

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków
Lecznicznych



Wojciech Szczołko

**Synteza, charakterystyka i właściwości biologiczne
nowych układów porfirynoidowych
o rozbudowanych grupach peryferyjnych**

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab. Stanisław Sobiak

Poznań 2013

Słowa kluczowe :

Porfirazyna

Diaminomaleonitryl

Ftalocyjanina

Terapia fotodynamiczna

Terapia fotodynamiczna skierowana przeciw mikroorganizmom

Część pracy została wykonana w ramach projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (wcześniej Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego):

1. "Porfirynoidy posiadające peryferyjne podstawniki tienylometyloaminowe dla zastosowań w biomimetyce i farmakologii", grant promotorski nr N N405 356339
2. „Koniugaty porfirazynowo-nitroimidazolowe jako fotosensybilizatory dla terapii fotodynamicznej”, nr N N401 067 238
3. „Modyfikowane porfirynoidy o potencjalnym zastosowaniu w terapii oraz diagnostyce chorób nowotworowych i infekcji wirusem grypy”, nr N N404 069 440

Doktorant był stypendystą

1. Stypendium dla młodych badaczy z poznańskiego środowiska naukowego - 2012 rok
2. Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, na lata 2011/2012 oraz 2012/2013

Praca została wykonana we współpracy z:

- Katedrą i Zakładem Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu - w zakresie przeprowadzenia analiz HPLC otrzymanych związków makrocyklicznych
- Katedrą i Zakładem Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu - w zakresie badań mikrobiologicznych otrzymanych porfirynoidów

*Panu Profesorowi **Stanisławowi Sobiakowi** składam serdeczne podziękowania za okazaną pomoc i wszelkie udzielone porady i konsultacje w trakcie wykonywania pracy.*

*Panu Doktorowi habilitowanemu **Tomaszowi Goślińskiemu** serdecznie dziękuję za umożliwienie wykonania pracy w Katedrze Technologii Chemicznej Środków Leczniczych oraz za pomoc w interpretacji wyników.*

*Pani Doktor **Ewie Tykarskiej** dziękuję za udostępnienie wyników analizy rentgenostrukturalnej.*

*Pani Profesor **Jadwidze Mielcarek** dziękuję za umożliwienie wykonania analiz chromatograficznych w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej.*

*Panu Magistrowi **Łukaszowi Sobotta** serdecznie dziękuję za udostępnienie wyników wysokosprawnej chromatografii cieczowej.*

*Pani Profesor **Marzenie Gajęckiej** dziękuję za umożliwienie wykonania badań mikrobiologicznych w Katedrze i Zakładzie Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej.*

*Pani Doktor **Jolancie Długaszewskiej** serdecznie dziękuję za pomoc w przeprowadzeniu badań mikrobiologicznych oraz interpretacji wyników tych badań.*

*Pani **Beacie Kwiatkowskiej i pozostałym Pracownikom Katedry** serdecznie dziękuję za miłą atmosferę i pomoc w trakcie wykonywania badań.*

Pracę dedykuję Moim Rodzicom

Paulinie

Część wyników została opublikowana lub przyjęta do druku

1. Synthesis, characteristics and photochemical studies of novel porphyrazines possessing peripheral 2,5-dimethylpyrrol-1-yl and dimethylamino groups.

Wojciech Szczołko, Łukasz Sobotta, Piotr Fita, Tomasz Koczorowski, Michał Mikuś, Maria Gdaniec, Aleksandra Orzechowska, Kvestoslava Burda, Stanisław Sobiak, Marcin Wierzchowski, Jadwiga Mielcarek, Ewa Tykarska, Tomasz Gośliński.

Tetrahedron Lett. 2012, 53, 2040-2044; IF = 2.683

2. Zastosowanie porfirynoidów w biomimetyce dla potrzeb farmacji, medycyny i toksykologii.

Wojciech Szczołko, Stanisław Szpunt, Sebastian Lijewski, Magdalena Nowak, Stanisław Sobiak, Tomasz Gośliński.

Farmacja Polska, 2011, 67, 441-447; KBN = 3

3. Terapia fotodynamiczna z udziałem fotouczulaczy porfirynoidowych jako narzędzie współczesnej medycyny i wyzwanie dla farmacji.

Anna Wzgarda, Tomasz Koczorowski, Michał Nowak, Sebastian Lijewski, Beata Czarczyńska-Goślińska, Wojciech Szczołko, Tomasz Gośliński.

Czasopismo Aptekarskie, 2012, 19, 37-49; KBN = 4

4. Perspektywy zastosowania pochodnych hiperycyny w terapii fotodynamicznej ukierunkowanej przeciw chorobom nowotworowym i mikroorganizmom (część I).

M. Ściepura, A. Wzgarda, W. Szczołko, M. Wierzchowski, M. Duda, S. Sobiak, J. Mielcarek, T. Gośliński.

Czasopismo Aptekarskie, KBN = 4, przyjęte do druku

5. Perspektywy zastosowania pochodnych hiperycyny w terapii fotodynamicznej ukierunkowanej przeciw chorobom nowotworowym i mikroorganizmom (część II).

M. Ściepura, A. Wzgarda, W. Szczołko, M. Wierzchowski, M. Duda, S. Sobiak, J. Mielcarek, T. Gośliński.

Czasopismo Aptekarskie, KBN = 4, przyjęte do druku

6. Functional singlet oxygen generators based on porphyrazines with peripheral 2,5-dimethylpyrrol-1-yl and dimethylamino groups.

Łukasz Sobotta, Piotr Fita, Wojciech Szczołko, Maciej Wrotynski, Marcin Wierzchowski, Tomasz Goslinski, Jadwiga Mielcarek

Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2013, IF = 2,416

DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.jphotochem.2013.06.018>

7. Zgłoszenie Urząd Patentowy Rzeczpospolitej Polskiej nr P. 402259

Tytuł: „*Nowe pochodne dinitryli oraz sposób otrzymywania nowych pochodnych dinitryli*”

Autorzy: Marcin Wierzchowski, Tomasz Gośliński, Ewa Tykarska, Weronika Jusiak, Stanisław Sobiak, Jarosław Piskorz, Michał Kryjewski, Wojciech Szczołko; zgłoszenie 27.12.2012.

8. Zgłoszenie Urząd Patentowy Rzeczpospolitej Polskiej nr P. 402263

Tytuł „*Morfolinowe oraz morfolinowo-nitroimidazolowe pochodne ftalocyjanin, sposób ich otrzymywania oraz zastosowanie*”

Autorzy: Marcin Wierzchowski, Tomasz Gośliński, Wojciech Szczołko, Stanisław Sobiak, Paulina Skupin-Mrugalska, Marek Murias, Małgorzata Kucińska, Sebastian Lijewski, Mateusz Ściepura, Maciej Korpusiński, Jadwiga Mielcarek;

zgłoszenie 27.12.2012

SPIS TREŚCI

I. WSTĘP.....	1
II. CEL PRACY	2
III. CZĘŚĆ LITERATUROWA.....	3
III.1. Helioterapia i terapia fotodynamiczna	3
III.2. Reakcja fotodynamiczna podstawą terapii fotodynamicznej.....	6
III.3. Fotosensybilizatory izolowane z roślin i ich pochodne w terapii fotodynamicznej.....	8
III.4. Fotosensybilizatory otrzymywane na drodze syntezy chemicznej w terapii fotodynamicznej.....	10
III.5. Porfirynoidy w biomimetyce.....	15
III.6. Porfirazyny posiadające peryferyjne ugrupowania azotowe - synteza, właściwości fizyko-chemiczne i zastosowania.....	19
III.6.1. Aminoporfirazyny z symetrycznymi podstawnikami.....	19
III.6.2. Aminoporfirazyny z niesymetrycznymi podstawnikami peryferyjnych.....	24
III.6.3. Peryferyjna metalacja aminoporfirazyn i ich pochodnych.....	26
III.6.4. Porfirazyny posiadające peryferyjne 5-członowe skondensowane pierścienie tiadiazolowe i selenadiazolowe.....	30
III.6.5. Porfirazyny posiadające peryferyjne 6-członowe skondensowane pierścienie pirazynowe w części peryferyjnej.....	31
III.6.6. Porfirazyny posiadające 7-członowe skondensowane pierścienie diazepinowe, perhydrodiazepinowe oraz pierścienie tropyliowe w części peryferyjnej.....	34
IV. WYNIKI I DYSKUSJA.....	38
IV.1. Synteza i charakterystyka porfirazyn posiadających w części peryferyjnej rozbudowane ugrupowania pirolilowe i dimetyloaminowe.....	38
IV.1.1. Synteza porfirazyny magnezowej posiadającej naprzemienny układ podstawników peryferyjnych 2,5-dimetylopirolilowego i dimetyloaminowego.....	38
IV.1.1.1. Synteza porfirazyny bezmetalicznej z peryferyjnym układem grup 2,5-dimetylopirolilowych i dimetyloaminowych.....	43
IV.1.2. Synteza porfirazyny magnezowej z peryferyjnym układem podstawników 2,5-difenylopirolilowych i dimetyloaminowych.....	47

IV.1.3. Synteza porfirazyn z peryferyjnymi ugrupowaniami 2,5-di(4'-chlorofenyl)pirolilowymi i dimetyloaminowymi oraz 2,5-di(bifenyl)pirolilowymi i dimetyloaminowymi.....	55
IV.1.4. Synteza porfirazyny magnezowej funkcjonalizowanej peryferyjnie grupami 2-fenyl-5-metylopirolilowymi i dimetyloaminowymi.....	63
IV.1.5. Synteza porfirazyny magnezowej funkcjonalizowanej peryferyjnie grupami 2,3,5,-trifenylpirolilowymi i dimetyloaminowymi.....	69
IV.1.6. Badania przeciwbakteryjne serii otrzymanych porfirazyn posiadających w części peryferyjnej ugrupowania pirolilowe i dimetyloaminowe.....	72
IV.2. Synteza, charakterystyka i właściwości sensoryczne porfirazyny posiadającej w peryferium ugrupowanie metylo(2-tienylometylo)aminowe	74
IV.2.1. Właściwości sensoryczne porfirazyny magnezowej posiadającej w części peryferyjnej ugrupowania metylo(2-tienylometylo)aminowe.....	76
IV.3. Synteza, charakterystyka i właściwości przeciwbakteryjne ftalocyjanin posiadających ugrupowania morfolinoetoksyłowe.....	78
IV.3.1. Określenie aktywności przeciwbakteryjnej ftalocyjaniny magnezowej posiadającej peryferyjne czwartorzędowe ugrupowania morfolinoetoksyłowe.....	81
V. PODSUMOWANIE.....	84
VI. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA.....	86
VI.1. Uwagi ogólne.....	86
VI.2. Stosowane rozpuszczalniki i reagenty.....	88
VI.3. Synteza i charakterystyka porfirazyn posiadających w części peryferyjnej rozbudowane ugrupowania 2,5-dimetylopirolilowe i dimetyloaminowe.....	89
VI.4. Synteza porfirazyny magnezowej z peryferyjnym układem podstawników 2,5-difenylpirolilowego i dimetyloaminowego.....	92
VI.5. Synteza porfirazyn z peryferyjnymi ugrupowaniami 2,5-di(4'-chlorofenyl)pirolilowymi i dimetyloaminowymi oraz 2,5-di(bifenyl)pirolilowymi i dimetyloaminowymi.....	93
VI.6. Synteza porfirazyny magnezowej funkcjonalizowanej peryferyjnie grupami 2-fenyl-5-metylopirolilowymi i dimetyloaminowymi.....	98

VI.7. Synteza porfirazyny magnezowej funkcjonalizowanej peryferyjnie grupami 2,3,5,-trifenylolipoliowymi i dimetyloaminowymi.....	99
VI.8. Synteza, charakterystyka i właściwości sensoryczne porfirazyny posiadającej w peryferium ugrupowanie metylo(2-tienylometylo) aminowe.....	101
VI.9. Synteza, charakterystyka i właściwości przeciwbakteryjne ftalocyjanin posiadających ugrupowanie morfolinoetoksylove.....	103
VI.10. Przygotowanie liposomów zawierających porfirazyny (4, 10, 15, 22, 25).....	105
VII. STRESZCZENIE.....	107
VIII. ABSTRACT.....	108
IX. BIBLIOGRAFIA.....	109
X. SUPLEMENT.....	119

I. WSTĘP

W dobie wzmożonej walki z chorobami powodowanymi przez mikroorganizmy prowadzi się liczne badania mające na celu opracowanie leków wykorzystujących nowe mechanizmy działania. Dużym problemem w leczeniu zakażeń bakteryjnych jest coraz częściej spotykana oporność drobnoustrojów na antybiotyki. Coraz więcej uwagi poświęca się alternatywnym metodom leczenia zakażeń, takim jak terapia fotodynamiczna skierowana przeciw mikroorganizmom (PACT). Szczególnie perspektywy dla potrzeb tej terapii, wydają się stwarzać związki z grupy porfirynoidów. Wśród tej grupy makrocykli można wyróżnić wiele związków heterocyklicznych różniących się liczbą i sposobem powiązania pierścieni pirolowych. Największą grupę porfirynoidów stanowią pochodne porfiryny, które występują w przyrodzie np. hem, chlorofil czy witamina B₁₂. Otrzymywane są także syntetyczne pochodne, do których należą pochodne porfirazynowe i ftalocyjaninowe. Porfirazyny składają się z czterech pierścieni pirolowych połączonych mostkami azowymi. Historycznie starszymi od porfirazyn są ftalocyjaniny, które zbudowane są z czterech połączonych mostkami azowymi pierścieni ftalowych.

W części literaturowej niniejszej pracy omówiono dotychczasowy stan wiedzy na temat zastosowania porfirynoidów w terapii fotodynamicznej (PDT) oraz w terapii fotodynamicznej skierowanej przeciw mikroorganizmom (PACT) i biomimetyce. Zebrano również i opisano materiał dotyczący jednej z ważniejszych i intensywnie badanych grup porfirazyn, którymi są aminoporfirazyny. W badaniach wykonanych w części eksperymentalnej pracy przedstawiono wyniki syntezy i charakterystyki fizykochemicznej porfirazyn z grupy aminoporfirazyn, posiadających w części peryferyjnej rozbudowany podstawnik pirolilowy oraz zamieszczono wyniki wstępnych badań ich aktywności przeciw mikroorganizmom. W dalszej części pracy przedstawiono syntezę i charakterystykę porfirazyn posiadających ugrupowanie metylo(2-tienylometylo)aminowe i sprawdzono ich właściwości sensoryczne. Pod koniec części eksperymentalnej przedstawiono wyniki syntezy i charakterystykę ftalocyjanin posiadających ugrupowania morfolinoetoksyłowe, a także zamieszczono wstępne wyniki badań ich aktywności przeciw mikroorganizmom.

II. CEL PRACY

W ramach niniejszej pracy zaplanowano otrzymanie porfirynoidów posiadających rozbudowany układ podstawników w części peryferyjnej oraz sprawdzenie ich przydatności dla potrzeb terapii fotodynamicznej skierowanej przeciw mikroorganizmom

Zamierzony cel pracy miał zostać zrealizowany przez wykonanie badań takich jak:

1. Opracowanie syntezy i charakterystyka maleonitryli posiadających rozbudowane ugrupowania pirolilowe i dimetyloaminowe.
2. Synteza i charakterystyka fizyko-chemiczna porfirazyn z ugrupowaniami pirolilowymi i dimetyloaminowymi.
3. Inkorporowanie otrzymanych porfirazyn w liposomy, a następnie przeprowadzenie badań mikrobiologicznych.
4. Opracowanie syntezy i charakterystyka maleonitryla posiadającego ugrupowanie metylo(2-tienylometylo)aminowe.
5. Synteza i charakterystyka porfirazyn posiadających ugrupowanie metylo(2-tienylometylo)aminowe oraz sprawdzenie ich właściwości sensorycznych.
6. Synteza i charakterystyka ftalonitryla posiadającego ugrupowania morfolinoetoksyłowe.
7. Synteza i charakterystyka ftalocyjanin oraz ich soli czwartorzędowych posiadających ugrupowania morfolinoetoksyłowe
8. Sprawdzenie aktywności fotodynamicznej skierowanej przeciw mikroorganizmom otrzymanych ftalocyjanin

W części literaturowej niniejszej pracy postanowiono podsumować aktualny stan wiedzy z następujących tematów:

1. Substancje fotoaktywne w świecie roślin.
2. Zastosowanie porfirynoidowych fotosensybilizatorów w terapii fotodynamicznej i terapii fotodynamicznej skierowanej przeciw mikroorganizmom.
3. Porfirazyny posiadające peryferyjne ugrupowania aminowe.

III. CZĘŚĆ LITERATUROWA

Wybrane fragmenty materiału przedstawionego w poniższej części literaturowej były przedmiotem opracowań [1, 2, 3] i materiałów opublikowanych [4] lub przyjętych do druku [5], których doktorant był współautorem.

III.1. Helioterapia i terapia fotodynamiczna

Obecnie stosowane leczenie z użyciem światła jest prowadzone w formie opracowanej już w czasach Starożytności [6]. Ojcem „helioterapii” jest bez wątpienia historyk i filozof grecki - Herodot. Helioterapia w formie zmodyfikowanej, obejmującej połączenie trzech elementów tj. światła, tlenu i fotosensybilizatora, została wprowadzona do lecznictwa około 100 lat temu pod postacią terapii fotodynamicznej. Do rozwoju współczesnej terapii leczenia światłem przyczynił się Niels Finsen, uhonorowany za swoje odkrycia w 1903 r. Nagrodą Nobla [7]. Eksperymenty prowadzone równolegle i w okresie późniejszym przez Oscara Raaba, Hermana von Tappeinera i Friedricha Meyer-Betza spowodowały dalszy rozwój tej dziedziny medycyny. W szczególności badania przeprowadzone przez Thomasa Dougherty’ego z Roswell Park Cancer Institute w Stanach Zjednoczonych z użyciem pochodnej hematoporfirynowej przyczyniły się do swoistej eksplozji zainteresowania terapią fotodynamiczną (PDT) [8-10].

Zgromadzone i dobrze udokumentowane zastosowania PDT obejmują zarówno leczenie chorób nowotworowych [11-16], jak i nienowotworowych, w szczególności rogowacenia słonecznego [17] i związanej z wiekiem degeneracji plamki żółtej [18]. W ostatnich latach wykorzystuje się również możliwości fotodiagnostyczne prowadzonej terapii [19] oraz próbuje stosować do zwalczania lekoopornych szczepów bakteryjnych [20, 21]. PDT, jako metoda nieinwazyjna jest cennym i komplementarnym uzupełnieniem klasycznych metod leczenia nowotworów – radio- i chemioterapii, jak również nierzadko alternatywą dla resekcji chirurgicznych. Terapia fotodynamiczna nie powoduje dużej liczby działań niepożądanych (nie uszkadza szpiku, nie powoduje wymiotów, nie zaburza funkcji wątroby i nerek), stanowiących główny problem nieinwazyjnych metod leczenia onkologicznego. W przeciwieństwie do operacji chirurgicznych, jest leczeniem pozwalającym na zachowanie narządu i otaczających

tkanek w całości, co za tym idzie – zachowaniu ich funkcji i przydatności w dalszym życiu człowieka [15, 16]. Zrozumiałe jest, że PDT zyskuje w świecie coraz większą aprobatę medycznych organizacji rządowych. Już, w 1995 r. PDT została zaaprobowana do terapii nowotworów przełyku przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (Federal Food and Drug Administration, FDA), a w 2000 r. do leczenia związanej z wiekiem degeneracji plamki żółtej (AMD) [22]. W Polsce PDT jest coraz szerzej stosowana, w zespołach m.in. prof. dr hab. Aleksandra Sieronia, prof. dr hab. Alfredy Graczyk, prof. dr hab. Haliny Podbielskiej, prof. dr hab. Piotra Ziółkowskiego i prof. dr hab. Marka Lipińskiego.

Wydaje się, że rozwiązanie w postaci stosowania terapii fotodynamicznej ukierunkowanej przeciwko drobnoustrojom, czyli PACT (Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy) może przynieść istotną korzyść w dobie szerzenia się oporności mikroorganizmów na tradycyjne chemioterapeutyki. Antybiotyki, zwłaszcza penicyliny, streptomycyna i tetracykliny, przyniosły olbrzymi postęp w leczeniu infekcji bakteryjnych w drugiej połowie XX wieku. Ryzyko szybkiego rozwoju oporności było siłą napędową wprowadzania coraz to nowych substancji czynnych, wykazujących różne mechanizmy działania. Jednocześnie od czasu odkrycia penicyliny w 1938 r. znacznie wzrosły wymagania, co do aktywności, właściwości farmakologicznych i bezpieczeństwa stosowania. Wydaje się, że PACT, która wykazuje zastosowanie przy zakażeniach grzybiczych, pasożytniczych, a także posiada wysoki potencjał antywirusowy, może w przyszłości stać się cennym uzupełnieniem tradycyjnej antybiotykoterapii [23]. Słabym punktem tej metody leczenia jest niemożność przenikania światła do głębiej znajdujących się tkanek i narządów. Wydaje się, że za sprawą użycia światłowodów możliwe będzie zastosowanie PACT w terapii ropni. Istotną zaletą PACT jest skuteczność wobec bakterii wrażliwych i opornych na antybiotyki, w tym metacyclinoopornych szczepów *Staphylococcus aureus* (MRSA) i wankomycynoopornych szczepów *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* (VREF). Jak dotąd, nie zaobserwowano powstawania szczepów opornych na terapię, pomimo wielokrotnego stosowania. Wydaje się, że idealne fotosensybilizatory dla PACT powinny być selektywne wobec konkretnych mikroorganizmów, co pozwoliłoby ominąć efekt toksyczny względem naturalnej flory bakteryjnej pacjenta. Spośród innych zalet PACT można wymienić znaczne obniżenie kosztów leczenia infekcji, wysoką skuteczność (nawet do 99%), szybki czas działania, brak skutków ubocznych

systemowego przyjmowanego ksenobiotyku oraz brak ryzyka powstania oporności [24]. Od ponad pół wieku trwają poszukiwania idealnego fotosensybilizatora (leku) dla potrzeb PDT. Wydaje się, że związek taki powinien:

- być stabilny chemicznie
- dobrze rozpuszczać się w wodzie
- przejawiać wysoką zdolność generowania tlenu singletowego
- nie powinien natomiast wykazywać cytotoksyczności bez wzbudzenia światłem, powinien szybko i selektywnie kumulować się w tkankach nowotworowych, bez penetracji do otaczających tkanek zdrowych
- szybko eliminować z organizmu pacjenta
- jego maksimum absorpcji powinno być zlokalizowane w zakresie 600–800 nm, gdyż światło o takiej długości fali może głęboko penetrować zmienione nowotworowo tkanki (światło o długości 700–800 nm może wnikać w tkankę na głębokość 1 cm, natomiast światło o długości ok. 600 nm jedynie na 0,5 cm) [7, 25]. W przypadku miejscowo stosowanego kwasu 5-aminolewulinowego efekt terapeutyczny i nekroza guza jest ograniczona do głębokości 1-2 mm [26].

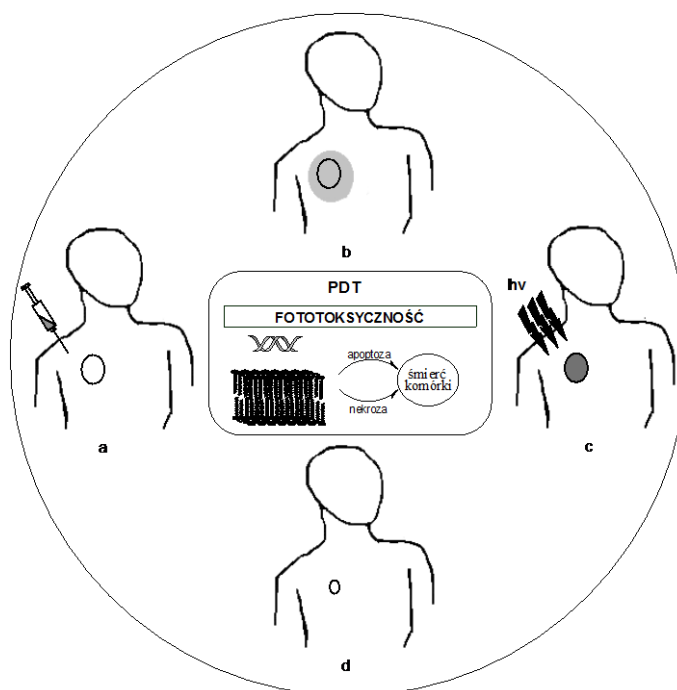
Biorąc pod uwagę spójność wiązki, w terapii znalazły zastosowanie zarówno koherentne, jak i niekoherentne źródła światła. W użyciu znajdują się lampy wolframowe, halogenowe i ksenonowe, które jako niekoherentne źródła światła służą głównie do naświetlania dużych powierzchni [26]. Z kolei lasery diodowe i diody LED zyskują na znaczeniu, zwłaszcza, że oferują coraz większy zakres długości fal. Zwraca się uwagę, że w przyszłości wzrośnie rola wykorzystywanych organicznych diod LED [27]. Źródła światła oparte na diodach LED są znacznie tańsze niż bazujące na laserach diodowych, a nie ustępują im pod względem energii wiązki [12]. Proponowane techniki naświetlania nowotworów mają na celu aktywację fotouczulacza: powierzchniową, śródmiąższową, śródoperacyjną i w jamach ciała. Aktywacja powierzchniowa fotouczulacza ma miejsce w przypadku łatwo dostępnych nowotworów na powierzchni skóry i błon śluzowych. Światło jest tam zwykle dostarczane za pomocą włókien optycznych zakończonych mikrosoczewką. Do naświetlania guzów o średnicy przekraczającej 1 cm stosuje się metodę śródmiąższową. W metodzie tej światło jest dostarczane światłowodem zakończonym dyfuzorem. Dopuszcza się stosowanie w rozległych guzach kilku włókien jednocześnie. Metoda ta jest szczególnie przydatna dla guzów, których usunięcie wiązałoby się z resekcją dużych ilości tkanki.

W przypadku naświetlania śródoperacyjnego fotouczulacz podaje się pacjentowi kilka dni przed operacją, celem jego kumulacji w tkance nowotworowej. Następnie nowotwór jest chirurgicznie usuwany, a następnie przeprowadzane jest śródoperacyjne PDT. Tego typu leczenie jest szczególnie pożądane w przypadku, gdy podczas usuwania guza istnieje realne ryzyko pozostawienia tkanki z rozsianymi wokół zmianami nowotworowymi. Technika ta okazała się bardzo użyteczna w przypadku nowotworów głowy i szyi. PDT stosowane do jam ciała znajduje zastosowanie w leczeniu nowotworów oskrzeli, macicy, przełyku, gdzie stosuje się wówczas specjalne dyfuzory [26].

III.2. Reakcja fotodynamiczna podstawą terapii fotodynamicznej

Jak wspomniano powyżej do przeprowadzenia PDT konieczne jest wzajemne dopasowanie trzech elementów: tlenu, światła o określonej długości fali i fotosensybilizatora. Tylko w przypadku wzajemnego dostrojenia tych składników dochodzi do wytwarzania tlenu singletowego, który jest zaliczany do reaktywnych form tlenu. Tlen singletowy reaguje z wieloma komponentami komórki, w szczególności z błonami komórkowymi i błonami wielu organelli np. mitochondriów, lizosomów i retikulum endoplazmatycznego. Fotosensybilizator podany do miejsca działania na drodze iniekcji dożylniej lub bezpośrednio na zmianę chorobową na powierzchni skóry, śluzówek, naświetla się wiązką światła o określonej długości fali (koherentne źródła światła) lub obejmującej zakres długości fal (niekoherentne źródła światła) odpowiadającej maksimum absorpcji fotosensybilizatora, który przechodzi ze stanu podstawowego w stan wzbudzony. Powrót fotosensybilizatora do stanu podstawowego odpowiada za fluorescencję, która niekiedy jest wykorzystywana w diagnostyce fotodynamicznej PDD. Jednakże równie często dochodzi do przejścia fotouczulacza z singletowego stanu wzbudzonego w stan trypletowy ($^3\text{O}_2$). Fotouczulacz znajdujący się w tym stanie może indukować efekt terapeutyczny na trzy sposoby: (i) polega na transferze elektronów lub atomów wodoru na cząsteczkę substratu, co w konsekwencji prowadzi do wytworzenia wolnych rodników, które reagując np. z cząsteczkami tlenu, generują powstanie jego reaktywnych form, (ii) polega na reakcji wzbudzonego fotouczulacza z tlenem, który znajduje się w stanie trypletowym. Już sam transfer energii ze wzbudzonego fotosensybilizatora ($^3\text{O}_2$) na tlen trypletowy, wywołuje przejście do wysoce aktywnej formy singletowej ($^1\text{O}_2$). Tlen w tej formie reaguje

z kwasami nukleinowymi, nienasyconymi wiązaniami lipidów oraz wybranymi aminokwasami w białkach, (iii) polega na tym, że wywierane jest bezpośrednie działanie toksyczne na tkanki bez udziału tlenu. Z uwagi na fakt, że fotouczulacz gromadzi się w błonach komórkowych, nie jest mutagenny dla DNA. Uwolnienie komórkowych i subkomórkowych oraz naczyniowych czynników w miejscu naświetlenia prowadzi często do miejscowych, rzadziej układowych reakcji immunologicznych [7, 14]. Komórki potraktowane PDT giną na drodze nekrozy lub apoptozy (**Rys. 1**) [28].



Rys. 1. Mechanizm terapii fotodynamicznej (PDT): **a**) wprowadzenie fotosensybilizatora (leku) do tkanki poddawanej terapii, **b**) dystrybucja leku w obrębie tkanki, **c**) naświetlanie tkanki poddawanej terapii po podaniu leku, **d**) śmierć komórek wraz z remisją choroby.

Nekrotyczna śmierć komórki jest burzliwym i niekontrolowanym procesem, wywołanym przez znaczne i nieodwracalne uszkodzenie struktur komórkowych np. mitochondriów, błon komórkowych i jądra. Podczas nekrozy dochodzi do inaktywacji szlaków metabolicznych i w konsekwencji szybkiej śmierci komórki. Skutkiem utraty ciągłości błon komórkowych jest wylanie zawartości cytoplazmy do otaczających tkanek, co w konsekwencji prowadzi do stanu zapalnego. Apoptoza jest w odróżnieniu od nekrozy procesem w pełni kontrolowanym i pozwala na usuwanie zniszczonych lub zużytych komórek z organizmu. Fotosensybilizator może kumulować się w komórce w różnych kompartmentach, a po ekspozycji na promieniowanie może wprowadzać ją

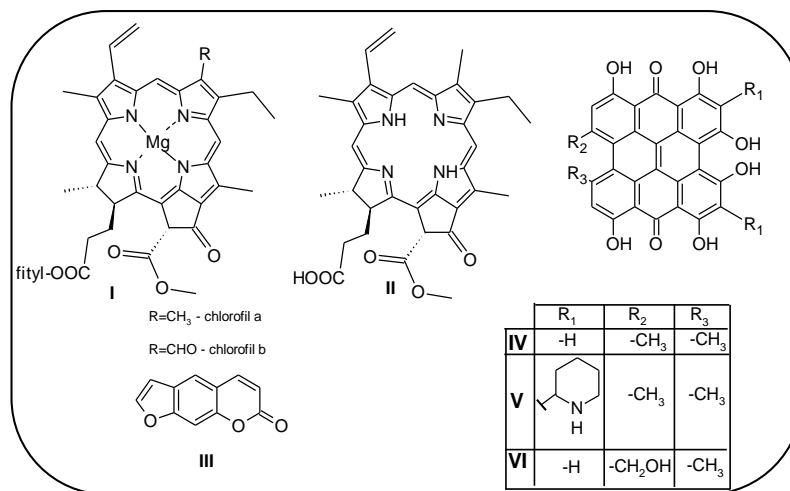
na drogę śmierci apoptotycznej. Kluczowym elementem tego procesu jest zaburzenie funkcjonalnej równowagi między dwoma białkami: antyapoptotycznym białkiem Bcl-2 i proapoptotycznym białkiem Bax. Uszkodzenie białka Bcl-2, zlokalizowanego w błonie mitochondrium i retikulum endoplazmatycznym, skutkuje interakcją Bax z błoną mitochondrium i uwolnieniem do cytozolu cytochromu c, będącego inicjatorem apoptozy. Alternatywny szlak wprowadzający komórkę na drogę programowanej śmierci, polega na uszkodzeniu błon lizosomów i uwolnieniu enzymów proteolitycznych do cytoplazmy. Produkty proteolizy białka Bid (należącego do rodziny białek Bcl-2), oddziałują z błoną mitochondriów prowadząc do uwolnienia cytochromu c i aktywacji kaspazy 3 oraz 9, odpowiedzialnych za inicjację apoptozy [28, 29].

W terapii PACT wytworzone reaktywne formy tlenu, z wyjątkiem tlenu singletowego, nie są dla komórek bakteryjnych dużym zagrożeniem, gdyż mogą być utylizowane przez enzymy, takie jak dysmutaza ponadtlenkowa i katalaza. Co ciekawe, nie zabezpieczają one komórki przed wytwarzaniem podczas naświetlania tlenem singletowym. Z kolei tlen singletowy powoduje u bakterii nieodwracalne zmiany na poziomie kwasów nukleinowych oraz błony cytoplazmatycznej, prowadzące do ich zniszczenia. Terapia może być stosowana także przy zakażeniach grzybiczych. Tu proces jest nieco bardziej skomplikowany, gdyż dochodzi do kaskady reakcji biochemicznych na poziomie cytoplazmatycznym, zwiększenia przepuszczalności błony komórkowej, dezaktywacji enzymów. Prowadzi to w efekcie do lizy błon komórkowych, lizosomalnych i mitochondrialnych. Warto podkreślić, że terapia nie jest mutagenna dla komórek ludzkich [30, 31].

III.3. Fotosensybilizatory izolowane z roślin i ich pochodne w terapii fotodynamicznej

W naturze występuje wiele substancji o właściwościach fotouczulających, które mogą potencjalnie zostać zastosowane w PDT. Wśród nich są związki pochodzenia roślinnego posiadające strukturę porfirynoidową oraz furanokumarynową, a obszerne informacje na ten temat zostały zamieszczone w publikacji opracowanej przez R. Ebermann'a i wsp. [32]. Najpowszechniej występujące fotosensybilizatory o budowie porfirynoidowej – to makrocykle z grupy chloryn, takie jak chlorofil I, jak

i produkt jego rozpadu - feoforbid *a* **II**, który wykazuje fototoksyczność w stosunku do niektórych nowotworów, w tym do glejaka [33] (**Rys. 2**).



Rys. 2. Wybrane związki o strukturze porfiryndowej: chlorofil **I**, feoforbid *a* **II**, furanokumarynowej: psoralen **III** oraz struktury chemiczne fotocuczulaczy antrachinonowych: hiperycyna **IV**, fagopiryna **V**, pseudohiperycyna **VI**.

Psolareny **III** to przedstawiciele furanokumaryn, które występują w roślinach z rodzaju *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Moraceae*, *Solanaceae*, *Pittosporaceae*, (**III**) (**Rys. 2**). Znalazły zastosowanie w terapii PUVA (*Psolaren Ultra-Violet A*), polegającej na naświetlaniu pacjenta promieniowaniem z zakresu UVA o długości fali 320-340 nm, po uprzednim podaniu leku z grupy psoralenów. Terapia ta znalazła zastosowanie w leczeniu różnego rodzaju schorzeń skórnych m.in. łuszczycy, bielactwa i liszai. Obecnie metoksyłowe pochodne psolarenu są wykorzystywane w fotoforezie pozaustrojowej w leczeniu pierwotnych chłoniaków skóry [34].

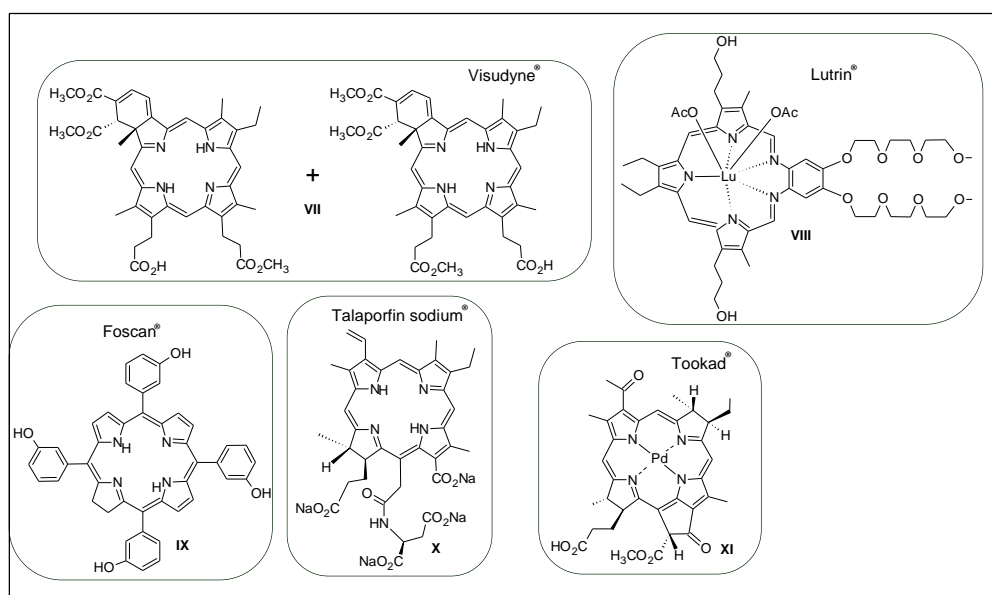
Interesującą aktywność fotodynamiczną wykazują zdimeryzowane antrachinony, m.in. hiperycyna **IV** i fagopiryna **V** (**Rys. 2**). Fagopiryna, która jest izolowana z kwiatu gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum*), po ekspozycji na promieniowanie światła widzialnego w zakresie 540-610 nm, wykazuje właściwości fotosensybilizujące. Natomiast hiperycyna i pseudohiperycyna **VI**, występujące w roślinach rodzaju *Hypericum*, wykazują działanie fotocuczulające pod wpływem światła UV [32]. Możliwość wywołania wczesnego lub późnego stadium apoptozy indukowanej hiperycyną, zbadano *in vitro* na komórkach U373 ludzkiego złośliwego nowotworu mózgu. Po zbadaniu fosforescencji z wykorzystaniem analizy FACS (*fluorescence activated cell sorting*) wykazano, że głównymi mechanizmami śmierci komórki jest

wczesna oraz późna apoptoza, a nekroza nie ma większego wpływu [35]. W kolejnych badaniach Huygens i wsp. sprawdzili możliwość zwiększenia efektywności fototerapii z udziałem hiperycyny, w połączeniu z frakcjonowanym naświetlaniem i hiperoksydacją. Zaobserwowano fragmentację i obkurczenie jądra komórkowego praktycznie we wszystkich komórkach poddanych hiperoksydacji, Pozwoliło to na sformułowanie wniosku, że odpowiedni dostęp tlenu w miejscu działania fotouczulacza, ma decydujące znaczenie dla efektywności fototerapii [36]. W piśmiennictwie można znaleźć liczne doniesienia dotyczące analizy wielu parametrów biochemicznych, istotnych z punktu widzenia PDT, po indukcji hiperycyną. Dotyczyły one określenia poziomu jonów wapnia [37], modulowania ekspresji metaloproteiny-1 [38], wpływu na inhibicję kinazy proteinowej p38alfa MAPK [39], hamowania kinazy proteinowej C [40], a także rolę genu p53 [41].

Dotychczas w literaturze naukowej pojawiło się niewiele doniesień na temat zastosowania PDT indukowanej hiperycyną w stosunku do mikroorganizmów. Lüthi i wsp. zaproponowali zastosowanie PDT indukowanej hiperycyną i mTHPC (mezo-tetra(hydroksyfenylo)chloryna), w stosunku do bakterii odpowiedzialnych za powstawanie próchnicy (*Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*) [42]. Badanie wykonano w warunkach *in vitro* poddając kultury inkubacji w hiperycynie i FOS (liposomalnym mTHPC), a następnie naświetlono aparatem dentystycznym (400-505 nm). Żywotność kolonii sprawdzono po 48 godz. Stwierdzono, że 100% kultury *S. sobrinus* zostało uśmiercone po 15 minutowej inkubacji przy niskich dawkach hiperycyny. Szczep *S. mutans* zachował się inaczej, FOS wykazywał znaczącą toksyczność przed aktywacją światłem, natomiast hiperycyna nie spowodowała znaczących zmian w żywotności kultur. Dopiero zastosowanie zwiększonej dawki i podwójnego naświetlania przez 120 s, spowodowało śmierć 99,9% bakterii. Całkowite uśmiercenie bakterii zostało dokonane dopiero przez kombinację hiperycyny i FOS. Wyniki wskazują na konieczność dokładnej optymalizacji PDT, gdyż nawet blisko spokrewnione gatunki bakterii mogą odmiennie reagować na różne fotouczulacze [42].

III.4. Fotosensybilizatory otrzymywane na drodze syntezy chemicznej w terapii fotodynamicznej

Zaledwie kilka preparatów z grupy fotouczulaczy jest dostępnych do leczenia onkologicznego pacjentów. Duża grupa fotouczulaczy znajduje się jeszcze w różnych fazach badań klinicznych. Wśród dostępnych na światowym rynku farmaceutycznym preparatów, większość stanowią pochodne porfirynowe lub chlorynowe. Rosnącym zainteresowaniem cieszą się także ftalocyjaniny. Fotouczulacze stosowane klinicznie można podzielić na trzy generacje. Do pierwszej generacji należy pochodna hematoporfiryny (HpD). Jednym z najbardziej znanych przedstawicieli jest Photofrin®. Drugą generację stanowią: kwas 5-aminolewulinowy (ALA) i jego estry, pochodna benzoporfiryny (BPD) **VII**, teksafiryna lutetu **VIII**, temoporfina (mTHPC, Foscan®) **IX**, cynowa etiopurpuryna (SnET2) oraz talaporfina sodowa (LS11) **X** (**Rys. 3**). Trzecia generacja jest najbardziej zaawansowana strukturalnie. Obejmuje związki będące połączeniami fotouczulaczy z przeciwciałami monoklonalnymi lub wbudowane w nanostruktury [43-47].



Rys. 3. Wybrane fotouczulacze stosowane w terapii fotodynamicznej (na podstawie 27).

Struktura pochodnych hematoporfiryny (Hematoporphyrin Derivative – HpD) oparta jest na cząsteczce hemu. Najbardziej znanymi przedstawicielami dostępnym handlowo są Photofrin® (Axcan Pharma Inc.) i Photogem® (Moscow Research Oncological Institute). HpD stanowi kombinację mono-, di- i oligomerów HpD. Lek ten jest

stosowany do leczenia tzw. przełyku Barretta, nowotworów pęcherza moczowego, skóry, płuc, przełyku, głowy i szyi [7, 48]. Z kolei kwas 5-aminolewulinowy (ALA), będący prometabolitem przekształcanym w organizmie do naturalnego prekursora hemu – protoporfiryny IX (PpIX), stanowiącej w tym przypadku aktywny fotouczulacz, jest dostępny handlowo, jako Levulan® (DUSA Pharmaceuticals, Inc.). ALA znalazł zastosowanie w skórnych zmianach nowotworowych, guzach głowy i szyi oraz nowotworze prostaty. Z kolei jego ester metylowy jest stosowany w nowotworach pęcherza moczowego. ALA-PDD zastosowano również w diagnostyce (cystoskopia) oraz w operacji przezcewkowego wycięcia guza pęcherza moczowego. Zaobserwowano, że ALA wprowadzone do pęcherza na 2 godziny przed badaniem diagnostycznym, sprawia, że tkanka nowotworowa naświetlona światłem niebieskim z zakresu 375-400 nm zaczyna fluoryzować [49]. Levulan® znalazł też zastosowanie w leczeniu rogowaceń [48]. Wśród polskich osiągnięć w tym zakresie na uwagę zasługuje pochodna diargininowa protoporfiryny IX badana od wielu już lat w Wojskowej Akademii Technicznej przez prof. Alfredę Graczyk-Padzik. Związek ten wykazał się obiecującą aktywnością w badaniach *in vitro* na komórkach ludzkiego nowotworu piersi (MCF-7, MDA-MB231) i komórkach ludzkiego nowotworu prostaty (LNCaP, DU-145). Bardzo ciekawym, komercyjnie dostępnym fotosensybilizatorem jest benzoporfirynowa pochodna - werteporfina (BpD) dostępna handlowo jako Visudyne® (Novartis Pharmaceuticals). Ze względu na swój hydrofobowy charakter, podobnie jak Photosens®, stosowana jest w postaci liposomalnej. Co istotne, związek ten jest również skuteczny w niszczeniu sieci naczyń krwionośnych, zlokalizowanych w obrębie gałki ocznej, stąd stosowany jest w leczeniu postaci mokrej degeneracji plamki żółtej [43]. Lek ten jest ponadto stosowany w reumatoidalnym zapaleniu stawów oraz w I/II fazie badań klinicznych przeciwko skórnym złośliwym zmianom nowotworowym i łuszczycy [28].

Photosens® (General Physics Institute) to preparat będący mieszaniną di- i trisulfonowych pochodnych ftalocyjanin glinowych. Stosowany jest w postaci liposomalnej, ze względu na dużą hydrofobowość. Znalazł zastosowanie w leczeniu wczesnych zmian zlokalizowanych w obrębie jamy ustnej, gardła, krtani i języka. Jest komercyjnie dostępny w Rosji, gdzie jest wykorzystywany do leczenia nowotworów i zakażeń zarówno w postaci dożylniej, wstrzyknięć bezpośrednio do zmian i w postaci aerozolu. Nadaje się do leczenia wczesnych i nawracających zmian patologicznych

wargi, gardła, krtani i języka oraz płuc i przełyku. Bardzo obiecującą pochodną ftalocyjaninową jest Pc4 (CWRU), który może być podawany zarówno dożylnie jak i miejscowo i będący na I/II etapie badań klinicznych. Ftalocyjaniny charakteryzują się silną absorpcją przy 670 nm. Z uwagi na fakt, że kumulują się w mitochondriach indukują śmierć apoptotyczną. W Szwajcarii w III fazie badań klinicznych dotyczących leczenia nowotworu kolczystokomórkowego znajduje się liposomalna formuacja ftalocyjaniny cynkowej [6, 28].

Dużą grupę fotosensybilizatorów stanowią pochodne chloryny, m.in. talaporfina, obecna w takich preparatach, jak Litx™, Photolon®, Apoptosin™, Laserphyrin® (Light Sciences). Chloryny zalicza się do fotouczulaczy bardzo wydajnych pod względem generowania tlenu singletowego. Ich hydrofilowość umożliwia łatwe dotarcie do odpowiedniego miejsca docelowego oraz warunkuje nieco odmienne od pozostałych preparatów działanie, opierające się na niszczeniu układu naczyń krwionośnych w obrębie guza, co uniemożliwia jego dalszy rozwój. Zastosowania onkologiczne objęły nowotwory wątroby. Ich stosowanie u pacjentów z chorobami wątroby powinno być szczególnie ostrożne z uwagi na eliminację przez drogi żółciowe. Talaporfinę zastosowano w badaniach klinicznych w odniesieniu do nowotworów głowy i szyi oraz płuc. Warto dodać, że producent leku, firma Light Sciences opracowała dla potrzeb naświetlania tego leku przenośne urządzenie typu LED, które może być implantowane do guza. Z udziałem tego urządzenia, terapia określana jest jako Litx™ (Light Infusion Technology) i przeszła badania I i II fazy badań klinicznych. Z uwagi na to, że zanotowano odpowiedź na poziomie 80%, lek wraz z układem do naświetlań przekazano do III fazy badań klinicznych w stosunku do nowotworów wątroby oraz głowy i szyi. Ponadto w 2003 roku Laserphyrin® został zaakceptowany w Japonii do badań klinicznych leczenia wczesnych nowotworów płuc i jest w III fazie badań klinicznych w odniesieniu do nowotworów wątroby i nawracających nowotworów głowy i szyi [7, 28].

Do skutecznych fotouczulaczy zalicza się także pochodne teksaporfiryny, jak np. moteksafinę lutetu Antrin®, Lu-Tex (Pharmacylics). Co ciekawe, jej właściwości lecznicze wykraczają daleko poza terapię fotodynamiczną, odkryto przydatność związku w radioterapii nowotworów OUN, jako czynnika zwiększającego wrażliwość komórek guza na promieniowanie. Związek ten posiada charakter hydrofilowy, stąd też

łatwo ulega dystrybucji po podaniu dożylnym. Szybko się eliminuje – już po upływie 24 godzin nie wykazuje fotoaktywności. Jego zaletą jest także możliwość miejscowej aplikacji. Wadą natomiast jest znaczna bolesność terapii, w wielu przypadkach wymagająca znieczulenia ogólnego. Zastosowania onkologiczne objęły nowotwory piersi i prostaty. Preparat teksafiryny z gadolinem w rdzeniu (Xcytrin™) zaprojektowano jako środek diagnostyczny dla potrzeb rezonansu magnetycznego, radiouczulacz i fotosensybilizator. Warto dodać, że znajduje się on w III fazie badań klinicznych w kierunku leczenia nowotworów mózgu [7, 28, 48].

W ostatnim czasie wiele nadziei terapeutycznych wiąże się z jeszcze jednym przedstawicielem chloryn, którym jest temoporfina dostępna pod nazwą handlową Foscan® (Biolitec Pharma Ltd). Zastosowania onkologiczne objęły paliatywne stany nowotworów jamy ustnej, głowy i szyi. Podczas naświetlania może pojawić się silny ból. Lek ten okazał się skuteczny w nowotworach głowy i szyi, włączając wargi i jamę ustną. Również stosowano go w nowotworach przełyku, żołądka i trzustki, nowotworach sutka [7, 12, 48]. Z pochodnych bakteriochlorynowych na uwagę zasługuje padoporfina dostępna jako Tookad® **XI (Rys. 3)**, WST9 (The Weisman Institute of Science), która jest hydrofobowa i wymaga nośnika. Natomiast padeloporfina (WST11) jest hydrofilowa i łatwa w podaniu. Oba leki działają w obrębie naczyń i po naświetleniu prowadzą do zamknięcia przepływu naczyniowego. Tookad® jest w III fazie badań klinicznych w leczeniu nowotworu prostaty [7, 28].

Istnieje szeroki wachlarz związków fotouczulających, których struktura chemiczna zwiększa lub zmniejsza możliwość zastosowania w terapii PACT. Fotouczulacze kationowe są aktywne w stosunku do bakterii gram-ujemnych. Przykładowo kationowa ftalocyjanina cynkowa jest aktywna zarówno w stosunku do bakterii gram-dodatnich jak i ujemnych, podczas gdy ftalocyjanina z grupami ujemnymi lub obojętnymi nie wykazuje efektu fotouczulającego. Porfiryne kationowe okazały się efektywnymi fotouczulaczami w stosunku do bakterii gram-ujemnych, podczas gdy ujemnie naładowane porfiryne nie wykazały w tym wypadku efektu pożądanego. Fotosensybilizatory anionowe, a więc takie, które posiadają w części peryferyjnej przykładowo grupy karboksylowe lub sulfonowe są skuteczne tylko wobec bakterii gram-dodatnich, gdyż ich porowata ściana jest wystarczająco przepuszczalna. Nie przenikają natomiast przez zewnętrzną błonę komórkową bakterii gram-ujemnych,

która to pokryta jest na powierzchni ujemnie naładowanymi lipopolisacharydami. Powinowactwo tych związków można zwiększyć łącząc cząsteczkę fotouczulacza ze związkami powierzchniowo czynnymi (np. Tris-EDTA), koniugowanie ich z przeciwciałami monoklonalnymi lub łączenie z cząsteczkami o ładunku dodatnim. Fotouczulacze kationowe mogą inaktywować zarówno bakterie gram-dodatnie, jak i gram-ujemne [51]. Co ciekawe, stwierdzono, że ftalocyjanina Pc4 wykazuje aktywność przeciwpierwotniakową w stosunku do *Trypanosoma cruzi* i *Plasmodium falciparum*. Ponadto fenylo-tri(N-metylo-4-pirydylo)porfiryna (Sylsens) jest badana w kierunku dezynfekcji czerwonych krwinek i aktywności antywirusowej [24].

Fotouczulacze najczęściej stosowane w PACT to ftalocyjaniny, błękit metylenowy i błękit toluidyny, a także porfiryny i ich prekursorzy, ksanteny (erytrozyna) i monoterpény (azulen). Błękit toluidyny i metylenowy działają bakteriobójczo także bez naświetlania i są wydajnymi generatorami tlenu singletowego. Pokazano, że oba związki efektywnie niszczą *Candida albicans* [52]. Błękit metylenowy jest wykorzystywany również do dezynfekcji osocza krwi. W wielu krajach europejskich stosowany jest jako związek aktywny w systemie do inaktywacji wirusów Theraflex (MacoPharma, Tourcoing, France) w osoczu. Błękit metylenowy inaktywuje fotochemicznie wirusa HIV, szereg wirusów RNA, jak wirus Zachodniego Nilu, wirus dengi, wirus żółtej gorączki. Przeciwpierwotniakowe zastosowanie błękitu metylenowego obejmuje trypanosomatozę i leiszmaniozę [6,24].

Przy grzybicach stosowane są głównie porfiryny hydrofilowe i fenotiazyny. ALA-PACT wydaje się mniej skuteczny w leczeniu grzybic. ALA stwarza nadzieje w leczeniu chorób wywoływanych przez różne wirusy, w tym brodawczaka ludzkiego (HPV). Wydaje się, że pewien potencjał występuje jeszcze w grupie ftalocyjanin, jednak zależy on bardzo od ich struktury, w szczególności liczby ładunków dodatnich w części peryferyjnej. Pokazano, że tetrakationowa ftalocyjanina cynkowa podstawiona czterema grupami aminoalkilowymi inaktywuje wielooporne szczepy *Candida albicans* [30, 52].

Co ciekawe, naturalne występujące fotosensybilatory, takie jak tertienyl, wyodrębniony z różnych gatunków Aksamitek (*Tagetes sp.*) ma właściwości fototoksyczne w stosunku do nicieni (*Nematoda*) oraz *Candida albicans*. Hiperycyna z dziurawca zwyczajnego (*Hypericum perforatum*) poprzez swoje właściwości przeciwwirusowe stwarza

perspektywy wykorzystania w chorobach wirusowych i sterylizacji krwi. Fenylohaptatriyn z *Asteraceae* i *Apiaceae* wykazuje skuteczność zarówno w przypadku grzybów, bakterii, larw owadów, jak i toksyczność w stosunku do ludzkich fibroblastów [32]. Pokazano również, że pochodne tertienylu prowadzą do destrukcji fotodynamicznej grzybów takich jak *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum cookei*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Epidermophyton floccosum*, *Nannizia cajetani* [30, 53].

III.5. Porfirynoidy w biomimetyce

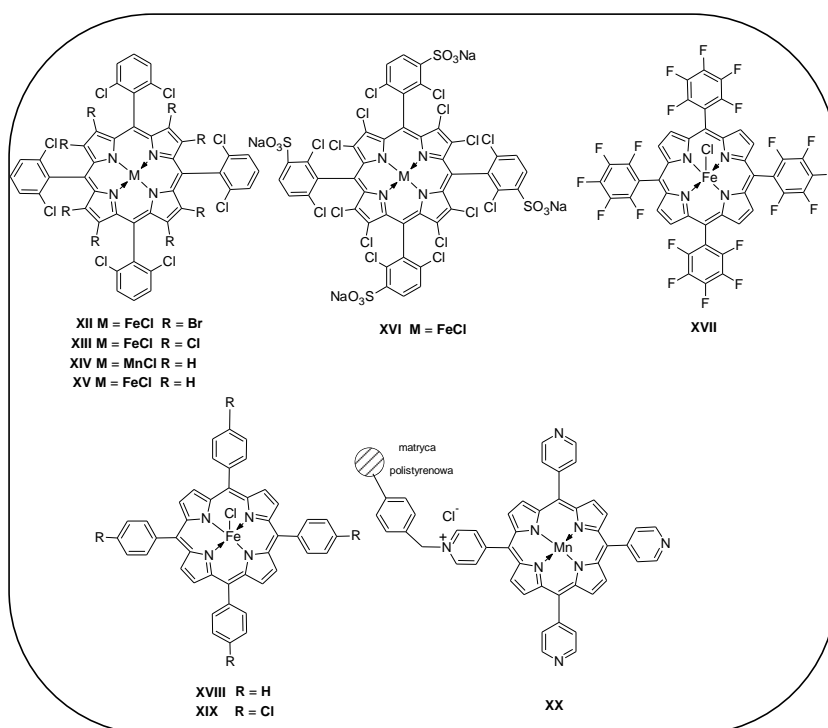
Biomimetyka zajmuje się naśladowaniem reakcji biochemicznych zachodzących w organizmach żywych z wykorzystaniem związków chemicznych zbliżonych aktywnością do związków naturalnych. Enzymy z grupy cytochromu P450 katalizują m.in. hydroksylację ksenobiotyków do związków bardziej polarnych, dzięki czemu ich eliminacja z ustroju przebiega szybciej i efektywniej (wzrost hydrofilowości). Możliwość odtwarzania tych reakcji w warunkach kontrolowanych z użyciem sztucznych centrów metabolicznych przyspiesza badania w zakresie farmakologii i metabolizmu wielu substancji m.in. leków i pestycydów, a także umożliwia otrzymanie związków nieosiągalnych drogą syntezy chemicznej. Związki porfirynoidowe ze względu na strukturalną analogię do cytochromu P450 nadają się szczególnie do badań biomimetycznych, a reakcje katalityczne z ich udziałem mogą wnieść szereg korzyści do badań metabolizmu w farmakologii i toksykologii [54, 55, 56].

Korzyści płynące z zastosowania modeli biomimetycznych do badań metabolizmu leków są następujące:

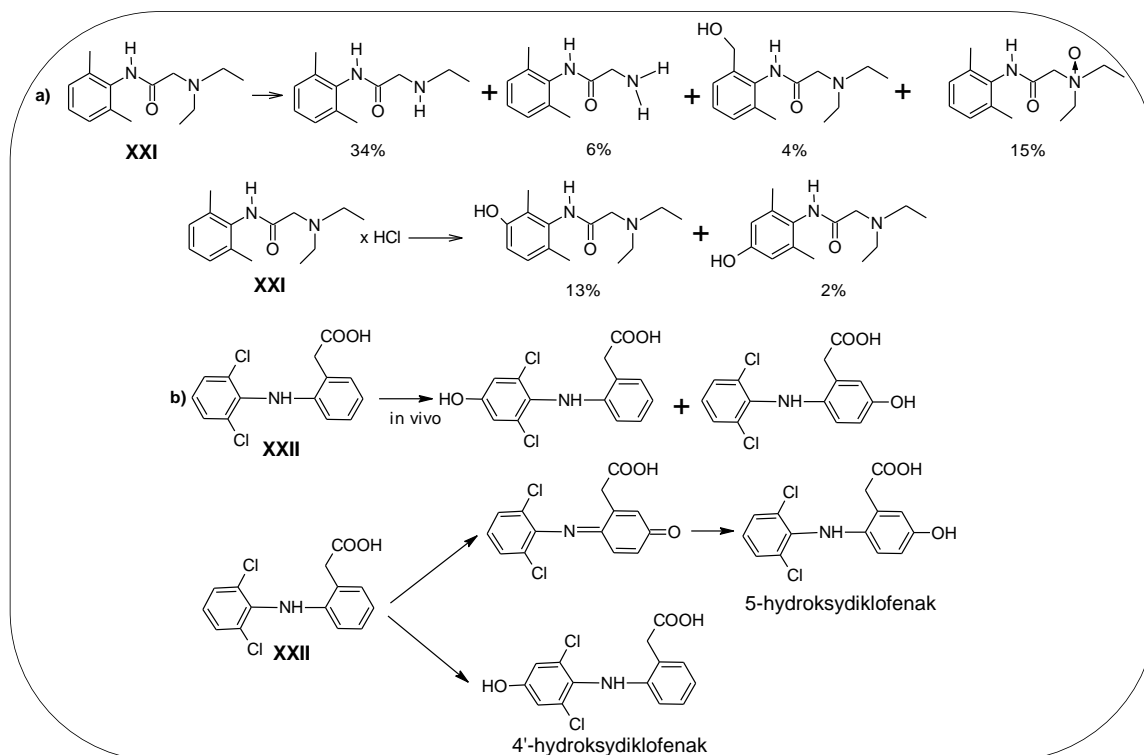
- produkty reakcji biomimetycznych są otrzymywane w dużych ilościach i mogą być wykorzystywane bezpośrednio w testach farmakologicznych oraz w badaniach kierunku przemian metabolicznych
- w warunkach prowadzonych reakcji mogą być również izolowane niestabilne metabolity
- w odróżnieniu od badań w organizmach żywych, reakcje biomimetyczne podlegają kontroli i można optymalizować ich przebieg w szerokim zakresie stosowanych katalizatorów, utleniaczy i rozpuszczalników

- reakcje biomimetyczne bardzo często dają identyczne z izolowanymi z materiału biologicznego produkty, co zaobserwowano w reakcji biomimetycznego utleniania kwasu chlorogenowego katalizowanej chlorkiem tetrafenyloporfiryny żelaza(III) w obecności jodozobenzenu jako utleniacza [57]

W jednym z pierwszych eksperymentów porfiryne żelaza (II/III) koordynowana przez anion alkiloliolowy została wykorzystana do pozyskania metabolitów anestetyku fencyklidyny [58]. Chorghade i wsp. przeprowadzili reakcje utleniania, hydroksylacji i N-demetylacji szeregu leków przy udziale metaloporfiryn **XII**, **XIII**, **XVII** (**Rys. 4**) [59]. Z użyciem tej metody pozyskano metabolity, których nie można otrzymać tradycyjnymi metodami syntetycznymi np. lidokainy (**XXI**) (Schemat 1).



Rys. 4. Struktury porfiryroidów wykorzystywanych w procesach biomimetycznych.

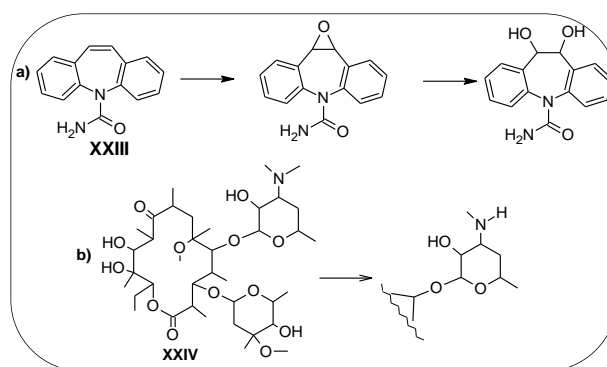


Schemat 1. a) Reakcja utleniania lidokainy (XXI) w układach biomimetycznych. Podano procentową ilość izolowanych związków; b) Reakcja hydroksylacji diklofenaku (XXII).

