

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ CHEMIE A FARMACEUTICKÉ ANALÝZY



DIPLOMOVÁ PRÁCE

PŘÍPRAVA SUBSTITOVANÝCH AMINOADAMANTYLŮ



Denisa Janišová

Vedoucí diplomové práce: prof. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2023

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 30.8. 2023

Podpis:

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své konzultantce Mgr. Lucii Rychvalské a vedoucímu naší výzkumné skupiny a školiteli prof. PharmDr. Petru Zimčíkovi, Ph.D. za pomoc, vedení při práci v laboratoři, jejich cenné rady při vypracování této práce a vytvoření přátelského kolektivu. Nemalý dík patří PharmDr. Janu Kollárovi, Ph.D. za cenné rady při postupu v syntézách.

Za změření NMR spekter děkuji doc. Kunešovi z Katedry organické a bioorganické chemie.

V poslední řadě děkuji Mgr. Marku Kerdovi za podporu při psaní této práce.

Za finanční podporu děkuji SVV 260 666 a projektu PRIMUS/20/SCI/013.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát: Denisa Janišová

Školitel: prof. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Lucia Rychvalská

Diplomová práce: Příprava substituovaných aminoadamantylů

Tato práce se zabývá problematikou fotodynamické terapie s využitím ftalocyaninů jako fotosenzitizérů. V teoretické části jsou shrnuty základní vědomosti a poznatky o fotodynamické terapii, její princip, využití a využívané fotosenzitizéry. Popsány jsou i ftalocyaniny, jejich struktura a možné obměny, jejich syntéza a agregace. Poslední část je věnována právě kukurbiturilům, které tvoří silné hostitel-host komplexy s malými molekulami, v našem případě právě s aminodamantanem. Tyto komplexy následně zvyšují monomerizaci a rozpustnost ftalocyaninů ve vodě.

V rámci experimentální části práce byla věnována pozornost syntéze derivátů 1-aminoadamantanu s thiolovou skupinou na dvouhlíkatém řetězci. Tato struktura se však neosvědčila, a i přes velkou řadu různých alternativních postupů jsme látku nebyli schopni připravit. V případě prodloužení řetězce na tříuhlíkatý, reakce probíhaly lépe a 3-((adamant-1-yl)amino)propan-1-thiol byl získán alkylací 1-aminoadamantanu chráněným 3-brompropan-1-thiolem. Výsledné látky byly vždy běžnými metodami přečištěny a byla u nich potvrzena totožnost pomocí vodíkového a uhlíkového spektra NMR.

ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department: Department of Pharmaceutical Chemistry and
Pharmaceutical Analysis

Candidate: Denisa Janišová

Supervisor: prof. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.

Advisor: Mgr. Lucia Rychvalská

Title of Thesis: Synthesis of substituted aminoadamantyl compounds

This work deals with the topic of photodynamic therapy using phthalocyanines as photosensitizers. The theoretical part summarizes the basic knowledge and findings about photodynamic therapy, its principle, application and used photosensitizers. Phthalocyanines (Pcs), their structure and possible variations, their synthesis and aggregation are also described. The last part is dedicated to cucurbiturils, which form strong host-guest complexes with small molecules, in our case with aminodamantanes. These complexes may increase the monomerization and solubility of phthalocyanines in water.

In the experimental part of the work, attention was focused on the synthesis of 1-aminoadamantane substituted by thiol group on two-carbon linker. However, synthesis of this compound was not successful and despite number of alternative approaches we were not able to prepare it. The reactions ran better in case of extension of the linker to three carbons and 3-((adamant-1-yl)amino)propan-1-thiol was successfully synthesized by alkylation of 1-aminoadamantane by protected 3-bromopropan-1-thiol. The final substances were always purified by conventional methods and their identity was confirmed by hydrogen and carbon NMR spectra.

OBSAH

1	SEZNAM ZKRATEK	8
2	CÍL PRÁCE	9
3	TEORETICKÁ ČÁST	10
3.1	FOTODYNAMICKÁ TERAPIE.....	10
3.1.1	PRINCIP PDT.....	11
3.1.2	MECHANISMUS ÚČINKU PDT.....	12
3.2	FOTOSENZITIZÉRY.....	13
3.3	VYUŽITÍ FOTODYNAMICKÉ TERAPIE.....	14
3.4	DALŠÍ VYUŽITÍ PDT.....	14
3.4.1	ANTIMIKROBIÁLNÍ LÉČBA.....	14
3.4.2	LÉČBA VIROVÝCH INFEKČÍ.....	16
3.5	FTALOCYANINY.....	17
3.5.1	STRUKTURA FTALOCYANINŮ.....	19
3.5.2	FOTOFYZIKÁLNÍ A FOTOHEMICKÉ VLASTNOSTI FTALOCYANINŮ.....	20
3.5.3	PŘÍPRAVA FTALOCYANINŮ.....	21
3.5.4	AGREGACE FTALOCYANINŮ.....	22
3.6	KUKURBITURIL.....	23
3.6.1	HOSTITEL-HOST KOMPLEX.....	25
3.7	FOTOCHEMICKÁ INTERNALIZACE.....	26
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
4.1	SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)-AMINO)ETHAN-1-OLU (1).....	30
4.2	SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)ETHAN-1-OLU (2).....	30
4.3	SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO) ETHYLTHIOACETÁTU (3) POMOCÍ DEAD V DMF.....	31
4.4	SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO) ETHYLTHIOACETÁTU (3) POMOCÍ DIAD.....	32
4.5	SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO) ETHYLTHIOACTÁTU (3) POMOCÍ DEAD V THF.....	32
4.6	SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO) ETHAN-1-THIOLU (4).....	33
4.7	REAKCE LÁTKY 4 S 4-NITROFTALONITRILEM.....	34
4.8	SYNTÉZA 2-BROMETHAN-1-THIOLU (6).....	34
4.9	SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)AMINO)ETHAN-1-THIOLU (7).....	35
4.10	SYNTÉZA 2-BROMETHYL(TRITYL)SULFIDU (8) V ACETONITRILU.....	35
4.11	SYNTÉZA N-(2-(TRITYLTHIO)ETHYL)ADAMANTAN-1-AMINU (9).....	36

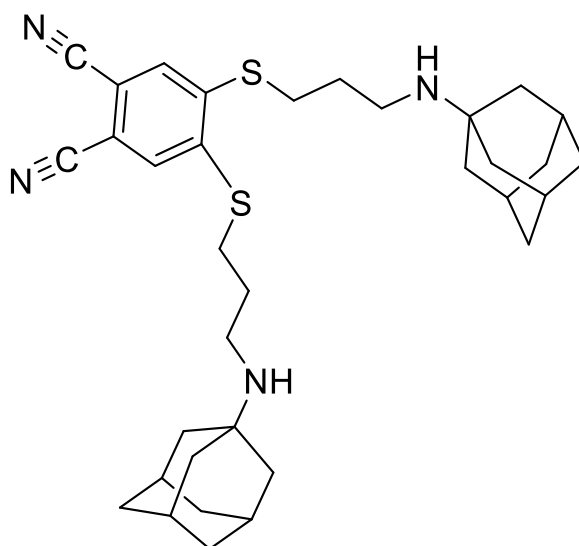
4.12	SYNTÉZA 2-BROMETHYL(TRITYL)SULFIDU (8) V THF	37
4.13	SYNTÉZA 3-BROMOPROPYL(TRITYL)SULFIDU (10).....	37
4.14	SYNTÉZA <i>N</i> -((3-TRITYLTHIO)PROPYL)ADAMANTAN-1-AMINU (11).....	38
4.15	SYNTÉZA <i>N</i> -METHYL- <i>N</i> -(3-(TRITYLTHIO)PROPYL)ADAMANTAN-1-AMINU (12).....	39
4.16	SYNTÉZA 3-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)PROPAN-1-THIOLU (13)	39
4.17	SYNTÉZA 3-((ADAMANTAN-1-YL)AMINO)PROPAN-1-THIOLU (14).....	40
4.18	SYNTÉZA 4, 5-Bis(3-((ADAMANTAN-1-YL)AMINO)PROPYL)-FTALONITRILU (15).....	41
5	DISKUZE.....	42
5.1	SYNTÉZY.....	42
5.1.1	SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)ETHAN-1-THIOLU.....	43
5.1.2	SYNTÉZA 3-((ADAMANTAN-1-YL)AMINO)PROPAN-1-THIOLU	48
6	ZÁVĚR.....	51
7	REFERENCE.....	52
8	SEZNAM OBRÁZKŮ, SCHÉMAT A TABULEK.....	56

1 SEZNAM ZKRATEK

$^1\text{O}_2$	<i>kyslík v singletovém stavu</i>
$^2\text{O}_2$	<i>kyslík v základním tripletovém stavu</i>
Å	<i>Ångström (1 Å = 100 pm neboli 0,1 nm neboli 10^{-10} m)</i>
CB	<i>kukurbituril</i>
DEAD	<i>diethylazodikarboxylát</i>
DIAD	<i>diisopropylazodikarboxylát</i>
DMF	<i>N,N-dimethylformamid</i>
DMSO	<i>dimethylsulfoxid</i>
EtOH	<i>ethanol</i>
G⁻	<i>Gram negativní</i>
G⁺	<i>Gram pozitivní</i>
K_a	<i>asociační konstanta</i>
MeOH	<i>methanol</i>
NMR	<i>nukleární magnetická rezonance</i>
Pc	<i>ftalocyanin (phthalocyanine)</i>
PCI	<i>fotchemická internalizace (photochemical internalization)</i>
PDI	<i>fotchemická inaktivace</i>
PDT	<i>fotodynamická terapie (photodynamic therapy)</i>
PS	<i>fotosenzitizér (photosensitiser)</i>
p.t.	<i>pokožová teplota</i>
ROS	<i>reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)</i>
t.t.	<i>teplota tání</i>
THF	<i>tetrahydrofuran</i>
TLC	<i>tenkovrstvá chromatografie (thin layer chromatography)</i>

2 CÍL PRÁCE

Na Katedře farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy se již delší dobu provádí výzkum nových potencionálních fotodynamicky aktivních látek typu ftalocyaninů. Cílem této diplomové práce bylo připravit prekurzory ftalocyaninů substituované objemnými aminoadamantylovými substituenty pro budoucí supramolekulární interakce s kukurbiturily (CB). Dle publikované studie z výzkumné skupiny azaftalocyaninových barviv bylo zjištěno, že ftalonitrily substituované s aminoadamantanem jsou vhodné pro interakci s CB[7], což zvyšuje množství monomerních forem ftalocyaninů ve vodě.¹ Na základě tohoto zjištění, jsme se snažili připravit vhodné ftalonitrily (syntetické prekurzory ftalocyaninů, (Obr. 1)) nesoucí více aminoadamantylových substituentů. Jako první krok bylo proto nutné připravit 3-((adamant-1-yl)amino)alkyl-1-thioly, které by byly vhodné pro následnou modifikaci ftalonitrilového skeletu. Celá práce je proto věnována zejména vývoji syntetických postupů pro tyto thioly.



Obrázek 1: Cílová struktura.

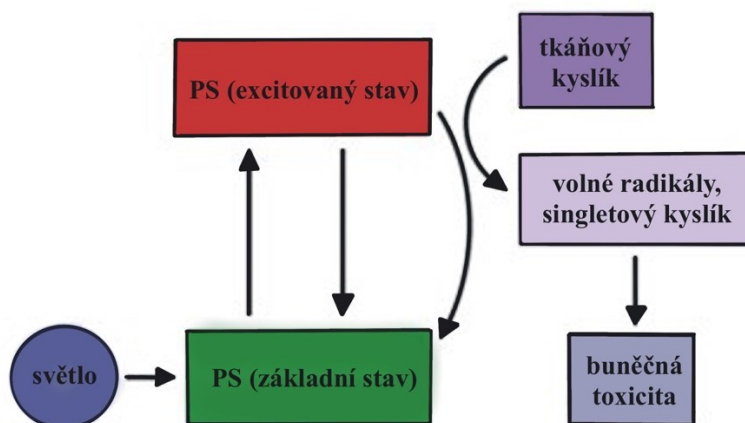
3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 FOTODYNAMICKÁ TERAPIE

Fotodynamická terapie (PDT) je minimálně invazivní léčebná metoda s menším počtem vedlejších účinků ve srovnání s chirurgickou léčbou, chemoterapií, ozařováním, imunoterapií a cílovou terapií bez specifických kontraindikací a lze ji provádět opakovaně.²

Zpočátku byla PDT objevena jako baktericidní léčba a brzy poté byla poprvé testována jako protinádorová léčba. Využití našla také v dermatologii a oftalmologii.³

Základem této metody je selektivní destrukce a cytotoxické působení na nežádoucí nádorové buňky na základě fotochemické reakce světlem aktivované molekuly fotosenzitizéru (PS). Pro průběh PDT jsou důležité tři složky: světlo, PS a tkáňový kyslík. Samostatně jsou tyto složky netoxické.⁴



Obrázek 2: Mechanismus PDT. Obrázek převzat a upraven dle ⁵.

Fotosenzitivní látka reaguje na expozici světlem specifické vlnové délky za vzniku singletového kyslíku a volných kyslíkových radikálů a dochází tak k následnému letálnímu poškození buňky.⁶ Na Obr. 2 je znázorněn mechanismus PDT. Jakmile je PS vystaven specifickým vlnovým délkám světla, aktivuje se ze základního do excitovaného stavu. Při návratu do základního stavu uvolňuje energii, která se předává kyslíku a vytváří reaktivní formy kyslíku (ROS), jako je singletový kyslík a volné radikály. Tyto ROS zprostředkovávají buněčnou toxicitu.⁵

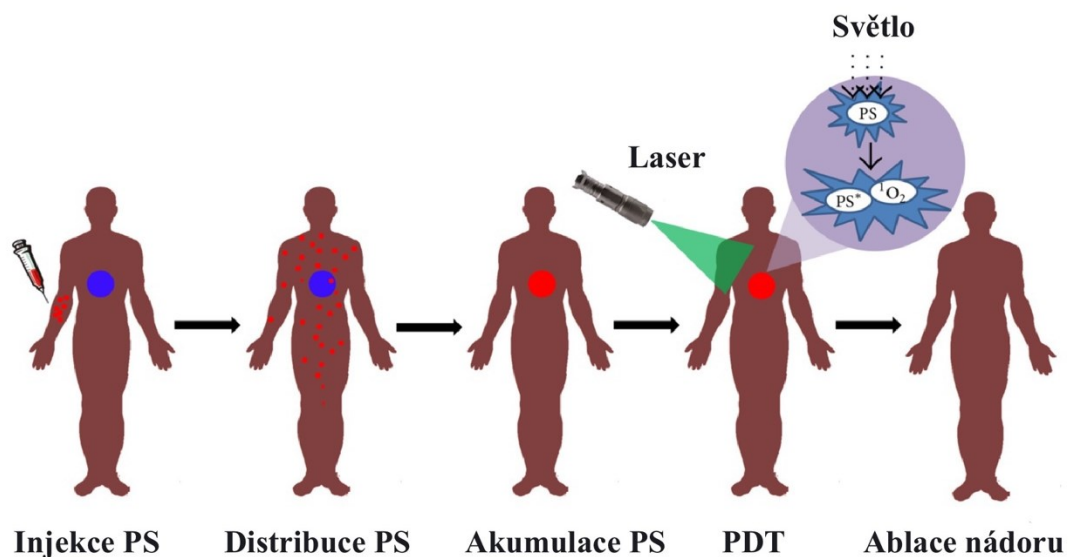
Výhodou PDT je nižší systémová toxicita a relativně selektivní destrukce nádoru, díky preferovanému umístění PS v rámci tumoru a ozáření jen v požadované oblasti. Je zde vysoká pravděpodobnost vyléčení a nízká možnost recidivy. Nevýhodou PDT je fototoxicita a omezené pronikání světla do hlubších vrstev kůže.⁷

3.1.1 PRINCIP PDT

PDT je mnohostupňový proces. Systémově nebo lokálně se aplikuje PS se zanedbatelnou fototoxicitou v nepřítomnosti světla. PS se následně více či méně selektivně akumuluje v tumoru. Světlem aktivovaný PS reaguje s molekulárním kyslíkem za vzniku reaktivních forem kyslíku (ROS). V biologických systémech tyto cytotoxické agens (singletový kyslík, volné radikály,...) spouštějí kaskádu biochemických reakcí, které vedou k buněčné smrti.⁸ Princip PDT je znázorněn na Obr. 3.

Protinádorové účinky PDT spočívají ve 3 mechanismech:

1. přímé cytotoxické účinky na nádorové buňky,
2. indukce prudké zánětlivé a imunitní reakce,
3. poškození cévního systému nádoru.⁷



Obrázek 3: Zjednodušené schéma fungování PDT. Obrázek převzat a upraven dle ⁹.

