej dĺžky 10 – 50 nm pod absorpčným maximom vzorky.<sup>78</sup>

## 5. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

V reakciách boli používané východiskové látky a rozpúšťadlá od firiem Lach-ner, Penta, Sigma-Aldrich a Acros. Priebeh reakcií a čistota výsledných produktov boli posudzované pomocou tenkovrstvej chromatografie na doskách Merck Kiesegel 60 F254. K detekcii látok pod UV svetlom o vlnovej dĺžke 254 a 366 nm bola používaná UV lampa UV240 firmy A.KRÜSS Optronic GmbH. Pri izolácii reakčných produktov boli používané sklenené dosky SIL G-200 o veľkosti 20 × 20 cm s 2,0mm vrstvou silica gélu 60, od firmy Macherey-Nagel GmbH & Co. KG. Pri odparovaní rozpúšťadiel bola používaná rotačná vákuová odparka Basis Hei-VAP Value od firmy Heidolph. Čistenie produktov stĺpcovou chromatografiou bolo uskutočnené za použitia stacionárnej fáze Silica gel 60 (0,040 – 0,063 mm) výrobcu Merck Kiesegel. Na meranie TLC-MS spektier boli použité Advion Plate Expres Automated TLC Plate Reader a expression L Compact Mass Spectrometer. NMR spektra boli získané pomocou spektrometrov Jeol JNM-ECZ600R a Varian S500. Pri zisťovaní produkcie singletového kyslíka bola použitá 100W xenónová lampa bez ozónu Newport series Q arc lamp source, a spektrofotometer Shimadzu UV-2600 na meranie absorpčných spektier. Stanovovanie kvantového výťažku fluorescence prebiehalo na spektrofluorimetri FLS 1000 firmy Edinburgh Instruments pomocí integračnej sféry.

### 5.1. SYNTÉZA PREKURZOROV

#### 5.1.1. Príprava 2,3-dikyano-1,4-fenylen-bis(4-metylbenzensulfonátu) (1)

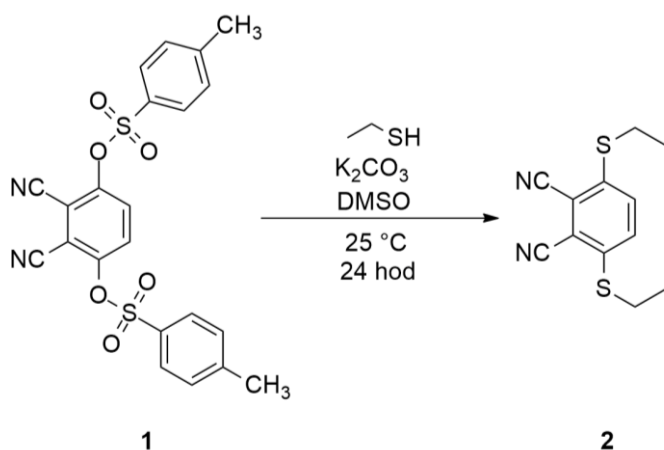


Reakcia prebiehala podľa publikovaného postupu.<sup>81</sup>

Bezvodý  $K_2CO_3$  (8,30 g; 60,06 mmol) bol zmiešaný s acetónom (50 ml) a ponorený na 15 minút do ultrazvuku. Následne bol pridaný 3,6-dihydroxyftalonitril (2,50 g; 15,62 mmol) a *p*-toluénsulfonylchlorid (7,35 g; 35,85 mmol). Reakčná zmes bola za stáleho miešania zahrievaná na 56 °C pod spätným chladičom po dobu 1,5 hod. Potom bola prevedená do destilovanej vody (60 ml) a miešaná ďalšiu 1,5 hod už bez zahrievania. Priebeh reakcie bol monitorovaný pomocou tenkovrstvej chromatografie za použitia mobilnej fáze chloroform : metanol 10 : 1. Po zreagovaní všetkého 3,6-dihydroxyftalonitrilu bol produkt odsatý pomocou vákuua a premytý destilovanou vodou a metanolom. Následne bol rozpustený v acetóne a odparený na rotačnej vákuovej odparke. Vzniknutou bielou až žltou kryštalickou látkou o hmotnosti 6,47 g (88 %) bol produkt **1**.

t.t. 179,2 – 181,2 °C.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 7,83 (d,  $J = 8,4$  Hz, 4H, ArH), 7,80 (s, 2H, ArH), 7,41 (d,  $J = 8,1$  Hz, 4H, ArH), 2,50 (s, 6H,  $CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 149,36; 147,72; 131,04; 130,82; 129,76; 129,16; 112,40; 110,91; 22,24.

### 5.1.2. Príprava 3,6-dietylsulfanylftalonitrilu (**2**)



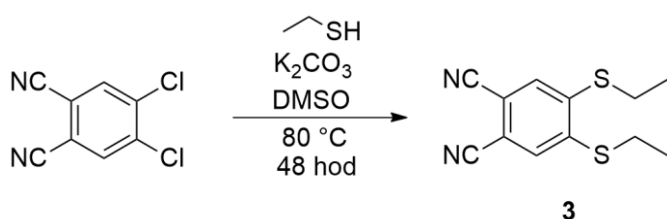
Reakcia prebiehala úpravou publikovaných postupov.<sup>81,82</sup>

Do banky bol navážený bezvodý  $K_2CO_3$  (2,86 g; 20,70 mmol), pridaný dimetylsulfoxid (DMSO) (26 ml) a banka bola vložená na 15 minút do ultrazvuku. Do zmesi bol pridaný etántiol (3,07 ml; 41,45 mmol) a počas nasledujúcej hodiny bola za stáleho miešania pri laboratórnej teplote pridávaná látka **1** (6,47 g; 13,82 mmol). Po 24 hod bola zmes naliata do destilovanej vody a extrahovaná do etylacetátu. Produkt bol vyčistený pomocou

stĺpcovej chromatografie v mobilnej fáze chloroform : toluén 1 : 1. Po prefiltrovaní a odparení rozpúšťadla bola získaná žltá kryštalická látka **2** o hmotnosti 1,25 g (37 %).

t.t. 139,5 – 142,1 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 7,52 (d, *J* = 0,8 Hz, 2H, ArH), 3,06 (qd, *J* = 7,3; 0,8 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>), 1,37 (td, *J* = 7,4; 0,8 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 141,37; 132,42; 117,39; 114,16; 28,22; 14,20.

### 5.1.3. Príprava 4,5-dietylsulfanylfthalonitrilu (**3**)

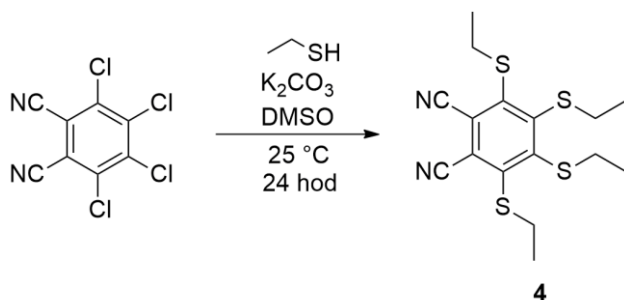


Syntetický postup bol prispôsobený z literatúry.<sup>83</sup>

Bezvodý K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,63 g; 4,59 mmol) bol navážený do banky, bol priliaty DMSO (5 ml) a banka bola vložená na 15 minút do ultrazvuku. Potom bol pridaný etántiol (0,30 ml; 4,05 mmol) a počas 1 hodiny postupne 4,5-dichlórfthalonitril (0,30 g; 1,54 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 12 hod pri laboratórnej teplote a ďalších 36 hodín pri teplote 80 °C pod spätným chladičom. Po 48 hodinách bola naliata do destilovanej vody a produkt bol extrahovaný do etylacetátu. Do organickej fáze bol pridaný bezvodý síran sodný (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), bola prefiltrovaná a odparená na vákuovej odparke. Produkt bol izolovaný pomocou stĺpcovej chromatografie, ako mobilná fáza bola použitá zmes chloroformu a toluénu v pomere 1 : 1. Bola získaná biela kryštalická látka **3** so žltým nádychom o hmotnosti 0,32 g (84 %).

t.t. 152,2 – 154,3 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 7,42 (s, 2H, ArH), 3,06 (q, *J* = 7,4 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>), 1,43 (t, *J* = 7,4 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 144,27; 128,56; 115,95; 111,53; 27,11; 13,55.

#### 5.1.4. Príprava 3,4,5,6-tetraetylsulfanylfталонitrilu (4)

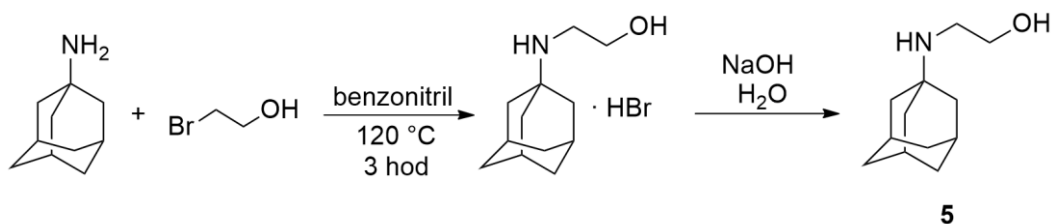


Reakcia prebiehala obmenou publikovaného postupu.<sup>84</sup>

Do banky bol navážený bezvodý  $K_2CO_3$  (0,78 g; 5,64 mmol), pridaný DMSO (5 ml) a banka bola vložená na 15 min do ultrazvuku. Následne bol pridaný etántiol (0,42 ml; 5,67 mmol) a počas 1 hodiny postupne 3,4,5,6-tetrachlórfталонitril (0,30 g; 1,14 mmol). Reakčná zmes bola miešaná 24 hod pri laboratórnej teplote, potom bola naliata do destilovanej vody a produkt bol extrahovaný do etylacetátu. Do organickej fáze bol pridaný bezvodý  $Na_2SO_4$ , bola prefiltrovaná a odparená do sucha. Produkt bol vyčistený stĺpcovou chromatografiou, mobilnou fázou bola zmes toluénu s chloroformom v pomere 10 : 1. Bolo získaných 0,35 g (83 %) žltej olejovitej látky **4**.

$^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 3,14 (qd,  $J = 7,4; 0,5$  Hz, 4H,  $CH_2$ ), 3,08 (qd,  $J = 7,4; 0,5$  Hz, 4H,  $CH_2$ ), 1,27 (td,  $J = 7,4; 0,5$  Hz, 6H,  $CH_3$ ), 1,19 (td,  $J = 7,4; 0,6$  Hz, 6H,  $CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 152,62; 145,25; 121,38; 114,98; 31,74; 14,85.

#### 5.1.5. Príprava *N*-(adamant-1-yl)-2-aminoetanolu (5)



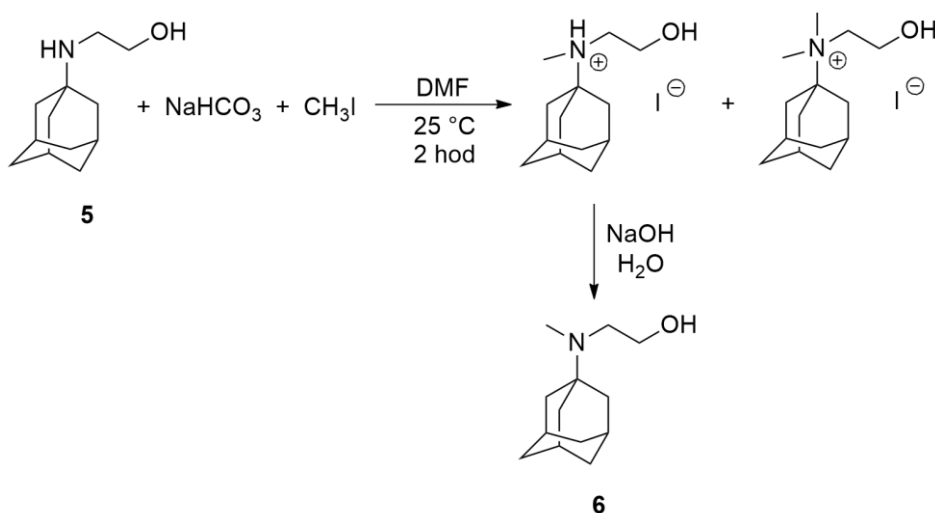
Reakcia prebiehala obmenou publikovaného postupu.<sup>85</sup>

1-aminoadamantán (2,00 g; 13,23 mmol) v destilačnej banke bol pomocou ultrazvuku rozpustený v benzonitrile (10 ml) a bol k nemu pridaný 2-brómetanol (1,13 ml; 15,84 mmol). Reakčná zmes bola za stáleho miešania zahrievaná 3 hodiny k teplote 120 °C pod spätným chladičom. Následne bolo rozpúšťadlo odsaté pomocou vákua, produkt bol

prepláchnutý dietyléterom a naliaty do destilovanej vody. Do vody bol pridaný roztok NaOH, na čo z roztoku vypadla zrazenina, ktorá bola následne extrahovaná chloroformom. Pomocou deliaceho lieviku bola oddelená organická fáza, ktorá bola vysušená bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, prefiltrovaná a odparená do sucha. Produkt bol vyčistený stĺpcovou chromatografiou za použitia metanolu ako mobilnej fázy. Bolo získaných 2,18 g (85 %) bielej kryštalickej látky **5**, ktorá po postriekaní Dragendorffovým činidlom poskytovala oranžovú reakciu. Hodnoty z NMR približne odpovedajú publikovaným výsledkom.<sup>85</sup>

t.t. 93,3 – 96,4 °C. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 3,58 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O), 2,73 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N), 2,05 (t, *J* = 3,2 Hz, 3H, CH), 1,71 – 1,55 (m, 12H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*D*) δ (ppm) 62,11; 50,53; 43,23; 42,07; 37,02; 29,88.

#### 5.1.6. Príprava *N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-2-aminoetanolu (**6**)

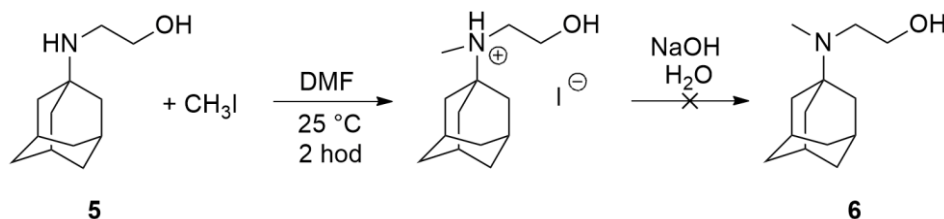


Reakčný postup bol prispôsobený z literatúry.<sup>86</sup>

Do destilačnej banky bola navážená látka **5** (0,25 g; 1,30 mmol) a NaHCO<sub>3</sub> (0,16 g; 1,92 mmol), banka bola vzduchotesne uzavretá pryžovým septom a výmenou vzduchu za argón v nej bola vytvorená inertná atmosféra. Ihlou bol cez septum pridaný *N,N*-dimetylformamid (DMF) (5 ml) a metyljodid (0,10 ml; 1,53 mmol). Reakcia prebiehala 2 hodiny za stáleho miešania pri laboratórnej teplote. Jej priebeh bol overovaný pomocou TLC, ako mobilná fáza bol použitý metanol. Po ukončení reakcie bola zmes produktov naliata do destilovanej vody a bol k nej pridaný roztok NaOH. Vzniknutá zrazenina bola extrahovaná do etylacetátu, ktorý bol po vysušení bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> následne odparený.

Bolo získaných 23 mg (8 %) svetložltej kryštalickej látky **6**, ktorá bola detekovateľná Dragendorffovým činidlom. NMR spektrum potvrdilo prítomnosť požadovaného produktu.

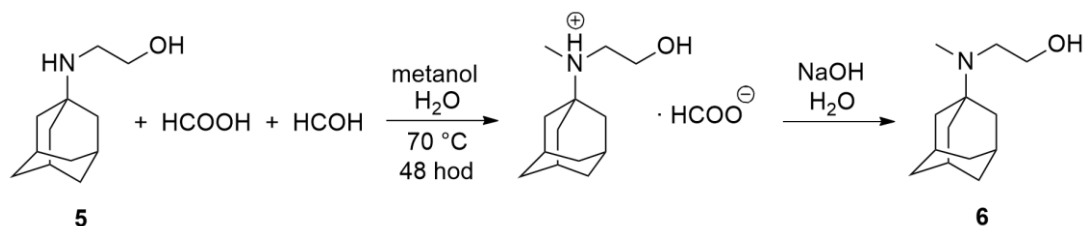
t.t. 51,9 – 54,7 °C. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 3,64 (t, *J* = 5,1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>O), 2,72 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>N), 2,35 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2,12 (t, *J* = 3,4 Hz, 3H, CH), 1,76 (d, *J* = 3,1 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>), 1,70 – 1,58 (m, 6H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 58,00; 51,04; 38,56; 36,74; 35,34; 33,70; 29,80.