Othman i wsp. przeprowadzili badania mające na celu porównanie hydroksylacji diklofenaku XXII z wykorzystaniem jako katalizatora metaloporfiryn oraz ludzkiego cytochromu P450 [60]. W pierwszym przypadku korzystano z żelazo- i manganoporfiryny w obecności H_2O_2 , podchlorynów, nadkwasów lub O_2 jako donorów tlenu, w obecności czynnika redukującego. W drugim przypadku zastosowano rekombinowany cytochrom P450 wyizolowany z komórek drożdży. Układ porfiryновый naśladujący cytochrom generował aktywne formy tlenu podobnie, jak w przypadku katalizy z udziałem cytochromu P450. Diklofenak XXII w organizmie człowieka jest metabolizowany do dwóch hydroksylowanych produktów (Schemat 1). Głównym metabolitem jest 4'-hydroksydiklofenak (za ten szlak odpowiada izoenzym CYP2C9), w mniejszej ilości powstaje 5-hydroksydiklofenak (za ten szlak odpowiadają izoenzymy CYP3A4, CYP2C8 i CYP2C19). Autorzy otrzymali 5-hydroksydiklofenak na drodze utlenienia diklofenaku w układzie biomimetycznym. Najwyższą wydajność uzyskano stosując H_2O_2 lub wodoronadtlenek *tert*-butylu jako stosunkowo łagodne czynniki utleniające. Najlepszym katalizatorem okazały się układy złożone z (2,6-dichlorofenyl)porfiryne manganu(III) i żelaza(III) (XIV, XV) (Rys. 4) oraz

wodoronadtlenku *tert*-butylu jako utleniacza. Reakcja w układzie biomimetycznym zachodziła z wydajnościami 23-90%, a 5-hydroksydiklofenak był jedynym wyizolowanym związkiem po następczej redukcji zachodzącej ilościowo. Natomiast 4'-hydroksydiklofenak uzyskano w reakcji katalizowanej rekombinowanym CYP2C9 otrzymanym z drożdży.

Ciekawe wyniki przyniosły badania właściwości katalitycznych porfiryn manganowych **XX** osadzonych na podłożach stałych z grupy krzemianów jak montmorylonit (montmorillonite K-10 i żel krzemionkowy) (**Rys. 4**), w reakcji utleniania karbamazepiny w obecności jodozobenzenu lub H₂O₂ jako utleniaczy (**Schemat 2**).



Schemat 2. a) Reakcja utleniania karbamazepiny (**XXIII**); b) reakcja utleniania klarytromycyny A (**XXIV**).

Metabolizm karbamazepiny **XXIII**, popularnego leku przeciwpadaczkowego, przebiega *in vivo* głównie drogą reakcji utleniania katalizowanego przez cytochrom P450 do 10,11-epoksydu karbamazepiny, a następnie hydrolizy do *trans*-diolu karbamazepiny. Badania wykazały, że **XIX** jest doskonałym katalizatorem utleniania karbamazepiny w obecności jodozobenzenu, natomiast nie katalizuje utleniania w obecności H₂O₂. Zbadana selektywność reakcji utleniania karbamazepiny do jej epoksydu w układzie biomimetycznym okazała się niezwykle istotna, z uwagi na fakt, że jej metabolit posiada aktywność terapeutyczną i może być jej substytutem [61].

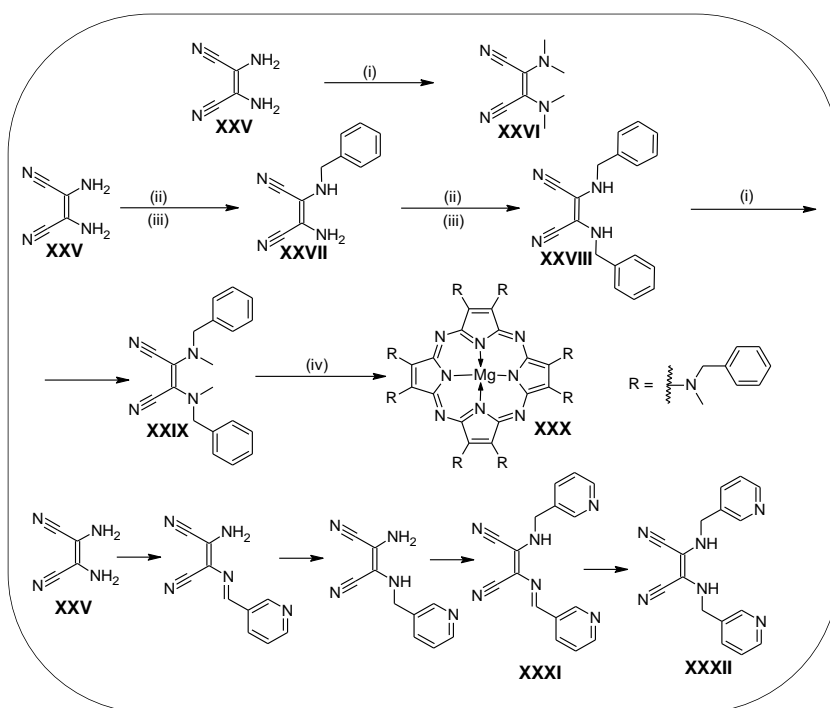
Klarytromycyna A **XXIV** zarówno podczas syntezy jak i w układzie enzymatycznym ulega hydroksylacji, epoksydacji i N-demetylacji. Hill i wsp. zbadali możliwość utlenienia klarytromycyny A przy użyciu syntetycznych metaloporfiryn **XVI** i **XVIII** (**Rys. 4**). Syntetyczna tetrasulfonowa β-oktachlorotetrafenyloporfiryra żelaza (III) **XVIII** została użyta jako katalizator w reakcji utleniania klarytromycyny A w obecności NaOCl, prowadząc do nowych pochodnych antybiotyków makrolidowych,

takich jak N-tlenek klarytromycyny A, 3'-NCIme klarytromycyna A, 3'-okso klarytromycyna A (**Schemat 2**) [62].

III.6. Porfirazyny posiadające peryferyjne ugrupowania azotowe - synteza, właściwości fizyko-chemiczne i zastosowania

III.6.1. Aminoporfirazyny z symetrycznymi podstawnikami

Dipodstawione grupami aminowymi, a w szczególności dialkiloaminowymi, porfirazyny i ich pochodne, są od 30 lat intensywnie badane. Związkiem wyjściowym do syntezy dipodstawionych azotowych porfirazyn jest handlowo dostępny diaminomaleonitryl (DAMN) **XXV**, który poddawany jest reakcjom alkirowania opracowanym przez Begland'a i wsp. [63] dwiema metodami bezpośrednią (alkirowania w środowisku zasadowym) i pośrednią (sekwencja reakcji kondensacji i redukcji - aminowanie przez redukcję). Otrzymane maleonitrylowe pochodne wykorzystywane są w reakcji makrocyklizacji Linstead'a, która prowadzi do uzyskania podstawionych aminoporfirazyn [64, 65, 66]. Bezpośrednia alkirowanie DAMN **XXV** siarczanem dimetylu prowadzi do bis(dimetyloamino)maleonitrylu **XXVI** (**Schemat 3**).



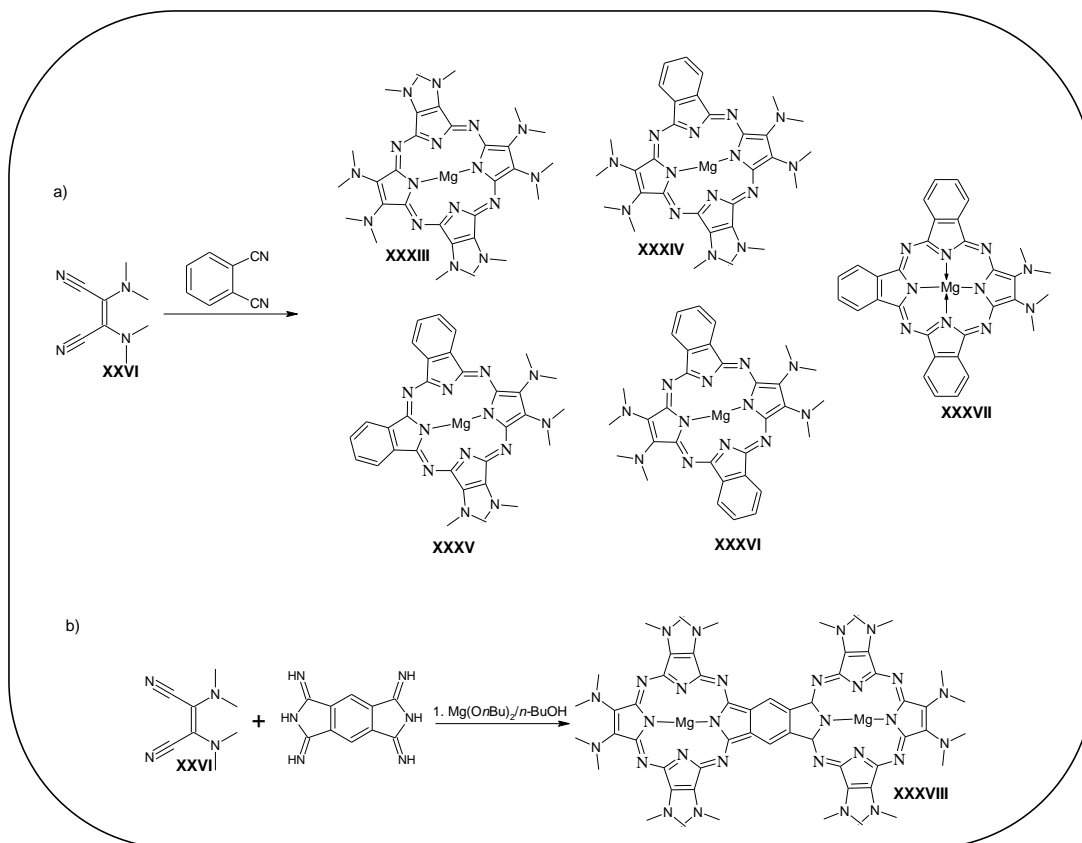
Schemat 3. Reakcje funkcjonalizacji diaminomaleonitrylu. Reagenty: (i) siarczan dimetylu, wodorek sodu, tetrahydrofuran; (ii) aldehyd benzoesowy, metanol; (iii) borowodorek sodowy, metanol, tetrahydrofuran; (iv) butanolan magnezu, *n*-butanol, jod (kat).

Eksperymenty prowadzone na przestrzeni lat przez grupę Sheppard'a [63], Mague i Eduoka [67] oraz Barretta i Hoffmana [68] pokazały, że w reakcjach kondensacji DAMN z różnymi aldehydami obok spodziewanych produktów kondensacji mogą powstawać inne związki, m.in. produkty monokondensacji na tylko jednej z dwóch wolnych grup aminowych. Problem ten rozwiązywano w ten sposób [68], że reakcję kondensacji przeprowadzano dwuetapowo. Koniecznością okazywało się wówczas przeprowadzenie po pierwszej reakcji kondensacji, następczej reakcji redukcji grupy iminowej. Wyjaśnienie zawłości związanych z nierównocенnością grup aminowych DAMN przyniosły studia Dwyera [70]. W badaniach tych pokazano, że cząsteczka DAMN dla osiągnięcia stabilności struktury musi posiadać jedną z grup aminowych obróconą prostopadle do płaszczyzny maleonitryla, przy czym minimum energii w strukturze DAMN wymaga delokalizacji wolnej pary elektronów z jednej grupy aminowej w stronę maleonitryla [70]. Badania przeprowadzone w Zespole Katedry zarówno eksperymentalne (**Schemat 3**), jak i obliczeniowe pokazały, że podczas alkilowania bis(monopodstawionych) grup aminowych **XXXII** reakcji alkilowania towarzyszy konkurencyjna reakcja eliminacji protonu z sąsiadującej grupy metylenowej. W efekcie, w szczególności, w reakcjach alkilacji prowadzonych w temp. powyżej 0 °C dochodzi do eliminacji protonu i odtworzenia wiązania iminowego **XXXI** [69].

Makrocyklizacja Linstead'a otrzymanego maleonitryla (**XXVI**) prowadzi do odpowiedniej symetrycznie podstawionej pochodnej aminowej (**XXXIII**) (**Schemat 4**). Przeprowadzana w obecności jonu metalu (Mg^{2+}) reakcja makrocyklizacji pochodnych maleonitryli pozwala otrzymać makrocykle peryferyjnie funkcjonalizowane grupami aminowymi w pozycji β . Grupy funkcyjne umieszczone w takim położeniu są silnie sprzężone z rdzeniem makrocykla. Otrzymane pochodne aminowe są dobrze rozpuszczalne w wodzie. Możliwość manipulowania rodzajem podstawników peryferyjnych makrocykla pozwala na większą kontrolę jego właściwości fizykochemicznych, w tym elektronowych, rozpuszczalności czy potencjału redoks.

Aminoporfirazy nie symetryczne otrzymuje się metodą Linstead'a z modyfikacją Hoffmana. Strategia opiera się na reakcji makrocyklizacji dwóch różnych maleonitryli lub maleonitrylu i ftalonitrylu np. bis(dimetyloamino)maleonitrylu i 1,2-

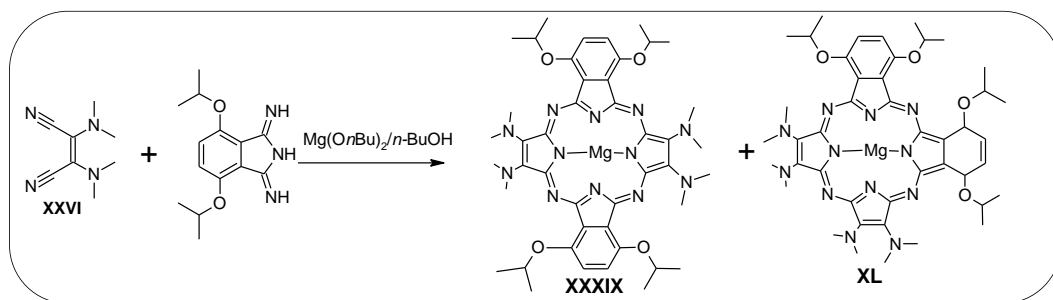
diacyjanobenzenu zmieszanych w stosunku 25:1 w butanolanie magnezu w butanolu i prowadzi do mieszaniny produktów **XXXIII** i **XXXIV** (Schemat 4). Reakcja makrocyklizacji wykonana w stosunku molowym obu substratów 3:1 prowadzi do trzech innych produktów: **XXXV-XXXVII** (Schemat 4) [64, 66].



Schemat 4. a) Otrzymywanie porfirazyn **XXXIII-XXXVI**; b) Synteza dimeru porfirazynowego **XXXVIII** z peryferyjnymi ugrupowaniami heksadimetyloaminowymi.

Uzyskano również dimery porfirazyn posiadające w części peryferyjnej grupy dialkiloaminowe. W reakcjach makrocyklizacji, w których użyto benzenobis(diiminopiroline) oraz nadmiar bis(dimetyloamino)maleonitrylu (**XXVI**), uzyskano po następczej reakcji demetalacji, skondensowany benzenem dimer funkcjonalizowany grupami dimetyloaminowymi (**XXXVIII**) (Schemat 4) [64, 71].

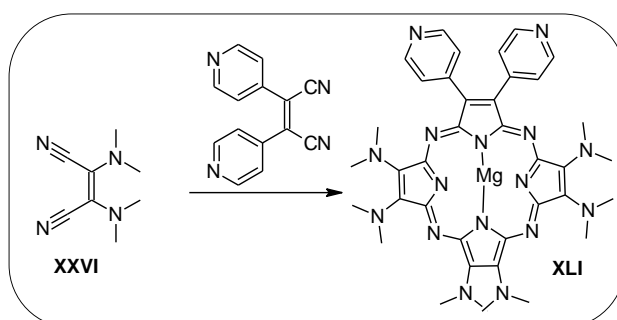
W dalszych badaniach uzyskano kolejne porfirazyny z ugrupowaniem dialkiloaminowym określone jako regioizomery *trans*-**XXXIX** i *cis*-**XL** (Schemat 5). W widmie UV-Vis związku **XXXIX** maksimum absorpcji występuje w paśmie Soreta przy 321 nm oraz w paśmie Q przy 727 nm. Związek **XL** wykazuje maksima przy 318 nm i 718 nm [64].



Schemat 5. Synteza *cis* i *trans* pochodnych dialkiloaminowych porfirazyn **XXXIX** i **XL**.

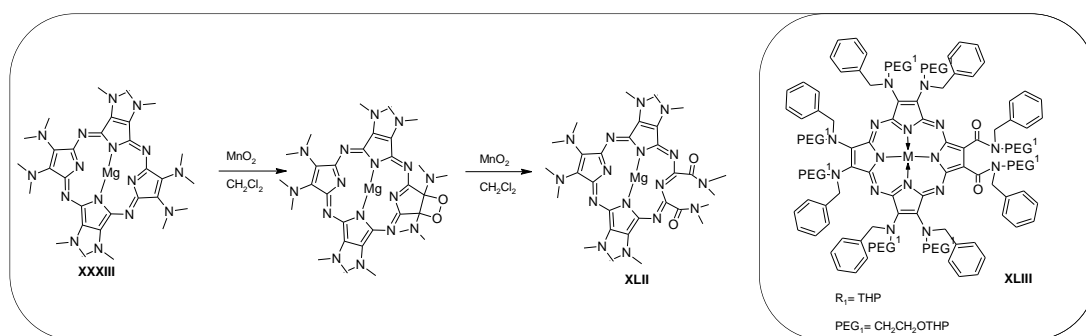
Porfirazyny z peryferyjnymi grupami pirydylowymi, zwłaszcza czwartorzędownymi na atomach azotu, wykazały aktywność biologiczną w postaci zdolności do wiązania i fragmentacji DNA, wykazując potencjał dla zastosowań w PDT [72]. Zostały one także szeroko przebadane pod kątem potencjalnego użycia w nanotechnologii oraz jako elementy do budowania struktur supramolekularnych [73].

W reakcji mieszanej makrocyklizacji di(4-pirydylo)maleonitrylu z dimetyloaminomaleonitrylem (**Schemat 6**) uzyskano porfirazynę typu A₃B (**XLI**) oraz porfirazynę typu A₄ z podstawnikami pirydylowymi.



Schemat 6. Przykład syntezy porfirazyny z peryferyjnym podstawnikiem pirydylowym **XLI**.

Dużym przełomem w badaniach aminoporfirazyn było otrzymanie na drodze utlenienia wiązania podwójnego przy podstawniku bis(dimetyloaminowym) formy *seco*. W praktyce formy *seco* mogą się tworzyć w reakcji makrocyklizacji (utlenienie wiązania następuje przy równoczesnej utracie kationu magnezowego(II)), podczas reakcji demetalacji w obecności lodowatego kwasu octowego lub kwasu trifluorooctowego przy dostępie powietrza. Oksydacja zachodzi również, gdy związek zostaje pozostawiony na długi czas w chloroformie lub dichlorometanie. Porfirazyna **XXXII** może również zostać utleniona do formy *seco* **XLII** w reakcji z nadmanganianem potasu lub dwutlenkiem manganu [64, 74-76] (Schemat 7).



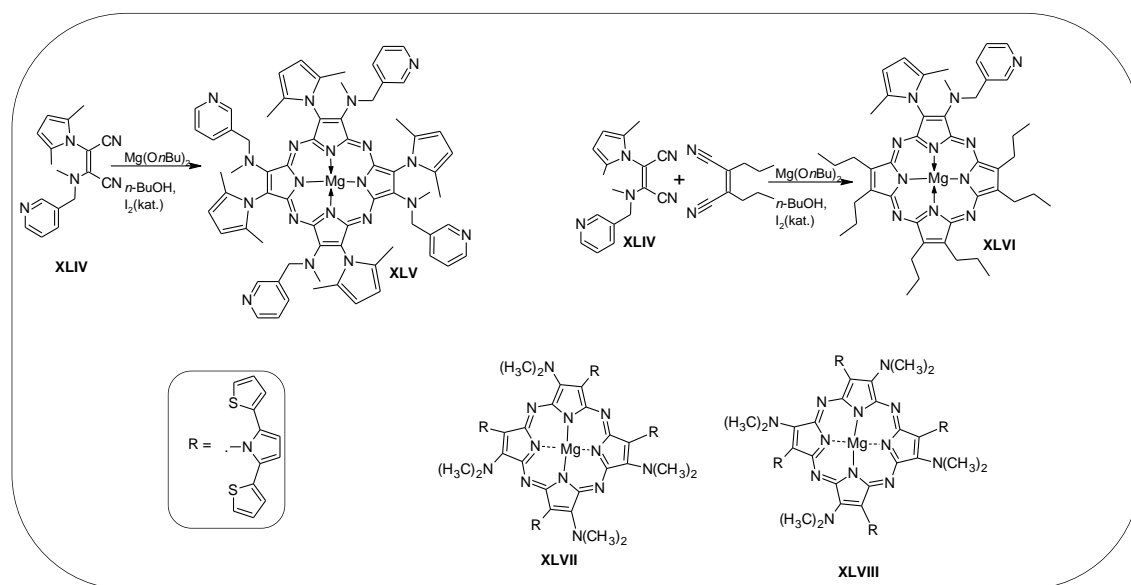
Schemat 7. Reakcja utleniania aminoporfirazyny **XXXIII** do formy *seco* **XLII**. Struktura porfirazyny typu *seco* z grupami polietylenoglikolowymi **XLIII**.

W ramach dalszych studiów dotyczących zwiększenia rozpuszczalności formy *seco* porfirazyn w wodzie, poprawy ich właściwości kompleksujących dla jonów metali i tym samym zastosowań w medycynie do struktury tych związków wprowadza się łańcuchy polietylenoglikolowe (PEG). Rozpuszczalność uzyskanego makrocykla **XLIII** w wodzie okazała się zależna od podstawienia łańcucha polietylenoglikolu w pozycjach końcowych. Łańcuchy PEG, które nie posiadają na końcach grup hydroksylowych, takie jak $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3\text{CH}_3$ okazały się nierozpuszczalne w wodzie, a rozpuszczalne w metanolu. Zatem, aby otrzymać analog aminoporfirazyny rozpuszczalny w wodzie podstawiono go łańcuchem PEG o określonej długości z końcową wolną grupą hydroksylową (**Schemat 7**) [66].

III.6.2. Aminoporfirazyny z niesymetrycznymi podstawnikami peryferyjnymi

W ramach prac prowadzonych w Katedrze DAMN poddano reakjom kondensacji z 2,3-butanodionem, 2,4-pentanodionem, oraz 2,5-heksanodionem (**Rys. 5**). W reakcji **XXV** z 2,5-heksanodionem, podobnie jak w pracy Beglanda i wsp. [63] uzyskano pochodną maleonitrylową podstawioną grupą 2,5-dimetylopirolilową i metylo(3-pirydylometylo)aminową. Wykorzystanie reakcji Paala-Knorra, wynikającej z chemii samego DAMN otwarło drogę w kierunku nowych makrocykli posiadających pierścienie heterocykliczne w części peryferyjnej. Założono, że umiejscowiona peryferyjnie grupa 2,5-dimetylopirolilowa zapobiega wzajemnej asocjacji cząsteczek, sprawiając, że uzyskany makrocykl może potencjalnie pełnić rolę białka budulcowego dla zastosowań w nanotechnologii. Wspomniane ugrupowanie peryferyjne wpływa na właściwości elektrochemiczne i optyczne omawianych porfirazyn. W porównaniu

z poprzednio otrzymanymi związkami z symetrycznie rozmieszczonymi grupami elektrono-donorowymi ułożonymi peryferyjnie, makrocykl ten wykazał mniejszą podatność na agregację w roztworze [77]. W literaturze opisano wprowadzenie porfirazyny posiadające skondensowane pierścienie pięcioczłonowe [78]. Jednakże, jedynymi znanymi wówczas literaturowymi przykładami porfirazyn, które w części peryferyjnej posiadały nieskondensowane aromatyczne pierścienie pięcioczłonowe były dwurdzeniowe porfirazyny posiadające sześć fotochromowych grup bis(trimetylotiofenylowych) o zastosowaniu w systemach składowania informacji i przełącznikach [79]. Nowy maleonitryl podstawiony ugrupowaniami 2,5-dimetylopirolilowymi i 3-pirydylometyloaminowymi poddano następczej alkilacji do **XLIV**, a następnie reakcji makrocyklizacji Linstead, która pozwoliła na otrzymanie nowych porfirazyn **XLV** i **XLVI** (Rys. 5). W zakresie UV-Vis zbadano zdolność porfirazyny **XLV** do koordynowania metali przejściowych. Największe zmiany w profilu widma UV-Vis zaobserwowano podczas miareczkowania makrocykla jonami miedzi(II), a mniejsze zmiany dla jonów palladu(II), glinu(III) i srebra(I).



Rys. 5. Struktury pochodnych maleonitryli oraz porfirazyn **XLV-XLVIII**.

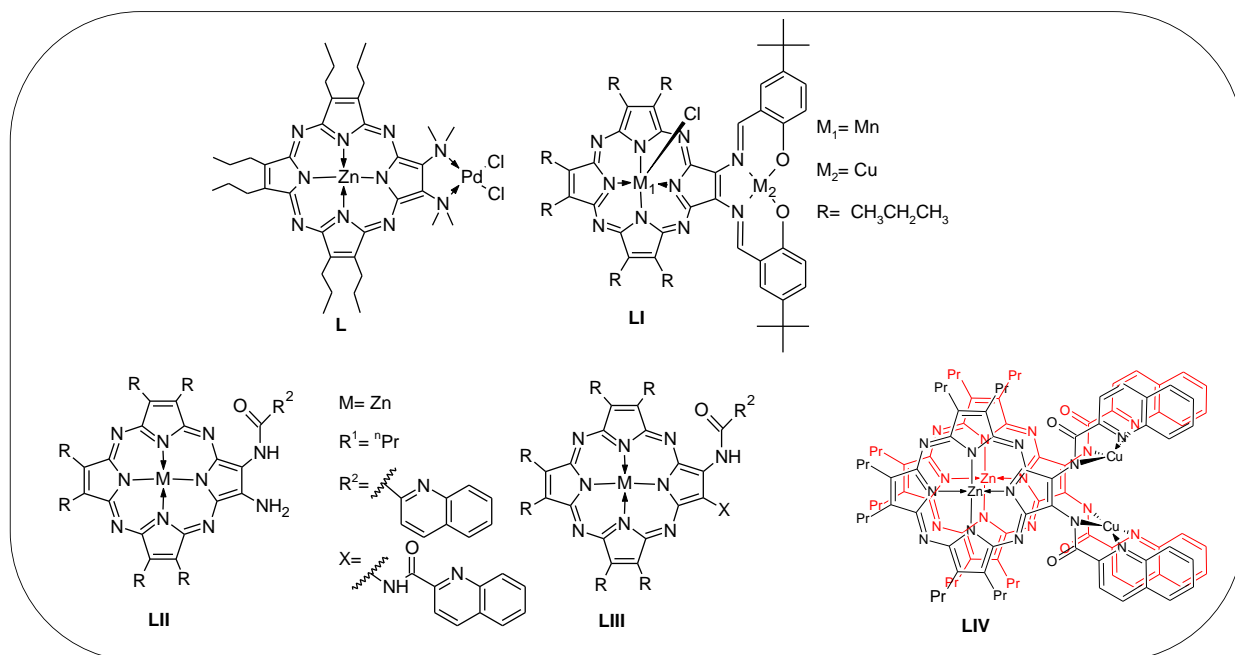
W dalszych pracach do części peryferyjnej porfirazyn wprowadzono ugrupowanie pirolilowe zmodyfikowane w pozycjach 2 i 5 za pomocą grup 2-tienylowych.

W uzyskanych makrocyklach układ dwóch podstawników peryferyjnych 2,5-di(2-tienylo)pirolilowego i dimetyloaminowego był nienaprzedmienny **XLVII** (Rys. 5). Przeprowadzone studia NMR, w tym temperaturowe oraz analiza rentgenostrukturalna wykazały, że makrocykl **XLVII** posiada przestawiony układ podstawników

peryferyjnych: dimetyloaminowego i 2,5-di(2-tienylo)pirolilowego [79]. Jest to zupełnie zaskakujące, gdyż wyżej omówione porfirazyny, jak **XXXV**, powstające wskutek reakcji makrocyklizacji maleonitryla **XLIV**, posiadają naprzemienny układ podstawników peryferyjnych [77]. Otrzymywanie makrocykli podstawionych bezpośrednio w pozycji β pięcioczłonowymi pierścieniami heteroaromatycznymi jest ważne, gdyż niektóre z tych uzyskanych ostatnio są przewidywane jako związki użyteczne w urządzeniach przechowujących informacje lub do obrazowania [78]. Takie układy makrocykliczne wykazują interesujące właściwości solwatochromowe, stabilność w wysokiej temperaturze i cechy optyki nieliniowej [80].

III.6.3. Peryferyjna metalacja aminoporfirazyn i ich pochodnych

Aminowe pochodne porfirazyn mogą ulec metalacji nie tylko w części centralnej. Kationy, takie jak kadm(II), miedź(II), platyna(II), pallad(II), rtęć(II), nikiel(II) czy srebro(I) mogą być wiązane peryferyjnie przez grupy dimetyloaminowe lub aminowe podstawniki koronowe. Cząsteczki te można badać pod kątem transferu elektronów między jonami metali lub oddziaływań magnetycznych. Wielokleszczowe ligandy, które są zdolne do wiązania wielu jonów metali są bardzo interesującym tematem, ze względu na fakt, iż ich pochodne można badać pod względem transferu elektronów i właściwości biomimetycznych. Wykazały, iż porfirazyny z wbudowanymi peryferyjnie grupami siarkowymi, azotowymi i alkoholowymi, których użyto do otrzymania wielometalicznych kompleksów koordynacyjnych wykazują transfer elektronów i oddziaływania magnetyczne pomiędzy jonem metalu i związkiem makrocyklicznym. Jon (lub jony) metalu wiążą się z peryferyjnymi dwukleszczowymi ligandami podstawionymi na grupach S, N lub O w częściach peryferyjnych porfirazyn. Przykładem takiego związku jest cynkowa porfirazyna **L** (**Rys. 6**) [64, 81].

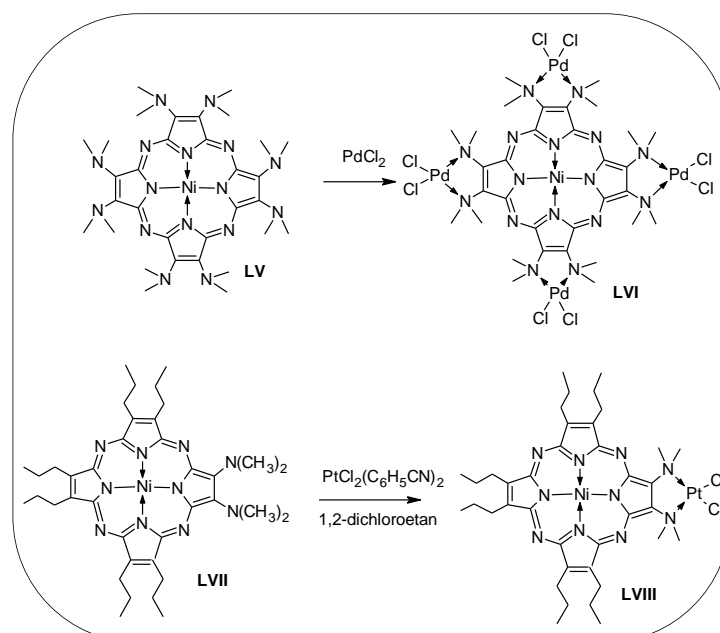


Rys. 6. Struktury wybranych porfirazyn **L-LIV**.

Inna metoda syntezy dwukleszczowych ligandów polega na reakcji grup aminowych makrocyklu z aldehydem, a następnie koordynowania uzyskanej pochodnej jonami metalu [82]. W ten sposób powstają porfirazyny- zasady Schiffa **LI** (**Rys. 6**). Po raz pierwszy ten związek został otrzymany przez M. Zhao i współautorów, którzy poddali makrocykl porfirazynowy z peryferyjnym dwukleszczowym ligandem reakcji metalacji [82, 83]. W innych badaniach diaminoporfirazyny poddawano reakcjom metalacji po uprzednim uzyskaniu w części peryferyjnej ligandów dwukleszczowych o charakterze wiązań amidowych [84, 85]. W wielu przypadkach długotrwała reakcja diaminoporfirazyn ze związkami acylującymi prowadziła do mieszanin mono- i diacylowych produktów. W próbach jednoetapowej acylacji z użyciem dużego nadmiaru środka acylującego nie osiągnięto nigdy produktów acylowanych na obu grupach aminowych. W dalszych poszukiwaniach okazało się, że korzystniejsze jest w pierwszej kolejności wyizolowanie pochodnych monoamidowych, następnie przeprowadzenie ponownej reakcji acylacji do diamidowych. Zaproponowana preparatyka umożliwia syntezę porfirazyn z ligandami mieszanymi. Monoamidy **LII** i **LIII** są jednakże bardziej stabilne niż monoiminowe pochodne, jednakże obserwowany jest ciągle ich powolny rozkład pod wpływem tlenu. Z tego powodu monoamidy muszą być natychmiast użyte do dalszych reakcji. Wolne odparowywanie dichlorometanu, metanolu czy pirydyny prowadziło do uzyskania monokryształów

odpowiednich do określenia struktury dimeru **LIV** metodami analizy rentgenostrukturalnej (**Rys. 6**).

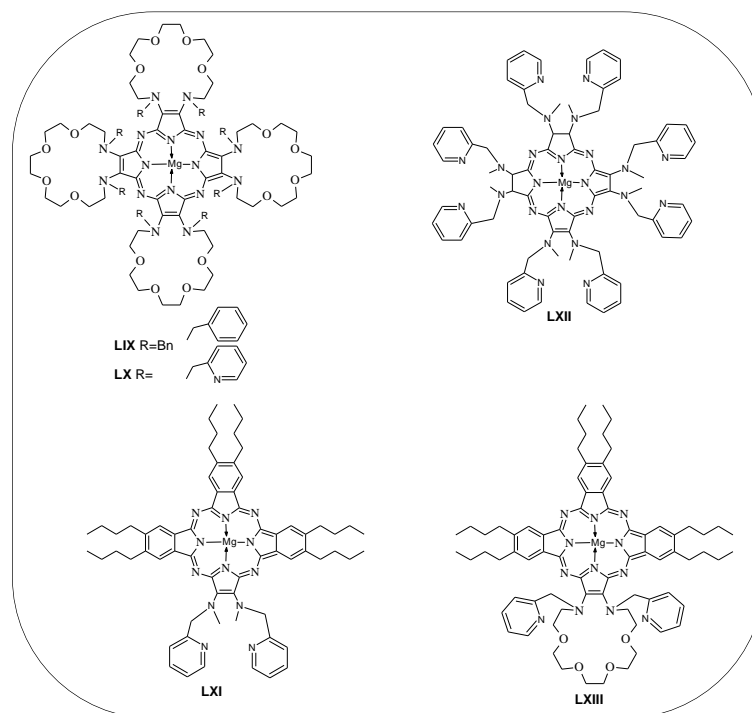
Cykliczna woltamperometria już we wcześniejszych badaniach wskazywała na znaczące przesunięcia gęstości elektronowej z peryferyjnie położonych grup aminowych w stronę pierścienia makrocykla. W konsekwencji, pochodne te ulegały łatwiej oksydacji w porównaniu z ftalocyjaninami czy porfirynami. Jednakże podstawienie tych grup aminowych elektronobiorczymi grupami acetylowymi lub trifluoroacetylowymi dało w efekcie wzrost potencjału oksydacyjnego, sprawiając że cząsteczka trudniej ulegała utlenieniu. Poszukiwane są nie tylko pochodne ze skoordynowanym jednym metalem, ale także prowadzi się syntezę niesymetrycznych porfirazyn w kompleksach w wieloma ligandami [64]. Co ciekawe, dimetyloaminowa porfirazyna jest lepszym związkiem do wiązania 4 ekwiwalentów Co(II), Cu(II), Zn(II) i Cd(II) niż odpowiadająca jej porfirazyna tetrakoronowa. Obie porfirazyny dobrze wiążą 4 ekwiwalenty Ag(I) i Hg(II) i tylko dla Pb(II) lepszym ligandem jest związek koronowy [68]. Koordynowanie symetrycznych porfirazyn aminowych **LV** z PdCl₂ przebiega wg poniższego schematu, gdzie z 70% wydajnością tworzy się starporfirazyna **LVI** (**Schemat 8**).



Schemat 8. Przykłady syntezy wybranych porfirazyn **LVI**, **LVIII**.

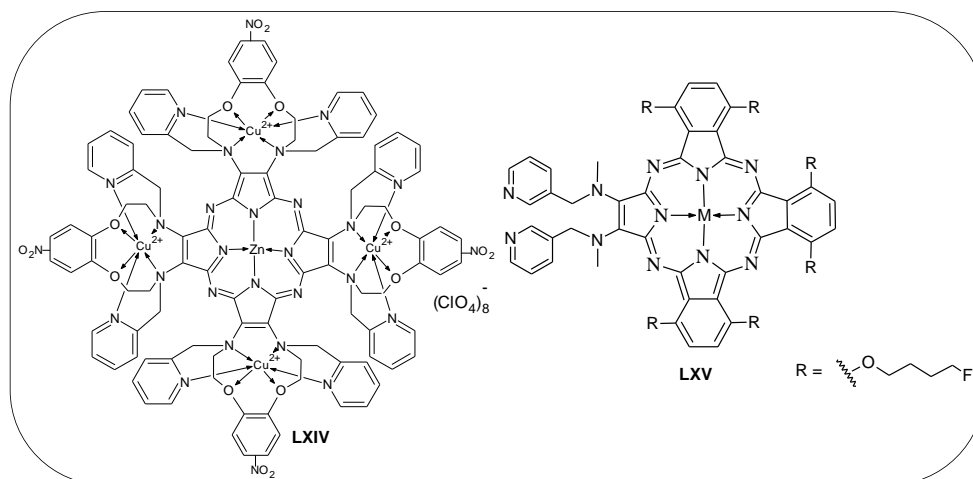
Z kolei reakcje porfirazyn niesymetrycznych **VLII** z PdCl_2 i PtCl_2 prowadzą do związków dimetalicznych **LVIII** (Schemat 8).

Stwierdzono, że porfirazyny zawierające w części peryferyjnej wielokleszczowe ligandy, w tym etery koronowe poza jodem metalu umieszczonym w centralnej części, są w stanie z wiązać cztery lub więcej **LIX**, **LX**, **LXI** lub jeden **LXII**, **LXIII** jon metalu (Rys. 7) [68].



Rys. 7. Przykłady porfirazyn posiadających w części peryferyjnej wielokleszczowe ligandy.

Wydaje się, że wielometaliczne pochodne makrocykliczne mogą znaleźć zastosowanie w przyszłości w optyce nieliniowej, elektronice, w medycynie, a szczególnie w terapii fotodynamicznej [66, 68, 74, 83]. Zostały otrzymane także wielokleszczowe porfirazyny wiążące pięć kationów metali. Przykład takich związków pokazano na **Rys. 7**. Związek **LXIV** otrzymano w wyniku makrocyklizacji pochodnej pirymidynowej maleonitrylu z mostkiem di(jodoetoksy)nitrobenzenowym [86].

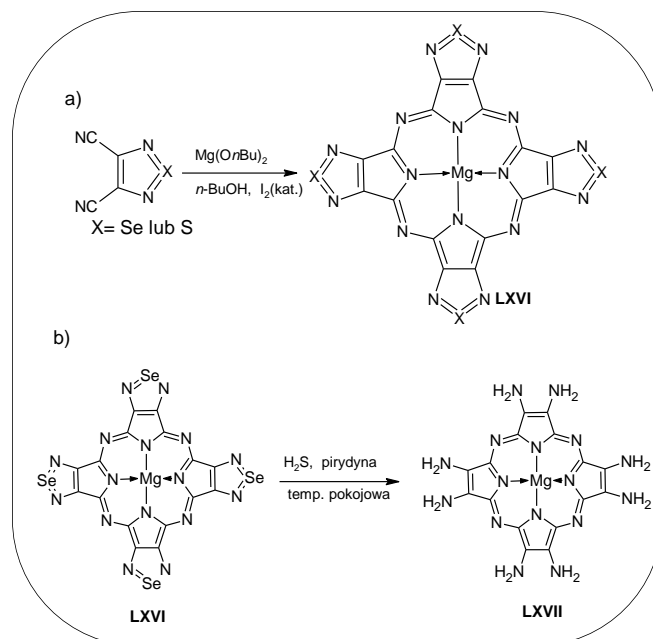


Rys. 8. Wielometaliczne porfirazyny **LXIV** i **LXV**.

Kolejnym przykładem otrzymanego związku z tej grupy jest **LXV** (**Rys. 8**). Makrocykl **LXV** dzięki obecności lipofilowych grup 4-fluorobutoksyłowych cechuje się dobrą rozpuszczalnością w powszechnie stosowanych rozpuszczalnikach organicznych. Ponadto **LXV** został poddany metalacji peryferyjnej jonami Pd^{2+} , a następnie zbadano jego absorbancję w UV-Vis. Odnotowano zmiany w intensywności absorpcji w paśmie Q. Zasugerowano, że zmiany te są spowodowane koordynowaniem grup 3-pirydylometylowych przez kationy palladu(II), co może prowadzić do zmian konfiguracji w ugrupowaniu metylo(3-pirydylometylo)aminowym [69].

III.6.4. Porfirazyny posiadające peryferyjne 5-członowe skondensowane pierścienie tiadiazolowe i selenadiazolowe

Synteza różnych pochodnych porfirazyn aminowych jest możliwa za sprawą opracowania porfirazyn ze skondensowanymi pierścieniami tiadiazolowymi lub selenadiazolowymi **LXVI** (**Schemat 9**), które często są wykorzystywane jako substraty do dalszych syntez.



Schemat 9. a) Reakcja makrocyklizacji prowadząca do porfirazyny **LXVI**; b) Reakcja deselenacji **LXVI** do **LXVII**.

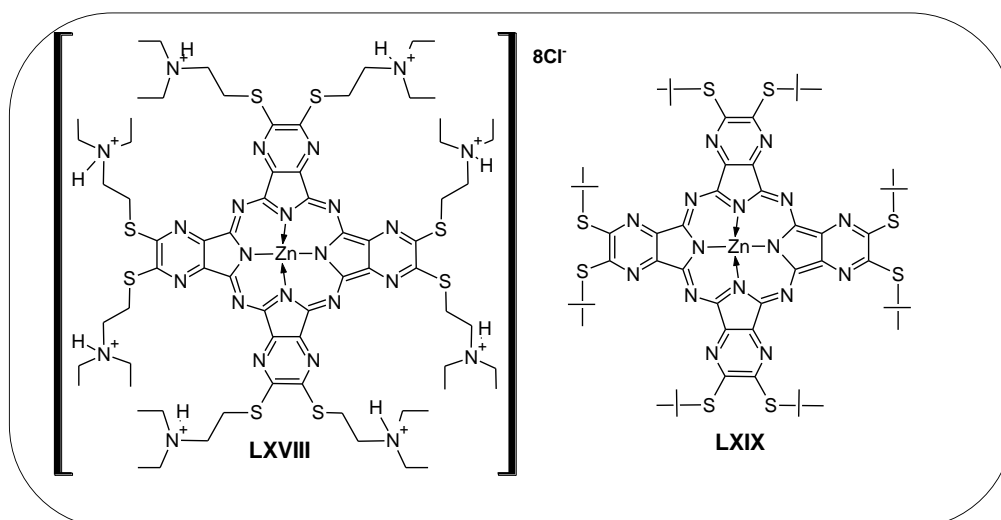
Pochodne seleniadiazolowe jak np. **LXVI** można łatwo przekształcić w inne pochodne typu iminowego lub acylowego. Odbywa się to dwuetapowo. Najpierw w reakcji redukcji z H_2S w pirydynie przeprowadza się otwarcie pierścienia z utworzeniem układu diaminowego **LXVII**, który poddaje się kolejnych reakcjach funkcjonalizacji w reakcjach kondensacji i acylacji prowadzących do odpowiednich pochodnych (**Schemat 9**). Przeprowadzając w ten sposób dalsze reakcje, np. z aromatycznymi aldehydami lub α -diketonoami uzyskano porfirazyny typu zasad Schiffa lub pirazynoporfirazyny [64, 82, 83, 85].

III.6.5. Porfirazyny posiadające peryferyjne 6-członowe skondensowane pierścienie pirazynowe

Pirazyno-pochodne porfirazyn to barwniki podobne strukturalnie do ftalocyjanin, w których pierścień benzenu został zastąpiony pierścieniem pirazynowym. Tetrapirazynoporfirazyny posiadają, podobnie jak inne porfirazyny, specyficzne właściwości optyczne związane z obecnością symetrycznego 18π elektronowego aromatycznego rdzenia makrocyklu, posiadającego zdolność wiązania jonów metali w swojej części centralnej. Ich potencjalne zastosowania obejmują nośniki optyczne, wskaźniki, filtry optyczne i barwniki [87, 88]. Niestety, niepodstawione azafthalocyjaniny, czyli wspomniane pirazynopochodne, wykazują tendencję do

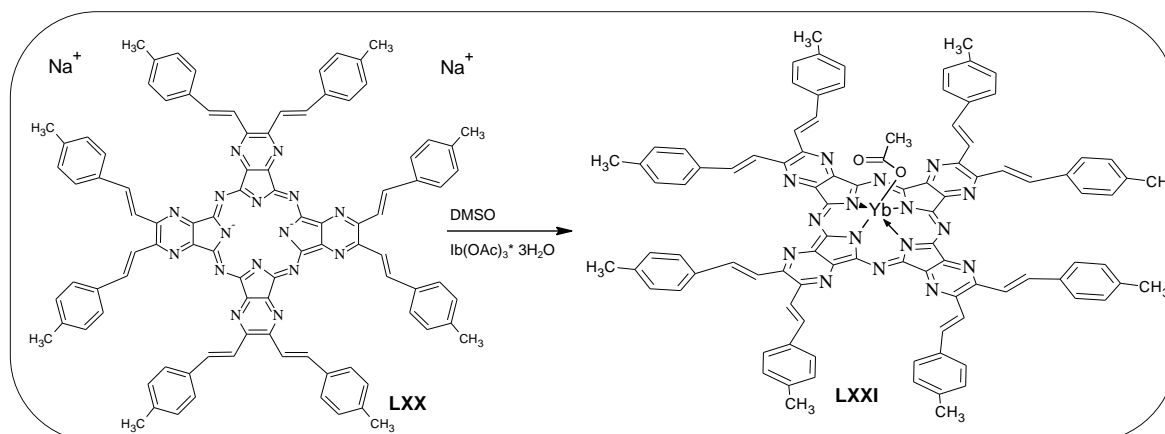
agregacji, co skutkuje niską rozpuszczalnością, trudnościami w oczyszczeniu związku, małą efektywnością w fotochemioterapii [89].

W PDT komórki nowotworowe są niszczone najskuteczniej przez cząsteczki fotosensybilizatorów amfifilnych, czyli zawierających grupy zarówno hydro-, jak i lipofilowe. Badając wpływ ładunku na skuteczność terapii wykazano, że najefektywniej działają ftalocyjaniny kationowe, które wykazują lepsze efekty niż stosowana klinicznie temoporfina (Foscan[®]). Co więcej, wszystkie kationowe barwniki lokalizują się w mitochondriach i jądrach komórkowych, co jest jednym z ważniejszymi celami PDT i ma wpływ na indukcję śmierci apoptotycznej komórek. W związku z tym zsyntezowano azaftalocyjaniny z trzeciorzędowymi podstawnikami aminowymi, które w roztworze posiadają ładunek dodatni (**Rys. 9**). Ponadto zauważono, że azaftalocyjanina w postaci chlorowodoru **LXVIII** wykazuje trzykrotnie większą cytotoksyczność, niż w postaci wolnej **LXIX** [89].



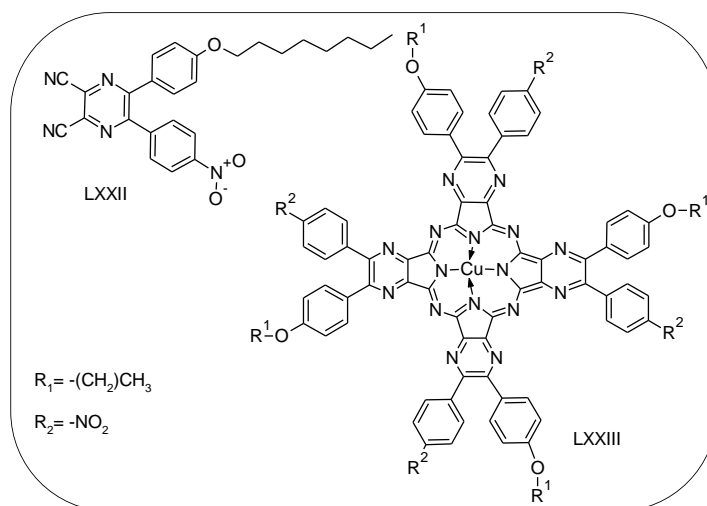
Rys. 9. Azaftalocyjaniny podstawione trzeciorzędowymi grupami aminowymi.

Kolejna modyfikacja w części peryferyjnej polegała na podstawieniu pierścienia pirazynowego grupami styrylowymi, co przyczyniło się do znaczącego przesunięcia batochromowego w paśmie Q w widmach UV-Vis. W ramach tej grupy makrocykli została otrzymana styrylo-pochodna pirazynoporfirazynowa **LXX** w formie wolnej i w kompleksie z iterbem **LXXI** (**Schemat 10**) [88].



Schemat 10. Reakcja metalacji oktastyrylopirazynoporfirazy sodowej **LXX** do formy metalowanej iterbem **LXXI**.

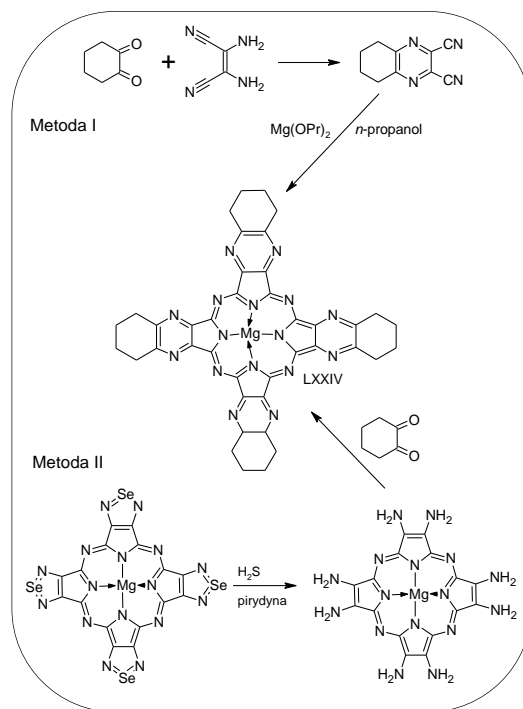
Tetrapirazynoporfirazy (**LXXIII** typu „push-pull” otrzymuje się poprzez makrocyclizację 2,3-dicyjanopirazyny (**LXXII**), która posiada alkoksyfenylowy podstawnik w pozycji 5’ spełniający rolę donora elektronów oraz nitrofenolowy lub alkoksysulfonolowy podstawnik w pozycji 6’ będący akceptorem elektronów. Takie związki, posiadające rozbudowany system sprzężonych elektronów π i wewnątrzcząsteczkowe oddziaływania π - π , posiadają specyficzne właściwości chemiczne (**Rys. 10**) [87].



Rys. 10. Struktura chemiczna 2,3-dicyjanopirazyny **LXXII** i tetrapirazynoporfirazy **LXXIII**.

Innym związkiem z tej grupy jest tetrakis(cykloheksanopirazyno)porfirazyna magnezowa **LXXIV** (**Schemat 11**). Otrzymywana jest dwiema metodami: (i) poprzez cyklotetrameryzację 2,3-dicyjano-5,6-cykloheksanopirazyny w obecności propanolanu magnezu w *n*-propanolu lub (ii) poprzez otrzymanie odpowiedniej makrocyclicznej

poходnej seleniadiazolowej, a następnie otwarcie pierścieni za pomocą H_2S do diaminopochodnej. Ugrupowania diaminowe poddano także reakcji kondensacji z 1,2-cykloheksanodionem do tetrakis(cykloheksanopirazyno)porfirazyny **LXXIV**. Pochodna ta posiada bardzo ciekawe właściwości spektroskopowe, przypominające ftalocyjaniny [90].



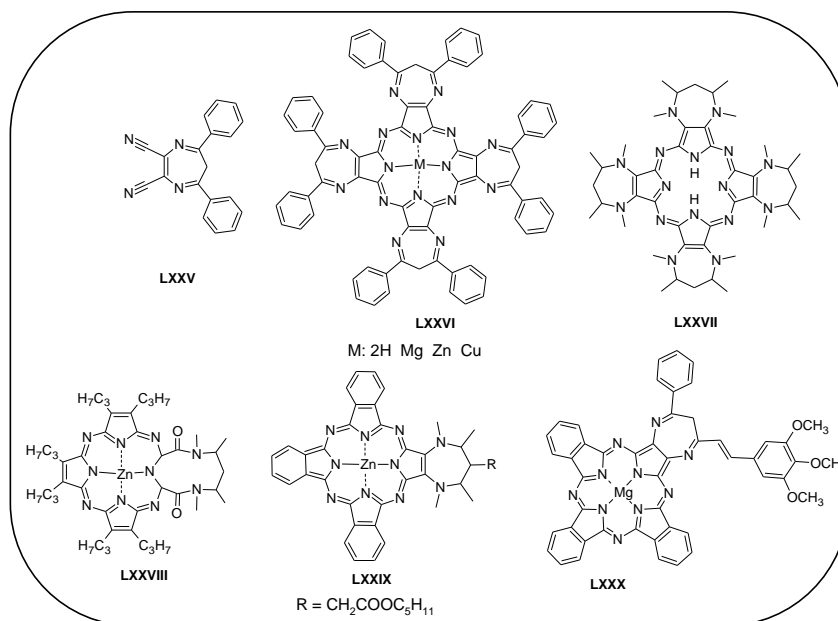
Schemat 11. Metody syntezy tetrakis(cykloheksanopirazyno)porfirazyny magnezowej **LXXIV**.

III.6.6. Porfirazyny posiadające peryferyjne 7-członowe skondensowane pierścienie diazepinowe, perhydrodiazepinowe oraz pierścienie tropyliowe

Szczególne zasługi w badaniach syntetycznych nad DAMN i jego zastosowaniem w syntezie makrocykli odegrała włosko-rosyjska grupa badawcza Ercolaniego i Stuzhina, która zsyntetyzowała i poddała charakterystyce porfirazyny posiadające peryferyjne, skondensowane pierścienie diazepinowe [64, 92, 91]. W preparatyce tych makrocykli użyto prekursorowego diazepinomaleonitryla **LXXV** (**Rys. 11**), którego synteza została jeszcze w latach 70-tych ubiegłego wieku zaproponowana przez Beglanda i wsp. [63]. Pierścień 1,4-diazepinowy zawierający 6π -elektronów, który jest skondensowany z porfirazyną, zarówno demetalowaną, jak i jej kompleksami metalicznymi, występuje w formie stabilnego $6H$ -tautomeru o charakterze *quasi*-aromatycznym **LXXVI** (**Rys. 11**). Szczególnym zainteresowaniem cieszą się możliwe oddziaływania pomiędzy płaskim rdzeniem porfirazyny, a pofalowanym przestrzennie

skondensowanym z nim pierścieniem diazepiny. W widmach UV-Vis diazepinoporfirazyn, w delokalizacji elektronów w układzie makrocyklicznym, zaznacza się udział zewnętrznych pierścieni diazepiny. Szczególnie interesujące są badania wykonane w różnych warunkach pH, zwłaszcza widma UV-Vis wykonane w obojętnych, zasadowych i lekko kwasowych rozpuszczalnikach, w których zaobserwowano szerokie pasmo Q rozszczepione na dwa sub-pasma [93, 94].

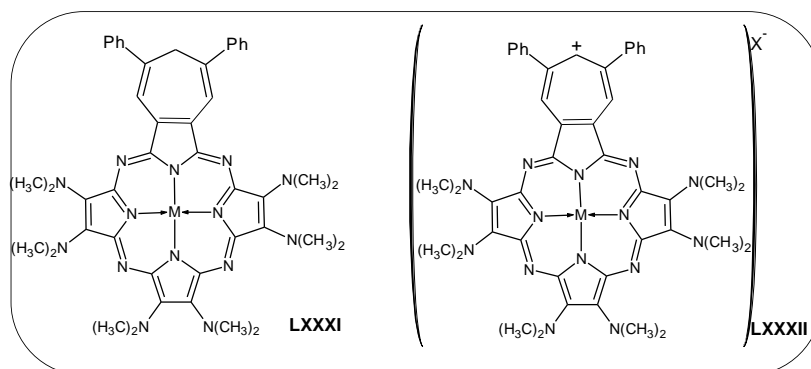
Badania z wykorzystaniem optyki nieliniowej pokazały, iż kompleksy diazepinoporfirazyn w roztworach zachowują się jak *reverse-saturable absorbers* (RSA), czyli wykazują zmniejszoną przepuszczalność dla światła wraz ze wzrostem natężenia światła padającego. Fizyczne właściwości tej klasy barwników, jak sugerował Ercolani, mogą być modyfikowane przez modulowanie podstawników w pozycjach 5, 6 i 7 peryferyjnego pierścienia diazepinowego [91]. Studia obejmujące tę grupę pochodnych porfirazyn zostały poszerzone przez grupę Barretta i Hoffmana, która dokonała syntezy, charakterystyki i oceny fotochemicznej tetrahydrodiazepinoporfirazyn **LXXVII** i ich *seco*-analogów **LXXVIII** (**Rys. 11**) [97]. Kontynuacją tych badań była synteza modyfikowanych hydrodiazepinoporfirazyn **LXXIX** wykonana ostatnio w Katedrze. Przykładem otrzymanych diazepinopochodnych może być związek **LXXXI**, który został otrzymany przez kondensację pochodnej diazepino-2,3-dikarbonitryla z 3,4,5-trimetoksybenzaldehydem, w wyniku czego otrzymano pochodną zawierającą dwie grupy styrylowe sprzęgnięte z pierścieniem diazepinowym [93] oraz tribenzoporfirazyny posiadającej peryferyjny, skondensowany pierścień diazepinowy [95] i styrylodiazepinowy **LXXX** (**Rys.11**) [96]. Zaobserwowano interesujące właściwości spektroskopowe otrzymanej styrylodiazepinoporfirazyny **LXXX**, w tym występujące w przypadku większości użytych rozpuszczalników rozszczepienie pasma Q w widmie UV-Vis na trzy sub-pasma. Warto zauważyć, że styrylodiazepinoporfirazyna **LXXX** posiada obiecującą aktywność generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}) z wartością 0,44, która jest bardzo bliska wzorcowo stosowanej ftalocyjaninie cynku(II) ($\Phi_{\Delta} = 0,67$) [98].



Rys. 11. Struktury porfirazyn **LXXV-LXXX**.

Porfirazyny posiadające peryferyjnie usytuowane podstawniki aminowe wykazują silne właściwości elektronodonorowe do systemu π -elektronów makrocyklu. Tetrapirolowe makrocykle zawierające grupy elektronodonorowe z jednej strony cząsteczki, a grupy elektronoakceptorowe po drugiej stronie, zostały nazwane układami typu „push-pull”. Związki te zostały szczegółowo przebadane ze względu na prowadzone w wielu zespołach badawczych poszukiwania cząsteczek dipolowych o potencjalnym zastosowaniu w optyce nieliniowej. Spośród wszystkich chromoforów o takim zastosowaniu, makrocykle tetrapirolowe zajmują szczególne miejsce. Ich absorpcja w stanie podstawowym jest zawężona do kilku miejsc w spektrum, pozwalając na wysoką transmisję w oknie spektralnym między tymi regionami. Co więcej, optyczne właściwości mogą być różnicowane poprzez zmiany jonu metalu centralnego, stopień utlenienia ligandów osiowych, czy właściwości peryferyjne podstawników.

W wyniku mieszanej makrocyklizacji Linstead’a, cykloheptatrienylomaleonitryla i dimetylaminomaleonitryla powstaje niesymetryczna porfirazyna A₃B z sześcioma ulokowanymi peryferyjnie podstawnikami aminowymi i przyłączonym pierścieniem cykloheptatrienylowym (**LXXXI**), który można dalej przekształcić w porfirazynę ze skondensowanym pierścieniem tropyliowym (**LXXXII**) (**Rys.12**) [99].



Rysunek 12. Porfirazyna z pierścieniem cykloheptatrienylowym **LXXXI** oraz porfirazyna tropyliowa **LXXXII**; M-kation metalu, X-anion.

IV. WYNIKI I DYSKUSJA

W rozdziale zastosowano numerację związków cyframi arabskimi.

IV.1. Synteza i charakterystyka porfirazyn posiadających w części peryferyjnej rozbudowane ugrupowania pirolilowe i dimetyloaminowe

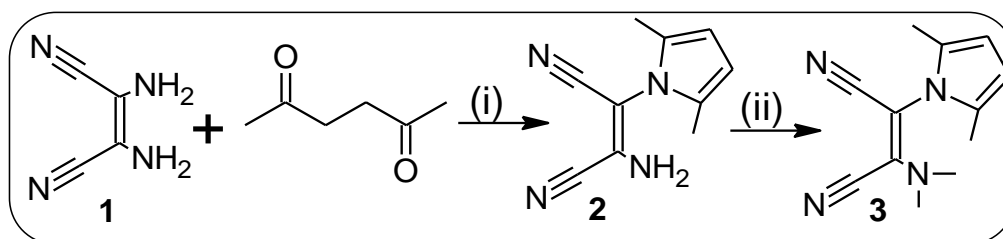
Poniżej omówiono syntezy makrocykli porfirazynowych posiadających w części peryferyjnej podstawniki pirolilowe i dimetyloaminowe. Przedstawiono także charakterystykę uzyskanych makrocykli i prekursorów do ich syntezy w zakresie spektroskopii UV-Vis, IR i NMR, a dla niektórych wyniki analizy rentgenostrukturalnej.

IV.1.1. Synteza porfirazyny magnezowej posiadającej naprzemienny układ podstawników peryferyjnych 2,5-dimetylopirolilowego i dimetyloaminowego

Pierwszym etapem na drodze syntetycznej prowadzącej do otrzymania makrocykla porfirazynowego, jest synteza maleonitryla. Główny tok syntezy prowadzący do otrzymania maleonitryla **2** zapoczątkowano reakcją kondensacji komercyjnie dostępnego diaminomaleonitryla (**1**) z 2,5-heksanodionem w benzenie z dodatkiem katalitycznej ilości kwasu szczawowego z użyciem aparatu Dean-Starka modyfikując procedurę literaturową [63]. W reakcji Paala-Knorra na jednej z dwóch I-rzędowych grup aminowych substratu **1** utworzył się pierścień pirolowy podstawiony w pozycjach 2 i 5 grupami metylowymi. Ponadto mieszaninę reakcyjną zawierającą produkt poddano krystalizacji z eteru dietylowego i heksanu, co pozwoliło na uzyskanie znanego z literatury produktu **2** w postaci żółtych igieł, którego tożsamość potwierdzono przy pomocy temp. topnienia i R_f .

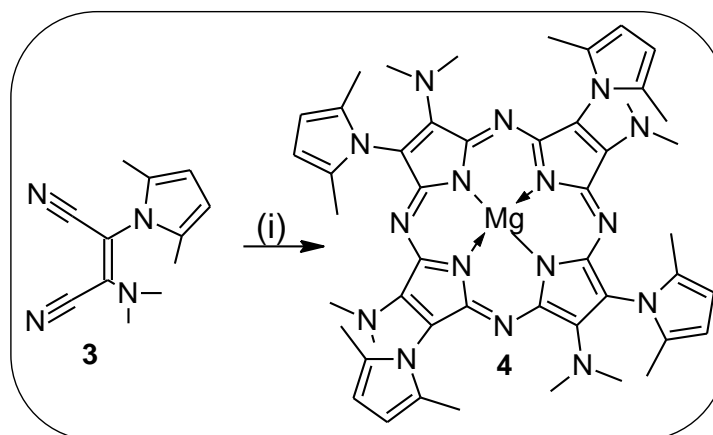
Kolejnym etapem była reakcja metylacji **2** do pochodnej maleonitrylowej **3** posiadającej grupę dimetyloaminową oraz 2,5-dimetylopirolilową. W tym celu reakcję alkilacji maleonitryla **2** przeprowadzono w temperaturze -15°C , przy użyciu 60% zawiesiny wodoru sodu w oleju mineralnym i siarczaniu dimetylu jako środka alkilującego (**Schemat 12**). Po zakończeniu reakcji mieszaninę reakcyjną wylano na wodę z lodem, a wydzielony osad odsączono, a następnie poddano krystalizacji z układu dichlorometan

– heksan (1:1). Produkt **3** uzyskano z wydajnością 70% w postaci żółtych kryształów. Czystość uzyskanej pochodnej maleonitrylowej **3** potwierdzono za pomocą analizy elementarnej i scharakteryzowano za pomocą współczynnika R_f , temperatury topnienia oraz widm $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$ i MS ES.