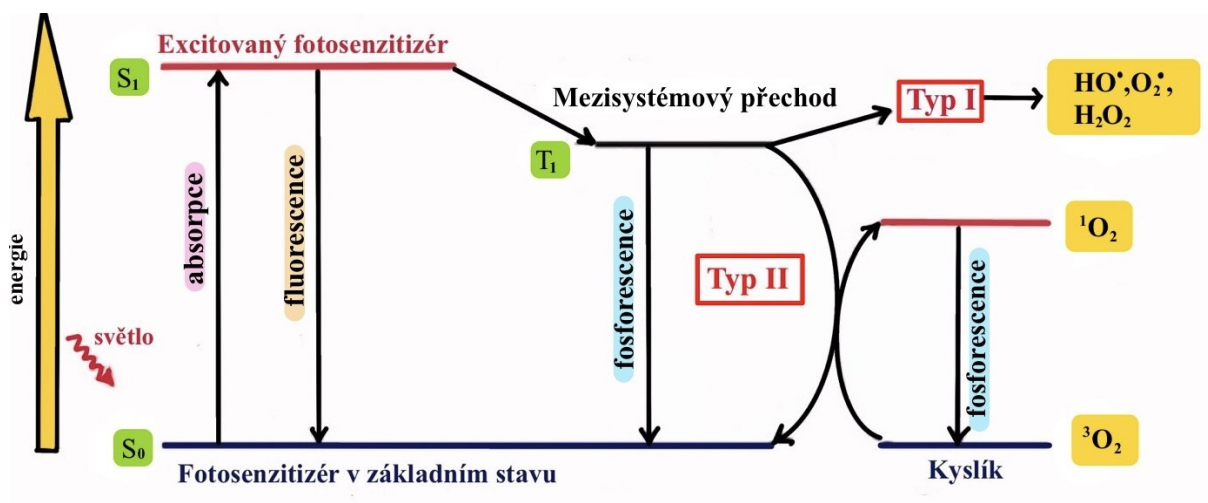
Nejprve dochází k přímému ničení nádorových buněk působením ROS, dále dochází také k poškození prokrvení nádorové tkáně. To způsobí, že nádorové buňky postrádají kyslík a potřebné živiny, což vede k jejich odumírání. V konečné fázi vlivem

probíhajícího zánětu se aktivuje protinádorová imunitní odpověď. Všechny tyto popsané mechanismy jsou nutné k dlouhodobému potlačení nádorového bujení.⁵

3.1.2 MECHANISMUS ÚČINKU PDT

Základem PDT je skutečnost, že světlo specifické vlnové délky λ odpovídající absorpčnímu spektru PS aktivuje PS.¹⁰

Celý mechanismus PDT je znázorněn na Jablonského diagramu na Obr. 4. Světlo převádí PS ze základního stavu (S_0) do excitovaného stavu (S_1). Takto excitovaný PS může podstoupit mezisystémový přechod do excitovaného tripletového stavu (T_1) a následně reagovat dvěma způsoby. Prostřednictvím reakce typu I může vytvořit radikály. Častěji však PS reaguje reakcí typu II, kdy PS přenáší svou energii na molekulární kyslík v tripletovém stavu 3O_2 a dochází k vytvoření singletového kyslíku 1O_2 . Singletový kyslík je obecně přijímán, že je hlavní cytotoxickou látkou v rámci do PDT.⁸



Obrázek 4: Modifikovaný Jablonského diagram. Obrázek vytvořen dle ⁷.

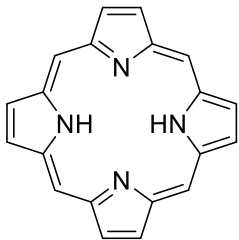
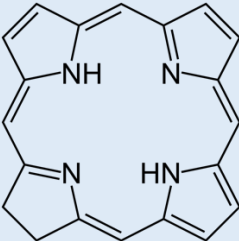
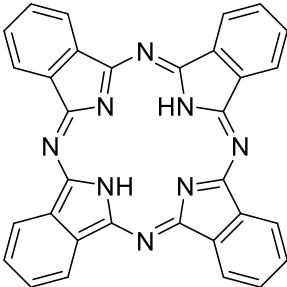
Popsaná reakce následně působí na cílové buňky nejen přímým účinkem, který spouští nekrózu, apoptózu nebo autofagii, ale také nepřímým účinkem, kdy dochází k poškození okolního cévního zásobení nádoru.¹¹

3.2 FOTOSENZITIZÉRY

Vhodný PS je jedním z hlavních předpokladů funkčnosti PDT. Jedná se o látku, která je během PDT lokalizovaná v cílových buňkách nebo tkáních.⁵

Jsou to obvykle aromatické a heterocyklické molekuly. PS se dělí do několika strukturních skupin, viz Tab. 1.^{4,12}

Tabulka 1: Modifikovaný Jablonského diagram. Obrázek vytvořen dle ^{4,10,12}.

<p style="text-align: center;">Porfyriny</p>  <ul style="list-style-type: none">• Porfyrin, hematoporfyrin• 5-aminolevulonová kyselina• Benzoporfyrinové preparáty• Texafyriny
<p style="text-align: center;">Chlorofylové deriváty</p>  <ul style="list-style-type: none">• Chloriny• Purpuriny• Bakteriochloriny
<p style="text-align: center;">Barviva</p>  <ul style="list-style-type: none">• Ftalocyaniny• Naftalocyaniny

Optimální PS by měl splňovat tyto požadavky:

- a) fyzikální – maximální absorpce s vysokými extinkčními koeficienty při delších λ (700-850 nm) pro maximální penetraci do nádorové tkáně,
- b) chemické – známé složení, chemická čistota, vysoká stabilita, rozpustnost ve vodě pro parenterální podání,

- c) fotochemické – produkce dostatečného množství singletového kyslíku, dostatečná fluorescence pro spektroskopii, dostatečná fotostabilita,
- d) biologické – minimální fototoxicita, lokální toxicita pouze po ozáření světlem dané aktivační vlnové délky, dobrý farmakokinetický profil (selektivní kumulace v nádorové tkáni, rychlá eliminace neakumulovaného PS z krevního řečiště),
- e) klinické – bez interference s ostatní protinádorovou terapií,
- f) ekonomické – dobrá cena, snadná dostupnost, jednoduchý proces syntézy, výroby a distribuce.¹³

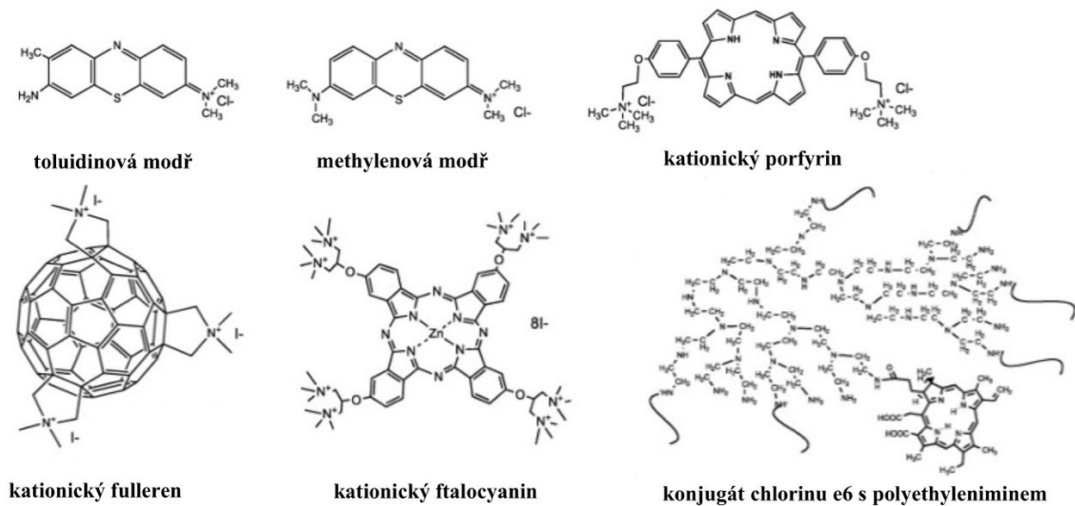
3.3 VYUŽITÍ FOTODYNAMICKÉ TERAPIE

PDT má vysoké uplatnění při léčbě různých druhů tumorů. V klinické praxi se zatím jedná o doplňkovou metodu k léčbě jiného druhu či jako léčba paliativní. S úspěchem byla PDT použita pro léčbu nádoru žaludku, hlavy a krku, tlustého střeva, ústní a nosní dutiny, hrtanu, hltanu, jícnu, plic, močového měchýře, prsu, genitálií, jater i mozku. Využití má také pro léčbu kožních lézí a tumorů (aktinická keratóza, T-lymfom,...). Aplikuje se v kožním lékařství na bradavice nebo pro léčbu lupénky.^{6,7}

3.4 DALŠÍ VYUŽITÍ PDT

3.4.1 ANTIMIKROBIÁLNÍ LÉČBA

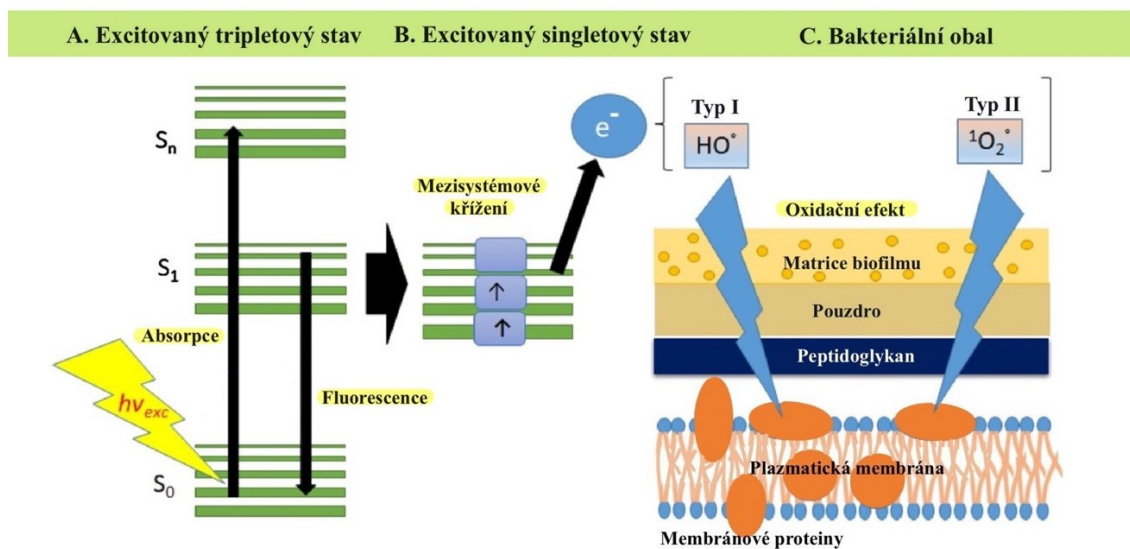
Fotodynamická terapie byla objevena před více než 100 lety pozorováním usmrcování mikroorganismů při kombinaci neškodných barviv a viditelného světla *in vitro*. Od té doby se vyvíjela především jako léčba rakoviny, oftalmologických poruch a v dermatologii.¹⁴ Mezi nové potenciální použití PDT se však v poslední době jeví antimikrobiální léčba z důvodu nárůstu bakterií rezistentních na antibiotika a antimikrobiální chemoterapeutika.¹⁵ Na Obr. 5 jsou uvedeny struktury potenciálních PS vhodných pro antimikrobiální léčbu.



Obrázek 5: Struktury potencionálních antimikrobiálních PS. Obrázek převzat a upraven dle ¹⁴.

Staphylococcus aureus je G^+ kulovitá bakterie, která běžně způsobuje různé infekce, které se mohou pohybovat od povrchových až po život ohrožující. Nemocniční kmeny této bakterie jsou často rezistentní vůči antibiotikům, což v posledních desetiletích znesnadňuje jejich léčbu. Slibným přístupem k překonání této multirezistence se jeví právě PDT.¹⁶

Kationické PS mají kvůli svému kladnému náboji tendenci se vázat na G^+ i G^- bakterie s vysokou afinitou. Antimikrobiální PDT je účinnější v inaktivaci G^+ bakterií v porovnání s G^- bakteriemi. Tato rozdílná citlivost bakterií vůči PDT je dána rozdíly ve struktuře buněčné stěny bakterií.^{15,17} Na Obr. 6 je znázorněn vliv PDT na bakteriální obal.

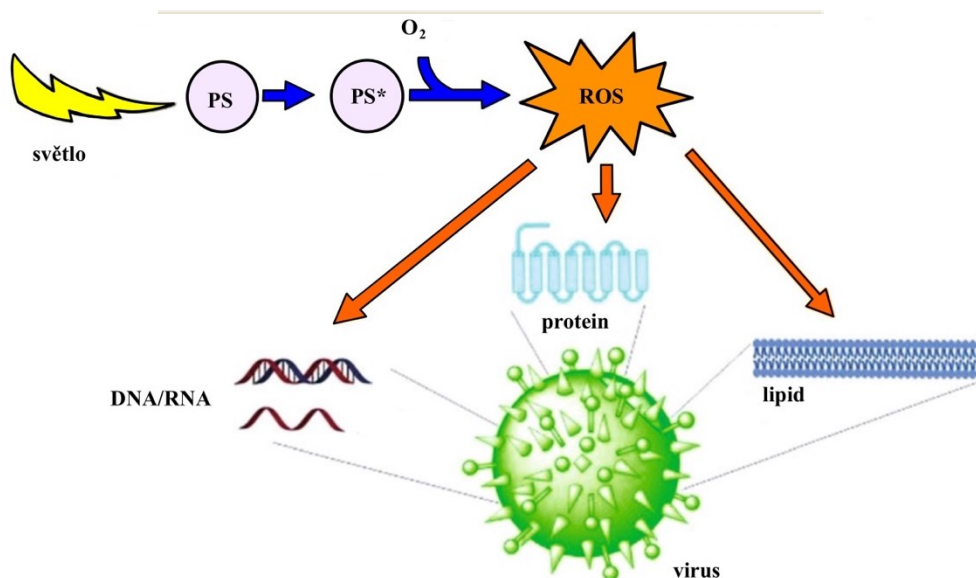


Obrázek 6: Vliv PDT na bakteriální obal. Obrázek převzat a upraven dle ¹⁶.

Při ozařování světlem produkuje PS vysoké množství ROS a tepla, které může poškozovat bakterie. PS jsou užitečné zejména pro léčbu povrchových infekcí, přičemž ty, které reagují na kratší vlnové délky okolo 450 nm jsou obzvláště účinné. Mezi takové PS patří například Hypocrellin B. Tyto sloučeniny mohou být aktivovány modrým světlem, které je energeticky bohatší a umožňuje účinnější expoziční časy. PS, které jsou účinné proti infekcím v hlubších vrstvách tkání, jako jsou měkké orgány, kosti, dutiny nebo na kmeny produkující biofilm, musí být excitovány delšími vlnovými délkami, blízko červené nebo infračervené, aby mohly pronikat lépe.¹⁶

3.4.2 LÉČBA VIROVÝCH INFEKČÍ

S rozšiřující se rezistencí a nárůstem nových infekcí si fotodynamická inaktivace (PDI) získává značnou pozornost. PDI virů sdílí obecný mechanismus účinku fotodynamických aplikací. Reaktivní formy kyslíku poškozují cíle viru reakcí s virovými nukleovými kyselinami, lipidy a proteiny, viz Obr. 7. Je zajímavé, že u některých PS byla zjištěna antivirová aktivita nezávislá na světle. V současnosti má PDI uplatnění v čištění krevních produktů a při léčbě projevů lidského papilomaviru.¹⁸

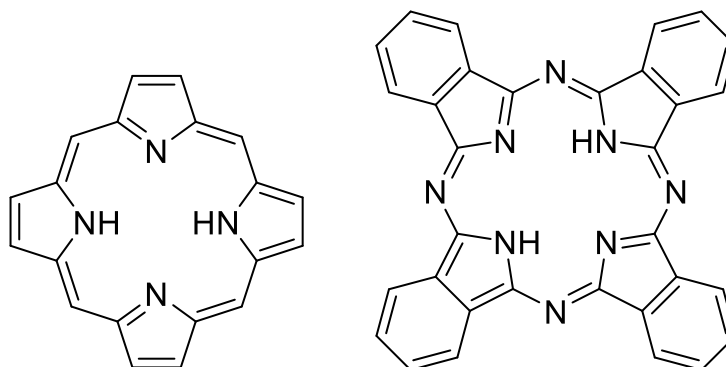


Obrázek 7: Cíle PDI virů (nukleové kyseliny, proteiny, lipidy). Obrázek převzat a upraven dle ¹⁸.

Topicky byla PDI testována na léčbu herpes simplex virus. Tato terapie odstranila genitální herpes, avšak nezabránila návratu infekce.¹⁵

3.5 FTALOCYANINY

Ftalocyaniny (Pcs) patří mezi dlouhodobě zkoumané PS. Pcs jsou strukturně velmi blízce příbuzné s porfyriny. Na Obr. 8 je znázorněno srovnání těchto dvou struktur. Jejich planární heterocyklická struktura se skládá ze čtyř isoindolových jader spojených dusíkovými můstky. Díky dvourozměrné delokalizaci jejich 18 π -elektronů mají jedinečné fyzikální a optické vlastnosti.^{8,19}



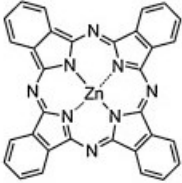
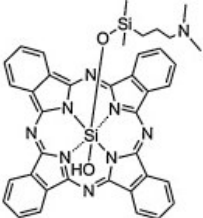

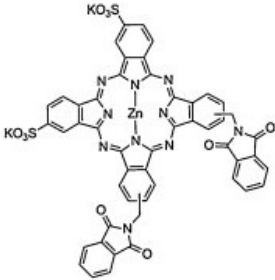
Obrázek 8: Srovnání struktury porfyrinu (vlevo) a Pc (vpravo). Obrázek upraven dle²⁰.

Mezi hlavní výhody Pc patří zejména: nízká cytotoxicita ve tmě, vysoká selektivita a specifita pro cílený nádor, rychlá clearance z těla a vysoká produkce $^1\text{O}_2$.⁸

Od svého prvního objevu před téměř sto lety se Pcs staly cílovými strukturami pro řadu výzkumníků. Využití mají jako barviva a pigmenty, porézní organické struktury, solární články citlivé na barviva a fluorescenční sondy. Jejich struktura je žádoucí v nelineární optice. Řadí se také mezi důležité PS pro PDT.^{21,22}

V Tab. 2 jsou uvedeny příklady Pcs využívaných či klinicky testovaných jako PS pro PDT.