Reakcia bola opakovaná bez prítomnosti NaHCO<sub>3</sub>, ktorý podporoval pokračovanie metylácie do ďalšieho stupňa a vznik kvartérnej amóniovej soli. Do banky bola navážená látka **5** (0,25 g; 1,30 mmol), bola uzavretá pryžovým septom a výmenou vzduchu za argón v nej bola vytvorená inertná atmosféra. Ihlou bol cez septum pridaný DMF (5 ml) a metyljodid (0,08 ml; 1,22 mmol). Reakcia prebiehala za stáleho miešania 2 hodiny pri laboratórnej teplote. Následne bola zreagovaná zmes naliata do destilovanej vody a bol nej pridaný roztok NaOH. Vzniknutá zrazenina bola extrahovaná do etylacetátu. Po odparení rozpúšťadla bol produkt vyčistený stĺpcovou chromatografiou v mobilnej fáze chloroform : metanol : trietylamin 10 : 10 : 1. Bolo získaných 27 mg svetložltej zmesi látok, ktorá poskytovala po postriekaní Dragendorffovým činidlom oranžovú reakciu.

Z NMR spektra nebolo možné jednoznačne potvrdiť vznik zamýšľaného produktu **6**.

### 5.1.7. Príprava *N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-2-aminoetanolu (**6**) Eschweilerovou-Clarkovou reakciou



Syntéza prebiehala prispôbením publikovaného postupu.<sup>87</sup>

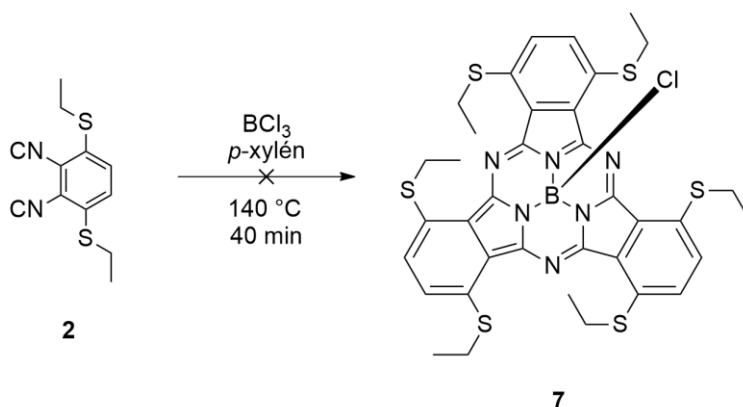
Východisková látka **5** (0,30 g; 1,54 mmol) bola navážená do destilačnej banky a bol k nej pridaný 36 – 38 % formaldehyd (1,18 ml; 15,20 mmol), 84 – 87 % kyselina mravčia (1,40 ml; 30,66 mmol) a metanol (2 ml). Reakčná zmes bola pod spätným chladičom zahrievaná na teplotu 70 °C po dobu 48 hodín. Následne bol produkt naliaty do destilovanej vody a bol pridaný 10% NaOH. Vzniknutá biela zrazenina bola extrahovaná do etylacetátu. Organická frakcia bola vysušená bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, prefiltrovaná a odparená do sucha. Bolo získaných 322 mg bielej kryštalickej látky **6** (~ 100 %), ktorá po postriekaní Dragendorffovým činidlom vytvárala na TLC vyvinutom v metanole oranžovú škvrnu.

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 3,53 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>O), 2,61 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>N), 2,24 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2,10 – 2,05 (m, 3H, CH), 1,68 (d, *J* = 3,1 Hz, 6H, CH<sub>2</sub>), 1,66 – 1,54 (m, 6H, CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 58,41; 55,06; 50,34; 38,97; 36,94; 33,24; 29,81.

## 5.2. SYNTÉZA SUBFTALOCYANÍNOV

Príprava zamýšľaných subftalocyanínov prebiehala podľa publikovaného postupu cyklotrimerizácie ftalonitrilu s využitím roztoku chloridu boritého (BCl<sub>3</sub>).<sup>88</sup>

### 5.2.1. Príprava chloridu 1,4,8,11,15,18-hexaethylsulfanylsubftalocyanínu bóru (**7**)

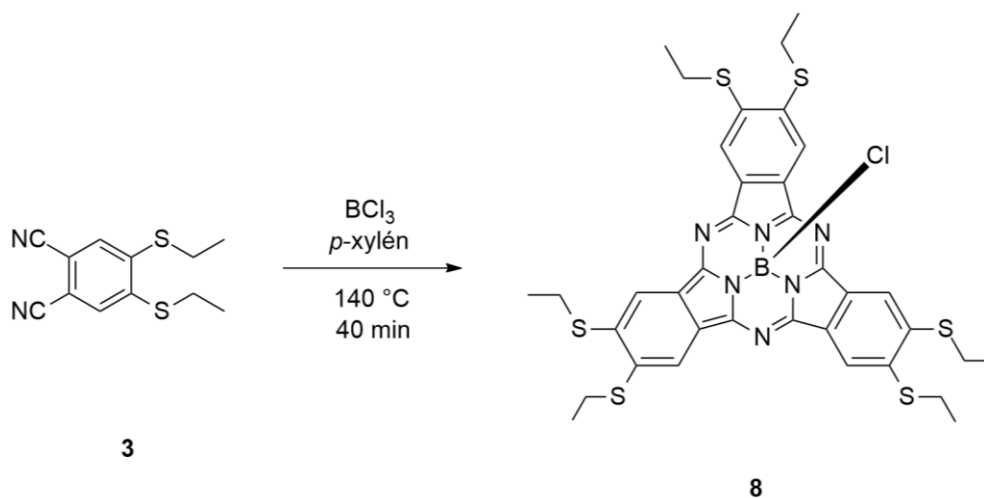


Do destilačnej banky bola navážená látka **2** (0,20 g; 0,82 mmol). Banka bola vzduchotesne uzavretá pryžovým septom a výmenou vzduchu za argón v nej bola vytvorená inertná atmosféra. Reakčná zmes bola po celý čas chránená pred svetlom alobalom. Cez septum bol pridaný bezvodý 1M roztok BCl<sub>3</sub> v *p*-xyléne (5,00 ml; 5,00 mmol) a banka bola okamžite vložená do olejového kúpeľa predhriateho na 140 °C.



Reakcia pri tejto teplote prebiehala pod spätným chladičom za neustáleho miešania 40 minút. Po jej zastavení bolo odparené rozpúšťadlo a produkt bol vyčistený pomocou krátkej stĺpcovej chromatografie, ako mobilná fáza bola použitá zmes toluénu a tetrahydrofuránu (THF) v pomere 10 : 1. Bolo získaných 17 mg tmavomodrej látky, ktorá pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm vyžarovala veľmi slabú fluorescenciu. NMR spektrum ani MS však nepotvrdili prítomnosť požadovaného produktu.

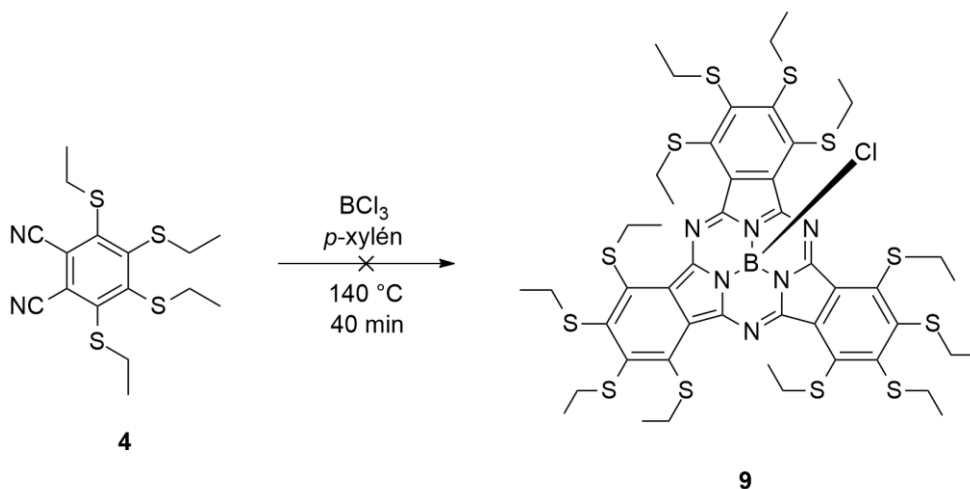
### 5.2.2. Príprava chloridu 2,3,9,10,16,17-hexaethylsulfanylsulfalocyanínu bóru (8)



Do destilačnej banky bola navážená látka **3** (0,40 g; 1,62 mmol). Systém bol obalený alobalom, vzduchotesne uzavretý pryžovým septom a výmenou vzduchu za argón bola vytvorená inertná atmosféra. Cez septum bol pridaný bezvodý 1M roztok  $\text{BCl}_3$  v *p*-xyléne (4,83 ml; 4,83 mmol) a banka bola okamžite vložená do olejového kúpeľa predhriateho na 140 °C. Reakcia pri tejto teplote prebiehala pod spätným chladičom za neustáleho miešania 40 minút. Po jej zastavení bolo odparené rozpúšťadlo a produkt bol vyčistený pomocou krátkej stĺpcovej chromatografie, ako mobilná fáza bola použitá zmes toluénu a THF v pomere 10 : 1. Bolo získaných 0,23 g (55 %) zmesi produktov, ktorá má v roztoku ružovú farbu, po odparení rozpúšťadla tmavomodrú. Pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm v nej fluoreskuje produkt **8**. Ani viacnásobným čistením ho nebolo možné izolovať v čistom stave.

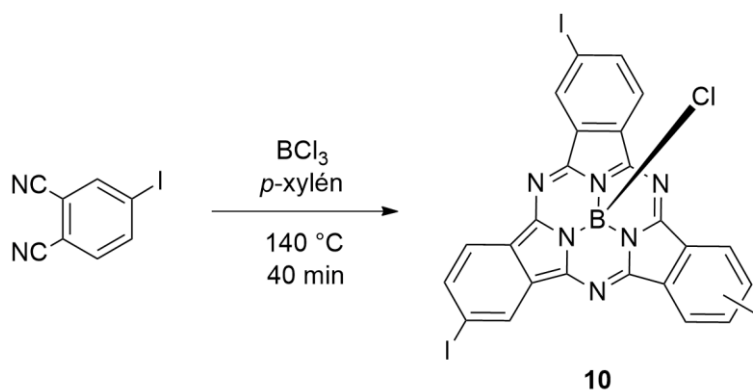
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 8,64 (d,  $J = 0,7$  Hz, 6H, ArH), 1,53 (td,  $J = 7,4$ ; 0,7 Hz, 44H), 1,35 – 1,20 (m, 42H), 0,87 (dd,  $J = 15,9$ ; 9,1 Hz, 13H).

### 5.2.3. Príprava chloridu 1,2,3,4,8,9,10,11,15,16,17,18 – dodekaetylsulfanylsubftalocyanínu bóru (9)



Do destilačnej banky obalenej alobalom bola navážená látka **4** (0,31 g; 0,84 mmol). Banka bola uzavretá, pomocou vákuua bola zbavená vzduchu a naplnená argónom. Cez septum bol pridaný bezvodý 1M roztok  $\text{BCl}_3$  v *p*-xyléne (2,43 ml; 2,43 mmol). Banka bola vložená do vopred predhriateho olejového kúpeľa. Reakcia pri teplote 140 °C prebiehala pod spätným chladičom 40 minút. Po jej zastavení bolo odparené rozpúšťadlo a produkt bol vyčistený pomocou krátkej stĺpcovej chromatografie, ako mobilná fáza bol použitý samotný chloroform. Bolo získaných 70 mg znečisteného tmavého produktu, ktorý na TLC vytváral modré a žlté škvrny. Pod UV svetlom nebola viditeľná fluorescencia ani pri jednej vlnovej dĺžke. Vzhľadom k tomu predpokladáme, že vzniknutým produktom nie je subftalocyanín.

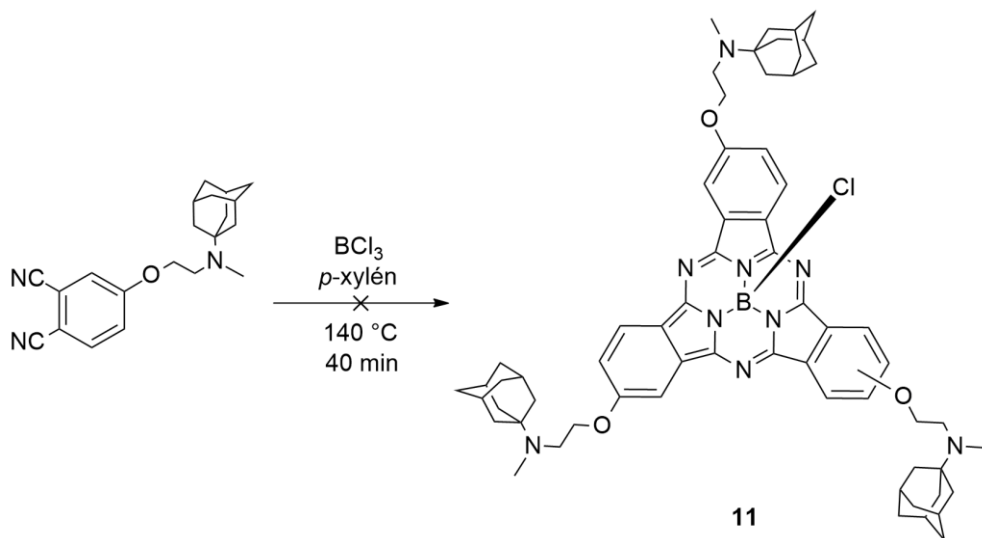
### 5.2.4. Príprava chloridu 2,9,16(17)-trijódsubftalocyanínu bóru (10)



Do destilačnej banky bol navážený 4-jódftalonitril (517 mg; 2,04 mmol), bola uzavretá pryžovým septom a bol v nej vymenený vzduch za argón. Ihlou bol pridaný 1M roztok  $\text{BCl}_3$  v *p*-xyléne (6,11 ml; 6,11 mmol) a banka bola vložená do olejového kúpeľa vopred predhriateho na 140 °C. Reakcia prebiehala pod spätným chladičom 40 minút. Produkt bol po odparení rozpúšťadla vyčistený stĺpcovou chromatografiou, ako mobilná fáza bola použitá zmes toluénu a THF v pomere 10 : 1. Bolo získaných 471 mg (86 %) fialového produktu **10**, ktorý pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm fluoreskoval oranžovo. Celá reakcia prebiehala za ochrany pred svetlom.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 9,23 (ddt,  $J = 3,1; 2,0; 1,1$  Hz, 1H, ArH), 8,57 (dddd,  $J = 8,2; 5,2; 3,0; 0,6$  Hz, 1H, ArH), 8,26 – 8,23 (m, 1H, ArH).

### 5.2.5. Príprava chloridu 2,9,16(17)-tris[*N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-2-aminoetoxy]subftalocyanínu bóru (**11**)



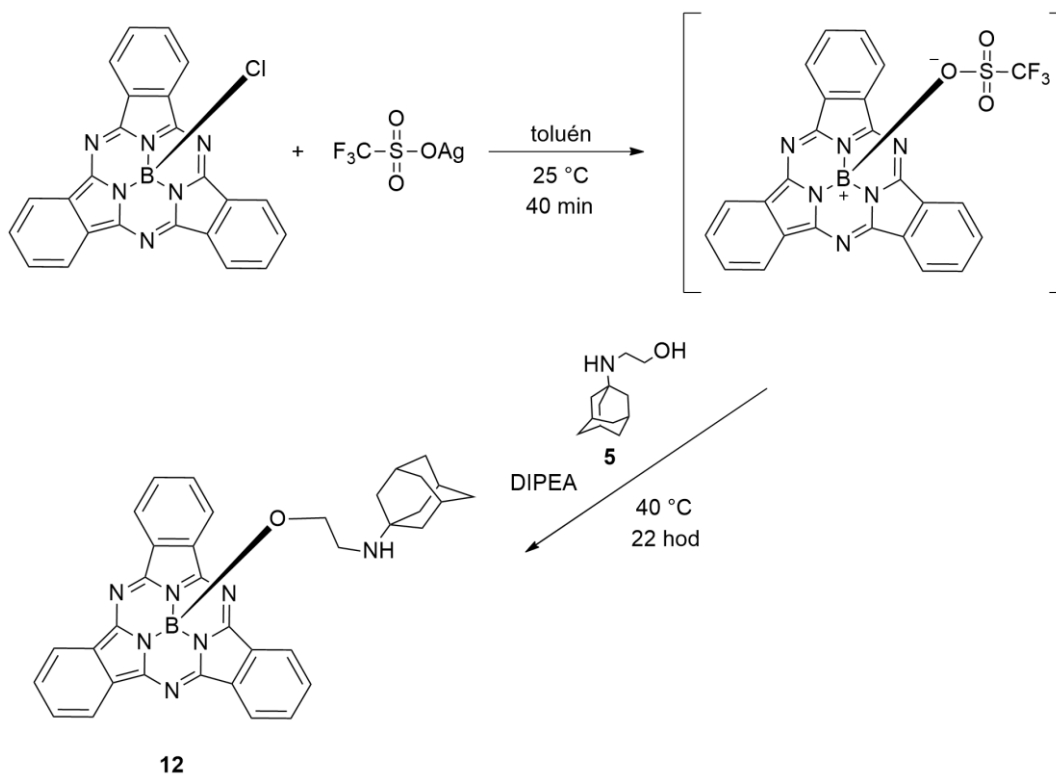
Do destilačnej banky obalenej alobalom bol navážený 4-[*N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-2-aminoetoxy]ftalonitril (201 mg; 0,60 mmol). Uzavretá banka bola následne pomocou vákuua zbavená vzduchu a naplnená argónom. Cez septum bol ihlou a striekačkou pridaný bezvodý 1M roztok  $\text{BCl}_3$  v *p*-xyléne (1,79 ml; 1,79 mmol). Banka bola vložená do olejového kúpeľa vopred predhriateho na teplotu 140 °C. Reakcia prebiehala pod spätným chladičom a za ochrany pred svetlom 40 minút. Po uplynutí tejto doby bol hodnotený výsledok syntézy pomocou TLC v mobilnej fáze toluén : THF : trietylamin 6 : 3 : 1. Na TLC boli viditeľné početné hnedé škvrny, z ktorých ani jedna nevytvárala

fluorescenciu pod UV svetlom ani pri jednej vlnovej dĺžke. Z toho je zrejmé, že reakcia neprebehla podľa schémy a nevznikol pri nej subftalocyanín.