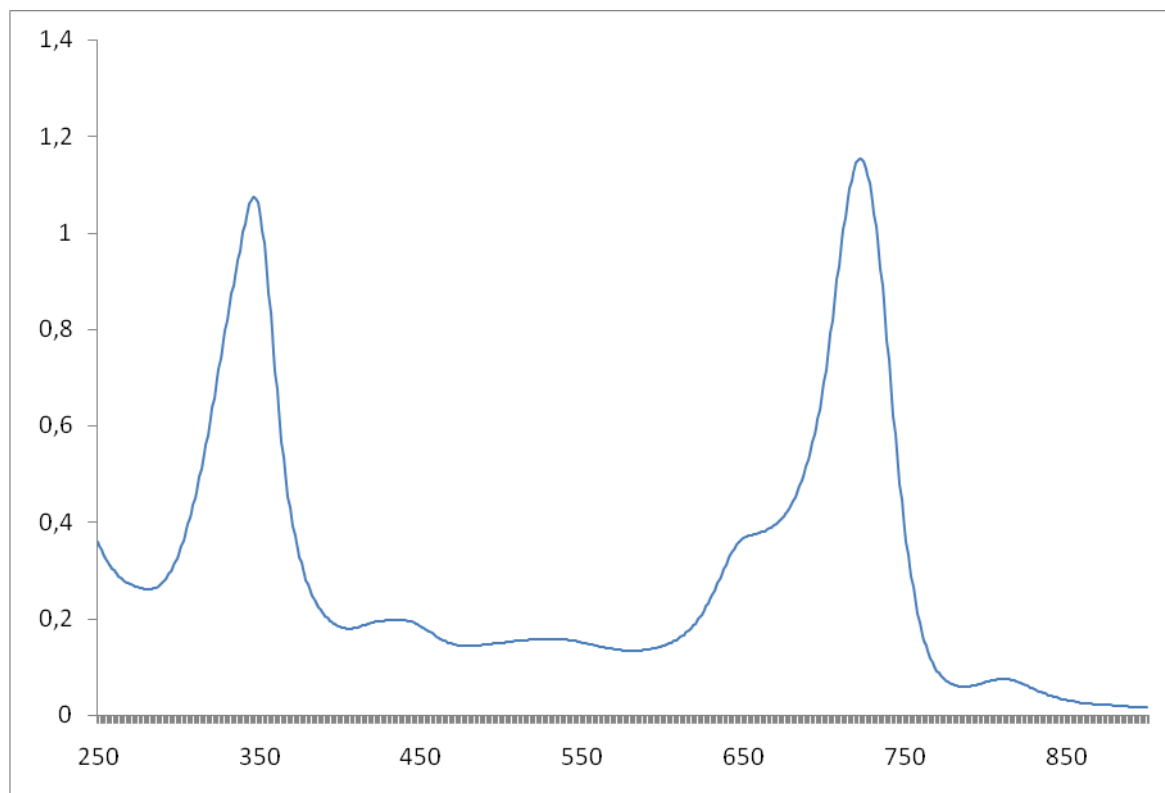
Schemat 12. Reagenty i warunki (i) benzen, temp. wrzenia, kwas szczawiowy, 10 godz.; (ii) tetrahydrofuran, temp. -15°C , 60% NaH (zawiesina w oleju mineralnym), siarczan di metylu, 24 godz.

Pochodną maleonitrylową **3** użyto w reakcji makrocyklizacji metodą Linstead. Najpierw magnez wraz z katalityczną ilością jodu ogrzewano przez 6 godzin w wrzącym *n*-butanolu, a do tak przygotowanego butanolanu magnezu dodano maleonitryl **3** i ogrzewano dalej przez 24 godziny. Następnie roztwór przesączono przez celit celem usunięcia resztek nieprzereagowanego butanolanu magnezu, a przesącz odparowano do sucha (**Schemat 13**). Suchą pozostałość poddano wielokrotnemu rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej, w wyniku czego otrzymano czystą porfirazynę (**4**) posiadającą w części peryferyjnej naprzemienny układ podstawników 2,5-dimetylopirolilowego i dimetyloaminowego. Produkt scharakteryzowano za pomocą temp. topnienia, R_f , widm $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$, UV-Vis, IR, MS, a czystość potwierdzono za pomocą HPLC.



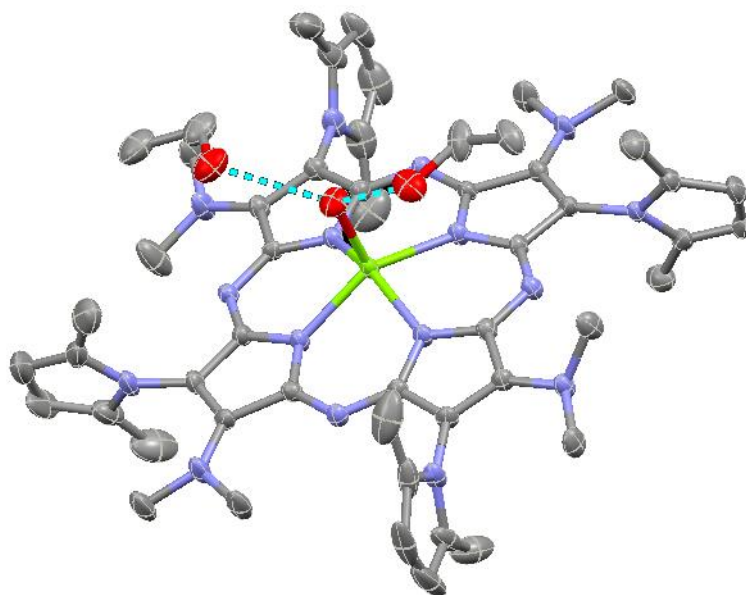
Schemat 13. Reagenty i warunki (i), *n*-butanol, butanolan magnezu, temp. wrzenia, 24 godz.

Porfirazynę **4** scharakteryzowano za pomocą spektroskopii UV-Vis (**Rys. 13**). Profil widma potwierdził symetryczną budowę porfirazyny o czym świadczy symetryczne pasmo Q związku, którego maksimum znajduje się przy 722 nm. Maksimum absorpcji tego związku mieści się z zakresie tzw. okna terapeutycznego, między 600 a 800 nm, co jest czynnikiem sprzyjającym jego zastosowaniu w terapii fotodynamicznej jako fotosensybilizatora.



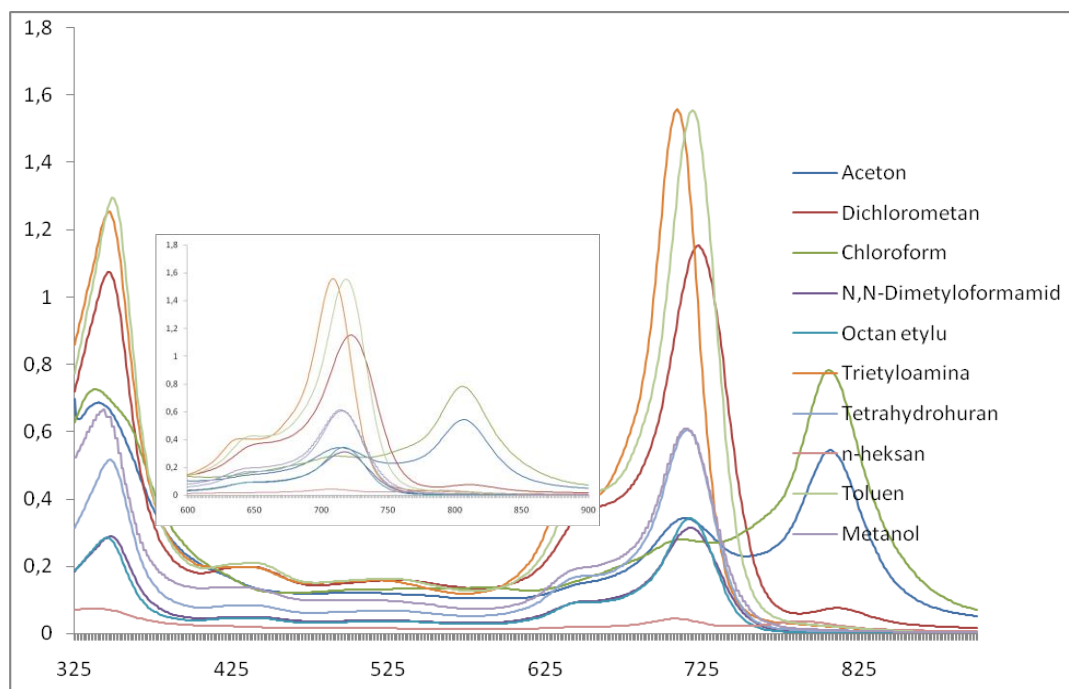
Rys 13. Przebieg widma UV-Vis związku **4** wykonanego w dichlorometanie; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

Porfirazynę **4** poddano krystalizacji w wyniku, której otrzymano monokryształ. Kryształ ten został przekazany do badań rentgenostrukturalnych Pani dr Ewie Tykarskiej z Katedry i Zakładu Technologii Chemicznej Środków Leczniczych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Badania potwierdziły naprzemienny układ podstawników w części peryferyjnej, wskazały też na obecność koordynującego do centralnie położonego atomu magnezu alkoholowego liganda (**Rys. 14**).



Rys. 14. Struktura krystalograficzna związku **4**.

Porfirazyna **4** została poddana studiom solwatochromowym za pomocą spektroskopii UV-Vis w 10 rozpuszczalnikach. Wyniki przedstawiono na **Rys 15**.

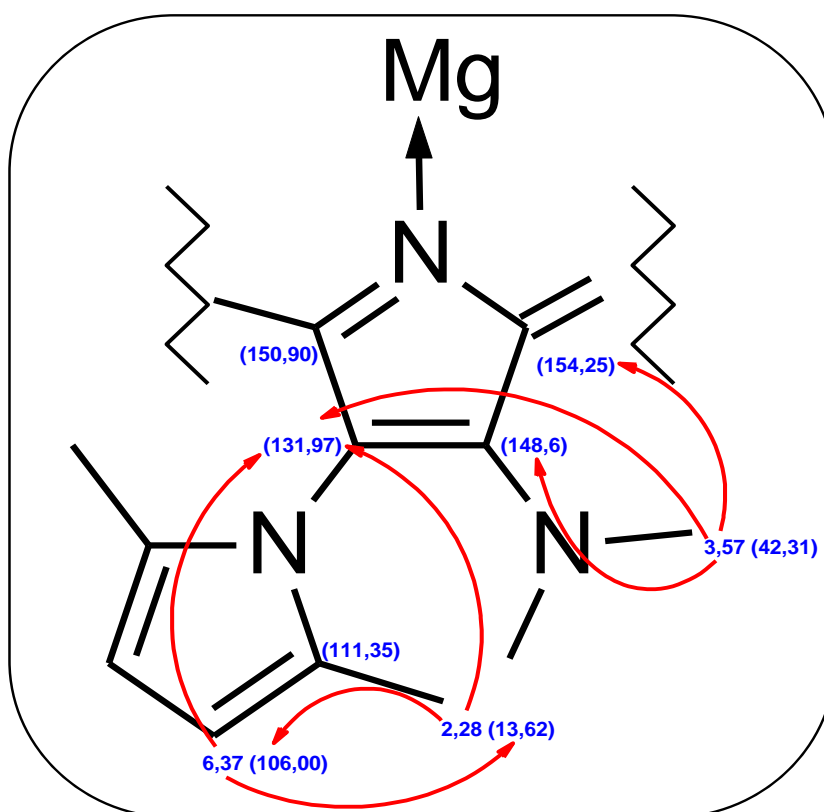


Rys. 15. Przebieg widm UV-Vis związku **4** w różnych rozpuszczalnikach. We wstawce pokazano zakres 600-900 nm; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

Z widm UV-Vis można wywnioskować, że związek **4** wykazuje wysoką absorbcję w takich rozpuszczalnikach jak toluen, trietyloamina i dichlorometan. W rozpuszczalnikach takich jak dichlorometan, chloroform i aceton pojawia się nowe

pasmo powyżej 800 nm, które może świadczyć o agregacji typu J [100]. Natomiast bardzo niska absorpcja w heksanie jest spowodowana słabą rozpuszczalnością w tym rozpuszczalniku.

Analiza sprzężeń proton-węgiel w widmach magnetycznego rezonansu jądrowego HMBC i HSQC związku **4** pozwoliła na przypisać położenie atomów wodoru i węgla w obrębie pierścienia pirolowego wraz z przyłączonymi do niego grupami funkcyjnymi. Zaobserwowane oddziaływania przedstawiono w formie graficznej (**Rys. 16**) oraz w postaci tabeli (**Tabela 1**).



Rys. 16. Fragment związku **4**, przedstawiające sprzężenia proton-węgiel (strzałki) – w nawiasach podano wartości przesunięć dla atomów węgla (ppm).

Tabela 1. Obserwowane sprzężenia proton – węgiel związku **4** wraz z przypisanymi wartościami

Grupa funkcyjna	Wartość przesunięcia sygnału protonu [ppm]	Wartości przesunięć sygnałów węgla sprzężonych poprzez podaną ilość wiązań [ppm]		
		I	III	IV
-CH=	6,37	106,00	13,62	131,97

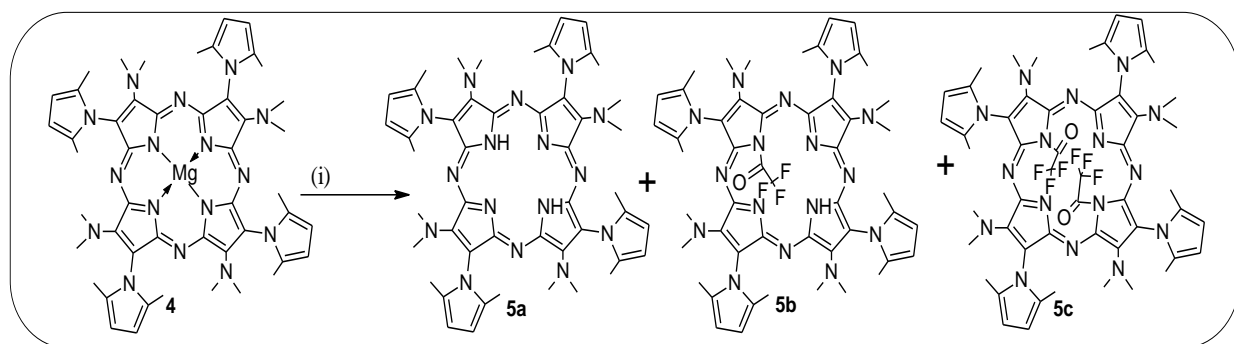
CH ₃ -	2,28	13,62	106,00	131,97
-N(CH ₃) ₂	3,57	42,31	148,6	131,97 ; 154,25

IV-rzędowe atomy węgla : 111,35; 131,97; 148,6; 154,25; 150,9

IV.1.1.1. Synteza porfirazyny bezmetalicznej z peryferyjnym układem grup 2,5-dimetylopirolilowych i dimetyloaminowych

Porfirazyna z peryferyjnymi ugrupowaniami 2,5-dimetylopirolowymi i dimetyloaminowymi, bez skoordynowanego atomu metalu, jest *de facto* demetalowaną pochodną porfirazyny **4**. W pracy podjęto trzy różne podejścia syntetyczne zróżnicowane pod względem użytych substratów, czasu trwania, temperatury prowadzenia reakcji oraz wydajności otrzymanych produktów.

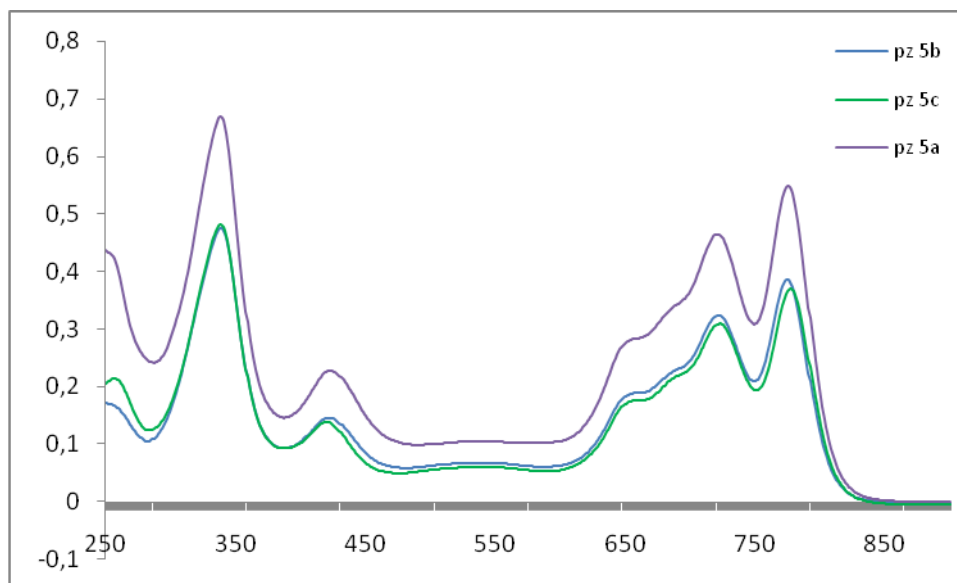
W pierwszej metodzie zastosowano magnezową porfirazynę **4**, jako wyjściowy substrat, który poddano demetalacji kwasem trifluorooctowym, bez dostępu światła, w czasie 20 minut (**Schemat 14**). Otrzymany makrocykl, po kilkukrotnym oczyszczeniu na drodze rozdziału kolumnowego poddano wstępnej analizie TLC, która wykazała istnienie trzech różnych izomerów. Fakt ten ostatecznie potwierdziła analiza widma MALDI TOF. Stwierdzono, iż oprócz docelowej porfirazyny bezmetalowej (**5a**), w czasie reakcji powstały również dwie inne trwałe pochodne: acylowana (**5b**) i diacylowana (**5c**), będące najprawdopodobniej produktami wiązania się grup kwasu trifluorooctowego do rdzenia makrocykla.



Schemat 14. Reagenty i warunki reakcji: (i) kwas trifluorooctowy, bez dostępu światła, temp. pokojowa, 20 min.

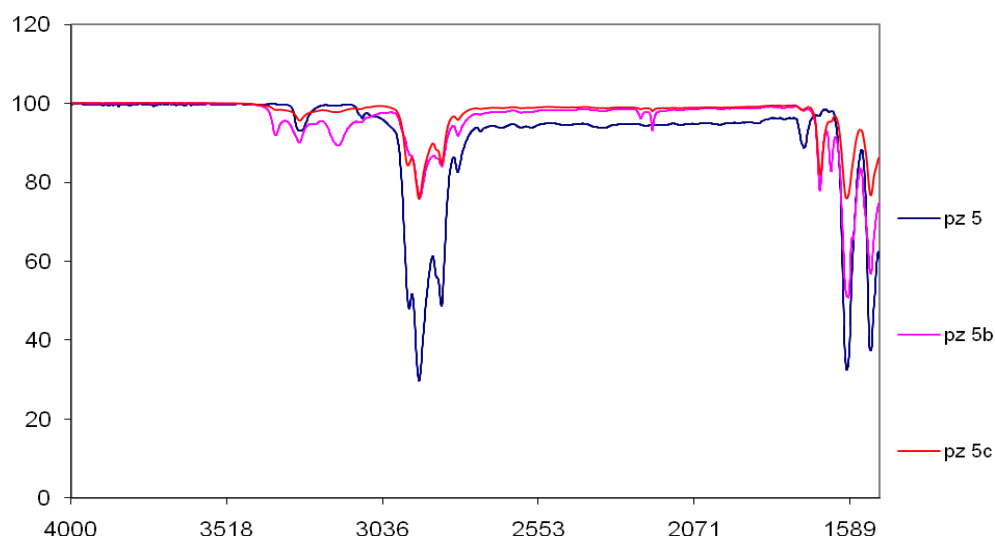
W celu pełnej charakterystyki związków **5a-5c** wykonano widma ¹H, ¹³C, ¹⁹F NMR, IR, MS oraz pomiar temp. topnienia i wyznaczono współczynnik R_f (TLC). Sporządzono także widmo UV-Vis wszystkich trzech pochodnych (**Rys. 17**).

W przebiegu widma otrzymanej porfirazyny **5a** stwierdzono pojawienie się pasma Q przy 776 nm i 721 nm, świadczące o spadku symetrii związku z C_4 na C_2 (zmiany osi głównej obrotu z poczwórnej na podwójną). W analizowanym widmie zaobserwować można również absorpcję przy 423 nm i 339 nm. Porównując przebieg wykresu absorpcji makrocykli **5a-5c** nie można zaobserwować wyraźnej różnicy między nimi, co świadczy o tym, iż przyłączone grupy acylowe w **5b** i **5c** nie mają wpływu na położenie poszczególnych maksimów w widmie UV-Vis (**Rys. 17**).



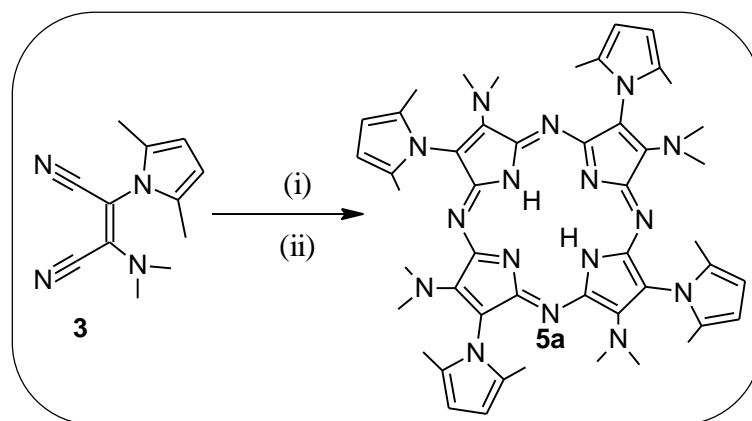
Rys. 17. Przebieg widma UV-Vis porfirazyn **5a**, **5b** i **5c**, wykonanego w dichlorometanie; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

Potwierdzenie struktury otrzymanych porfirazyn acylowanej **5b** i diacylowanej **5c** uzyskano po sporządzaniu widma spektroskopii w podczerwieni (**Rys. 18**). Na jego podstawie stwierdzono, iż obecność w związku **5b** dodatkowego sygnału o liczbie falowej 3175 cm^{-1} świadczy występowaniu grupy NH w rdzeniu cząsteczki. Dodatkowo pojawiły się sygnały o liczbie falowej 1680 cm^{-1} , który jest nieobecny w przypadku porfirazyny demetalowanej, a wskazuje na istnienie w strukturze grupy karbonylowej, przyłączonej do azotu pirolowego w pierścieniu porfirazyny.



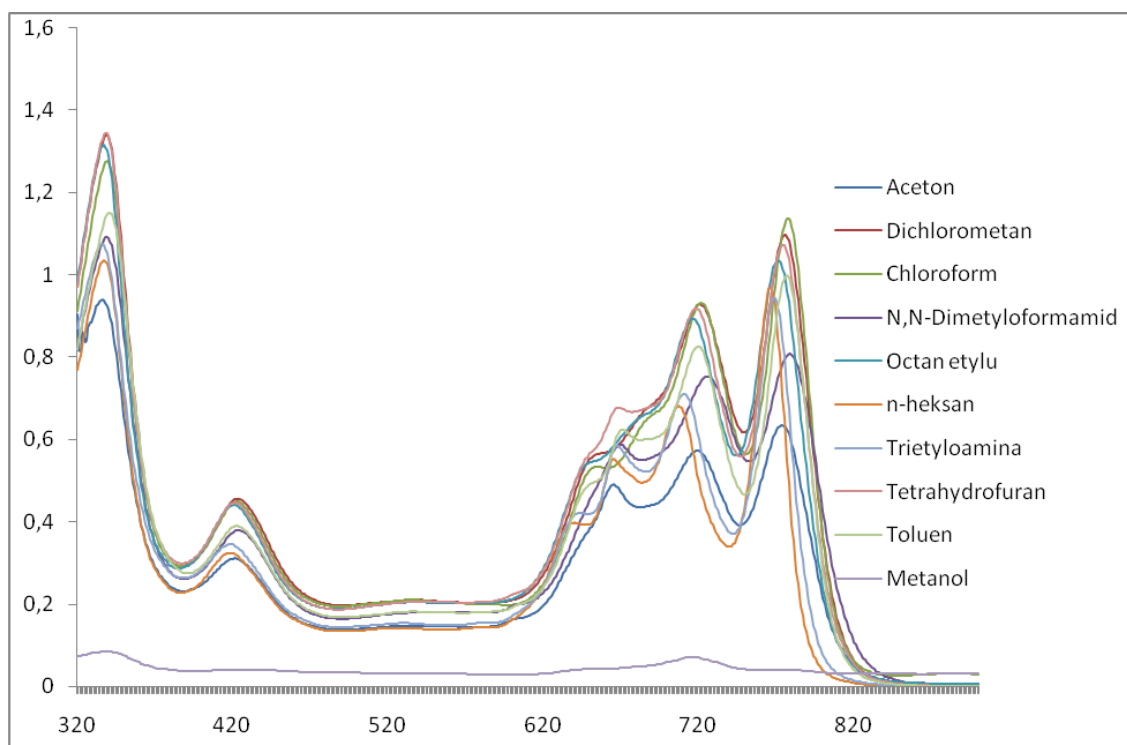
Rys. 18. Widmo IR porfirazyn **5a**, **5b**, **5c** – w omawianym zakresie od 4000 cm^{-1} do 1500 cm^{-1} ; oś X - liczba falowa [cm^{-1}], oś Y - transmitancja [%].

W drugiej i trzeciej metodzie syntezy porfirazyny **5a** wykorzystano w roli substratu maleonitryl **3** (**Schemat 15**), stosując odpowiednio 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 1-pentanol, temp. 130°C przez 24 godz., lub z dimetyloaminoetanol (DMAE), w temp. wrzenia rozpuszczalnika przez 2 godz. Tożsamość uzyskanej porfirazyny **5a** potwierdzono za pomocą analizy TLC. Zestawiając wszystkie trzy metody i analizując pod względem wydajności, najbardziej korzystną wydaje się być pierwsza reakcja, która prowadzi do uzyskania głównego produktu z wydajnością 56% (pochodna acylowana i diacylowana odpowiednio 14% i 4%). Druga metoda, wykorzystująca DBU pozwoliła na uzyskanie **5a** z wydajnością 10%, natomiast trzecia – 35%. Ze względu na czas trwania reakcji oraz łatwość otrzymania czystej porfirazyny, to właśnie ostatnia metoda, z zastosowaniem DMAE, który jednocześnie pełni rolę rozpuszczalnika jak i zasady, wydaje się być najbardziej optymalnym sposobem otrzymywania związku **5a**.



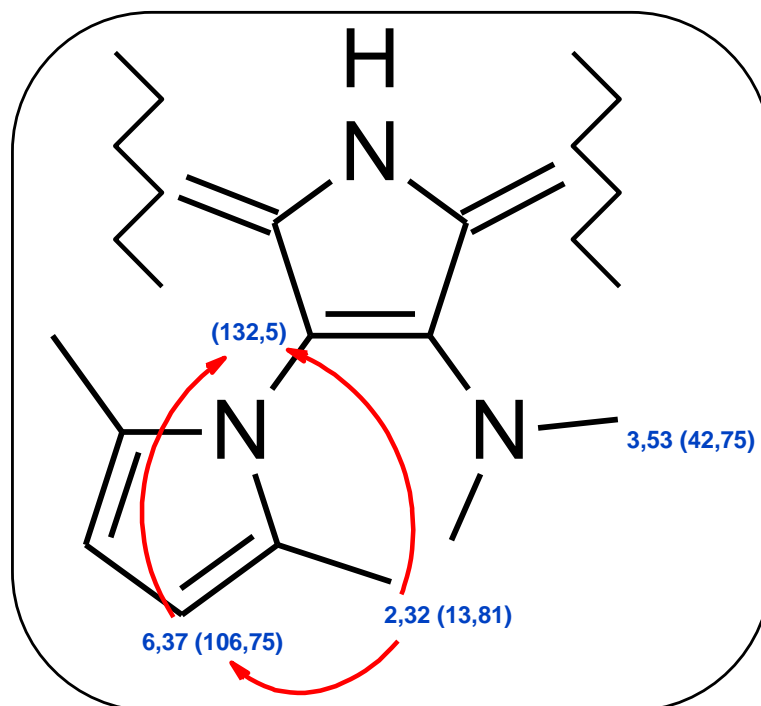
Schemat 15. Reagenty i warunki reakcji: (i) 1-pentanol, DBU, 130°C, 24 godz.; (ii) dimetyloaminoetanol, temp. wrzenia rozpuszczalnika, 2 godz.

Pełen opis uzyskanej symetrycznej demetalowanej porfirazyny **5a** wzbogacono o badanie efektów solwatochromowych widm UV-Vis, podobnie jak w przypadku związku **4**, wykorzystując 10 rozpuszczalników (**Rys. 19**). Analizując przebieg widm stwierdzono, iż w dziewięciu z nich widma nie wykazują istotnych różnic absorpcji w paśmie Q oraz w paśmie Soreta. Jedynie w przypadku metanolu, porfirazyna **5a** nie wykazała absorpcji w żadnym z pasm, co może być wynikiem szybkiego rozkładu związku w tym rozpuszczalniku.



Rys.19. Przebieg widm UV-Vis związku **5a**; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

Wykonane widma magnetycznego rezonansu jądrowego typu HMBC i HSQC wykazały istnienie trzech rodzajów sprzężeń proton – węgiel w obrębie analizowanego pierścienia pirolowego wraz z peryferyjnie przyłączonymi grupami funkcyjnymi. Zostały one przedstawione graficznie (**Rys. 20**) i tabelarycznie (**Tabela 2**).



Rys. 20. Fragment związku **5a**. Strzałkami zaznaczono obserwowane sprzężenia proton-węgiel. W nawiasach podano wartości przesunięć dla atomów węgla (ppm).

Tabela 2. Sprzężenia proton – węgiel związku **5a** z przypisanymi wartościami

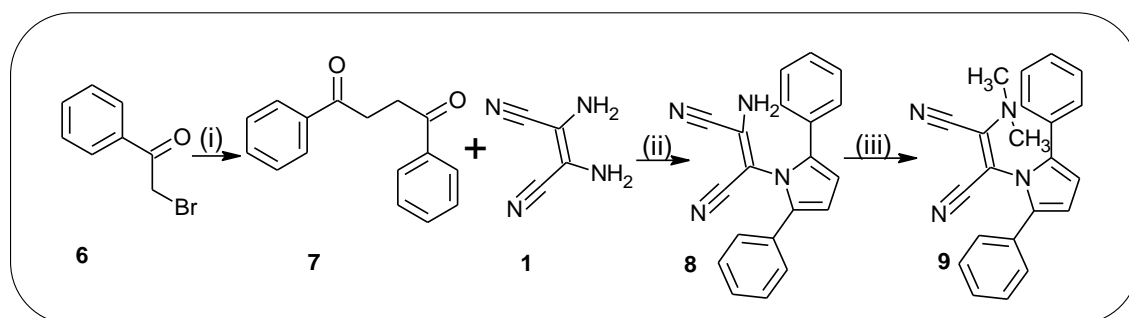
Grupa funkcyjna	Wartość przesunięcia sygnału protonu [ppm]	Wartości przesunięć sygnałów węgla sprzężonych poprzez podaną ilość wiązań [ppm]		
		I	III	IV
-CH=	6,37	106,75	-	132,5
CH ₃ -	2,28	13,81	106,75	132,5

IV-rzędowe atomy węgla: 132,5.

IV.1.2. Synteza porfirazyny magnezowej z peryferyjnym układem podstawników 2,5-difenylopirolilowych i dimetyloaminowych

Bromoacetofenon (**6**) został użyty w reakcji typu Würtza, w oparciu o dane literaturowe [101] w tetrahydrofuranie z metalicznym cynkiem i katalityczną ilością jodu, w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Następnie, po ochłodzeniu

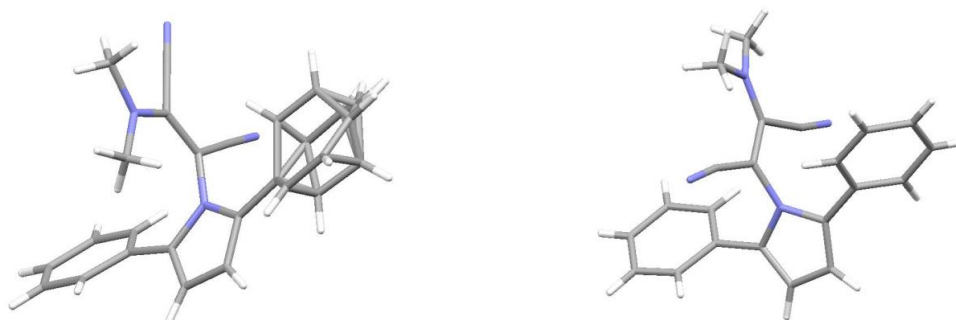
mieszaniny poreakcyjnej do temperatury pokojowej, odparowano rozpuszczalnik, a do oleistej pozostałości dodano schłodzonego metanolu, wytrącono osad 1,4-difenylobutano-1,4-dionu (**7**) odsączono (Schemat 6) i użyto w reakcji typu Paala-Knorra, według zmodyfikowanej procedury Beglanda i wsp. z diaminomaleonitrylem (**1**) w metanolu z katalityczną ilością kwasu trifluorooctowego [63]. Reakcję prowadzono w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godziny. Po zakończeniu reakcji mieszaninę odparowano do sucha, a suchą pozostałość poddano oczyszczaniu metodą krótkiej kolumny chromatograficznej, co pozwoliło na otrzymanie 2-amino-3-(2,5-difenylo-1*H*-pirolilo)-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (**8**) (Schemat 16).



Schemat 16. Reagenty i warunki reakcji: (i) tetrahydrofuran, Zn (pył), I₂, temp. wrzenia, 24 godz.; (ii) metanol, kwas trifluorooctowy, temp. wrzenia, 24 godz.; (iii) tetrahydrofuran, 60% NaH (zawiesina w oleju mineralnym), siarczan dimetylu, temp -17 do -10°C, 24 godz.

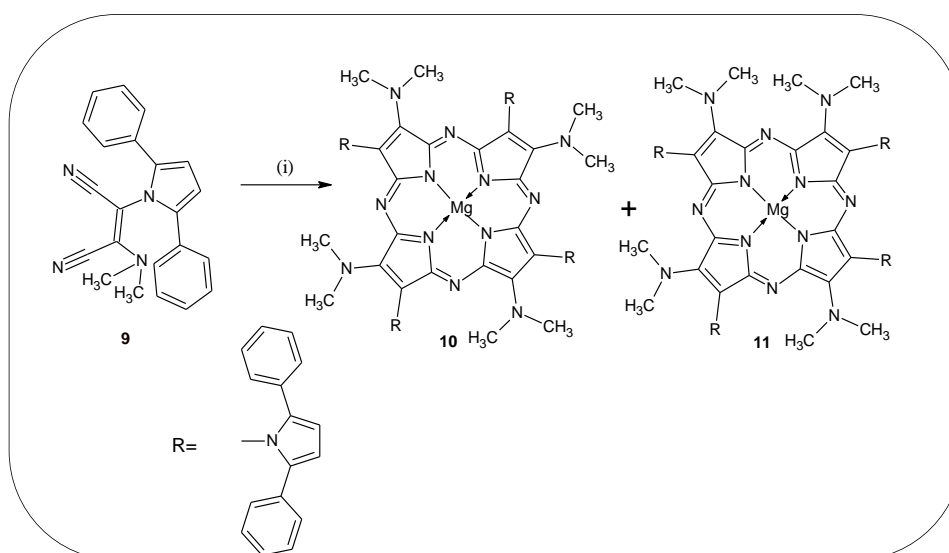
Maleonitryl **8** został poddany reakcji metylacji w tetrahydrofuranie w obecności NaH za pomocą siarczana dimetylu w temperaturze poniżej -10°C przez 24 godz. Po zakończeniu reakcji mieszaninę wylano do wodę z lodem celem rozłożenia nieprzereagowanego wodoru sodu, a następnie roztwór poddano trzykrotnej ekstrakcji z dichlorometanem. Warstwę dichlorometanu odparowano do sucha, a suchą pozostałość poddano oczyszczaniu na kolumnie chromatograficznej. Otrzymano nowy maleonitryl (**9**) scharakteryzowano za pomocą współczynnika R_f, temp. topnienia oraz widm ¹H NMR, ¹³C NMR, MS, a jego czystość potwierdzono za pomocą analizy elementarnej. Związek **9** poddano krystalizacji z mieszaniny dichlorometanu i heksanu (1:1), w wyniku czego otrzymano monokryształ, który następnie przekazano do badań rentgenostrukturalnych Pani dr Ewie Tykarskiej. Analiza rentgenograficzna dostarczyła informacji na temat struktury nowego maleonitryla. Związek krystalizował w dwóch formach, jako izomer *cis* i izomer *trans*. Należy podkreślić, że reakcja izomeracji zachodzi tylko w procesie krystalizacji, ponieważ w czasie badań NMR zaobserwowano tylko izomer *cis*. Z analizy wynika, że pierścień pirolowy jest ustawiony prostopadle do

wiązania podwójnego maleonitryla, a grupa dimetyloaminowa ustawiona jest równoległe to tego wiązania. (**Rys. 21**).



Rys. 21. Struktura krystalograficzna związku **9** z lewej izomer *cis* z prawej izomer *trans*.

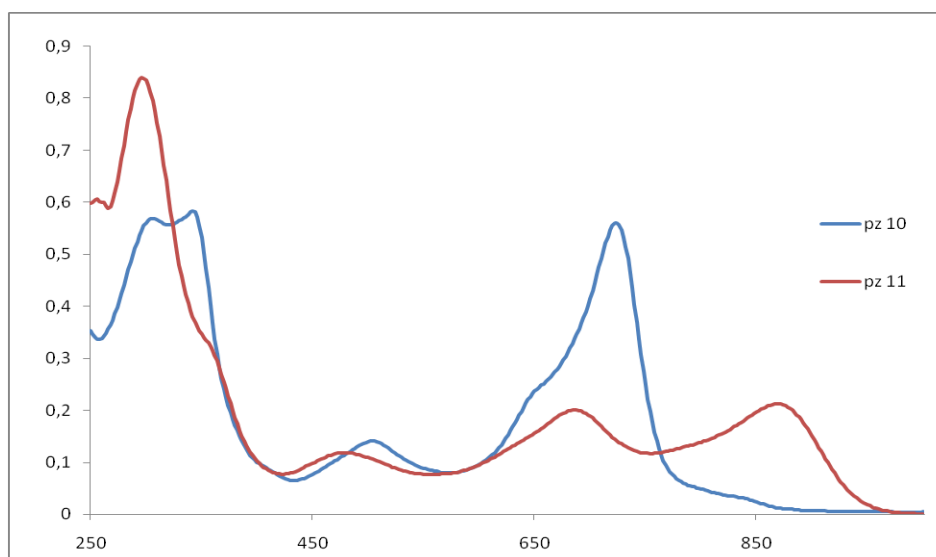
Pochodną maleonitrylu **9** użyto w reakcji makrocyklizacji Linstead'a w butanolu z użyciem butanolanu magnezu jako zasady w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godziny. Po ochłodzeniu mieszaniny poreakcyjnej przesączono ją przez ziemię okrzemkową i odparowano do sucha. Analiza chromatograficzna na płytkach TLC wykazała iż otrzymano dwa makrocykle. W wyniku oczyszczania mieszaniny na kolumnie chromatograficznej wyizolowano dwa nowe makrocykle porfirazynowe (**10**) i (**11**) (**Schemat 17**), które następnie poddano analizie.



Schemat 17. Reagenty i warunki reakcji: (i) butanolan magnezu, *n*-butanol, temp. wrzenia, 24 godz.

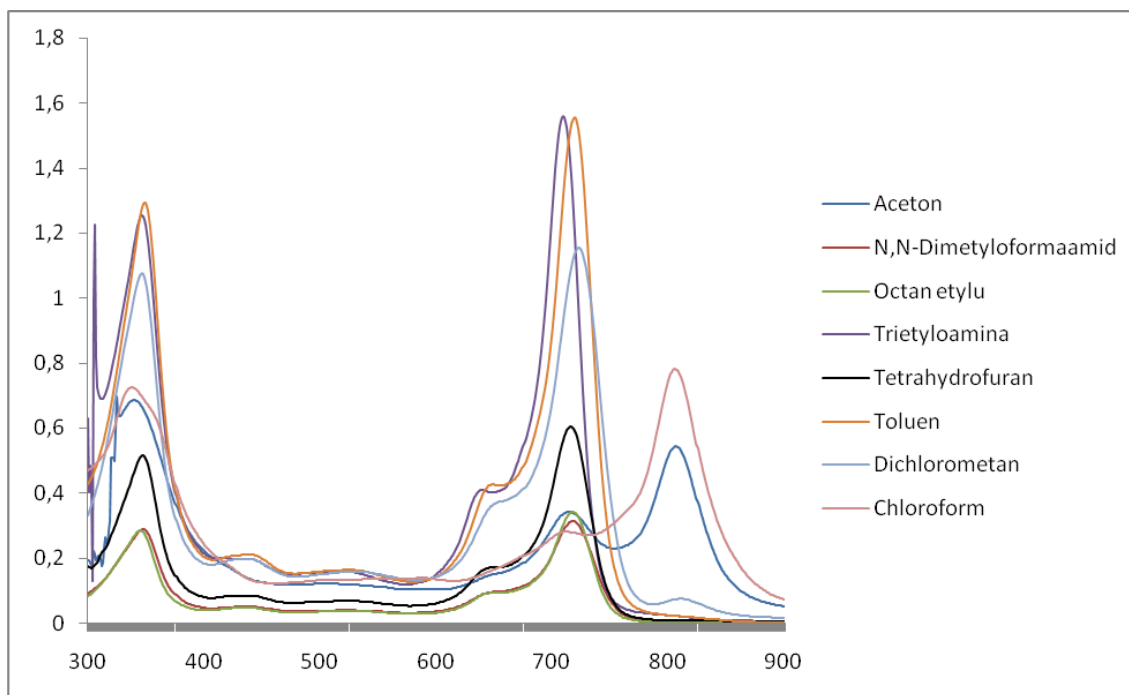
Związek **10** posiadający naprzemienny układ podstawników peryferyjnych scharakteryzowano za pomocą temperatury topnienia, R_f , spektroskopii UV-Vis,

MALDI TOF, ^1H NMR i ^{13}C NMR. Związek **11**, posiadający przestawiony układ podstawników peryferyjnych scharakteryzowano za pomocą temperatury topnienia, R_f , spektroskopii UV-Vis, MALDI TOF i ^1H NMR.



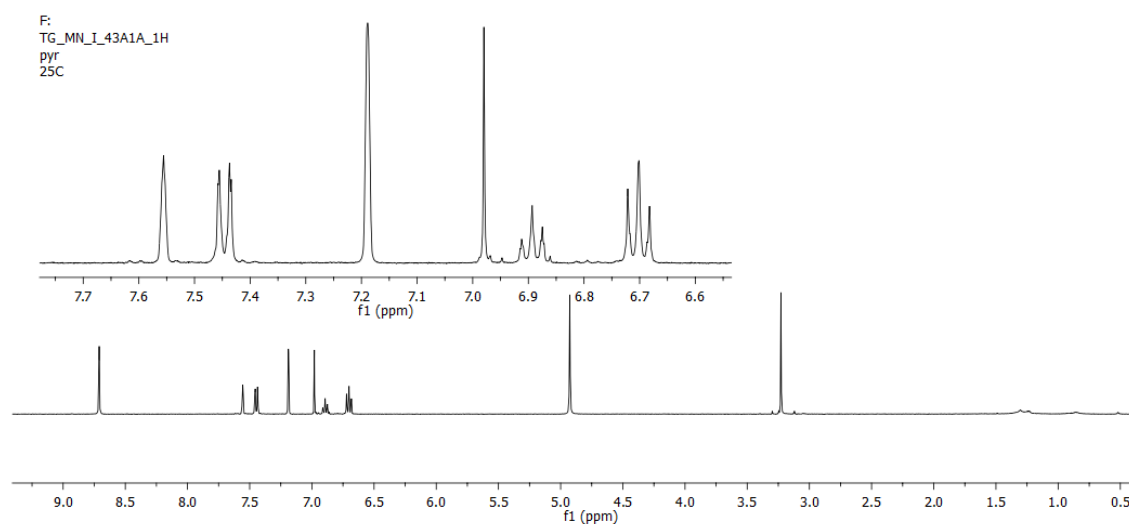
Rys. 22. Przebieg widm UV-Vis porfirazyn **10** i **11**, wykonane w dichlorometanie; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

Dla otrzymanych porfirazyn wykreślono widma UV-Vis (**Rys. 22**). W przebiegu widma UV-Vis związku **10** można zaobserwować, że na pasmo Soreta przy około 350 nm nałożyło się wysokoenergetyczne i intensywne pasmo pochodzące od peryferyjnych grup 2,5-difenylopirolilowych z maksimum przy 302 nm, a przy 730 nm zaobserwowano wyraźne pasmo Q. Natomiast przy 817 nm pojawiło się dodatkowe pasmo mogące świadczyć o powstawaniu agregatów typu J [100]. W przebiegu widma UV-Vis związku **11** stwierdzono występowanie charakterystycznego rozszczepienia pasma Q, które świadczy o obniżonej symetrii. Ponadto przy 479 nm występuje pasmo pochodzące od przejść $n \rightarrow \pi^*$, pojawiające się w związku z silnym efektem donorowym czterech grup dimetyloaminowych do pierścienia porfirazynowego.



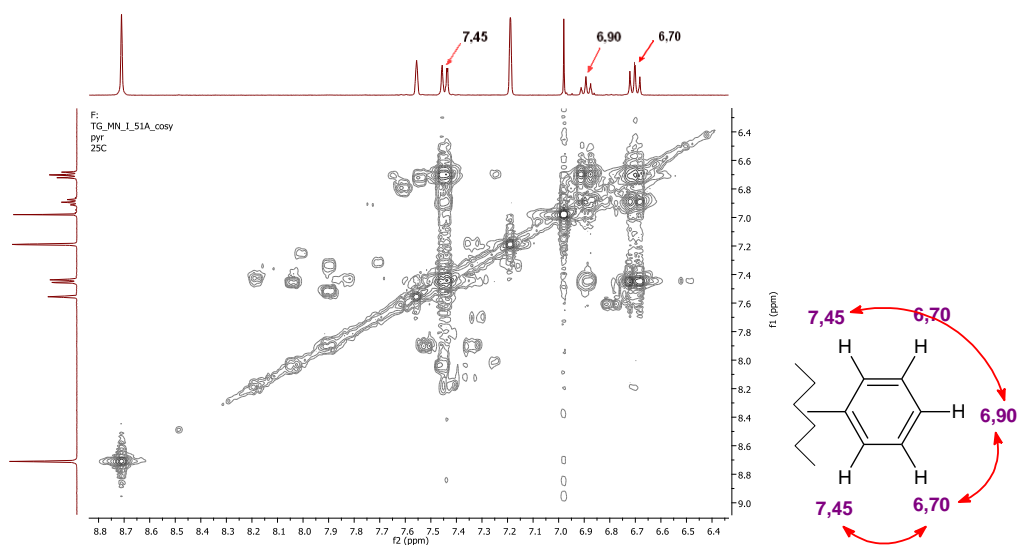
Rys 23. Przebieg widm UV-Vis porfirazyny **10** w różnych rozpuszczalnikach organicznych oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

Z przebiegu widm UV-Vis będących wynikiem badań solwatochromowych porfirazyny **10**, można wywnioskować, że w rozpuszczalnikach takich jak chloroform i aceton, mogą tworzyć się agregaty typu J o czym świadczy dodatkowe pasmo absorpcji przy 810 nm (**Rys. 23**) [100].



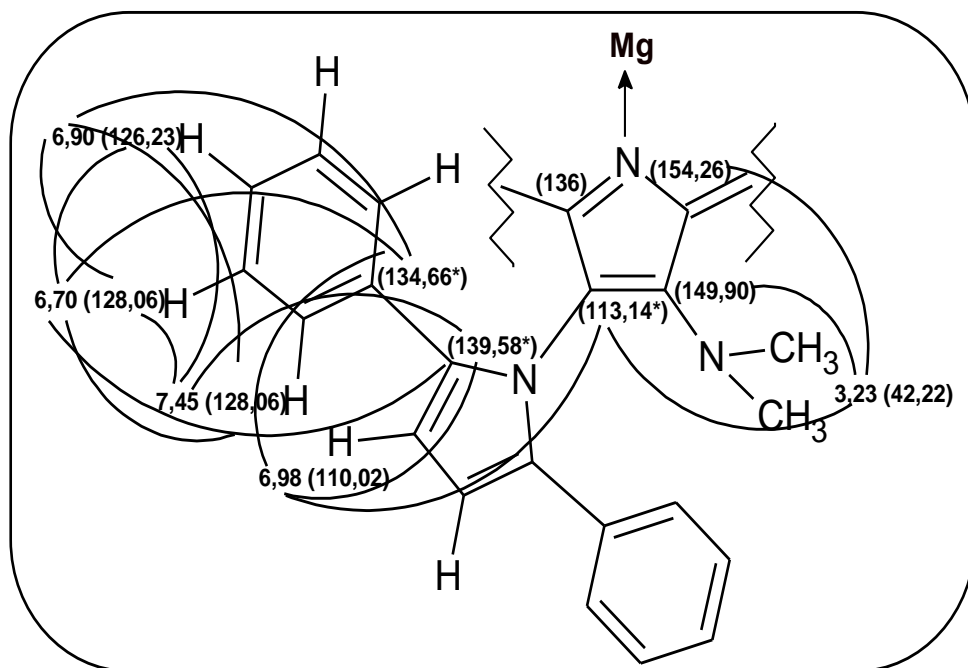
Rys. 24. Widmo ^1H NMR porfirazyny **10**. We wstawce pokazano sygnały części aromatycznej.

W widmie ^1H NMR izomeru **10** (Rys. 14) stwierdzono obecność pojedynczego sygnału przy 3,23 ppm odpowiadającego atomom wodoru wchodzącym w skład grupy dimetyloaminowej. Jest to najbardziej diagnostyczny sygnał potwierdzający symetrię związku i naprzemienny układ podstawników peryferyjnych: 2,5-difenylopirolilowego i dimetyloaminowego. Dodatkowo przy 6,98 ppm znajduje się pasmo pochodzące od wodorów występujących w pozycji 3' i 4' pierścienia pirolilowego. Natomiast w przedziale 6,68 – 7,46 ppm występuje kilka sygnałów (dublet i triplety) pochodzących od aromatycznej grupy 2,5-difenylopirolilowej.



Rys. 25. Fragment widma ^1H ^1H COSY pokazujący sprzężenia w pierścieniu fenylowym.

W widmie ^1H ^1H COSY NMR makrocykla **10** zaobserwowano sprzężenia tylko pomiędzy wodorami pierścieni aromatycznych. Na widmie widoczne są 3 sprzężenia, które zaznaczono na **Rys. 26**. Analiza widma ^1H ^{13}C NMR HMBC pozwoliła na przypisanie odpowiednich sygnałów protonów i węgla (**Tabela 3**).

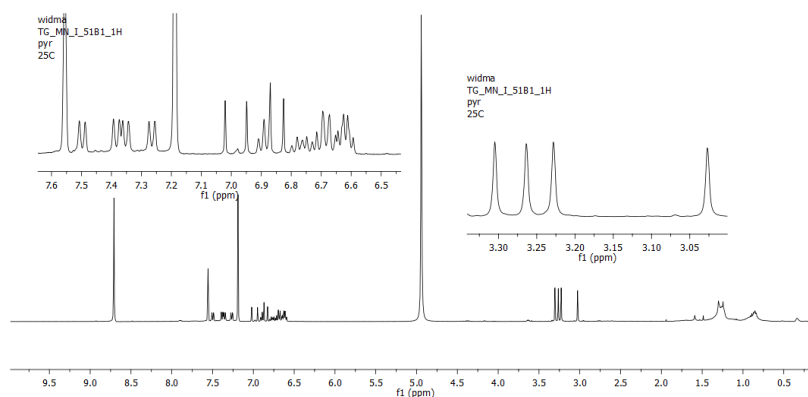


Rys. 26. Fragment związku **10** z zaznaczonymi sprzężeniami proton-węgiel (ppm). W nawiasach zostały podane wartości dla atomów węgla. * - dla ostatecznego potwierdzenia prawidłowości przypisania węgli czwartorzędowych niezbędne jest wykonanie dodatkowych eksperymentów NMR.

Tabela 3. Obserwowane sprzężenia proton-węgiel związku **10**

Grupa funkcyjna	Wartość przesunięcia sygnału protonu [ppm]	Wartości przesunięć sygnałów węgli sprzężonych poprzez podaną ilość wiązań [ppm]	
		I-wiązanie	II, III, IV-wiązania
-N(CH ₃) ₂	3,23	42,22	113,14; 149,90; 154,26
-CH= (pirol 4` 5`)	6,98	110,02	113,14; 134,66; 139,58
-C ₆ H ₅ (meta)	6,70	128,06	126,23; 128,06; 134,66; 139,58
-C ₆ H ₅ (para)	6,90	-	128,06; 134,66
-C ₆ H ₅ (orto)	7,45	128,06	126,23; 128,06; 139,59

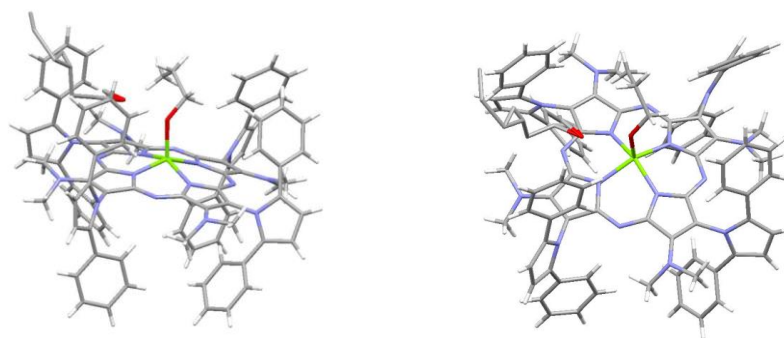
IV-rzędowe atomy węgla: 113,14; 134,66; 136; 139,58; 149,90; 154,26.



Rys. 27. Widmo ^1H NMR porfirazyny **11**. We wstawkach pokazano obszar aromatyczny (lewa) i alifatyczny (prawa).

Widmo ^1H NMR związku **11** (**Rys. 27**) przedstawia 4 diagnostyczne sygnały protonów grupy dimetyloaminowej w zakresie 3,0 – 3,4 ppm. Jest to charakterystyczne dla makrocyklu posiadającego przestawiony układ podstawników peryferyjnych. Podstawniki dimetyloaminowe znajdujące się blisko siebie występują przy 3,03 i 3,23 ppm, co wiadomo z wcześniejszych studiów, obejmujących widma temperaturowe ^1H NMR, prowadzonych w Katedrze [79].

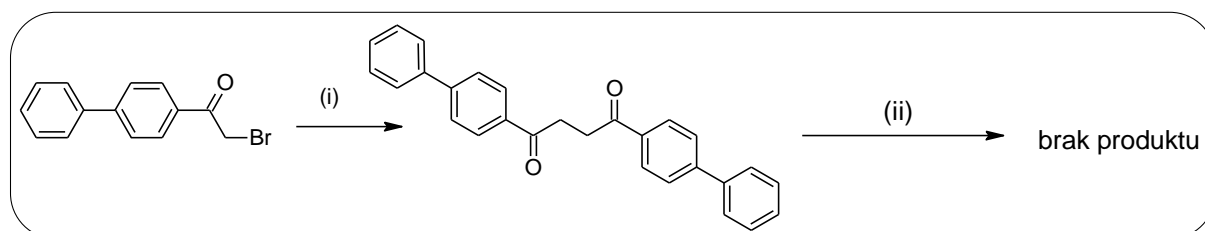
Z porfirazyny **10** nastawiono krystalizację metodą powolnego odparowywanie w mieszaninie dichlorometan - metanol - 1-propanol (1:1:1). W jej wyniku otrzymano monokryształ, który następnie przekazano do badań Pani dr Ewie Tykarskiej. Analiza rentgenostrukturalna pozwoliła na potwierdzenie naprzemiennego układu podstawników w części peryferyjnej. Dodatkowo zaobserwowano, że podstawnik 2,5-difenylopirolilowy ustawiony jest prostopadłe do płaszczyzny pierścienia porfirazyny, a grupa dimetyloaminowa równoległe do tej płaszczyzny. Ponadto zaobserwowano, że cząsteczka propanolu koordynowana jest przez jon magnezowy znajdujący się w centrum cząsteczki (**Rys. 28**).



Rys. 28. Struktury krystalograficzne porfirazyny **10**, pokazano dwa rzuty.

IV.1.3. Synteza porfirazyn z peryferyjnymi ugrupowaniami 2,5-di(4'-chlorofenylo)pirolilowymi i dimetyloaminowymi oraz 2,5-di(bifenylilo)pirolilowymi i dimetyloaminowymi

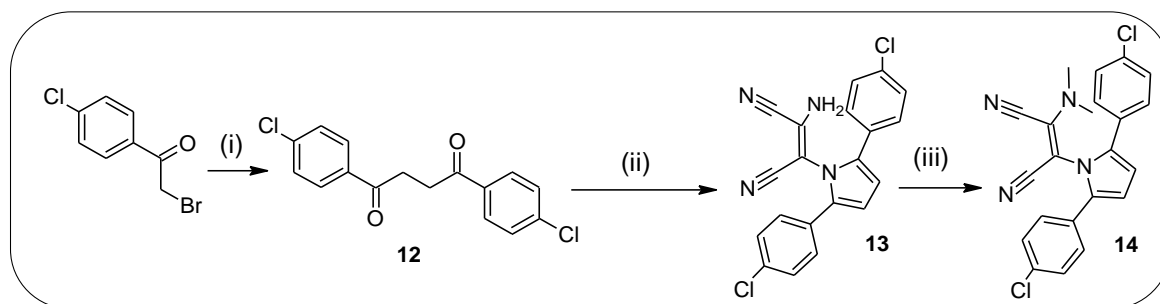
2-Bromo-4'-acetofenon został użyty w reakcji typu Würtza w obecności pyłu cynkowego i jodu jako katalizatora w THF. Celem otrzymania produktu kondensacji będącego pochodną 1,4-butanodionu. Reakcja przebiegała z bardzo niską wydajnością ok. 1%. Otrzymany związek nie ulegał reakcji typu Paala-Knorra z diaminomaleonitrylem w metanolu z użyciem kwasu trifluorooctowego jako katalizatora (**Schemat18**).



Schemat 18. Reakcja syntezy pochodnej 1,4-butanodionu. Reagenty i warunki reakcji: (i) tetrahydrofuran, Zn (pył), I₂ (kat.), temp. wrzenia, 24 godz; kwas trifluorooctowy, **1**, metanol, temp. wrzenia, 24 godz.

W związku z tym postanowiono zastosować alternatywne podejście syntetyczne. W tym celu postanowiono otrzymać maleonitryl funkcjonalizowany grupami 2,5-di(4'-chlorofenylo)pirolilową i dimetyloaminową, następnie poddać go reakcji makrocyklizacji celem uzyskania porfirazyny posiadającej w części peryferyjnej ugrupowania 2,5-di(4'-chlorofenylo)pirolilowe i dimetyloaminowe. Nowo otrzymana porfirazyna miała zostać dalej użyta w reakcji Suzuki-Miyaura z kwasem fenylboronowym celem otrzymania porfirazyny z ugrupowaniem bifenylilowym.

Pierwszy etap syntezy polegał na otrzymaniu odpowiedniego pochodnej 1,4-butanodionu (**12**), w tym celu użyto 2-bromo-4'-chloroacetofenon w reakcji typu Würtza [101] z użyciem pyłu cynkowego i jodku potasu w tetrahydrofuranie. Reakcję prowadzono w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godziny. Następnie roztwór przesączono przez celit celem pozbycia się soli nieorganicznych. Przesącz odparowano do sucha, a do oleistej pozostałości dodano chłodnego metanolu, wytrącony osad pochodnej 1,4-butanodionu **12** odsączono i wysuszono w temperaturze pokojowej.

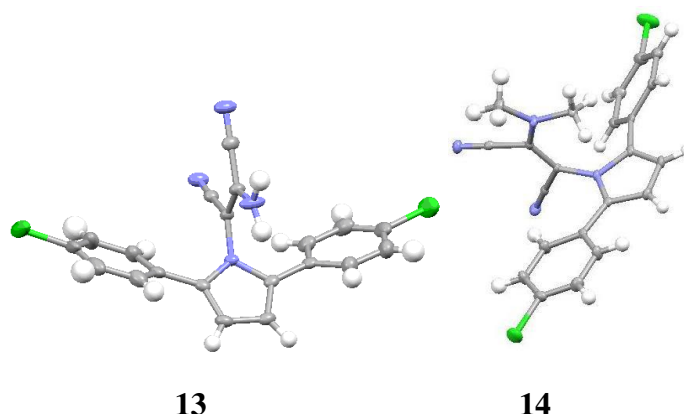


Schemat 19. Reakcja syntezy pochodnej maleonitrylowej (**16**). Reagenty i warunki reakcji: (i) tetrahydrofuran, Zn (pył), jodek potasu, temp. wrzenia, 24 godz.; (ii) **1**, metanol, kwas trifluorooctowy, temp. wrzenia, 24 godz.; (iii) tetrahydrofuran, 60% NaH, siarczan dimetylu, temp. -18 do -10 °C, 24 godz.

Pochodną butanodionu **12** użyto w reakcji Paala-Knorra [63] z diaminomaleonitrylem we wrzącym metanolu z użyciem katalitycznej ilości kwasu trifluorooctowego. Reakcję prowadzono przez 24 godziny, następnie schłodzono, a wytrącony osad nieprzereagowanego substratu **12** odsączono. Przesącz odparowano do sucha i poddano chromatografii kolumnowej w wyniku, której otrzymano maleonitryl (**13**). Związek ten użyto w reakcji metylacji z użyciem siarczanu dimetylu jako środka alkilującego w obecności NaH w tetrahydrofuranie. Pierwszym etapem tej reakcji było roztworzenie wodoru sodu w tetrahydrofuranie w temperaturze -18 °C przez 30 min, następnie dodano przez 30 minut pochodną maleonitrylową **13** rozpuszczoną w tetrahydrofuranie. Reakcję prowadzono przez 30 minut w temperaturze -10 °C, a następnie wdroplono siarczan dimetylu rozpuszczony w tetrahydrofuranie. Do dodania środka alkilującego pozostawiono reakcję w temperaturze pokojowej na 24 godziny (**Schemat 19**). Mieszaninę reakcyjną wylano na wodę z lodem, a następnie przeprowadzono ekstrakcję z użyciem dichlorometanu. Frakcję organiczną odparowano do sucha, a suchą pozostałość poddano chromatografii kolumnowej, co pozwoliło na wyizolowanie docelowego produktu (**14**). Tożsamość związków **13** i **14** potwierdzono za pomocą spektroskopii UV-Vis, spektrometrii MS ES i NMR. Czystość potwierdzono za pomocą analizy elementarnej i temperatury topnienia.