Tabulka 2: Příklady Pcs používaných či klinicky testovaných pro PDT. Informace převzaty dle ²³.

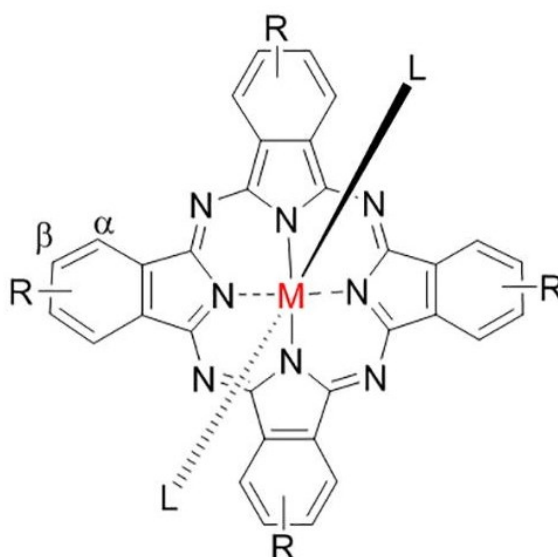
Obchodní názvy Pcs	Indikace
<p>CGP557847</p> 	<ul style="list-style-type: none"> časný nádor horních cest dýchacích
<p>Pc4</p> 	<ul style="list-style-type: none"> nádor tlustého střeva a vaječníků kožní malignity
<p>Photosens[®]</p> 	<ul style="list-style-type: none"> nádory kůže rakovina prsu, orofaryngeální nádory rakovina plic nádory očí a očních víček rakovina močového měchýře a děložního čípku
<p>Photocyanin 670</p> 	<ul style="list-style-type: none"> rakovina kůže rakovina jícnu

3.5.1 STRUKTURA FTALOCYANINŮ

Pcs jsou makrocyclické sloučeniny odvozené od porfyriu. Jejich struktura je tvořena konjugovaným systémem dvojných vazeb, které jím dodává zbarvení. Mohou obsahovat centrálně vázaný kationt kovu.^{24,25}

Nesubstituované Pcs jsou obecně málo rozpustné nejen ve vodě, ale i v organických rozpouštědlech, což limituje jejich použití.²⁶ Tato nerozpustnost je způsobena, tím že na sebe jednotlivé molekuly nasedají a tvoří hůře rozpustné agregáty molekul.²⁷ Jednoduchými chemickými modifikacemi lze ale měnit jejich fyzikálně-chemické vlastnosti, jako jsou například rozpustnost ve vodě, acidobazické vlastnosti nebo vlnová délka, při které absorbují světlo.^{24,26}

Pcs jsou schopné inkorporovat více než 70 různých kovových a nekovových kationtů do své dutiny ve středu kruhu. Další možností modifikace je připojení různých substituentů na okrajích makrocyklu. V závislosti na umístění substituentu rozlišujeme polohy periferní (β) a polohy neperiferní (α). Pokud jsou substituenty vázány na Pcs jádro ve všech polohách, označujeme tuto substituci jako hexadecimální. Dalším způsobem substituce je zavedení molekul na centrální atom kovu (Al^{3+} , Ga^{3+} , Si^{4+} , Sn^{4+} , Ge^{4+}) vazbou v axiální poloze (L). Tyto polohy jsou znázorněny na struktuře na Obr. 9. Jsou-li tyto substituenty hydrofobní, mohou sloužit ke zvýšení rozpustnosti v běžných organických rozpouštědlech.^{27,28}

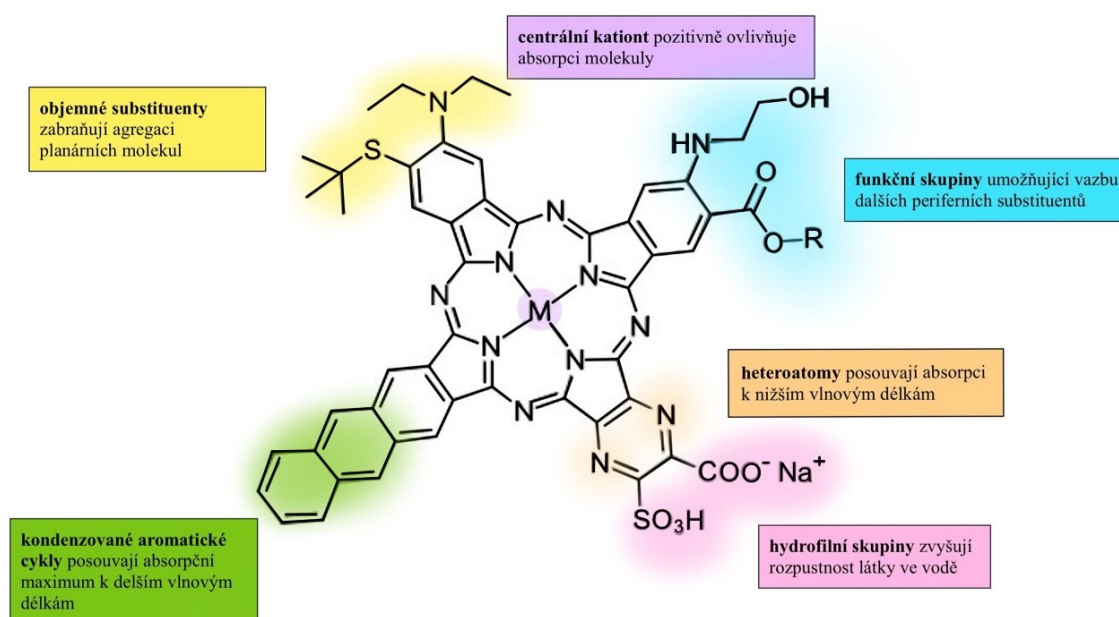


Obrázek 9: Chemická struktura Pc, kde M je centrální kov, R představuje substituent na jádře a L je axiální substituent. Obrázek převzat dle ²⁶.

3.5.2 FOTOFYZIKÁLNÍ A FOTOCHEMICKÉ VLASTNOSTI FTALOCYANINŮ

Pcs jsou účinné fotosenzitivní látky. Díky konjugovanému systému dvojných vazeb mají modré, zelené až fialové zbarvení. Tyto vysoce konjugované systémy poskytují přirozeně Pc silnou absorpci v oblasti Q-pásu (670-850 nm) díky účinným $\pi\text{-}\pi^*$ přechodům. Díky tomu aktivační světlo může hlouběji penetrovat tkání. Pcs vykazují vysoký kvantový výtěžek $^1\text{O}_2$.^{25,29} Pcs zároveň vykazují nízkou nebo žádnou absorpci v rozsahu 400-600 nm, což může minimalizovat fotosenzitivitu kůže.²⁶

Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti mohou být ovlivněny různými způsoby viz Obr.10.



Obrázek 10: Chemická modifikace Pc. Obrázek vytvořen dle informací z ^{26,27}.

- Komplexy Pc s Cu^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Pd^{2+} zkracují dobu života tripletového stavu. Komplexy s Zn^{2+} , Al^{3+} , Ga^{3+} produkují naopak vysoké výtěžky tripletového stavu s dlouhou dobou života, což je nutné pro dobrou produkci singletového kyslíku.³⁰
- Výtěžky $^1\text{O}_2$ jsou ovlivnitelné periferní i axiální substitucí Pc.^{30,31}
- Pcs bez centrálního kationtu nevykazují téměř žádné kvantové výtěžky.³²
- První spojovací atom na spojnici makrocyklu s periferním řetězcem vykazuje efekt těžkého atomu a tedy vyšší produkci singletového kyslíku.³³
- Substituce periferie halogenem může zvýšit produkci singletového kyslíku a snížit fluorescenci.³⁴

3.5.3 PŘÍPRAVA FTALOCYANINŮ

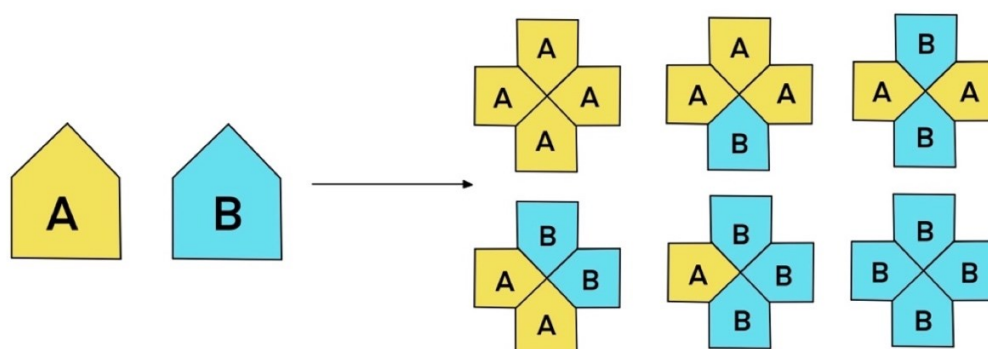
Základem pro přípravu Pcs je jedнокroková cyklotetramerizace z kyseliny ftalové a jejích derivátů (ftalanhydridu, ftalimidu, ftalonitrilu). Obvykle reakce probíhá za zvýšené teploty ve vroucím rozpouštědle nebo tavením samotných výchozích látek. Kovové Pcs lze připravit včleněním centrálního kationtu do hotového Pc nebo výměnou centrálního kationtu. Další metodou přípravy je zmenšení makrocyklu superftalocyaninů nebo zvětšení subftalocyaninů.²⁸

Pcs mohou mít symetrický i nesymetrický charakter. Symetrické Pcs jsou připravovány cyklotetramerizací jednoho jediného prekurzoru. Nesymetrické Pcs vznikají cyklotetramerizací dvou anebo více různě substituovaných nebo jinak strukturně pozměněných prekurzorů.²⁸

Mezi metody přípravy nesymetrických Pcs patří:

a) Statistická kondenzace

Tato neselektivní metoda funguje na principu reakce prekurzoru A s prekurzorem B za vzniku směsi různě zastoupených Pcs (AAAA, AAAB, AABB, ABAB, ABBA, BBBB).^{28,35} Na Obr. 11 je znázornění vzniku směsi kongenerů.



Obrázek 11: Schéma vzniku směsi kongenerů Pc. Obrázek vytvořen dle²⁸.

b) Subftalocyaninová metoda

Subftalocyaninová metoda je selektivnější než metoda statistická. Dochází k rozšíření kruhu subftalocyaninu jeho reakcí s prekurzorem ve formě isoindolindiiminu. Při zahřívání subftalocyaninu AAA s přidavkem prekurzoru B dochází k rozpojení řetězce mezi dvěma isoindolovými jednotkami a ke včlenění prekurzoru B do makrocyklu.^{35,36}

c) Metoda s využitím pevné fáze

Pro tuto metodu je důležitá přítomnost vhodné funkční skupiny, která umožní vazbu na pevnou fázi, ale i její následné snadné odštěpení. Principem metody je navázání takto vhodně substituovaného ftalonitrilu (B) na polymerní pevnou fázi. K tomuto nerozpustnému prekursoru se přidá odlišně substituovaný ftalonitril A, čímž se získá AAAB Pc navázaný na pevnou fázi. Takto vzniklý Pc je následně odštěpen z polymerní fáze pomocí promývání pevné fáze rozpouštědlem.^{35,37}



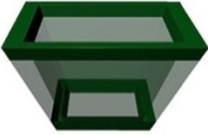



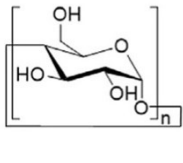
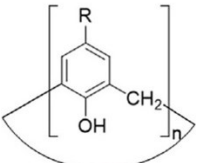
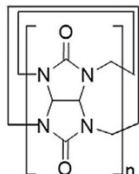
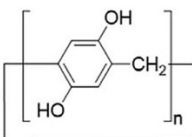
3.5.4 AGREGACE FTALOCYANINŮ

Hlavní nevýhodou Pcs je jejich velmi špatná rozpustnost především ve vodě. Tato nerozpustnost je způsobena tzv. agregací Pcs. K agregaci dochází z důvodu hydrofobní povahy jádra a planární makrocyclické struktury Pcs. Pcs vlivem silných π - π interakcí mají tendenci k tvorbě dimerů a vyšších agregátů.^{1,38,39}

Tvorba agregátů může být potlačena zavedením objemných periferních nebo axiálních substituentů. V literatuře se často vyskytuje strategie zavedení nabitých periferních substituentů (aniontových nebo kationtových), které fungují na principu elektrostatické odpuzivé síly mezi jednotlivými molekulami.^{1,40}

Dalším potenciálním přístupem, jak dosáhnout monomerizace Pcs ve vodě, je tvorba supramolekulárních komplexů. PS nebo jeho část je jako „host“ enkapsulovaný do „hostitelské“ molekuly, kterou bývá nejčastěji cyklodextrin (CD), crownether (CE), kukurbit[n]uril (CB), kalix[n]arén (CA) nebo pillar[n]arén (PA).^{1,41} Struktury hostitelů jsou uvedeny v Tab. 3.

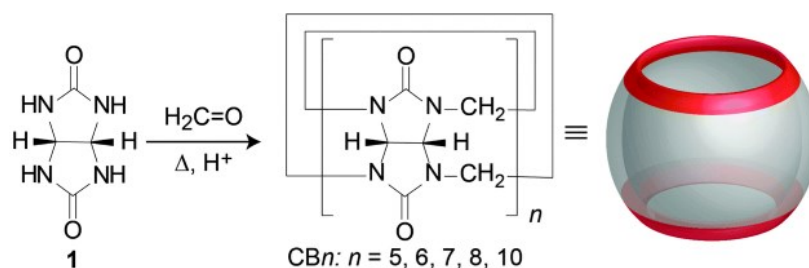
Tabulka 3: Přehled hostitelských molekul pro tvorbu supramolekulárních komplexů s PS dle ⁴¹.

				
				
Crownether	Cyklodextrin	Kalixaren	Kukurbituril	Pillararen
CE	CD	CA	CB	PA

Supramolekulární komplexy využívají nekovalentní interakce, mezi které se řadí van der Waalsovy síly, interakce π - π , hydrofobní interakce a tvorba koordinačních a vodíkových vazeb.³⁹

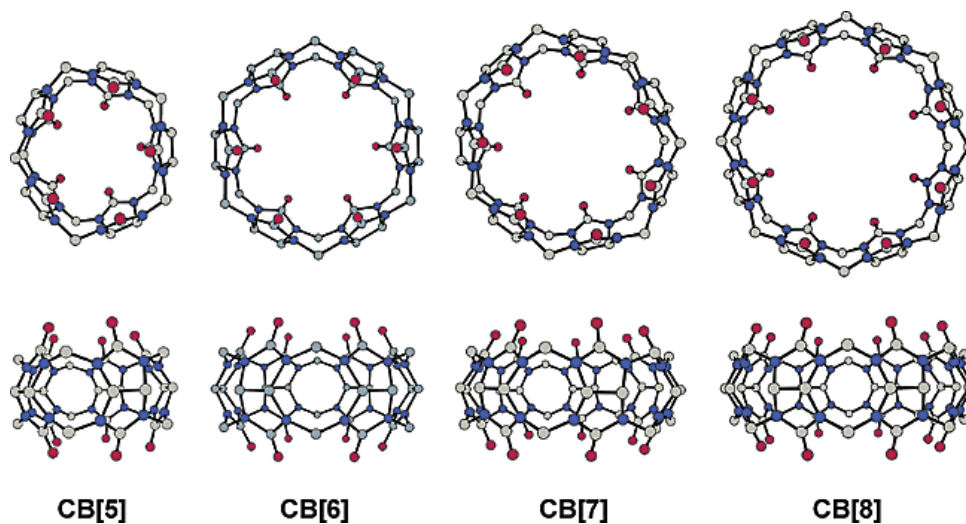
3.6 KUKURBITURIL

V roce 1905 byla kondenzací glykolurilu a formaldehydu v koncentrované HCl získána nerozpustná polymerní látka známá jako Behrendův polymer. Jeho syntéza je znázorněna na Obr. 12. Až do roku 1981 bylo složení této látky neznámé. Tato makrocyclická struktura obsahuje šest glykolurilových jednotek a dvanáct methylenových můstků. Pro podobnost s dýní byla struktura pojmenována kukurbituril (CB).⁴²



Obrázek 12: Syntéza homologů CBn kondenzací glykolurilu (1) a formaldehydu za kyselých podmínek. Obrázek převzat dle ⁴³.

Kukurbit[n]urily (CB) jsou symetrické makrocykly, které se skládají z n glykolurilových jednotek ($n = 5, 6, 7, 8, 10, 14$), které jsou propojeny methylenovými můstky. Struktury těchto jednotlivých homologů jsou na Obr. 13. Mají hydrofobní vnitřní dutinu a karbonylem vázané portály upřednostňující zejména hosty se středně dlouhým alkylovým řetězcem nebo arylou částí a pozitivně nabitě koncové skupiny (ammonium nebo pyridinium).⁴⁴



Obrázek 13: X-ray struktury kukurbiturilů. Obrázek převzat z ⁴⁵.

Skupina CB[n] má řadu vlastností, které naznačují jejich vysoký potenciál. Mezi tyto vlastnosti patří:

1. komerční dostupnost ve čtyřech různých velikostech,
2. vazebné interakce s vysokou afinitou,
3. vysoká selektivita vazby,
4. syntetická kontrola rozměru, tvaru a umístění funkční skupiny,
5. vysoká strukturální integrita.⁴²

Mají významné využití z hlediska stabilizace a deagregace látek zapouzdřením v makrocyklu.⁴⁴ Tvoří stabilní komplexy s řadou barviv, fluoroforů, proteinů, peptidů a léčiv.⁴⁶ Jejich omezení může být však v jejich relativně špatné rozpustnosti ve vodě. CB[6] a CB[8] jsou v podstatě nerozpustné, zatímco CB[5] a CB[7] mají ve vodě mírnou rozpustnost.⁴²

CB homology sdílejí stejné charakteristické rysy. Nicméně mají různé velikosti dutin a portálů, které vedou k pozoruhodným molekulárním rozpoznávacím a odlišným vlastnostem.⁴⁵ Rozdíly mezi jednotlivými CB jsou uvedeny v Tab. 4.