### 5.3. AXIÁLNA SUBSTITÚCIA SUBFTALOCYANÍNŮV

Axiálna substitúcia subftalocyanínov prebiehala prispôsobením publikovaných postupov, a to buď zavedením odstupujúcej skupiny reakciou s trifluórometylsulfonátom strieborným a následnou nukleofilnou substitúciou<sup>59,89</sup> (postup A) alebo priamym nahradením axiálneho chlóru v prostredí toluénu a pyridínu<sup>90</sup> (postup B).

#### 5.3.1. Príprava B-[N-(adamant-1-yl)-2-aminoetoxy]-subftalocyanínu bóru (12) postupom A

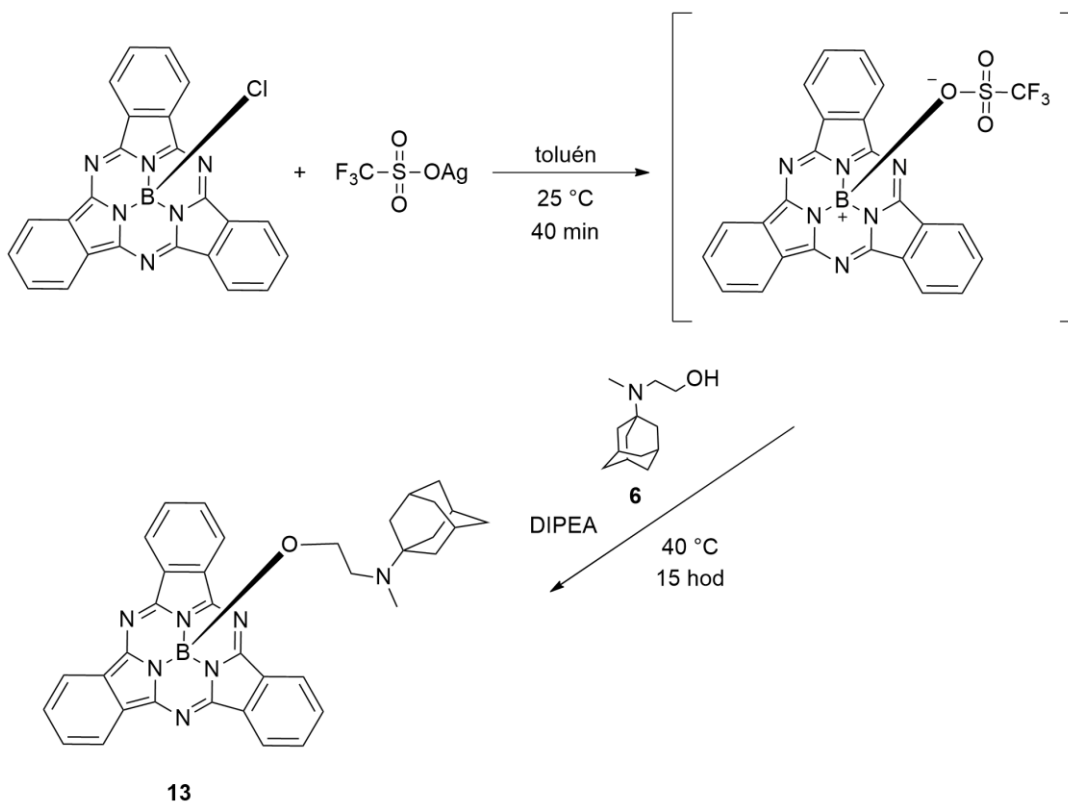


Do destilačnej banky bol navážený zakúpený 85% chlorid subftalocyanínu bóru (37 mg; 0,07 mmol) a trifluórometylsulfonát strieborný (27 mg; 0,10 mmol). Banka bola vzduchotesne uzatvorená pryžovým septom a bola v nej vytvorená inertná atmosféra výmenou vzduchu za argón. Cez septum bol pridaný bezvodý toluén (1,5 ml) a za stáleho miešania bola zmes ponechaná reagovať 40 minút pri laboratórnej teplote. Medzitým bola do samostatnej banky navážená látka **5** (32 mg; 0,16 mmol), bol v nej vymenený vzduch

za argón a pridaný bezvodý toluén (2 ml), v ktorom bola látka rozpustená. Obsah banky bol následne ihlou pridaný k vzniknutému trifluórometylsulfonátu subftalocyanínu bóru. K reakčnej zmesi bol pridaný *N,N*-diizopropyletylamín (17  $\mu$ l; 0,10 mmol) a bola zahriata na 40 °C. Pri tejto teplote reakcia prebiehala pod spätným chladičom 5 hodín, nasledujúcich 17 hodín pri laboratórnej teplote. Následne bolo odparené rozpúšťadlo a produkt bol vyčistený metódou stĺpcovej chromatografie. Ako mobilná fáza bola použitá zmes etylacetátu a hexánu v pomere 4 : 1. Po celú dobu bola reakčná zmes chránená pred svetlom alobalom. Po izolácii bolo získaných 16 mg (38 %) znečisteného ružového produktu **12**, ktorý pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm svietil oranžovo.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 8,89 (dd,  $J = 5,9; 3,1$  Hz, 1H, ArH), 8,84 (td,  $J = 5,5; 3,0$  Hz, 8H, ArH), 7,94 (dd,  $J = 6,1; 2,9$  Hz, 1H, ArH), 7,90 (dp,  $J = 5,4; 2,9$  Hz, 7H, ArH), 2,16 (q,  $J = 12,3; 10,6$  Hz, 3H), 2,08 – 1,98 (m, 8H), 1,77 (t,  $J = 5,3$  Hz, 2H), 1,70 (d,  $J = 3,0$  Hz, 1H), 1,68 (s, 2H), 1,64 (d,  $J = 3,1$  Hz, 1H), 1,58 – 1,54 (m, 4H), 1,46 – 1,41 (m, 11H), 1,37 – 1,19 (m, 38H), 0,93 – 0,80 (m, 19H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 151,89; 131,21; 130,38; 122,57; 58,23; 38,66; 35,42; 30,02; 29,08; 14,46.

### 5.3.2. Príprava B-[*N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-2-aminoetoxy]-subftalocyanínu bóru (**13**) postupom A

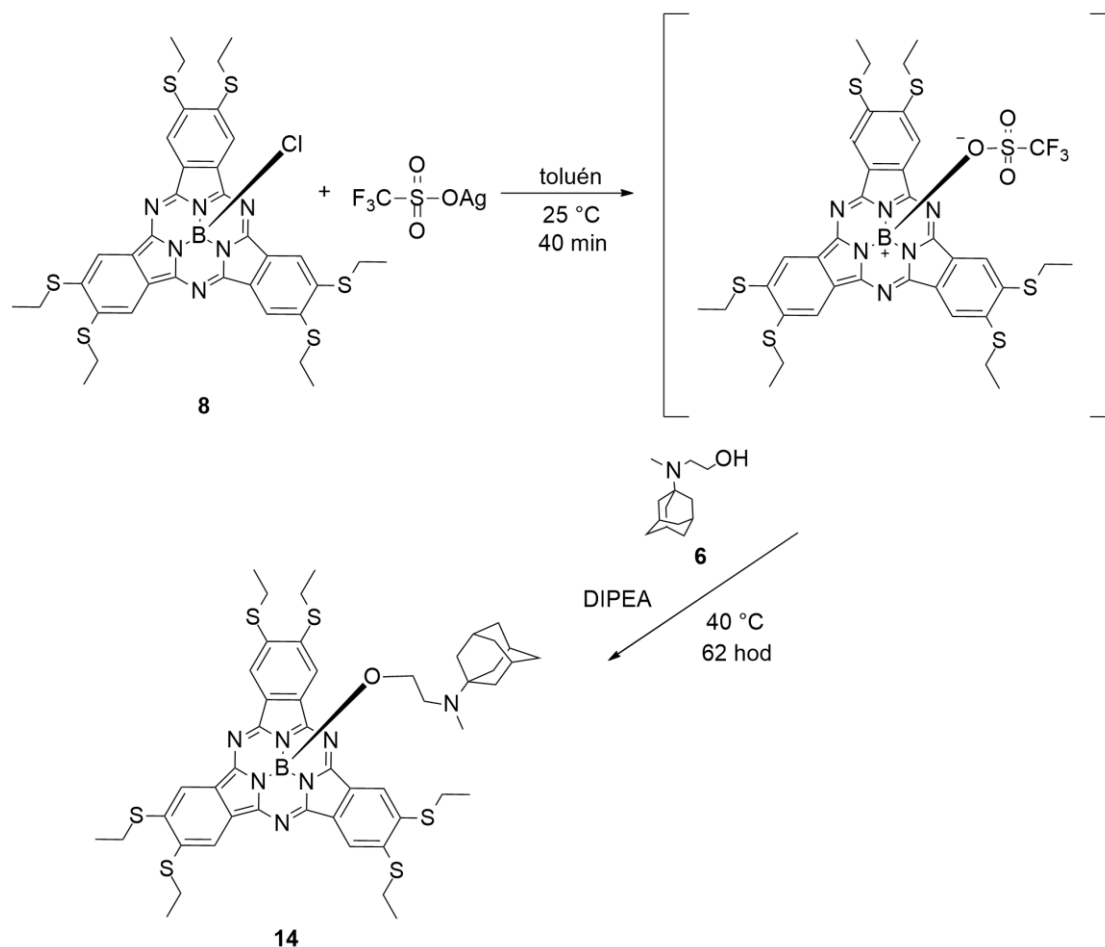


Do destilačnej banky bol navážený zakúpený 85% chlorid subftalocyanínu bóru (51 mg; 0,10 mmol) a trifluórometylsulfonát strieborný (39 mg; 0,15 mmol). Banka bola uzatvorená pryžovým septom a bol v nej vymenený vzduch za argón. Cez septum bol pridaný bezvodý toluén (2,5 ml) a za stáleho miešania a ochrany pred svetlom bola reakcia ponechaná prebiehať 40 min pri laboratórnej teplote. V samostatnej banke bola pod argónom rozpustená látka **6** (49 mg; 0,23 mmol) v bezvodom toluéne (2 ml). Obsah banky bol ihlou pridaný k trifluórometylsulfonátu subftalocyanínu bóru. K reakčnej zmesi bol pridaný *N,N*-diizopropyletylamín (25  $\mu$ l; 0,14 mmol) a teplota bola zvýšená na 40 °C. Takto reakcia prebiehala pod spätným chladičom po dobu 15 hodín. Od výsledného produktu bolo odparené rozpúšťadlo, bol vyčistený stĺpcovou chromatografiou v sústave etylacetát : hexán 4 : 1. Po izolácii bolo získaných 33 mg (54 %) znečisteného ružového produktu, ktorý pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm svietil oranžovo.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 8,87 (dd,  $J = 5,8; 3,0$  Hz, 1H, ArH), 8,83 (dd,  $J = 5,8; 3,2$  Hz, 10H, ArH), 7,89 (dd,  $J = 5,9; 2,9$  Hz, 1H, ArH), 7,87 – 7,84 (m, 10H, ArH), 2,28 (d,  $J = 2,3$  Hz, 1H), 2,27 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H), 2,22 (d,  $J = 5,7$  Hz, 1H), 1,86 (t, 6H), 1,74 (s, 5H), 1,65 (d,  $J = 3,0$  Hz, 1H), 1,54 (t,  $J = 6,2$  Hz, 3H), 1,51 (d,  $J = 6,1$  Hz, 3H), 1,49 – 1,45 (m, 7H), 1,43 (s, 1H), 1,36 – 1,32 (m, 7H), 1,30 – 1,25 (m, 42H), 1,23 (d,  $J = 3,0$  Hz, 11H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 151,75; 131,35; 130,43; 129,96; 122,70; 122,38; 50,21; 38,26; 36,84; 34,65; 30,03; 29,68; 29,61.

MS (APCI):  $m/z$  604,4  $[\text{M} + \text{H}]^+$

**5.3.3. Príprava B-[*N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-2-aminoetoxy]-2,3,9,10,16,17-hexaetylsulfanylsubftalocyanínu bóru (14) postupom A**



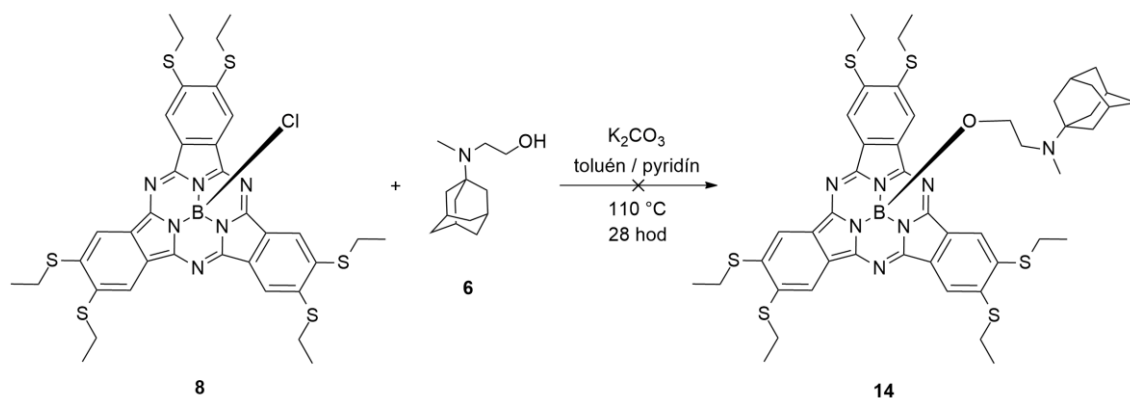
Do destilačnej banky bola navážená látka **8** (235 mg; 0,30 mmol) a trifluórometylsulfonát strieborný (106 mg; 0,41 mmol). Banka bola uzatvorená septom a bol v nej vymenený vzduch za argón. Cez septum bol pridaný bezvodý toluén (10 ml) a reakcia prebiehala za miešania 40 min pri laboratórnej teplote. V druhej banke bola pod argónom rozpustená látka **6** (127,40 mg; 0,61 mmol) v bezvodom toluéne (3 ml). Obsah banky bol bez narušenia inertného prostredia pridaný k trifluórometylsulfonátu 2,3,9,10,16,17-hexaetylsulfanylsubftalocyanínu boru. K reakčnej zmesi bol pridaný *N,N*-diizopropyletylamín (62  $\mu\text{l}$ ; 0,36 mmol) a teplota bola zvýšená na  $40\text{ }^\circ\text{C}$ . Takto reakcia prebiehala pod spätným chladičom 14 hodín, nasledujúcich 48 hodín pri laboratórnej teplote. Od výsledného produktu bolo odparené rozpúšťadlo a bol vyčistený stĺpcovou chromatografiou v mobilnej fáze toluén : THF 3 : 1. Všetky reakčné postupy prebiehali za ochrany pred svetlom alobalom. Po izolácii bolo získaných 15,3 mg (5 %) znečisteného modrofialového produktu, ktorý pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm poskytoval oranžovú fluorescenciu.

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 8,64 (s, 6H, ArH), 1,53 (td,  $J = 7,4; 0,7$  Hz, 41H), 1,47 – 1,40 (m, 8H), 1,33 (s, 2H), 1,26 (s, 35H), 0,88 (t,  $J = 6,7$  Hz, 6H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 150,82; 139,95; 128,50; 119,63; 41,35; 36,19; 35,62; 29,89; 29,68; 29,34; 27,58; 22,68; 14,11; 13,65.