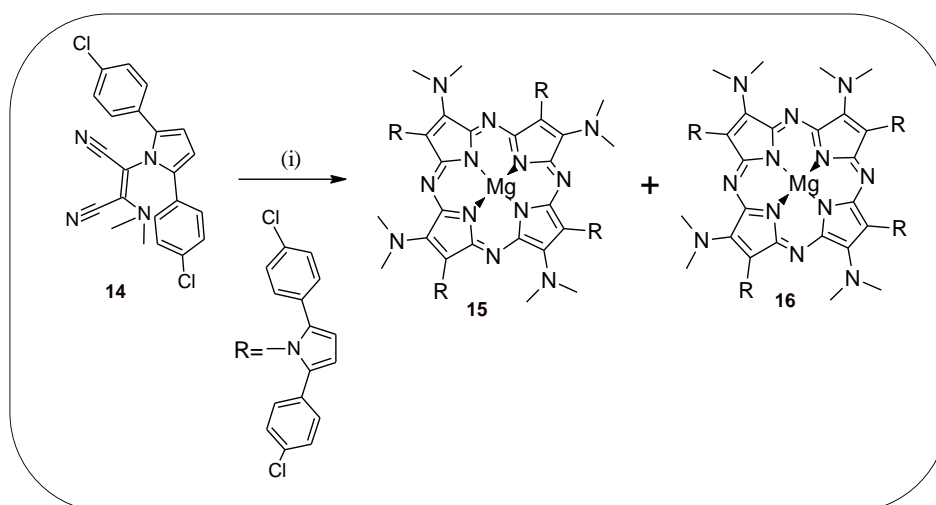
Pochodne maleonitrylowe **13** i **14** poddano krystalizacji z mieszaniny dichlorometanu i heksanu (1:1) w wyniku której otrzymano monokryształy, które zostały przekazane do badań rentgenostrukturalnych Pani dr Ewie Tykarskiej. Z analizy struktury krystalograficznej wywnioskowano, że podstawnik pirolilowy usytuowany jest w pozycji prostopadłej do wiązania podwójnego maleonitryla, a grupa aminowa

związku **13** i dimetyloaminowa związku **14** znajdują się w płaszczyźnie maleonitryla (**Rys. 29**).



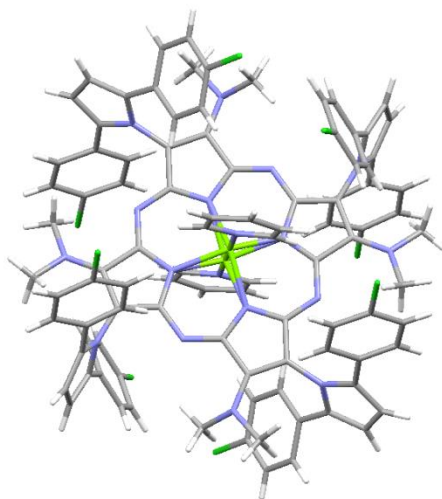
Rys. 29. Struktury krystalograficzne związków **13** i **14**.

Maleonitryl **14** został poddany reakcji makrocyclizacji Linstead'a. W tym celu otrzymano najpierw butanolan magnezu, a następnie dodano uprzednio uzyskaną pochodną maleonitrylową **14**, reakcję ogrzewano przez 24 godz. w temperaturze 120°C. W trakcie prac eksperymentalnych dokonano ciekawej obserwacji. Okazało się, że sposób podania maleonitryla **14** na wpływ na przebieg reakcji i produkt końcowy. Mianowicie, w przypadku dodania maleonitryla w N,N-dimetyloformamidzie powstawała w przewodzie porfirazyna **15**, która okazała się posiadać naprzemienny układ podstawników w części peryferyjnej. W przypadku gdy maleonitryl dadawano bezpośrednio do roztworu butanolanu magnezu w postaci stałej zaobserwowano, że jako produkt główny powstawała porfirazyna **16**, posiadająca przestawiony układ podstawników peryferyjnych (**Schemat 20**).

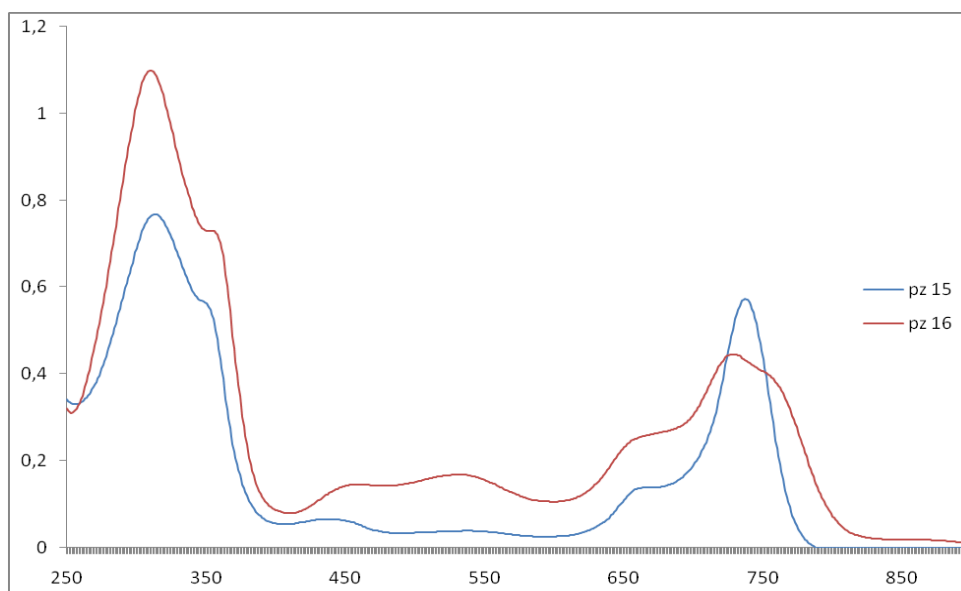


Schemat 20. Reakcja syntezy makrocycli **15** i **16**. Reagenty i warunki reakcji: (i) butanolan magnezu, n-butanol, temp. wrzenia, 24 godz.

Porfirazynę **15** poddano krystalizacji z układu metanol-dichlorometan-pirydyna (1:1:0,1), a uzyskany monokryształ został przekazany do badań rentgenostrukturalnych Pani dr Ewie Tykarskiej (**Rys. 30**). Analiza wykazała podobnie jak w przypadku makrocyklu **10** prostopadłe położenie peryferyjnych podstawników pirolilowych w stosunku do płaszczyzny cząsteczki porfirazyny.



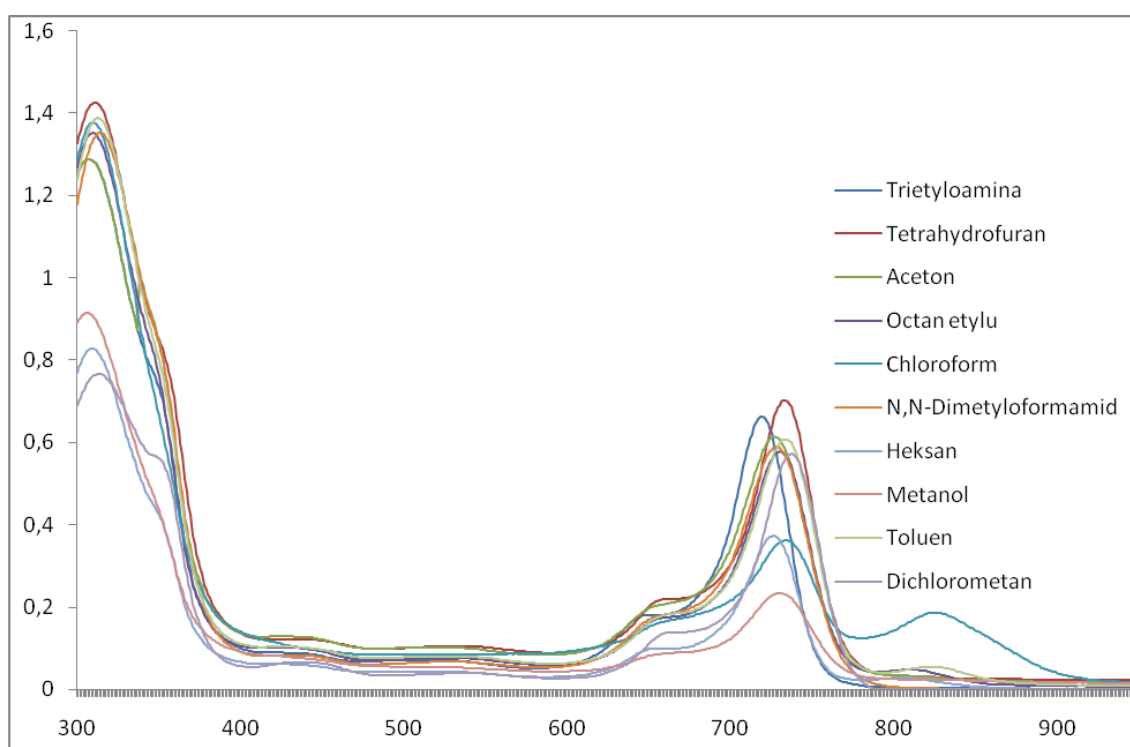
Rys. 30. Struktura krystalograficzna porfirazyny **15**.



Rys. 31. Przebieg widm UV-Vis dla porfirazyn **15** i **16**, wykonane w dichlorometanie; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

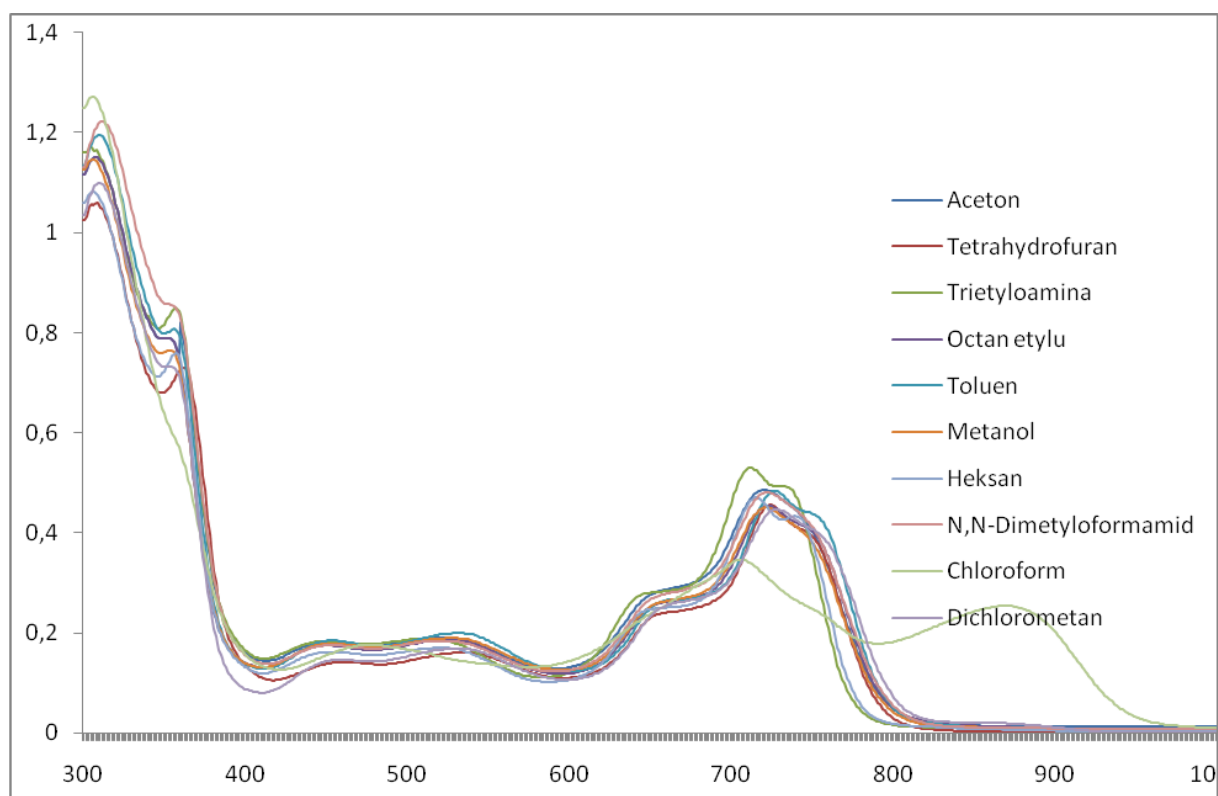
W widmie UV-Vis związku **16** (**Rys. 31**) można zaobserwować charakterystyczne dla porfirazyn niesymetrycznych poszerzone pasma Q. Przy 312 nm występuje intensywne pasmo Soreta, które wynika z nałożenia się na nie wysokoenergetycznego pasma absorpcji pochodzącego od podstawników 2,5-di(4'-chlorofenylo)pirolilowych.

Porfirazyny **15** i **16** zostały poddane badaniom solwatochromowym w 9 rozpuszczalnikach. Z analizy przebiegu widm UV-Vis (**Rys. 32**) wykonanych dla porfirazyny **15** wynika, że cechuje się ona słabą rozpuszczalnością w heksanie i metanolu. Analizując widmo UV-Vis związku **15** w chloroformie zaobserwowano dodatkowe pasmo przy 830 nm, co może świadczyć o tworzeniu się tzw. agregatów typu J [96].



Rys. 32. Przebieg widm UV-Vis porfirazyny **15** w różnych rozpuszczalnikach; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

W profilach widm UV-Vis porfirazyny **16** (**Rys. 33**) w rozpuszczalnikach, takich jak trietyloamina, toluen, octan etylu, heksan czy metanol zaobserwowano charakterystyczne dla niesymetrycznych makrocykli rozszczenie pasma Q. W przebiegu widma wykreślonego w chloroformie stwierdzono występowanie dodatkowego pasma przy 875 nm, co może świadczyć o tworzeniu się agregatów typu J [100].



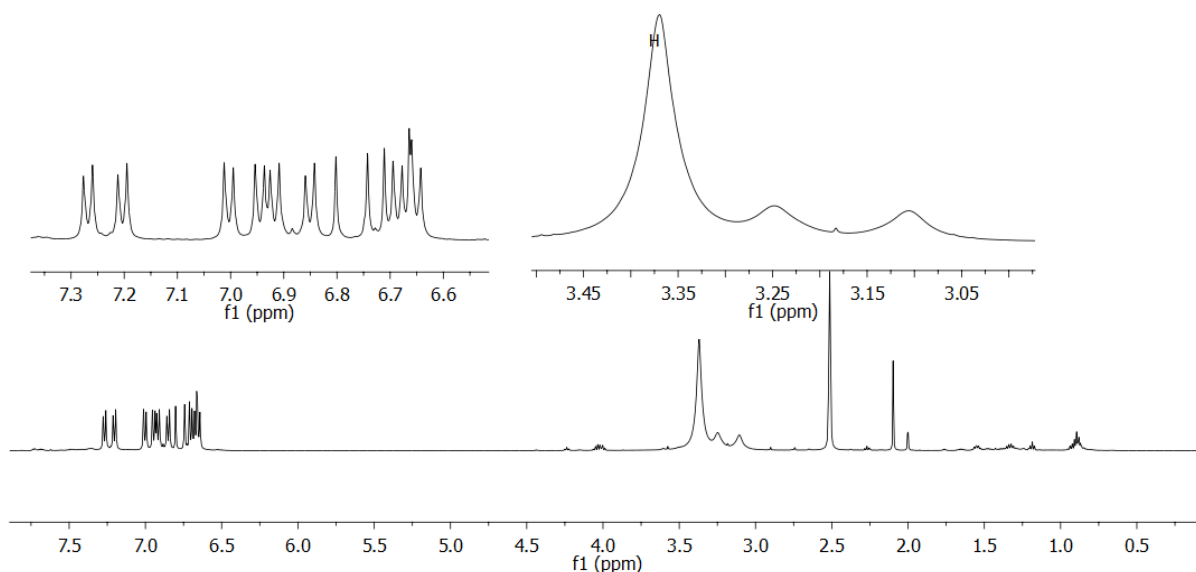
Rys. 33. Przebieg widm UV-Vis porfirazyny **16** w różnych rozpuszczalnikach; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

W celu pełnej charakterystyki porfirazyny **15** zostały wykonane widma ^1H ^{13}C HMBC i ^1H ^{13}C HSQC. Wykonane zostało także widmo ^1H ^{13}C HMBC dla związku **15**, co pozwoliło na określenie sprzężeń typu proton-węgiel występujących w cząsteczce porfirazyny. Sprzężenia te zamieszczono w **Tabeli 4**.

Tabela 4. Sprzężenia proton-węgiel obserwowane w widmach NMR związku **15**, h- ukryty

Grupa funkcyjna	Wartość przesunięcia sygnału protonu [ppm]	Wartości przesunięć sygnałów węgla sprzężonych poprzez podaną ilość wiązań [ppm]	
		I-wiązanie	II, III, IV-wiązania
-N(CH ₃) ₂	3,31	41,9	150,0 ^h
-CH= (pirol 4` 5`)	6,96	110,3	138,5
-C ₆ H ₅ (meta)	7,37	129,2	131,7; 132,8
-C ₆ H ₅ (orto)	6,73	127,0	131,7; 132,8

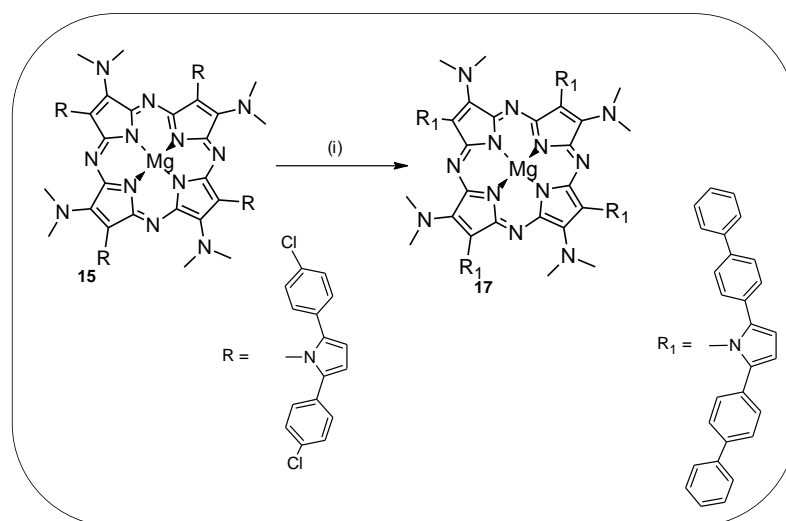
W celu potwierdzenia struktury porfirazyny **16** wykonano widmo ^1H NMR (**Rys. 34**)



Rys. 34. Widmo ^1H NMR porfirazyny **16** wykonane w $\text{DMSO } d_6$.

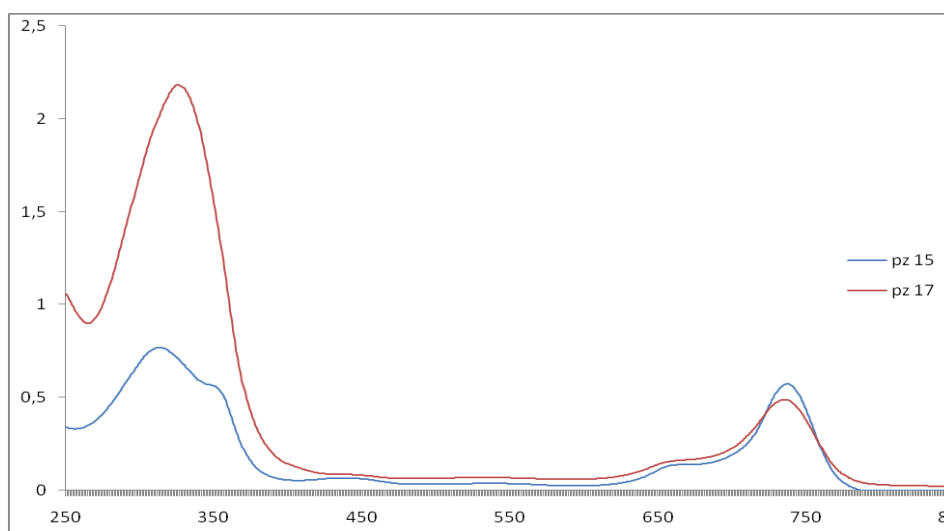
Na widmie ^1H NMR w rejonie części aromatycznej (6,6-7,3 ppm) stwierdzono występowanie sygnałów pochodzących od protonów grupy aromatycznej porfirazyny. Ich duża liczba świadczy o tym iż porfirazyna **16** posiada przestawiony układ podstawników w części peryferyjnej. Dodatkowym potwierdzeniem tego faktu jest rozszczepienie sygnałów pochodzących od grupy dimetyloaminowej, które można zaobserwować w zakresie 3,0-3,4 ppm. Niestety w tym zakresie znajduje się również sygnał pochodzący od wody znajdującej się w $\text{DMSO-}d_6$.

Celem otrzymania pierwotnie zaplanowanej porfirazyny posiadającej ugrupowania 2,5-di(bifenylilo)-1*H*-pirolilowe, markocykl **15** poddano reakcji Suzuki-Miyaura (**Schemat 21**). Reakcję tą przeprowadzono w czterech różnych warunkach różniących się między sobą użytym rozpuszczalnikiem, zasadą, ligandem fosfinowym i katalizatorem palladowym. W pierwszym podejściu użyto octan palladu, fosforan(V) potasu oraz kwas fenyloboronowy w środowisku morfoliny [102, 103]. Do drugiej próby użyto octan palladu, węglan cezu, 1,3-bis(difenylofosfino)propan oraz kwas fenyloboronowy w środowisku morfoliny [104]. W trzeciej metodzie użyto octan palladu, węglan cezu oraz pallad(0) tetrakis(trifenylofosfinę) w środowisku toluenu [105]. Najbardziej wydajnym układem, który przyniósł oczekiwany efekt, okazała się czwarta kombinacja, w której użyto dioksan jako rozpuszczalnik, węglan cezu jako zasadę, tricykloheksylofosfinę, oraz dipallad(0) tri(dibenzylidenoaceton) jako katalizator [106].



Schemat 21. Reakcja otrzymywania porfirazyny **17**. Reagenty i warunki reakcji (i): tri(dibenzyldienuoaceto)dipallad(0), tricykloheksylofosfina, kwas fenylboronowy, węglan cezu, dioksan, temp. wrzenia, 24 godz.

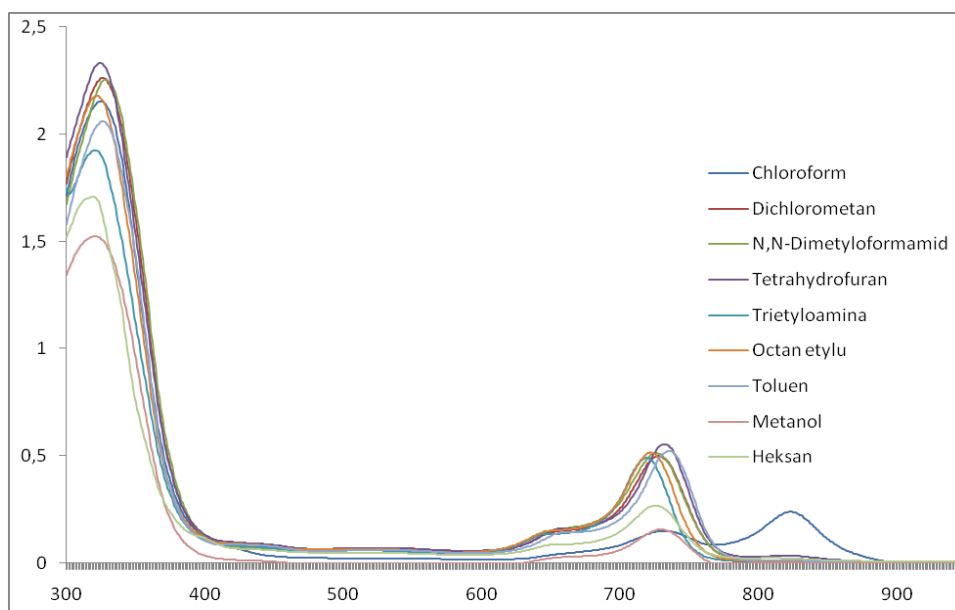
Związek **17** scharakteryzowano za pomocą spektroskopii UV-Vis (**Rys. 35**). Wysoka wartość absorbancji w pasmie Soreta, w porównaniu z porfirazyną **15**, może świadczyć o obecności bardziej rozbudowanych układów aromatycznych, potwierdzając pośrednio utworzenie układu bifenyliowego.



Rys. 35. Przebieg widm UV-Vis dla porfirazyn **15** i **17**; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

Analizując przebieg widma UV-Vis (**Rys. 36**) porfirazyny **17** w różnych rozpuszczalnikach zaobserwowano, podobnie jak dla związku **15** i **16** słabą rozpuszczalność badanego makrocykla w metanolu i w heksanie. W widmie UV-Vis

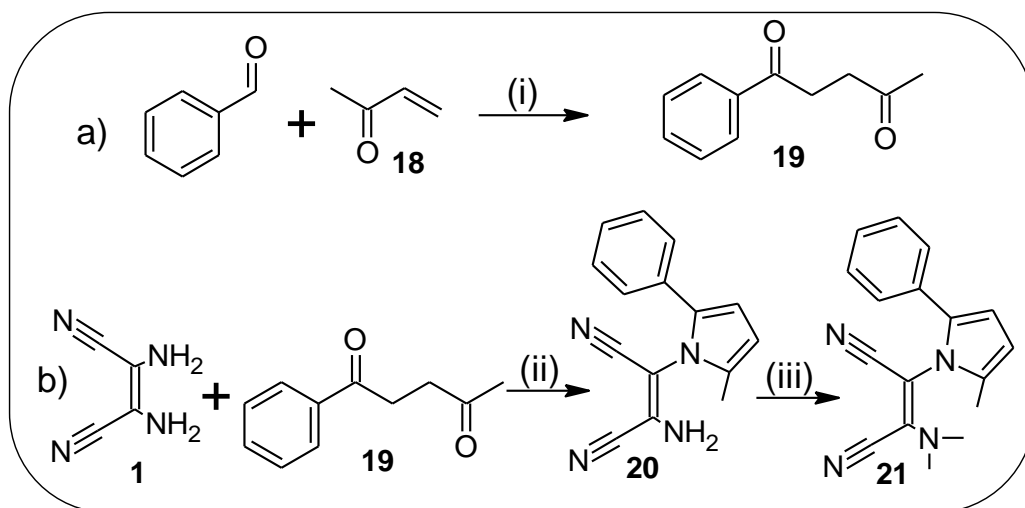
wykonanym w chloroformie stwierdzono występowanie dodatkowego pasma przy 875 nm, które może świadczyć o agregacji związku w tym rozpuszczalniku [100].



Rys. 36. Przebieg widm UV-Vis porfirazyny **17** w różnych rozpuszczalnikach organicznych; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

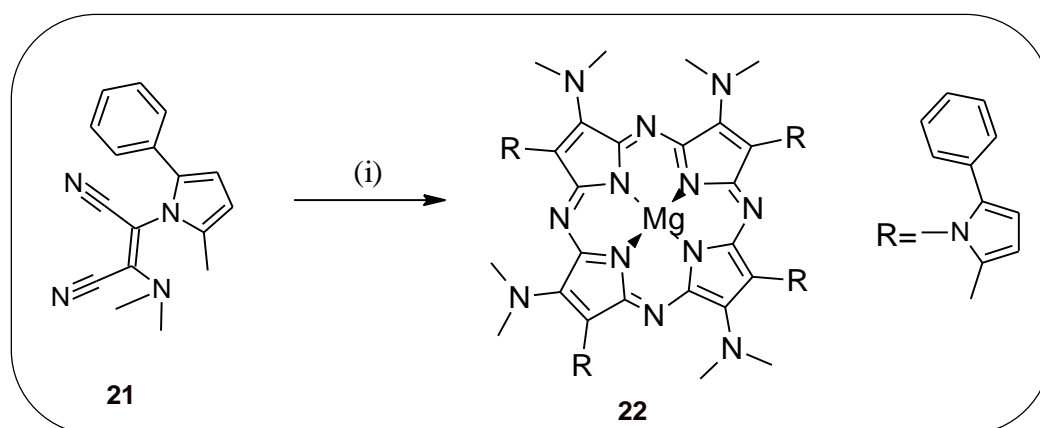
IV.1.4. Synteza porfirazyny magnezowej funkcjonalizowanej peryferyjnie grupami 2-fenyl-5-metylopirolilowymi i dimetyloaminowymi

Pierwszym etapem tej syntezy było otrzymanie odpowiedniego diketonu w reakcji Mannicha. W tym celu użyto aldehyd benzoesowy i keton metylo-winylowy (**18**) w dioksanie z katalityczną ilością 3-benzyl-5-(2-hydroksyetylo)-4-metylo-1,3-tiazolu. W wyniku tej reakcji otrzymano 1-fenylpentano-1,4-dion (**19**) (**Schemat 22a**). Otrzymaną pochodną 1,4-butanodionu użyto w reakcji Paala-Knorra, z diaminomaleonitrylem we wrzącym metanolu z użyciem katalitycznej ilości kwasu trifluorooctowego [63]. Po zakończeniu reakcji i odparowaniu mieszaniny poreakcyjnej do suchej pozostałości, na drodze chromatografii kolumnowej wydzielono **20** w postaci żółtego osadu. Wolną grupę aminową związku **20** poddano reakcji alkilacji, przy użyciu siarczanu dimetylu w tetrahydrofuranie w obecności 60% zawiesiny NaH w oleju mineralnym, w wyniku czego otrzymano niesymetryczny maleonitryl **21** posiadający zmetylowaną wolną grupę aminową (**Schemat 22b**).



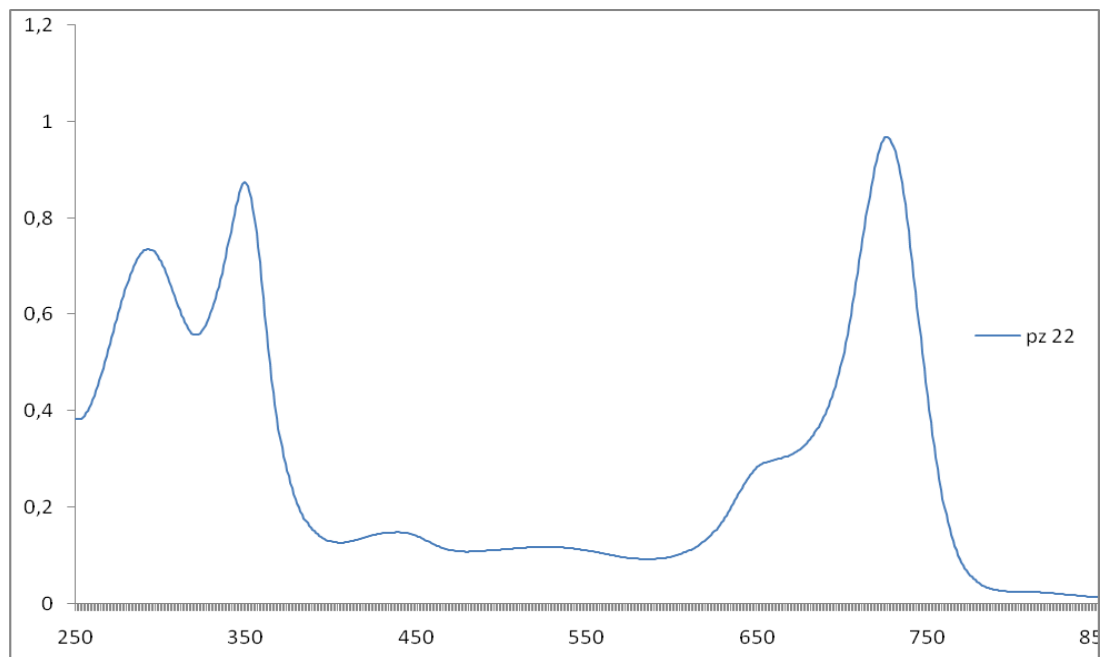
Schemat 22. Reagenty i warunki reakcji: (i) 3-benzyl-5-(2-hydroksyetylo)-4-metylo-1,3-tiazol, trietyloamina, dioksan, 80°C, 24 godz.; (ii) metanol, kwas trifluorooctowy, temp. wrzenia, 24 godz.; (iii) tetrahydrofuran, 60% NaH (zawiesina w oleju mineralnym), siarczan dimetylu, temp. -18 do -10°C, 24 godz.

Tożsamość związków **20** i **21** potwierdzono za pomocą spektroskopii UV-Vis, spektrometrii MS ES i NMR. Czystość potwierdzono za pomocą temperatur topnienia. Otrzymany maleonitryl **21** użyto w reakcji makrocyklizacji Linstead'a (**Schemat 23**). W tym celu przygotowano butanolan magnezu w butanolu, do którego dodano maleonitryl rozpuszczony w N,N-dimetyloformamidzie. Po 24 godzinach prowadzenia reakcji w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, reakcję przerwano, następnie przesączono mieszaniną poreakcyjną przez ziemię okrzemkową, a przesącz odparowano do sucha. Porfirazynę **22** oczyszczono na drodze chromatografii kolumnowej i scharakteryzowano za pomocą temp. topnienia, R_f , MALDI TOF, widm ^1H NMR, ^{13}C NMR, UV-Vis.



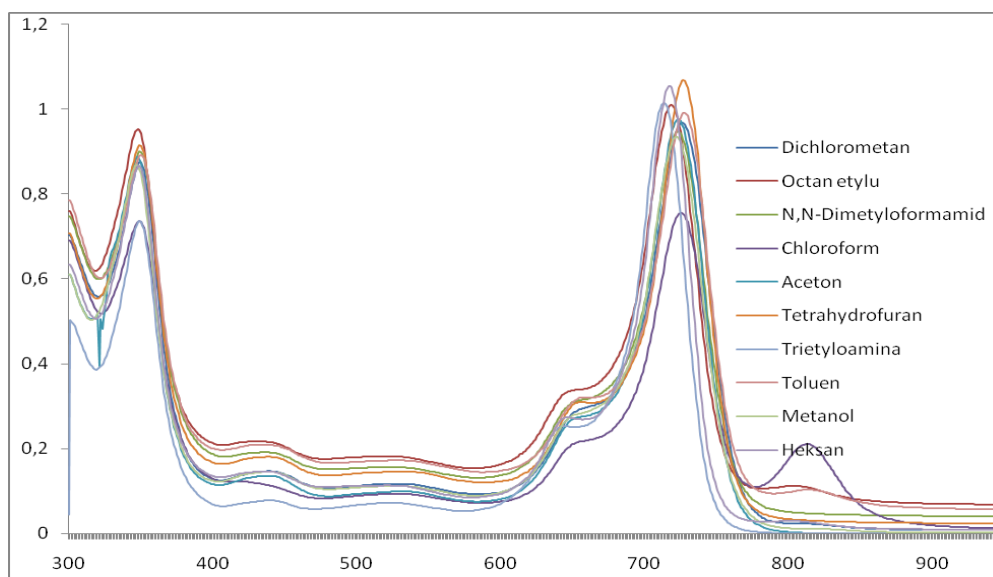
Schemat 23. Reagenty i warunki reakcji: (i) butanolan magnezu, n-butanol, temp. wrzenia, 24 godz.

Otrzymany makrocykl scharakteryzowano za pomocą spektroskopii UV-Vis (**Rys. 37**). Maksimum absorpcji tego związku mieści się w zakresie tzw. okna terapeutycznego, między 600 a 800 nm i występuje przy 723 nm, co może świadczyć, że związek ten będzie mógł być stosowany w terapii fotodynamicznej jako fotosensybilizator.



Rys. 37. Przebieg widma UV-Vis związku **22** wykonane w dichlorometanie; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

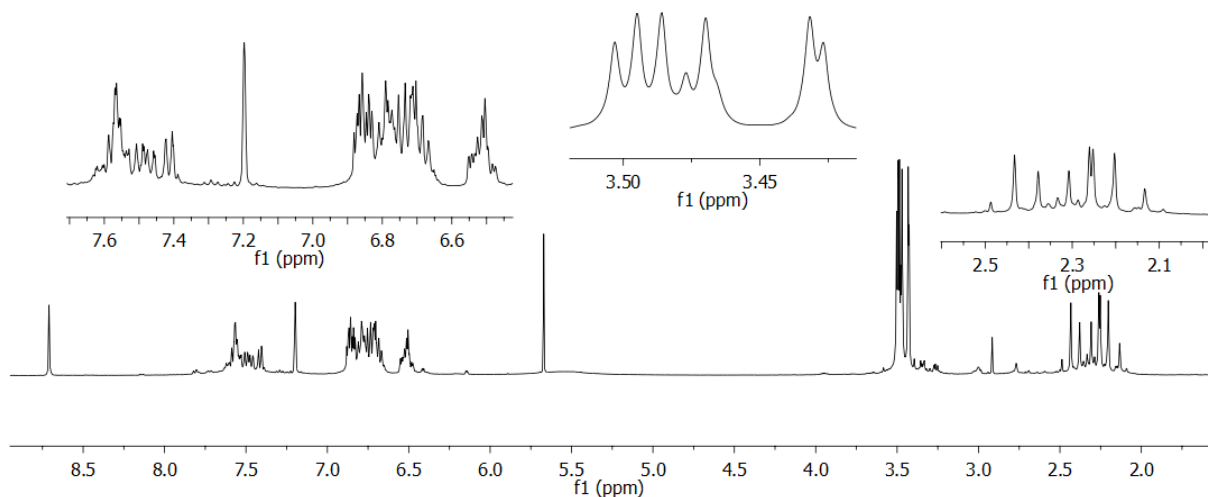
Porfirazyna **22** została poddana badaniom solwatochromowym za pomocą spektroskopii UV-Vis w rozpuszczalnikach organicznych. Wyniki przedstawiono na **Rys 38**.



Rys. 38. Przebieg widm UV-Vis związku **22** w różnych rozpuszczalnikach organicznych; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

W rozpuszczalnikach takich jak chloroform, octan etylu i toluen pojawia się nowe pasmo powyżej 800 nm, co może świadczyć o agregacji typu J [100].

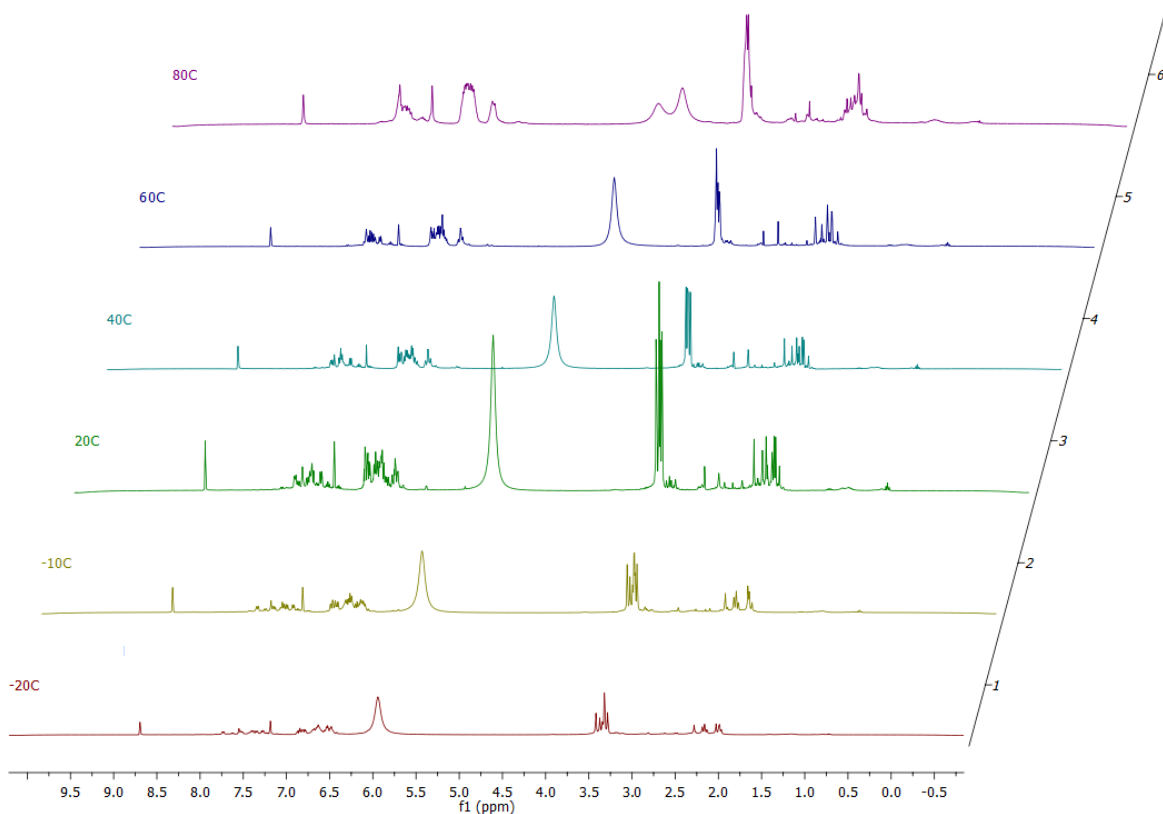
Szczegółowa analiza widma ^1H NMR wykazała, że związek **22** posiada przestawiony układ podstawników 2-fenyl-5-metylopirolilowego i dimetyloaminowego (**Rys 39**).



Rys 39. Widmo ^1H NMR porfirazyny **22** wykonane w pirydynie- d_5 . We wstawkach pokazano obszar aromatyczny (lewa) grupy dimetyloaminowe (środek) i grupy metylowe w pozycji 5 pirolu (prawa).

Wartość diagnostyczną dla określenia symetrii otrzymanej porfirazyny posiadają sygnały grup metylowych w pozycji 5 pirolu oraz grup dimetyloaminowych. O przestawionym układzie podstawników świadczą sygnały w zakresach od 2,1-2,5 ppm. Sygnały te odpowiadają grupie metylowej w pozycji 5 pirolu i 3,4-3,6 ppm, odpowiadające grupom dimetyloaminowym. Są to bardzo charakterystyczne i diagnostyczne sygnały, a ich rozsunięcie świadczy o przestawionym układzie podstawników.

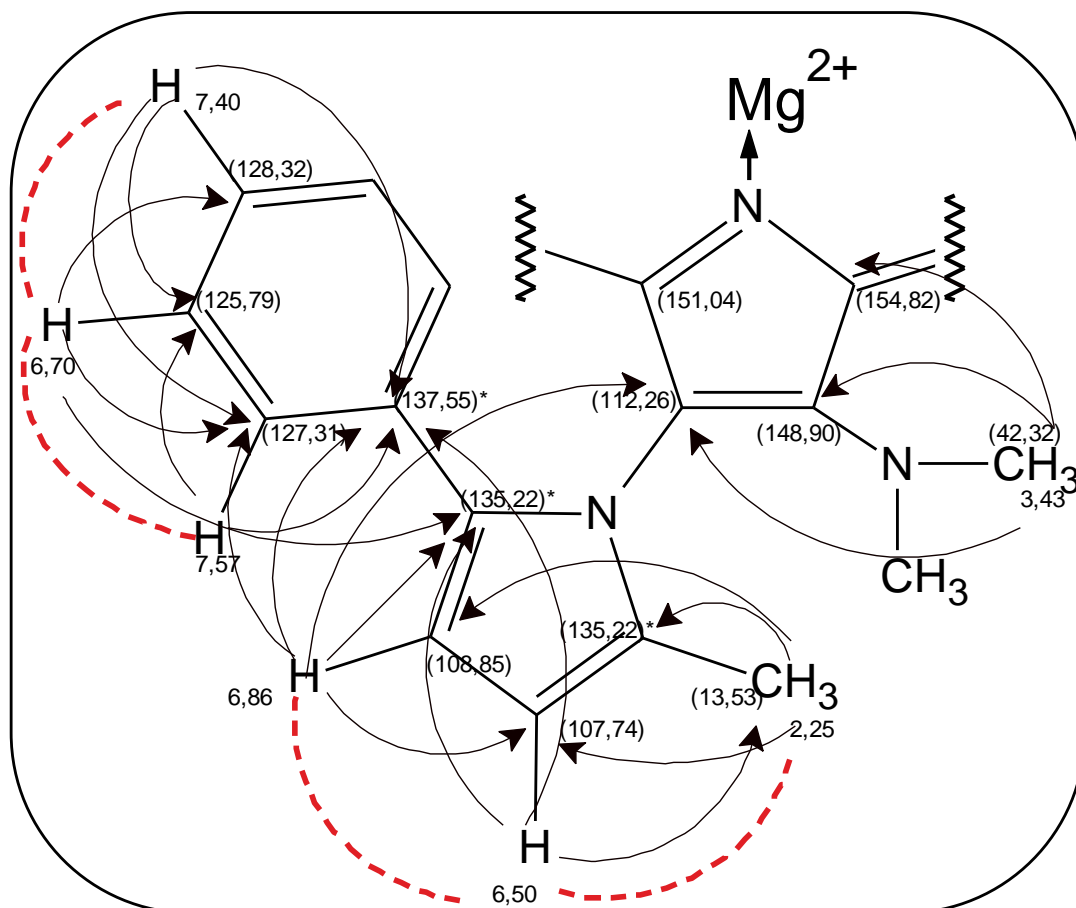
W celu przeprowadzenia dokładniejszych studiów porfirazyny **22** zbadano za pomocą widm temperaturowych ^1H NMR w zakresie temperatur od -20°C do 80°C (**Rys. 40**).



Rys. 40. Widma ^1H MNR temperaturowe dla porfirazyny **22**.

Wraz z podwyższaniem temperatury zaobserwowano, że sygnały w zakresach 2,0-2,5 ppm, 3,4-3,6 ppm i 6,5-8 ppm stają się bardziej zwarte, co świadczy o tym, że rotacja podstawników wzrasta. Podstawniki metylowe w grupie dimetyloamionowej i w pozycji 5-pirolilu nie są równocenne magnetycznie [79].

Dla porfirazyny **22** zostały także wykonane widma NMR dwuwymiarowe takie jak $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY, $^1\text{H}^{13}\text{C}$ HMBC i $^1\text{H}^{13}\text{C}$ HSQC. Posłużyły one do przypisania wartości przesunięć dla atomów wodoru i węgla. Na **Rys. 41** przedstawiono fragment cząsteczki porfirazyny z zaznaczonymi wartościami przesunięć ppm i obserwowanymi sprzężeniami. W **Tabeli 5** wypisano sprzężenia protonów z atomami węgla jednego fragmentu porfirazyny.



Rys. 41. Fragment cząsteczki porfirazyny **22** z zaznaczonymi sprzężeniami. W nawiasach podano przesunięcia atomów węgla w ppm.

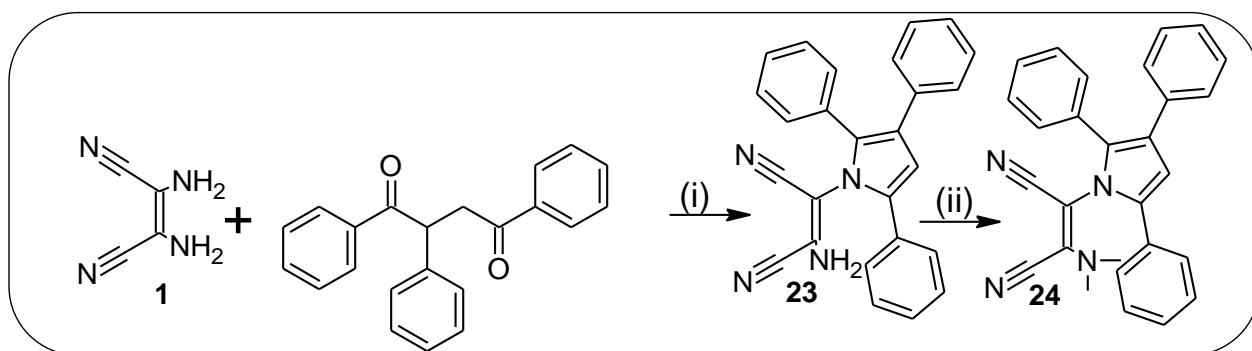
Tabela 5. Sprzężenia proton-węgiel.

Grupa funkcyjna	Wartość przesunięcia sygnału protonu [ppm]	Wartości przesunięć sygnałów węgla sprzężonych poprzez podaną ilość wiązań [ppm]	
		I-wiązanie	II, III, IV-wiązania
-N(CH ₃)	3,43	42,3	112,3; 148,9; 154,8
-CH ₃ (pirol 5`)	2,25	13,5	107,7; 108,85; 135,2
-CH= (pirol 3`)	6,86	108,85	107,7; 112,3; 135,2; 127,3; 137,55
-CH= (pirol 4`)	6,50	107,7	13,5; 135,2; 137,55
-C ₆ H ₅ (meta)	6,70	125,8	128,3; 135,2
-C ₆ H ₅ (para)	7,40	128,3	125,8; 127,3; 137,55
-C ₆ H ₅ (orto)	7,57	127,3	125,8; 135,2; 137,55

IV-rzędowe atomy węgla: 135,22; 135,22; 137,55; 112,26; 148,90; 151,04; 154,82.

IV.1.5. Synteza porfirazyny magnezowej funkcjonalizowanej peryferyjnie grupami 2,3,5-trifenylopiroliowymi i dimetyloaminowymi

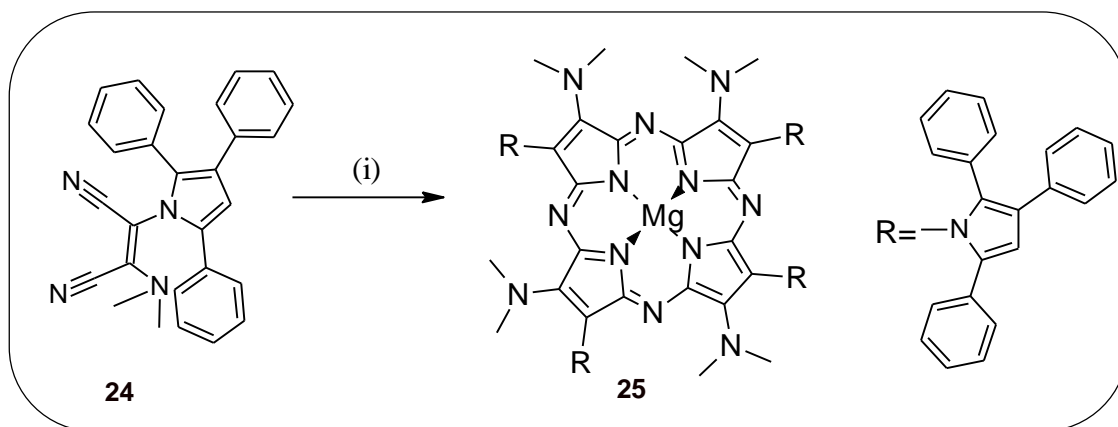
Pierwszym etapem syntezy była reakcja typu Paala-Knorra, komercyjnie dostępnego 1,2,4-trifenylobutano-1,4-dionu z diaminomaleonitrylem. Reakcję tą prowadzono przez 24 godziny we wrzącym metanolu z dodatkiem katalitycznej ilości kwasu trifluorooctowego. Po rozdziale na kolumnie chromatograficznej otrzymano maleonitryl **23** funkcjonalizowany ugrupowaniem 2,3,5-trifenylopiroliowym oraz grupą aminową [63]. Maleonitryl **23** został poddany reakcji alkiłowania siarczanem dimetylu w tetrahydrofuranie, w obecności wodoru sodu, co pozwoliło na uzyskanie 2-[(2,3,5-trifenyl)-1*H*-pirolilo]-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-butenu **24** (Schemat 24).



Schemat 24. Reagenty i warunki reakcji: (i) metanol, kwas trifluorooctowy, temp. wrzenia, 24 godz; (ii) tetrahydrofuran, 60% NaH (zawiesina w oleju mineralnym), siarczan dimetylu, temp. -18 do -10°C, 24 godz.

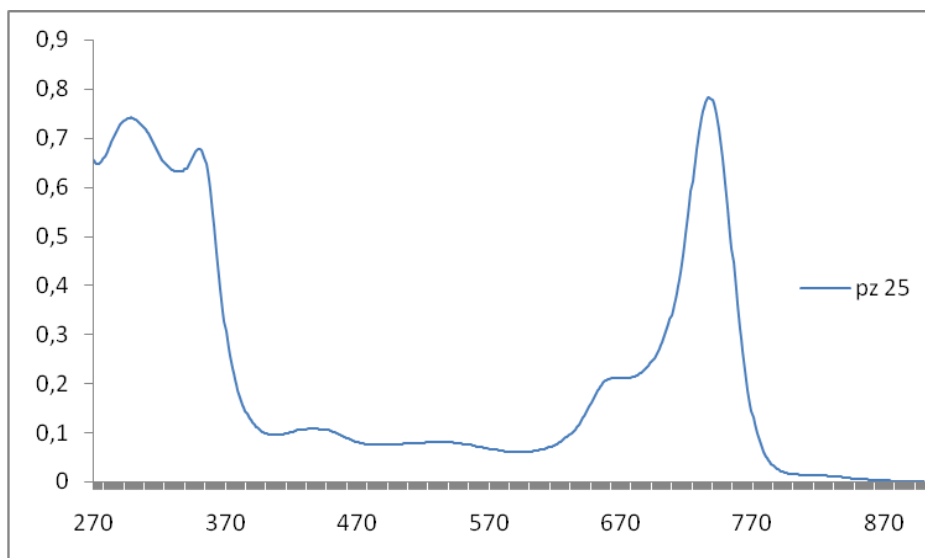
Tożsamość związków **23** i **24** potwierdzono za pomocą pomiaru spektroskopii UV-Vis, spektrometrii MS ES i NMR. Czystość potwierdzono za pomocą analizy elementarnej i temperatury topnienia.

Otrzymany maleonitryl **24** został użyty w reakcji makrocyklizacji Linstead (Schemat 25). W tym celu przygotowano butanolan magnezu w butanolu, a następnie dodano pochodną maleonitrylu rozpuszczoną w DMF. Po 24 godzinach prowadzenia reakcji w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika wyizolowano porfirazynę **25**. Makrocykl **25** został scharakteryzowany za pomocą temp. topnienia, R_f , MALDI TOF, widm ^1H NMR, ^{13}C NMR, UV-Vis.



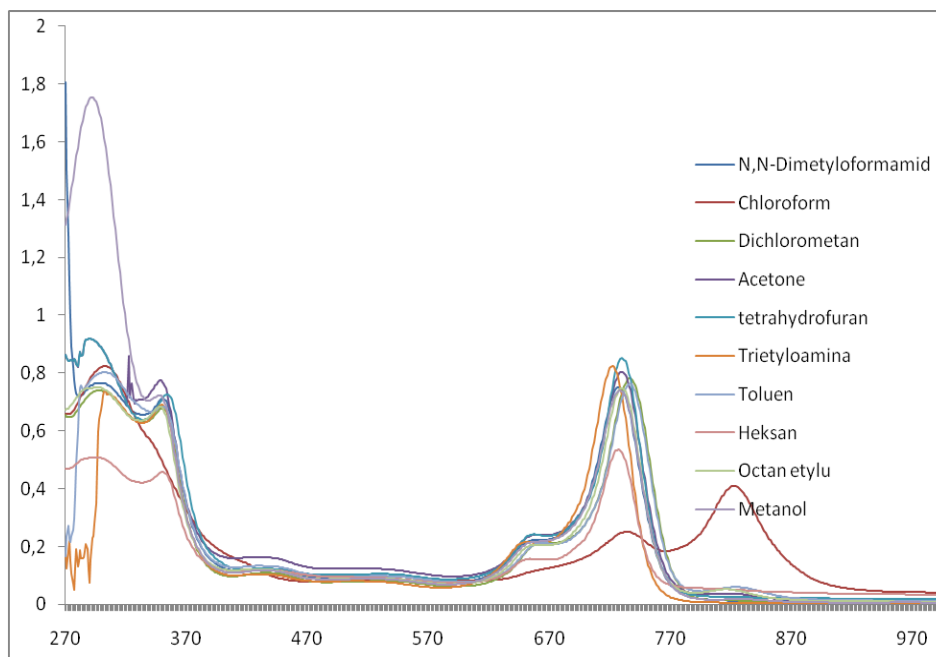
Schemat 25. Reagenty i warunki reakcji: (i) butanolan magnezu, n-butanol, temp. wrzenia, 24 godz.

Dla nowo powstałej porfirazyny **25** wykreślono widmo UV-Vis (**Rys. 42**). Maksimum absorpcji tego związku mieści się z zakresie tzw. okna terapeutycznego, między 600 a 800 nm i wynosi 734 nm, co może świadczyć, że związek ten będzie mógł być stosowany w terapii fotodynamicznej jako fotosensybilizator. Ponadto w paśmie Soreta zaobserwowano sygnał przy 345 nm.



Rys. 42. Przebieg widma UV-Vis porfirazyny **25** wykonane w CH_2Cl_2 ; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbanca.

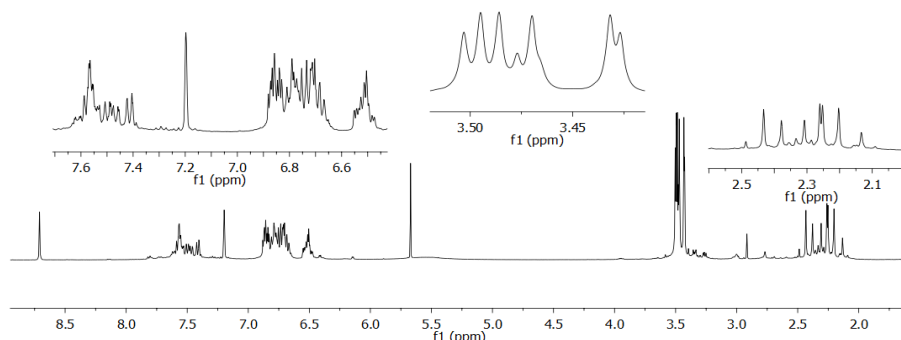
Również dla tej porfirazyny wykonano widma UV-Vis w różnych rozpuszczalnikach organicznych (**Rys 43**).



Rys. 43. Przebieg widm UV-Vis związku **25** w różnych rozpuszczalnikach; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

Z przebiegu widm wynika, że związek może wykazywać znaczną agregację typu J w chloroformie o czym może świadczyć wysoka wartość absorbancji przy 815 nm [100]. Niska wartość absorbancji obserwowana w heksanie spowodowana jest słabą rozpuszczalnością porfirazyny **25** w tym rozpuszczalniku. Natomiast w metanolu stwierdzono przesunięcie i nałożenie się pasm pochodzących od ugrupowań fenylowych z pasmem Soreta, co prowadzi do wyraźnego wzmocnienia tego pasma.

Celem zbadania, czy otrzymana porfirazyna **25** posiada naprzemienny układ podstawników wykonano analizę ^1H NMR (**Rys. 44**).



Rys. 44. Widmo ^1H NMR porfirazyny **25** wykonane w pirydynie.

Stwierdzono, że podobnie jak w przypadku porfirazyny **22**, otrzymano związek który posiada nienaprzemienny układ podstawników w części peryferyjnej. Świadczą o tym sygnały w zakresie 3,28-3,45 ppm, które pochodzą od grupy dimetyloaminowej.

IV.1.6. Badania przeciwbakteryjne serii otrzymanych porfirazyn posiadających w części peryferyjnej ugrupowania pirolilowe i dimetyloaminowe

Badania te zostały wykonane we współpracy z Panią dr Jolantą Długaszewską z Katedry i Zakładu Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, których doktorant był czynnym współwykonawcą.

Otrzymane porfirazyny były nierozpuszczalne w wodzie, w związku z czym postanowiono wbudować je w liposomy celem zwiększenia rozpuszczalności w wodzie. W tym celu wykorzystano metodę hydratacji cienkiego filmu lipidowego i przygotowano dodatkowo naładowane liposomy, posiadające inkorporowane porfirazyny, palmitoilo-oleilo-fosfatydylocholinę (POPC) oraz chlorek *N*-(1-(2,3-dioleiloksy)propylo-*N,N,N*-trimetyloaminowy (DOTAP). Otrzymane liposomy zostały ekstrudowane przez błonę o wielkości porów 100 nm [110].

Tak otrzymane liposomy zostały podane do zawiesiny bakterii *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*. Mieszaninę związku i drobnoustrojów inkubowano w ciemności, a następnie naświetlano lampą wyposażoną w wysokosprawne diody emitujące światło w o długości fali 735 nm, przez 10 minut. Roztwór ten został posiany na podłożach agarowych i był inkubowany przez 24 godziny w temperaturze 36°C. Po upływie tego czasu kolonie, które wyrosły na płytkach zostały zliczone i obliczono logarytm redukcji. Wyniki pomiarów zamieszczono w **Tabeli 6**.

Tabela 6. Wyniki badań mikrobiologicznych porfirazyn **4, 7, 15, 22, 25** na szczepach bakteryjnych *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*.