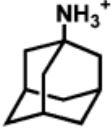
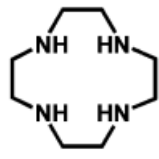
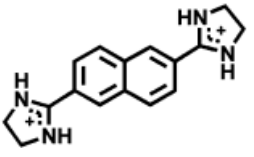
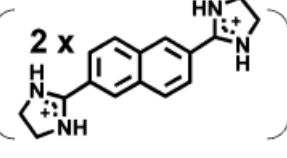
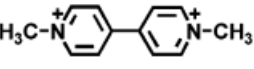
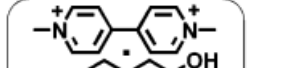
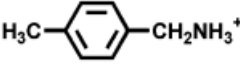

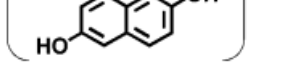
Tabulka 4: Parametry jednotlivých kukurbiturilů. Převzato dle ⁴⁵.

		CB[5]	CB[6]	CB[7]	CB[8]
vnější průměr (Å)	a	13.1	14.4	16.0	17.5
dutina (Å)	b	4.4	5.8	7.3	8.8
	c	2.4	3.9	5.4	6.9
výška (Å)	d	9.1	9.1	9.1	9.1
objem dutiny (Å³)	-	82	164	279	479

3.6.1 HOSTITEL-HOST KOMPLEX

Velikost vnitřní dutiny se zvyšuje s nárůstem počtu fragmentů glykolurilu, což má za následek možnost tvorby komplexů hostitel-host s většími molekulami. CB[5] může ve své dutině vázat malé molekuly jako je N₂ a ve svých portálech silně vázat kationty jako je NH₄⁺ a Pb²⁺. CB[6] tvoří velice stabilní komplexy s (⁺NH₃(CH₂)_nNH₃⁺) a středně stabilní komplexy s protonovanými aromatickými aminy (p-methylbenzylamin). Lze zde vázat také neutrální molekuly jako je tetrahydrofuran a benzen. CB[7] tvoří komplexy s 2,6-disubstituovanými naftaleneny, methyl viologeny a adamantylaminy. CB[7] a aminoadamantan mají velmi silnou interakci. Hodnota K_a pro interakci 1-aminoadamantanu s CB[7] je 4,23 ± 1 × 10¹² M⁻¹.⁴⁷ Může navázat i neutrální molekuly, ferroceny a karbonáty. Velikost CB[8] je ideální pro vazbu 2,6-disubstituovaných naftalenů. Oproti ostatním CB má CB[8] unikátní vlastnost v tom, že může navázat 2 molekuly, jako je například 2,6-dihydroxyoxynaftalen a methyl viologen.⁴⁶ Příklady těchto hostů jsou přehledně uvedeny v Tab. 5.

Tabulka 5: Příklady molekul hostů schopných vytvořit komplex s CB. Převzato dle ⁴⁶.

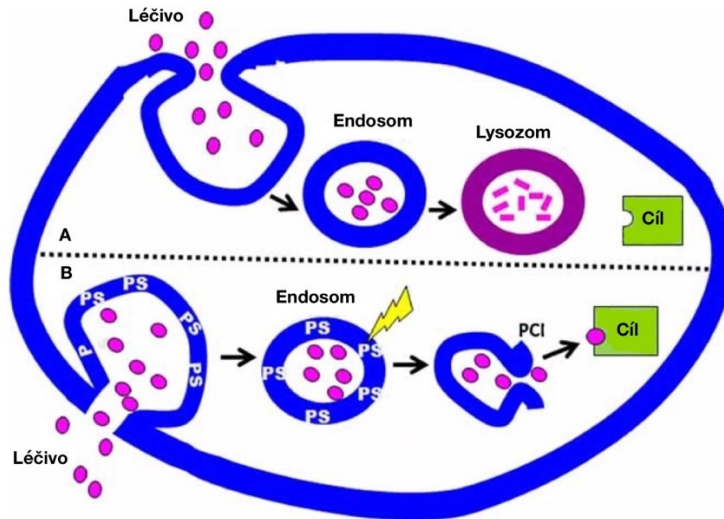
CB[5]	CB[6]	CB[7]	CB[8]
N ₂ , O ₂ , Ar	⁺ NH ₃ (CH ₂) _n NH ₃ ⁺		
NH ₄ ⁺	THF		
ionty alkalických kovů	benzen		
Pb ²⁺ , Ca ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺			

3.7 FOTOCEMICKÁ INTERNALIZACE

Fotochemická internalizace (PCI) je technologický postup k usnadnění dodávání bioaktivních látek do cytosolu buněk. Umožňuje dodávání oligonukleotidů, imunokonjugátů nebo genů.⁴⁸

Pro techniku PCI je vhodná celá řada makromolekulárních látek, které jsou jinak náchylné k sekvestraci v endosomech a lyzosomech. PCI podporuje přesun makromolekulárních látek z endosomu do cytosolu nádorové buňky za pomoci PS. V kombinaci PS a ozáření buněk se následně tvoří reaktivní formy kyslíku (ROS), které poškozují endosomální membrány a činí je propustnými pro endocytované molekuly.⁴⁹

Princip PCI je znázorněn na Obr. 14. V části A je znázorněn příjem léčiva endocytózou a následný transport do lyzozomu. Takto podaná léčiva jsou následně odbourávána dříve, než začnou působit. V části B je znázorněno PCI. V endosomech a lyzosomech dochází k akumulaci PS. Jako PS se využívají nejčastěji amfifilní látky, jelikož se mohou zakomponovat do buněčné membrány (součást membrány endosomů). Následné působení viditelného světla způsobí protržení endo/lyzozomální membrány a uvolnění léčiva do cytosolu, kde může uplatnit svůj účinek.⁵⁰



Obrázek 14: Princip PCI. Obrázek převzat a upraven z ⁵⁰.

Na rozdíl od PDT funguje PCI primárně na principu usmrcení nádorové buňky podávaným makromolekulárním léčivem, nikoli fotochemickou reakcí.⁴⁸ V Tab. 6 jsou přehledně uvedeny zásadní rozdíly mezi PDT a PCI.

Až 50 % maligních nádorů je rezistentních k chemoterapii. Výhodou PCI je tedy překonání lékové rezistence a dosažení léčiva jeho zamýšleného subcelulárního cíle.^{48,51}

Mezi další výhody PCI patří nižší nebo žádná fotosenzitivita kůže, lepší účinnost a selektivita terapie.¹¹

Některé studie potvrdily, že PCI vykazuje lepší cílený účinek na periferní nádor a podstatně snižuje recidivu. Technologie PCI může do budoucna zlepšit výsledky léčby, především některých indikací původně schválených pro metodu PDT, kde nebyla léčba účinná.⁵²

Tabulka 6: Rozdíl mezi PDT a PCI. Tabulka vytvořena dle zdrojů uvnitř tabulky.

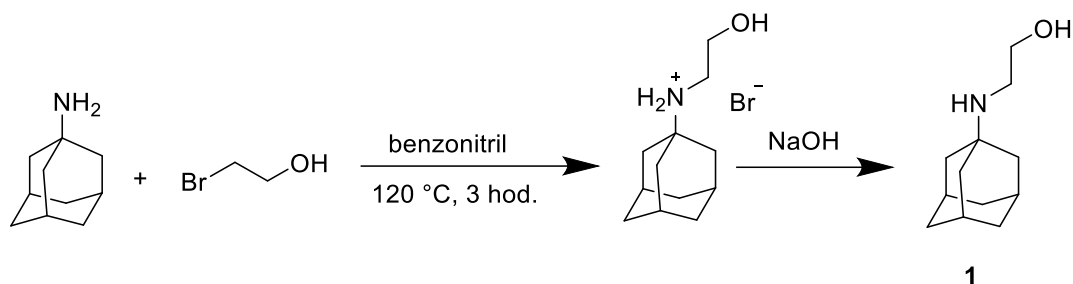
PDT	PCI
Léčba primárně pomocí fotochemické reakce. ⁴	Léčba podávaným makromolekulárním léčivem. ⁴⁸
Využití především pro povrchové a solidní nádory. ⁵	Umožňuje řízené dodávání chemoterapeutických léků do specifických nádorových buněk. ^{48,53}

Fotosenzitivní reakce na kůži. ⁵	Snížená nebo žádná fotosenzitivita kůže. 11,48
Využívá produkci ROS k cytotoxickému generalizovanému poškození, které vede k buněčné smrti. ⁷	Cytotoxické poškození pomocí ROS je směřováno do membrán endosomů obklopujících endocytované léčivo. ⁵³
Vyžaduje vyšší dávky PS. ⁵⁴	Stačí nižší dávky PS. ⁵⁴

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Výchozí látky a rozpouštědla pro reakce byly v analytické kvalitě. Byly zakoupeny od certifikovaných dodavatelů Sigma-Aldrich, Acros, TCI Europe nebo Merck. Pro tenkovrstvou chromatografii (TLC), která byla využívána pro sledování průběhu reakcí a čistoty, byly použity hliníkové fólie pokryté silikagelem 60 F254 (Merck). Jako detekční činidlo bylo využíváno Dragendorfovo činidlo. Čištění produktů bylo prováděno pomocí sloupcové chromatografie za použití Merck Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm). ^1H NMR a ^{13}C NMR spektra byla měřena na přístroji VARIAN VNMR S500 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) a Jeol JNM-ECZ600R (Jeol, Akišima, Japonsko). TLC/MS bylo měřeno na Advion Plate Express Automated TLC Plate Reader a expression L Compact Mass Spectrometer (Advion, Ithaca, Ny, USA). Odpařování zbytkových rozpouštědel probíhalo na rotační vakuové odparce Hei-VAP Value od firmy Heidolph. K detekci látek pod UV světlem o vlnové délce 254 a 366 nm byla používána UV lampa UV240 firmy A.KRÜSS Optronic GmbH. Teploty tání byly měřeny pomocí bodotávku Stuart SMP20 Melting point apparatus (Bibby Scientific Limited, Staffordshire, UK). Struktury byly vytvořeny pomocí programu ChemDraw 20.0 (PerkinElmer Informatics, Waltham, MA, USA).

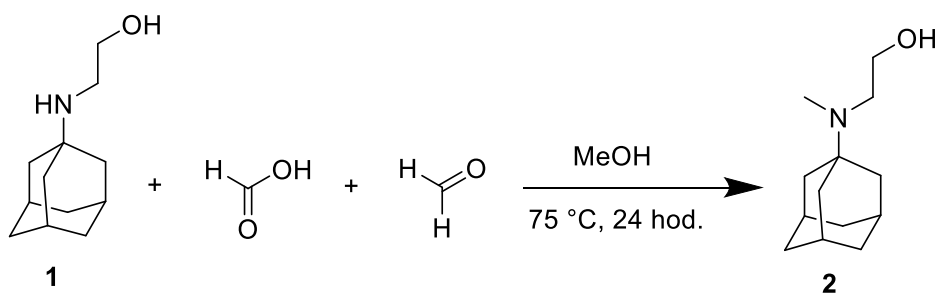
4.1 SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)-AMINO)ETHAN-1-OLU (1)



V destilační baňce byl 1-aminoadamantan (10 g; 66 mmol) rozpuštěn benzonitril (50 ml). K roztoku byl následně přidán 2-bromoethanol (5,59 ml; 79 mmol). Směs byla přibližně 3 hodiny zahřívána při 120 °C pod zpětným chladičem. Na vakuové rotační odparce bylo následně částečně odpařeno rozpouštědlo. Po ochlazení se vytvořila sraženina *N*-(2-hydroxyethyl)adamantan-2-aminium bromidu, která byla odsáta na fritě, následně rozpuštěná ve vodě a přidal se hydroxid sodný do bazického pH roztoku. Směs byla následně vytřepána do chloroformu. Organická část byla vysušena síranem sodným, zfiltrována přes skládaný papír a odpařena. Po odpaření chloroformu následně vznikla bílá olejovitá sloučenina **1**, která postupně ztuhla. Bylo získáno 11,4 g produktu **1** (výtěžek reakce 88 %).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 3.59 – 3.54 (m, 2H), 2.74 – 2.69 (m, 2H), 2.04 (q, $J = 3.2$ Hz, 3H), 1.67 – 1.52 (m, 12H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 61.87, 50.29, 42.98, 41.82, 36.77, 29.63.

4.2 SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)ETHAN-1-OLU (2)



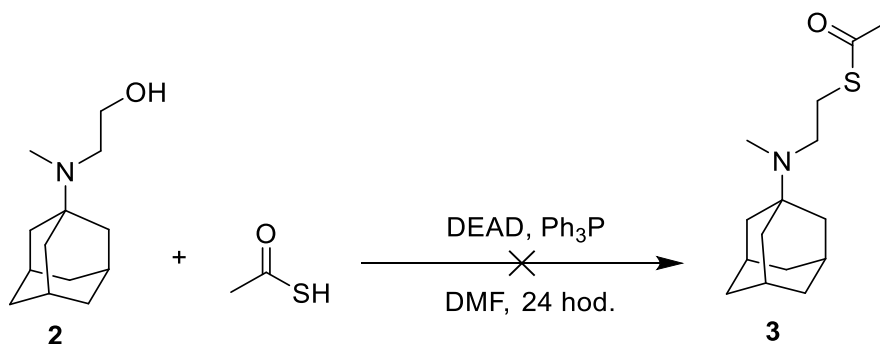
Výchozí látka **1** (5,88 g; 30,11 mmol) byla v destilační baňce rozpuštěna v MeOH (25 ml). V dalším kroku byla přidána kyselina mravenčí (13,52 ml; 301 mmol)

a formaldehyd (11,51 ml; 150,5 mmol). Směs se nechala míchat při teplotě varu rozpouštědla po 24 hodin. Následující den byl odpařen zbytek rozpouštědla (MeOH). Do směsi se následně přidala voda. Směs byla zalkalizovaná roztokem NaOH a vytřepána do CHCl₃. Organická část byla vysušena bezvodým síranem sodným, přefiltrována a odpařena na vakuové rotační odparce. Získali jsme 5,7 g světle žluté olejovité látky **2** (91 %). Produkt následně ztuhl na bílou pevnou látku.

t.t. 55,5-58,1°C. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 3.49 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 2.57 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.06 (d, J = 4.8 Hz, 3H), 1.72 – 1.52 (m, 12H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 58.30, 53.93, 49.68, 39.04, 36.86, 32.80, 29.64.

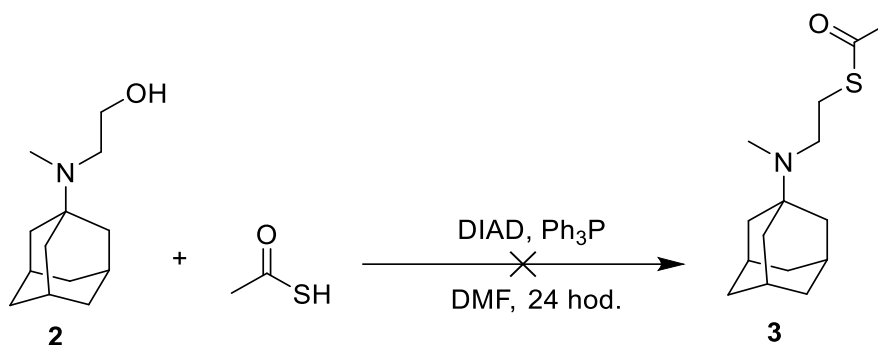
4.3 SYNTÉZA

2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO) ETHYLTHIOACETÁTU (3) POMOCÍ DEAD V DMF



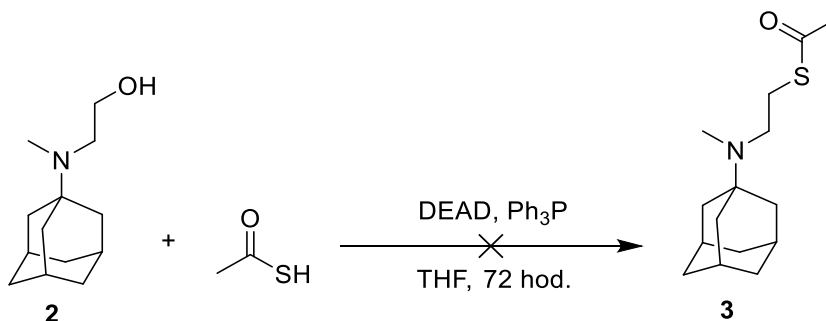
V destilační baňce byl trifenylofosfin (0,52 g; 1,98 mmol) rozpuštěn v DMF (5 ml). Dále do baňky byl přidán DEAD (0,55 ml; 6,37 mmol). Směs byla míchána 1 hodinu při chlazení ledem na 0 °C. Po hodině se nechal roztok ohřát zpět na pokojovou teplotu. Při pokojové teplotě byla přidána látka **2** (300 mg; 1,4 mmol) rozpuštěná v DMF (1 ml). Následně byla do směsi přidána thiooctová kyselina (0,199 ml; 2,79 mmol). Reakce byla ponechána za stálého míchání při pokojové teplotě přes noc. Následující den byla směs nalita do vody, vytřepána s chloroformem a odpařena. Reakční směs byla následně zahuštěna na vakuové odparce a přečištěna pomocí sloupcové chromatografie. Mobilní fázi tvořila směs CHCl₃:MeOH v poměru 30:1 (R_f = 0,36). Frakce s domnělým produktem **3** byla předána k NMR analýze, která produkt neprokázala.