MS (APCI):  $m/z$  964,6  $[\text{M} + \text{H}]^+$

### 5.3.4. Príprava B-[N-(adamant-1-yl)-N-metyl-2-aminoetoxy]

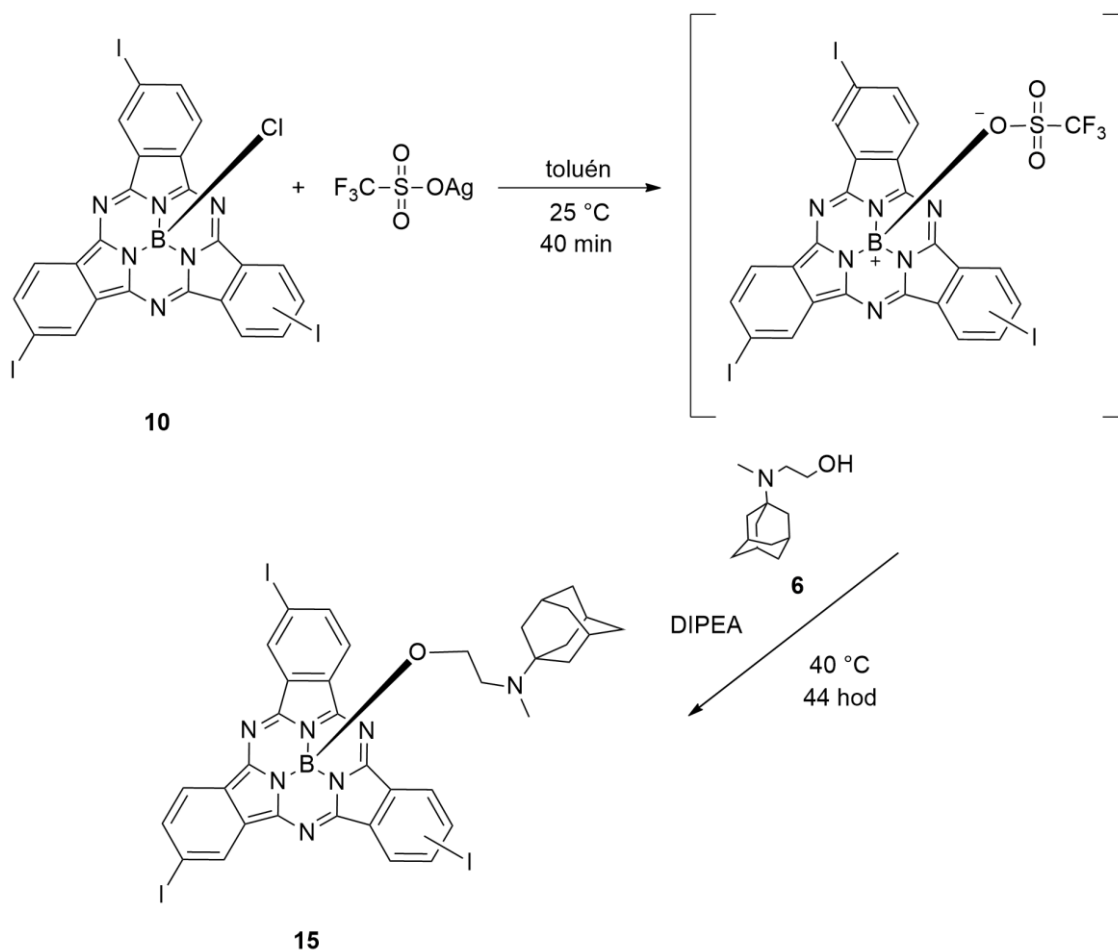
#### 2,3,9,10,16,17-hexaetylsulfanylsubftalocyanínu bóru (14) postupom B



Do destilačnej banky bola navážená látka **8** (19 mg; 0,02 mmol) s  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (28 mg; 0,20 mmol) a bol v nej vymenený vzduch za argón. Do samostatnej banky bola navážená látka **6** (18 mg; 0,08 mmol) a pod argónom bola rozpustená v bezvodom toluéne (5 ml). Obsah druhej banky bol pridaný k reakčnej zmesi spolu s pyridínom (0,34 ml) a banka bola zahrievaná pod spätným chladičom v olejovom kúpeli na teplotu  $110\text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 6 hodín. Ďalších 17 hodín reakcia prebiehala pri laboratórnej teplote, priebeh reakcie bol kontrolovaný pomocou TLC v mobilnej fáze toluén : THF : trietylamín 6 : 3 : 1. Do reakčnej zmesi bola pridaná znovu látka **6** (18 mg; 0,08 mmol) rozpustená v bezvodom toluéne a reakcia prebiehala ďalších 5 hodín. Ani potom nebol podľa TLC získaný zamýšľaný produkt.



### 5.3.5. Príprava B-[*N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-2-aminoetoxy] 2,9,16(17)-trijódsubftalocyanínu bóru (15) postupom A

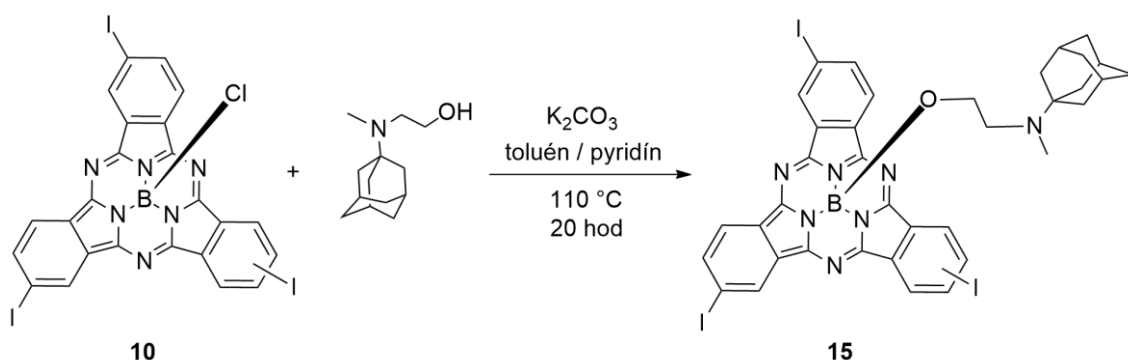


Látka **10** (471 mg; 0,58 mmol) bola navážená do destilačnej banky, obalenej alobalom, spolu s trifluórometylsulfonátom strieborným (195 mg; 0,76 mmol). Banka bola uzatvorená a bolo v nej vytvorené inertné prostredie výmenou vzduchu za argón. Východiskové látky boli za stáleho miešania ponechané reagovať v bezvodom toluéne (10 ml) pri laboratórnej teplote po dobu 40 minút. V samostatnej banke bola pod argónom rozpustená látka **6** (244 mg; 1,17 mmol) v toluéne (2 ml) a pomocou ihly a striekačky bola pridaná k vzniknutému trifluórometylsulfonátu trijódsubftalocyanínu bóru. Následne bol pridaný *N,N*-diizopropyletylamín (122  $\mu\text{l}$ ; 0,70 mmol) a zmes bola ponechaná reagovať 20 hodín pri teplote  $40\text{ }^\circ\text{C}$ , ďalších 24 hodín pri laboratórnej teplote. Produkt bol za ochrany pred svetlom vyčistený stĺpcovou chromatografiou, mobilnou fázou bola zmes toluénu a THF v pomere 3 : 1. Výsledkom bolo 76 mg (13 %) znečistenej ružovej látky, ktorá pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm poskytovala oranžovú fluorescenciu.

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 9,17 (s, 3H, ArH), 8,52 (dt,  $J = 8,3$ ; 2,1 Hz, 3H, ArH), 8,18 (dq,  $J = 8,3$ ; 1,2 Hz, 5H, ArH), 2,36 – 2,27 (m, 12H), 1,86 (d,  $J = 31,6$  Hz, 15H), 1,74 – 1,48 (m, 61H), 1,27 (d,  $J = 16,6$  Hz, 66H), 0,86 (dt,  $J = 18,1$ ; 6,5 Hz, 12H).

MS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  981,89  $[\text{M} + \text{H}]^+$

### 5.3.6. Príprava B-[N-(adamant-1-yl)-N-metyl-2-aminoetoxy]-2,9,16(17)-trijódsuftalocyanínu bóru alternatívnym postupom (15) postupom B

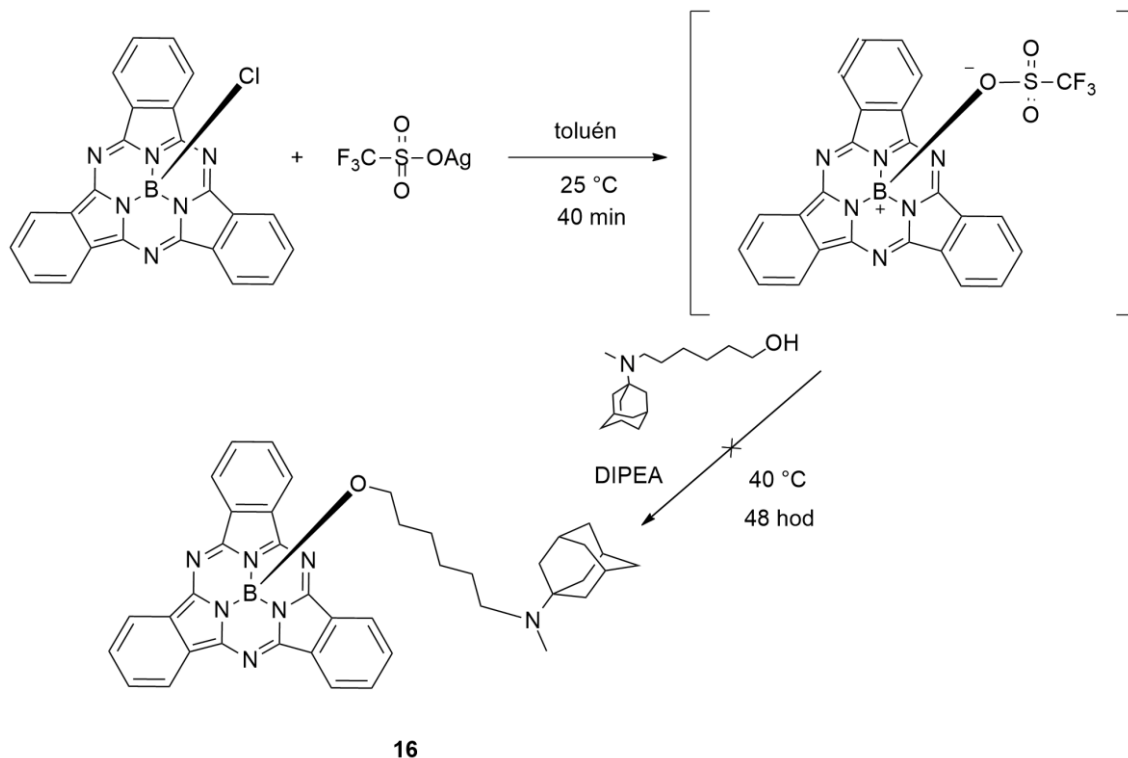


Do destilačnej banky bola navážená látka **10** (32 mg; 0,04 mmol) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (44 mg; 0,32 mmol) a výmenou vzduchu za argón bolo vytvorené inertné prostredie. Do druhej banky bola navážená látka **6** (26 mg; 0,12 mmol) a pod argónom bola rozpustená v bezvodom toluéne (5 ml). Obsah druhej banky bol pridaný k reakčnej zmesi, následne bol pridaný pyridín (0,34 ml) a zmes bola 6 hodín zahrievaná pod spätným chladičom v olejovom kúpeli k teplote 110 °C. Ďalších 14 hodín bola reakcia ponechaná prebiehať pri laboratórnej teplote. Po 20 hodinách bol produkt vyčistený stĺpcovou chromatografiou v mobilnej fáze toluén : trietylamín v pomere 15 : 1. Bolo získaných 6 mg (15 %) stále znečistenej fialovej látky, ktorá pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm poskytovala oranžovú fluorescenciu.

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) 9,18 (s, 3H, ArH), 8,53 (d,  $J = 8,3$  Hz, 3H, ArH), 8,19 (dt,  $J = 8,3$ ; 2,0 Hz, 4H, ArH), 2,05 (dd,  $J = 9,9$ ; 4,6 Hz, 21H), 1,64 (t,  $J = 46,0$  Hz, 42H), 1,51 (d,  $J = 12,1$  Hz, 10H), 1,42 – 1,21 (m, 68H), 0,88 (t,  $J = 6,9$  Hz, 6H).

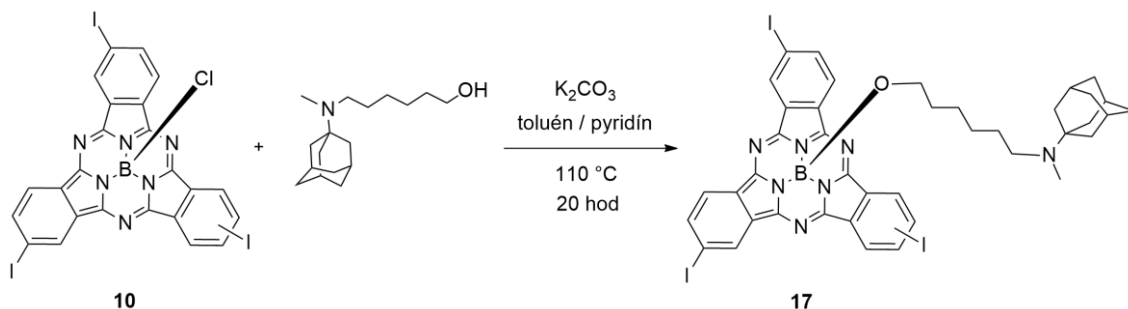
MS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  981,89  $[\text{M} + \text{H}]^+$

### 5.3.7. Príprava B-[*N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-6-aminohexoxy]-subftalocyanínu bóru (16) postupom A



Do destilačnej banky bol navážený 85% chlorid subftalocyanínu bóru (24 mg; 0,05 mmol) a trifluórometylsulfonát strieborný (14 mg; 0,06 mmol). V banke bolo vytvorené inertné prostredie výmenou vzduchu za argón a bol do nej pridaný bezvodý toluén (1 ml). Reakcia prebiehala za stáleho miešania pri laboratórnej teplote 40 minút. V samostatnej banke bol v inertnom prostredí argónu rozpustený *N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-6-aminohexanol (25 mg; 0,09 mmol) v bezvodom toluéne (1 ml), a bol pridaný k vzniknutému trifluórometylsulfonátu subftalocyanínu bóru. Do reakčnej zmesi bol ďalej pridaný *N,N*-diizopropyletylamín (10  $\mu$ l; 0,06 mmol) a zmes bola ponechaná reagovať v olejovom kúpeli pri teplote 40 °C po dobu 48 hodín. Výsledok reakcie bol posudzovaný pomocou TLC, ako mobilná fáza bola použitá zmes toluénu a THF v pomere 5 : 1. Ani po 48 hodinách nebol pozorovaný vznik zamýšľaného produktu.

### 5.3.8. Príprava B-[*N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-6-aminohexoxy]-2,9,16(17)-trijódsubftalocyanínu bóru (17) postupom B

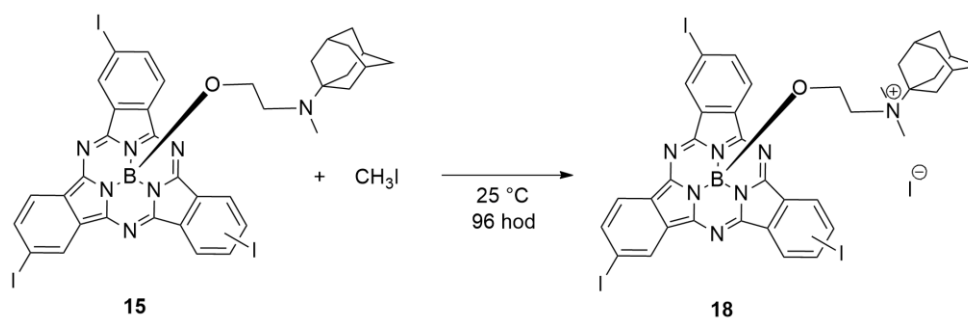


Do destilačnej banky bola navážená látka **10** (31 mg; 0,04 mmol) a  $K_2CO_3$  (42 mg; 0,30 mmol) a bol v nej vymenený vzduch za argón. Do druhej banky bol naváženy *N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-6-aminohexanol (33 mg; 0,13 mmol), znovu bol vymenený vzduch za argón a látka bola rozpustená v bezvodom toluéne (5 ml). Obsah druhej banky bol pridaný k reakčnej zmesi spolu s pyridínom (0,34 ml) a banka bola zahrievaná pod spätným chladičom v olejovom kúpeli na teplotu 110 °C po dobu 6 hodín. Po 6 hodinách bol znovu pridaný *N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-6-aminohexanol (13 mg; 0,05 mmol) a zmes bola zahrievaná ďalších 14 hodín. Po 20 hodinách bol produkt dvakrát vyčistený metódou stĺpcovej chromatografie, ako mobilná fáza bola použitá zmes toluénu a trietylamínu v pomere 15 : 1. Boli získané 2 mg znečistenej fialovej látky (6 %).