Drobnoustrój: <i>Staphylococcus aureus</i> Liczba izolowanych drobnoustrojów						
Warunki badania	Preparat / Liczba CFU/ml					Kontrola negatywna
	Pz 4	Pz 7	Pz 25	Pz 22	Pz 15	
Przed naświetlaniem	$9,8 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$8,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$
Po naświetlaniu	$1,8 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^7$
Redukcja w stosunku do kontroli wzrostu Drobnoustrój: <i>Staphylococcus aureus</i>						
Warunki badania	Preparat / Liczba CFU/ml					

	Pz 4	Pz 7	Pz 25	Pz 22	Pz 15	Kontrola negatywna
Przed naświetlaniem	0,385064	0,338819	0,234083	0,466397	0,338819	
Po naświetlaniu	1,124939	1,266268	1,338819	1,124939	1,20412	

Drobnoustroj: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Liczba izolowanych drobnoustrojów						
Warunki badania	Preparat / Liczba CFU/ml					Kontrola negatywna
	Pz 4	Pz 7	Pz 25	Pz 22	Pz 15	
Przed naświetlaniem	$3,9 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$	$3,3 \times 10^6$	$9,0 \times 10^6$
Po naświetlaniu	$3,2 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$	$1,4 \times 10^7$
Redukcja w stosunku do kontroli wzrostu Drobnoustroj: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>						
Warunki badania	Preparat / Liczba CFU/ml					Kontrola negatywna
	Pz 4	Pz 7	Pz 25	Pz 22	Pz 15	
Przed naświetlaniem	0,363178	0,273001	0,273001	0,352183	0,435729	
Po naświetlaniu	1,640978	1,640978	1,589826	1,748188	1,68373	

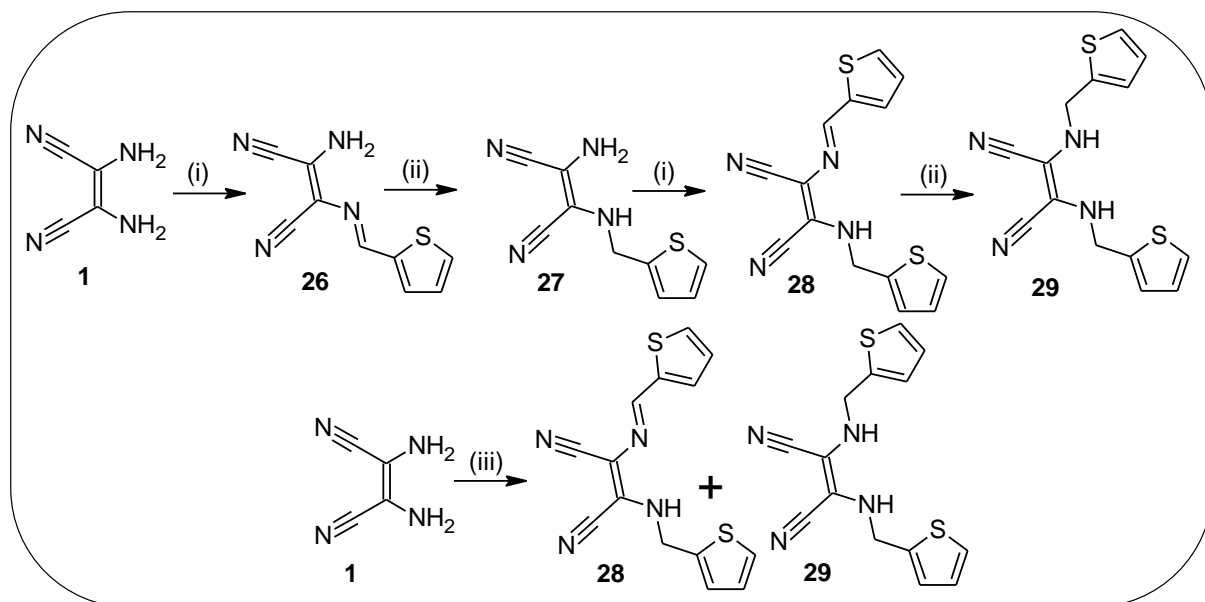
Rezultaty tych badań można sformułować następująco:

1. Samo naświetlanie nie wykazało działania przeciwdrobnoustrojowego.
2. Związki w fazie ciemnej – posiadają bardzo niewielkie działanie przeciwdrobnoustrojowe – redukcja *S. aureus* o 0,3 do 0,4 log; redukcja *P. aeruginosa* o 0,2 do 0,47 log.
3. Związki po naświetleniu – wykazują niewielkie działanie przeciwdrobnoustrojowe, redukcja o ponad 1 log.
4. Nie zauważono znaczących różnic między związkami w przypadku *P. aeruginosa*, w stosunku do *S. aureus*. Najbardziej aktywnym związek okazała się porfirazyna **22** posiadająca w swoim peryferium układ 2-fenyl-5-metylopirolilowy.

IV.2. Synteza, charakterystyka i właściwości sensoryczne porfirazyny posiadającej w peryferium ugrupowanie metylo(2-tienylometylo)aminowe

Maleonitryl (**29**) został zsyntetyzowany dwoma sposobami (**Schemat 26**).

Pierwsze podejście syntetyczne polegało na alkirowaniu diaminomaleonitryla **1**, przy pomocy aldehydu 2-tiofenowego, w metanolu z użyciem katalitycznej ilości kwasu trifluorooctowego. Pochodną maleonitryla (**26**) została następnie użyta w reakcji redukcji przy pomocy borowodorku sodu w metanolu, co doprowadziło do otrzymania maleonitryla (**27**). Następnie **27** poddano kolejnemu alkirowaniu w wyniku czego otrzymano (**28**). Maleonitryl **29** został ostatecznie otrzymany na drodze reakcji redukcji związku **28** [68].

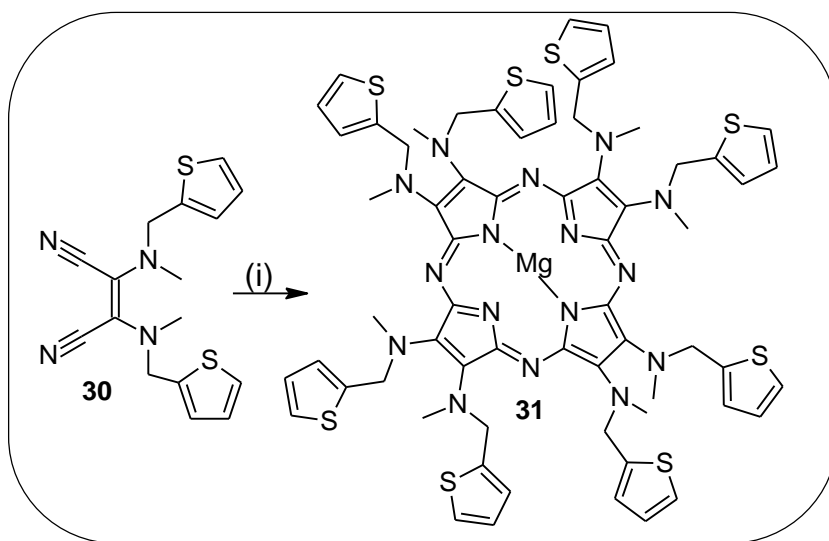


Schemat 26. Dwie drogi syntetyczne prowadzące do otrzymania dinitryla **28**. Reagenty i warunki reakcji: (i) metanol, aldehyd 2-tiofenowy, kwas trifluorooctowy, temp. pokojowa, 5 min; (ii) metanol, borowodorek sodu, temperatura pokojowa, 24 godz.; (iii) metanol, kwas octowy, kompleks 5-etylo-2-metylopirydyno boranowy (PEMB).

Drugie podejście syntetyczne polegało na jednoetapowej reakcji diaminomaleonitryla **1** z aldehydem 2-tiofenowym w lodowatym kwasie octowym w obecności kompleksu boronowego z 5-etylo-2-metylopirydyną. W reakcji tej powstała pożądana pochodna maleonitryla **29** [107], która została użyta w reakcji alkirowania przy pomocy siarczanu dimetylu w tetrahydrofuranie, w obecności 60% zawiesiny wodoru sodu w

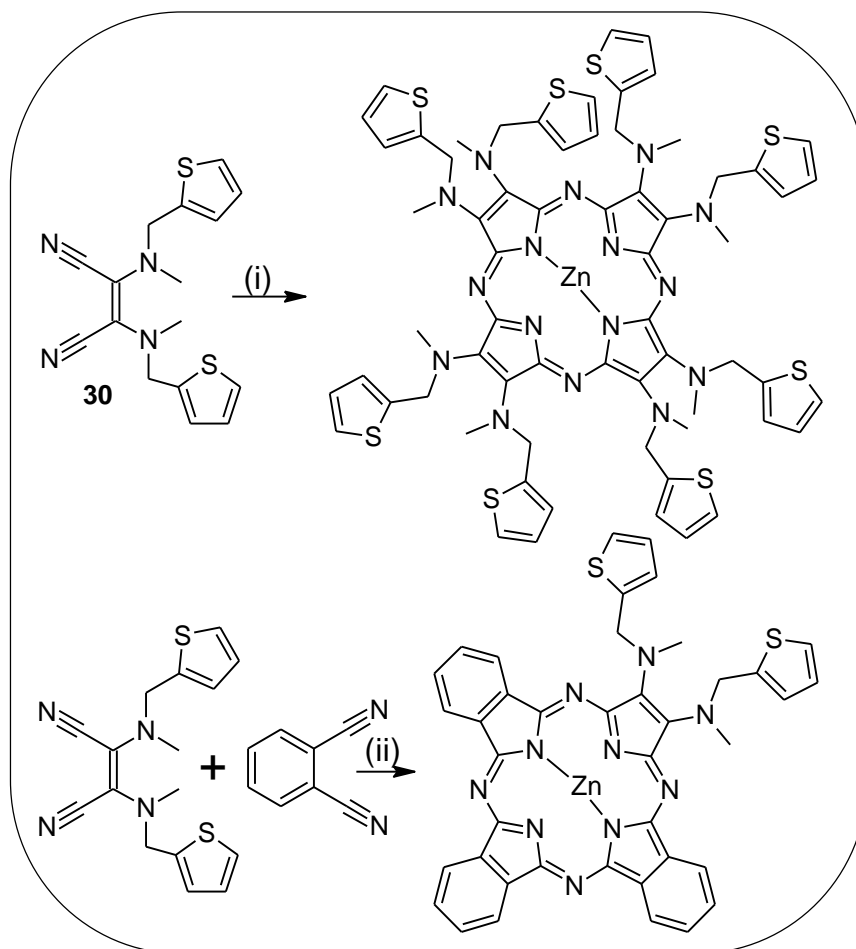
temperaturze - 15°C. W reakcji tej otrzymano ostateczny symetryczny maleonitryl (**30**) posiadający ugrupowania metylo(2-tienylometylo)aminowe. Związki **26** do **30** zostały scharakteryzowane za pomocą temperatur topnienia i spektrometrii MS ES.

Maleonitryl **30** został użyty w reakcji makrocyklizacji metodą Linstead'a w butanolu z butanolanem magnezu jako zasady (**Schemat 27**). Porfirazynę **31** oczyszczono na kolumnie chromatograficznej. Uzyskany produkt został scharakteryzowany za pomocą temp. topnienia, R_f , MALDI TOF, widm ^1H NMR, UV-Vis.



Schemat 27. Reagenty i warunki reakcji: (i) butanolan magnezu, n-butanol, temp. wrzenia, 24 godz.

Maleonitryl **30** został użyty także w reakcji makrocyklizacji w pentanolu, z użyciem octanu cynki i 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU). W wyniku tej reakcji otrzymano porfirazynę cynkową, która okazała się niestabilna fotodynamicznie i ulegała rozkładowi podczas chromatografii kolumnowej (**Schemat 28**). Następnie przeprowadzono reakcję otrzymywania porfirazyny niesymetrycznej. Reakcja to przebiegła w *n*-pentanolu, a jako drugiego dinitryla użyto 1,2-dicyjanobenzen, jako zasady w tej reakcji użyto 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU) (**Schemat 28**). Otrzymana porfirazyna typu A₃B również okazała się niestabilna i również ulegała rozkładowi na kolumnie chromatograficznej. W związku z nietrwałością tych porfirazyn odstępiono od dalszych badań.

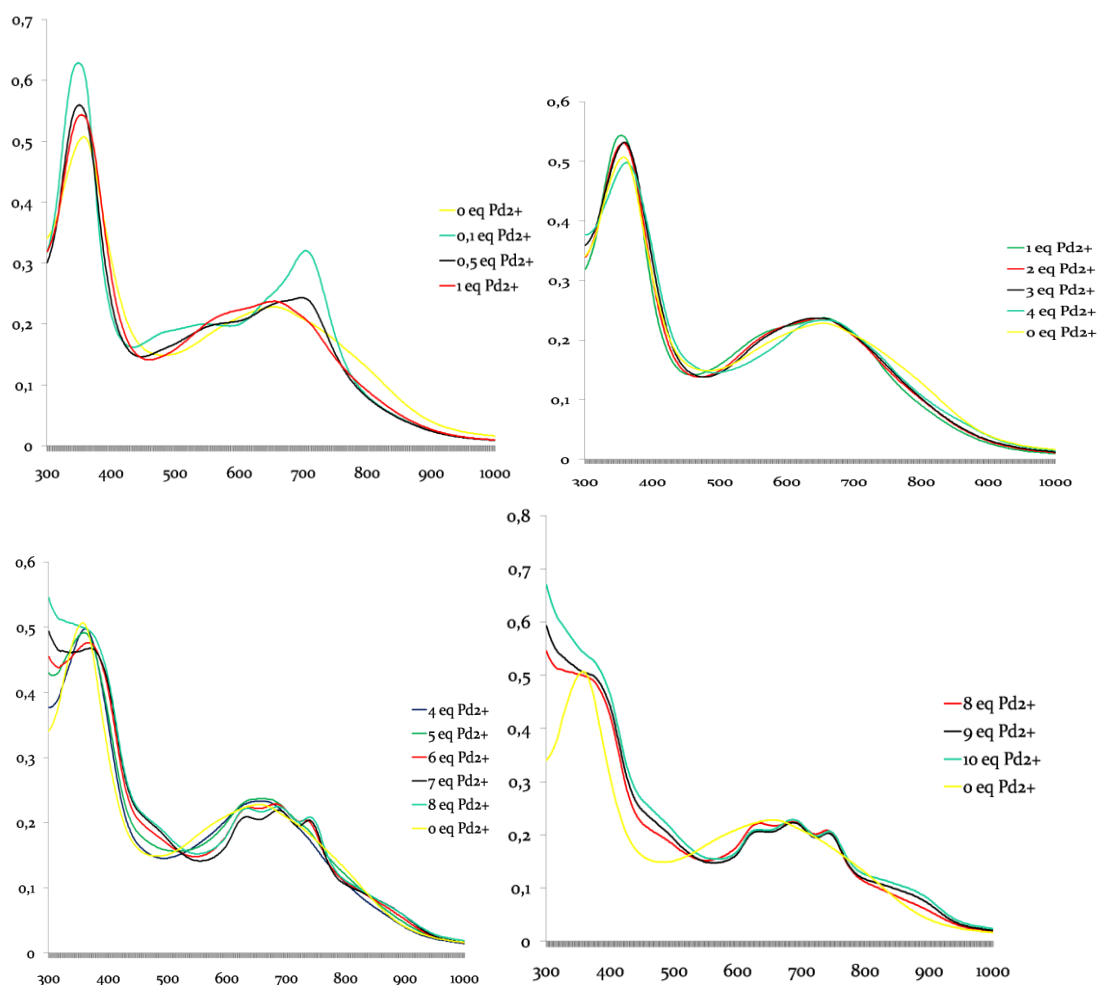


Schemat 28. Reagenty i warunki reakcji: (i) 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU), n-pentanol, octan cynku, temp. wrzenia, 24 godz.; (ii) DBU, n-pentanol, octan cynku, temp. wrzenia, 24 godz.

IV.2.1. Właściwości sensoryczne porfirazyny magnezowej posiadającej w części peryferyjnej ugrupowanie metylo(2-tienylometrylo)aminowe

Zdolność porfirazyny **30** do koordynacji jonów metali została sprawdzona po przez ocenę zmian w przebiegu widm UV-Vis podczas miareczkowania jonami Pd^{2+} wchodzących w skład związku kompleksowego bis(benzonitryl) chlorku palladu(II). Miareczkowanie symetrycznej porfirazyny **30** posiadającej w swoim peryferium ugrupowanie metylo(2-tienylometrylo) aminowe, spowodowało najpierw wzrost absorpcji w paśmie Q przy 704 nm przy stężeniu jonów palladu odpowiadających 0,1 eq w stosunku do stężenia porfirazyny. Następnie przy dalszym miareczkowaniu zaobserwowano obniżenie tego pasma, spadek ten utrzymywał się do stosunku 1:1 porfirazyny i jonów palladowych (**Rys. 46a**). Ponadto, przy stężeniach odpowiadającym

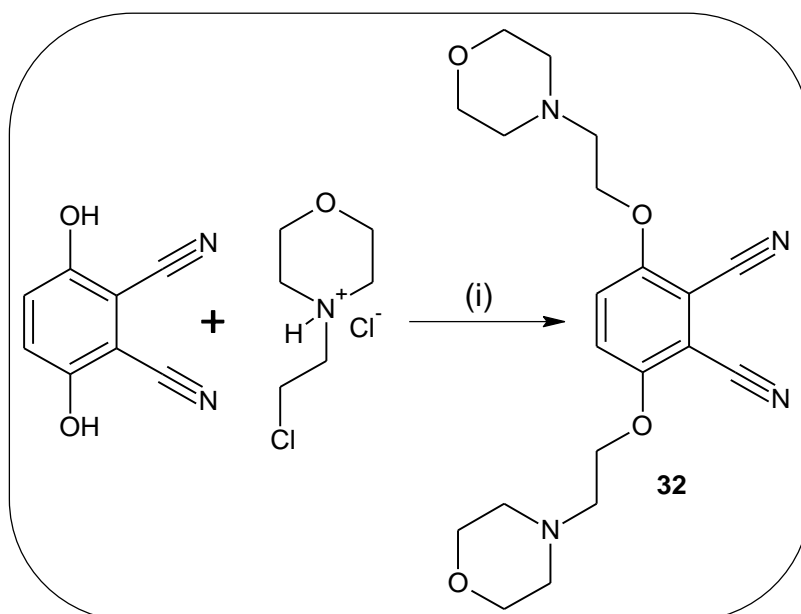
ilości porfirazyny i jonów palladu 1:1-1:4, zaobserwowano, że pasmo Q staje się coraz bardziej symetryczne. Może to stanowić dowód, że jeden jon palladu koordynowany jest przez dwie grupy metylo(2-tienylometylo)aminowe (**Rys. 46b**). Przy stosunku 1:5 zaobserwowano powstanie nowego pasma przy 741 nm (**Rys. 46c**). Miareczkowanie kontynuowano do osiągnięcia stosunku 1:10 i nie zaobserwowano żadnych innych istotnych zmian w przebiegu widma UV-Vis (**Rys. 46d**). Powstanie nowego pasma przy 741 nm można tłumaczyć koordynowaniem jonów palladu przez atomy azoty w pozycji mezo porfirazyny [111].



Rys. 46. Przebieg widm UV-Vis podczas miareczkowania porfirazyny 30 jonami palladu, zakres stężenia jonów palladu w stosunku do stężenia porfirazyny: a) 0,1-1 eq; b) 1-4 eq; c) 4-8 eq; d) 8-10 eq; eq-równoważnik molowy; oś X - długość fali [nm], oś Y - absorbancja.

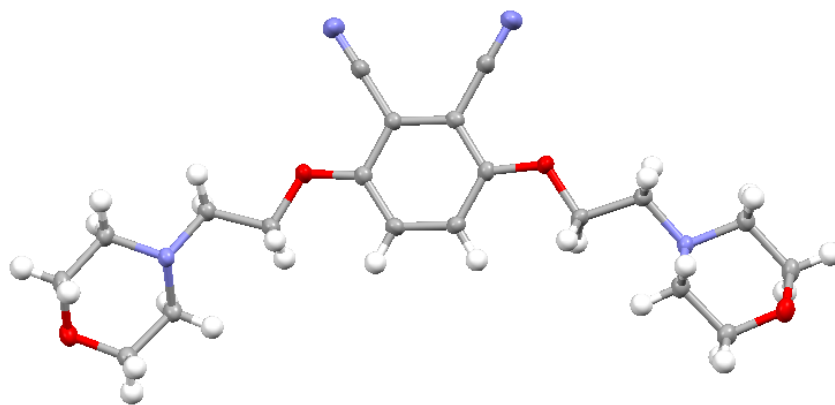
IV.3. Synteza, charakterystyka i właściwości przeciwbakteryjne ftalocyjanin posiadających ugrupowania morfolinoetoksyłowe

2,3-Dicyjanohydrochinon został użyty w reakcji alkilacji chlorowodorkiem 4-(2-chloroetylo)morfoliny w DMF w obecności węglanu potasu w temperaturze 60°C przez 76 godzin. Po zakończeniu reakcji osad wytrącony po wylaniu mieszaniny reakcyjnej na wodę z lodem odsączono [108] (**Schemat 29**), uzyskano pochodną pochodna ftalonitrylu **32**, którą scharakteryzowano za pomocą MS ES, UV-Vis, NMR a jego czystość została potwierdzona analizą elementarną i temperaturą topnienia.



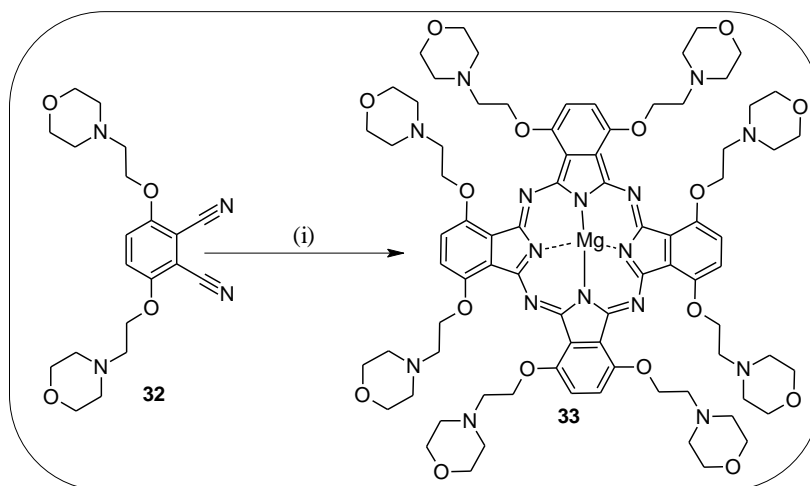
Schemat 29. Reagenty i warunki reakcji: (i) K_2CO_3 , DMF, 60°C, 76 godz.

W wyniku krystalizacji ftalonitryla z DMF otrzymano monokryształ, który następnie przekazano do badań rentgenostrukturalnych Pani dr Ewie Tykarskiej. Analiza rentgenostrukturalna ostatecznie potwierdziła budowę tego związku Z analizy tej wynika, że podstawnik morfolinoetoksyłowy ustawiony jest równoległe do płaszczyzny pierścienia ftalonitryla (**Rys. 47**).



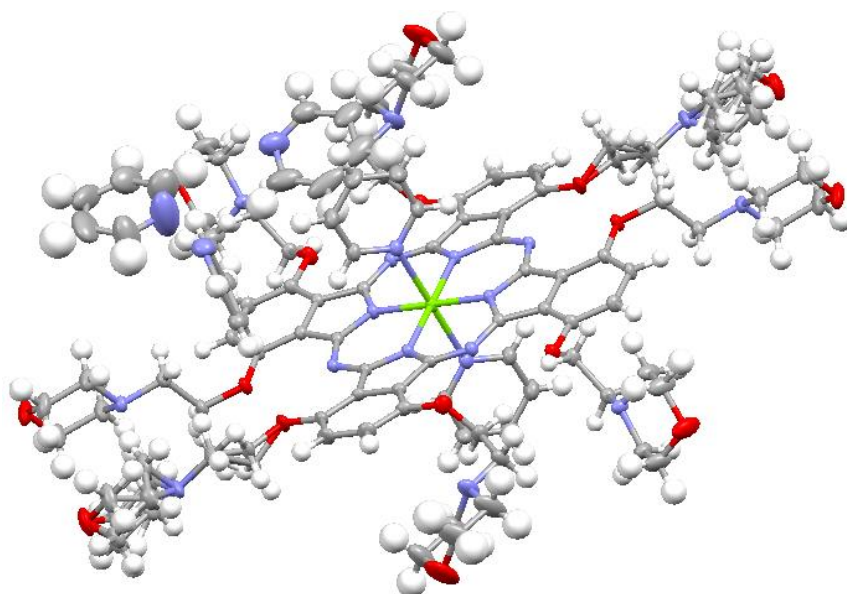
Rys. 47. Struktura krystalograficzna uzyskana dla związku **32**.

Ftalonitryl **32** został użyty w reakcji makrocyklizacji Linstead'a w butanolu i w obecności butanolanu magnezu jako zasady, w wyniku której otrzymano symetryczną ftalocyjaninę **33** (**Schemat 30**). Ze względu na zasadowy charakter grup morfolinowych ftalocyjaniny **33**, dochodziło do jej adsorpcji na żelu krzemionkowym, co znacznie utrudniało rozdział kolumnowy. Dlatego postanowiono w trakcie oczyszczania kolumnowego zastosować 1% dodatek trietyloaminy w fazie ruchomej, celem zobojętnienia kwaśnego żelu i zmniejszenia zjawiska adsorpcji. W wyniku rozdziału otrzymano ftalocyjaninę **33**, którą następnie poddano charakterystyce fizykochemicznej.



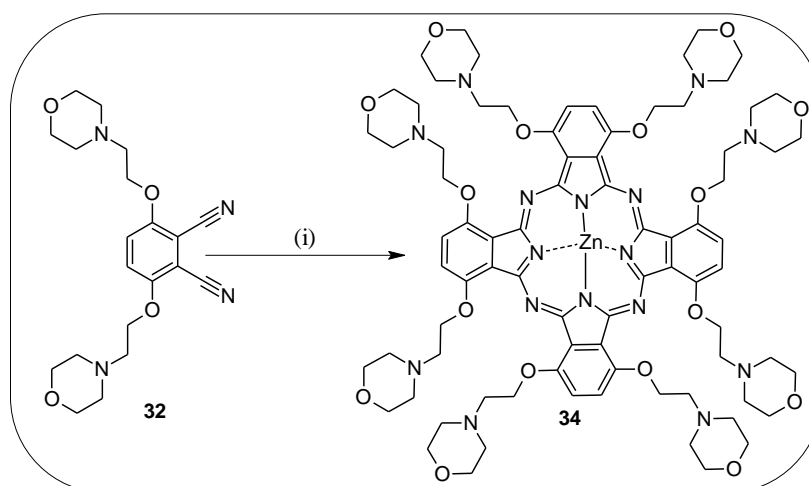
Schemat 30. Reagenty i warunki reakcji: (i) butanolan magnezu, butanol, 120°C, 23 godz.

Krystalizację ftalocyjaniny **33** przeprowadzono z pirydyny, co pozwoliło na otrzymanie monokryształu, który został przekazany do badań rentgenostrukturalnych Pani dr Ewie Tykarskiej (**Rys. 48**).



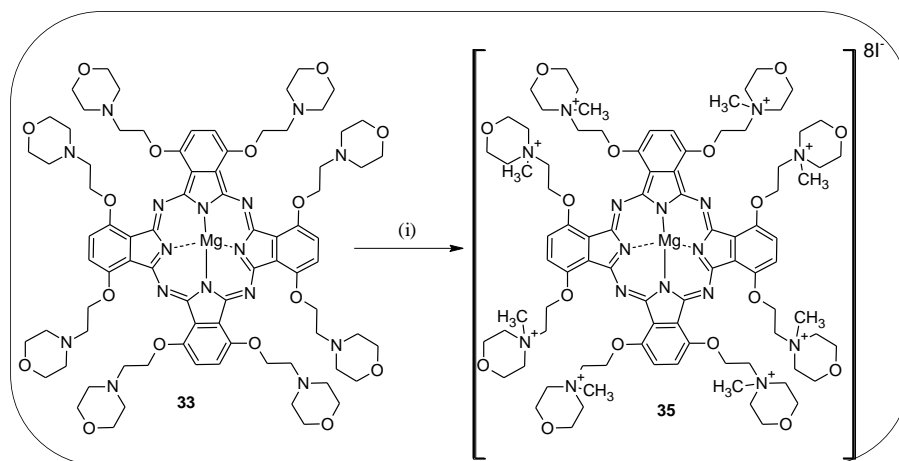
Rys. 48. Struktura krystalograficzna otrzymana dla symetrycznej ftalocyjaniny magnezowej **33**.

Pochodna ftalonitrylu **32** został poddany reakcji makrocyklizacji w pentanolu w obecności octanu cynki oraz 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU) jako zasady (**Schemat 31**). Do izolacji ftalocyjaniny **34** wykorzystano technikę chromatografii kolumnowej oraz jako fazę ruchomą octan etylu:metanol:dichlorometan (5:1:1) z dodatkiem 1% trietyloaminy. Ze względu na powinowactwo grup morfolinowych do żelu krzemionkowego znaczna ilość produktu uległa adsorpcji, co wpłynęło na niską końcową wydajność (9%). Otrzymano produkt **34** o zielonym zabarwieniu, który został scharakteryzowany technikami MALDI TOF, UV-Vis i NMR.



Schemat 31. Reagenty i warunki reakcji: (i) DBU, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, pentanol, temperatura wrzenia, 23 godz.

W kolejnym etapie podjęto się uzyskania ftalocyjany posiadającej czwartorzędowe grupy morfolinoetoksylowe w pozycjach nieperyferyjnych. Na podstawie dostępnej literatury [109] wcześniej otrzymaną ftalocyjaninę magnezową **33** poddano reakcji alkilowania po rozpuszczeniu w chloroformie z dodatkiem jodku metylu jako czynnika alkilującego (**Schemat 5**).



Schemat 32. Reagenty i warunki reakcji: (i) CHCl_3 , CH_3J , temperatura wrzenia, 4 godz.

Produkt **35** w postaci zielonego osadu soli jodkowej został przesączony i przemyty acetonem, metanolem i eterem dietylowym. Wydajność reakcji była wysoka i wyniosła 93%. Analiza UV-Vis, NMR potwierdziła strukturę związku. Obecność czwartorzędowej grupy morfoliniowej znacznie zwiększyła rozpuszczalność ftalocyjaniny w roztworach wodnych. Modyfikacja ftalocyjaniny wpłynęła także na obniżenie jej rozpuszczalności w rozpuszczalnikach organicznych, co spowodowało problemy w otrzymaniu widm NMR wykonywanych rutynowo w deuterowanej pirydynie. Ostatecznie widmo NMR makrocyklu **35** wykonano w deuterowanej wodzie, co pozwoliło na potwierdzenie czystości związku oraz jego charakterystykę.

IV.3.1. Określenie aktywności przeciwbakteryjnej ftalocyjaniny magnezowej posiadającej peryferyjne czwartorzędowe ugrupowania morfolinoetoksylowe

Badania te zostały wykonane we współpracy z Panią dr Jolantą Długaszewską z Katedry i Zakładu Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, których doktorant był czynnym współwykonawcą.

Do oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej badanego fotosensybilizatora wykorzystano następujące szczepy wzorcowe drobnoustrojów:

- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Serratiamarcescens* ATCC 8100
- *Enterococcus faecalis* ATCC 49474
- *Staphylococcus aureus* NCTC 4163
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 49134

Badane szczepy bakterii zawieszono w bulionie BHI, *Candida albicans* w bulionie Sabourauda i inkubowano w $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 20 godz. Następnie przeniesiono 2 ml hodowli bulionowe do próbki wirowniczej, próbkę wirowano (3000 obrotów przez 15 minut). Po tym czasie usunięto supernatant i do pozostawionego osadu dodano buforowany roztwór soli fizjologicznej (PBS) w takiej objętości aby uzyskać zawiesinę drobnoustrojów o gęstości ok. 10^8 cfu/ml. Do dołków dwóch płytek titracyjnych przeniesiono po 150 μl zawiesiny bakteryjnej, po czym dodano po 150 μl rozcieńczeń badanego związku. Kontrolę negatywną w badaniu stanowiły studzienki, które zawierały 300 μl zawiesiny drobnoustrojów w PBS. Obie płytki pozostawiono w temperaturze pokojowej w ciemności. Po odpowiednim dla każdego drobnoustroju i związku czasie jedną z płytek poddano naświetlaniu. W próbkach niepoddanych naświetlaniu oraz w próbkach po naświetleniu oznaczano liczbę drobnoustrojów przez posiew powierzchniowy próbki i jej rozcieńczeń na podłoża agarowe: bakterie – agar z wyciągiem kazeiny i soi; *C. albicans* – agar Sabourauda. Posiewy inkubowano przez odpowiedni dla badanych drobnoustrojów czas (bakterie - 24 godz., *Candida albicans* – 48 godz.) temperaturze $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Po inkubacji zliczono kolonie i obliczano liczbę drobnoustrojów w próbkach badanych, poddanych naświetleniu i kontrolnych nienaświetlonych.

W pierwszym, najwyższym stężeniu badany związek poddany naświetlaniu redukował liczbę bakterii o co najmniej 4,98 log (*P. aeruginosa*). Jest to znacznie wyższa wartość niż wymagana w przypadku antybiotyków wartość wynosząca 3 log oraz zbliżona do wartości wymaganej dla preparatów dezynfekcyjnych 4 log. Działanie przeciwdrobnoustrojowe badany związek wykazywał również w stężeniu dziesięciokrotnie niższym wobec *S. aureus* i *S. epidermidis*. Niestety, w badanych

warunkach, działanie przeciwdrobnoustrojowego badanego związku wobec grzybów drożdżopodobnych *C. albicans*, znacznie niższe niż w przypadku bakterii (**Tabela 7**) .

Tabela 7. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa ftalocyjaniny 35.

Drobnoustrój	Warunki badania; próbka	Log redukcji w stężeniu:		
		I	II	III
<i>Enterococcus faecalis</i>	nienaświetlana	0,71	0,69	0,34
	naświetlana	5,90	0,46	0,47
<i>S.aureus</i>	nienaświetlana	1,43	0,01	0,06
	naświetlana	6,41	2,94	0,13
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	nienaświetlana	0,58	0,56	0,57
	naświetlana	6,05	2,68	0,46
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	nienaświetlana	0,44	0,37	0,17
	naświetlana	4,98	0,83	0,17
<i>Escherichia coli</i>	nienaświetlana	0,49	0,35	0,39
	naświetlana	5,97	0,19	-0,01
<i>S.marcescens</i>	nienaświetlana	0,41	0,36	0,4
	naświetlana	6,34	0,03	0,1
<i>Candida albicans</i>	nienaświetlana	0,38	0,22	0,43
	naświetlana	1,23	0,55	0,36

V. PODSUMOWANIE

1. W części teoretycznej pracy dokonano przeglądu literaturowego substancji fotoaktywnych w świecie roślin, zastosowania porfirynoidowych fotosensybilizatorów w terapii fotodynamicznej i terapii fotodynamicznej skierowanej przeciw mikroorganizmom oraz porfirazyn posiadających peryferyjne ugrupowania aminowe.
2. Uzyskano siedem nowych pochodnych maleonitrylowych oraz dwanaście porfirazyn i trzy ftalocyjaniny. Na podstawie widm NMR wywnioskowano, iż porfirazyny **4**, **5a-5c**, **10**, **15**, **17** posiadają naprzemienny układ podstawników peryferyjnych, a porfirazyny **11**, **16**, **22**, **25** posiadają przestawiony układ podstawników.
3. Uzyskane nowe pochodne maleonitrylowe scharakteryzowano za pomocą następujących metod MS ES, ^1H i ^{13}C NMR, UV-Vis. Zaobserwowano, że przypadku pochodnych maleonitrylowych posiadających symetryczne podstawniki w ugrupowaniu pirolilowym: 2,5-dimetylo, 2,5-difenylo i 2,5-di(4'-chlorofenylo), powstają w przewodzie porfirazyny z naprzemiennym układem podstawników. W przypadku maleonitryli posiadających niesymetryczny układ podstawników w ugrupowaniu pirolilowym: 2-fenylo-5-metylo i 2,3,5-trifenylo, uzyskano porfirazyny z przestawionym układem podstawników, w reakcjach tych nie zaobserwowano powstawania symetrycznego izomeru.
4. Makrocykle scharakteryzowano za pomocą MALDI TOF, ^1H i ^{13}C NMR, UV-Vis oraz IR. Analizę rentgenostrukturalną wykonano we współpracy dla pochodnych makrocykli **4**, **10**, **15**, **33**.
5. Stwierdzono, że skoro maksimum absorpcji pasma Q makrocykli znajduje się w przedziale 600-800 nm, to mogą one być rozpatrywane jako potencjalne fotosensybilizatory w terapii fotodynamicznej.
6. Związki poddano, we współpracy z Katedrą i Zakładem Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, badaniom biologicznym. Stwierdzono, że najaktywniejszy makrocykl **35** posiada aktywność w stosunku do *S.marcescens*.

7. Porfirazyny posiadające peryferyjne ugrupowanie pirolilowe, zostały przekazane do badań fotochemicznych w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (prof. dr hab. Jadwiga Mielcarek), absorpcji przejściowej do Instytutu Fizyki Doświadczalnej Uniwersytetu Warszawskiego (dr Piotr Fita), termoluminescencji do Instytutu Fizyki Akademii Górniczo Hutniczej w Krakowie (prof. dr hab. Kvetoslava Burda). Wyniki tych badań ukazały się jak dotąd w formie dwóch publikacji:

a) Synthesis, characteristics and photochemical studies of novel porphyrazines possessing peripheral 2,5-dimethylpyrrol-1-yl and dimethylamino groups; *Tetrahedron Letters* 2012, 53, 2040–2044

b) Functional singlet oxygen generators based on porphyrazines with peripheral 2,5-dimethylpyrrol-1-yl and dimethylamino groups; *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2013, DOI:
<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.jphotochem.2013.06.018>

VI. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

VI.1. Uwagi ogólne

Temperatura topnienia – pomiary przeprowadzono na aparacie „Stuart” firmy Bibby Sterlin Ltd, przy użyciu otwartych kapilar, a otrzymane wyniki podano bez korekty.

Spektroskopia :

Widma w ultrafiolecie i zakresie widzialnym (UV-Vis) – wykonano na spektrofotometrze Hitachi UV/VIS U-1900; λ_{\max} (ϵ), nm ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

Widma magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) – zastosowano aparat Bruker (częstość robocza ^1H 400.132 MHz) w temp. pok. Widma wykonano we współpracy z Panią prof. dr hab. Zofią Gdaniec z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (badania finansowane z Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka dział. 2.1. nr umowy UDA-POIG.02.01.00-30-182/09). Wykonywano widma ^1H , ^{13}C , ^{19}F NMR oraz dwuwymiarowe 2D ($^1\text{H}^1\text{H}$ COSY, HSQC, HMBC). Dla wartości przesunięć chemicznych zastosowano skalę δ (ppm) wobec sygnału rozpuszczalnika. W opisie użyto skrótów: s – singlet, b – szeroki, d – dublet, t – triplet, m - multiplet.

Widma w podczerwieni (IR) – wykonano na aparacie Bruker FT-IR IFS 66/s, w Środowiskowym Laboratorium Unikalnej Aparatury Chemicznej przy Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Widma masowe – analizy MS ES, MALDI TOF wykonywano w Środowiskowym Laboratorium Unikalnej Aparatury Chemicznej przy Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Analiza rentgenostrukturalna: Umieszczone wyniki analizy rentgenostrukturalnej zostały udostępnione przez Panią dr Ewę Tykarską i wykonane we współpracy z Panią prof. dr hab. Marią Gdaniec z Wydziału Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu

Chromatografia :

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) - wykonywano techniką wstępującą na płytkach aluminiowych i plastikowych z żelem krzemionkowym F254 typ 60 firmy E. Merck[®]. Analizę wykonywano rutynowo, w celu wstępnej identyfikacji produktów.

Chromatografia preparatywna :

Kolumnowa (CC) - wykonano metodą krótkiej kolumny, z zastosowaniem żelu krzemionkowego Kieselgel 60 H (40-60 μm) firmy E. Merck[®].

Na płycie (PTLC) – przy pomocy płyt szklanych z żelazem krzemionkowym F254 typ 60 firmy E. Merck[®] o grubości warstwy żelaz 0,5 lub 0,2 mm.

VI.2. Stosowane rozpuszczalniki i reagenty

Pełną informację na temat charakterystyki substancji chemicznych (MSDS) oraz dostęp do certyfikatów analizy wszystkich stosowanych reagentów firmy Aldrich, uzyskano dzięki usłudze eCommerce pod adresem internetowym: www.sigma-aldrich.com

Reagenty handlowe

Pełną informację na temat charakterystyki substancji chemicznych (MSDS) oraz dostęp do certyfikatów analizy wszystkich stosowanych reagentów firmy Aldrich, uzyskano dzięki usłudze eCommerce pod adresem internetowym: www.sigma-aldrich.com

- 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en (DBU) (Alfa Aesar, Aldrich)
- magnez – wiórki (Aldrich)
- trietyloamina (POCH)
- jod (POCH)
- węglan potasu (POCH)
- jodek metylu
- węglan potasu
- chlorowodorek 4-(2-chloroetylo)morfoliny
- 1,2-dicyjanohydrochinon
- 2-bromoacetofenon (Alfa Aesar)
- cynk - pył (Aldrich)
- diaminomaleonitryl (Aldrich)
- kwas trifluorooctowy (Aldrich)
- wodorek sodu jako 60% zawiesina w oleju mineralnym (Aldrich)
- siarczan dimetylu (Aldrich)
- octan cynku (Aldrich)
- 1,2-dicyjanobenzen – ftalonitryl (Aldrich)
- alginian sodu (Aldrich)
- chlorek wapnia (POCH)
- 1,3-difenyloizobenzofuran (DPBF) (Aldrich)
- 4'-chloro-2-bromoacetofenon (Aldrich)
- kwas fenyloboronowy (Alfa-Aesar)
- węglan cezu (Alfa-Aesar)

- węglan potasu (POCH)
- fosforan potasu (Aldrich)
- tricykloheksylofosfina (Aldrich)
- 1,3-bis(difenylofosfino)propan (Aldrich)
- Pallad(0) tetrakis(trifenylofosfina) (Aldrich)
- octan palladu (Aldrich)
- Dipallad(0) tris(dibenzylidenoacetonu) (Aldrich)
- 2,5-heksanodion (Aldrich)
- pirydyna (POCH)
- kwas szczawiowy (POCH)
- benzen (Fluka)
- wodorowęglan sodu (POCH)
- N,N-dimetyloaminoetanol (DMEA) (Aldrich)

VI.3. Synteza i charakterystyka porfirazyn posiadających w części peryferyjnej rozbudowane ugrupowania 2,5-dimetylopirolilowe i dimetyloaminowe

2-Amino-3-(2,5-dimetylo-1*H*-pirolilo)-1,4-dinitrylo -(2*Z*)-buten (2) [63]

Do kolby okrągłodennej dodano diaminomaleonitryl (6,48 g; 60 mmol) (**1**), heksano-2,5-dion (7 ml; 60 mmol), kwas szczawiowy (100 mg) i benzen (200 ml). Całość ogrzewano w temp. wrzenia rozpuszczalnika pod chłodnicą zwrotną zaopatrzoną w pułapkę Dean-Starka przez 6 godz. Następnie mieszaninę reakcję schłodzono, a uzyskany żółty-brązowy osad rekrytalizowano na gorąco z mieszniny eter dietylowy – heksan (1:1). Uzyskano **2** (9,137 g; wyd. 82%): tt. 169°C, R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 35:1) 0,55.

2-(Dimetyloamino)-3-(2,5-dimetylo-1*H*-pirolilo)-1,4-dinitrylo -(2*Z*)-buten (3)

Wodorek sodu (60% zawiesina w oleju mineralnym) (440 mg; 11 mmol) roztworzono w tetrahydrofuranie (16 ml) w temperaturze -17°C. Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodawano przez 30 min maleonitryl **2** (930 mg; 5 mmol), rozpuszczony w tetrahydrofuranie 5 ml, utrzymując temperaturę -15°C. W dalszej kolejności, dodano kroplami siarczan dimetylu (948 μl; 10 mmol), rozpuszczony w tetrahydrofuranie 3 ml, utrzymując temperaturę poniżej -10°C. Po dodaniu ostatniego

odczynnika, uzyskaną mieszaninę pozostawiono przez 2 godz. w temp. pokojowej, po czym ostrożnie dodano 2 ml wody i całość wylano na mieszaninę wody i lodu (100 ml). Uzyskano żółty osad produktu **3** (748 mg; wyd. 70%): tt. 117°C, R_f (CH₂Cl₂:MeOH, 35:1) 0,84. UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} , nm (log ϵ) 310 (4,2). ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆): δ_H , ppm 5,8 (s, 2H, pirol-H), 2,72 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2,13 (s, 6H, 2xCH₃). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆): δ_C , ppm 132,66; 130,71; 117,92; 112,79; 107,08; 106,93; 86,02; 41,16; 11,93. MS (ES): m/z 237 [M+Na]⁺. Analizę elementarną obliczono dla C₁₂H₁₄N₄: C, 67,27; H, 6,59; N, 26,15. Znaleziono: C, 67,21; H, 6,76; N, 25,85.

Magnez (II)-2,7,12,17-tetrakis(dimetylamino)-3,8,13,18-tetrakis[2,5-(dimetylo)-1H-pirolilo]porfirazyna (4)

W kolbie okrągłodennej umieszczono magnez (24 mg; 7,4 mmol) i katalityczną ilość jodu (1 kryształek) ogrzewano w 1-butanolu (30 ml), w temp. wrzenia alkoholu, pod chłodnicą zwrotną, przez 6 godzin. Uzyskaną mieszaninę schłodzono do temp. pokojowej i dodano maleonitryl **3** (400 mg; 1,9 mmol). Całość ogrzewano w temp. wrzenia butanolu przez 20 godz. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę schłodzono i otrzymany ciemnozielony roztwór przesączono przez Celit i odparowano do sucha. Następnie przeprowadzono dwukrotnie chromatografię kolumnową (CH₂Cl₂:CH₃OH, 35:1), aby uzyskać docelową porfirazynę **4** (103 mg; wyd 26%), w postaci ciemnozielonego osadu: tt. > 300°C, R_f (heksan:octan etylu, 15:1) 0,55. UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} , nm (log ϵ) 347 (4,9), 437 (4,2), 722 (4,9). IR (cm⁻¹) 3100; 2920; 2860; 2800; 1590; 1478; 1400; 1370; 1310; 1115; 1050; 1015. ¹H NMR (400 MHz; pirydyna-*d*₅): δ_H , ppm 6,37 (s, 2H, pirol-H), 3,57 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2,28 (s, 6H, 2xCH₃). ¹³C NMR (100 MHz; pirydyna-*d*₅): δ_C , ppm 154,25; 150,90; 148,60; 131,97; 111,35; 106,00; 86; 42,30; 13,61; MS (MALDI TOF): m/z 881 [M+H]⁺.

2,7,12,17-Tetrakis(dimetylamino)-3,8,13,18-tetrakis[2,5-(dimetylo)-1H-pirolilo]porfirazyna (5a)

Wykonano 3 eksperymenty:

Eksperyment I

W kolbie okrągłodennej umieszczono porfirazynę **4** (213 mg; 0,24 mmol) i kwas trifluorooctowy (5 ml) mieszano bez dostępu światła przez 20 min w temp. pokojowej. Następnie roztwór wylano na mieszaninę wody i lodu (150 ml), zobojętniono wodorowęglanem sodu. Uzyskany brązowo – zielony osad ekstrahowano trzykrotnie za

pomocą dichlorometanu (3 x 100 ml) i odparowano do sucha. Przeprowadzono chromatografię kolumnową (heksan:octan etylu, 20:1 do 15:1) i PTLC (heksan:octan etylu, 20:1 następnie 15:1). Otrzymano porfirazyny: (**5a**) (115 mg; wyd. 56%), tt. > 300°C, R_f (heksan:ocyan etylu 15:1) 0,46. UV-Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} , nm (log ϵ) 339 (3,8), 423 (3,4), 721 (3,7), 776 (3,8). IR (cm^{-1}) 3290; 2925; 1730; 1600; 1400; 1315; 1168; 1074. ^1H NMR (400 MHz; pirydyna- d_5): δ_{H} , ppm 6,37 (s, 2H, pirol-H), 3,53 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2,32 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3$). ^{13}C NMR (100 MHz; pirydyna- d_5): δ_{C} , ppm 132,5; 106,75; 42,75; 13,81; (**5b**) (33 mg; wyd 14%), tt. > 300°C, R_f (heksan:octan etylu 15:1) 0,31. UV-Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} , nm (log ϵ) 339 (4,7), 422 (4,3), 721 (4,6), 775 (4,7). IR (cm^{-1}) 3365; 3290; 3175; 2925; 2200; 1680; 1600; 1400; 1315; 1170; 1075. ^1H NMR (400 MHz; pirydyna- d_5): δ_{H} , ppm 6,95-6,39 (2 x s, 8H, pirol-H), 3,54-3,48 (m, 24H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2,81-2,28 (s + m, 24H, $2 \times \text{CH}_3$), 0,16 (2H). ^{19}F NMR (282 MHz, pirydyna- d_5): δ_{F} , ppm 4,42 (s). MS (MALDI TOF): m/z 954 $[\text{M}]^+$; (**5c**) (11 mg, wyd 4,3%) tt. > 300°C, R_f (heksan:octan etylu 15:1) 0,17. UV-Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} , nm (log ϵ) 339 (4,9), 420 (4,3), 722 (4,7), 777 (4,7). IR (cm^{-1}) 3290; 2925; 1680; 1600; 1400; 1315; 1170; 1075. ^1H NMR (400 MHz; pirydyna- d_5): δ_{H} , ppm 6,95-6,39 (2 x s, 8H, pirol-H), 3,54-3,47 (dd, 24H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2,81-2,27 (2 x m, 24H, $2 \times \text{CH}_3$), 0,18 (2H). ^{19}F NMR (282 MHz, pirydyna- d_5): δ_{F} , ppm 4,35 (s). MS (MALDI TOF): m/z 1050 $[\text{M}]^+$.

Eksperymert II

W kolbie okrągłodennej umieszczono maleonitryl **3** (96 mg; 0,45 mmol), 1,8-diazabicyklo[5.4.0.]undec-7-en (67 μl ; 0,45 mmol) oraz 1-pentanol (3 ml). Całość ogrzewano w temperaturze 130°C przez 24 godz. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę schłodzono do temp. pokojowej i odparowano z toluenem (2 x 50 ml) do sucha. Następnie przeprowadzono chromatografię kolumnową (heksan:octan etylu 20:1 do 15:1) i otrzymano porfirazynę **5a** w postaci ciemnozielonego osadu (10 mg; wyd. 10%).

Eksperyment III

W kolbie okrągłodennej umieszczono maleonitryl **3** (460 mg; 2,1 mmol) i dimetyloaminoetanol (4 ml), ogrzewano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, przez 2 godz., pod chłodnicą zwrotną. Po schłodzeniu do temp. pokojowej, zielono – fioletową mieszaninę odparowano z toluenem (2 x 50 ml) do sucha i przeprowadzono chromatografię kolumnową (dichlorometan:heksan, 2:1). Uzyskano porfirazynę **5a** (161 mg, wyd. 35%) w postaci ciemnozielonego osadu.

VI.4. Synteza porfirazyny magnezowej z peryferyjnym układem podstawników 2,5-difenylopirolilowego i dimetyloaminowego

1,4-Difenylobutano-1,4-dion (7)

W kolbie okrągłodennej umieszczono 2-bromoacetofenon (3,00 g; 15 mmol), Zn (1,00 g; 15 mmol), I₂ (jeden kryształek) oraz tetrahydrofuran (30 ml) i mieszano przez 24 godz. w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika w atmosferze argonu. Po ochłodzeniu mieszaninę przesączono przez ziemię okrzemkową w celu usunięcia cynku, przemywając dichlorometanem. Przesącz odparowano, uzyskano białe kryształy **7** (2,40 g; wyd. 67%).

2-Amino-3-(2,5-difenylo-1H-pirolilo)-1,4-dinitrylo -(2Z)-buten (8) [63]

W kolbie okrągłodennej zawieszono 1,4-difenylobutano-1,4-dion **7** (1,02 g; 4,82 mmol) i diaminomaleonitryl (**1**) (462 mg; 4,28 mmol) w bezwodnym metanolu (50 ml), następnie dodano kataliczną ilość kwasu trifluorooctowego (200 µl). Reakcję mieszano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Po ostudzeniu próbę odparowano do sucha i przeprowadzono chromatografię kolumnową (dichlorometan) uzyskano żółte kryształy **8** (1,07 g; wyd. 80%).

2-(2,5-Difenylo-1H-pirolilo)-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (9)

Wodorek sodu (60% zawiesina w oleju mineralnym) (160 mg; 4 mmol) zawieszono w tetrahydrofuranie (20 ml) w temperaturze -17°C. Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodawano przez 30 min maleonitryl **8** (520 mg; 1,7 mmol), rozpuszczony w tetrahydrofuranie 5 ml, utrzymując temperaturę -15°C. W dalszej kolejności dodano kroplami siarczan dimetylu (322 µl; 3,4 mmol), rozpuszczony w tetrahydrofuranie (2 ml), utrzymując temperaturę poniżej -10°C. Po dodaniu ostatniego odczynnika, uzyskaną mieszaninę pozostawiono przez 2 godz. w temp. pokojowej, po czym ostrożnie dodano 2 ml wody i całość wylano na mieszaninę wody i lodu (100 ml). Uzyskano żółty osad produktu **9** (489 mg; wyd. 86%) tt. 106°C, R_f (dichlorometan) 0,65. UV-Vis (dichlorometan): λ_{max}, nm (logε) 299,5 (4,1). ¹H NMR (400 MHz; CDCl₃): δ_H, ppm 7,52 (m 4H, Ph-H), 7,46 (t, ³J=8Hz, 4H Ph-H), 7,38 (t, ³J=8Hz, 2H Ph-H), 6,41 (s, 2H, pirol-H), 2,49 (s, 6H, N(CH₃)₂). ¹³C NMR (100 MHz; CDCl₃): δ_C, ppm 131,7; 128,7; 128,2; 127,9; 118,4; 112,0; 111,7; 91,6; 40,8. MS (ES): m/z 323 [M-

CH₃], 339 [M+H]⁺ 361 [M+Na]⁺. Analizę elementarną obliczono dla C₂₂H₁₈N₄: C, 78,08; H, 5,36; N, 16,56. Znaleziono: C, 78,04; H, 5,44; N, 16,73.

Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis[2,5-(difenyl)-1*H*-pirolilo]-3,8,13,18-tetrakis (dimetyloamino)porfirazyna (10)

Magnez(II) 2,7,12,18-tetrakis[2,5-(difenyl)-1*H*-pirolilo]-3,8,13,17-tetrakis (dimetyloamino)porfirazyna (11)

W kolbie okrągłodennej umieszczono magnez (52,5 mg; 2,16 mmol) i katalityczną ilość jodu (1 kryształek) ogrzewano w 1-butanolu (25 ml), w temp. wrzenia alkoholu, pod chłodnicą zwrotną, przez 6 godzin. Uzyskaną mieszaninę schłodzono do temp. pokojowej i dodano maleonitryl **3** (491 mg; 1,4 mmol). Całość ogrzewano w temp. wrzenia butanolu przez 20 godz. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę schłodzono i otrzymany ciemnozielony osad przesączono przez Celit i odparowano do sucha. Następnie przeprowadzono chromatografię kolumnową (heksan:octan etylu 7:3, dichlorometan:metanol 50:1, heksan:dichlorometan:matanol 7:1:1) oraz w układzie odwróconym (matanol:dichlorometan 15:1). Otrzymano: porfirazynę **10** (90 mg; wyd. 18%): tt. > 300°C, R_f (heksan:octan etylu 7:5) 0,83. UV-Vis (dichlorometan): λ_{max}, nm (logε) 302 (3,7), 730 (3,5), 817 (2,9). ¹H NMR (400 MHz; pirydyna-*d*₅): δ_H, ppm 7,45 (dd, ³J= 8 Hz, ⁴J= 1 Hz, 16H, C₆H₅), 6,98 (s, 8H, pirol-H), 6,90 (t, ³J= 8 Hz, 8H, C₆H₅), 6,70 (t, ³J=8 Hz, 16H, C₆H₅), 3,23 (s, 24H, N(CH₃)₂). ¹³C NMR (100 MHz; pirydyna-*d*₅): δ_C, ppm 154,3; 149,9^h; 139,6; 136,0; 134,7; 128,1; 126,2; 113,1; 110,0; 42,2. MS (MALDI TOF): *m/z* 1378,3 [M+H]⁺. Jako drugi produkt uzyskano porfirazynę **11** (4 mg, wyd. 0,8%): tt. > 300 °C, R_f(heksan:octan etylu 7:5) 0,83. UV-Vis (dichlorometan): λ_{max}, nm (logε) 297 (4,6), 479 (3,7), 686 (3,9), 869 (4,0). MS (MALDI TOF): *m/z* 1378,3 [M+H]⁺.

VI.5. Synteza porfirazyn z peryferyjnymi ugrupowaniami 2,5-di(4'-chlorofenyl)pirolilowymi i dimetyloaminowymi oraz 2,5-di(bifenylilo)pirolilowymi i dimetyloaminowymi

1,4-Di(bifenyl-4-ilo)butano-1,4-dion

W kolbie okrągłodennej umieszczono 2-bromoacetofenon (2,19 g; 8 mmol), Zn (354 mg; 5,86 mmol), I₂ (1 kryształek) oraz tetrahydrofuran (30 ml) i mieszano przez 24 godz. w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika w atmosferze argonu. Po ochłodzeniu

mieszaninę przesączono przez ziemię okrzemkową celem usunięcia cynku, przemywając dichlorometanem. Przesącz odparowano, uzyskano białe kryształy (16 mg; wyd. 1%).

1,4-Di(4'-chlorofenylo)butano-1,4-dion (14)

W kolbie okrągłodennej umieszczono 2-bromo 4'-chlorofenacyl (3,00 g; 15 mmol), Zn (1,00 g; 15 mmol), I₂ (1 kryształek) oraz tetrahydrofuran (30 ml) i mieszano przez 24 godz. w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika w atmosferze argonu. Po ochłodzeniu mieszaninę przesączono przez ziemię okrzemkową w celu usunięcia cynku, przemywając dichlorometanem. Przesącz odparowano, uzyskano białe kryształy **12** (0,985 g; wyd. 50%)

2-Amino-3-[2,5-di(4'-chlorofenylo)-1H-pirolilo]-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (13)

W kolbie okrągłodennej zawieszono 1,4-di(4'-chlorofenylo)butano-1,4-dion (550 mg; 1,8 mmol) i diaminomaleonitryl **1** (190 mg; 1,8 mmol) w bezwodnym metanolu (50 ml), następnie dodano kataliczną ilość kwasu trifluorooctowego (100 µl). Reakcję mieszano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Po ostudzeniu próbę odparowano do sucha i przeprowadzono chromatografię kolumnową (heksan:octan etylu, 7:3). Otrzymano żółte kryształy **13** (460 mg; wyd. 68%): tt. 198°C (z rozkładem). R_f (heksan:octan etylu 7:3) 0,32. UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max}, nm (logε) 295 (5,4). ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆): δ_H, ppm 8,29 (s, 2H, NH₂), 7,64-7,67 (d, 4H, C₆H₅), 7,51-7,53 (d, 4H, Ar), 6,69 (s, 2H, Ar). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆): δ_C, ppm 135,4; 132,5; 132,0; 130,5; 129,1; 128,8; 117,0; 112,7; 112,1; 88,6. MS (ES⁺): *m/z* 379 [M+H]⁺, 401 [M+Na]⁺. MS (ES⁻): *m/z* 377 [M-H]⁻. Analiza elementarna: obliczono dla C₂₂H₁₂Cl₂N₄: C 63,34; H 3,19; N 14,77. Znaleziono: C 63,75; H 3,8; N 14,28.

2-[2,5-Di(4'-chlorofenylo)-1H-pirolilo]-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (14)

60% Wodorek sodu zawieszony w oleju mineralnym (169 mg; 4 mmol) zawieszono w tetrahydrofuranie (20 ml) w temperaturze -17°C. Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodawano przez 30 min maleonitryl **13** (768 mg; 2 mmol), rozpuszczony w tetrahydrofuranie (5 ml), utrzymując temperaturę -15°C. W dalszej kolejności, dodano kroplami siarczan dimetylu (560 µl; 4,4 mmol), rozpuszczony w tetrahydrofuranie (2 ml), utrzymując temperaturę poniżej -10°C. Po dodaniu ostatniego odczynnika, uzyskaną mieszaninę pozostawiono przez 24 godz. w temp.

pokojujowej, po czym wylano na mieszaninę wody i lodu (100 ml) i ekstrahowano dichlorometanem (3 x 50 ml). Frakcję organiczną odparowano, a suchą pozostałość oczyszczono na drodze chromatografii kolumnowej (heksan:octan etylu, 7:3; następnie dichlorometan). Uzyskano **14** (0,822 mg, wyd. 86%): tt. 191°C. R_f (heksan:octan etylu 7:3) 0,24. UV-Vis (dichlorometan): λ_{\max} , nm (log ϵ) 305 (6,7). ^1H NMR (400 MHz; DMSO- d_6): δ_{H} , ppm 7,52-7,58 (dd, 8H, C₆H₅), 6,58 (s, 2H, Ar), 2,56 (s, 6H, N(CH₃)₂). ^{13}C NMR (100 MHz; DMSO- d_6): δ_{C} , ppm 136,4, 133,0; 132,6; 130,0; 129,4; 128,8; 118,5; 112,2; 111,5; 87,7; 40,9. MS (ES)⁺: m/z 407 [M+H]⁺, 429 [M+Na]⁺, 445 [M+K]⁺. MS (ES)⁻: m/z 406 [M]⁻, 441 [M+Cl]⁻. Analiza elementarna obliczono dla C₂₂H₁₆Cl₂N₄: C 64,88; H 3,96; N 13,76. Znaleziono: C 64,59; H 4,48; N 13,66.

Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis[2,5-di(4'-chlorofenylo)-1H-pirolilo]-3,8,13,18-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (15)

Magnez(II) 2,7,12,18-tetrakis[2,5-di(4'-chlorofenylo)-1H-pirolilo]-3,8,13,17-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (16)

Wykonano 2 eksperymenty

Eksperyment I

W kolbie okrągłodennej umieszczono magnez (194 mg; 8 mmol) i katalityczną ilość jodu (1 kryształek) ogrzewano w 1-butanolu (20 ml), w temp. wrzenia alkoholu, pod chłodnicą zwrotną, przez 6 godzin. Uzyskaną mieszaninę schłodzono do temp. pokojowej i dodano maleonitryl **14** (812 mg; 2 mmol). Całość ogrzewano w temp. wrzenia butanolu przez 20 godz. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę schłodzono i otrzymany ciemnozielony osad przesączono przez Celit i odparowano do sucha. Następnie przeprowadzono chromatografię kolumnową (dichlorometan:metanol 50:1, heksan:octan etylu 7:3, następnie dichlorometan). Otrzymano: porfirazynę **15** (34 mg; wyd. 4%): tt. > 300°C, R_f (heksan:octan etylu 7:2) 0,65, UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} , nm (log ϵ) 311 (8,4), 435 (3,7), 657 (6,4), 737 (7,6). ^1H NMR (400 MHz; pirydyna- d_5): δ_{H} , ppm 7,35-7,37 (d, 16H, Ar), 6,96 (s, 8H, Ar), 6,71-6,73 (d, 16H, Ar), 3,31 (s, 24H, N(CH₃)₂), ^{13}C NMR (100 MHz; DMSO- d_6): δ_{C} , ppm 150,0, 138,5; 132,8; 131,7; 129,1; 128,0; 110,3; 41,9. MS (MALDI TOF): m/z 1652,8 [M+H]⁺. Jako drugi produkt wyizolowano porfirazynę **16** (55 mg, 6,75%): tt. 295 °C, R_f (heksan:octan etylu 7:2) 0,4, UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} , nm (log ϵ) 308 (8,87), 452 (6,6), 654 (4,7), 725 (5,2). ^1H NMR (400 MHz; DMSO- d_6): δ_{H} , ppm 7,26-7,28 (d, Ar), 7,19-7,21 (d, Ar), 6,99-7,01 (d, Ar), 6,91-6,95 (dd, Ar), 6,84-6,86 (d, Ar), 6,80 (s, Ar), 6,74(s, Ar), 6,64-6,71 (m, Ar), 3,25

(s, N(CH₃)₂), 3,11 (s, N(CH₃)₂). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆): δ_C, ppm 138,3; 138,1; 137,9; 137,7; 133,0; 132,8; 132,7; 131,4; 131,1; 129,7; 129,7; 129,3; 129,1; 128,4; 128,1; 127,9; 110,7; 110,6; 110,2; 110,2; 87,7; 42,3; 41,9. MS (MALDI TOF): *m/z* 1652,8 [M+H]⁺.

W kolbie okrągłodennej umieszczono magnez (194 mg; 8 mmol) i katalityczną ilość jodu (1 kryształek) w 1-butanolu (20 ml), w temp. wrzenia alkoholu, pod chłodnicą zwrotną, przez 6 godz. Uzyskaną mieszaninę schłodzono do temp. pokojowej i dodano **14** (812 mg; 2 mmol) w N,N-dimetyloformamidzie (2 ml). Całość ogrzewano w temp. wrzenia butanolu przez 20 godz. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę schłodzono i otrzymany ciemnozielony osad przefiltrowano przez Celit i odparowano do sucha. Następnie przeprowadzono chromatografię kolumnową (dichlorometan:metanol 50:1, heksan:octan etylu 7:3, dichlorometan. Otrzymano związek **15** (138 mg; wyd. 29%) i związek **16** (83 mg; wyd. 10%).

Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis[2,5-di(bifenyl-4-ilo)-1*H*-pirolilo]-3,8,13,18-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (17)

Wykonano 4 eksperymenty

Eksperyment I

W kolbie okrągłodennej umieszczono **15** (200 mg; 0,5 mmol), octan palladu (2,2 mg; 0,01 mmol), fosforan(V) potasu (212 mg; 1 mmol), kwas fenyloboronowy (146 mg; 1,20 mmol) oraz dodano morfolinę (10ml). Całość mieszano ogrzewając w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Następnie, mieszaninę reakcyjną przesączono przez ziemię okrzemkową, a uzyskany przesącz poddano analizie za pomocą chromatografii cienkowsarstwowej. Nie stwierdzono przereagowania substratu **15**.

Eksperyment II

W kolbie okrągłodennej umieszczono **15** (200 mg; 0,50 mmol), octan palladu (11 mg; 0,005 mmol), węglan cezu (650 mg; 2 mmol), 1,3-bis(difenylofosfino)propan (21 mg; 0,05 mmol), kwas fenyloboronowy (146 mg; 1,20 mmol) oraz dodano morfolinę (10 ml). Całość mieszano ogrzewając w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Następnie, mieszaninę reakcyjną przesączono przez ziemię okrzemkową,

a uzyskany przesącz poddano analizie za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Nie stwierdzono przereagowania substratu **15**.

Eksperyment III

W kolbie okrągłodennej umieszczono **15** (20 mg; 0,001 mmol), octan palladu (11,25 mg; 0,005 mmol), węglan cezu (63 mg; 0,192 mmol), Pallad(0) tetrakis(trifenylofosfinę) (3,3 mg; 0,003 mmol) oraz toluen (3 ml). Całość ogrzewano, po osiągnięciu przez mieszaninę temp. 80°C dodano następnie kwas fenyloboronowy (14 mg; 0,012 mmol) rozpuszczony w etanolu (1 ml). Po 3 godz. reakcji, która była przeprowadzana w ciągłym wrzeniu dodano wodę (200 μ l). Całość mieszano ogrzewając w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Następnie, mieszaninę reakcyjną przesączono przez ziemię okrzemkową, a uzyskany przesącz poddano analizie za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Nie stwierdzono przereagowania substratu **15**.

Eksperyment IV

W kolbie okrągłodennej umieszczono **15** (30mg; 0,018 mmol), dipallad(0) tris(dibenzylidenoacetonu) (20 mg; 0,02 mmol), węglan cezu (94 mg; 0,29 mmol), tricykloheksylofosfinę (2 mg; 0,006 mmol), kwas fenyloboronowy (22 mg; 0,18 mmol) oraz dodano dioksan (10 ml). Całość mieszano ogrzewając w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Następnie mieszaninę reakcyjną schłodzono, przesączono przez ziemię okrzemkową, rozpuszczalnik odparowano uzyskując suchą pozostałość, którą oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej (heksan:octan 7:2, heksan:octan 7:3, dichlorometan). Otrzymano związek **17** (11 mg, wyd. 30%): tt. >300°C. R_f (heksan:octan etylu 7:2) 0,34. UV-Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} , nm (log ϵ) 326 (8,6), 437 (5,3), 654 (6,1), 734 (7,3). ^1H NMR (400 MHz; pirydyna- d_5): δ_{H} , ppm 7,95 (d, Ar), 7,76 (d, Ar), 7,67 (d, Ar), 7,45-7,42 (m, Ar) 7,45-7,42 (m, Ar) 7,35-7,27 (m, Ar), 7,08-6,92 (m, Ar) 6,75 (s, Ar) 2,84 (s N(CH $_3$)). ^{13}C NMR (100 MHz; pirydyna- d_5): δ_{C} , ppm 140,3; 140,1; 138,3; 131,9; 130,5; 129,5; 129,1; 129,0; 128,9; 128,7 128,1; 127,7; 127,4; 127,4; 127,1; 127,0; 126,8; 126,6; 126,5; 126,4; 111,9; 42,0. MS (MALDI TOF): m/z 1986,4 [M+H] $^+$.

VI.6. Synteza porfirazyny magnezowej funkcjonalizowanej peryferyjnie grupami 2-fenyl-5-metylopirolilowymi i dimetyloaminowymi

1-Fenylpentano-1,4-dion (**19**)

W kolbie okrągłodennej umieszczono but-3-en-2-on (486 μ l; 6 mmol), 3-benzylo-5-(2-hydroksyetylo)-4-metylo-1,3-tiazol (405 mg; 1,5mmol), 1,4-dioksan (4 ml) i trietyloamine (1 ml). Roztwór podgrzano do temperatury 80°C, następnie przez godzinę wkraplano aldehyd benzoesowy (450 μ l; 5 mmol) rozpuszczony w 1,4-dioksanie (2 ml). Reakcję prowadzono w temperaturze 80°C przez 20 godzin. Następnie reakcję odparowano do sucha, dodano wody (50 ml) i ekstrahowano z dichlorometanem (3x35 ml). Warstwę organiczną odparowano do sucha i wykonano kolumnę chromatograficzną (dichlorometan:metanol 20:1). Uzyskano produkt **19** (535 mg; wyd. 68%). MS ES: m/z 178 [M+H]⁺, 200 [M+Na]⁺.

2-Amino-3-(2-fenyl-5-metylo-1*H*-pirolilo)-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (**20**) [63]

W kolbie okrągłodennej zawieszono 1-fenylpentano-1,4-dion (838 μ l, 5 mmol) i DAMN (**1**) (540 mg, 5 mmol) w bezwodnym metanolu (40 ml), następnie dodano kataliczną ilość TFA (230 μ l). Reakcję mieszano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Po ostudzeniu próbę odparowano do sucha i przeprowadzono chromatografię kolumnową (CH₂Cl₂). Otrzymano żółte kryształy **20** (1,141 g; wyd. 92%). MS (ES⁺): m/z 249 [M+H]⁺, 271 [M+Na]⁺. MS (ES⁻): m/z 247 [M-H]⁻.

2-(2-Fenyl-5-metylo-1*H*-pirolilo)-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (**21**)

Wodorek sodu (60% zawieszony w oleju mineralnym) (285 mg; 7,14 mmol) zawieszono w tetrahydrofuranie (20 ml) w temperaturze -17°C. Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodawano przez 30 min maleonitryl **20** (805 mg; 3,24 mmol), rozpuszczony w tetrahydrofuranie (5 ml), utrzymując temperaturę -15°C. W dalszej kolejności, dodano kroplami siarczan dimetylu (677 μ l; 7,14 mmol), rozpuszczony w tetrahydrofuranie (2 ml), utrzymując temperaturę poniżej -10°C. Po dodaniu ostatniego odczynnika, uzyskaną mieszaninę pozostawiono przez 24 godz. w temp. pokojowej, po czym wylano na mieszaninę wody i lodu (100 ml) i ekstrahowano dichlorometanem (3 x 50 ml). Frakcję organiczną odparowano, a suchą pozostałość oczyszczono na drodze chromatografii kolumnowej (dichlorometan). Uzyskano **21** (260

mg; wyd. 86%): tt. 114°C. R_f (dichlorometan) 0,64. ^1H NMR (400 MHz; DMSO- d_6): δ_{H} , ppm 8,04 (s), 7,42-7,45 (m), 7,30-7,33 (m), 6,35 (d, 1H, pirol-H), 6,12 (dd 1H, pirol-H), 3,37 (s, 6H, N(CH₃)₂) 2,17 (s, 3H, CH₃-pirol). ^{13}C NMR (100 MHz; DMSO- d_6): δ_{C} , ppm 133,8; 132,25; 132,2; 131,4; 131,3; 128,9; 128,7; 128,45; 126,9; 126,5; 116,9; 113,05; 110,2; 109,3; 88,8; 40,9; 11,6. MS (ES⁺): m/z 277 [M+H]⁺, 299 [M+Na]⁺.

Magnez(II)-2,7,12,18-tetrakis-(2-fenyl-5-metylo-1H-pirolilo)-3,8,13,17-tetrakis-(dimetyloamino)porfirazyna (22)

W kolbie okrągłodennej umieszczono magnez (278 mg, 11,6 mmol) i kryształ I₂ ogrzewano w 30 ml 1-butanolu, w temp. wrzenia alkoholu, pod chłodnicą zwrotną, przez 6 godz. Uzyskaną mieszaninę schłodzono do temp. pokojowej i dodano maleonitryl **21** (800 mg; 2,9 mmol) w 2 ml DMF. Całość ogrzewano w temp. wrzenia butanolu przez 20 godz. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę schłodzono i otrzymany ciemnozielony roztwór przesączono przez ziemię okrzemkową i odparowano do sucha. Następnie przeprowadzono chromatografię kolumnową (dichlorometan, heksan:octan etylu 7:3), otrzymano związek **22** (88 mg; wyd. 31%) tt. > 300°C. R_f (heksan:octan etylu 7:3) 0,32. ^1H NMR (400 MHz; pirydyna- d_5): δ_{H} , ppm 7,59-7,40 (m, Ar), 6,88-6,65 (m, Ar), 6,55-6,47 (m, Ar), 3,50-3,47 (m, N(CH₃)), 3,43 (d, N(CH₃)), 2,49-2,09 (m, CH₃-pirol). ^{13}C NMR (100 MHz; pirydyna- d_5): δ_{C} , ppm 154,9; 154,8; 154,8; 154,7; 154,6; 151,0; 150,9; 149,1; 149,0; 148,9; 148,9; 137,8; 137,7; 137,6; 137,5; 135,9; 134,1; 129,0; 128,9; 128,4; 128,3; 128,2; 128,2; 127,5; 127,4; 127,4; 127,35; 127,3; 127,3; 127,2; 126,9; 126,8; 125,8; 125,7; 112,4; 112,3; 112,2; 112,1; 112,0; 108,9; 108,8; 108,8; 108,7; 42,3; 42,3; 42,2; 41,6; 13,9; 13,7; 13,7; 13,6; 13,5; 13,4; 12,9; 12,6. MS (MALDI TOF): m/z 1130,3 [M+H]⁺.

VI.7. Synteza porfirazyny magnezowej funkcjonalizowanej peryferyjnie grupami 2,3,5,-trifenylpiroliowymi i dimetyloaminowymi

2-Amino-3-[(2,3,5-trifenyl)-1H-pirolilo]-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (23)

W kolbie okrągłodennej zawieszono 1,2,4-trifenylbutano-1,4-dion (943 mg; 3 mmol) i DAMN (**1**) (324 mg; 3 mmol) w bezwodnym metanolu (30 ml), następnie dodano kataliczną ilość TFA (140 μl). Reakcję mieszano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godz. Po ostudzeniu próbę odparowano do sucha

i przeprowadzono chromatografię kolumnową (CH₂Cl₂). Otrzymano żółte kryształy **23** (394 mg; 34%) tt. 205°C. R_f (dichlorometan) 0,32. ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆): δ_H, ppm 8,20 (s, 2H, NH₂), 7,45-7,51 (m, 7H, Ar), 7,34-7,41 (m, 3H Ar), 7,19-7,25 (m, 4H, Ar), 7,10-7,15 (m, 1H Ar), 6,86(s, 1H, pirol). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆): δ_C, ppm 135,1; 134,8; 132,8; 131,7; 131,6; 131,5; 130,1; 128,7; 128,6; 128,4; 128,3; 127,7; 127,2; 127,1; 124,1; 117,1; 112,65; 111,0; 89,02. MS (ES⁺): *m/z* 387 [M+H]⁺, 409 [M+Na]⁺. MS (ES⁻): *m/z* 385 [M-H]⁻. Analiza elementarna: obliczono dla C₂₆H₁₈N₄: C 80,81; H 4,69; N 14,5. Znaleziono: C 80,63; H 4,42; N 14,27.

2-[(2,3,5-Trifenylo)-1H-pirolilo]-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (24)

Wodorek sodu (60% zawiesina w oleju mineralnym) (130 mg; 3,24 mmol) zawieszono w THF (10 ml) w temperaturze -17°C. Następnie do mieszaniny dodawano przez 30 min. dinitryl **23** (569 mg; 1,47 mmol), rozpuszczony w 5 ml THF, utrzymując temperaturę -15°C. W dalszej kolejności, dodano kroplami siarczan dimetylu (307 μl; 3,24 mmol), rozpuszczony w 2 ml THF, utrzymując temperaturę poniżej -10°C. Po dodaniu ostatniego odczynnika, mieszano przez 24 godz. w temp. pokojowej. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną wylano na lód i ekstrahowano dichlorometanem (3 x 50 ml). Frakcję organiczną odparowano, a suchą pozostałość oczyszczono na drodze chromatografii kolumnowej (CH₂Cl₂). Uzyskano **24** (473 mg; wyd. 78%), tt. 148°C. R_f (heksan:octan etylu 7:3) 0,6. ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆): δ_H, ppm 7,64 (d), 7,63 (s), 7,58 (d), 7,57 (d), 7,54-7,45 (m), 7,43 (s), 7,42 (t), 7,41 (t), 7,39 (t), 7,36 (d), 7,35 (t), 7,28-7,20 (m), 7,15 (t), 7,14 (t), 7,13 (t), 2,63 (s). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆): δ_C, ppm 136,7; 136,2; 135,3; 133,7; 132,1; 132,0; 131,5; 131,0; 129,2; 128,8; 128,7; 128,4; 128,1; 127,1; 126,4; 124,2; 87,4; 42,7. MS (ES⁻): *m/z* 413 [M-H]⁻. Analiza elementarna: obliczono dla C₂₆H₁₈N₄: C 81,13; H 5,35; N 13,52. Znaleziono: C 80,53; H 5,19; N 13,08.

Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis-(2,3,5-trifenylo-1H-pirolilo)-3,8,13,18-tetrakis-(dimetyloamino)porfirazyna (25)

W kolbie okrągłodennej umieszczono magnez (192 mg; 8 mmol) i kryształ I₂ ogrzewano w 20 ml 1-butanolu, w temp. wrzenia alkoholu, pod chłodnicą zwrotną, przez 6 godz. Uzyskaną mieszaninę schłodzono do temp. pokojowej i dodano dinitryl **24** (828 mg; 2,0 mmol) w 2 ml DMF. Całość ogrzewano w temp. wrzenia butanolu

przez 20 godz. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę schłodzono i otrzymaną ciemnozieloną mieszaninę przesączono przez ziemię okrzemkową i odparowano do sucha. Następnie przeprowadzono chromatografię kolumnową (CH₂Cl₂, heksan:octan etylu 7:3), otrzymano związek Uzyskano **25** (74 mg; wyd. 38%): tt. > 300 °C, R_f (heksan:octan etylu 7:5) 0,83. ¹H NMR (400 MHz; pirydyna-*d*₅): δ_H, ppm 7,89-7,90 (d), 7,80 (t) 7,74 (t) 7,69 (t), 7,55-7,62 (m), 7,47 (s), 7,46 (s), 7,44 (s), 7,42 (s), 7,40 (s), 7,34-7,38 (m), 7,32 (s), 7,31 (s), 7,29 (s), 7,21-7,26 (m), 7,07-7,11 (m), 6,92-7,04 (m), 6,67-6,86 (m), 6,60-6,70 (m), 6,48 (t), 6,33 (t), 3,43-3,46 (m N(CH₃)₂), 3,38 (s, N(CH₃)₂), 3,36 (s, N(CH₃)₂), 3,28 (s, N(CH₃)₂). ¹³C NMR (100 MHz; pirydyna-*d*₅): δ_C, ppm 154,7; 154,7; 154,6; 131,4; 131,3; 131,3; 131,2; 131,1; 128,8; 128,8; 128,7; 128,7; 128,4; 128,4; 128,3; 128,3; 128,1; 128,1; 125,9; 125,9; 110,1; 110,0; 42,4; 42,4; 42,3; 42,2.. MS (MALDI TOF): *m/z* 1683 [M+H⁺].

VI.8. Synteza, charakterystyka i właściwości sensoryczne porfirazyny posiadającej w peryferium ugrupowanie metylo(2-tienylometylo)aminowe

2-Amino-3-[(2-tienylometyleno)amino]-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (26)

Do kolby okrągłodennej dodano diaminomaleonitryl (2,16 g; 20 mmol), aldehyd 2-tiofenowy (1,8 ml; 20 mmol), metanol (30 ml) i kwas trifluorooctowy (3 krople). Zawartość kolby mieszano przez 5 min, następnie wytrącony osad odsączono i przemyto heksanem. Uzyskano żółty osad maleonitryl (3,45 g wyd. 85%): tt. 176°C, R_f (dichlorometan) 0,26; MS ES: *m/z* 203 [M+H]⁺, 225 [M+Na]⁺.

2-Amino-3-[(2-tienylometylo)amino]-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (27)

W kolbie okrągłodennej zawieszono maleonitryl **26** (1011 mg; 5 mmol) w metanolu (25 ml). Następnie w trzech równych porcjach, co 30 min, dodano borowodorek sodu (277 mg; 7,5 mmol). Po 15 min od dodania ostatniej porcji borowodorku sodu, roztwór wylano na mieszaninę wody i lodu (200 ml). Wytrącony osad odsączono i poddano oczyszczaniu na kolumnie chromatograficznej (dichlorometan). Uzyskano żółty osad maleonitryl **27** (821 mg wyd. 80%): tt. 149°C, R_f (dichlorometan) 0,23; MS ES: *m/z* 205 [M+H]⁺, 227 [M+Na]⁺.

2-[(2-Tienylometyleno)amino]-3-[(2-tienylometylo)amino]-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (28)

Do kolby okrągłodennej dodano maleonitryl **27** (788 mg; 3,9 mmol), aldehyd 2-tiofenowy (390 μ l; 4,25 mmol), metanol (20 ml) i kwas trifluorooctowy (3 krople). Zawartość kolby mieszano przez 5 min, następnie wytrącony osad odsączono i przemyto heksanem. Uzyskano żółty osad maleonitryl **28** (635 mg; wyd. 55%): tt. 192°C, R_f (dichlorometan) 0,42; MS ES: m/z 299 [M+H]⁺.

2,3-Bis-[(2-tienylometylo)amino-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (29)

Wykonano 2 eksperymenty

Eksperyment I

W kolbie okrągłodennej zawieszono maleonitryl **28** (849 mg; 1,8 mmol) w metanolu (16 ml). Następnie w trzech równych porcjach, co 30 min, dodano borowodrek sodu (102 mg; 2,8 mmol). Po 15 min od dodania ostatniej porcji borowodoru sodu, roztwór wylano na mieszaninę wody i lodu (200 ml). Wytrącony osad odsączono i poddano oczyszczaniu na kolumnie chromatograficznej (dichlorometan). Uzyskano żółty osad **29** (380 mg; wyd. 69%): tt. 168°C, R_f (dichlorometan) 0,35; MS ES: m/z 301 [M+H]⁺, 323 [M+Na]⁺.

Eksperyment II

W kolbie okrągłodennej zawieszono diaminomaleonitryl (432 mg; 4 mmol), aldehyd 2-tiofenowy (734 μ l; 8 mmol), kwas octowy (2 ml) i metanol (10 ml). Następnie przez 30 min wkraplano kompleks boronowy z 5-etylo-2-metylopirydyną (600 μ l; 4 mmol). Następnie mieszan reakcję w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Do mieszaniny dodano stężony kwas solny i ogrzewano w temperaturze 50°C przez 2 godziny. Następnie całość odparowano, a suchą pozostałość poddano chromatografii kolumnowej. Uzyskano żółty osad **29** (400 mg; wyd. 33%).

2,3-Bis-[metylo(2-tienylometylo)amino]-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (30)

Wodorek sodu (60% zawiesina w oleju mineralnym) (313 mg; 7,84 mmol) zawieszono w THF (16 ml) w temperaturze -17°C. Następnie do mieszaniny dodawano przez 30 min. dinitryl **29** (1071 mg; 3,57 mmol), rozpuszczony w 5 ml THF, utrzymując temperaturę -15°C. W dalszej kolejności, dodano kroplami siarczan dimetylu (744 μ l; 7,84 mmol), rozpuszczony w 2 ml THF, utrzymując temperaturę poniżej -10°C. Po dodaniu ostatniego odczynnika, uzyskaną mieszaninę ocieplano przez 24 godziny do uzyskania temp. pokojowej. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną wylano na lód i ekstrahowano dichlorometanem (3 x 50 ml). Frakcję organiczną odparowano, a suchą

pozostałość oczyszczono na drodze chromatografii kolumnowej (CH₂Cl₂). Uzyskano **30** (843 mg; wyd. 72%): tt. 158°C, R_f (dichlorometan) 0,4; MS ES: *m/z* 329 [M+H]⁺, 351 [M+Na]⁺.

Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis-[metylo(2-tienylometylo)amino]porfirazyna (31)

W kolbie okrągłodennej umieszczono magnez (93 mg; 4,1 mmol) i kryształ I₂ ogrzewano w 18 ml 1-butanolu, w temp. wrzenia alkoholu, pod chłodnicą zwrotną, przez 6 godz. Uzyskaną mieszaninę schłodzono do temp. pokojowej i dodano maleonitryl **30** (670 mg; 2 mmol). Całość ogrzewano w temp. wrzenia butanolu przez 20 godz. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę schłodzono i otrzymany ciemnofioletowy roztwór przefiltrowano przez Celit i odparowano do sucha. Następnie przeprowadzono chromatografię kolumnową (dichlorometan, heksan:octan etylu 7:3,), otrzymano związek **31** (119 mg, 17%): tt. > 300 °C, R_f(heksan:octan etylu 7:5) 0,83. ¹H NMR (400 MHz; pirydyna-*d*₅): δ_H, ppm 7,3 (dd), 7,05 (s), 7,04 (s) 7,00 (s), 6,91-6,89 (m), 3,60 (s), 3,39 (s). MS (MALDI TOF): *m/z* 1378 [M+H]⁺.

VI.9. Synteza, charakterystyka i właściwości przeciwbakteryjne ftalocyjanin posiadających ugrupowanie morfolinoetoksyłowe

3,6-Di[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]-1,2-dicyjanobenzen (32)

Do kolbki okrągłodennej zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną dodano 2,3-dicyjanohydrochinon (1,12 g; 7 mmol), chlorowodorek 4-(2-chloroetylo)morfoliny (3,26 g; 17,5 mmol), DMF (25 ml) oraz K₂CO₃ (4,00 g; 28 mmol). Całość ogrzewano w temperaturze 60°C przez 76 godz. Po reakcji mieszanina została wylana na 100 ml wody, a wydzielony osad został odsączony na lejku Schotta pod zmniejszonym ciśnieniem. Biały osad został przemyty kilkakrotnie wodą i pozostawiony do osuszenia. Uzyskano związek **3** (2,24 g; wyd. 86%): tt. 180-181°C. R_f (THF:metanol, 1:1) = 0,12. ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆): δ_H, ppm 7,67 (s, 2H), 4,29 (t, ³*J* = 6 Hz, 4H), 3,56 (t, ³*J* = 6 Hz, 4H), 2,72 (t, ³*J* = 6 Hz, 4H), 2,51 (t, ³*J* = 4 Hz, 4H). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆): δ_C, ppm 155,5; 121,4; 114,1; 103,5; 68,4; 66,6; 57,1; 54,0. MS (ES): *m/z* 387 [M+H]⁺, 409 [M+Na]⁺, 421 [M+Cl]⁻.

Magnez(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]ftalocyjanina (33)

Do kolby okrągłodennej zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną dodano wiórki magnezowe (72 mg; 3 mmol), butanol (20 ml) oraz katalityczną ilość jodu. Ogrzewano na łaźni olejowej w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 6 godzin. Roztwór butanolanu magnezu ochłodzono do temperatury pokojowej i dodano ftalonitryl **32** (773 mg; 2 mmol). Dalej kontynuowano ogrzewanie w temperaturze wrzenia przez kolejne 23 godziny. Następnie mieszaninę ochłodzono do temperatury pokojowej, przefiltrowano przez ziemię okrzemkową celem oddzielenia nierozpuszczalnych soli magnezowych. Ziemię okrzemkową przemyto dodatkowo toluenem. Po odparowaniu rozpuszczalników wykonano chromatografię kolumnową z wykorzystaniem fazy (dichlorometan:metanol 10:1) i dodatkiem 1% trietyloaminy. Otrzymano produkt **33** (433 mg; wyd. 55%) barwy zielonej. R_f (dichlorometan:metanol 10:1 z dodatkiem 1% trietyloaminy) 0,47. UV-Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} , nm ($\log \epsilon$) 800 (4,91), 745 (5,04), 327 (4,82). ^1H NMR (500 MHz; pirydyna- d_5): δ_{H} , ppm 8,00 (s, 8H); 5,40 (t, $^3J = 6$ Hz, 16H); 3,69 (t, $^3J = 6$ Hz, 16H); 3,30 (t, $^3J = 6$ Hz, 16H); 2,73 (s, 16H). ^{13}C NMR (125 MHz; pirydyna- d_5): δ_{C} , ppm 153,2; 152,2; 130,1; 119,6; 70,4; 67,2; 58,4; 54,7. MS MALDI: m/z 1571 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Cynk(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]ftalocyjanina (34)

Ftalonitryl **32** (1,55 g; 4,00 mmol), DBU (0,6 ml), octan cynku (0,74 g; 4,00 mmol) i pentanol (3 ml) umieszczono w kolbie okrągłodennej i ogrzewano na łaźni olejowej w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 23 godziny. Po tym czasie mieszaninę ochłodzono do temperatury pokojowej i odparowano rozpuszczalniki z dodatkiem toluenu. Po chromatografii kolumnowej w fazach (dichlorometan:metanol: 20:1 z dodatkiem 1% trietyloaminy oraz octan etylu:metanol 5:1 z dodatkiem 1% trietyloaminy) otrzymano produkt **34** (138 mg; wyd 9%). R_f (dichlorometan:metanol 10:1 z dodatkiem 1% trietyloaminy) 0,61. UV-Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} , nm ($\log \epsilon$) 803 (4,82), 740 (5,28), 672 (4,68), 328 (4,91). ^1H NMR (500 MHz; pirydyna- d_5): δ_{H} , ppm 8,00 (s, 8H); 5,39 (t, $^3J = 5$ Hz, 16H); 3,68 (t, $^3J = 4$ Hz, 16H); 3,30 (t, $^3J = 5$ Hz, 16H); 2,72 (s, 16H). ^{13}C NMR (100 MHz; pirydyna- d_5): δ_{C} , ppm 153,80; 152,63; 130,16; 120,29; 71,01; 67,80; 58,95; 55,28. MS MALDI: m/z 1609,7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Jodek magnez(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(4-N-metylmorfolin-4-ilo)etoksy]ftalocyjaniny (35)

W kolbie okrągłodennej rozpuszczono ftalocyjaninę magnezową **33** (200 mg; 0,13 mmol) w chloroformie (12 ml). Dodano jodek metylu (518 μ l, 8,32 mmol) i mieszaninę ogrzewano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 4 godziny. Po tym czasie utworzony osad został oddzielony na sączku od rozpuszczalników na drodze filtracji na lejku Schotta i przemyty kolejno acetonem, metanolem i eterem dietylowym. Po osuszeniu otrzymano produkt **35** barwy zielonej (320 mg, wyd. 93%). UV-Vis (CH_2Cl_2): λ_{max} , nm (log ϵ) 736 (2,87), 663 (2,82) 378 (2,58) 324 (2,51). ^1H NMR (500 MHz; D_2O): δ_{H} , ppm 7,92 (s, 8H); 5,38 (s, 16H); 4,29 (s, 16H); 3,92 (t, $^3J=8$ Hz, 16H); 3,51 (s, 16H); 3,29 (s, 24H). ^{13}C NMR (100 MHz; D_2O): δ_{C} , ppm 152,08; 149,11; 127,55; 117,41; 64,78; 63,94; 60,83; 60,32; 47,35.

VI.10. Przygotowanie liposomów zawierających porfirazyny (4, 10, 15, 22, 25)

Chlorek N-(1-(2,3-dioleiloksy)propylo-N,N,N-trimetyloaminowy (DOTAP) oraz 1-palmitoilo-2-oleoilo-sn-glicero-3-fosfocholina (POPC) zostały zakupione od firmy Avanti – INstruChemie. Liposomy zostały otrzymane metodą hydratacji cienkiej warstwy lipidowej [110]. Odpowiednie ilości roztworów lipidów i makrocykli w chloroformie (DOTAP– 25 mg/ml, POPC – 25 mg/ml, makrocykle – 0,4 mg/ml) wymieszano i odparowano do sucha przy wykorzystaniu wyparki obrotowej. Powstałe na ściankach probówek filmy lipidowe suszono pod próżnią przez noc w celu odparowania pozostałości chloroformu. Następnie, do wysuszonych filmów lipidowych dodano roztwór buforu HBS (10 mM HEPES (N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid)), 140 mM NaCl, pH=7,4) i wytrząsano przez około 5-10 minut przy wykorzystaniu wytrząsarki Vortex Genie 2 digital. Otrzymaną zawiesinę liposomów przepuszczono 21 razy przez błonę poliwęglanową o średnicy porów 100 nm, stosując ekstruder strzykawkowy (Avanti Polar Lipids) w celu uzyskania jednowarstwowych liposomów o równomiernym rozkładzie wielkości. Stosunek molowy składników w formułacjach liposomalnych wynosił: makrocykl – 0.1, POPC – 8, PG – 2. Rozmiar liposomów określano metodą dynamicznego rozpraszania światła oraz techniką bezpośredniej wizualizacji przy wykorzystaniu analizatora NanoSight NS500. Wartość średnia średnicy liposomów po ekstruzji wynosiła: (i) **4** – 162 nm (główna frakcja – 122 nm, SD – 77 nm), (ii) **10** – 143 nm (główna frakcja – 110 nm, SD – 61 nm), (iii) **15** – 201 nm (główna frakcja – 133 nm, SD – 102 nm), (iv) **22** – 147 nm (główna frakcja –

119nm, SD – 69 nm). Natomiast średnica wolnych liposomów nie zawierających makrocycyli, otrzymanych jako próba odniesienia w badaniach mikrobiologicznych wynosiła 143 nm (główna frakcja – 101 nm, SD – 70 nm).

VII. STRESZCZENIE

Synteza, charakterystyka i właściwości biologiczne nowych układów porfiryńoidowych o rozbudowanych grupach peryferyjnych

W pracy przedstawiono wyniki przeprowadzonych badań obejmujących syntezę i charakterystykę nowych układów porfiryńoidowych posiadających rozbudowane układy peryferyjne. Otrzymane związki to przede wszystkim aminoporfirazyńy posiadające rozbudowane ugrupowania pirolilowe, takie jak: 2,5-dimetylopirolilowe, 2,5-difenylopirolilowe, 2,5-di(4'-chlorofenylo)pirolilowe, 2,5-dibifenylopirolilowe, 2-fenyl-5-metylopirolilowe, 2,3,5-trifenylopirolilowe. Związki te poddano badaniom fizyko-chemicznym. Dla niektórych porfirazyńy i prekursorowych maleonitryli uzyskano struktury rentgenograficzne. Otrzymane makrocykle inkorporowano do liposomów i poddano, we współpracy z Katedrą i Zakładem Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, badaniom mikrobiologicznym. Związki te wykazały słabe działanie przeciwbakteryjne.

Kolejna grupa związków otrzymanych w pracy obejmuje porfirazyńy posiadające peryferyjne podstawniki metylo(2-tienylometylo)aminowe. W pracy przeprowadzono ich syntezę i charakterystykę fizyko-chemiczną. Dla porfirazyńy magnezowej ze wspomnianym ugrupowaniem wykonano badania potwierdzające właściwości sensoryczne z użyciem kationów palladu (II). Inne uzyskane makrocykle z tej grupy okazały się być niestabilne fotochemicznie.

Ostatnią grupą związków uzyskanych w pracy są ftalocyjaniny posiadające ugrupowania morfolinoetoksyłowe. Związki te otrzymano i poddano charakterystyce. Ftalocyjanina magnezowa z ugrupowaniem morfolinoetoksyłowym przekształcona do postaci soli czwartorzędowej okazała się działać silnie bakteriobójczo, zarówno na szczepy bakterii gram dodatnich, jak i gram ujemnych. Ponadto wykazała słabe właściwości przeciwgrzybiczne.

VIII. ABSTRACT

Synthesis, characterization and biological properties of novel porphyrinoid systems with bulky peripheral groups

The thesis presents the results of a study involving the synthesis and characterization of new porphyrinoid systems with bulky peripheral substituents. The main compounds are aminoporphyrazines with pyrrolyl groups such as: 2,5-dimethylpyrrolyl, 2,5-diphenylpyrrolyl, 2,5-di(4'-chlorophenyl)pyrrolyl, 2,5-dibiphenylpyrrolyl, 2-phenyl-5-methylpyrrolyl, 2,3,5-triphenylpyrrolyl. The compounds were subject to physico-chemical studies. For some porphyrazines and their precursor maleonitriles X-ray structures were obtained. The macrocycles were incorporated into liposomes and subjected to microbiological investigations in collaboration with the Department of Genetics and Pharmaceutical Microbiology at the University of Medical Sciences in Poznań. These compounds showed weak antibacterial activity.

Another group of compounds obtained within the studies embraces porphyrazines possessing peripheral substituents such as methyl(2-thienylmethyl)amine groups. The thesis presents their synthesis and physico-chemical characteristics. Magnesium porphyrazine was studied in terms of sensor properties with palladium(II) ions. Other derived macrocycles of this group were found to be photochemically unstable.

The final groups of compounds obtained in the thesis constitute phthalocyanines possessing morpholinoethoxy groups. Magnesium phthalocyanine with morpholinoethoxy moieties was converted into a quaternary salt which was proved to act strongly antiseptic against both strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Moreover, this molecule showed weak antifungal properties.

IX. BIBLIOGRAFIA

- [1] Wzgarda A., Synteza i właściwości fizyko–chemiczne porfirazyn posiadających rozbudowane ugrupowania diarylopirolilowe w części peryferyjne. Praca magisterska, Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, **2012**.
- [2] Ściepura M., Synteza i charakterystyka fizyko-chemiczna nowych koniugatów porfirynoidowo – imidazolowych. Praca magisterska, Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, **2012**.
- [3] Nowak M., Synteza i właściwości fizyko – chemiczne porfirazyn posiadających rozbudowane ugrupowania pirolilowe w części peryferyjnej. Praca magisterska, Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, **2011**.
- [5a, 5b] Wzgarda A., Koczorowski T., Nowak M., Lijewski S., Czarczyńska-Goślińska B., Szczołko W., Gośliński T., Terapia fotodynamiczna z udziałem fotouczulaczy porfirynoidowych jako narzędzie współczesnej medycyny i wyzwanie dla farmacji. *Czasopismo Aptekarskie* **2012**, przyjęte do druku.
- [6] Tudaj A., Podbielska H., Zychowicz J., Stręk W., Światło leczy – wprowadzenie do terapii i diagnostyki fotodynamicznej, w: Diagnostyka i terapia fotodynamiczna, Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław **2004**, 1.
- [7] Allison R.R., Sibata C.H.: Oncologic photodynamic therapy photosensitizers. A clinical review. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2010**, 7, 61.
- [8] Osmalek T., Gośliński T.: Rozwój badań dotyczących fotodynamicznej terapii onkologicznej. *Farmacja Polska*, **2009**, 65, 549.
- [9] Kessel D.: Photodynamic therapy: from the beginning. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2004**, 1, 3.
- [10] Allison R.R., Mota H.C., Sibata C.H.: Clinical PD/PDT in North America: An historical review. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2004**, 1, 263.
- [11] Bagnato V.S. i wsp.: PDT experience in Brazil: A regional profile. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2005**, 2, 107.
- [12] Allison R. i wsp.: The future of photodynamic therapy in oncology. *Future Oncol.*, **2006**, 2, 53.

- [13] Konopka K., Goslinski T.: Photodynamic therapy in dentistry. *J. Dent. Res.*, **2007**, 86, 694.
- [14] Allison R. i wsp.: Photodynamic therapy (PDT) for lung cancer. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2011**, 8, 231.
- [15] Allison R.R. i wsp.: PD/PDT gynecological disease: A clinical review. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2005**, 2, 51.
- [16] Wyss P. i wsp.: Photodynamic therapy of locoregional breast cancer recurrences using a chlorin-type photosensitizer. *Int. J. Cancer*, **2001**, 93, 720.
- [17] Weinstein G.D. i wsp.: Low dose photofrin II photodynamic therapy of psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, **1991**, 96, 573.
- [18] Ogino T. i wsp.: Photodynamic therapy for age-related macular degeneration in Japanese patients: results after one year. *Jpn. J. Ophthalmol.*, **2007**, 51, 210.
- [19] Sharwani A. i wsp.: Fluorescence spectroscopy combined with 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in detecting oral premalignancy. *J. Photochem. Photobiol., B*, **2006**, 83, 27.
- [20] Wainwright M., Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J. Antimicrob. Chemother.*, **1998**, 42, 13.
- [21] Wainwright M., Dyes in the development of drugs and pharmaceuticals. *Dyes Pigm.*, **2008**, 76, 582.
- [22] Celli J.P., Spring B.Q., Rizvi I. i wsp.: Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring and optimization. *Chem. Rev.*, **2010**, 110, 2795.
- [23] Gośliński T. i wsp.: Perspektywy zastosowania fotodynamicznej terapii skierowanej przeciw mikroorganizmom – PACT. *Post. Mikrobiol.*, **2008**, 47, 447.
- [24] Wainwright M., Baptista M.S.: The application of photosensitizers to tropical pathogens in the blood supply. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2011**, 8, 240.
- [25] Allison R.R., Downie G.H., Cuenca R. i wsp.: Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2004**, 1, 27.
- [26] Kübler A.C.: Photodynamic therapy. *Med. Laser Appl.*, **2005**, 20, 37.
- [27] Steiner R.: New laser technology and future applications. *Med. Laser Appl.*, **2006**, 21, 131.
- [28] Kessel D.: Death pathways associated with photodynamic therapy. *Med. Laser Appl.*, **2006**, 21, 219.

- [29] Castano A.P., Demidova T.N., Hamblin M.R.: Mechanisms in photodynamic therapy: part one - photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2004**, 1, 279.
- [30] O’Riordan K., Akilov O.E., Hasan T.: The potential for photodynamic therapy in the treatment of localized infections. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2005**, 2, 247.
- [31] Donnelly R.F., McCarron P.A., Tunney M.M., Antifungal photodynamic therapy, *Microbiol. Res.*, **2008**, 163, 1.
- [32] Ebermann R., Alth G., Kreitner M., Kubin A.: Natural products derived from plants as potential drugs for the photodynamic destruction of tumor cells. *J. Photochem. Photobiol.* **1996**, 36, 95.
- [33] Cieckiewicz E., Angenot L., Gras T. i wsp.: Potential anticancer activity of young *Carpinus betulus* leaves. *Phytomedicine*, **2012**, 19, 278.
- [34] Kitamura N., Kohtani S., Nakagaki R.: Molecular aspects of furocoumarin reactions: Photophysics, photochemistry, photobiology, and structural analysis. *J. Photochem. Photobiol. C*, **2005**, 6, 168.
- [35] Pfaffel-Schubart G., Scalfi-Happ C., Rück A.: Early and late apoptotic events induced in human glioblastoma cells by Hypericin PDT. *Med. Laser Appl.*, **2008**, 23, 25.
- [36] Huygens A., Kamuhabwa A.R., Van Laethem A. i wsp.: Enhancing the photodynamic effect of hypericin in tumour spheroids by fractionated light delivery in combination with hyperoxygenation. *Int. J. Oncol.*, **2005**, 26, 1691.
- [37] Pfaffel-Schubart G., Rück A., Scalfi-Happ C.: Modulation of cellular Ca²⁺-signaling during hypericin-induced photodynamic therapy (PDT). *Med. Laser Appl.*, **2006**, 21, 61.
- [38] Du H., Olivo M., Mahendran R. i wsp.: Modulation of matrix metalloproteinase-1 in nasopharyngeal cancer cells by photoactivation of hypericin. *Int. J. Oncol.*, **2004**, 24, 657.
- [39] Hendrickx N., Dewaele M., Buytaert E. i wsp.: Targeted inhibition of p38alpha MAPK suppresses tumor-associated endothelial cell migration in response to hypericin-based photodynamic therapy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2005**, 337, 928.
- [40] Zhang W., Lawa R.E., Hinton D.R. i wsp.: Growth inhibition and apoptosis in human neuroblastoma SK-N-SH cells induced by hypericin, a potent inhibitor of protein kinase C. *Cancer Lett.*, 96, **1995**, 31.

- [41] Lee H.B., Ho A.S.H., Teo S.H.: p53 Status does not affect photodynamic cell killing induced by hypericin. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2006**, 58, 91.
- [42] Lüthi M., Gyenge E.B., Engström M. i wsp.: Hypericin - and mTHPC - mediated photodynamic therapy for the treatment of cariogenic bacteria. *Med. Laser Appl.*, **2009**, 24, 227.
- [43] Allison R.R. i wsp.: Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2004**, 1, 27.
- [44] Paszko E. i wsp.: Nanodrug applications in photodynamic therapy. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2011**, 8, 14.
- [45] García-Díaz M. i wsp.: Do folate-receptor targeted liposomal photosensitizers enhance photodynamic therapy selectivity?. *Biochem. Biophys. Acta*, **2011**, 1808, 1063.
- [46] R. Misra, S. Acharya, S.K. Sahoo: Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. *Drug Discovery Today*, **2010**, 15, 842.
- [47] D.K. Chatterjee, L.S. Fong, Y. Zhang: Nanoparticles in photodynamic therapy: An emerging paradigm. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2008**, 60, 1627.
- [48] Smith R.P.: Photodynamic therapy. *Curr. Probl. Cancer*, **2002**, 26, 61.
- [49] De Dominicis C. i wsp.: Role of 5-aminolevulinic acid in the diagnosis and treatment of superficial bladder cancer: improvement in diagnostic sensitivity. *Urology*, **2001**, 57, 1059.
- [50] Allison R.R. i wsp.: Clinical photodynamic therapy of head and neck cancers – A review of applications and outcomes. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2005**, 2, 205.
- [51] Kömerik N., MacRobert A.J.: Photodynamic therapy as an alternative antimicrobial modality for oral infections. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, **2006**, 25, 487.
- [52] Donnelly R.F., McCarron P.A., Tunney M.M.: Antifungal photodynamic therapy. *Microbiol. Res.* **2008**, 163, 1.
- [53] Romagnoli C. i wsp.: The photodynamic effect of 5-(4-hydroxy-1-butinyl)-2,2'-bithienyl on dermatophytes. *Mycol. Res.*, **1998**, 102, 1519.
- [54]. Meunier B., de Visser S.P., Shaik S.: Mechanism of oxidation reactions catalysed by cytochrome P450 enzymes. *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 3947.
- [55] Trytek M., Fiedurek J., Polska K., Makarska M., Radzki S.: Porfiryny i ftalocyjaniny. Cz. II. Porfiryny jako biomimetyczne katalizatory transformacji związków organicznych. *Biotechnologia*, **2005**, 71, 128.

- [56] Guengerich F.P.: Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. *Chem. Res. Toxicol.*, **2001**, 14, 611.
- [57] Dos Santos M. D., Martins P. R., Dos Santos P. A., Bortocan R., Iamamoto Y., Lopes N. P.: Oxidative metabolism of 5-o-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), a bioactive natural product, by metalloporphyrin and rat liver mitochondria. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2005**, 26, 62.
- [58] Higuchi T., Hirobe M.: Four recent studies in cytochrome P450 modelings: A stable iron porphyrin coordinated by a thiolate ligand; a robust ruthenium porphyrin - pyridine N-oxide derivatives system; polypeptide-bound iron porphyrin; application to drug metabolism studies. *J. Mol. Catal. A Chem.*, **1996**, 113, 403.
- [59] Chorghade M. S., Hill D. R., Lee E. C., Pariza R. J., Dolphin D. H., Hino F., Zhang L. Y.: Metalloporphyrins as chemical mimics of cytochrome P-450 systems. *Pure Appl. Chem.*, **1996**, 68, 753.
- [60] Othman S., Mansuy-Mouries V., Bensoussan C., Battioni P., Mansuy D., Hydroxylation of diclofenac: an illustration of the complementary roles of biomimetic metalloporphyrin catalysts and yeasts expressing human cytochromes P450 in drug metabolism studies. *C. R. Acad. Sci. Paris. Serie Iic. Chimie. Chemistry*, 2000, 3, 751.
- [61] Faria A. L., Mac Leod T. C. O., Assis M. D.: Carbamazepine oxidation catalyzed by iron and manganese porphyrins supported on aminofunctionalized matrices. *Catal. Today*, **2008**, 133-135, 863.
- [62] Hill D. R., Celebuski J. E., Pariza R. J., Chorghade M. S., Levenberg M., Pagano T., Cleary G., West P., Whittern D.: Novel macrolides via meso-tetrarylmetalloporphyrin assisted oxidations. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 787.
- [63] Belgand R.W., Hartter D.R., Jones F.N., Sam D.J., Sheppard W.A., Webster O.W., Weigert F.J., Hydrogen Cyanide Chemistry. VIII New Chemistry of Diaminomaleonitrile. *Heterocyclic Synthesis. J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 2341.
- [64] Michel S.L.J., Hoffman B.M., Baum S.M., Barrett A.G.M., Peripherally Functionalized Porphyrazines: Novel Metallomacrocycles with Broad, Untapped Potential. *Prog. Inorg. Chem.*, 2001, 50, 473.
- [65] Rodriguez-Morgade M.S., Stuzhin P.A., The chemistry of porphyrazines: an overview. *J. Porphyr. Phthalocya.*, 2004, 8, 1129.
- [66] Fuchter M.J., Beall L.S., Baum S.M., Montalban A.G., Sakellariou E.G., Mani N.S., Miller T., Vesper B.J., White A.J.P., Williams D.J., Barrett A.G.M., Hoffman

B.M., Synthesis of porphyrazine-octaamine, hexamine and diamine derivatives., *Tetrahedron*, **2005**, 61, 6115.

[67] Mague J. T., Eduok E. E., Chemistry of diaminomaleonitrile: synthesis and structure of two unexpected products from its condensation with 2,5-hexanedione. *J Chem Cryst*, **2000**, 30, 311.

[68] Beall L. S., Mani N. S., White A. J. P., Williams D. J., Barret A. G. M., Hoffman B. M., Porphyrazines and norphthalocyanines bearing nitrogen donor pockets: Metal sensor properties. *J Org Chem*, **1998**, 63, 5806.

[69] Goślinski T., Dutkiewicz Z., Kryjewski M., Tykarska E., Sobotta Ł., Szczołko W., Gdaniec M., Mielcarek J., Experimental and computational study on the reactivity of 2,3-bis[(3-pyridylmethyl)amino]-2(Z)-butene-1,4-dinitrile, a key intermediate for the synthesis of tribenzoporphyrazine bearing peripheral methyl(3-pyridylmethyl)amino substituents. *Monats Chem*, **2011**, 142, 599.

[70] Dwyer T. J., Jasien P. G., Electronic effects in a prototype push-pull ethylene: a study of rotational barriers in C₄H₄N₄ isomers, *J Mol Struct (Theochem)*, **1996**, 363, 139.

[71] Montalban A.G, Jarrell W, Riguet E, McCubbin Q.J, Anderson M.E., White A.J., Williams D.J., Barrett A.G., Hoffman B.M., Bis(dimethylamino)porphyrazines: synthetic, structural, and spectroscopic investigations. *J. Org. Chem.* 2000, 65, 2472.

[72] Anderson E., Barrett A.G.M., Hofmann B.M., Super-Charged Porphyrazines: Synthesis and Physical Properties of Octacationic Tetraazaporphyrins. *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 6143.

[73] Beletskaya I, Tyurin VS, Tsivadze AY, Guillard R, Stern C, *Chem Rev.*, 2009, 109, 1659.

[74] Sakellariou E. G, Montalban A. G., Meunier H. G., Ostler R. B., Rumbles G., Barrett A. G. M., Hoffman B. M., Synthesis and photophysical properties of peripherally metallated bis(dimethylamino)porphyrazines. *J. Photochem. Photobiol. A*, **2000**, 136, 185.

[75] Montalban A.G., Lange S.J., Beall L.S., Neelakandha S. Mani, Williams D.J., White A.J.P., Barrett A.G.M., Hoffman B.M., Seco-Porphyrazines: Synthetic, Structural, and Spectroscopic Investigations. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 9284.

[76] Montalban A.G., Meunier H.G., Ostler R.B., Barrett A.G.M., Hoffman B.M., Rumbles G., Photoperoxidation of a Diamino Zinc Porphyrazine to the seco-Zinc Porphyrazine: Suicide or Murder?. *J. Phys. Chem. A*, , **1999**, 103, 4352.

- [77] Gośliński T., Tykarska E., Szczołko W., Osmałek T., Śmigielka A., Walorczyk S., Zong H., Gdaniec M., Hoffman B. M., Mielcarek J., Sobiak S., Synthesis and characterization of periphery-functionalized porphyrazines containing mixed pyrrolyl and pyridylmethylamino groups. *J. Porphyr. Phthalocya*, 2009, 13, 223.
- [78] Luo Q., Cheng S., Tian H., Synthesis and photochromism of a new binuclear porphyrazinato magnesium (II). *Tetrahedron Lett*, 2004, 45, 7737.
- [79] Gośliński T., White A. J. P., Synthesis, characterization and spectroscopic properties of novel periphery – functionalized unsymmetrical porphyrazines containing mixed dithienylpyrrolyl and dimethylamino groups. *Polyhedron*, 2009, 28, 2579.
- [80] Lange S.J., Nie H., Stern C.L., Barrett A.G.M., Hoffman B.M., Peripheral Palladium(II) and Platinum(II) Complexes of Bis(dimethylamino)porphyrazine. *Inorg. Chem.*, 1998, 37, 6435.
- [81] Goldberg D., Montalban A., White A.J.P., Williams D.J., Barrett A.G.M., Hoffman B., Metal Ion Binding to Octakis(dimethylamino)porphyrazine Core Coordination of Mn(III) and Peripheral Coordination of Pd(II). *Inorg. Chem.* 1998, 37, 2873.
- [82] Zhao M., Stern C. Barrett A.G.M., Hoffman B.M., Porphyrazines as Molecular Scaffolds: Periphery-Core Spin Coupling between Metal Ions of a Schiff Base Porphyrazine. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, 42, 462
- [83] Zhao M, Zhong C.C., Stern C.C., Barrett A.G., Hoffman B., Synthesis and Properties of Dimetallic M1[Pz]-M2[Schiff Base] complexes. *Inorg. Chem.* 2004, 43, 3377.
- [84] Zhong C.C, Zhao M.M, Goslinski T., Stern C.C., Barrett A.G., Hoffman B., Porphyrazines peripherally functionalized with hybrid ligands as molecular scaffolds for bimetallic metal-ion coordination. *Inorg. Chem.*, 2006, 45, 3983.
- [85] Goslinski T., Zhong C., Fuchter M.J., Stern C., White A.J.P., Barrett A.G.M., Hoffman B.M., Porphyrazines as molecular scaffolds: Flexible syntheses of novel multimetallic complexes. *Inorg. Chem.*, 2006, 45, 3686.
- [86] Bilgin A., Ertem B., Gok Y., Novel porphyrazines containing peripherally functionalized macrocyclic (N₂O₂, N₂S₂) units: Synthesis and characterization, *Dyes Pigm.* 2009, 80, 187.
- [87] Lee B.H., Jaung J.Y., Jang S.C., Yi S.C., Synthesis and optical properties of push-pull type tetrapyrazinoporphyrazines. *Dyes Pigm.*, 2005, 65, 159.

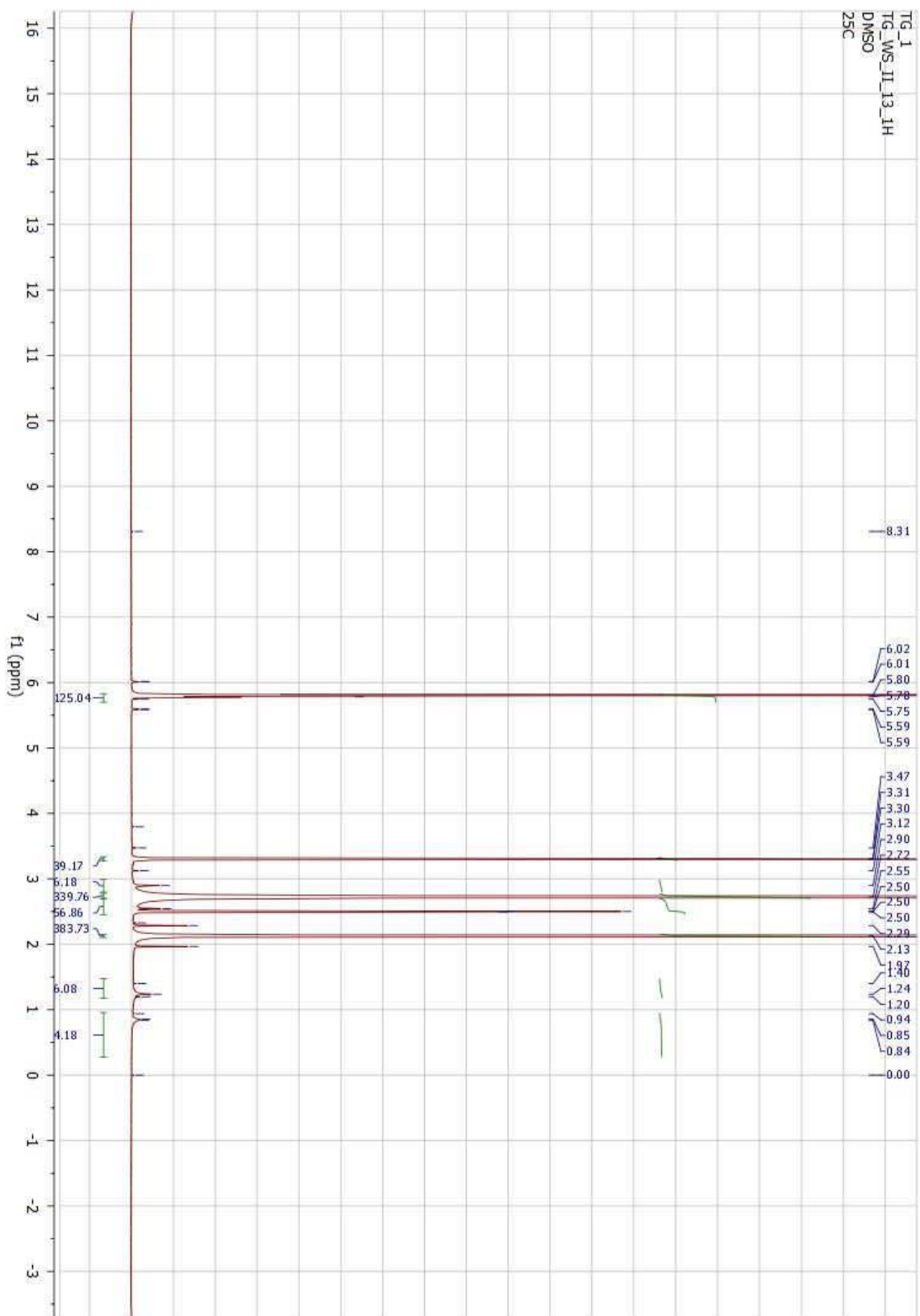
- [88] Tomachynskiy S., Korobko S., Tomachynski L., Palenko V., Synthesis and spectral properties of new tetrakis-2,3-{5,7-bis[(E)-2-(4-methylphenyl)vinyl]--pyrazino} porphyrazine metal complexes. *Opt. Mater.*, **2011**, 33, 1553.
- [89] Zimcik P., Miletin M., Musil Z., Kopecky K., Kubza L., Brault D., Cationic Azaphthalocyanines bearing aliphatic tertiary amino substituents- Synthesis, singlet oxygen production and spectroscopic studies. *J. Photochem. Photobiol. A*, **2006**, 183, 59.
- [90] Onay H., ESTAT B., Ozturk R., The symmetrical porphyrazine with annulated six membered rings. *Polyhedron*, **2010**, 29, 1314.
- [91] Angeloni S., Ercolani C., New classes of porphyrazine macrocycles with annulated heterocyclic rings. *J. Porphyr. Phthalocya.*, 2000, 4, 474.
- [92] Piskorz J., Tykarska E., Gdaniec M., Gośliński T., Mielcarek J., Synthesis, spectroscopic and photophysical properties of novel styryldiazepinoporphyrazine. *Inorg. Chem. Commun.*, **2012**, 20, 13.
- [93] Donzello M. P., Ercolani C., Stuzhin P. A., Chiesi-Villa A., Rizzoli C., Porphyrazines with annulated diazepine rings, 1 Synthesis and characterisation of tetrakis-2,3-(5,7-diphenyl-6H-1,4-diazepino)porphyrazine and its MgII, CuII, and ZnII complexes – X-ray crystal structure of 2,3-dicyano-5,7-diphenyl-6H-1,4-diazepine. *Eur J Inorg Chem*, **1999**, 2075.
- [94] Donzello M. P., Dini D., D’Arcangelo G., Ercolani C., Zhan R., Ou Z., Stuzhin P. A., Kadish K. M., Porphyrazines with annulated diazepine rings. 2. Alternative synthetic route to tetrakis-2,3-(5,7-diphenyl-1,4-diazepino)porphyrazines: New metal complexes, general physicochemical data, ultraviolet-visible linear and optical limiting behavior, and electrochemical and spectroelectrochemical properties. *J Am Chem Soc*, **2003**, 125, 14190.
- [95] Donzello M. P., Ercolani C., Mannina L., Viola E., Bubnova A., Khelevina O., Stuzhin P. A., Synthetic and spectroscopic properties of low-symmetry tribenzoporphyrazine, with annulated 6H-1,4-diazepine ring. *Aust J Chem*, **2008**, 61, 262.
- [96] Gośliński T., Piskorz J., Brudnicki D., White A. J. P., Daniec M., Szczołko W., Tykarska E., Synthesis and photochemical characteristics of novel tribenzoporphyrazines possessing peripherally annulated tetrahydrodiazepine and diazepine rings. *Polyhedron*, **2011**, 30, 1004.

- [92] Horiguchi E., Shirai K., Jaung J., Furusyo M., Takagi K., Matsuoka M., New syntheses and spectral properties of diazepine fluorescent-dyes with non-planar molecular structure. *Dyes Pigm*, **2001**, 50, 99.
- [97] Baum S., Trabanco A. A., Montalban A. G., Micallef A. S., Zhong C., Meunier H. G., Suhling K., Philips D., White A. J. P., Williams D. J., Barrett A. G. M., Hoffman B. M., Synthesis and reactions of aminoporphyrazines with annulated five- and seven-membered rings. *J Org Chem*, **2003**, 68, 1665.
- [98] Kuznetsova N., Gretsova N., Kalmykova E., Makarova E., Dashkevich S., Negrimovskii V., Kaliya O., Luk'yanets E., Generation of singlet oxygen with anionic aluminium phthalocyanines in water. *Russ J Gen Chem*, **2000**, 70, 133.
- [99] Ruggiero A.; Fuchter M. J.; Kokas O. J.; Negru M.; White A. J. P.; Haycock P. R.; Clays K.; Hoffman B. M.; Barrett A. G. M., A "Push-Pull" Tropylium-Fused Aminoporphyrazine. *Tetrahedron*, **2009**, 65, 9690.
- [100] Chowdhury A., Wachsmann-Hogiu S., Bangal P.R., Raheem I., Peteanu L.A., Characterization of Chiral H and J Aggregates of Cyanine Dyes Formed by DNA Templating Using Stark and Fluorescence Spectroscopies. *J. Phys. Chem. B*, **2001**, 105, 12196.
- [101] Ceylan M., Gürdere M. B., Budak Y., Kazaz C., Seçen H., One step preparation of symmetrical 1,4-diketones from α -halo ketones in the presence of Zn-I₂ as a condensation agent. *Synthesis*, **2004**, 11, 1750.
- [102] Guo M., Zhu Z., Huang H., Zhang Q., Phosphine-free palladium catalyzed Suzuki coupling of aryl chlorides in morpholine under aerobic conditions. *Catalysis Comm.*, **2009**, 10, 865.
- [103] Zhang C., Huang J., Trudell M. L., Nolan S. P., Palladium- Imidazol-2-ylidene Complexes as Catalysts for Facile and Efficient Suzuki Cross-Coupling Reactions of Aryl Chlorides with Arylboronic Acids. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 3804.
- [104] Shen W., Palladium Catalyzed Coupling of Aryl Chlorides with Arylboronic Acids, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 5575.
- [105] Lehmler H-J., Robertson L. W., Synthesis of polychlorinated biphenyls (PCBs) using the Suzuki-coupling. *Chemosphere*, **2001**, 45, 137.
- [106] Littke A. F, Fu G. C., A Convenient and General method for Pd-Catalyzed Suzuki Cross-Couplings of Aryl Chlorides and Arylboronic Acids, *Angew Chem.* **1998**, 37, 3724.

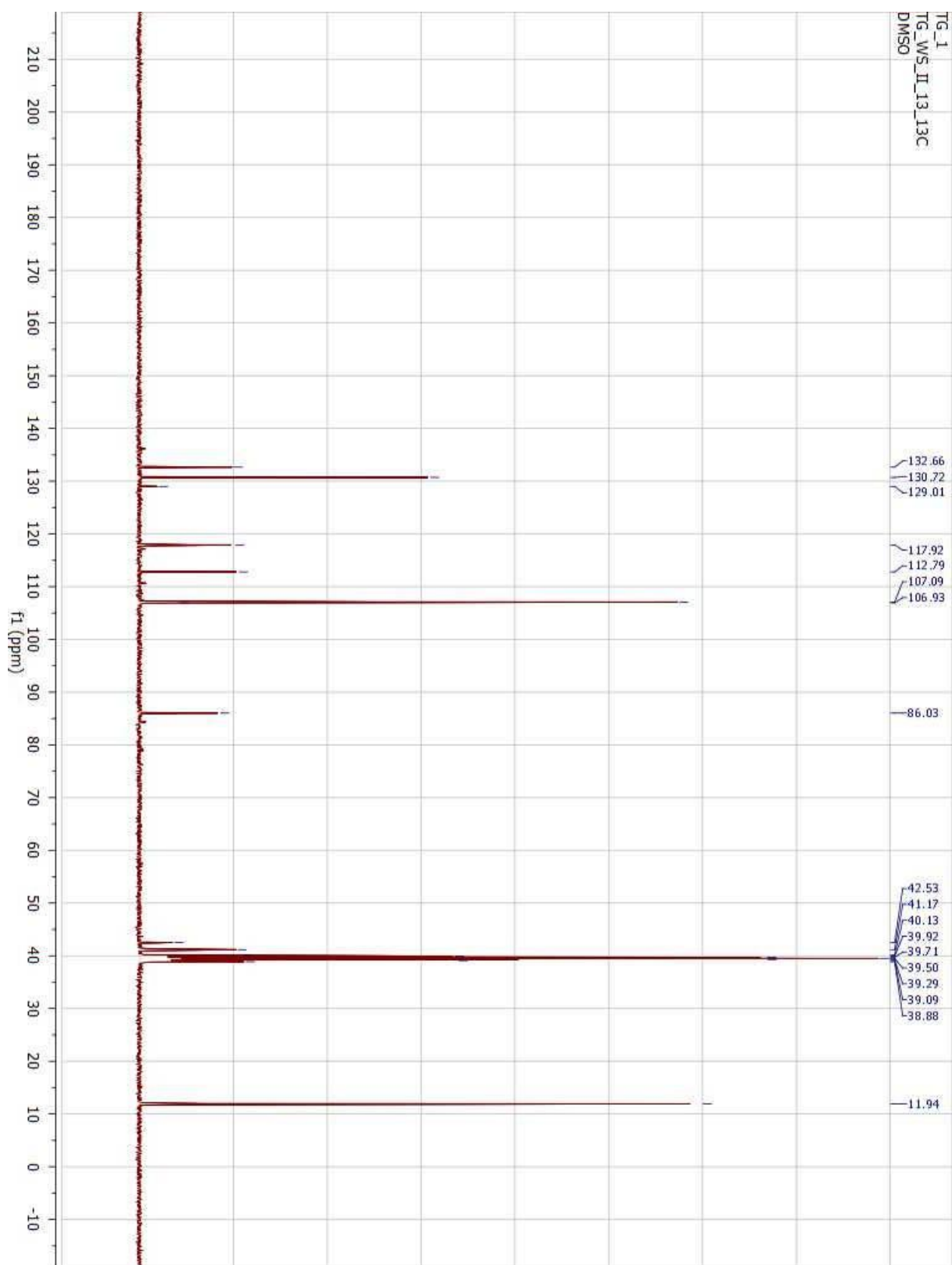
- [107] Burkhardt, E. R.; Coleridge, B. M. Reductive amination with 5-ethyl-2-methylpyridine borane *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 5152.
- [108] Forsyth T. P., Bradley D., Williams G., Montalban A. G., Stern C. L., Barrett A. G. M., Hoffman B. M., A Facile and Regioselective Synthesis of Trans-Heterofunctionalized Porphyrazine Derivatives. *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 331.
- [109] Bıyıklıoğlu Z., Synthesis, characterization and aggregation properties of water-soluble metal-free and metallophthalocyanines peripherally tetra-substituted with 2-[2-(dimethylamino)ethoxy]ethoxy moiety. *Synthetic Met.*, **2012**, 162, 26.
- [110] Düzgüneş N., Preparation and quantitation of small unilamellar liposomes and large unilamellar reverse-phase evaporation liposomes. *Methods Enzymol.*, **2003**, 367, 23.
- [111] Piskorz J., Skupin P., Lijewski S., Korpusinski M., Sciepora M., Konopka K., Sobiak S., Goslinski T., Mielcarek J. Synthesis, physical–chemical properties and in vitro photodynamic activity against oral cancer cells of novel porphyrazines possessing fluoroalkylthio and dietherthio substituents. *J. Fluor. Chem.*, **2012**, 135, 265.