4.4 SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)ETHYLTHIOACETÁTU (3) POMOCÍ DIAD



V destilační baňce byl rozpuštěn trifenylofosfin (0,527 g; 2,01 mmol) v DMF (5 ml). Následně byl přidán DIAD (0,56 ml; 2,84 mmol). Směs se nechala míchat 1 hodinu při chlazení ledem na 0 °C. Při pokojové teplotě po uplynutém čase byla přidána látka **2** (300 mg; 1,4 mmol) rozpuštěná v DMF (1 ml). Následně byla do směsi přidána thiooctová kyselina (0,1991 ml; 2,79 mmol). Reakce při pokojové teplotě probíhala za stálého míchání přes noc. Následující den byla směs přelita do vody a vytřepána s chloroformem. V dalším kroku bylo odpařeno rozpouštědlo na vakuové rotační odparce. Produkt **3** byl předán k analýze NMR, která náš cílový produkt nepotvrdila.

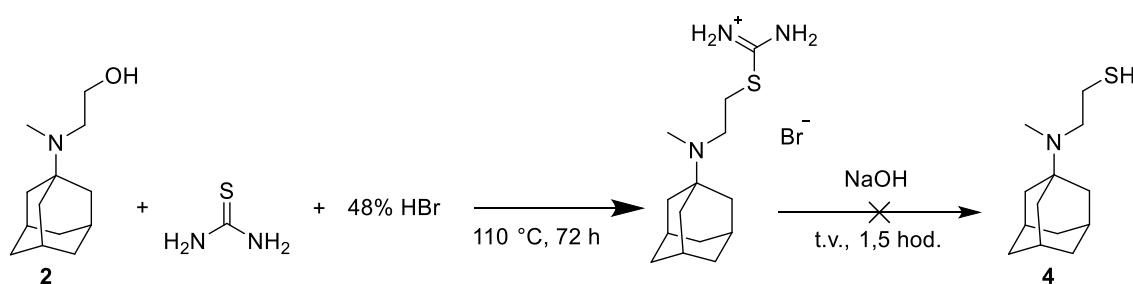
4.5 SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)ETHYLTHIOACTÁTU (3) POMOCÍ DEAD V THF



V destilační baňce bylo smíšeno bezvodé THF (5 ml), trifenylofosfin (0,525 g; 2,0 mmol) a DEAD (0,475 ml; 3,02 mmol) pod argonem při 0 °C. Byla přidána látka **2** (0,3 g; 1,4 mmol) předem rozpuštěná v bezvodém THF (1 ml). Do roztoku byla následně přidána kyselina thiooctová (0,2 ml; 2,8 mmol). Reakční směs se nechala míchat 3 dny

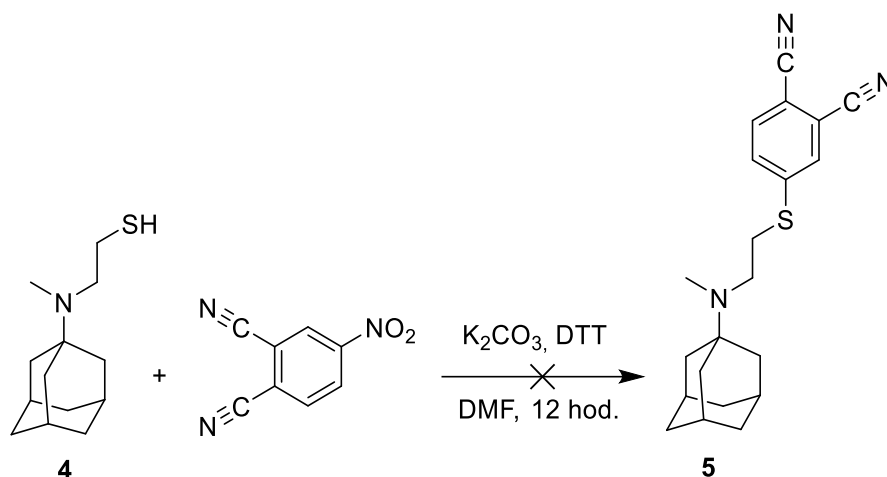
při pokojové teplotě. Vznikl tmavý nehomogenní roztok, který se přelil do vody. Směs byla vytřepána v dělicí nálevce do chloroformu. Roztok byl vysušen síranem sodným a zfiltrován. Reakční směs byla následně zahuštěna na vakuové odparce a přečištěna pomocí sloupcové chromatografie. Jako mobilní fáze byla použita směs $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ v poměru 10:1 ($R_f = 0,4$). Přečištěná frakce byla předána na NMR analýzu, která produkt nepotvrdila. Bylo provedeno také TLC MS, které také nepotvrdilo produkt. Viditelný byl pouze trifenyfosfin.

4.6 SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)ETHAN-1-THIOLU (4)



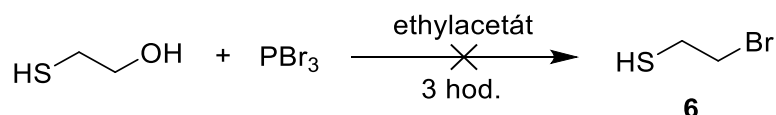
V destilační baňce byla látka **2** (0,5 g, 2,38 mmol) smíchána s thiomocovinou (0,222 g; 2,89 mmol) a HBr 48% (0,812 ml; 7,2 mmol). Tato směs byla pod zpětných chladičem míchána při $110\text{ }^\circ\text{C}$ 3,5 dne. Směs se nechala ustálit na pokojovou teplotu. Následně byl do směsi přidán NaOH (0,321 g; 8,02 mmol). Reakce se ponechala reagovat 1,5 hodiny při teplotě varu rozpouštědla. Vodná fáze byla zředěna přibližně 10 ml vody a zalkalizována na pH 13 pomocí 3M NaOH. V dělicí nálevce byla následně vytřepána s CHCl_3 . Rozpouštědlo bylo následně odpařeno pomocí rotační vakuové odparky. Směs byla zahuštěna na vakuové odparce a následně přečištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází methanol. Přečištěná frakce byla předána k NMR analýze. Produkt **4** nebyl potvrzen. Dle výsledků reakce pravděpodobně neproběhla. Viditelná byla pouze výchozí látka.

4.7 REAKCE LÁTKY 4 S 4-NITROFTALONITRILEM



I když nebyl potvrzený produkt **4**, zkusili jsme ho nechat reagovat s 4-nitroftalonitrilem. V destilační baňce byl suspendovaný K_2CO_3 (0,0458 g; 0,332 mmol) v přibližně 1-2 ml DMF. Směs byla dána na 15 minut pod ultrazvuk. Pak byla do roztoku přidána látka **4** (0,150 g; 0,665 mmol) rozpuštěná v DMF. Postupně byl přidán 4-nitroftalonitril (0,0574 g; 0,332 mmol) při pokojové teplotě v časových úsecích během 1 hodiny. Směs se nechala do druhého dne míchat při pokojové teplotě. Následně byl do roztoku přidán dithiothreitol (DTT, 69 mg; 0,45 mmol) rozpuštěný v 2-3 ml methanolu. Směs byla následně vytřepána s vodou a chloroformem. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno na rotační vakuové odparce. TLC s mobilní fází aceton neprokázalo proběhnutí reakce.

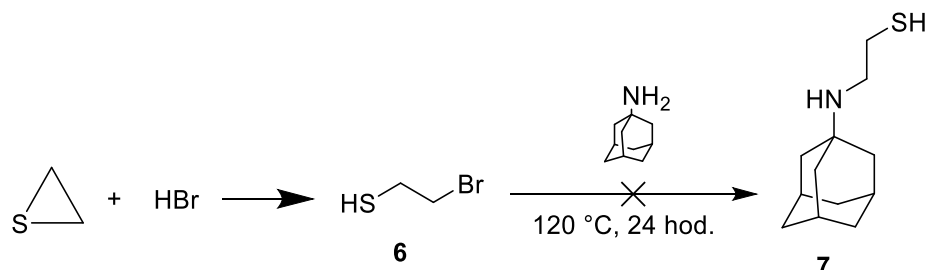
4.8 SYNTÉZA 2-BROMETHAN-1-THIOLU (6)



Do destilační baňky byl k 2-merkptoethan-1-olu (7 ml; 99,40 mmol) přidán bromid fosforitý (3 ml; 31,58 mmol) při teplotě $-5\text{ }^\circ\text{C}$. Směs se nechala míchat přibližně 3 hodiny při pokojové teplotě. Vznikla tuhá sraženina o konzistenci „žvýkačky“. Směs byla problematická na míchání. Do baňky byl přidán ethylacetát, který lehce sraženinu rozpustil. V dělicí nálevce byla směs vytřepána s vodou. Organickou fází jsme

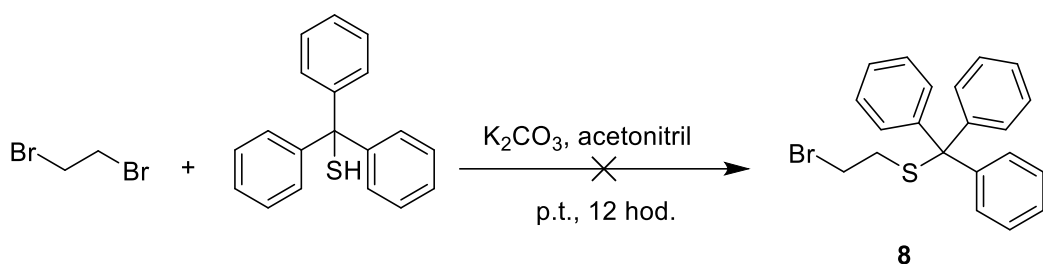
oddestilovaly při 144 °C při normálním tlaku. Z destilátu bylo provedeno TLC MS a NMR analýza. Ani jedna analýza nepotvrdila vznik látky **6**.

4.9 SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)AMINO)ETHAN-1-THIOLU (**7**)



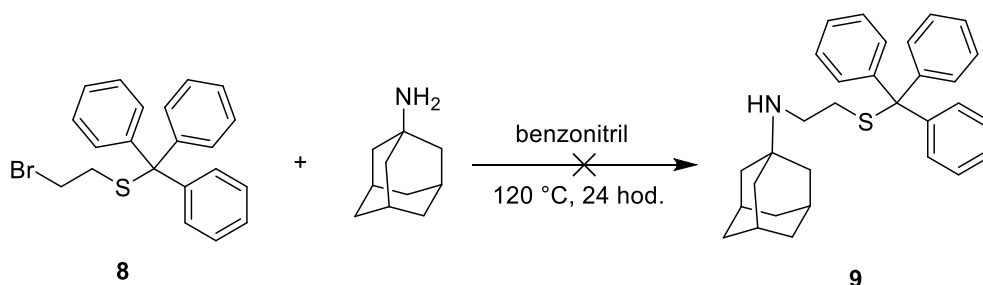
V baňce byl smíchán thiiran (1,26 ml; 42,4 mmol) a kyselina bromovodíková 48% (2 ml; 17,68 mmol) za pokojové teploty. Vznikla bílá suspenze. Směs byla nabrána do plastové stříkačky a nechala se přibližně 30 minut ve svislé poloze. Během usazování došlo k oddělení spodní olejové fázi produktu. Spodní frakce byla změřena na MS. Přesto že NMR analýza nepotvrdila jednoznačně látku **6**, byla dále použita v reakci. Do destilační baňky byl klátce **6** (5,93 g; 42,38 mmol) přidán 1-aminoadamantan (7,68 g; 50,77 mmol) v benzonitrilu (15 ml). Reakční směs byla ponechána za stálého míchání při 120 °C pod zpětným chladičem 24 hodin. Poté byla vzniklá sraženina odfiltrována pod vakuem a následně rozpuštěna ve vodě. Vzniklý roztok byl zalkalizován pomocí NaOH do neutrální až lehce alkalické oblasti. Látka z takto připraveného roztoku byla vytřepána v dělicí nálevce do chloroformu. Roztok byl vysušen síranem sodným, přefiltrován a následně odpařen na vakuové rotační odparce. Na TLC nebyl viditelný produkt **7**. MS (APCI) m/z vypočteno pro C₂H₅BrS 141,93; nalezeno 140,8 [M+H]⁺.

4.10 SYNTÉZA 2-BROMETHYL(TRITYL)SULFIDU (**8**) V ACETONITRILU



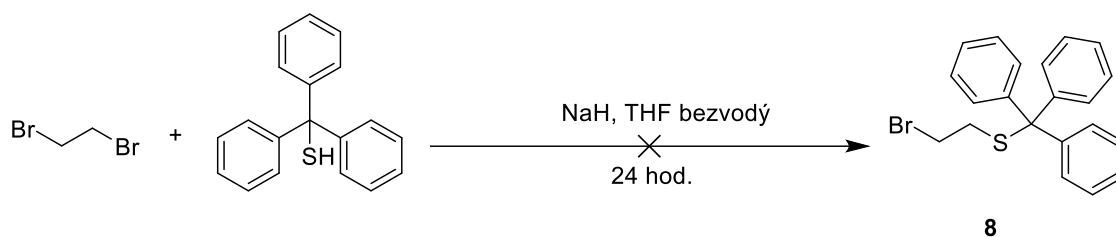
Laboratorní sklo pro reakci bylo před použitím řádně vysušeno. K_2CO_3 (2,238 g; 16,2 mmol) byl suspendován v bezvodém acetonitrilu (10 ml) pod argonem. Do suspenze byl přidán trifenylmethanthiol (0,5 g; 1,8 mmol) za pokojové teploty. Reakční směs byla míchána 30 minut při pokojové teplotě. Vznikla světle žlutá suspenze. Reakční směs byla zchlazena na 0 °C. Postupně byl skrz septum přidán 1,2-dibrommethan (1,09 ml; 12,6 mmol). Směs se nechala míchat 1 hodinu při 0 °C a následně při pokojové teplotě 24 hodin. Vznikla bílá suspenze. Rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové rotační odparce. Zbytek po odpaření byl rozpuštěn v diethyletheru a v dělicí nálevce promyt nasyceným roztokem NaCl. Následně byla organická fáze vysušena síranem sodným, zfiltrována a odpařena na rotační vakuové odparce. Produkt **8** byl zkontrolován pomocí TLC MS. Jako mobilní fáze byla zvolena směs hexan:dichlormethan v poměru 50:1. Žádnou blízkou hodnotu požadované hodnotě jsme však nenaměřily.

4.11 SYNTÉZA N-(2-(TRITYLTHIO)ETHYL)ADAMANTAN-1-AMINU (**9**)



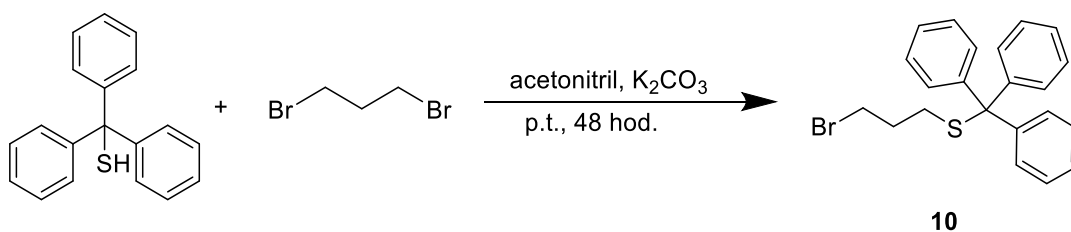
Látka **8** z předchozí reakce (0,3g; 2,5 mmol) byla smíšena s roztokem 1-aminoadamantanu (0,38 g; 2,51 mmol) v benzonitrilu (5 ml) při 120 °C. Reakce se nechala míchat den pod zpětným chladičem. Vznikla suspenze červené barvy. Precipitát z reakční směsi byl zfiltrován a rozpuštěn ve vodě. Byl přidán hydrogenuhličitan sodný a hydroxid sodný pro převedení do alkalické oblasti. Následně byla směs vytřepána v dělicí nálevce s chloroformem a odpařena na rotační vakuové odparce. Ze vzorku látky **9** bylo provedeno TLC s mobilní fází hexan:dichlormethan 50:1, které prokázalo pouze 1-aminoadamantan.

4.12 SYNTÉZA 2-BROMOMETHYL(TRITYL)SULFIDU (8) V THF



Laboratorní sklo pro reakci bylo před použitím řádně vysušeno. Hydrid sodný (0,144 g; 3,6 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém THF (5 ml) pod argonem. Do suspenze byl přidán trifenylmethanthiol (1 g; 3,6 mmol) rozpuštěný v bezvodém THF při pokojové teplotě. Reakce byla ponechána za stálého míchání 30 minut. Poté byl postupně přidán 1,2-dibromethan (2,17 ml; 25,2 mmol). Po 24 hodinách bylo rozpouštědlo odpařeno na vakuové rotační odparce. Zbytek po odpaření byl rozpuštěn v diethyletheru a v dělicí nálevce vytřepán s roztokem NaCl. Následně byla organická fáze vysušena síranem sodným, zfiltrována přes fritu a odpařena na rotační vakuové odparce. Na TLC nebyl viditelný produkt **8**.