$^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 7,31 (s, 3H, ArH), 7,30 (d,  $J = 0,9$  Hz, 3H, ArH), 7,29 (d,  $J = 1,3$  Hz, 7H, ArH), 2,95 – 2,87 (m, 10H), 2,83 (t,  $J = 2,8$  Hz, 12H), 2,38 (t,  $J = 7,7$  Hz, 14H), 2,35 – 2,25 (m, 28H), 2,22 (s, 17H), 2,17 (s, 2H), 2,06 (d,  $J = 13,0$  Hz, 33H), 1,89 (s, 3H), 1,72 – 1,56 (m, 164H), 1,48 – 1,24 (m, 220H), 0,91 – 0,83 (m, 24H).

MS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  1037,90  $[M + H]^+$

### 5.3.9. Príprava jodidu B-[*N*-(adamant-1-yl)-*N,N*-dimetyl-2-aminoetoxy]-2,9,16(17)-trijódsubftalocyanínu bóru (18)



Pre potreby štúdia interakcie s CB[7] bol syntetizovaný derivát **18**.

Látka **15** (128 mg; 0,11 mmol) bola navážená do destilačnej banky, v ktorej bolo následne výmenou vzduchu za argón vytvorené inertné prostredie. Cez septum bol pridaný metyljodid (0,7 ml; 11,24 mmol) a reakcia bola ponechaná prebiehať 96 hodín pri laboratórnej teplote. Po uplynutí tejto doby bol k reakčnej zmesi pridaný dietyléter, na čo vznikla zrazenina produktu. Po odsatí rozpúšťadla pomocou vákuua bolo získaných 128 mg (~ 100 %) látky **18**.

#### **5.4. ŠTÚDIUM FOTOFYZIKÁLNYCH VLASTNOSTÍ**

Vzorky látok **15** a **17** určené na fotofyzikálne merania boli získané reakciami opísanými v kapitolách 5.3.5., 5.3.6. a 5.3.8. Čisté látky boli získané preparatívnym TLC za použitia mobilnej fáze toluén : trietylamín 15 : 1. Ich škrvny boli zoškrabané z TLC dosky, extrahované do chloroformu, prefiltrované a odparené do sucha na vákuovej odparke.

##### **5.4.1. Meranie kvantového výťažku produkcie singletového kyslíka**

Kvantový výťažok produkcie singletového kyslíka  $\Phi_{\Delta}$  bol stanovovaný v etanole použitím rozkladu 1,3-difenyilizobenzofuránu (DPBF) s bengálskou červeňou ako referenčnou látkou ( $\Phi_{\Delta(\text{EtOH})} = 0,68$ ).<sup>91</sup> Meranie prebiehalo za tmy. Zásobný roztok DPBF v etanole bol pripravený tak, aby sa jeho absorpčné maximum pohybovalo okolo 1. 2,5 ml tohto roztoku bolo prevedených do kremennej kyvety o veľkosti 10 × 10 mm a po dobu 1 minúty prebublávaných kyslíkom. Po zmeraní absorpčného spektra bolo pridané také množstvo zásobného roztoku referenčnej alebo testovanej látky v etanole, aby jeho absorpčné maximum v Q-páse bolo okolo 0,1. Bolo zmerané absorpčné spektrum v čase 0 s. Následne bol roztok miešaný a ožarovaný v 5s intervaloch halogénovou lampou. Dopadajúce svetlo bolo filtrované cez 6cm vodný filter a cez fialový filter 20CGA-455, aby bol odstránený vplyv tepla a svetla s vlnovou dĺžkou pod 455 nm. Po každom 5s intervale bolo znovu zmerané absorpčné spektrum. Bol sledovaný úbytok DPBF v roztoku pri vlnovej dĺžke 411 nm do poklesu o približne 15 %. Meranie bolo opakované trikrát pre každý roztok (tj. bengálsku čereň a látky **15** a **17**). Výsledné hodnoty  $\Phi_{\Delta}$  sú priemerom výsledných hodnôt vypočítaných podľa vzorca (1).

#### 5.4.2. Meranie kvantového výťažku fluorescence

Stanovenie hodnôt kvantového výťažku fluorescence  $\Phi_F$  prebiehalo absolútnou metódou, pomocou integračnej sféry. Za účelom minimalizácie autoabsorpcie a efektu vnútorného filtru boli zásobné roztoky látok **15** a **17** nariadené v etanole tak, aby po napipetovaní určitého množstva (okolo 20  $\mu$ l) do kyvety s 2,5 ml etanolu ich absorbancia v Q-páse bola nižšia ako 0,1.

Po zohľadnení absorpčného spektra získaného v rámci metódy 5.4.1. bola ako excitačná vlnová dĺžka pre látku **15** zvolená  $\lambda_{exc} = 545$  nm, ktorá je dostatočne nízka na to, aby nedochádzalo k interferencii excitačnej a emisnej časti spektra. Scan prebiehal v rozmedzí vlnových dĺžok 525 – 800 nm. Šírka vlnového pásma bola v excitačnej oblasti nastavená na 0,4 nm, v emisnej oblasti na 4 nm. Najprv bolo zmerané spektrum referencie, ktorou bolo 2,5 ml čistého etanolu. Následne bola do kyvety pridaná vzorka **15** a meranie prebiehalo za použitia rovnakých podmienok ako v prípade referencie. Hodnota  $\Phi_F$  bola prístrojom vypočítaná automaticky. Výsledný  $\Phi_F$  bol určený ako priemer dvoch meraní, ktorý je prezentovaný nižšie.

Pri meraní  $\Phi_F$  látky **17** bol uplatnený rovnaký postup. Referenciou bol opäť etanol, meraná vzorka bola pripravená nariadením zásobného roztoku látky **17** v etanole. Scan prebiehal v rozmedzí vlnových dĺžok 525 – 720 nm, zvyšné podmienky merania boli identické s meraním látky **15**.

#### 5.5. ŠTÚDIUM INTERAKCIE S KUKURBITURILMI

Štúdium vplyvu supramolekulárnych interakcií na monomélnosť látky vo vodnom prostredí prebiehalo meraním absorpčných spektier v oblasti Q-pásu subftalocyanínu **18**. Najprv boli pripravené zásobné roztoky subftalocyanínu i makrocyklu. Z 10mM roztoku látky **18** v DMSO bolo odobraných 50  $\mu$ l, ktoré boli pridané do 2,5 ml ultračistej vody, čím vznikol zásobný 200 $\mu$ M roztok látky **18**. Zásobný roztok CB[7] bol nariadený pomocou ultračistej vody takisto na koncentráciu 200  $\mu$ M.

Ako základná línia boli zmerané absorpčné spektrá samotných rozpúšťadiel – DMSO a ultračistej vody. Následne bolo do oboch kyviet k 2 ml rozpúšťadla pridaných po 80  $\mu$ l zásobného roztoku látky **18**, čím bola získaná zhodne koncentrácia 8  $\mu$ M. Absorpčné spektrum v DMSO zobrazovalo čisto monomélnu formu látky **18**, s ktorou boli porovnávané spektrá získané meraním vo vode. Do kyvety s látkou **18** v ultračistej vode

bol postupne pridávaný zásobný roztok CB[7], pričom po každom meraní bolo zmerané absorpčné spektrum. Prídavkami CB[7] boli postupne získané jeho nasledovné koncentrácie: 2  $\mu\text{M}$  (0,25 ekv.), 4  $\mu\text{M}$  (0,5 ekv.), 6  $\mu\text{M}$  (0,75 ekv.), 8  $\mu\text{M}$  (1 ekv.), 10  $\mu\text{M}$  (1,25 ekv.), 12  $\mu\text{M}$  (1,5 ekv.), 22  $\mu\text{M}$  (2,75 ekv.).

Získané absorpčné spektrá boli porovnávané medzi sebou z hľadiska zmien v tvare Q-pásmu charakteristických pre prípadnú monomerizáciu zlúčeniny – teda nárast intenzity Q-pásmu a jeho ostrý charakter.

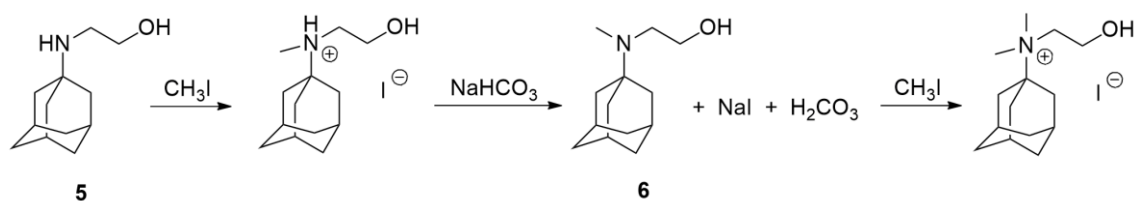
## 6. VÝSLEDKY A DISKUSIA

### 6.1. SYNTÉZA PREKURZOROV

Pri syntéze prekursorov **2**, **3** a **4** sme využívali nukleofilnú substitúciu na aromatickom jadre. Jej priebeh uľahčoval záporný mezomérený efekt nitrilových skupín ftalonitrilu, ktorý vytvára čiastočný kladný náboj na uhlíkoch v polohách *orto* a *para* voči nitrilovej skupine a činí ich náchylnejšími k nukleofilnému ataku. Východiskovou látkou pre prípravu prekursoru **2** bol 3,6-dihydroxyftalonitril, ktorého -OH skupiny by nebolo možné substituovať priamo. Preto boli najprv nahradené dobre odstupujúcimi *p*-toluénsulfonyloxy-skupinami, ktoré ochotne podliehajú reakcii s etániolom. Syntézy prekursorov **3** a **4** vychádzali z di- a tetrachlórovaných ftalonitrilov, ktoré poskytujú alkyltioderivát už po jednokrokovej substitúcii. Tieto reakcie prebiehali s vysokými výťažkami (cez 80 %), čo sa približuje publikovaným výsledkom syntéz obdobných di- a tetraalkylsulfanylftalonitrilov.<sup>83,84,92</sup> NMR spektrá všetkých troch prekursorov potvrdili úspešnú syntézu zamýšľaných látok a izoláciu čistých produktov.

Syntéza axiálneho substituentu **5** prebiehala znovu mechanizmom nukleofilnej substitúcie. Oproti publikovaného postupu, v ktorom bola reakcia 1-aminoadamantánu s 2-jódetanolom ponechaná prebiehať po dobu 12 hodín,<sup>85</sup> sme pri substitúcii pomocou 2-brómetanolu skrátili reakčný čas na 3 hodiny, keďže už po tejto dobe sme na TLC pozorovali spotrebovanie východiskovej látky z reakčnej zmesi. Vysoký výťažok reakcie (85 %) potvrdzuje, že takto skrátený reakčný čas je dostačujúci.

Pri metylácii aminoskupiny látky **5** bol ako alkylačné činidlo najprv použitý metyljodid. Prvý reakčný postup v prítomnosti báze NaHCO<sub>3</sub> poskytol terciárny amín vo výťažku 8 %, avšak prítomnosť zásady podporovala pokračovanie metylácie do ďalšieho stupňa a vznik kvartérnej amóniovej soli, ktorá bola hlavným produktom tejto reakcie (Obr. 24). Vzhľadom k nízkemu výťažku terciárneho amínu túto syntetickú cestu nepovažujeme za vhodnú.



Obr. 24 Mechanizmus vzniku kvartérnej amóniovej soli v prítomnosti CH<sub>3</sub>I a NaHCO<sub>3</sub>



Reakciu sme preto následne opakovali bez prítomnosti  $\text{NaHCO}_3$ . Výsledkom bola znečistená zmes látok, v ktorej nie je možné jednoznačne identifikovať zamýšľaný produkt **6**.

Výrazne lepšie výsledky priniesla metylácia látky **5** Eschweilerovou-Clarkovou reakciou. Za účelom optimalizácie reakčných podmienok bola reakcia opakovaná 4-krát. Boli vyskúšané rôzne pomery látkových množstiev reaktantov, a to v prítomnosti metanolu ako rozpúšťadla a bez neho. Reakcie prebiehali rôzne dlho, vždy pri teplote varu rozpúšťadla. Tou bola pri použití vodných roztokov formaldehydu a kyseliny mravčej teplota varu vody. Najlepší výtťažok poskytla reakcia č. 3, NMR spektrum potvrdilo úspešnú syntézu látky **6** (Tab. 1).

Tab. 1 Reakčné podmienky metylácie látky **5** (ekv. – počet ekvivalentov látkového množstva činidla voči východiskovej látke **5**)

č. reakcie	ekv. $\text{HCOOH}$	ekv. $\text{HCOH}$	rozpúšťadlo	čas [hod]	teplota [ $^{\circ}\text{C}$ ]	výtťažok [%]
1	10	5	–	24	100	3
2	10	5	–	48	100	20
3	20	10	metanol	48	70	~ 100
4	20	10	–	48	100	97

Výhodou tohto postupu je okrem nemožnosti vzniku kvartérneho amínu taktiež výrazne nižšia toxicita používaných činidiel v porovnaní s použitím metyljodidu.

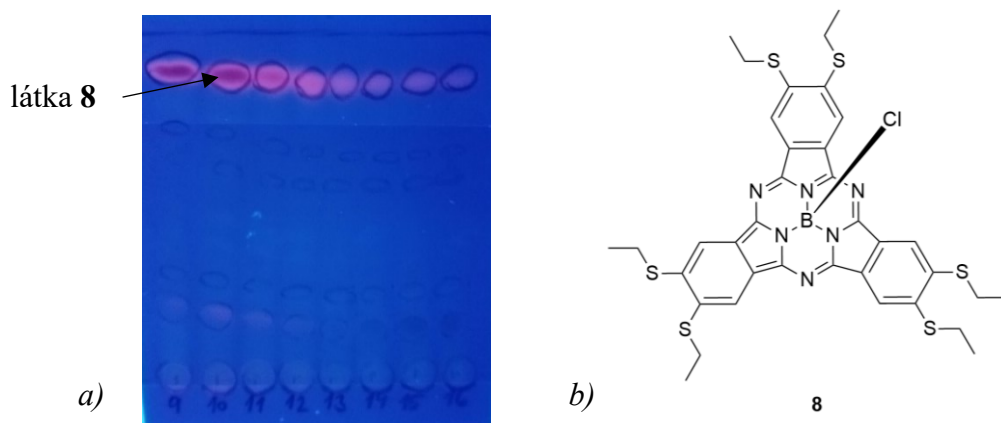
## 6.2. SYNTÉZA SUBFTALOCYANÍNOV

Všetky prekurzory boli cyklotrimerizované pomocou roztoku chloridu boritého v *p*-xyléne. Tento reakčný postup bol už úspešne použitý v minulosti a v závislosti na konkrétnom prekurzore poskytuje výtťažky 20 – 80 %.<sup>63</sup>

Cyklotrimerizáciou látky **2** vznikla tmavomodrá zmes produktov, na TLC doske sa objavilo viacero škvŕn. V mobilnej fáze toluén : THF v pomere 10 : 1 poskytovala škvŕna s  $R_f = 0,41$  veľmi slabú fluorescenciu pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm. Bola izolovaná pomocou sklenených TLC dosiek za použitia spomínanej mobilnej fáze, avšak NMR ani MS nepotvrdili vznik požadovaného produktu **7**. Ten nevznikol ani po skrátaní, či predĺžení reakčného času na 3 hodiny. V literatúre sú popísané úspešné syntézy alfa-arylsulfanyl-subftalocyanínov,<sup>93,94</sup> ale nie alfa-alkylsulfanylsubftalocyanínov.

Predpokladáme, že substitúcia v polohe alfa v našom prípade stéricky bránila úspešnej cyklotrimerizácii. To isté by mohlo platiť aj o neúspešnej syntéze zamýšľanej látky **9**, kedy bol na výslednom TLC viditeľný len nezreagovaný prekursor, a to i pri skrátaní alebo predĺžení reakčného času na 1 hodinu.