X. SUPPLEMENT

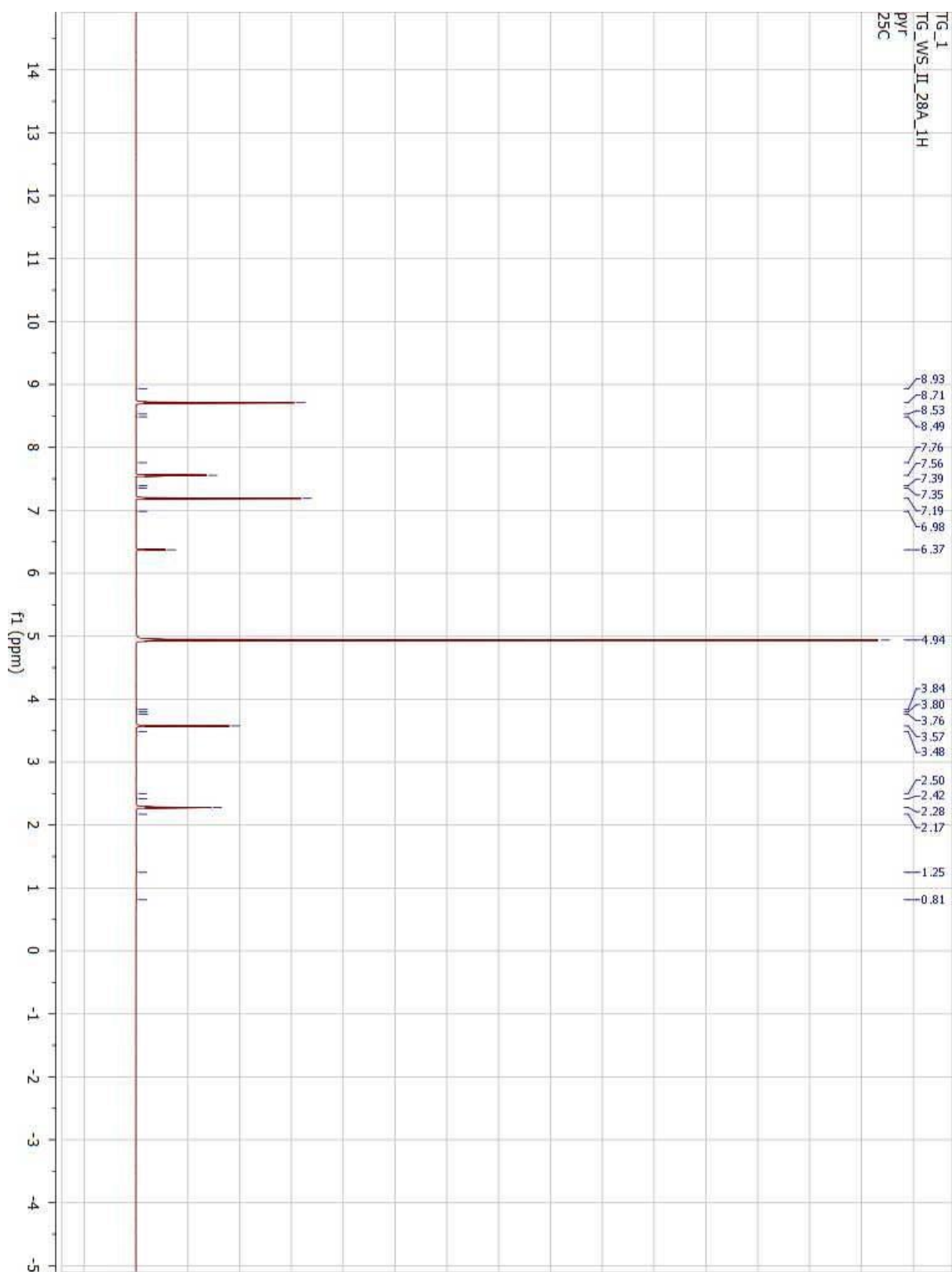
SUPPLEMENT



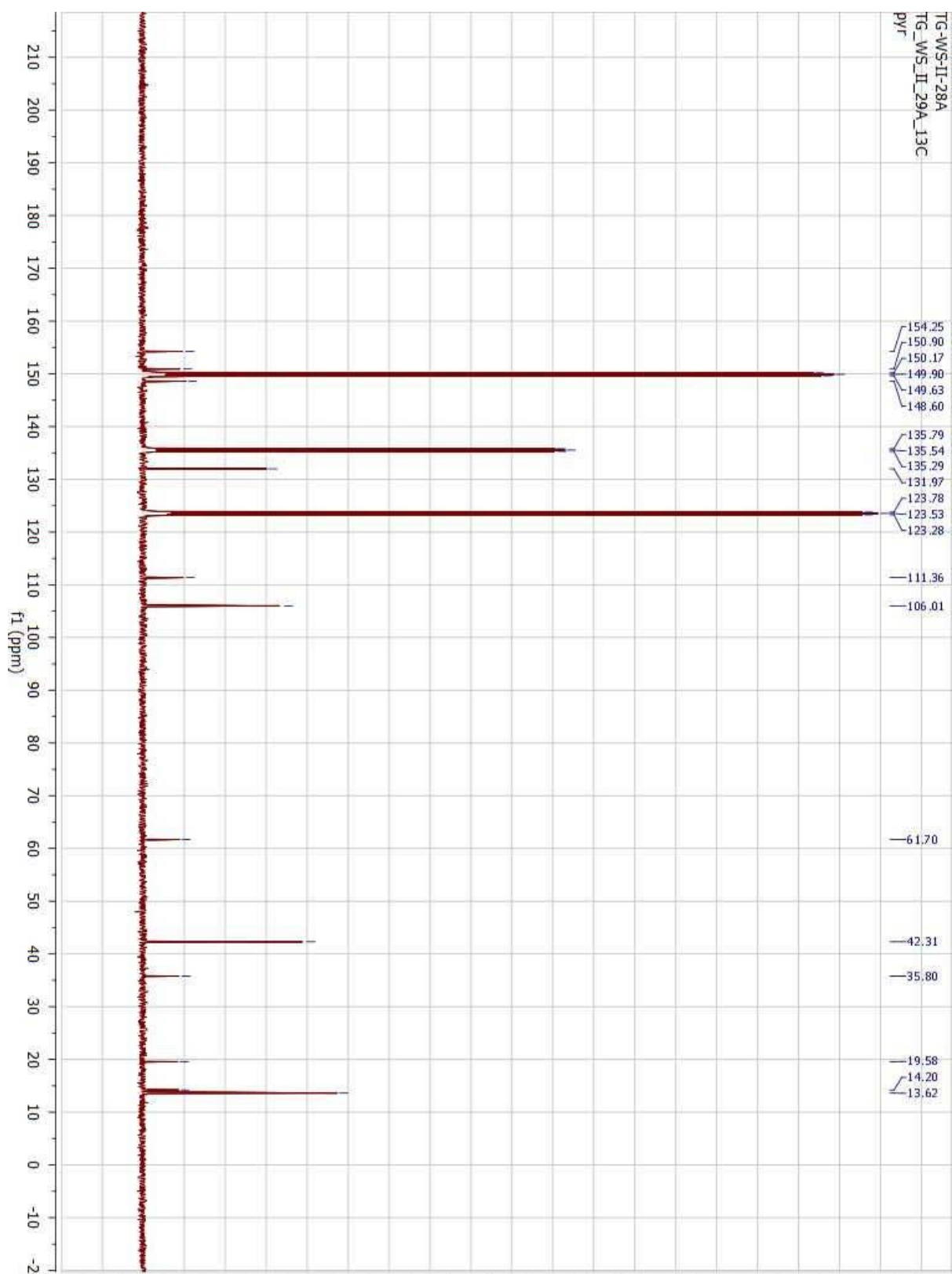
Widmo ^1H NMR 2-(Dimetyloamino)-3-(2,5-dimetylo-1H-pirolilo)-1,4-dinitrylo-(2Z)-buten (3)



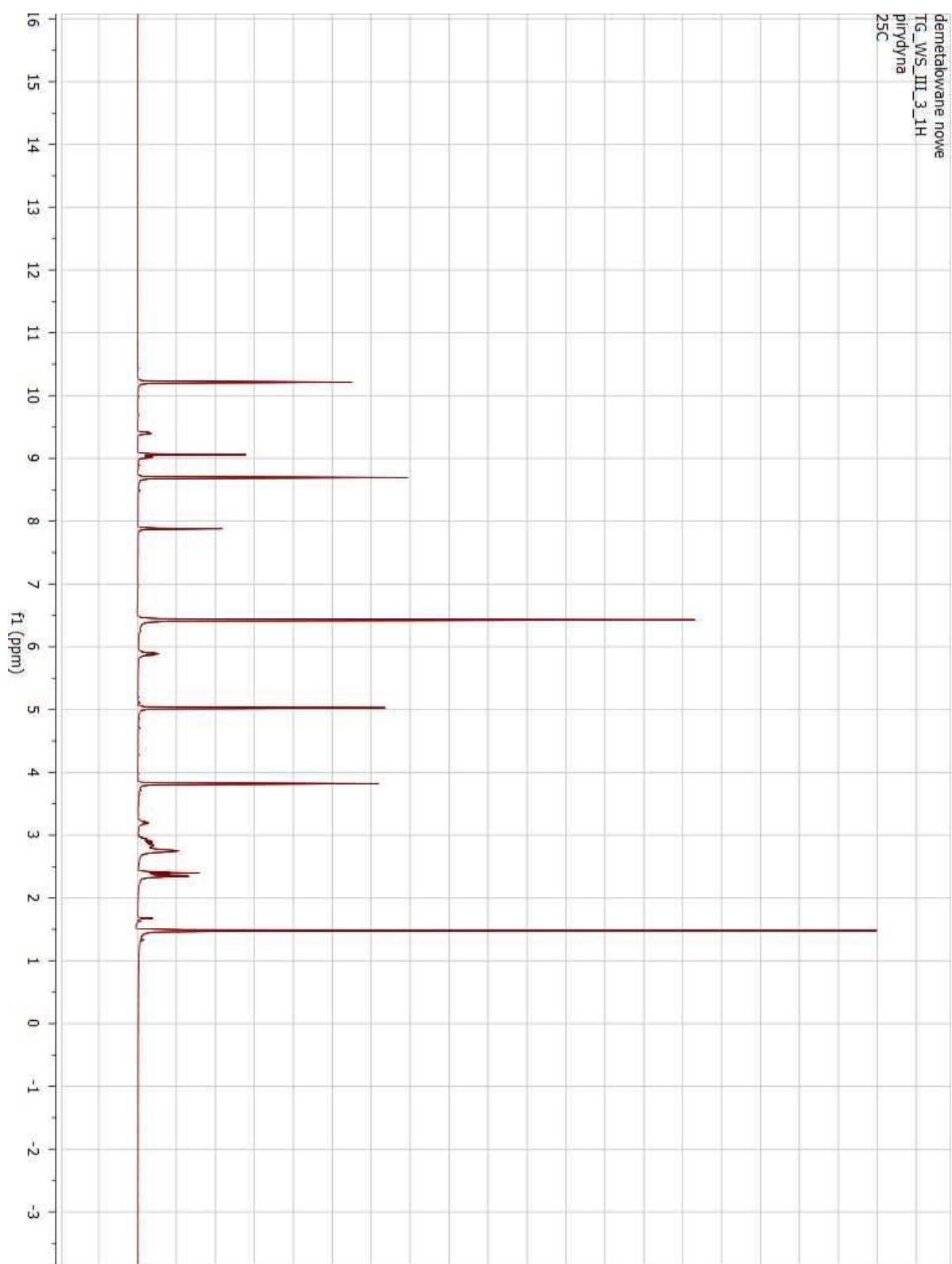
Widmo ^{13}C NMR 2-(Dimetyloamino)-3-(2,5-dimetylo-1*H*-pirolilo)-1,4-dinitrylo -(2*Z*)-buten (3)



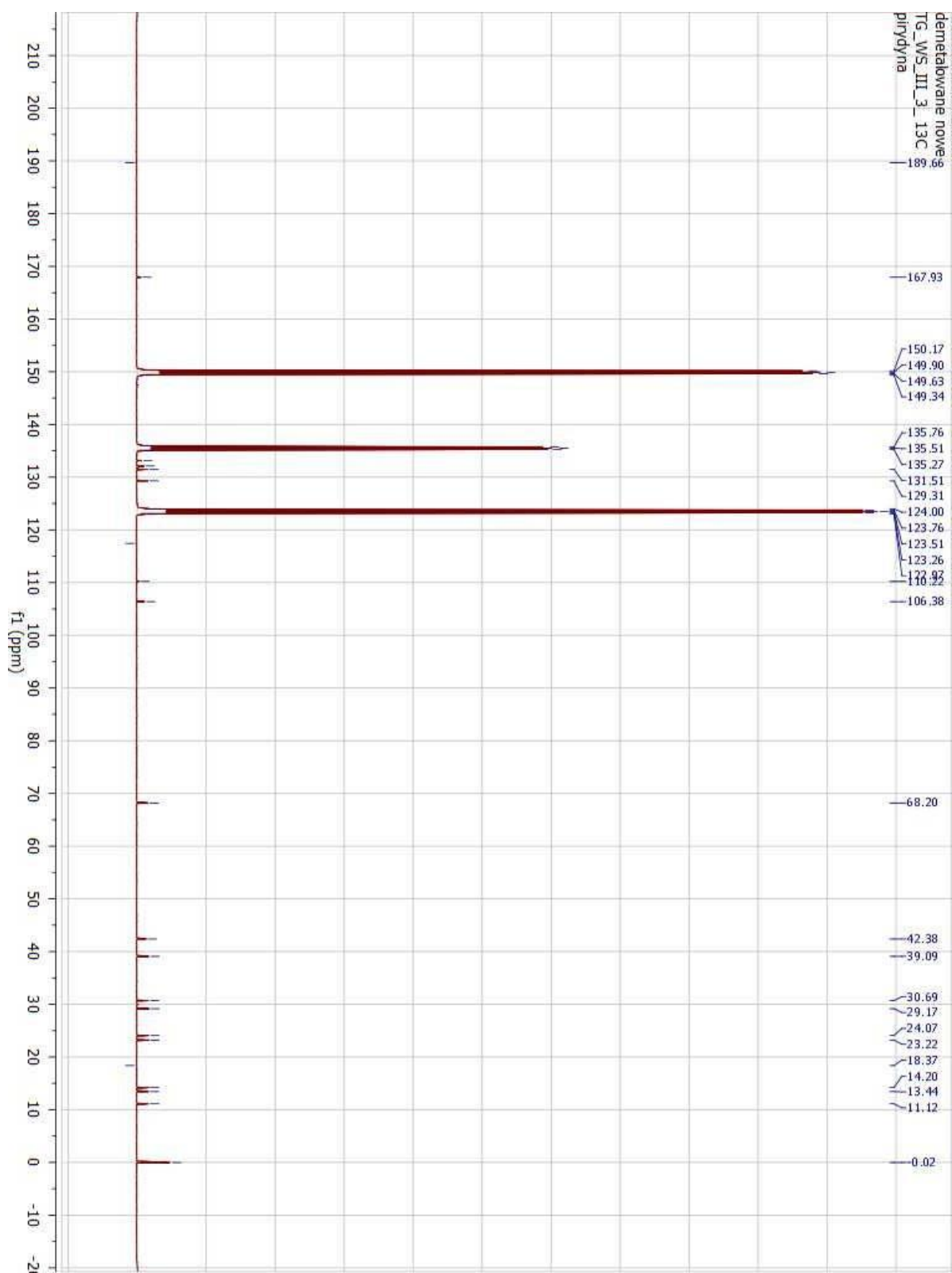
Widmo ^1H NMR Magnez (II)-2,7,12,17-tetrakis(dimetylamino)-3,8,13,18-tetrakis[2,5-(dimetylo)-1*H*-pirolilo]porfirazyna (4)



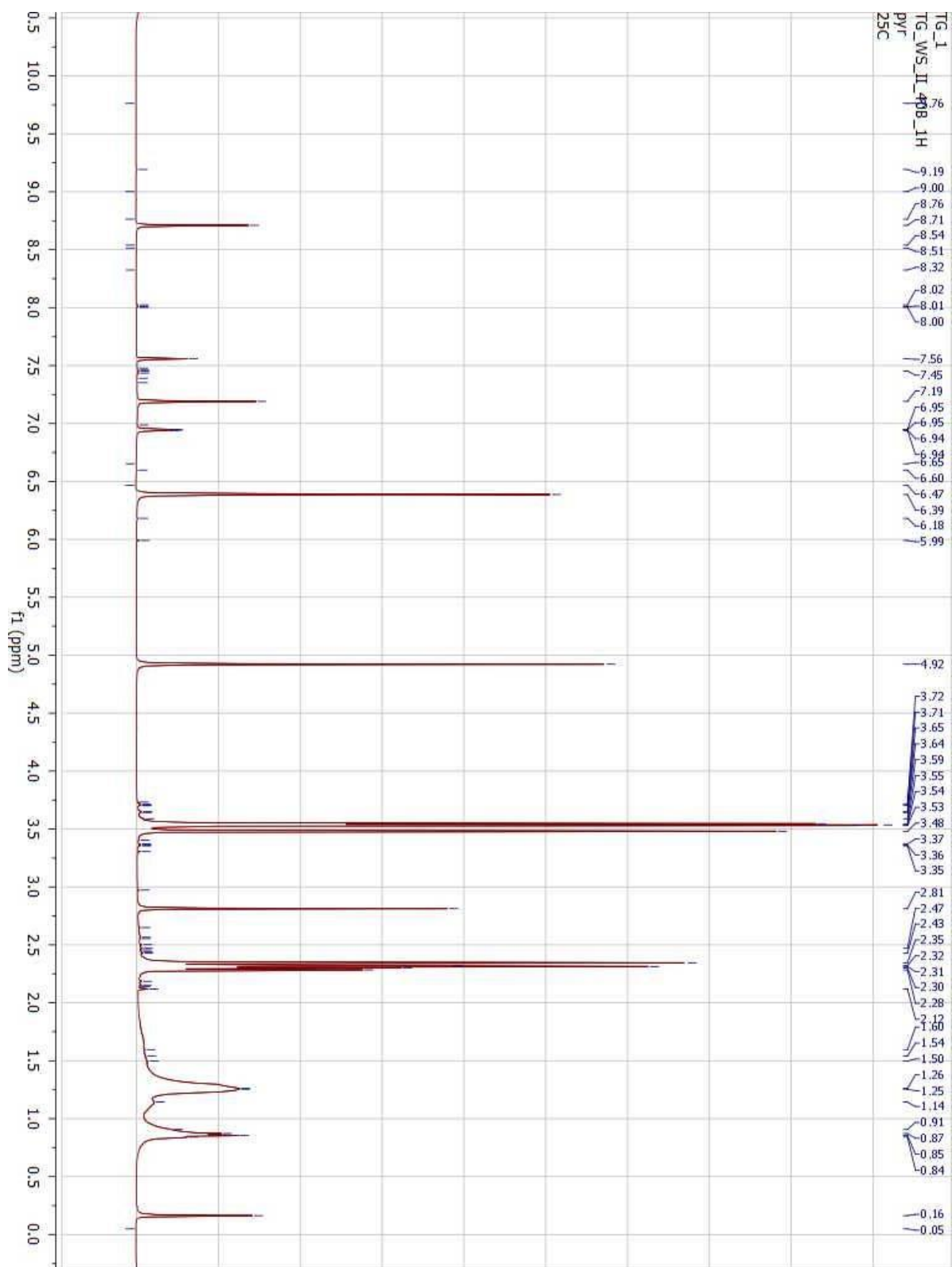
Widmo ^{13}C NMR Magnez (II)-2,7,12,17-tetrakis(dimetylamino)-3,8,13,18-tetrakis[2,5-(dimetylo)-1*H*-pirolilo]porfirazyna (4)



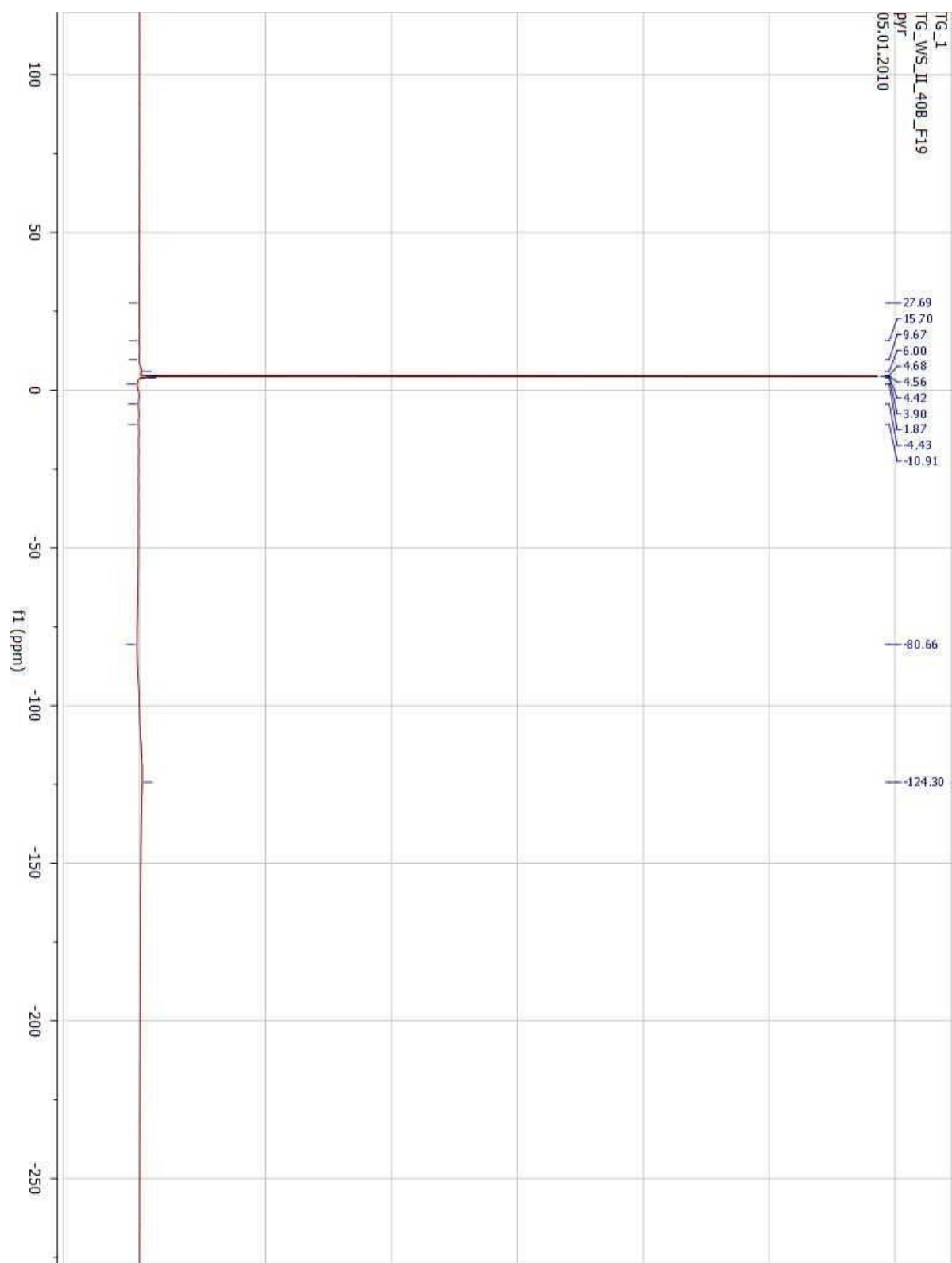
Widmo ^1H NMR 2,7,12,17-Tetrakis(dimetylamino)-3,8,13,18-tetrakis[2,5-(dimetylo)-1H-pirolilo]porfirazyna (5a)



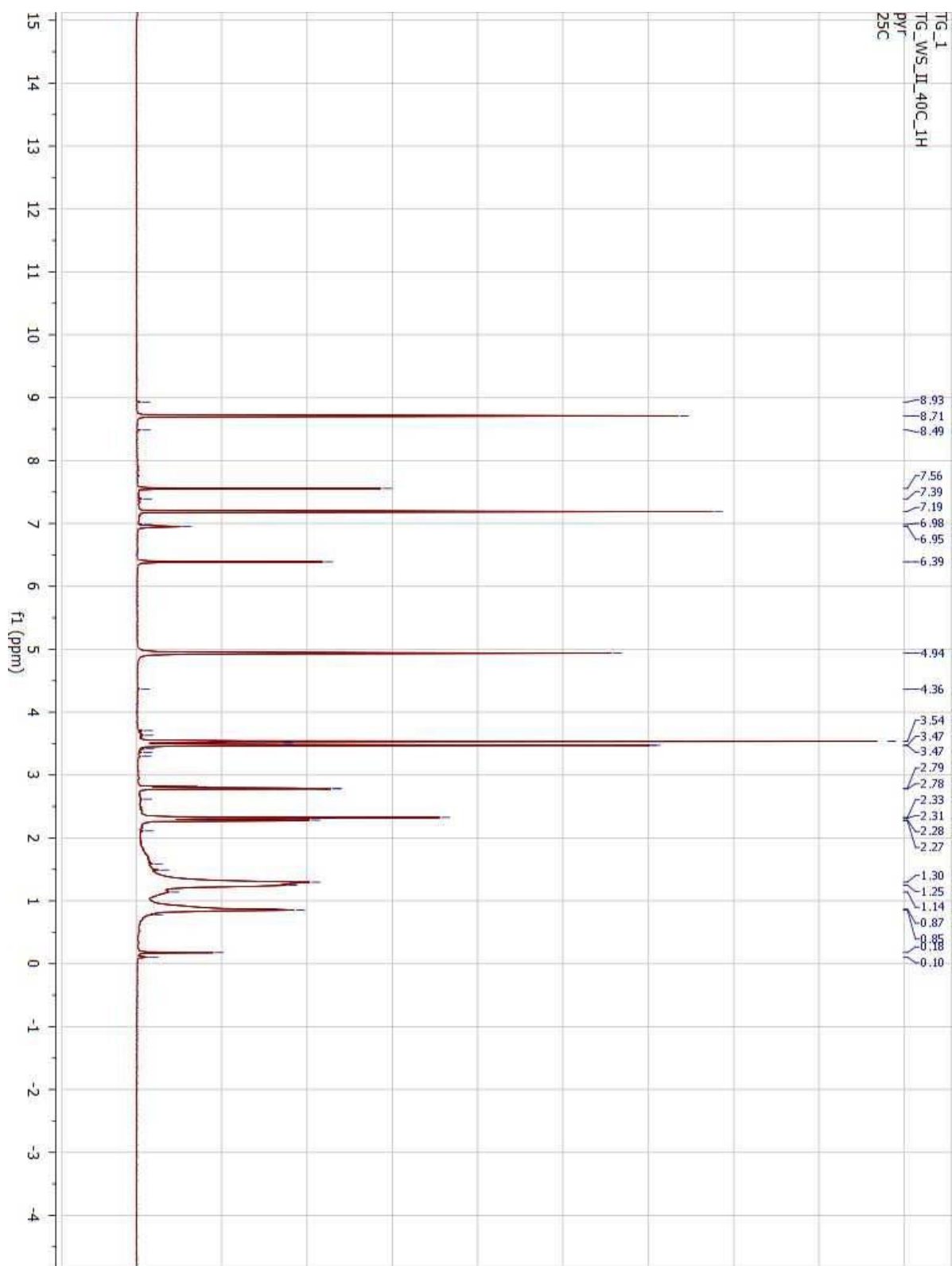
Widmo ^{13}C NMR 2,7,12,17-Tetrakis(dimetylamino)-3,8,13,18-tetrakis[2,5-(dimetylo)-1H-pirolilo]porfirazyna (5a)



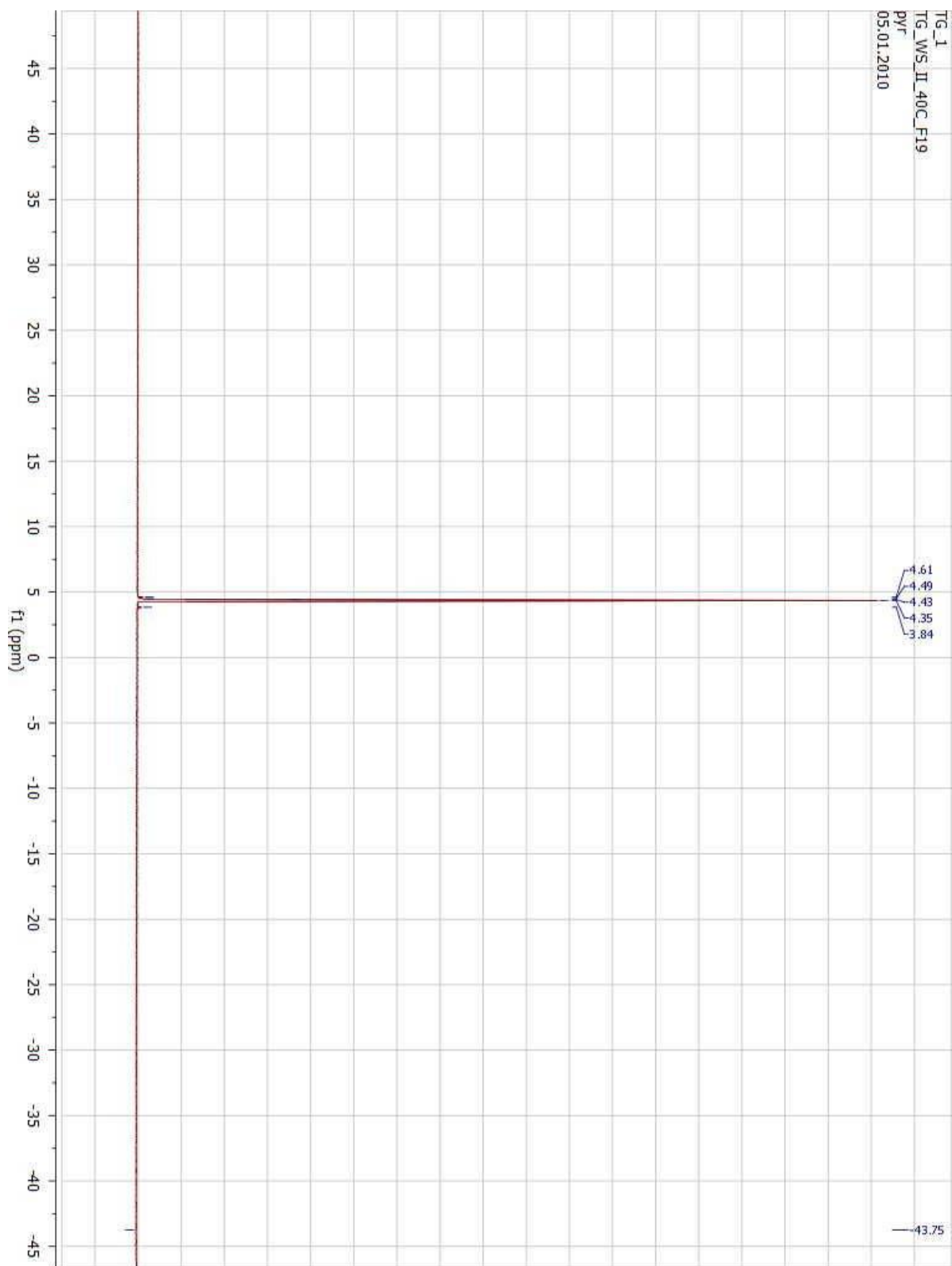
Widmo ^1H NMR porfirazyny 5b



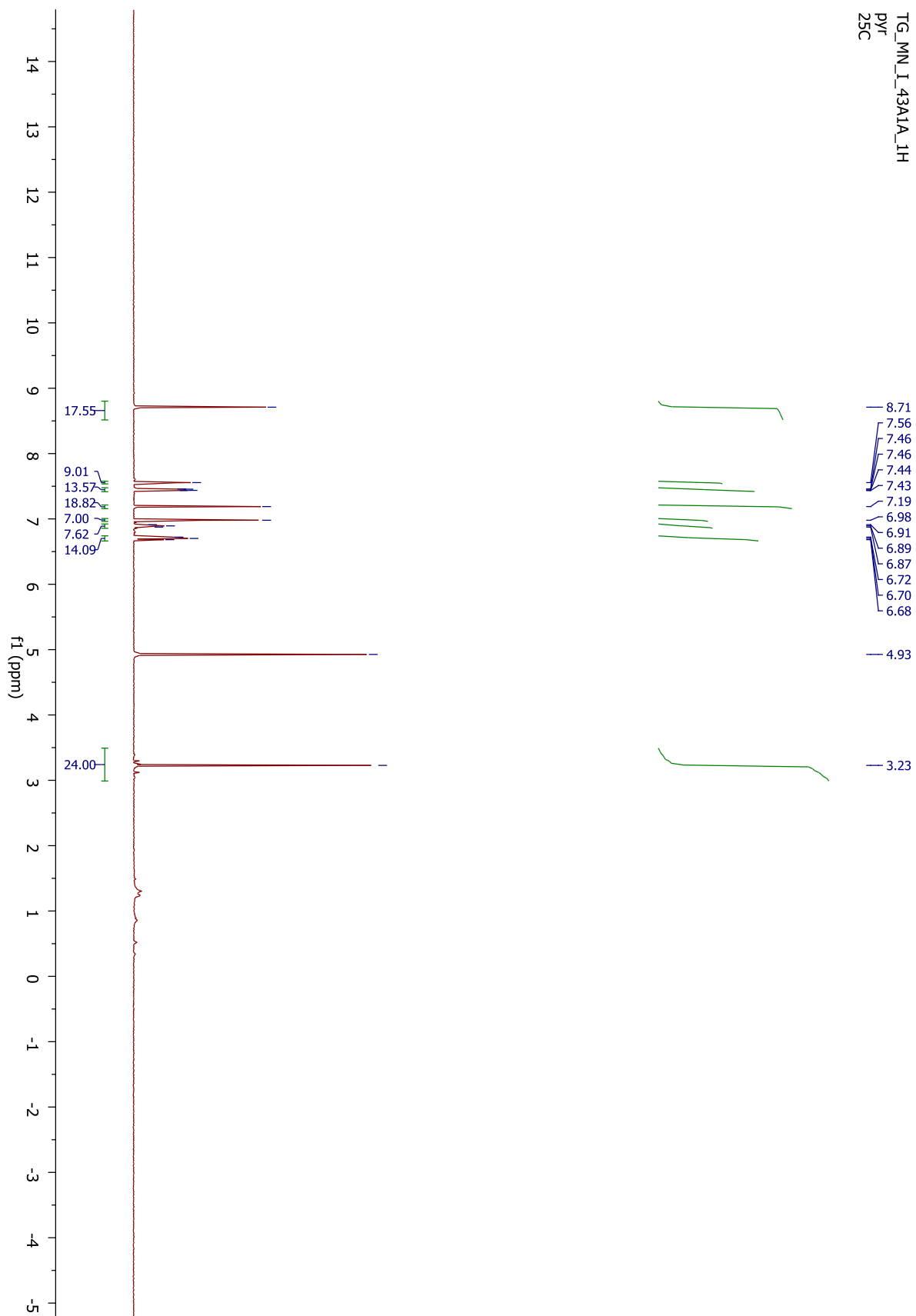
Widmo ^{19}F NMR porfirazyny 5b



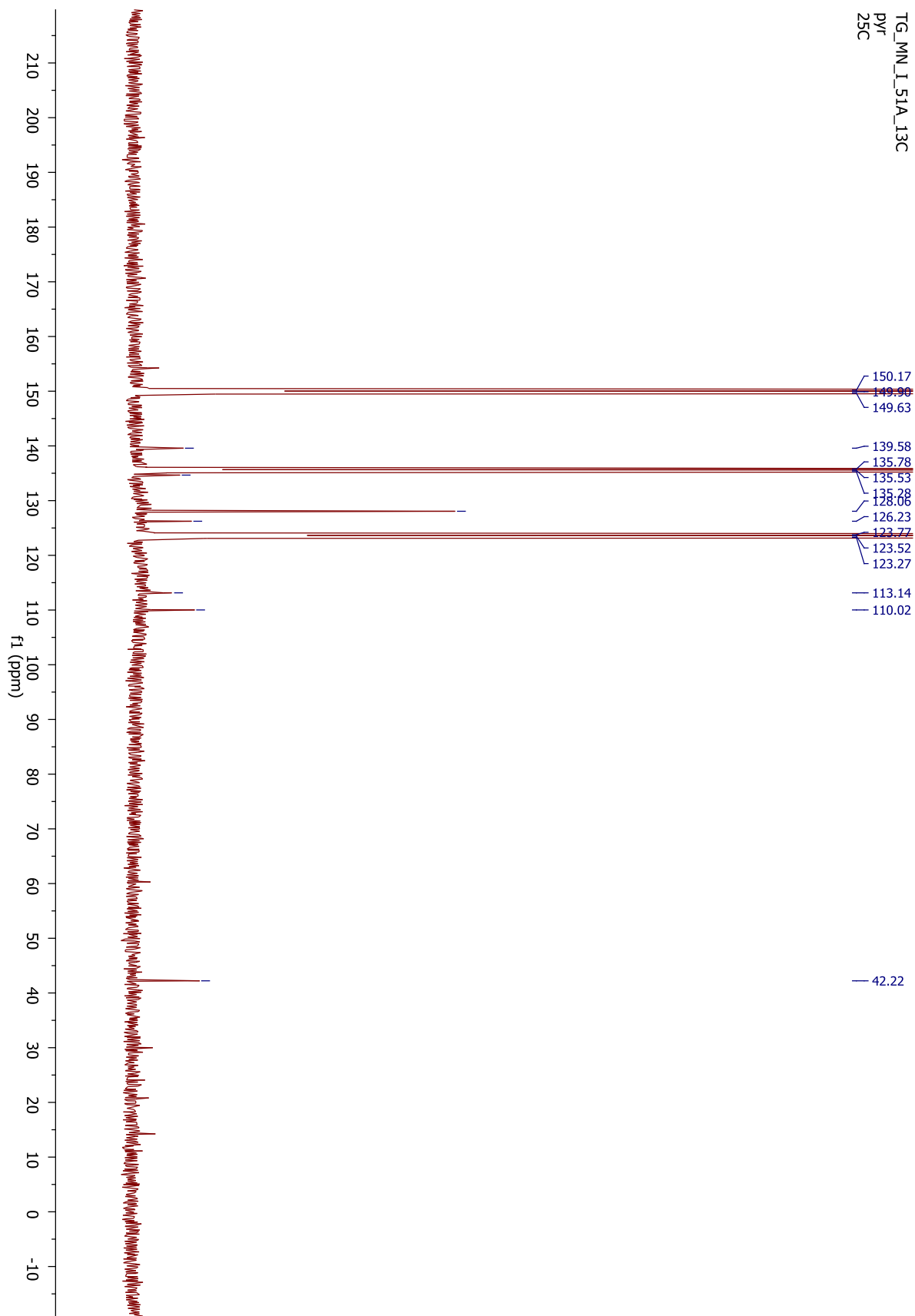
Widmo ^1H NMR porfirazyny 5c



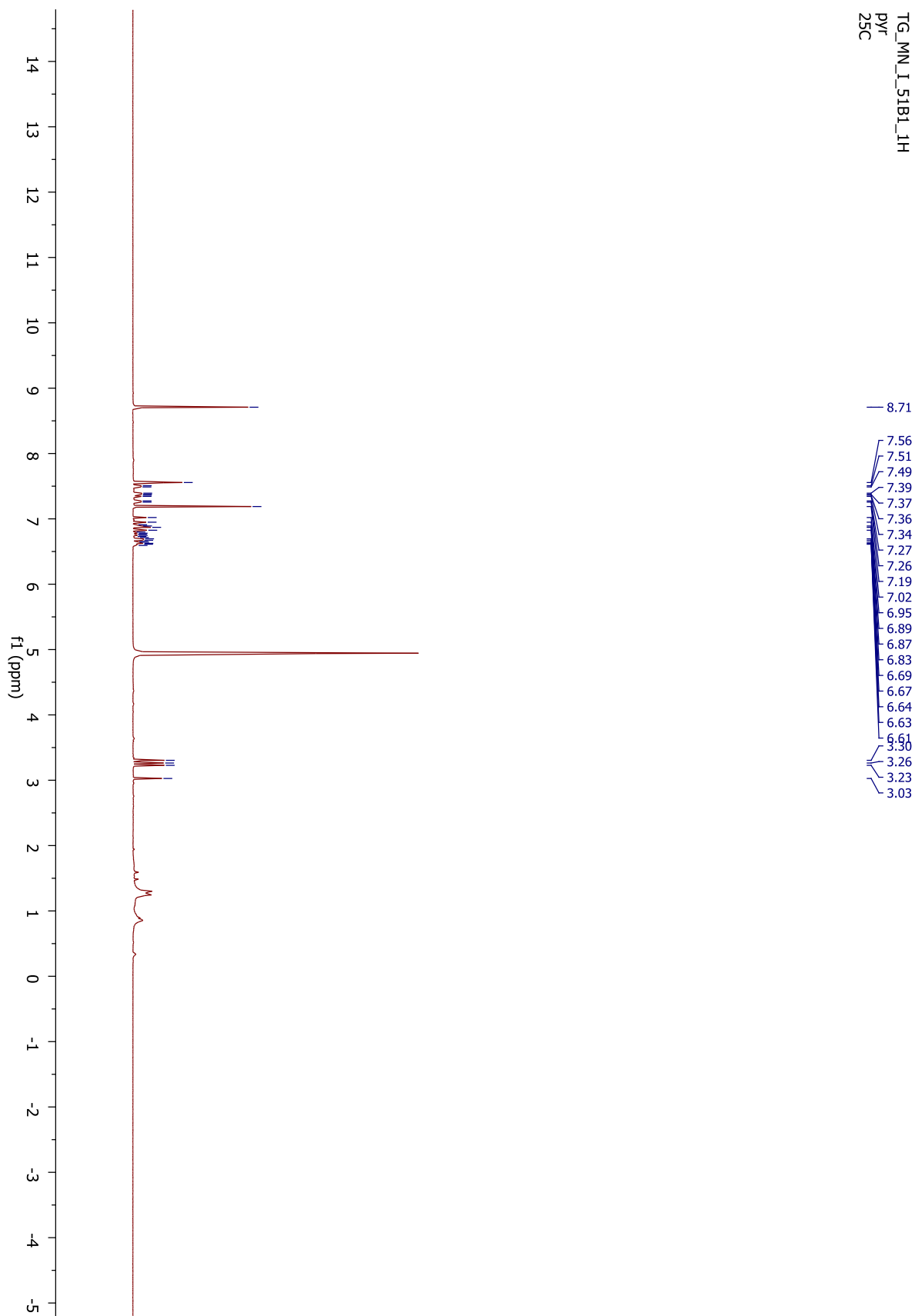
Widmo ^{19}F NMR porfirazyny 5c



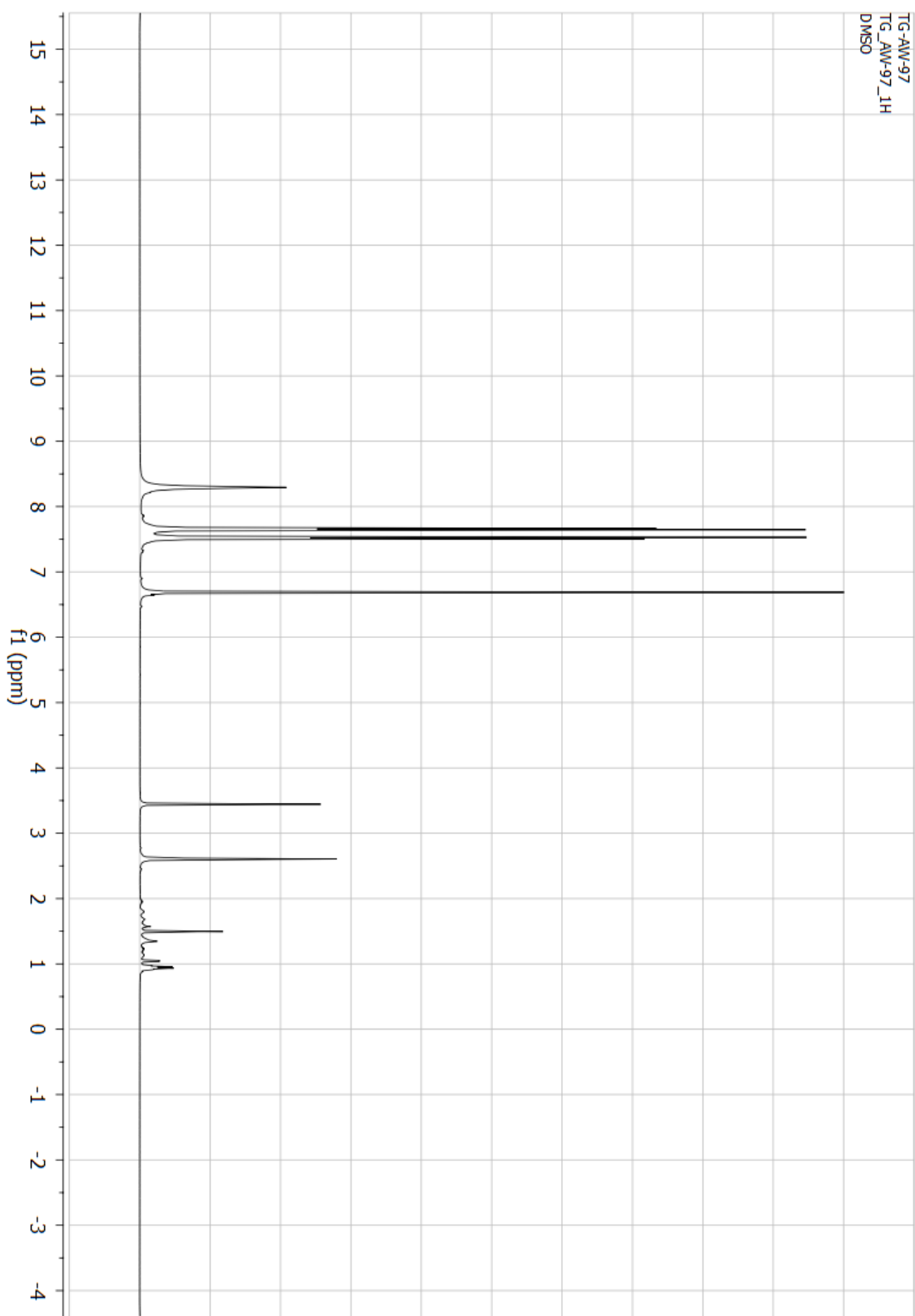
Widmo ^1H NMR Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis[2,5-(difenyl)-*1H*-pirolilo]-3,8,13,18-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (10)



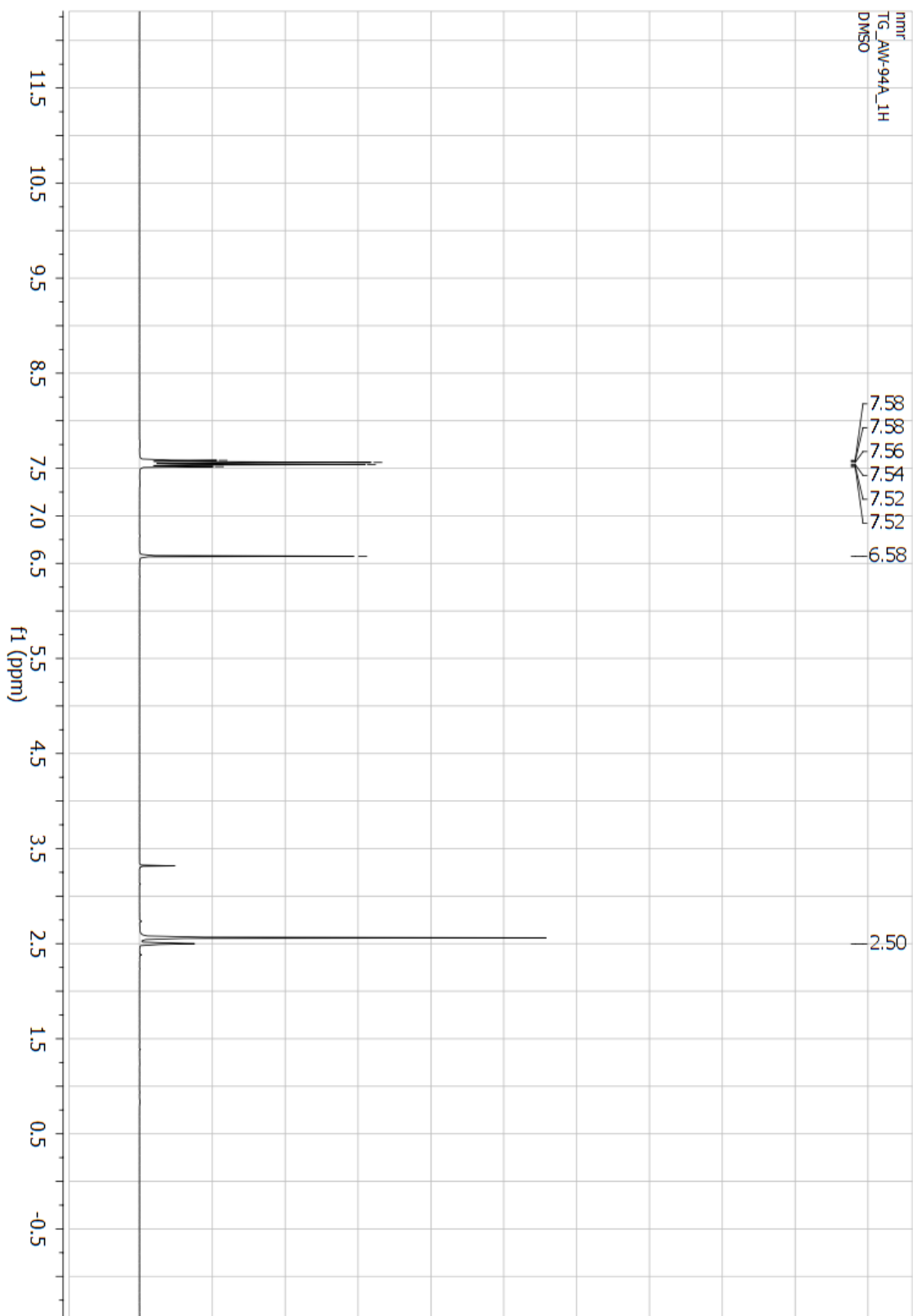
Widmo ^{13}C NMR Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis[2,5-(difenyllo)-1*H*-pirolilo]-3,8,13,18-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (10)



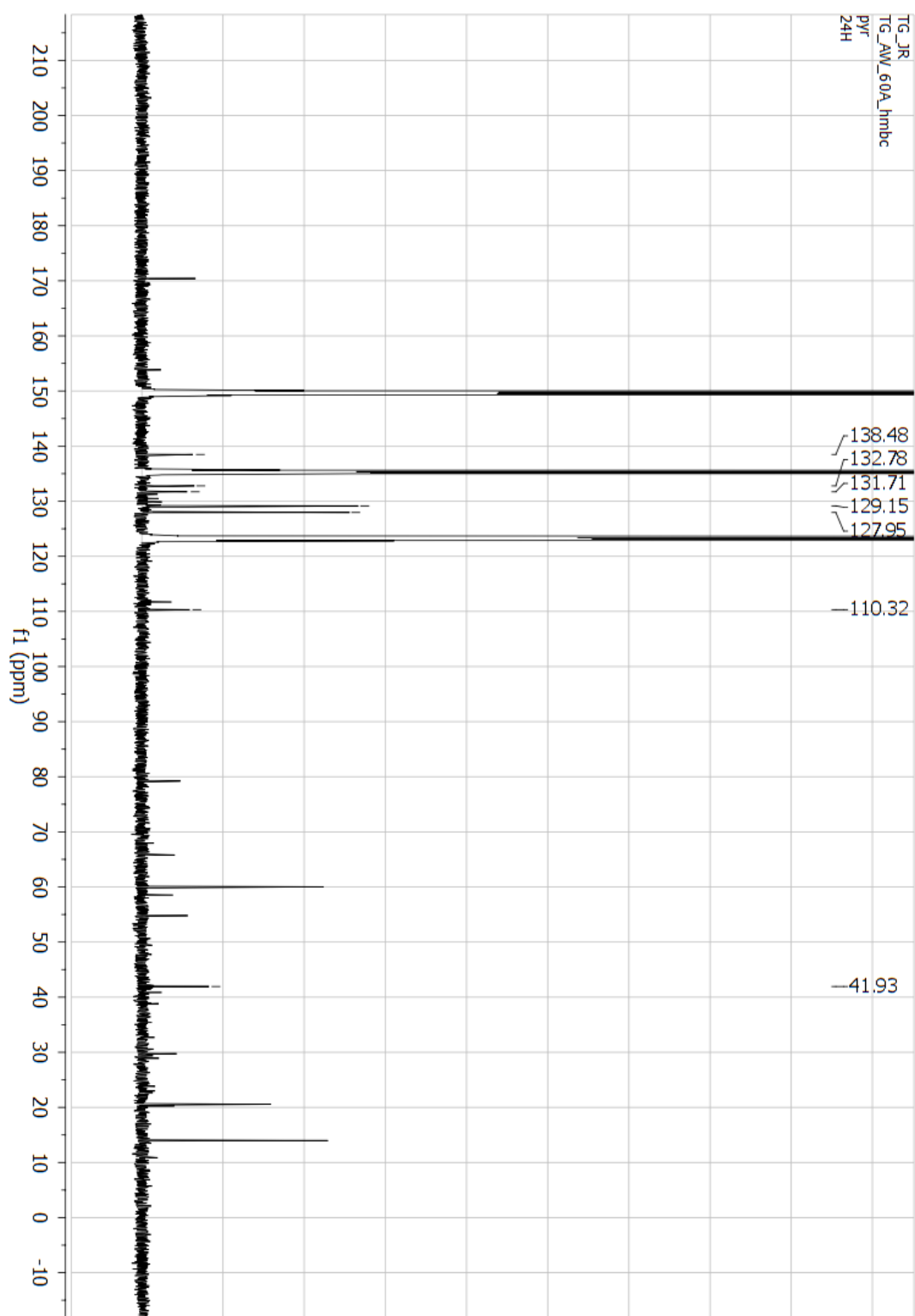
Widmo ^1H NMR Magnez(II) 2,7,12,18-tetrakis[2,5-(difenyl)-*1H*-pirolilo]-3,8,13,17-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (11)



Widmo H^1 NMR dla 2-amino-3-[2,5-di(4'-chlorofenylo)-1*H*-pirolilo]-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-butenu (5)

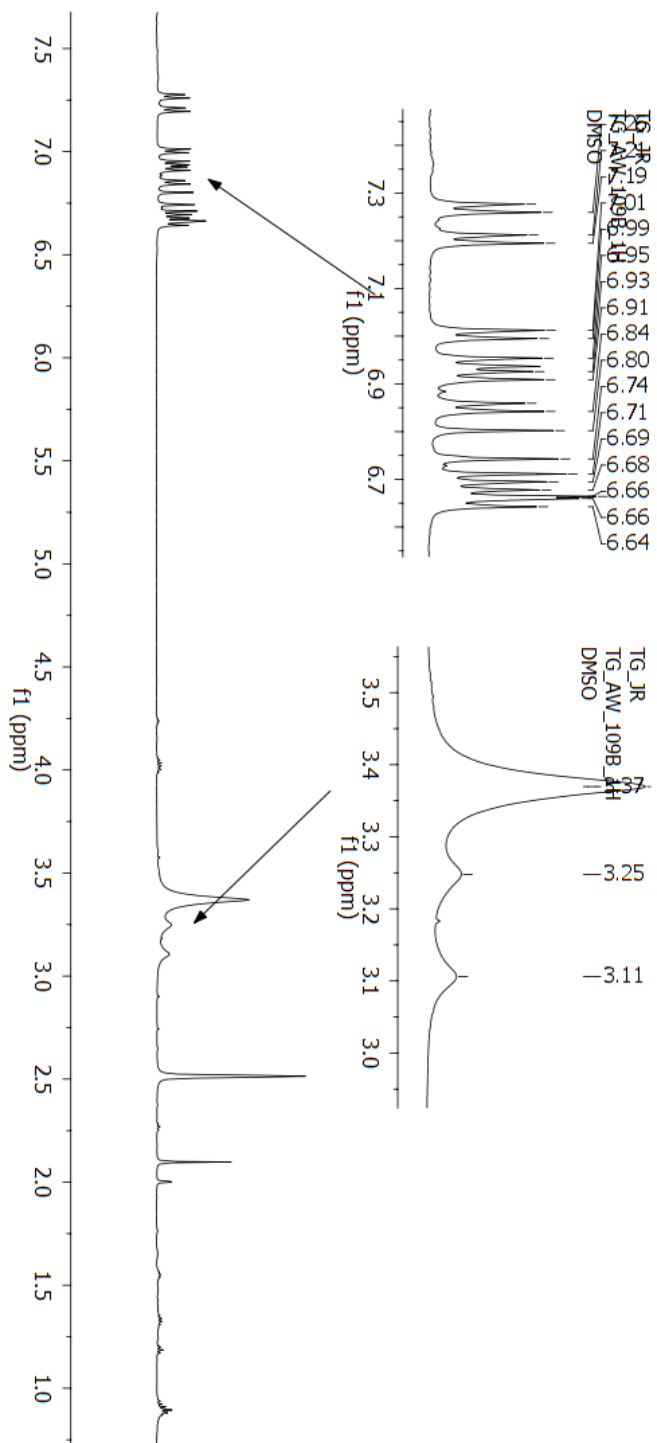


Widmo $^1\text{H-NMR}$ dla 2-[2,5-di(4'-chlorofenyl)-1*H*-pirolilo]-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-butenu (6)

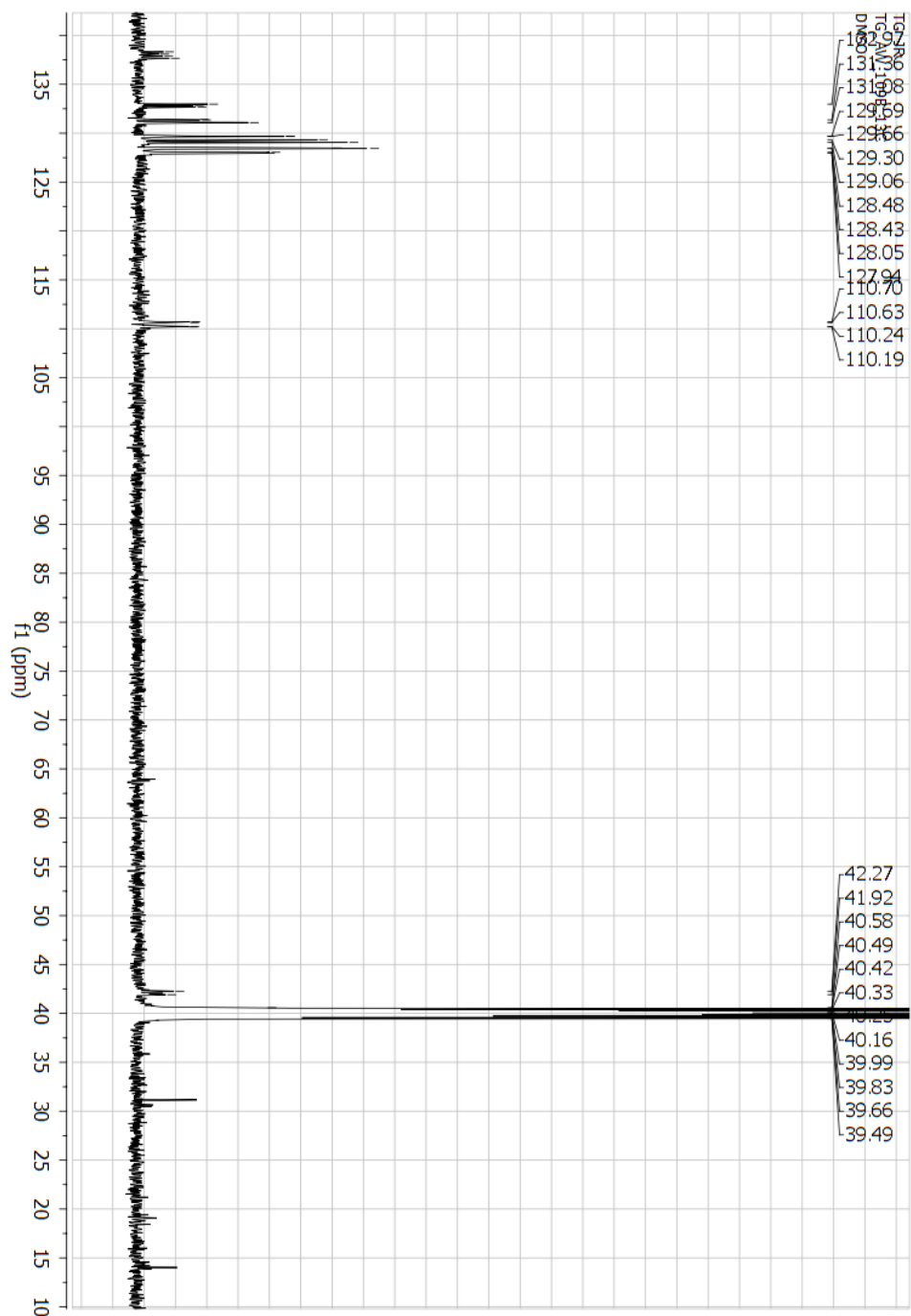


Widmo ^{13}C NMR Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis[2,5-di(4'-chlorofenylo)-1*H*-pirolilo]-3,8,13,18-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (15)