4.13 SYNTÉZA 3-BROMOPROPYL(TRITYL)SULFIDU (10)

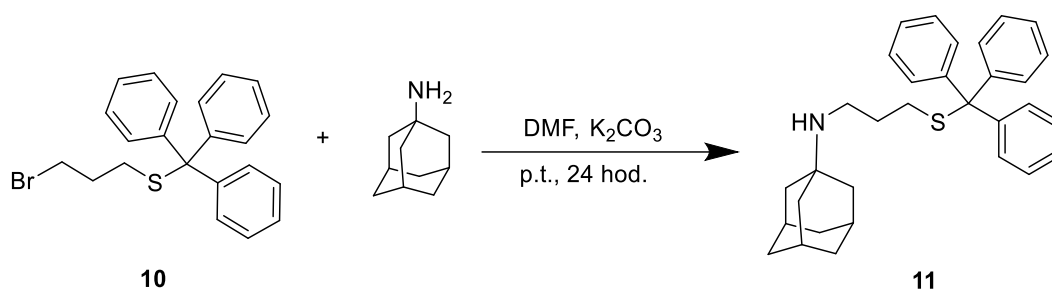


Do srdcové baňky se vsypal bezvodý K_2CO_3 (14,92 g; 108 mmol) a trifenylmethanthiol (3 g; 10,8 mmol). Přidal se bezvodý acetonitril (60 ml) a směs se nechala míchat při pokojové teplotě pod argonem 10 minut. Následně byl skrze septum vkapán 1,3-dibromopropan (5 ml; 49,03 mmol). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 48 hodin. Po 2 dnech byl na vakuové odparce odpařen acetonitril. Směs byla následně vytřepána v dělicí nálevce ve směsi voda:chloroform. Chloroform byl následně odpařen na rotační vakuové odparce. Látka se rozpustila v přibližně 10 ml dichlormethanu a postupně se vkapala do většího množství hexanu (150 ml). Směs byla vložena do mrazničky. Po vykrytalizování byla látka zfiltrována za vakua. Bylo získáno 3,2 g (73 %) bílé krystalické látky **10**.

t.t. 78,6-82,3 °C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.49 – 7.41 (m, 6H), 7.34 – 7.20 (m, 9H), 3.35 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.35 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.84 (p, $J = 6.8$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 144.71, 143.50, 130.28, 129.57, 127.90, 127.82, 126.96, 126.68, 66.69, 32.25, 31.62, 30.26.

4.14 SYNTÉZA *N*-((3-TRITYLTHIO)PROPYL)ADAMANTAN-1-AMINU

(11)

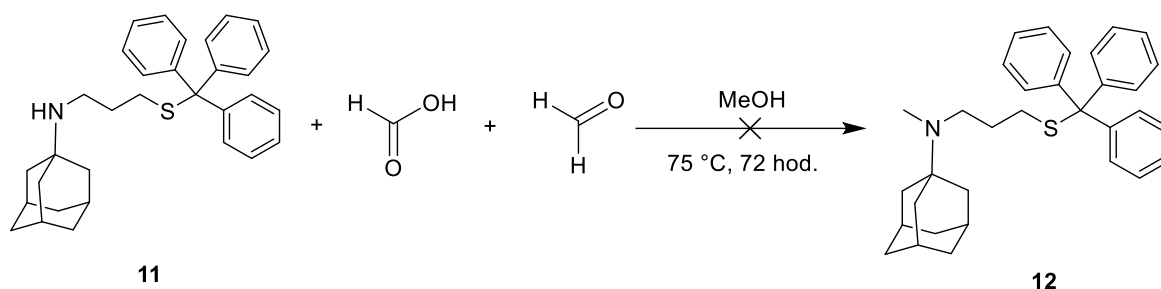


Látka **10** (1 g; 2,51 mmol) a 1-aminoadamantan (0,571 g; 3,77 mmol) byly rozpuštěny v DMF (20 ml). Následně byl přidán bezvodý K_2CO_3 (1,321 g; 1,56 mmol). Směs se nechala den míchat při pokojové teplotě. DMF bylo odpařeno na vakuové rotační odparce za sníženého tlaku. Vznikla žlutá sraženina, která byla vytřepána v dělicí nálevce ve vodě a chloroformu. Organická vrstva byla oddělena, vysušena bezvodým síranem sodným, přefiltrována a odpařena. Zbytek po odpaření byl přečištěný sloupcovou chromatografií. Jako mobilní fáze byl použitý chloroform na odstranění lipofilních nečistot a následně aceton, ve kterém jsme získali náš požadovaný produkt **11** ($R_f = 0,35$). NMR analýza potvrdila produkt s lehkým znečištěním DMF. Bylo získáno 1,2 g (77 %) světle žlutého olejovitého produktu **11**.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.41 (dd, $J = 7.7, 1.8$ Hz, 6H), 7.31 – 7.24 (m, 6H), 7.22 – 7.16 (m, 3H), 2.53 – 2.48 (m, 2H), 2.21 – 2.14 (m, 4H), 2.05 – 2.00 (m, 3H), 1.67 – 1.53 (m, 12H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 145.08, 129.72, 127.93, 126.64, 77.33, 77.12, 76.90, 66.59, 42.74, 39.59, 36.82, 31.01, 30.06, 29.66.

4.15 SYNTÉZA *N*-METHYL-*N*-(3-(TRITYLTHIO)PROPYL)

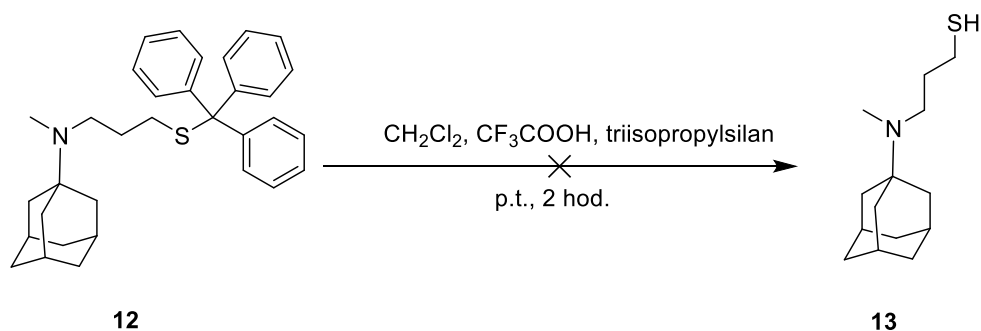
ADAMANTAN-1-AMINU (12)



Látka **11** (0,1 g; 0,21 mmol) byla rozpuštěna v MeOH (3 ml). Po úplném rozpuštění byla přidána kyselina mravenčí (0,08 ml; 2,12 mmol) a formaldehyd (0,02 ml; 0,72 mmol). Reakce se nechala míchat při 75 °C pod zpětným chladičem 3 dny. Po 3 dnech bylo odpařeno rozpouštědlo na vakuové rotační odparce a směs po odpaření byla doplněna destilovanou vodou. Následně bylo přidáno pár kapek 10% NaOH, aby směs přešla do pH 8-9. Při tomto pH byl přidán chloroform a směs byla vytřepána v dělicí nálevce. Organická fáze byla následně vysušena bezvodým síranem sodným, přefiltrována a odpařena na vakuové rotační odparce. Reakce byla kontrolována pomocí TLC s mobilní fází aceton ($R_f = 0,38$). Byla provedena hmotnostní spektrometrie (MS) z TLC. Ta potvrdila navázání methylu na amin, ale NMR analýza nepotvrdila jednoznačně produkt **12**. MS (APCI) m/z : vypočteno pro $C_{33}H_{39}NS$ 481,28; nalezeno 481,74 $[M+H]^+$.

4.16 SYNTÉZA 3-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)

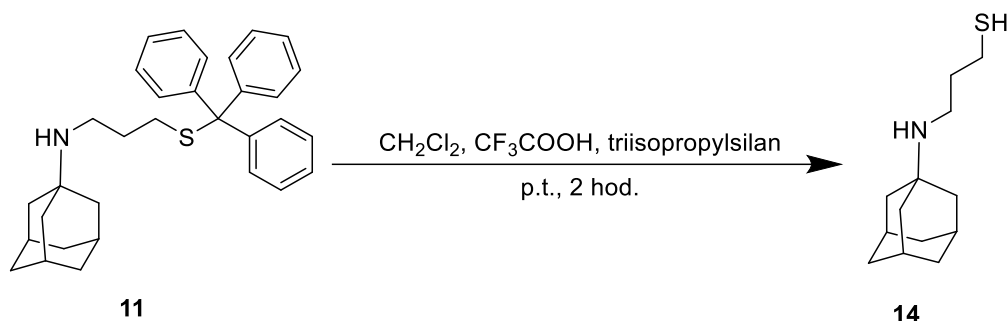
PROPAN-1-THIOLU (13)



Látka **12** z předchozí reakce (76 mg; 0,16 mmol) byla rozpuštěna v dichlormethanu (2 ml). K rozpuštěné látce byla vkapána trifluoroctová kyselina (250 μ l; 3,3 mmol) a triisopropylsilan (250 μ l; 1,2 mmol) za vzniku výrazně žluté barvy. Směs se nechala

2 hodiny míchat při pokojové teplotě. Směs byla zneutralizována pomocí 5% NaHCO₃ a následně vytřepána v dělicí nálevce s vodou a dichlormethanem. Byla provedena tenkovrstvá chromatografie s mobilní fází aceton. Z TLC byla provedena MS-TLC, která produkt **13** neprokázala.

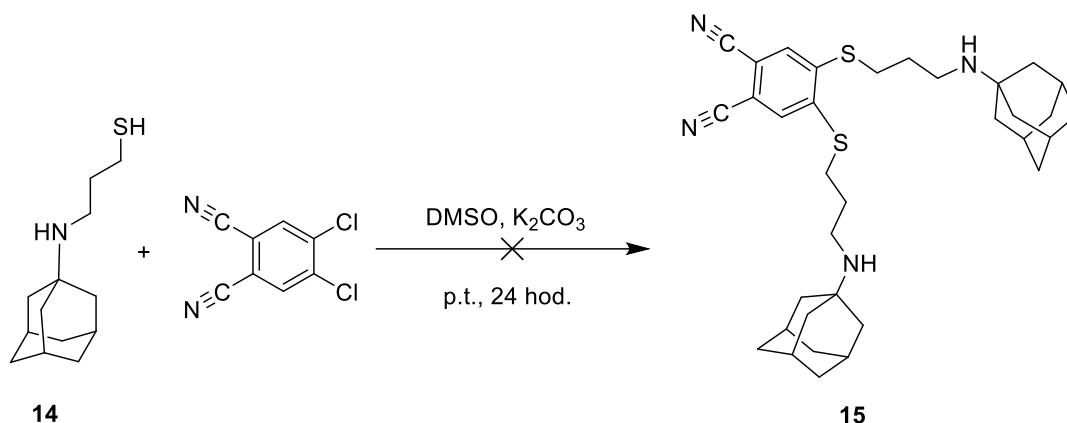
4.17 SYNTÉZA 3-((ADAMANTAN-1-YL)AMINO)PROPAN-1-THIOLU (**14**)



Látka **11** (1 g; 2,140 mmol) byla rozpuštěna ve 20 ml CH₂Cl₂. Do roztoku byla přidána kyselina trifluoroctová (3,07 ml; 40,1 mmol) a triisopropylsilan (3,07 ml; 15,1 mmol). Směs byla míchána 2 hodiny při pokojové teplotě. Následně byla směs nalita do vody a vytřepána s CH₂Cl₂ v dělicí nálevce. Vodná fáze byla v dalším kroku zalkalizována pomocí 5% NaHCO₃ a vytřepána s CH₂Cl₂. Z organické fáze byla provedena MS analýza, která potvrdila produkt. Rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové rotační odparce a vypadla krystalická látka. Ta byla následně ještě přečištěna pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází chloroform a následně aceton (R_f = 0,28). Bylo získáno 0,3 g čisté látky **14** jako bílých krystalků s výtěžkem 66 %.

t.t. 194,9-197,8 °C. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (s, 1H), 3.01 (m, J = 13.5, 7.1, 3.2 Hz, 2H), 2.59 (dd, J = 7.8 Hz, 2H), 2.19 – 2.15 (s, 3H), 1.99 (p, J = 7.2 Hz, 6H), 1.92 (d, J = 2.9 Hz, 3H), 1.68 (dd, J = 14.8, 12.1, 3.0 Hz, 6H), 1.41 (t, J = 8.2 Hz, 1H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 77.31, 77.10, 76.89, 57.24, 38.46, 38.26, 35.71, 30.38, 29.09, 21.89. MS (APCI) m/z vypočteno pro C₁₃H₂₃NS 225,16; nalezeno 226,1 [M+H⁺].

4.18 SYNTÉZA 4, 5-bis(3-((ADAMANTAN-1-YL)AMINO)PROPYL)- FTALONITRILU (15)



Postup č.1:

Látka **14** (35 mg; 0,155 mmol) byla společně s 4,5-dichlorftalonitrilem (10 mg; 0,0507 mmol) rozpuštěna ve 2 ml DMSO. Ke směsi bylo přidáno K₂CO₃ (42 mg; 0,303 mmol). Reakce byla den míchána při pokojové teplotě. Dle MS analýzy byl produkt převážně monosubstituovaný.

Postup č.2:

Látka **14** (152 mg; 0,674 mmol) společně s 4,5-dichlorftalonitrilem (77 mg; 0,27 mmol) byli rozpuštěny ve 2 ml bezvodého DMSO. Ke směsi bylo přidáno K₂CO₃ (55,9 mg; 0,405 mmol) Reakce byla míchána při pokojové teplotě do druhého dne. TLC však nepotvrdilo produkt **15**.

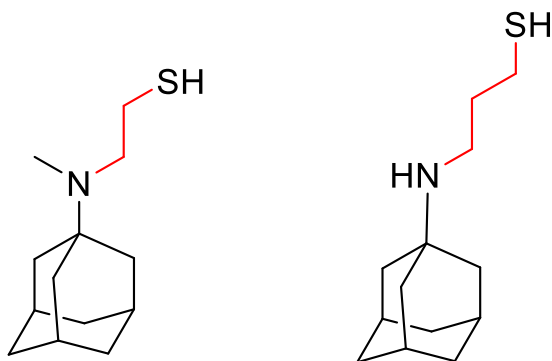
5 DISKUZE

Cílem mé diplomové práce bylo připravit alkylsulfanyl substituované ftalonitrily s aminoadamantylovým substituentem. Tyto ftalonitrily by následně byly použity pro syntézu amfifilně substituovaných Pcs vhodných pro supramolekulární interakce s CB[7].

Jak bylo řečeno v kapitole 3.4, tak aminoadamantan se jeví jako vhodný host pro CB[7]. Dle nedávno publikovaného článku Mgr. Rychvalské bylo zjištěno, že aminoadamantyly s různou úrovní alkylace jsou vhodní hosté pro CB[7].¹ Pokud jsou aminoadamantylové substituenty umístěné ve vhodné vzdálenosti 2-3 atomů uhlíků od jádra Pc, tak umožňují neomezenou interakci mezi hostitelem a hostem a současně nedochází k jejich příliš velké flexibilitě, která by měla za následek oddálení objemných CB[7] příliš daleko od Pc jádra. Spojovací atom mezi Pc jádrem a linkerem a poloha substituce mají vliv na absorpční a fotofyzikální vlastnosti Pc (např. alkylsulfanylové deriváty mají vyšší produkci singletového kyslíku a absorpci při vyšších vlnových délkách). CB[7] by byl navíc výhodný z hlediska aplikace, jelikož bylo zjištěno, že kukurbiturily s lichým číslem jsou rozpustnější než ty se sudým číslem.⁴²

5.1 SYNTÉZY

Nejdříve jsme se snažili připravit alkylsulfanyl s 2C linkerem k 1-aminoadamantanu. Po roce a více neúspěšných syntézách jsme však z tohoto cíle museli upustit a zaměřili se na přípravu látky s 3C linkerem (viz Obr. 15).



Obrázek 15: Vlevo 2C řetězec, vpravo 3C řetězec.

5.1.1 SYNTÉZA 2-((ADAMANTAN-1-YL)(METHYL)AMINO)ETHAN-1-THIOLU

První látku **1** jsme připravili pomocí nukleofilní substituce s cílem následné záměny OH skupiny za SH. Komerčně dostupný 1-aminoadamantan byl substituován 2-bromethanolem (viz Schéma 1). Aminogrupa zde funguje jako nukleofilní činidlo díky volnému elektronovému páru dusíku. Reakce proběhla bez problému a vzniklo 11,4 g (88 %) 2-((adamantan-1-yl)amino)ethan-1-olu.

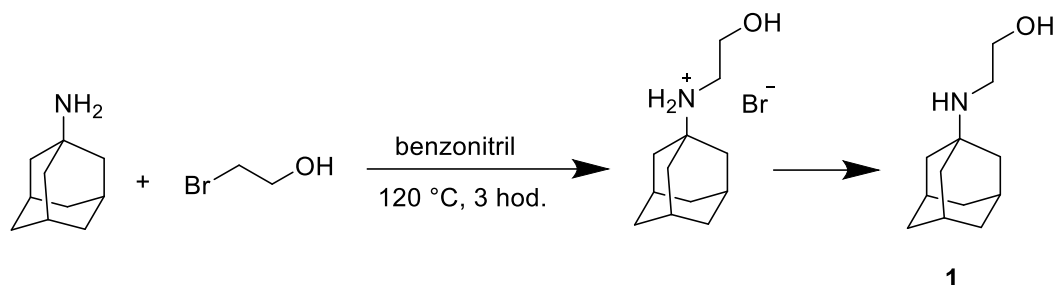


Schéma 1: Schéma přípravy látky **1**.

Následně látka **1** byla alkylována pomocí směsi kyseliny mravenčí a formaldehydu (Eschweiler–Clarkova reakce) za vzniku terciárního aminu. Výhodou této reakce je, že neprobíhá do dalšího stupně kvarterní amoniové soli (jako například methylace pomocí methyl jodidu či jiných alkylačních látek). Vznikla světle žlutá olejovitá látka s praktickým výtěžkem 91 %. Postup reakce je zobrazen na Schéma 2.