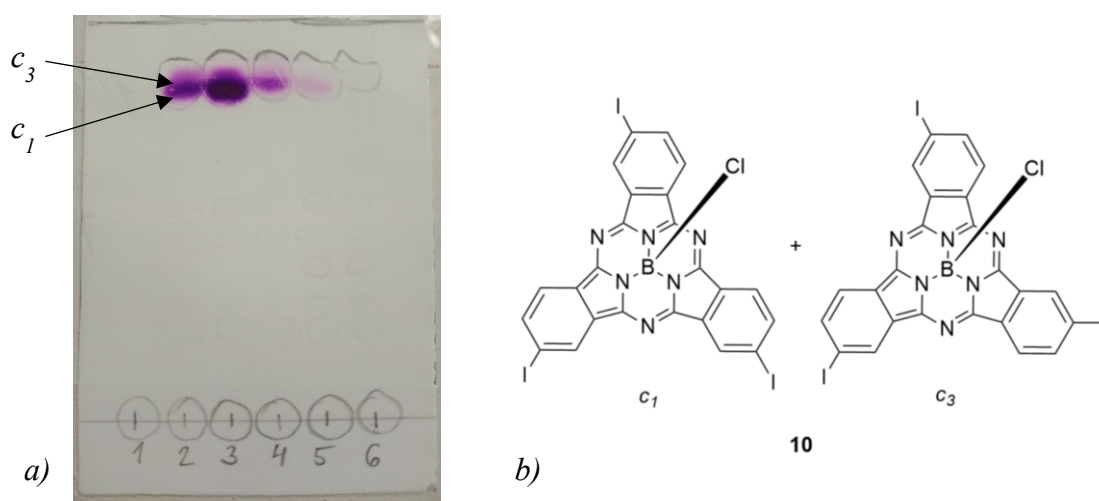
Cyklotrimerizáciou prekursoru **3** vznikla znovu zmes produktov, ktorú sme sa snažili vyčistiť pomocou stĺpcovej chromatografie. Postupne sme vyskúšali rôzne mobilné fázy, vrátane kombinácií hexánu s etylacetátom a toluénu s THF HPLC kvality (bez pridaných stabilizátorov) v rôznych pomeroch. Najlepšiu separáciu sme dosiahli použitím zmesi toluén : THF 10 : 1, avšak ani v tomto prípade nebol izolovaný úplne čistý produkt. Látka **8** vytvárala v danej mobilnej fáze tmavomodrú škvrnu s  $R_f$  0,87, ktorá pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm poskytovala ružovú fluorescenciu (Obr. 25). Výsledné NMR naznačuje prítomnosť nečistôt alifatického charakteru, hodnotu výt'azku 55 % je preto nutné považovať za skreslenú.



Obr. 25 a) Látka **8** na TLC vyvinutom v mobilnej fáze toluén : THF 10 : 1; b) Štruktúra látky **8**

Predĺženie reakčného času na 2 a 3 hodiny výt'azok požadovaného produktu nezvýšilo, naopak ho znížilo ku 30 %. Syntézu látky **8** opisali bez uvedenia výt'azku aj Sánchez-Molina et al. Pri cyklotrimerizácii postupovali rovnako, avšak následnú axiálnu substitúciu 4-*terc*-butylfenolom vykonali bez izolácie medziproduktu chloridu subftalocyanínu.<sup>95</sup> Kang et al., ktorí pri syntéze chloridu hexaalkylsulfanylsubftalocyanínu bóru použili odlišné rozpúšťadlá a reakciu nechali prebiehať po dobu 4 hodín, získali výt'azok 14 %.<sup>96</sup> Ostatné publikované syntézy, vychádzajúce z alkylsulfanylftalonitrilov, ktoré prebiehali s  $BCl_3$  v hexáne alebo 1-chlórnaftaléne, poskytli výt'azky okolo 20 – 30%.<sup>97,98</sup>

Vzhľadom k vyššie uvedeným výsledkom sme sa rozhodli vyskúšať cyklotrimerizáciu iného prekursoru, ktorým bol 4-jódftalonitril. Do výsledného subftalocyanínu je tak zavedený atóm s vysokým atómovým číslom (jód), ktorého prítomnosť zvyšuje podiel intersystémového prechodu v molekule. Vďaka tomu je možné očakávať zvýšenie produkcie singletového kyslíka  $\Phi_{\Delta}$  a naopak nižšie hodnoty kvantového výťažku fluorescencie  $\Phi_F$ .<sup>61,65</sup> Syntéza látky **10** prebehla úspešne, a keďže sa jednalo o reakciu asymetrického ftalonitrilu, vznikli pri nej dva neseparovateľné regioizoméry  $c_3$  a  $c_1$ . Tie boli viditeľné okrem NMR spektra aj na TLC ako dve fialové škvrny tesne pod sebou (Obr. 26), fluoreskujúce pod UV svetlom vlnovej dĺžky 366 nm. V mobilnej fáze toluén : THF 10 : 1 mali tieto produkty retenčné faktory 0,81 a 0,87.



Obr. 26 a) Izoméry látky **10** na TLC vyvinutom v mobilnej fáze toluén : THF 10 : 1;

b) Štruktúra izomérov látky **10**

Pri izolácii čistého produktu **10** použili Claessens a Torres stĺpcovú chromatografiu s mobilnou fázou hexán : etylacetát 4 : 1,<sup>99</sup> my sme pozorovali lepšie výsledky použitím zmesi toluénu a THF v pomere 10 : 1. Dubbert et al. pri použití rovnakého cyklotrimerizačného činidla a o trochu dlhšej reakčnej doby získali výťažok 65 %, <sup>52</sup> náš produkt **10** vznikol vo výťažku 86 %.

Syntéza subftalocyanínu **11**, ktorá vychádzala z ftalonitrilu syntetizovaného v laboratóriu v rámci iného projektu, nebola úspešná. To korešponduje s výsledkami z literatúry, kde je opísaná inkompatibilita periférnych éterových skupín ftalonitrilu s chloridom boritým.<sup>63</sup> Napríklad popísaná syntéza crown-subftalocyanínu, ktorá prebiehala cyklotrimerizáciou 4',5'-dikyanobenzo-15-crown-5 s chloridom boritým v chlórnaftaléne, poskytla výťažok len 3,5 %.<sup>100</sup>

### 6.3. AXIÁLNA SUBSTITÚCIA SUBFTALOCYANÍNOV

Pri axiálnej substitúcii subftalocyanínov boli vyskúšané dva reakčné postupy:

**Postup A:** tvorba reaktívneho medziproduktu s trifluórometylsulfonyloxy-skupinou v axiálnej pozícii, ktorá ochotne podlieha nukleofilnému ataku alkoholu. *N,N*-diizopropyletylamín sa do reakčnej zmesi pridáva za účelom neutralizácie vznikajúcej trifluórometánsulfónovej kyseliny.<sup>59</sup> Tieto substitučné reakcie s O-nukleofilmi väčšinou poskytujú dobré výtťažky (35 – 92 %).<sup>59,89</sup>

**Postup B:** priama substitúcia axiálneho chlóru alkoholom, bez vzniku medziproduktu. Pyridín a uhličitan draselný v reakčnej zmesi vytvárajú bazické prostredie.<sup>101</sup> U subftalocyanínov sa tento reakčný postup bežne nevyužíva, použili sme ho vzhľadom k pozitívnym skúsenostiam s ním pri substitúcii ftalocyanínov s centrálnym atómom kremíku v laboratóriu AzaPc skupiny. Podľa publikovanej literatúry prebiehajú tieto reakcie na ftalocyanínoch s dobrými výtťažkami (61 – 73 %).<sup>101</sup>

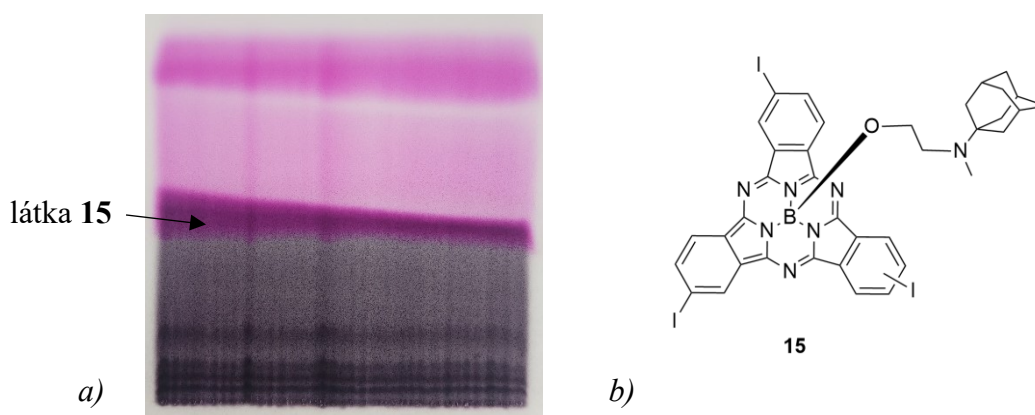
Axiálna substitúcia vyžaduje prísne bezvodé podmienky. Stopy vody totiž vedú k vzniku hydroxy-subftalocyanínov a  $\mu$ -oxo dimérov. Ich tvorba je hlavným dôvodom, prečo pri reakcii nedochádza ku kvantitatívnej konverzii na zamýšľaný produkt.<sup>89</sup>

Za účelom vyskúšania reakčného postupu A bol ako východisková látka najprv použitý periférne nesubstituovaný subftalocyanín, ktorý bol do laboratória zakúpený. Jeho axiálna substitúcia látkou **5** poskytla ružový produkt fluoreskujúci pod UV vo výtťažku 38 %, ktorý v mobilnej fáze etylacetát : hexán 4 : 1 vytváral ružovú škvrnu s  $R_f = 0,75$ . Výsledné NMR vypovedá o tom, že produkt **12** nebol izolovaný v postačujúcej čistote a v zmesi je stále prítomná východisková látka (dvojice signálov v aromatickej oblasti) a nečistoty alifatického charakteru. To isté platí o syntéze látky **13**, u ktorej bola takisto po vyskúšaní viacerých mobilných fáz nakoniec zvolená zmes etylacetátu a hexánu 4 : 1. V nej vytvárala látka **13** ružovú škvrnu fluoreskujúcu pod 366nm UV s  $R_f = 0,78$ . Znečistený produkt vznikol vo výtťažku 54 %, prítomnosť zamýšľanej štruktúry po nejednoznačných výsledkoch NMR potvrdilo až TLC-MS.

K axiálnej substitúcii látky **8** sme pristúpili aj napriek tomu, že sa jednalo o zmes látok. Bola skúšaná najprv metódou A, kedy bola výsledkom modrofialová zmes látok vo výtťažku 5 %. Pri snahe o jej vyčistenie bolo vyskúšaných viacero mobilných fáz, nakoniec bola použitá zmes toluénu a THF v pomere 3 : 1. Podľa výsledného NMR spektra nebolo možné jednoznačne potvrdiť prítomnosť zamýšľaného produktu. Ten bol

identifikovaný až pomocou TLC-MS ako škvrna s  $R_f = 0,35$  vo fáze toluén : THF 3 : 1. Pri snahách o izoláciu produktu pomocou sklenených TLC dosiek sa látka **14** rozkladala. Takisto v zmesi produktov, ktorá bola po vyčistení stĺpcovou chromatografiou uchovávaná v mraze a v inertnom prostredí argónu za ochrany pred svetlom, už po niekoľkých dňoch nebolo možné identifikovať látku **14**. Neúspešná syntéza látky **14** metódou **B** môže byť vysvetlená horšou reaktivitou chloridu oproti trifluórometylsulfonátu.

Látka **15** bola úspešne syntetizovaná oboma reakčnými postupmi, čo bolo potvrdené výsledkami hmotnostnej spektrometrie. V oboch prípadoch bola opäť komplikáciou prítomnosť nečistôt alifatického charakteru, viditeľných na NMR. Výsledné regioizoméry látky **15** mali na TLC v mobilnej fáze toluén : THF 3 : 1  $R_f$  0,25 a 0,33; vo fáze toluén : trietylamín 15 : 1  $R_f$  0,29 a 0,31. Látku sa nám pred štúdiom jej vlastností podarilo izolovať pomocou chromatografie na sklenených TLC doskách s využitím mobilnej fáze toluén : trietylamín 15 : 1 (Obr. 27). Výťažky syntetických postupov **A** a **B** boli obdobné, a to 13 % a 15 %, v tomto poradí. Nie je teda možné jednoznačne určiť, ktorý z nich je vhodnejší.



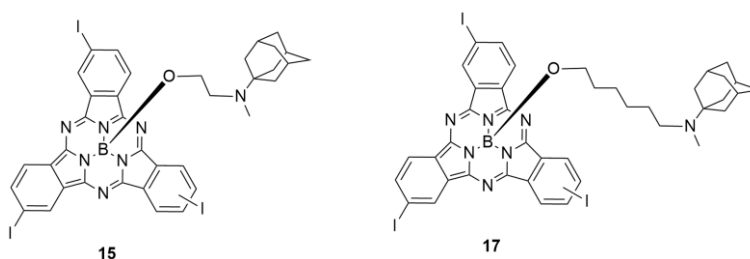
Obr. 27 a) Izolácia látky **15** na sklenených TLC doskách, MF: toluén : trietylamín 15 : 1; b) Štruktúra látky **15**

Za účelom predĺženia spojovacieho uhl'ovodíkového reťazca medzi subftalocyanínovým jadrom a adamantylom bola vyskúšaná substitúcia *N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-6-aminohexanolom, ktorý bol v laboratóriu pripravený v rámci iného projektu. Syntéza látky **16** vychádzajúca zo zakúpeného periférne nesubstituovaného subftalocyanínu s využitím postupu **A** nebola úspešná. Na výslednom TLC nebola viditeľná žiadna škvrna poskytujúca fluorescenciu pod UV, okrem škvrny východiskovej látky.

Pri substitúcii látky **10** *N*-(adamant-1-yl)-*N*-metyl-6-aminohexanolom postupom **B** vznikol zamýšľaný produkt **17**, bol znečistený a vo výťažku 6 %. Jeho prítomnosť v zmesi bola potvrdená hmotnostnou spektrometriou. Na TLC v mobilnej fáze toluén : trietylamín 15 : 1 vytvárali jeho regioizoméry škvrny s  $R_f$  0,44 a 0,48, fluoreskujúce pod 366nm UV. Po niekoľkých týždňoch sa fialová látka **17** napriek uchovávaniu v mraze a v inertnej atmosfére argónu rozložila na zelené rozkladové produkty, čo svedčí o jej nestabilite.

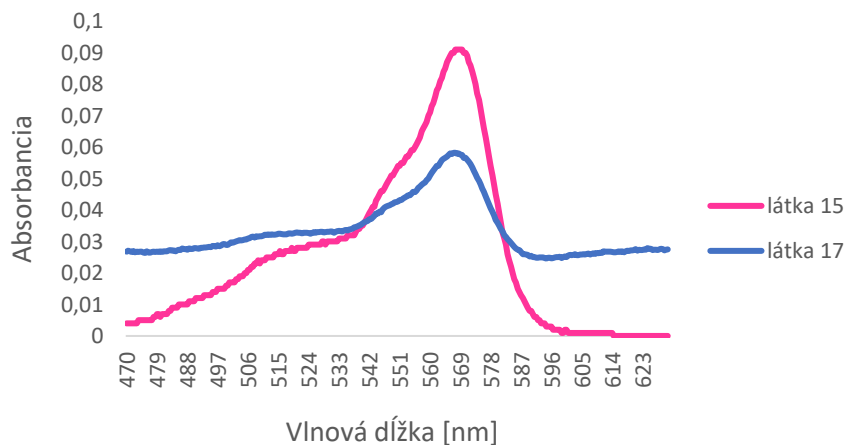
#### 6.4. FOTOFYZIKÁLNE VLASTNOSTI

Fotofyzikálne vlastnosti sme študovali u trijódsubftalocyanínov s axiálnou adamantylovou substitúciou, teda u látok **15** a **17** (Obr. 28).



Obr. 28 Štruktúry látok **15** a **17**

Najprv sme skúmali ich absorpciu v Q-páse. Tieto zlúčeniny sa štruktúrne líšia len dĺžkou spojovacieho uhl'ovodíkového reťazca v axiálnej polohe, čo by nemalo mať vplyv na ich spektrálne vlastnosti. Na pohľad sa odlišujú farbou roztoku – látka **15** je v roztoku ružová, látka **17** je fialová. To by mohlo naznačovať odlišné tvary ich absorpčných spektier. Tie sme merali z čerstvých etanolických roztokov (Obr. 29).

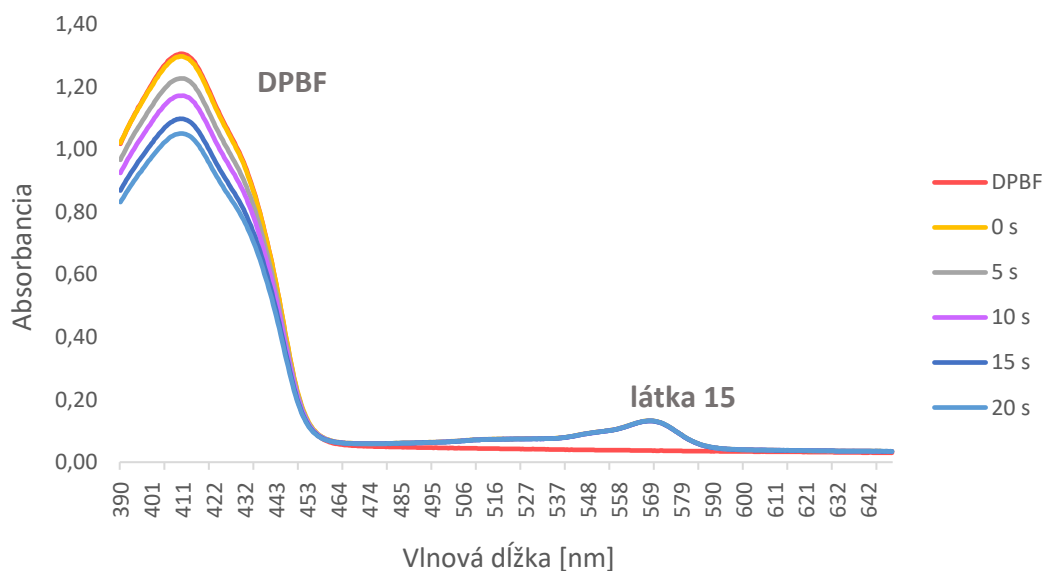


Obr. 29 Absorpčné spektrum látok **15** a **17** v Q-páse v etanole

Obe látky sa vyznačujú podobným tvarom Q-pásu a dosahujú maximum zhodne v 568 nm. Úzky Q-pás látky **15**, vychádzajúci od základnej línie, indikuje jej monomélnosť v roztoku. Naproti tomu spektrum látky **17** je polohované vysoko nad základnou líniou, čo značí prítomnosť agregátov v roztoku.