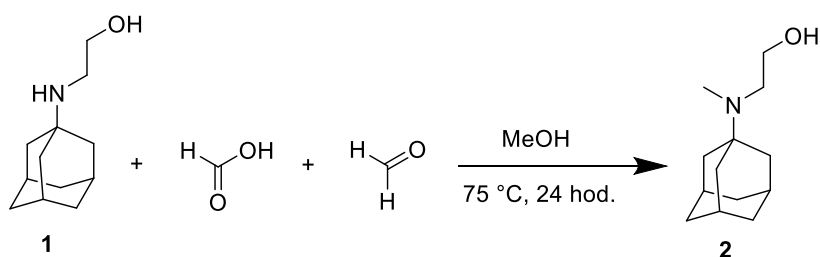
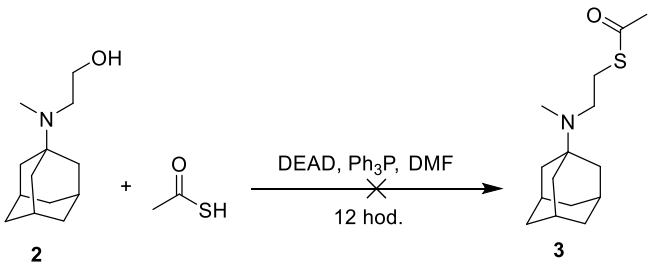

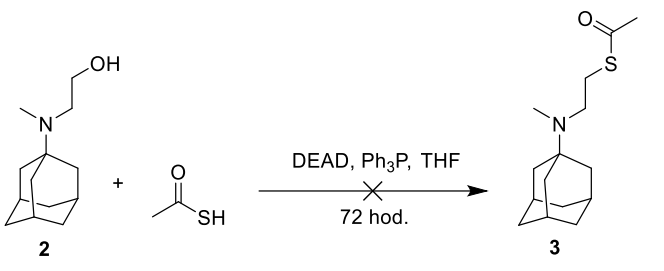


Schéma 2: Vznik terciárního aminu **2**.

Jelikož bylo za potřebí připravit látku se spojovacím atomem síry, tak látka **2** byla podrobena mnohým typům různých reakcí abychom z hydroxy skupiny získali sulfanylovou skupinu. Jako první jsme zkusili reakci s kyselinou thiooctovou. Reakce probíhala dle Mitsunobovy reakce.^{55,56} Nejdříve jsme Ph₃P nechali nukleofilně zreagovat s DEAD nebo s DIAD při 0 °C. V reakci vzniká fosfoniový meziprodukt (zwitteriontový). Následně jsme již za pokojové teploty přidali roztok alkoholu (látka **2** v DMF či THF). Fosfoniový meziprodukt se naváže na alkoholový kyslík a aktivuje jej jako odstupující

skupinu. Následná substituce thiooctové kyseliny jako nukleofilu měla dokončit proces. Syntézu jsme zopakovali s různými podmínkami, ale vždy neúspěšně. Příklady zkoušených reakcí jsou znázorněny v Tab. 7. NMR analýza potvrdila pouze trifenylofosfin.

Tabulka 7: Různé podmínky Mitsunobovy reakce.

 <p>2 + <chem>CC(=O)S</chem> $\xrightarrow[\text{12 hod.}]{\text{DEAD, Ph}_3\text{P, DMF}}$ 3</p>	<ul style="list-style-type: none"> • rozpouštědlo: DMF • azodikarboxylát: DEAD
 <p>2 + <chem>CC(=O)S</chem> $\xrightarrow[\text{12 hod.}]{\text{DIAD, Ph}_3\text{P, DMF}}$ 3</p>	<ul style="list-style-type: none"> • rozpouštědlo: DMF • azodikarboxylát: DIAD
 <p>2 + <chem>CC(=O)S</chem> $\xrightarrow[\text{72 hod.}]{\text{DEAD, Ph}_3\text{P, THF}}$ 3</p>	<ul style="list-style-type: none"> • rozpouštědlo: THF (proveden pokus i v bezvodém THF) • azodikarboxylát: DEAD

Jako další možnost přípravy thiolu jsme provedli reakci látky 2 s thioamocinou (viz Schéma 3).

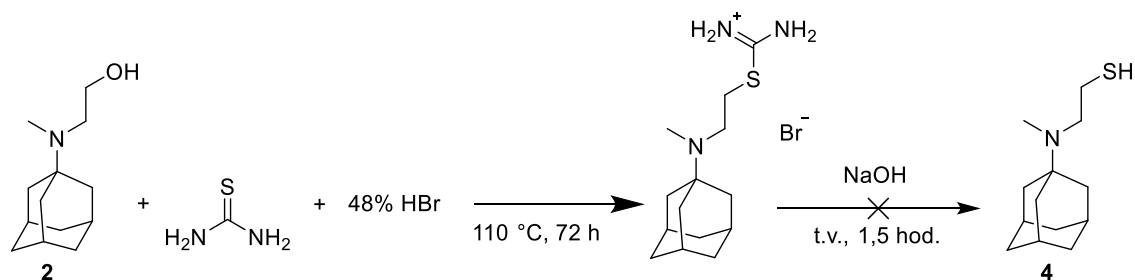


Schéma 3: Reakce látky 2 s thioamocinou.

Do reakce vstupuje její tautomerní forma isothioamocovina. Při reakci dochází k tvorbě bromo-derivátu a následně substituci isothioamocinou přes sůl

alkylisothiomočoviny. Ta je následně hydrolyzována vodným roztokem NaOH. Mechanismus této reakce je zobrazen na Schéma 4.

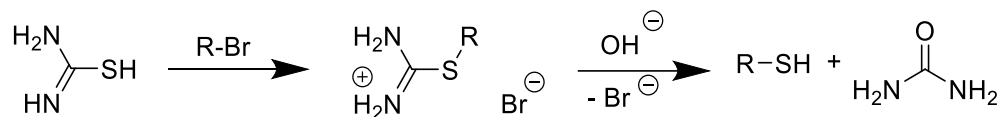


Schéma 4: Alkylace isothiomočoviny.

I když látka **4** nebyla potvrzena, zkusili jsem ji použít dále do reakce s 4-nitroftalonitrilem (viz Schéma 5). Látku **4** jsme nechali zreagovat s 4-nitroftalonitrilem za přítomnosti uhličitanu draselného. Jelikož thiolové skupiny mohou mezi sebou reagovat za vzniku disulfidu, zkusili jsme přidat jako redukční činidlo DTT, které udržuje thiolové skupiny v redukovaném stavu. Reakce však neproběhla a NMR nepotvrdilo ani látku **5**.

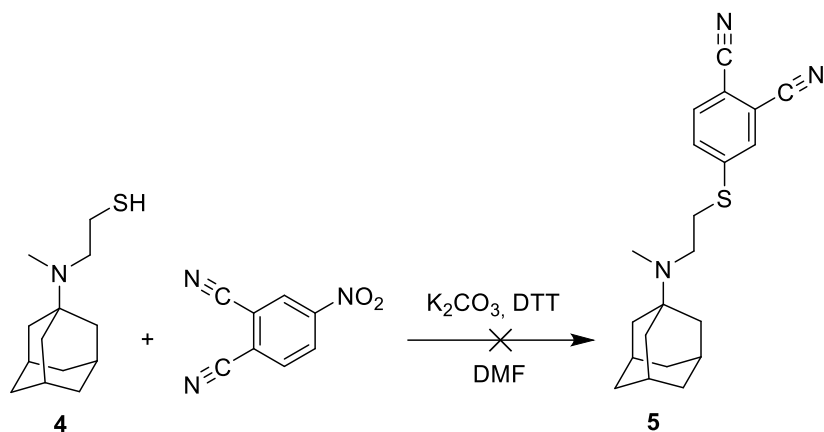


Schéma 5: Reakce látky **4** s 4-nitroftalonitrilem.

Pro syntézu thiolu byla tedy zvolena nová syntetická cesta za použití 2-merkptoethan-1-olu s bromidem fosforitým. Reakce je znázorněna na Schéma 6. PBr_3 je vhodný pro konverzi alkoholů na alkylbromidy. Elektrofílní fosfor aktivoval kyslíkový atom v molekule alkoholu. Bromidový iont byl následně substituován ($\text{S}_{\text{N}}2$) na atom uhlíku. Reakce byla zkontrolována pomocí MS spektrometrie. Reakce dle výsledků pravděpodobně selhala z důvodu polymerizace výsledného produktu (reakce SH skupiny s Br). Reakce byla zopakována, ale opět neúspěšně. Zkoušeli jsme také postup s destilací nevodné fáze, ale destilace nebyla úspěšná. V reakci s 1-aminoadamantanem se tedy nepokračovalo. NMR nepotvrdila požadovaný produkt, bylo zobrazeno mnoho alifatických signálů, pravděpodobně polymerizovaného produktu.

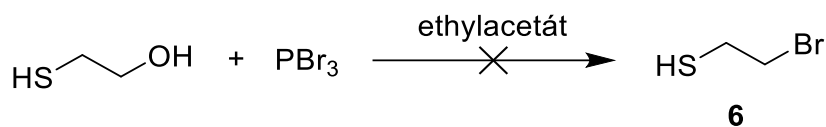


Schéma 6: Příprava thiolu **6** z 2-merkptoethan-1-olu.

Pro přípravu 2-bromethan-1-thiolu byla následně zkoušena reakce thiiranu s HBr. Reakce je zobrazena na Schéma 7. Pomocí nukleofilní adice HBr dochází k otevření thiiranového cyklu. Během reakce vznikla bílá suspenze. Tu jsme nabrali do stříkačky a nechali přibližně půl hodiny ve svislé poloze, aby se oddělily 2 fáze. Z literatury jsme zjistili, že náš produkt má vyšší hustotu než voda, proto jsme oddělili spodní olejovou vrstvu a z ní jsme změřili MS spektrum, které vycházelo příznivě. K látce **6** jsme tedy přidali 1-aminoadamantan v benzonitrilu za zvýšené teploty (120 °C). Po zpracování však na TLC nebyl viditelný produkt.

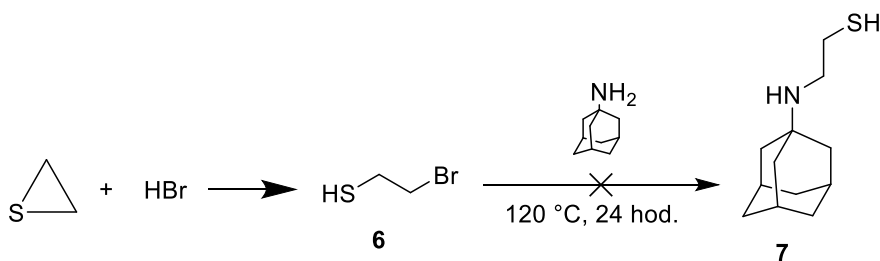


Schéma 7: Otevření thiiranu a substituce.

Jako další způsob přípravy 2C thiolu byla zvolena syntéza 2-bromoethyl(trityl)sulfidu (Schéma 8), kde je thiolová skupina chráněna před případnou polymerací. Do suspenze trityluthiolu s K_2CO_3 v DMF jsme za chlazení přidávali 1,2-dibromethan. Vznikla bílá suspenze, kterou jsme zkontrolovali na MS spektrometrii. Výsledky látku **8** nepotvrdily, ale i přes to jsme pokračovali v reakci s 1-aminoadamantanem za zvýšené teploty. Postup však nebyl úspěšný. Dle TLC byla přítomen pouze 1-aminoadamantan a NMR neprokazovalo ani signály tritylu.

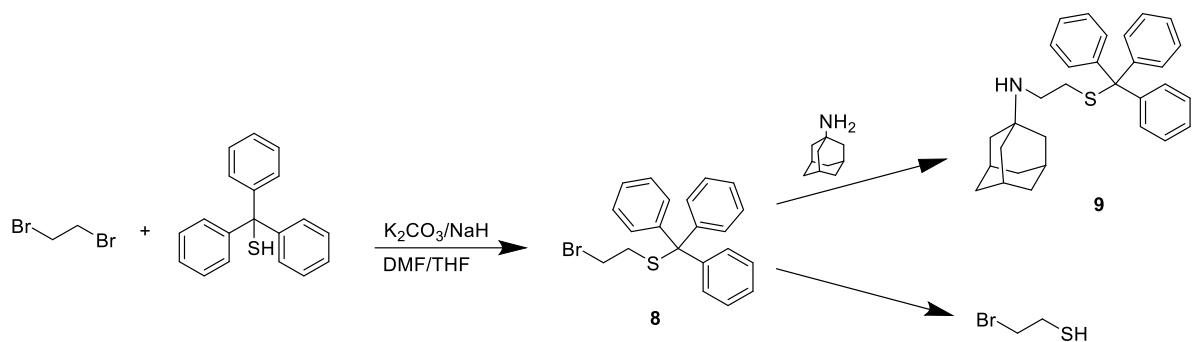


Schéma 8: Příprava 2-bromoethyl(trityl)sulfidu a následné možné postupy přípravy.

Tuto reakce jsme provedli také v bezvodém THF za přítomnosti NaH. NaH jako silná báze by měla deprotonovat thiol a došlo by snadněji k substituci 1,2-dibromethanu. TLC však nepotvrdilo nic jiného než výchozí látku

5.1.2 SYNTÉZA 3-((ADAMANTAN-1-YL)AMINO)PROPAN-1-THIOLU

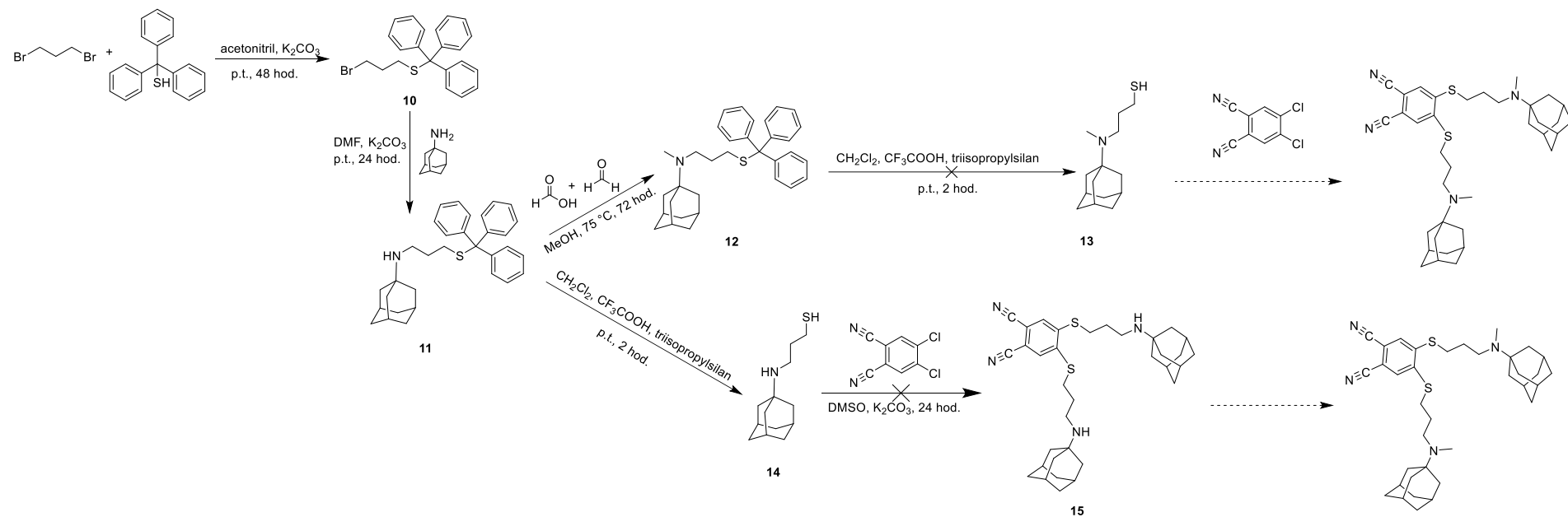


Schéma 9: Postup syntéz 3C řetězce.

Vzhledem k neúspěšným pokusům diskutovaným výše jsme se po více než roce rozhodli pozměnit cílovou strukturu (viz Obr. 15) a zaměřili jsme se na 3C deriváty aminoadamantanu (viz Schéma 9). Směs trifenylmethanthiolu s 1,3-dibrompropanem byla při p.t. míchána 2 dny a následně zpracována. Čistou látku **10** jsme získali vykrystalizováním. Postupně jsme suspenzi vkapávali do většího množství hexanu a směs vložili do mrazáku. Další den jsme již zfiltrovali bílou krystalickou látku **10** s výtěžkem 73 %.

Látku **10** jsme následně substituovali 1-aminoadamantanem. Suspenze byla po reakci však silně znečištěna, proto byl produkt čištěn sloupcovou chromatografií. Nejdříve jsme zvolili jako mobilní fázi chloroform pro odstranění nežádoucích silně lipofilních nečistot. Následně jsme změnil mobilní fázi na aceton, pomocí něhož byl získán čistý produkt ve výtěžku 77 %.

Dalším úkolem bylo vytvořit terciární amin. To jsme se snažili provést pomocí směsi formaldehydu a kyseliny mravenčí, jelikož se nám tento postup osvědčil při syntéze látky **2**. Směs jsme nechali 3 dny míchat při 75 °C. Dle TLC MS spektrometrie byla potvrzena methylace. NMR analýza však nepotvrdila vznik látky **12**. I když NMR analýza produkt **12** nepotvrdila, tak jsme se pokusili o odštěpení tritylu za vzniku thiolu **13**. Odchránění jsme dělali za pomoci kyseliny trifluoroctové a triisopropylsilanu. Trialkylsilany jsou mírná redukční činidla v kombinaci s kyselinou trifluoroctovou. Triisopropylsilan zde funguje jako scavenger za vhodných kyselých podmínek. Po zpracování reakce byla provedena NMR analýza, ta však produkt nepotvrdila. Dle výsledků vznikl pravděpodobně disulfid. Pro rozštěpení bylo však velmi malé množství, proto byla látka znovu nasyntetizována. U znovu nasyntetizované látky **12** se však nepodařilo oddělit pouze terciární amin od sekundárního aminu (výchozí látky **11**). Ani pokus odchránit směsi těchto látek nevedl k produktu **13**, který nebyl ani potvrzen NMR analýzou.