Potvrdili sme, že charakter axiálneho substituentu nemá vplyv na pozíciu absorpčného pásu. K podobným záverom dospeli aj autori, ktorí študovali subftalocyaníny axiálne modifikované aromatickými ligandami<sup>65</sup>. Odlišná farba roztokov vychádza z rozdielneho agregáčného chovania týchto dvoch látok.

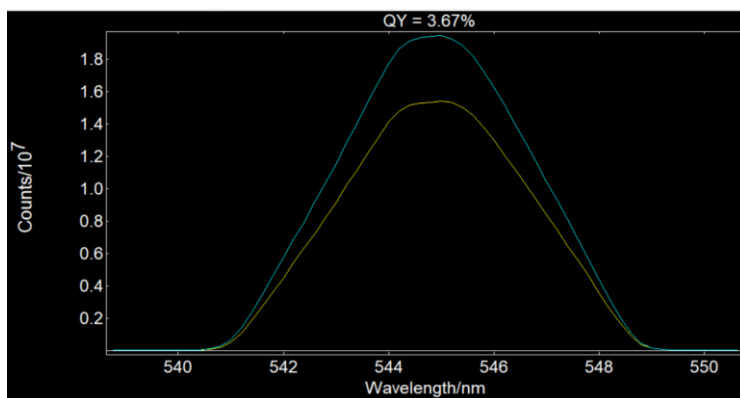
U zlúčenín zamýšľaných pre použitie v PDT je najdôležitejším parametrom hodnota kvantového výťažku produkcie singletového kyslíka  $\Phi_{\Delta}$ . Tú sme stanovovali v etanole, postupom popísaným v experimentálnej časti práce. U oboch látok sme pozorovali prekryvanie ich absorpčných spektier v oblasti Q-pásu na začiatku a na konci merania, čo dokazuje, že ich koncentrácia sa v priebehu ožarovania nemenila, látky sa svetlom nerozkladajú. U subftalocyanínu **15** (Obr. 30) bola zistená hodnota  $\Phi_{\Delta}$  0,76 (etanol), čo je viac než dvojnásobok hodnoty získanej pre látku **17**. U tej bola hodnota  $\Phi_{\Delta}$  len 0,33 (etanol), čo potvrdzuje prítomnosť agregátov v jej roztoku.



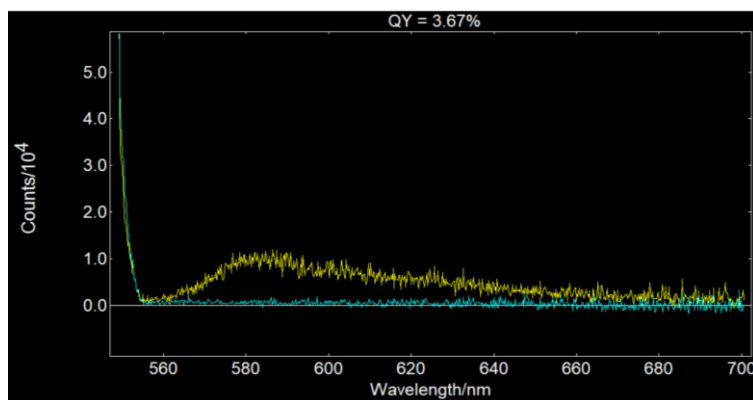
Obr. 30 Pokles absorbancie DPBF prídavkom látky **15**

Schopnosť emisie fluorescence je u PS takisto výhodnou charakteristikou, keďže umožňuje študovať ich lokalizáciu v bunke a monitorovať terapiu. Preto sme u skúmaných látok **15** a **17** stanovovali i kvantový výťažok fluorescence  $\Phi_F$ .

Použili sme absolútnu metódu s integračnou sférou, kedy spektrofluorimeter kvantifikuje počet absorbovaných a emitovaných fotónov a z týchto hodnôt počíta príslušný  $\Phi_F$ . Počet absorbovaných fotónov je vyjadrený ako rozdiel medzi absorpčným spektrom rozpúšťadla a roztoku vzorky v oblasti excitačnej vlnovej dĺžky (Obr. 31). Počet emitovaných fotónov je zas získaný z rozdielu medzi spektrom rozpúšťadla a roztoku vzorky v oblasti, kde skúmaná látka emituje (Obr. 32). Zreteľné oddelenie excitačného a emisného píku vo výsledných spektrách potvrdzuje vhodnosť zvolených podmienok merania. Získané hodnoty  $\Phi_F$  boli pre oba subftalocyaníny podobné – 0,04 pre látku **15** a 0,03 pre látku **17**. Pripravené látky teda vykazujú nízku schopnosť emisie fotónov, avšak aj tá by mohla byť dostačujúca pre použitie v *in vitro* sledovaní ich lokalizácie.



Obr. 31 Oblast' spektra, na ktorej je vidieť pokles absorbancie pri excitačnej vlnovej dĺžke medzi rozpúšťadlom (modrou) a roztokom látky **15** (žltou)



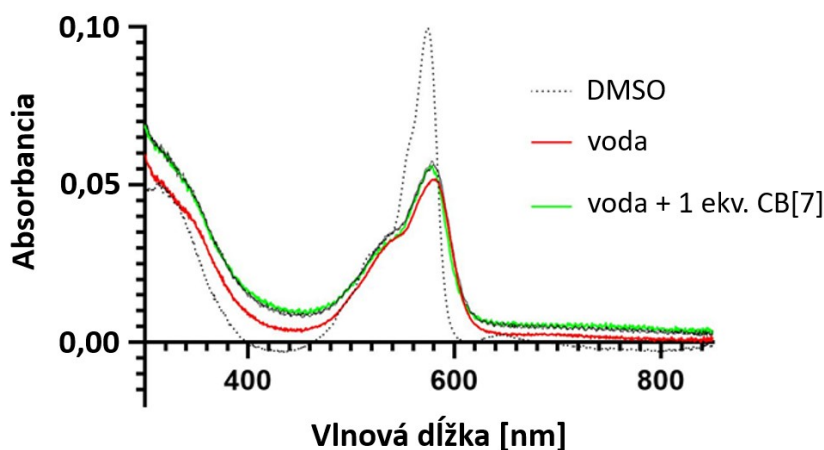
Obr. 32 Oblast' spektra, na ktorej je vidieť nárast emisie u roztoku látky **15** (žltou) oproti rozpúšťadlu (modrou)



## 6.5. SUPRAMOLEKULÁRNE INTERAKCIE S KUKURBITURILMI

Na záver sme sa zamerali na štúdium interakcie s CB[7], ktorá bola skúmaná sledovaním zmien v absorpčných spektrách postupom opísaným v experimentálnej časti práce. Použili sme pri tom derivát **18**, ktorý má oproti látke **15** lepšiu rozpustnosť vo vode.

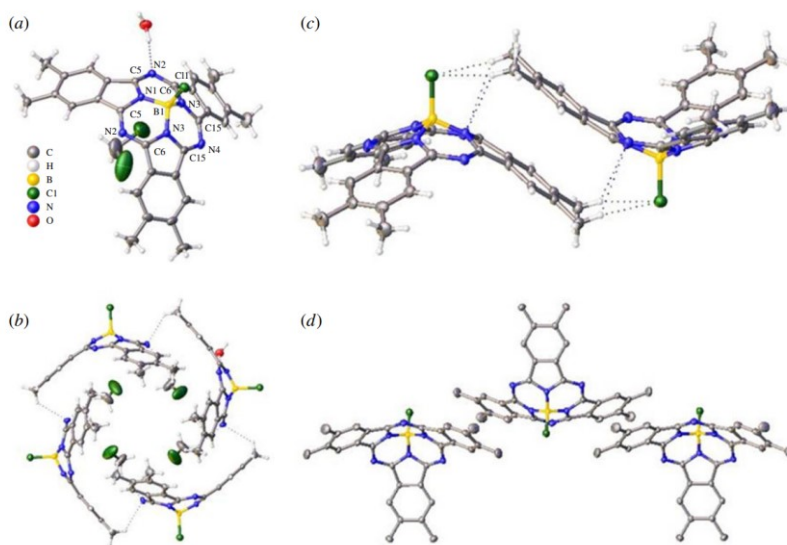
V DMSO je látka **18** dobre rozpustná a v Q-páse má pri 8 $\mu$ M koncentrácii absorpciu približne 0,1. Spektrum merané s rovnakou koncentráciou látky **18** v ultračistej vode vykazuje pokles absorpcie približne na polovicu, čo je pravdepodobne dôsledkom agregácie subftalocyanínu. Pri postupnom pridávaní od 0,25 až do 2,75 ekvivalentu CB[7] k látke v destilovanej vode nebol ani pri nadbytku CB[7] pozorovaný rozdiel oproti spektru meranému vo vode (Obr. 33). Z toho vyplýva, že interakcia s kukurbiturilmi nemá vplyv na monomélnosť látky **18** vo vode.



Obr. 33 Štúdium interakcie látky **18** s CB[7]

Tento záver bol pre nás nečakaný, keďže u ftalocyanínov nesúcich adamantylovú skupinu na periférii (pripravené konzultantkou tejto práce Mgr. Luciou Kočiščákovou) viedla interakcia s CB[7] k plnej alebo aspoň čiastočnej monomerizácii príslušných ftalocyanínov vo vode. Získané výsledky sme sa preto snažili zdôvodniť, aby mohli poslúžiť k nájdeniu vhodnejších cieľových štruktúr. Výsledky publikované v literatúre naznačujú, že vznik  $\pi$ - $\pi$  interakcií a agregácia subftalocyanínov nemusia nastávať len pri zhodnej orientácii molekúl, ale aj v iných polohách (Obr. 34).<sup>102</sup> Preto supramolekulárna komplexácia len s jednou molekulou CB[7] v axiálnej polohe, tak ako bola realizovaná v našom prípade, pravdepodobne nie je dostačujúca na zmiernenie agregácie subftalocyanínu vo vode.

Perspektívou ďalšej práce je preto návrh zlúčenín nesúcich adamantylovú skupinu na periférii molekuly.



Obr. 34 Tvorba agregátov pri nezhodnej orientácii molekúl subftalocyanínov <sup>102</sup>

## 7. ZÁVER

Táto diplomová práca si kládla za cieľ syntetizovať subftalocyaníny modifikované derivátom aminoadamantánu, ktoré by po supramolekulárnej interakcii s CB[7] vytvorili komplexy monoméne vo vode.

Syntézy prekursorov pre cyklizáciu a axiálneho substituentu prebehli úspešne, s využitím reakčných mechanizmov nukleofilnej substitúcie a Eschweilerovej-Clarkovej metylácie. Zamýšľané subftalocyaníny s periférnymi etylsulfanylovými skupinami v polohe alfa neboli získané, čo prisudzujeme stérickému bráneniu. Subftalocyanín s etylsulfanylovou substitúciou v beta polohe bol úspešne syntetizovaný, avšak jeho následná axiálna substitúcia poskytla požadovaný produkt len v zanedbateľnom výťažku. K cieľovým štruktúram boli preto pridané subftalocyaníny periférne substituované jódom. Chlorid trijódsuftalocyanínu bóru bol už získaný úspešne, vo vysokom výťažku. Syntéza subftalocyanínu s aminoadamantánovým derivátom v periférnej polohe nebola úspešná, čím bola potvrdená inkompatibilita východiskového ftalonitrilu a činidla chloridu boritého.

Z cieľových štruktúr boli úspešne získané dva trijódsuftalocyaníny, ktoré sa líšili dĺžkou uhl'ovodíkového spojovacieho reťazca medzi subftalocyanínovým jadrom a aminoadamantánovým derivátom. Meranie ich fotofyzikálnych vlastností prinieslo uspokojivé výsledky, avšak pri štúdiu interakcie kvarternizovaného subftalocyanínu s CB[7] nebola pozorovaná redukcia jeho agregácie vplyvom supramolekulárnej komplexácie. Vzhľadom k tomu, že substitúcia aminoadamantánom v axiálnej polohe a interakcia s jednou molekulou CB[7] je nedostatočná, je perspektívou do budúcnosti návrh a syntéza subftalocyanínov s adamantylovou substitúciou aj na periférii molekuly. Substituenty by v tom prípade mali byť na subftalocyanínové jadro viazané inak, než éterovou väzbou.

## 8. ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- (1) Kwiatkowski, S. et al. Photodynamic Therapy – Mechanisms, Photosensitizers and Combinations. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2018**, *106*, 1098–1107.
- (2) Pražmo, E. et al. Photodynamic Therapy As a Promising Method Used in the Treatment of Oral Diseases. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, **2016**, *25* (4), 799–807.
- (3) Donohoe, C. et al. Cell Death in Photodynamic Therapy: From Oxidative Stress to Anti-Tumor Immunity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, **2019**, *1872* (2), 188308.
- (4) Agostinis, P. et al. Photodynamic Therapy of Cancer: An Update. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **2011**, *61* (4), 250–281.
- (5) Warriar, A. et al. Photodynamic Therapy to Control Microbial Biofilms. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **2021**, *33*, 102090.
- (6) Calixto, G. et al. Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review. *Molecules*, **2016**, *21* (3), 342.
- (7) Wainwright, M. et al. Photoantimicrobials—Are We Afraid of the Light? *The Lancet Infectious Diseases*, **2017**, *17* (2), e49–e55.
- (8) Castano, A. P.; Demidova, T. N.; Hamblin, M. R. Mechanisms in Photodynamic Therapy: Part Three—Photosensitizer Pharmacokinetics, Biodistribution, Tumor Localization and Modes of Tumor Destruction. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **2005**, *2* (2), 91–106.
- (9) Mojzisova, H. et al. Cellular Uptake and Subcellular Distribution of Chlorin E6 as Functions of PH and Interactions with Membranes and Lipoproteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, **2007**, *1768* (11), 2748–2756.
- (10) Dąbrowski, J. M.; Arnaut, L. G. Photodynamic Therapy (PDT) of Cancer: From Local to Systemic Treatment. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **2015**, *14* (10), 1765–1780.

- (11) Benov, L. Photodynamic Therapy: Current Status and Future Directions. *Medical Principles and Practice*, **2015**, *24* (s1), 14–28.
- (12) Jensen, T. J. et al. Effect of Overall Charge and Charge Distribution on Cellular Uptake, Distribution and Phototoxicity of Cationic Porphyrins in HEP2 Cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **2010**, *100* (2), 100–111.
- (13) Mfouo-Tynga, I.; Abrahamse, H. Cell Death Pathways and Phthalocyanine as an Efficient Agent for Photodynamic Cancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, **2015**, *16* (12), 10228–10241.
- (14) Oleinick, N. L.; Morris, R. L.; Belichenko, I. The Role of Apoptosis in Response to Photodynamic Therapy: What, Where, Why, and How. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **2002**, *1* (1), 1–21.
- (15) Kessel, D.; Oleinick, N. L. Cell Death Pathways Associated with Photodynamic Therapy: An Update. *Photochemistry and Photobiology*, **2018**, *94* (2), 213–218.
- (16) Luo, Y.; Kessel, D. Initiation of Apoptosis versus Necrosis by Photodynamic Therapy with Chloroaluminum Phthalocyanine. *Photochemistry and Photobiology*, **1997**, *66* (4), 479–483.
- (17) Mokoena, D. R.; George, B. P.; Abrahamse, H. Photodynamic Therapy Induced Cell Death Mechanisms in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **2021**, *22* (19), 10506.
- (18) Fingar, V. H. et al. Analysis of Acute Vascular Damage after Photodynamic Therapy Using Benzoporphyrin Derivative (BPD). *British Journal of Cancer*, **1999**, *79* (11–12), 1702–1708.
- (19) Chen, B.; Roskams, T.; Witte, P. A. M. Antivascular Tumor Eradication by Hypericin-Mediated Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology*, **2007**, *76* (5), 509–513.
- (20) FINGAR, V. H. Vascular Effects of Photodynamic Therapy. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, **1996**, *14* (5), 323–328.
- (21) HENDERSON, B. W.; FINGAR, V. H. Oxygen Limitation of Direct Tumor Cell Kill During Photodynamic Treatment of a Murine Tumor Model. *Photochemistry and Photobiology*, **1989**, *49* (3), 299–304.

- (22) Castano, A. P.; Mroz, P.; Hamblin, M. R. Photodynamic Therapy and Anti-Tumour Immunity. *Nature Reviews Cancer*, **2006**, 6 (7), 535–545.
- (23) Reginato, E. Immune Response after Photodynamic Therapy Increases Anti-Cancer and Anti-Bacterial Effects. *World Journal of Immunology*, **2014**, 4 (1), 1.
- (24) Chilakamarthi, U.; Giribabu, L. Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. *The Chemical Record*, **2017**, 17 (8), 775–802.
- (25) Saji, H. et al. Systemic Antitumor Effect of Intratumoral Injection of Dendritic Cells in Combination with Local Photodynamic Therapy. *Clinical Cancer Research*, **2006**, 12 (8), 2568–2574.
- (26) Kou, J.; Dou, D.; Yang, L. Porphyrin Photosensitizers in Photodynamic Therapy and Its Applications. *Oncotarget*, **2017**, 8 (46), 81591–81603.
- (27) Allison, R. R.; Sibata, C. H. Oncologic Photodynamic Therapy Photosensitizers: A Clinical Review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **2010**, 7 (2), 61–75.
- (28) Algorri, J. F. et al. Light Technology for Efficient and Effective Photodynamic Therapy: A Critical Review. *Cancers (Basel)*, **2021**, 13 (14), 3484.
- (29) Abrahamse, H.; Hamblin, M. R. New Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Biochemical Journal*, **2016**, 473 (4), 347–364.
- (30) Kashef, N.; Huang, Y.-Y.; Hamblin, M. R. Advances in Antimicrobial Photodynamic Inactivation at the Nanoscale. *Nanophotonics*, **2017**, 6 (5), 853–879.
- (31) Mfouo-Tynga, I. S. et al. Features of Third Generation Photosensitizers Used in Anticancer Photodynamic Therapy: Review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **2021**, 34, 102091.
- (32) Zhang, J. et al. An Updated Overview on the Development of New Photosensitizers for Anticancer Photodynamic Therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **2018**, 8 (2), 137–146.

- (33) Prescribing information for Photofrin  
[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/020451s029,021525s0051bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/020451s029,021525s0051bl.pdf) (prevzaté 25.4.2022).
- (34) Usuda, J. et al. Photodynamic Therapy (PDT) for Lung Cancers. *Journal of Thoracic Oncology*, **2006**, *1* (5), 489–493.
- (35) O’Connor, A. E.; Gallagher, W. M.; Byrne, A. T. Porphyrin and Nonporphyrin Photosensitizers in Oncology: Preclinical and Clinical Advances in Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology*, **2009**, *85* (5), 1053–1074.
- (36) Triesscheijn, M. et al. Photodynamic Therapy in Oncology. *The Oncologist*, **2006**, *11* (9), 1034–1044.
- (37) 22/03/2022 Ameluz - EMEA/H/C/002204 - N/0052  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ameluz-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ameluz-epar-product-information_en.pdf) (prevzaté 28.3.2022).
- (38) 27/10/2020 Gliolan - EMEA/H/C/000744 - II/0018/G  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gliolan-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gliolan-epar-product-information_en.pdf) (prevzaté 28.3.2022).
- (39) Levulan Kerastick Prescribing Information  
<https://www.levulan.com/pdfs/LEVULAN-Prescribing-Information.pdf> (prevzaté 28.3.2022).
- (40) 29/03/2016 Foscan - EMEA/H/C/000318 - IB/0041/G  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/foscan-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/foscan-epar-product-information_en.pdf) (prevzaté 25.3.2022).
- (41) PANDEY, R. K. Recent Advances in Photodynamic Therapy. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **2000**, *04* (04), 368–373.
- (42) 02/09/2020 Visudyne - EMEA/H/C/000305 - IAIN/0103  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/visudyne-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/visudyne-epar-product-information_en.pdf) (prevzaté 26.3.2022).
- (43) <https://Chemazone.Aurorafinechemicals.Com/StrSearch-New.Asp?ALLFIELDS=K25.322.179> (prevzaté 8.5.2022).

- (44) 10/02/2022 Tookad - EMEA/H/C/004182 - II/0015  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tookad-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tookad-epar-product-information_en.pdf) (prevzaté 25.3.2022).
- (45) Bugaj, A. M. Vascular Targeted Photochemotherapy Using Padoporfin and Padeliporfin as a Method of the Focal Treatment of Localised Prostate Cancer - Clinician's Insight. *World Journal of Methodology*, **2016**, 6 (1), 65.
- (46) Li, X. et al. Phthalocyanines as Medicinal Photosensitizers: Developments in the Last Five Years. *Coordination Chemistry Reviews*, **2019**, 379, 147–160.
- (47) Mishchenko, T. A. et al. Effect of Photosensitizers Photosens, Photodithazine and Hypericin on Glioma Cells and Primary Neuronal Cultures: A Comparative Analysis. *Sovremennye tehnologii v medicine*, **2019**, 11 (4), 52.
- (48) Greish, K. Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect for Anticancer Nanomedicine Drug Targeting. *Methods Mol Biol*, **2010**, 624, 25–37.
- (49) Shirasu, N.; Nam, S. O.; Kuroki, M. Tumor-Targeted Photodynamic Therapy. *Anticancer Res*, **2013**, 33 (7), 2823–2831.
- (50) Costa, L. et al. Photodynamic Inactivation of Mammalian Viruses and Bacteriophages. *Viruses*, **2012**, 4 (7), 1034–1074.
- (51) Sowa, A.; Voskuhl, J. Host-Guest Complexes – Boosting the Performance of Photosensitizers. *International Journal of Pharmaceutics*, **2020**, 586, 119595.
- (52) Dubbert, J. et al. Supramolecular Subphthalocyanine Complexes–Cellular Uptake and Phototoxicity. *Chemical Communications*, **2020**, 56 (55), 7653–7656.
- (53) Skorjanc, T. et al. Design of Organic Macrocyclic-Modified Iron Oxide Nanoparticles for Drug Delivery. *Chemistry - A European Journal*, **2017**, 23 (35), 8333–8347.
- (54) Das, D.; Scherman, O. A. Cucurbituril: At the Interface of Small Molecule Host-Guest Chemistry and Dynamic Aggregates. *Israel Journal of Chemistry*, **2011**, 51 (5–6), 537–550.
- (55) Mock, W. L.; Shih, N. Y. Structure and Selectivity in Host-Guest Complexes of Cucurbituril. *The Journal of Organic Chemistry*, **1986**, 51 (23), 4440–4446.



- (56) Mikulu, L. et al. PH Control on the Sequential Uptake and Release of Organic Cations by Cucurbit[7]Urils. *Chemistry - A European Journal*, **2017**, *23* (10), 2350–2355.
- (57) Rekharsky, M. v. et al. A Synthetic Host-Guest System Achieves Avidin-Biotin Affinity by Overcoming Enthalpy–Entropy Compensation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2007**, *104* (52), 20737–20742.
- (58) Liu, S. et al. The Cucurbit[ *n* ]Urils Family: Prime Components for Self-Sorting Systems. *J Am Chem Soc*, **2005**, *127* (45), 15959–15967.
- (59) Winckel, E. et al. Dual Role of Subphthalocyanine Dyes for Optical Imaging and Therapy of Cancer. *Advanced Functional Materials*, **2018**, *28* (24), 1705938.
- (60) Bernhard, Y. et al. Subphthalocyanines: Addressing Water-Solubility, Nano-Encapsulation, and Activation for Optical Imaging of B16 Melanoma Cells. *Chem. Commun.*, **2014**, *50* (90), 13975–13978.
- (61) Claessens, C. G. et al. Subphthalocyanines, Subporphyrines, and Subporphyrins: Singular Nonplanar Aromatic Systems. *Chemical Reviews*, **2014**, *114* (4), 2192–2277.
- (62) Morse, G. E.; Bender, T. P. Boron Subphthalocyanines as Organic Electronic Materials. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **2012**, *4* (10), 5055–5068.
- (63) Claessens, C. G.; González-Rodríguez, D.; Torres, T. Subphthalocyanines: Singular Nonplanar Aromatic Compounds Synthesis, Reactivity, and Physical Properties. *Chemical Reviews*, **2002**, *102* (3), 835–854.
- (64) Xu, H. et al. Synthesis, Photophysical Properties and in Vitro Photodynamic Activity of Axially Substituted Subphthalocyanines. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2007**, *5* (24), 3987.
- (65) Demuth, J. et al. Subphthalocyanines as Efficient Photosensitizers with Nanomolar Photodynamic Activity against Cancer Cells. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2021**, *64* (23), 17436–17447.
- (66) Hrabálek, A. *Laboratorní Cvičení z Organické Chemie pro Farmaceuty*. 1. vyd., Karolinum, Praha 2004. ISBN 80-7184-968-5

- (67) Hamlin, T. A.; Swart, M.; Bickelhaupt, F. M. Nucleophilic Substitution ( $S_N2$ ): Dependence on Nucleophile, Leaving Group, Central Atom, Substituents, and Solvent. *ChemPhysChem*, **2018**, *19* (11), 1315–1330.
- (68) Smith, M. B. *Advanced Organic Chemistry*, str. 501–502. 6. vyd., Wiley-Interscience, New Jersey 2007. ISBN 978-0471720911
- (69) NOHR, R. S.; MACDONALD, J. G. SUBPHTHALOCYANINE COLORANTS, INK COMPOSITIONS AND METHODS OF MAKING THE SAME. PCT Int. Appl. WO2000071621.
- (70) Chen, Y. Recent Advances in Methylation: A Guide for Selecting Methylation Reagents. *Chemistry – A European Journal*, **2019**, *25* (14), 3405–3439.
- (71) Sulikowski, G. A. et al. Iodomethane. In: Paquette, L. A. (Ed) *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester 2005, ISBN 978-0-47193623-7
- (72) Luca, O. R.; Fenwick, A. Q. Organic Reactions for the Electrochemical and Photochemical Production of Chemical Fuels from CO<sub>2</sub> – The Reduction Chemistry of Carboxylic Acids and Derivatives as Bent CO<sub>2</sub> Surrogates. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **2015**, *152*, 26–42.
- (73) Bresolí-Obach, R. et al. Singlet Oxygen Quantum Yield Determination Using Chemical Acceptors. *Methods Mol Biol*, **2021**, *2202*, 165–188.
- (74) Li, B. et al. Photosensitized Singlet Oxygen Generation and Detection: Recent Advances and Future Perspectives in Cancer Photodynamic Therapy. *Journal of Biophotonics*, **2016**, *9* (11–12), 1314–1325.
- (75) Grabow, W. W. Method For Determination Of Singlet Oxygen Quantum Yields For New Fluorene-Based Photosensitizers In Aqueous Media For The Advancement Of Photodynamic Therapy. Master's Thesis, Department of Chemistry, University of Central Florida, Orlando, 2004.
- (76) Novakova, V. et al. Role of Steric Hindrance in the Newman-Kwart Rearrangement and in the Synthesis and Photophysical Properties of Arylsulfanyl Tetrapyrazinoporphyrazines. *The Journal of Organic Chemistry*, **2014**, *79* (5), 2082–2093.

- (77) Nawara, K.; Waluk, J. Improved Method of Fluorescence Quantum Yield Determination. *Analytical Chemistry*, **2017**, *89* (17), 8650–8655.
- (78) de Araujo, R. E.; Dominguez, C. T. Absolute and Relative Methods for Fluorescence Quantum Yield Evaluation of Quantum Dots. *Methods in Molecular Biology*, **2020**, *2135*, 37–51.
- (79) Würth, C. et al. Relative and Absolute Determination of Fluorescence Quantum Yields of Transparent Samples. *Nature Protocols*, **2013**, *8* (8), 1535–1550.
- (80) Porrès, L. et al. Absolute Measurements of Photoluminescence Quantum Yields of Solutions Using an Integrating Sphere. *Journal of Fluorescence*, **2006**, *16* (2), 267–273.
- (81) Chauke, V.; Nyokong, T. Synthesis and Electrochemical Characterisation of New Tantalum (V) Alkythio Phthalocyanines. *Inorganica Chimica Acta*, **2010**, *363* (14), 3662–3669.
- (82) Ogunbayo, T. B.; Nyokong, T. Phototransformation of 4-Nitrophenol Using Pd Phthalocyanines Supported on Single Walled Carbon Nanotubes. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **2011**, *337* (1–2), 68–76.
- (83) Mayukh, M. et al. Solvent-Free Synthesis of Soluble, Near-IR Absorbing Titanyl Phthalocyanine Derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*, **2010**, *75* (22), 7893–7896.
- (84) Volkov, K. A. et al. Phthalocyanines and Related Compounds: XLIII. Synthesis of Poly[Phenyl(Alkyl)Sulfanyl]-Substituted Phthalonitriles and Some Phthalocyanines Based Thereon. *Russian Journal of General Chemistry*, **2007**, *77* (6), 1108–1116.
- (85) 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. *Advanced Synthesis & Catalysis*, **2010**, *352* (17), 3001–3012.
- (86) Umezawa, H. et al. Synthesis and Non-Linear Optical Properties of New Ionic Species: Tolan and Diphenylbutadiyne with Trimethylammonio and

- Dimethylamino Groups. *Journal of Physical Organic Chemistry*, **2005**, *18* (5), 468–472.
- (87) Brunet, J.-J. et al. New Chiral Zwitterionic Iron Hydride Complexes with ‘Ephosium’ and ‘Valphosium’ Ligands. *Journal of Organometallic Chemistry*, **1998**, *566* (1–2), 117–123.
- (88) Chauhan, S. M. S.; Kumari, P. Synthesis of Unsymmetrical Benzoporphyrazines in Functional Ionic Liquids and Formation of Self-Aggregates of Zinc(II) Pyridino[3,4]Tribenzoporphyrazines in Solutions. *Tetrahedron*, **2009**, *65* (12), 2518–2524.
- (89) Guilleme, J.; González-Rodríguez, D.; Torres, T. Triflate-Subphthalocyanines: Versatile, Reactive Intermediates for Axial Functionalization at the Boron Atom. *Angewandte Chemie International Edition*, **2011**, *50* (15), 3506–3509.
- (90) Liu, J.-Y. et al. Highly Efficient Energy Transfer in Subphthalocyanine–BODIPY Conjugates. *Organic Letters*, **2008**, *10* (23), 5421–5424.
- (91) Wilkinson, F.; Helman, W. P.; Ross, A. B. Quantum Yields for the Photosensitized Formation of the Lowest Electronically Excited Singlet State of Molecular Oxygen in Solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, **1993**, *22* (1), 113–262.
- (92) Gürek, A. G.; Bekaroğlu, Ö. Octakis(Alkylthio)-Substituted Phthalocyanines and Their Interactions with Silver(I) and Palladium(II) Ions. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1994**, *9* (9), 1419–1423.
- (93) Sakamoto, K. et al. Synthesis of Arylsulfanyl-Subphthalocyanines and Their Ring Expansion Reaction. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **2015**, *19* (05), 688–694.
- (94) KC, C. B.; Lim, G. N.; D’Souza, F. Tuning Optical and Electron Donor Properties by Peripheral Thio–Aryl Substitution of Subphthalocyanine: A New Series of Donor–Acceptor Hybrids for Photoinduced Charge Separation. *Chemistry – A European Journal*, **2016**, *22* (37), 13301–13311.
- (95) Sánchez-Molina, I. et al. Trapping Fullerenes with Jellyfish-like Subphthalocyanines. *Chemical Science*, **2013**, *4* (3), 1338.

- (96) Kang, S. H. et al. Novel Columnar Mesogen with Octupolar Optical Nonlinearities: Synthesis, Mesogenic Behavior and Multiphoton-Fluorescence-Free Hyperpolarizabilities of Subphthalocyanines with Long Aliphatic Chains. *Chemical Communications*, **1999**, 17 (17), 1661–1662.
- (97) Roy, I. et al. A Multifunctional Subphthalocyanine Nanosphere for Targeting, Labeling, and Killing of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Angewandte Chemie International Edition*, **2015**, 54 (50), 15152–15155.
- (98) del Rey, B. et al. Synthesis and Nonlinear Optical, Photophysical, and Electrochemical Properties of Subphthalocyanines. *J Am Chem Soc*, **1998**, 120 (49), 12808–12817.
- (99) Claessens, C. G.; Torres, T. Subphthalocyanine Enantiomers: First Resolution of a C3 Aromatic Compound by HPLC. *Tetrahedron Letters*, **2000**, 41 (33), 6361–6365.
- (100) Lee, S.; Suh, H. Synthesis of New Soluble Subphthalocyanine Substituted with Crown Ethers. *Bull Korean Chem Soc*, **1999**, 20 (9), 991–992.
- (101) Luan, L. et al. Effect of Axial Ligands on the Molecular Configurations, Stability, Reactivity, and Photodynamic Activities of Silicon Phthalocyanines. *Chemistry - An Asian Journal*, **2014**, 9 (12), 3491–3497.
- (102) Wang, F. et al. Soluble Hexamethyl-Substituted Subphthalocyanine as a Dopant-Free Hole Transport Material for Planar Perovskite Solar Cells. *Royal Society Open Science*, **2018**, 5 (8), 180617.