Odštěpení tritylu jsme se tedy rozhodli provést stejným způsobem jako při přípravě látky **13**. Látka **11** obsahuje sekundární amin a methylace na terciární amin by proběhla až v následujících krocích (viz Schéma 9). U sekundárního aminu se odchránění thiolu na látku **14** povedlo ve výtěžku 66 %.

Látku **14** jsme tedy využili v nukleofilní substituci 4,5-dichlorftalonitrilu za přítomnosti K_2CO_3 . Vyzkoušeli jsem dva způsoby přípravy. V prvním případě jsme směs

rozpustili v DMSO a nechali při p.t. míchat. Zde se povedlo připravit monosubstituovaný ftalonitril. V druhém případě jsme připravovali látku stejně, ale pod argonem a v bezvodém DMSO. V tomto případě reakce neproběhla, protože na TLC jsme neviděli žádný produkt. Z časových důvodů se již nepodařilo syntézy zopakovat.

6 ZÁVĚR

V rámci své diplomové práce jsem se věnovala zejména přípravě (adamantan-1-ylamino)alkylsulfanylů. Nejprve jsem se zaměřila na přípravu látek s dvouhlíkatým alkylem, kde jsem se pokusila řadou reakcí dospět k cílové látce. Všechny pokusy ovšem byly neúspěšné. V návaznosti na to, jsem se věnovala látkám s tříuhlíkatým linkerem, kde jsem pomocí alkylace tritylthiolu 1,3-dibrompropanem, následnou alkylací adamantan-1-aminu a ochráněním thiolové skupiny získala 3-((adamantan-1-yl)amino)propan-1-thiol. Zde bude v budoucnu jistě nutná optimalizace, protože během ochránění docházelo často ke vzniku disulfidu. Získaný thiol jsem v předběžné reakci byla schopná použít pro nukleofilní substituci 4,5-dichlorftalonitrilu, kde došlo k substituci zatím pouze do jedné polohy. I zde bude v budoucnu nutná optimalizace k získání disubstituovaného derivátu. I přes řadu komplikací a nutné optimalizace bude ale tato cesta do budoucna zřejmě použitelná pro přípravu vhodných prekurzorů pro Pcs, u nichž budou zkoumány supramolekulární interakce s CB[7].

7 REFERENCE

1. Kočiščáková L.; Rando C.; Kozlívka M.; et al. Monomerization of Phthalocyanines in Water via Their Supramolecular Interactions with Cucurbiturils. *J. Org. Chem.* **2023**; *88*(2): 988-1002.
2. Liu WT.; Wang HT.; Yeh YH.; Wong TW. An Update on Recent Advances of Photodynamic Therapy for Primary Cutaneous Lymphomas. *Pharmaceutics.* **2023**; *15*(5): 1-17.
3. Rak J.; Kabesova M.; Benes J.; Pouckova P.; Vetvicka D. Advances in Liposome-Encapsulated Phthalocyanines for Photodynamic Therapy. *Life.* **2023**; *13*(2):305.: 1-20.
4. Sharman WM.; Allen CM.; van Lier JE. Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discovery Today.* **1999**; *4*(11): 507-517.
5. Dolmans D.; Fukumura D.; Jain RK. Photodynamic therapy for cancer. *Nat. Rev. Cancer.* **2003**; *3*(5): 380-387.
6. Kwiatkowski S.; Knap B.; Przystupski D.; et al. Photodynamic therapy - mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomed. Pharmacother.* **2018**; *106*: 1098-1107.
7. Agostinis P.; Berg K.; Cengel KA.; et al. Photodynamic Therapy of Cancer: An Update. *Ca-a Cancer J. Clin.* **2011**; *61*(4): 250-281.
8. Josefsen LB.; Boyle RW.; Photodynamic therapy: novel third-generation photosensitizers one step closer? *Br. J. Pharmacol.* **2008**; *154*(1): 1-3.
9. Xu J.; Gao JQ.; Wei QC. Combination of Photodynamic Therapy with Radiotherapy for Cancer Treatment. *J. Nanomater.* **2016**; *2016*: 1-7.
10. Allison RR.; Moghissi K. Photodynamic Therapy (PDT): PDT Mechanisms. *Clin. Endosc.* **2013**; *46*(1): 24-29.
11. Hamdoon Z.; Jerjes W.; Hopper C. Periorbital skin cancers subjected to mTHPC-photodynamic therapy: A prospective study. *Sking Res. Techol.* **2020**; *26*(3): 338-342.
12. Allison RR.; Mota HC.; Sibata CH. Clinical PD/PDT in North America: An historical review. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2004**; *1*(4): 263-277.
13. Dougherty TJ.; Gomer CJ.; Henderson BW.; et al. Photodynamic therapy. *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**; *90*(12): 889-905.
14. Dai T.; Huang YY.; Hamblin MR. Photodynamic therapy for localized infections-State of the art. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2009**; *6*(3-4): 170-188.
15. Kharkwal GB.; Sharma SK.; Huang YY.; Dai TH.; Hamblin MR. Photodynamic Therapy for Infections: Clinical Applications. *Lasers Surg. Med.* **2011**; *43*(7): 755-767.
16. Perez C.; Zuniga T.; Palavecino CE. Photodynamic therapy for treatment of Staphylococcus aureus infections. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2021**; *34*: 1-10.

17. O'Riordan K.; Akilov OE.; Hasan T. The potential for photodynamic therapy in the treatment of localized infections. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2005**; *2(4)*: 247-262.
18. Wiehe A.; O'Brien JM.; Senge MO. Trends and targets in antiviral phototherapy. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2019**; *18(11)*: 2565-2612.
19. Moussaron A.; Arnoux P.; Vanderesse R.; Sibille E.; Chaimbault P.; Frochot C. Lipophilic phthalocyanines for their potential interest in photodynamic therapy: synthesis and photo-physical properties. *Tetrahedron.* **2013**; *69(47)*: 10116-10122.
20. Shimizu S.; Furuta H. Core-Modified Phthalocyanines and Subphthalocyanines: a Synthetic Strategy towards Core-Modification and Novel Properties Arising from the Inner Ring-Expansion. *Macroheterocycles.* **2015**; *8(4)*: 332-342.
21. Ji WY.; Wang TX.; Ding XS.; Lei SB.; Han BH. Porphyrin- and phthalocyanine-based porous organic polymers: From synthesis to application. *Coord. Chem. Rev.* **2021**; *439*: 1-29.
22. Wang JH.; Dong WY.; Gao B.; Liu DJ.; Duan Q. Syntheses and characterizations of Zn (II) Phthalocyanines & Naphthopyrans based polymers for improved nonlinear optical properties. *Dyes Pigm.* **2020**; *182*: 1-35.
23. Jiang Z.; Shao JW.; Yang TT.; Wang J.; Jia L. Pharmaceutical development, composition and quantitative analysis of phthalocyanine as the photosensitizer for cancer photodynamic therapy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2014**; *87*: 98-104.
24. Kantar GK.; Faiz O.; Sahin O.; Sasmaz S. Phthalocyanine and azaphthalocyanines containing eugenol: synthesis, DNA interaction and comparison of lipase inhibition properties. *J. Chem. Sci.* **2017**; *129(8)*: 1247-1256.
25. Ormond AB.; Freeman HS. Dye Sensitizers for Photodynamic Therapy. *Materials.* **2013**; *6(3)*: 817-840.
26. Zheng BD.; He QX.; Li XS.; Yoon J.; Huang JD. Phthalocyanines as contrast agents for photothermal therapy. *Coord. Chem. Rev.* **2021**; *426*: 1-13.
27. Dumoulin F.; Durmus M.; Ahsen V.; Nyokong T. Synthetic pathways to water-soluble phthalocyanines and close analogs. *Coord. Chem. Rev.* **2010**; *254(23-24)*: 2792-2847.
28. de la Torre G.; Claessens CG.; Torres T. Phthalocyanines: The need for selective synthetic approaches. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**; *2000(16)*: 2821-2830.
29. Ragoussi ME.; Ince M.; Torres T. Recent Advances in Phthalocyanine-Based Sensitizers for Dye-Sensitized Solar Cells. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**; *2013(29)*: 6475-6489.
30. Darwent JR.; Douglas P.; Harriman A.; Porter G.; Richoux MC. Metal phthalocyanines and porphyrins as photosensitizers for reduction of water hydrogen. *Coord. Chem. Rev.* **1982**; *44(1)*: 83-126.
31. Chan WS.; Marshall JF.; Svensen R.; Phillips D.; Hart IR. Photosensitizing activity of phthalocyanine dyes screened against tissue-culture cells. *Photochem. Photobiol.* **1987**; *45(6)*: 757-761.

32. Nyokong T. Effects of substituents on the photochemical and photophysical properties of main group metal phthalocyanines. *Coord. Chem. Rev.* **2007**; *251(13-14)*: 1707-1722.
33. Zimčík P. Azaftalocyaniny - Od syntéz přes fotochemické a fotofyzikální vlastnosti k aplikacím. *Chem. listy*; **2012**; *106*: 275-282.
34. Tuhl A.; Makhseed S.; Zimcik P.; Al-Awadi N.; Novakova V.; Samuel J. Heavy metal effects on physicochemical properties of non-aggregated azaphthalocyanine derivatives. *J. Porphyrins Phthalocyanines*. **2012**; *16(7-8)*: 817-825.
35. Wang AJ.; Long LL.; Zhang C. Synthesis of unsymmetrical phthalocyanines: a brief overview. *Tetrahedron*. **2012**; *68(11)*: 2433-2451.
36. Kobayashi N.; Kondo R.; Nakajima S.; Osa T. New route to unsymmetrical phthalocyanine analogs by the use of structurally distorted subphthalocyanines. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**; *112(26)*: 9640-9641.
37. Leznoff CC.; Hall TW. The Synthesis of soluble, unsymmetrical phthalocyanine on polymer support. *Tetrahedron Lett.* **1982**; *23(30)*: 3023-3026.
38. Kostka M.; Zimcik P.; Miletin M.; Klemmera P.; Kopecky K.; Musil Z. Comparison of aggregation properties and photodynamic activity of phthalocyanines and azaphthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol., A*. **2006**; *178(1)*: 16-25.
39. Sowa A.; Voskuhl J. Host-guest complexes - Boosting the performance of photosensitizers. *Int. J. Pharm.* **2020**; *586*:119595: 1-24.
40. Dubbert J.; Hoing A.; Riek N.; Knauer SK.; Voskuhl J. Supramolecular subphthalocyanine complexes-cellular uptake and phototoxicity. *Chem. Commun.* **2020**; *56(55)*: 7653-7656.
41. Skorjanc T.; Benyettou F.; Olsen JC.; Trabolsi A. Design of Organic Macrocyclic-Modified Iron Oxide Nanoparticles for Drug Delivery. *Chem. Eur. J.* **2017**; *23(35)*: 8333-8347.
42. Lagona J.; Mukhopadhyay P.; Chakrabarti S.; Isaacs L. The cucurbituril family. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**; *44(31)*: 4844-4870.
43. Assaf KI.; Nau WM. Cucurbiturils: from synthesis to high-affinity binding and catalysis. *Chem. Soc. Rev.* **2015**; *44(2)*: 394-418.
44. Pais VF.; Carvalho EFA.; Tome JPC.; Pischel U. Supramolecular control of phthalocyanine dye aggregation. *Supramol. Chem.* **2014**; *26(9)*: 642-647.
45. Lee JW.; Samal S.; Selvapalam N.; Kim HJ.; Kim K. Cucurbituril homologues and derivatives: New opportunities in supramolecular chemistry. *Acc. Chem. Res.* **2003**; *36(8)*: 621-630.
46. Chernikova EY.; Fedorov YV.; Fedorova OA. Cucurbituril as a new "host" of organic molecules in inclusion complexes. *Russ. Chem. Bull.* **2012**; *61(7)*: 1363-1390.
47. Liu SM.; Ruspic C.; Mukhopadhyay P.; Chakrabarti S.; Zavalij PY.; Isaacs L. The cucurbituril family: Prime components for self-sorting systems. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**; *127(45)*: 15959-15967.

48. Aniogo EC.; George BPA.; Abrahamse H. The role of photodynamic therapy on multidrug resistant breast cancer. *Cancer Cell Int.* **2019**; *19*: 1-14.
49. Fretz MM.; Høgset A.; Koning GA.; Jiskoot W.; Storm G. Cytosolic delivery of liposomally targeted proteins induced by photochemical internalization. *Pharm. Res.* **2007**; *24(11)*: 2040-2047.
50. Weyergang A.; Selbo PK.; Berstad MEB.; Bostad M.; Berg K. Photochemical Internalization of Tumor-Targeted Protein Toxins. *Lasers Surg. Med.* **2011**; *43(7)*: 721-733.
51. Šošić L.; Selbo PK.; Kotkowska ZK.; Kündig TM.; Høgset A.; Johansen P. Photochemical Internalization: Light Paves Way for New Cancer Chemotherapies and Vaccines. *Cancers.* **2020**; *12(1)*: 1-21.
52. Norum OJ.; Gaustad JV.; Angell-Petersen E.; et al. Photochemical internalization of bleomycin is superior to photodynamic therapy due to the therapeutic effect in the tumor periphery. *Photochem. Photobiol.* **2009**; *85(3)*: 740-749.
53. Bayona AMD.; Moore CM.; Loizidou M.; MacRobert AJ.; Woodhams JH. Enhancing the efficacy of cytotoxic agents for cancer therapy using photochemical internalisation. *Int. J. Cancer.* **2016**; *138(5)*: 1049-1057.
54. Adigbli DK.; MacRobert AJ. Photochemical internalisation: the journey from basic scientific concept to the threshold of clinical application. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2012**; *12(4)*: 434-438.
55. Hughes DL. Progress in the Mitsunobu reaction. A review. *Org. Prep. Proced. Int.* **1996**; *28(2)*: 127-164.
56. Munawar S.; Zahoor AF.; Ali S.; et al. Mitsunobu Reaction: A Powerful Tool for the Synthesis of Natural Products: A Review. *Molecules.* **2022**; *27(20)*: 1-67.

8 SEZNAM OBRÁZKŮ, SCHÉMAT A TABULEK

OBRÁZKY

Obrázek 1: Cílová struktura.....	9
Obrázek 2: Mechanismus PDT. Obrázek převzat a upraven dle ⁵	10
Obrázek 3: Zjednodušené schéma fungování PDT. Obrázek převzat a upraven dle ⁹	11
Obrázek 4: Modifikovaný Jablonskéhoho diagram. Obrázek vytvořen dle ⁷	12
Obrázek 5: Struktury potencionálních antimikrobiálních PS. Obrázek převzat a upraven dle ¹⁴	15
Obrázek 6: Vliv PDT na bakteriální obal. Obrázek převzat a upraven dle ¹⁶	15
Obrázek 7: Cíle PDI virů (nukleové kyseliny, proteiny, lipidy). Obrázek převzat a upraven dle ¹⁸	16
Obrázek 8: Srovnání struktury porfyriu (vlevo) a Pc (vpravo). Obrázek upraven dle ²⁰ . 17	
Obrázek 9: Chemická struktura Pc, kde M je centrální kov, R představuje substituent na jádře a L je axiální substituent. Obrázek převzat dle ²⁶	19
Obrázek 10: Chemická modifikace Pc. Obrázek vytvořen dle informací z ^{26,27}	20
Obrázek 11: Schéma vzniku směsi kongenerů Pc. Obrázek vytvořen dle ²⁸	21
Obrázek 12: Syntéza homologů C _N kondenzací glykolurilu (1) a formaldehydu za kyselých podmínek. Obrázek převzat dle ⁴³	23
Obrázek 13: X-ray struktury kukurbiturilů. Obrázek převzat z ⁴⁵	24
Obrázek 14: Princip PCI. Obrázek převzat a upraven z ⁵⁰	27
Obrázek 15: Vlevo 2C řetězec, vpravo 3C řetězec.	42

SCHÉMA

Schéma 1: Schéma přípravy látky 1	43
Schéma 2: Vznik terciárního aminu 2	43
Schéma 3: Reakce látky 2 s thiomocovinou.....	44
Schéma 4: Alkylace isothiomocoviny.	45
Schéma 5: Reakce látky 4 s 4-nitroftalonitrilem.....	45
Schéma 6: Příprava thiolu 6 z 2-merkptoethan-1-olu.....	46

Schéma 7: Otevření thiiranu a substituce.....	46
Schéma 8: Příprava 2-bromoethyl(trityl)sulfidu a následné možné postupy přípravy.	47
Schéma 9: Postup syntéz 3C řetězce.....	48

TABULKY

Tabulka 1: Modifikovaný Jablonskéhoho diagram. Obrázek vytvořen dle ^{4,10,12}	13
Tabulka 2: Příklady Pcs používaných či klinicky testovaných pro PDT. Informace převzaty dle ²³	18
Tabulka 3: Přehled hostitelských molekul pro tvorbu supramolekulárních komplexů s PS dle ⁴¹	23
Tabulka 4: Parametry jednotlivých kukurbiturilů. Převzato dle ⁴⁵	25
Tabulka 5: Příklady molekul hostů schopných vytvořit komplex s CB. Převzato dle ⁴⁶	26
Tabulka 6: Rozdíl mezi PDT a PCI. Tabulka vytvořena dle zdrojů uvnitř tabulky.....	27
Tabulka 7: Různé podmínky Mitsunobovy reakce.	44