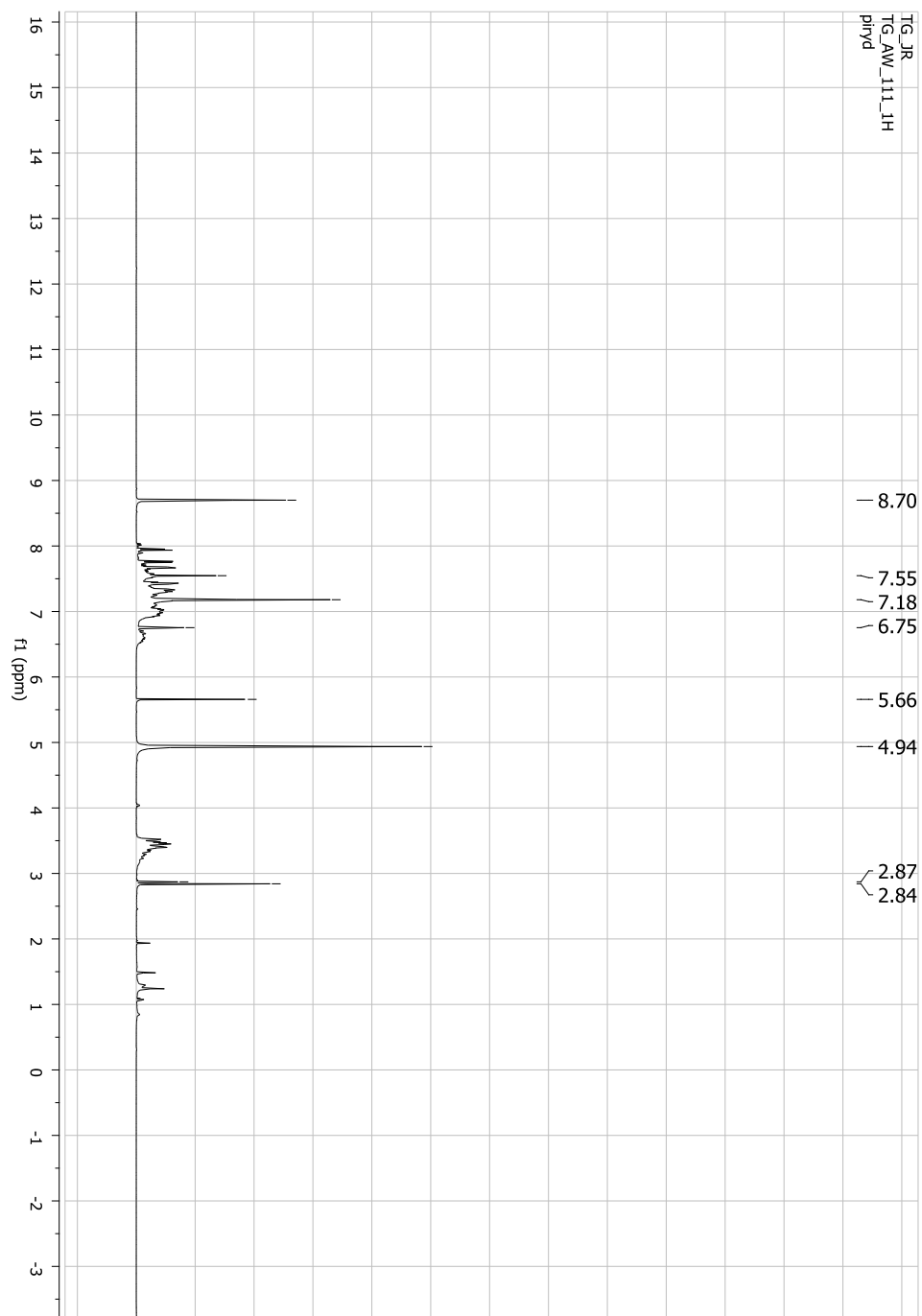
TG_JR
TG_AW_109B_1H
DMSO



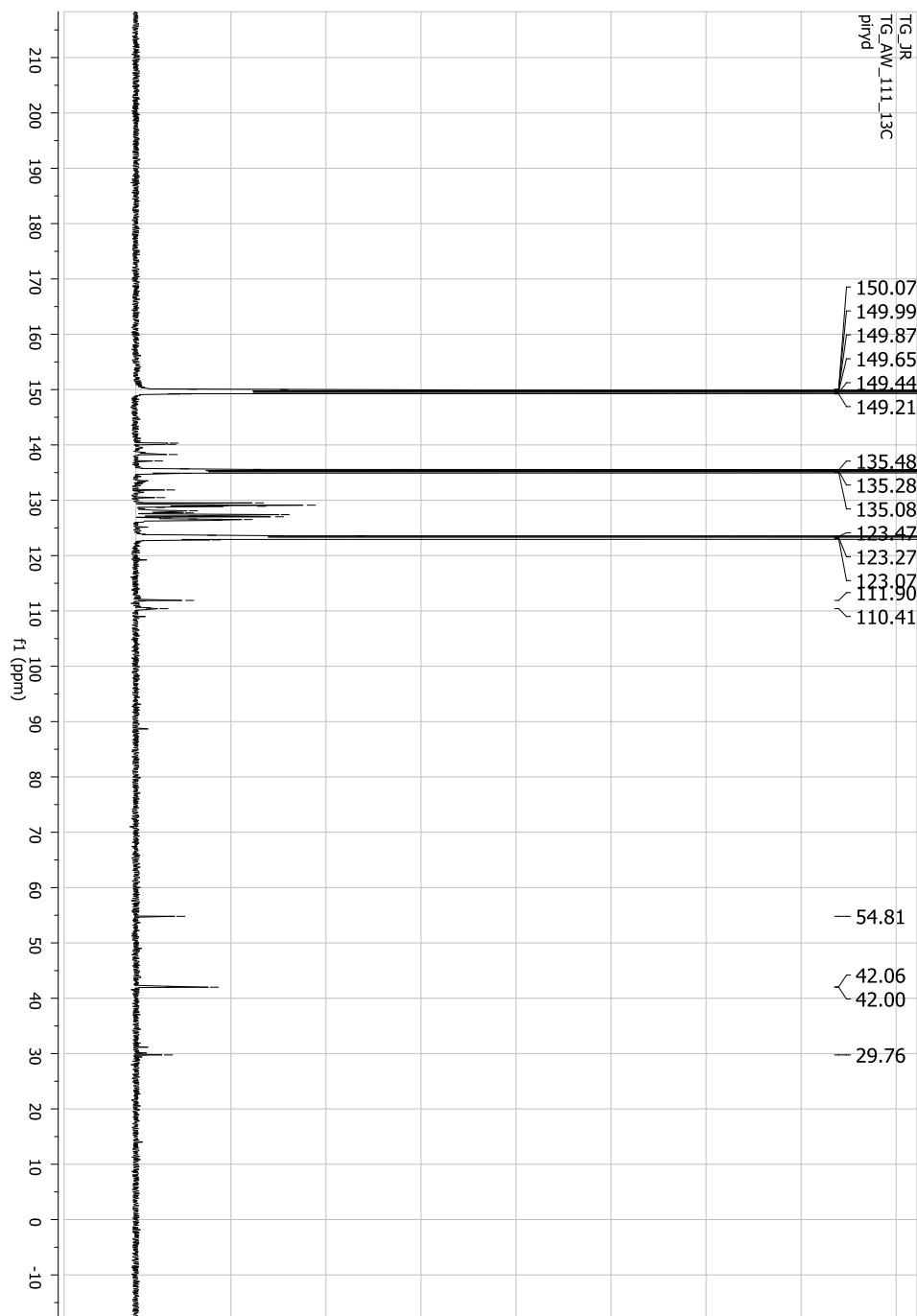
Widmo ¹H NMR Magnez(II) 2,7,12,18-tetrakis[2,5-di(4'-chlorofenylo)-1H-pirolilo]-3,8,13,17-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (16)



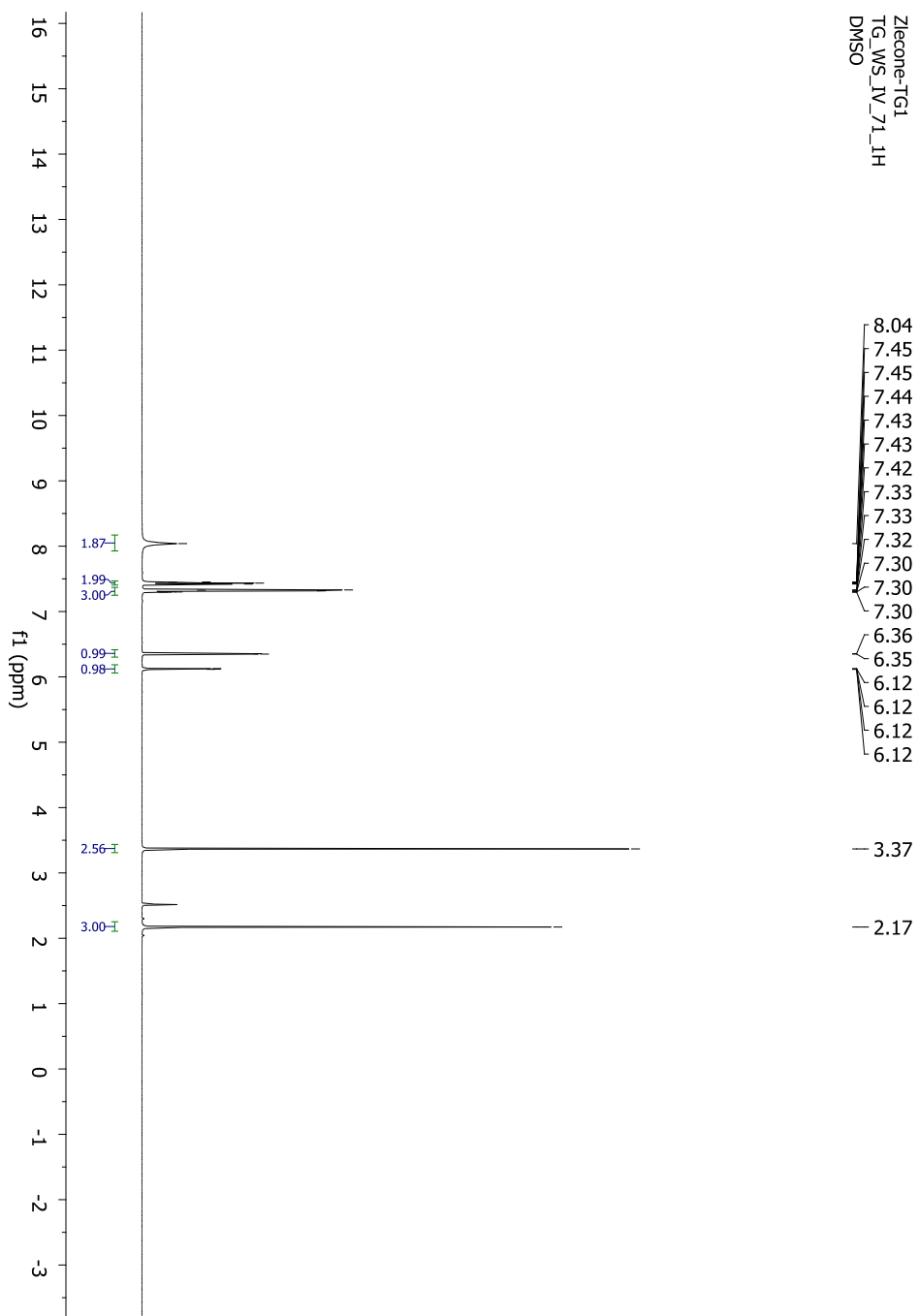
Widmo ^{13}C NMR Magnez(II) 2,7,12,18-tetrakis[2,5-di(4'-chlorofenylo)-1*H*-pirolilo]-3,8,13,17-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (16)



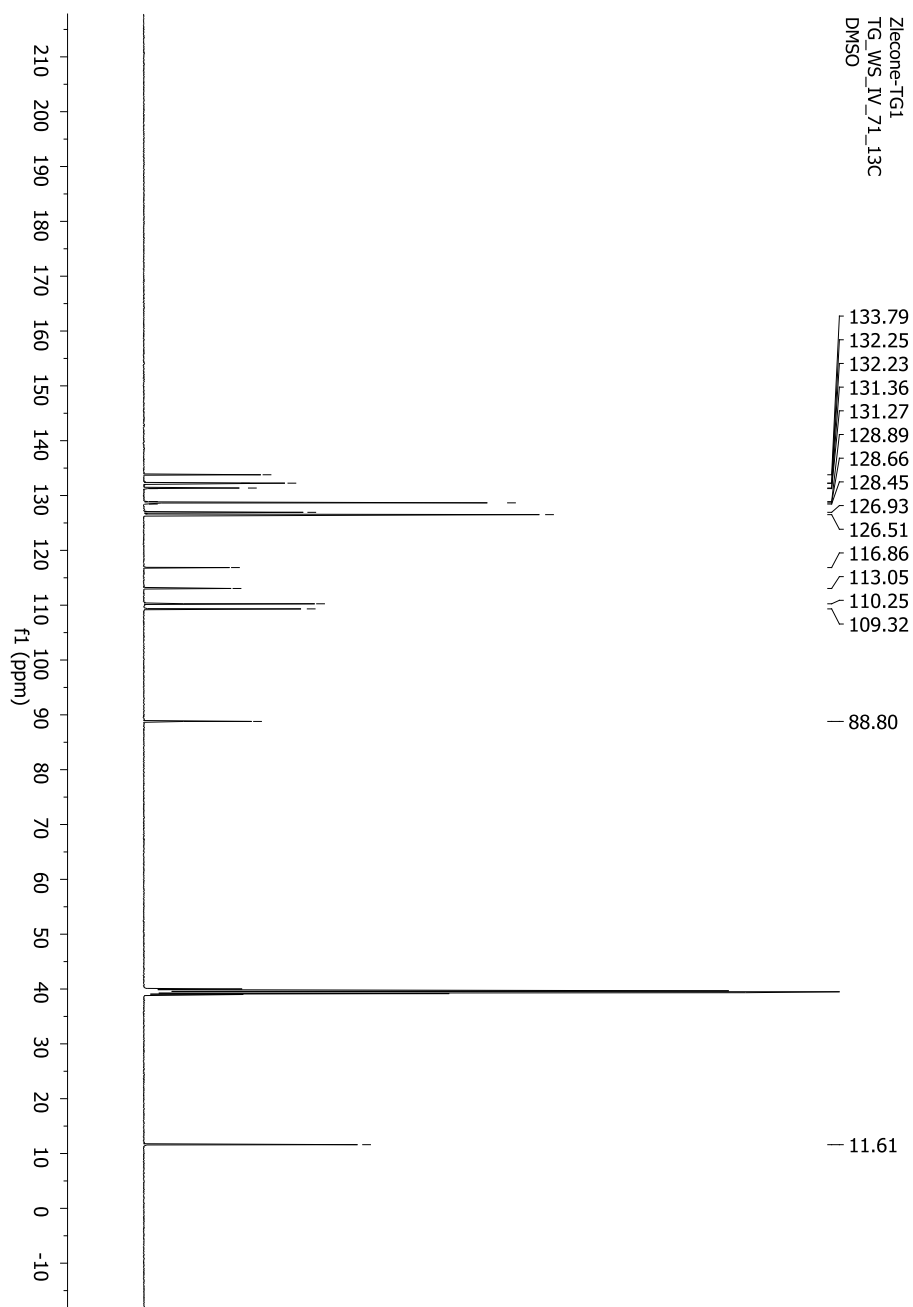
Widmo ^1H NMR Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis[2,5-di(bifenyl-4-ilo)-1*H*-pirolilo]-3,8,13,18-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (17)



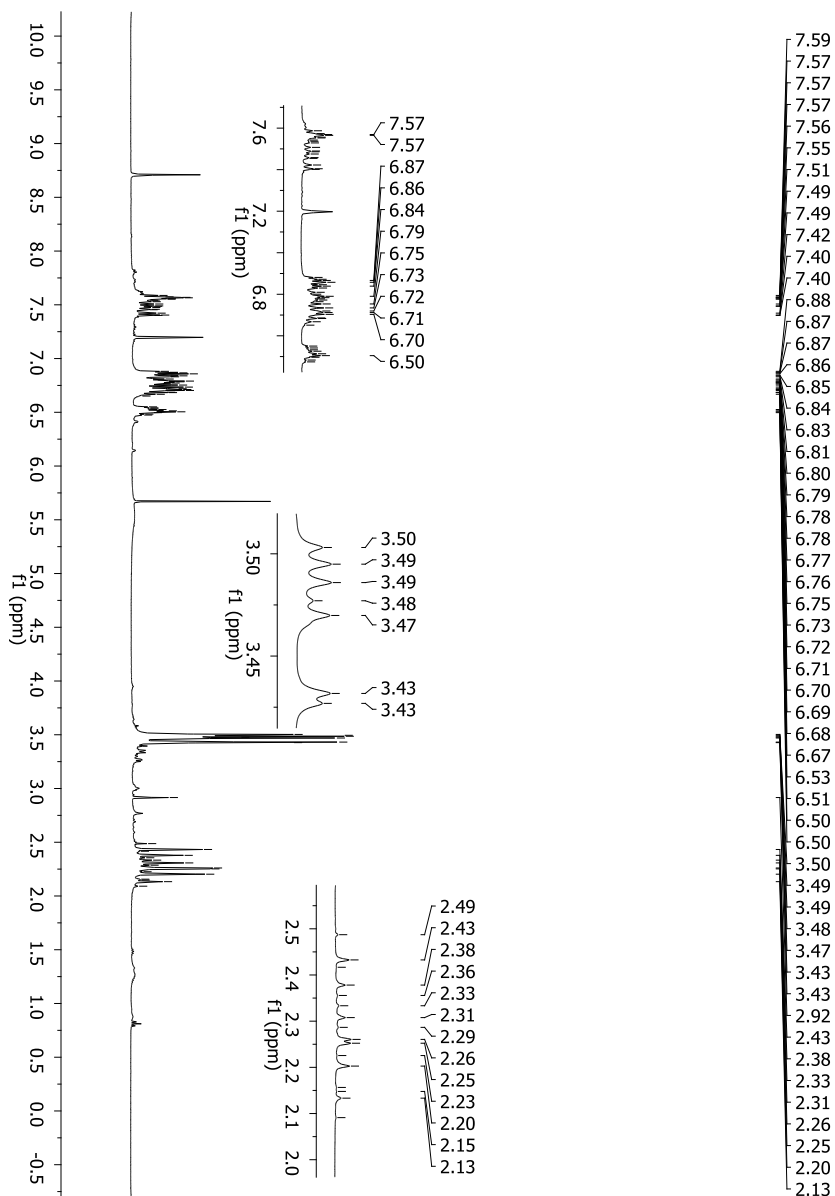
Widmo ^{13}C NMR Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis[2,5-di(bifenyl-4-ilo)-1*H*-pirolilo]-3,8,13,18-tetrakis(dimetyloamino)porfirazyna (17)



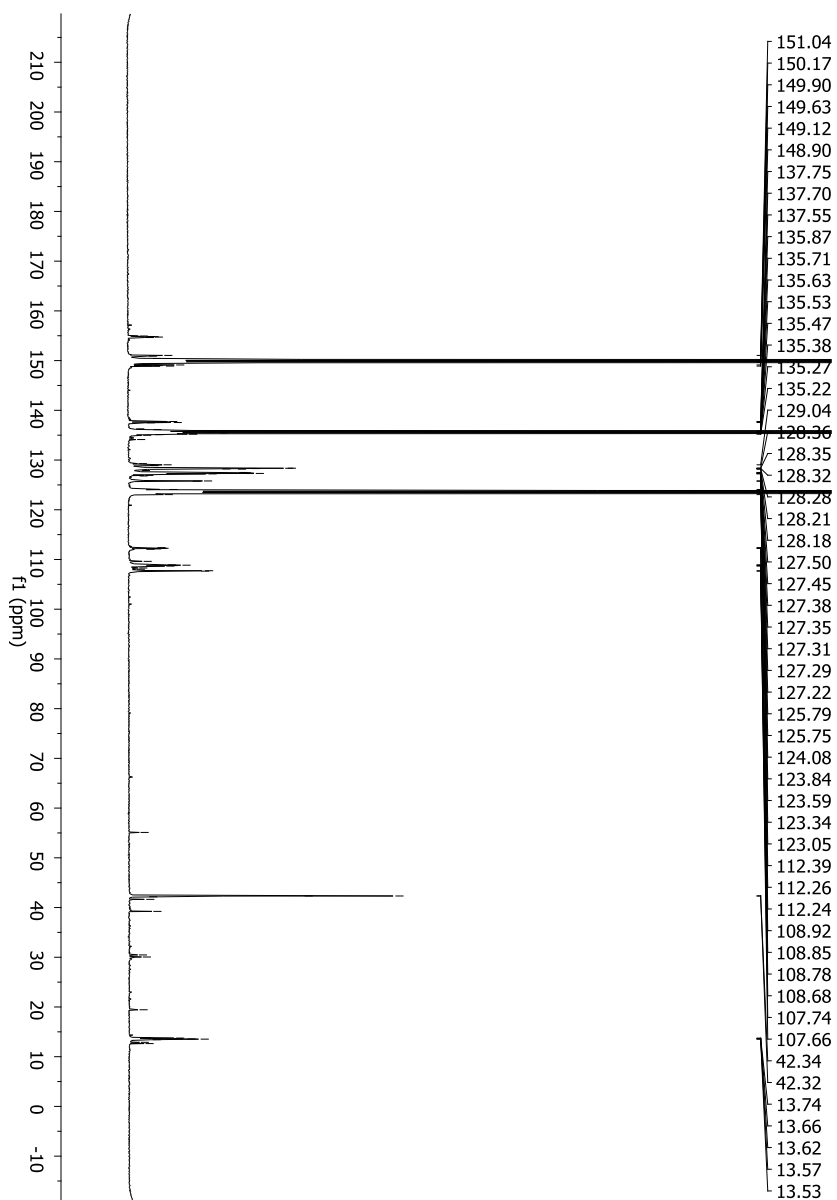
Widmo ^1H NMR 2-[2-fenyl-5-metylo-1*H*-pirolilo]-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (21)



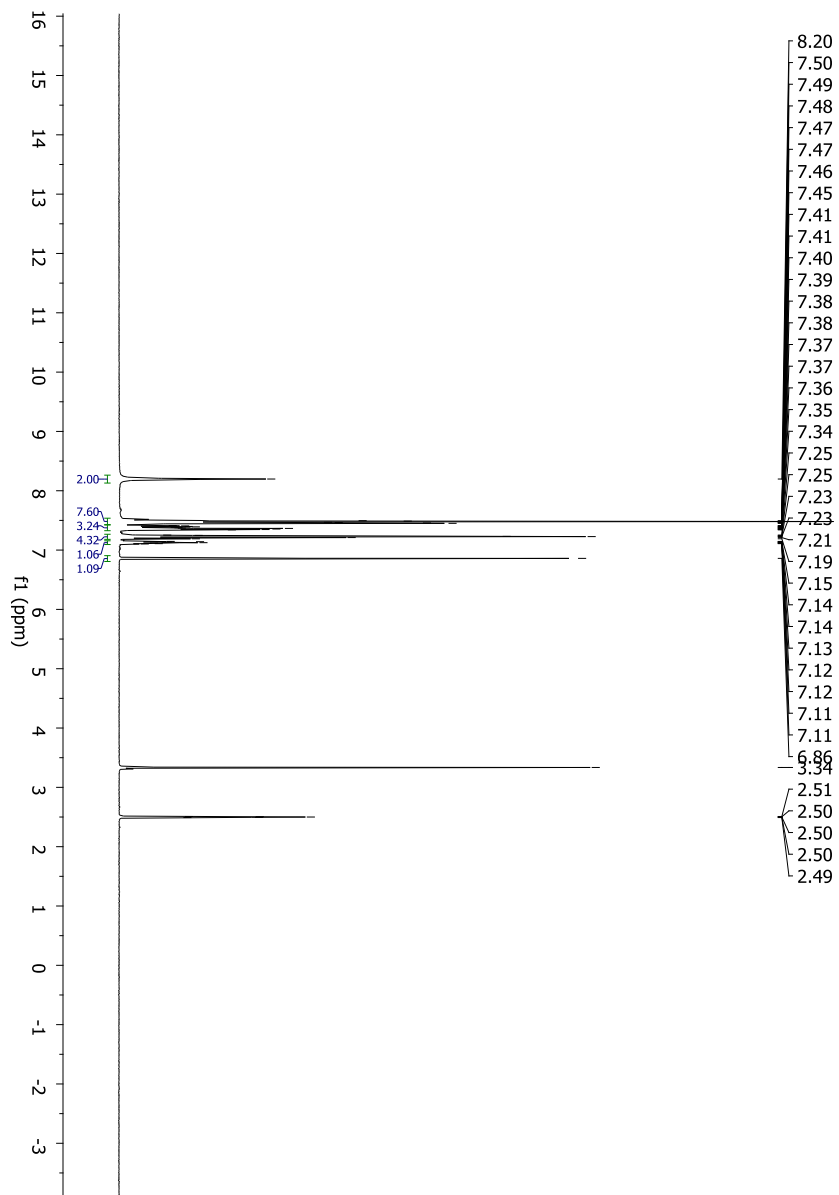
Widmo ^{13}C NMR 2-(2-fenylo-5-metylo-1*H*-pirolilo)-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (21)



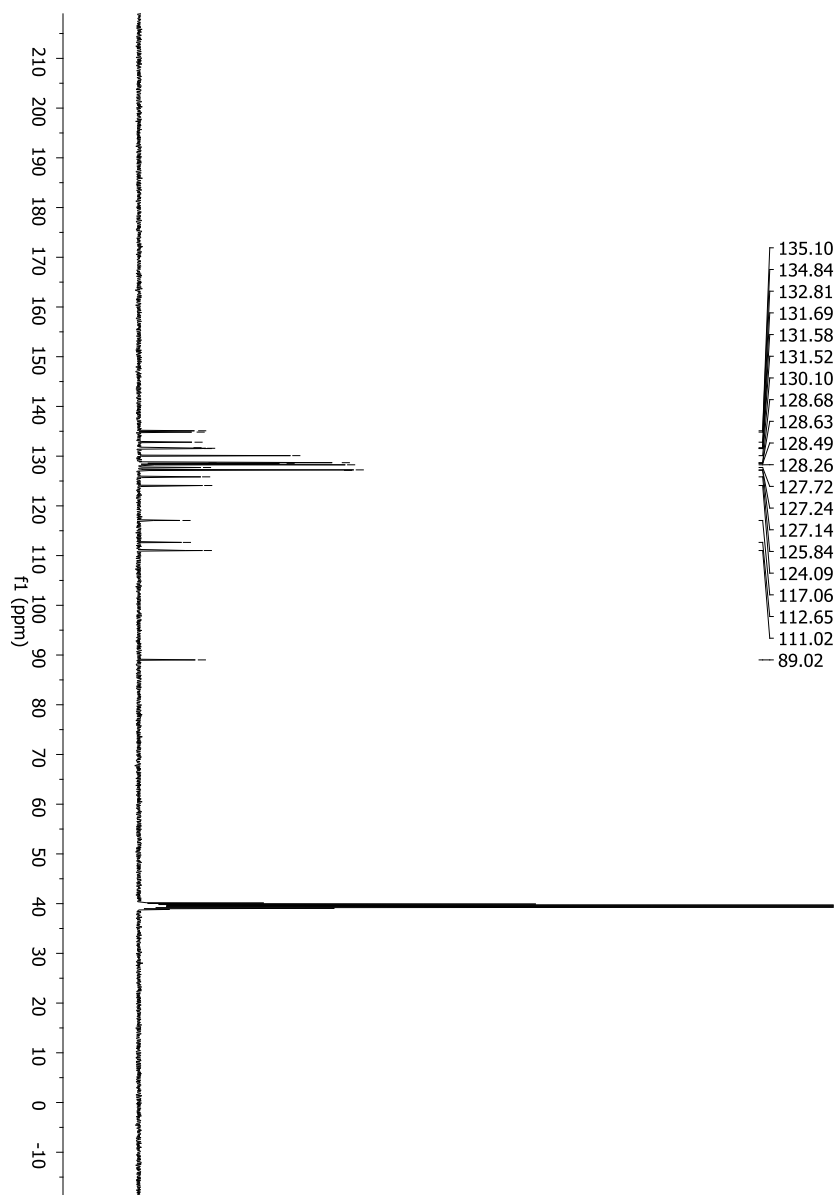
Widmo ^1H NMR Magnéz(II)-2,7,12,18-tetrakis-(2-fenylo-5-metylo-1*H*-pirolilo)-3,8,13,17-tetrakis-(dimetyloamino)porfirazyna (22)



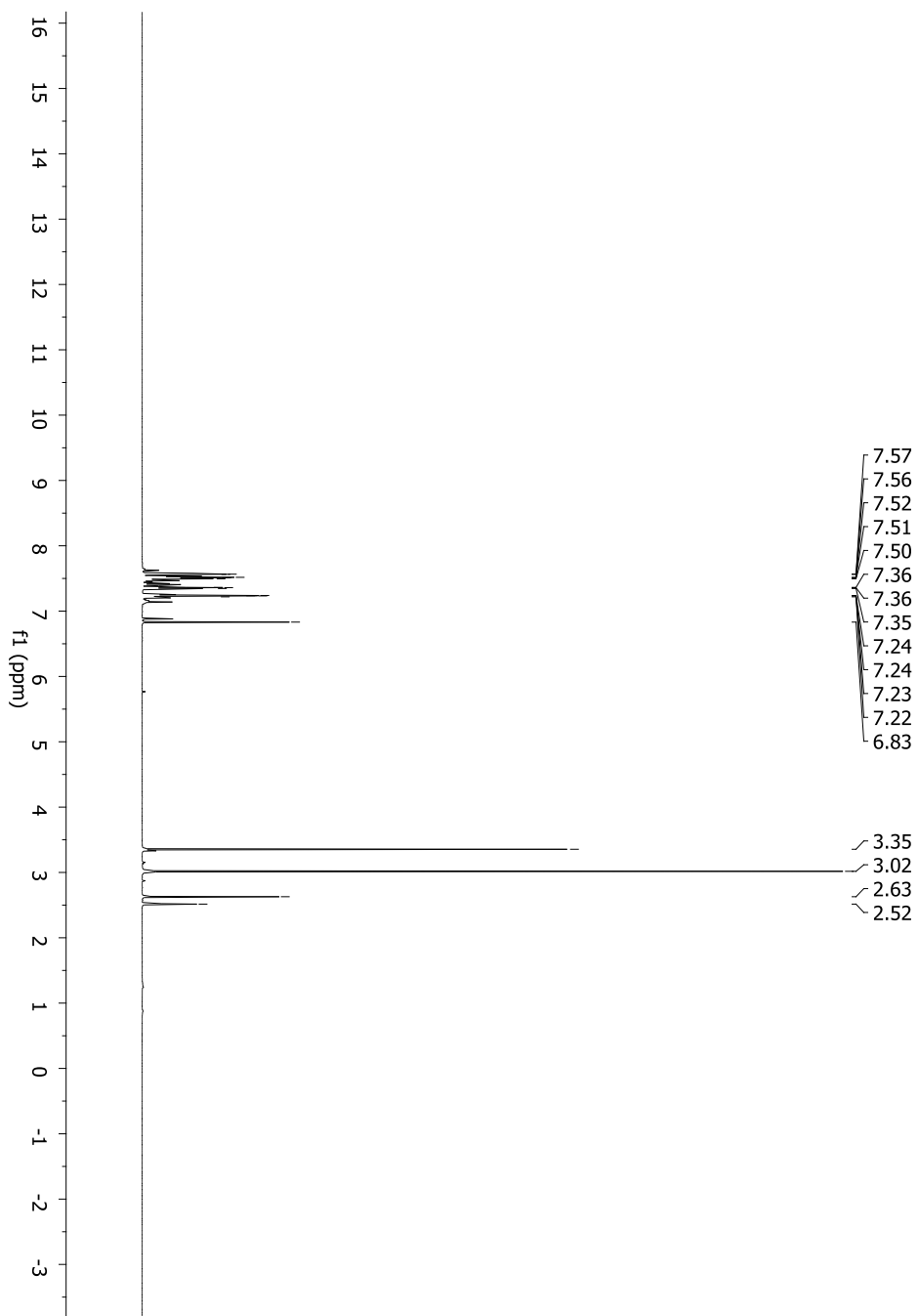
Widmo ^{13}C NMR Magnez(II)-2,7,12,18-tetrakis-(2-fenylo-5-metylo-1*H*-pirolilo)-3,8,13,17-tetrakis-(dimetyloamino)porfirazyna (22)



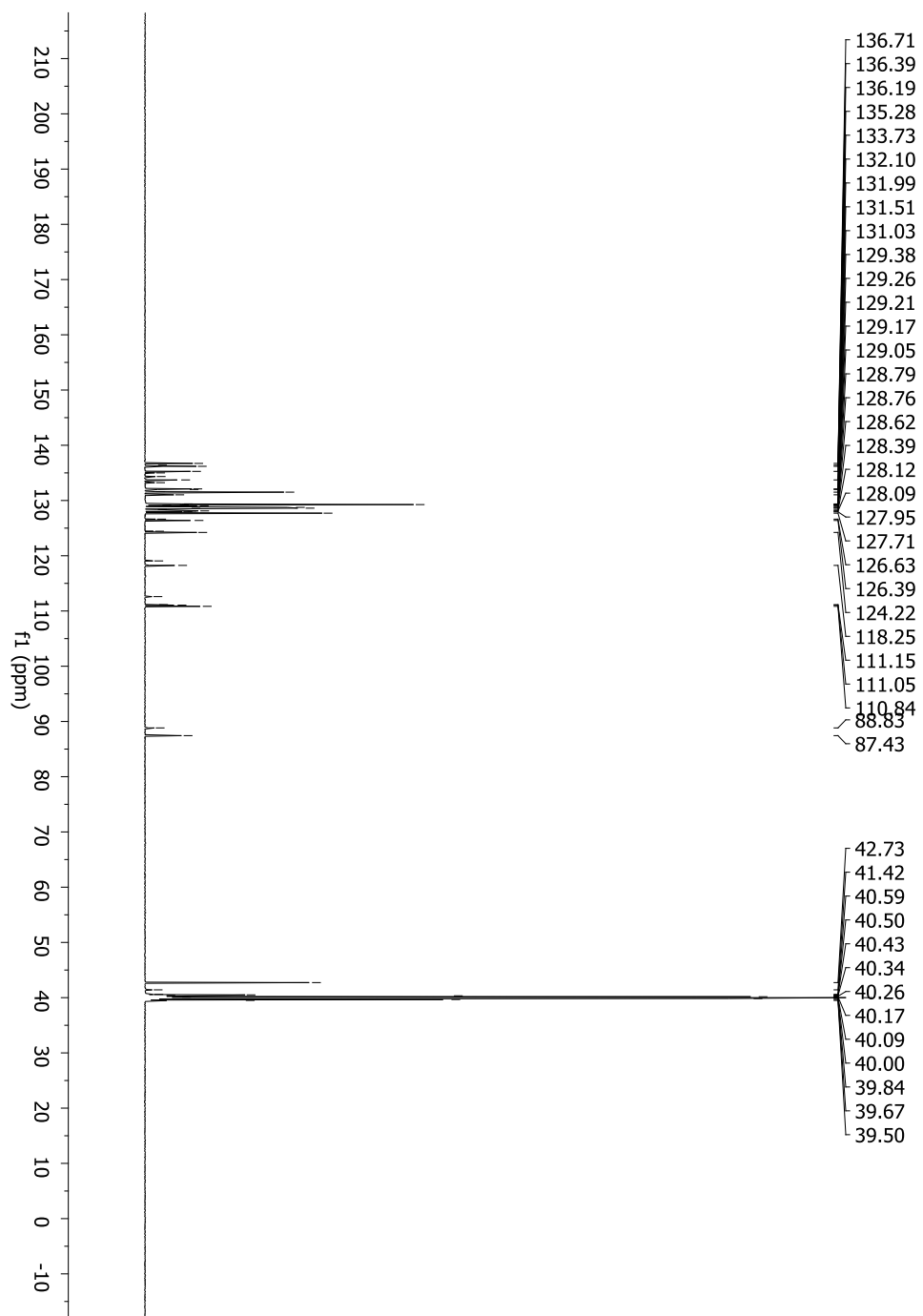
Widmo ^1H NMR 2-Amino-3-[(2,3,5-trifenylo)-1*H*-pirolilo]-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (23)



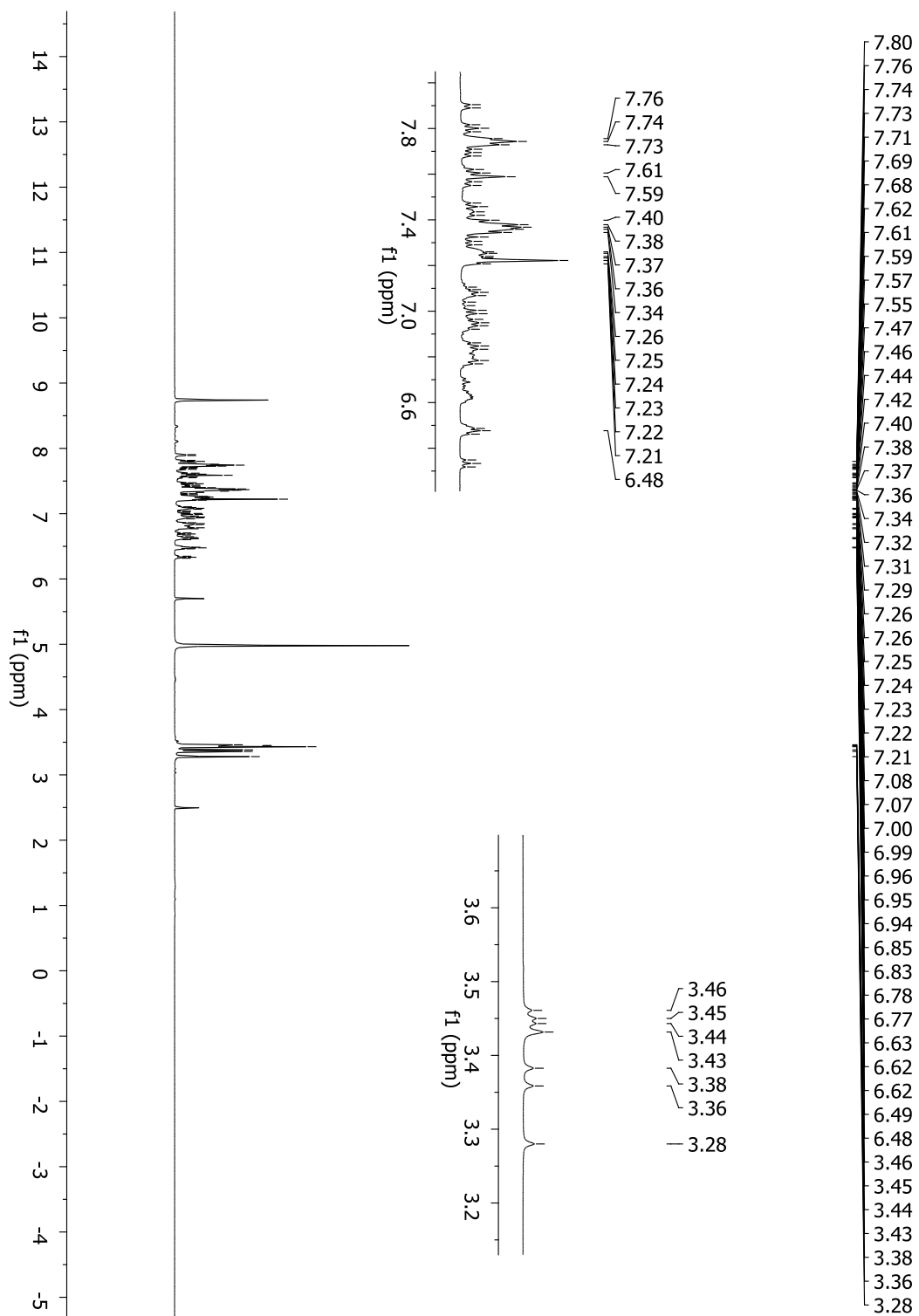
Widmo ^{13}C NMR 2-Amino-3-[(2,3,5-trifenylo)-1*H*-pirolilo]-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (23)



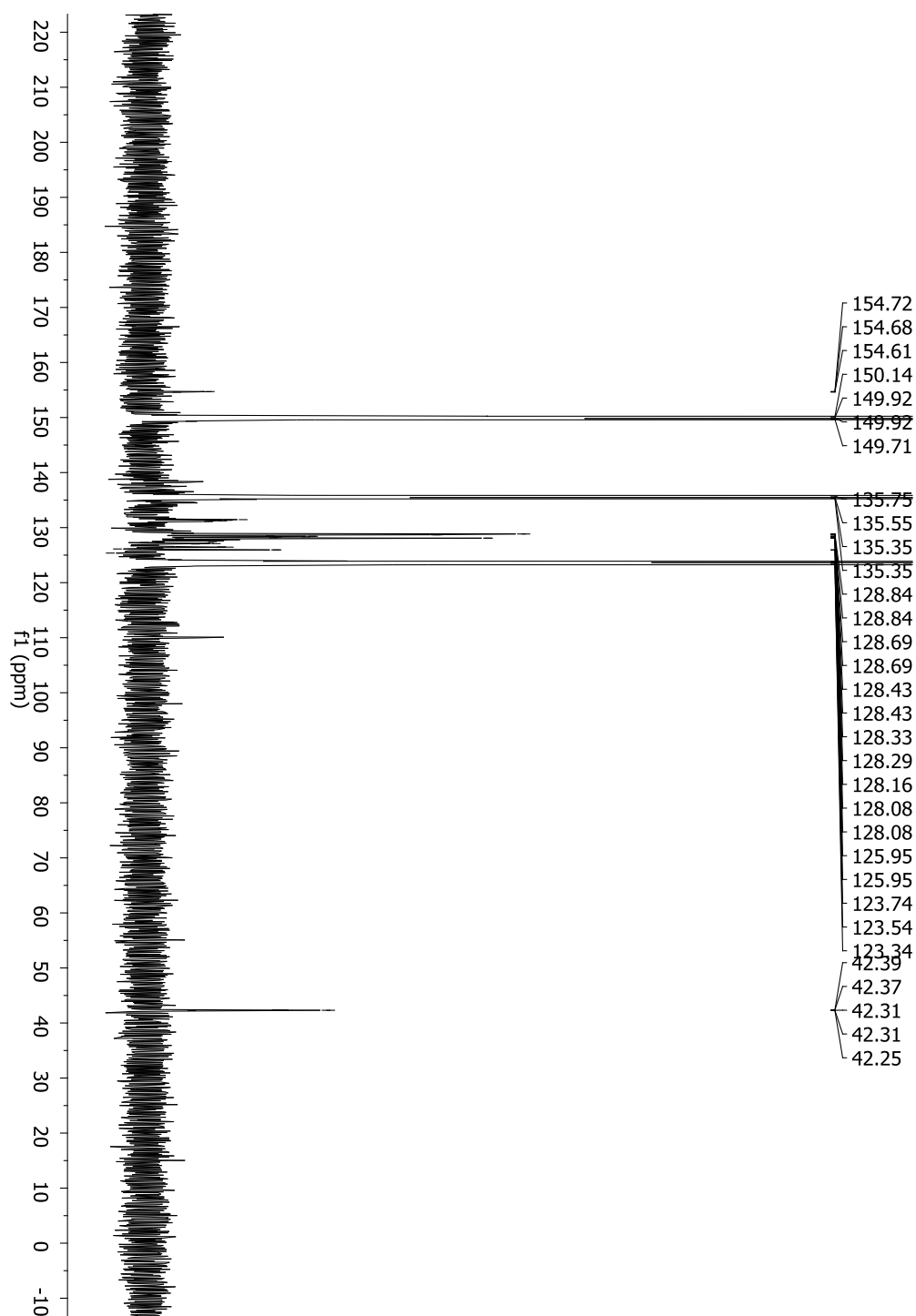
Widmo ^1H NMR 2-[(2,3,5-trifenylo)-1*H*-pirolilo]-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (24)



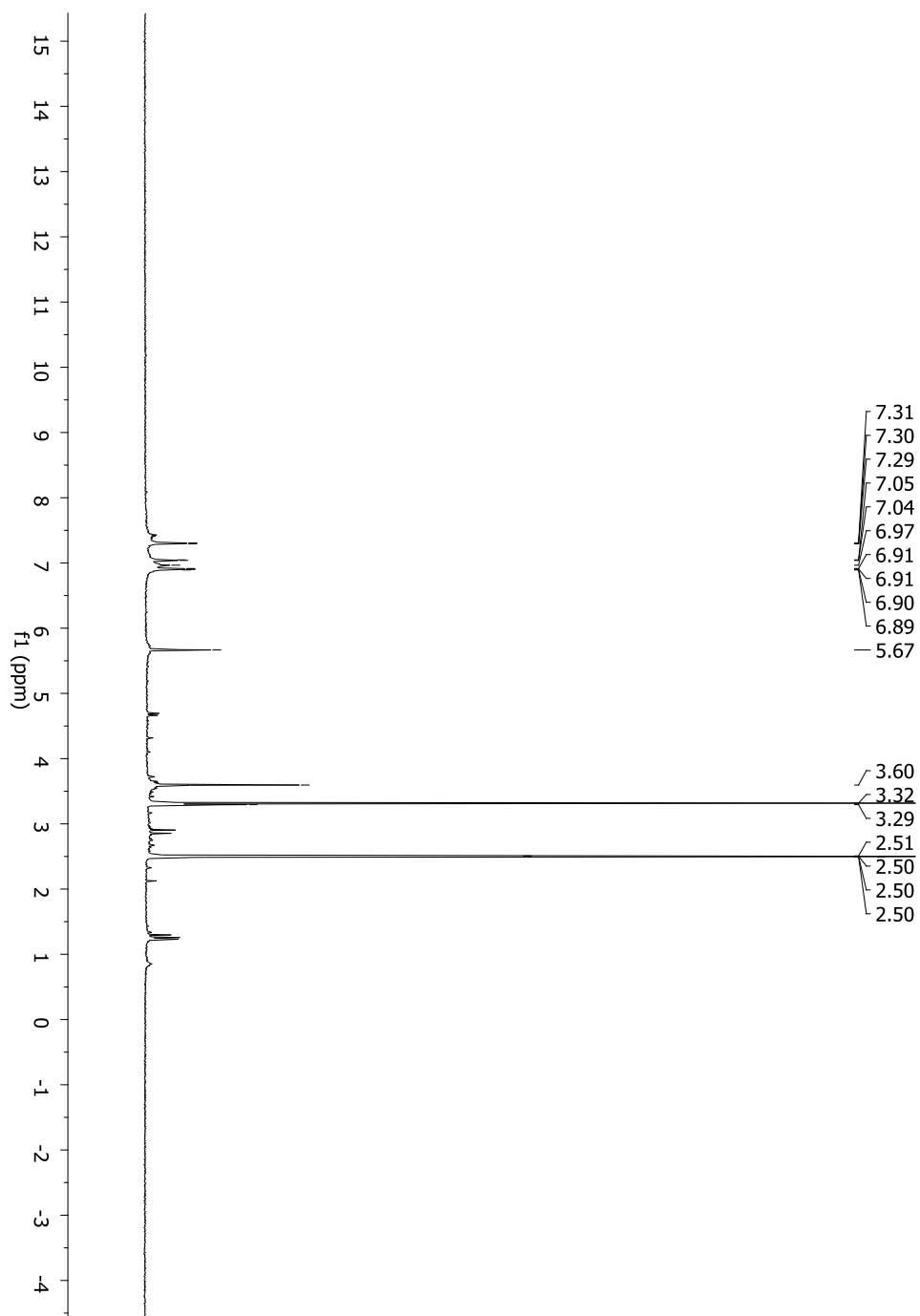
Widmo ^{13}C NMR 2-[(2,3,5-trifenylo)-1*H*-pirolilo]-3-dimetyloamino-1,4-dinitrylo-(2*Z*)-buten (24)



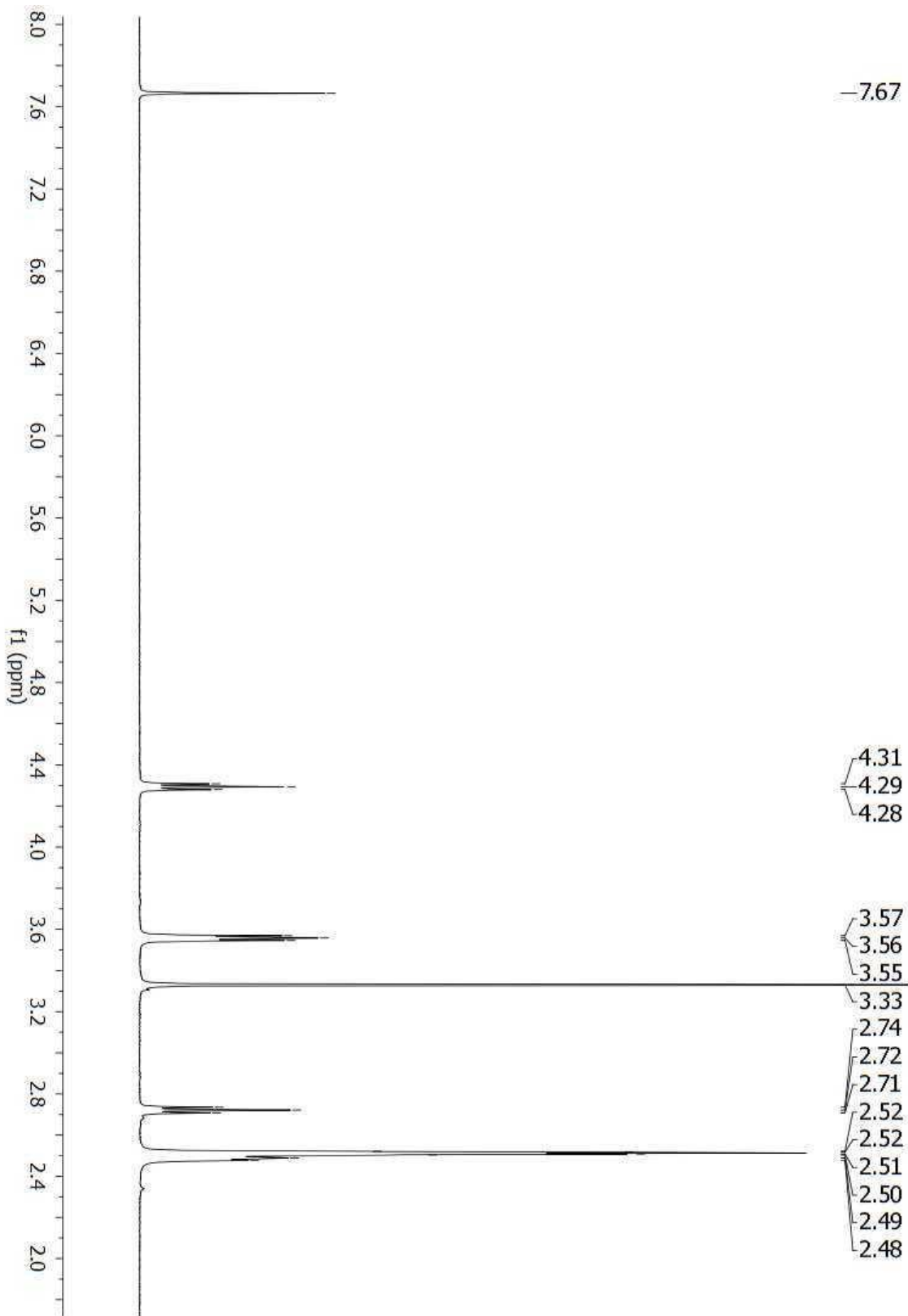
Widmo ^1H NMR Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis-(2,3,5-trifenylo-1H-pirolilo)-3,8,13,18-tetrakis-(dimetyloamino)porfirazyna (25)



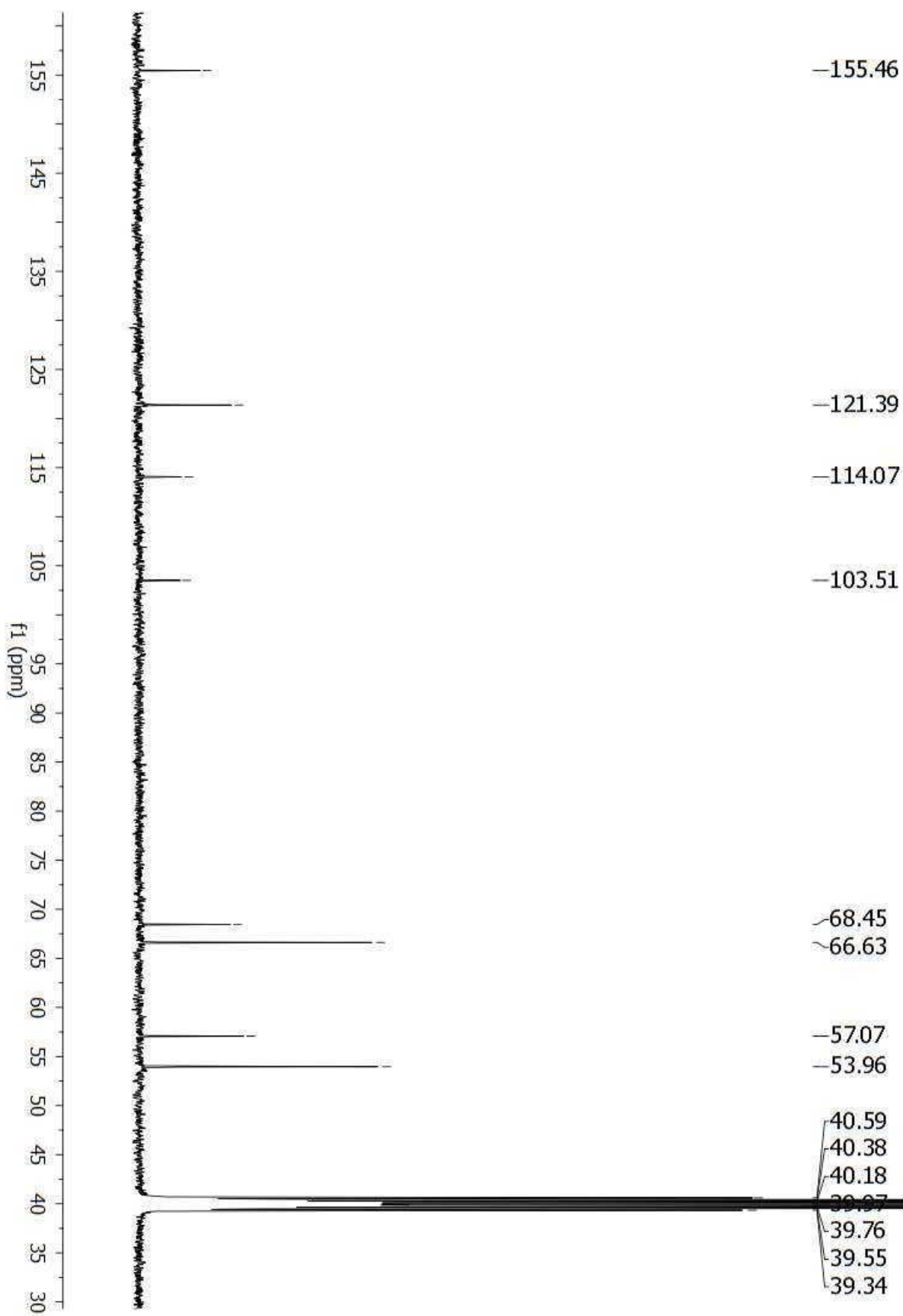
Widmo ^{13}C NMR Magnez(II) 2,7,12,17-tetrakis-(2,3,5-trifenylo-1*H*-pirolilo)-3,8,13,18-tetrakis-(dimetyloamino)porfirazyna (25)



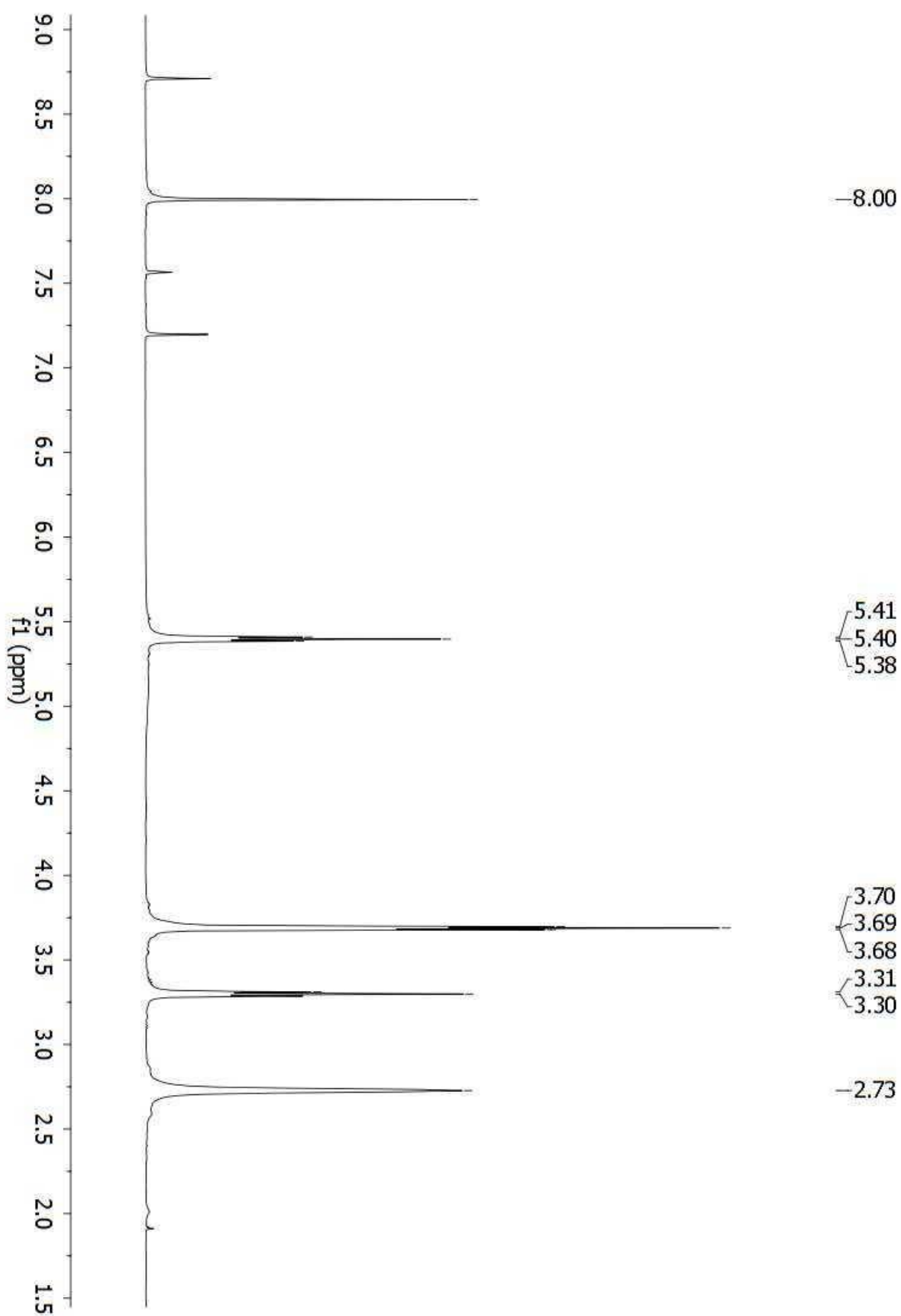
Widmo ^1H NMR Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis-[metylo(2-tienylometylo)amino]porfirazyna (31)



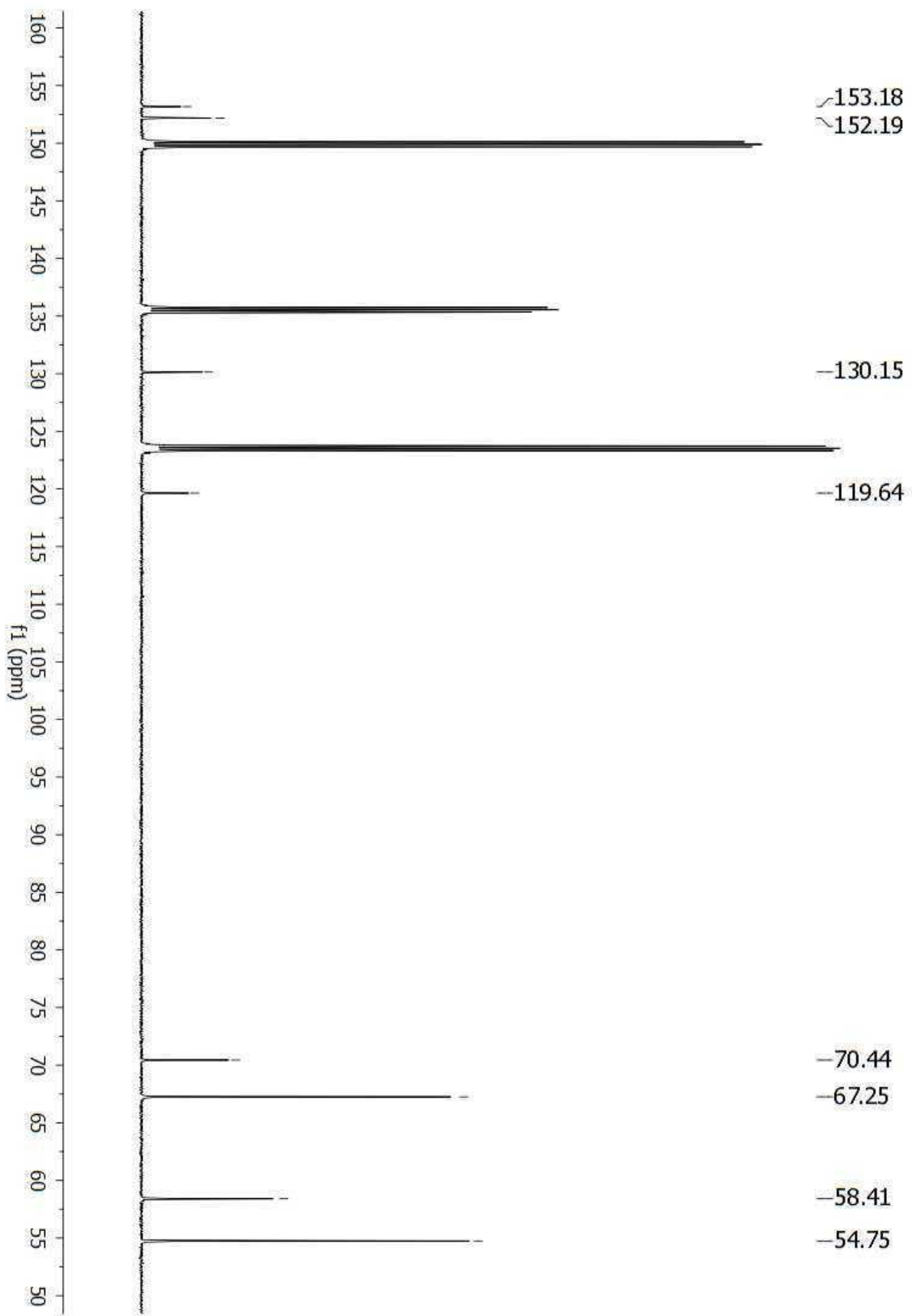
Widmo ^1H NMR 3,6-Di[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]-1,2-dicyjanobenzen (32)



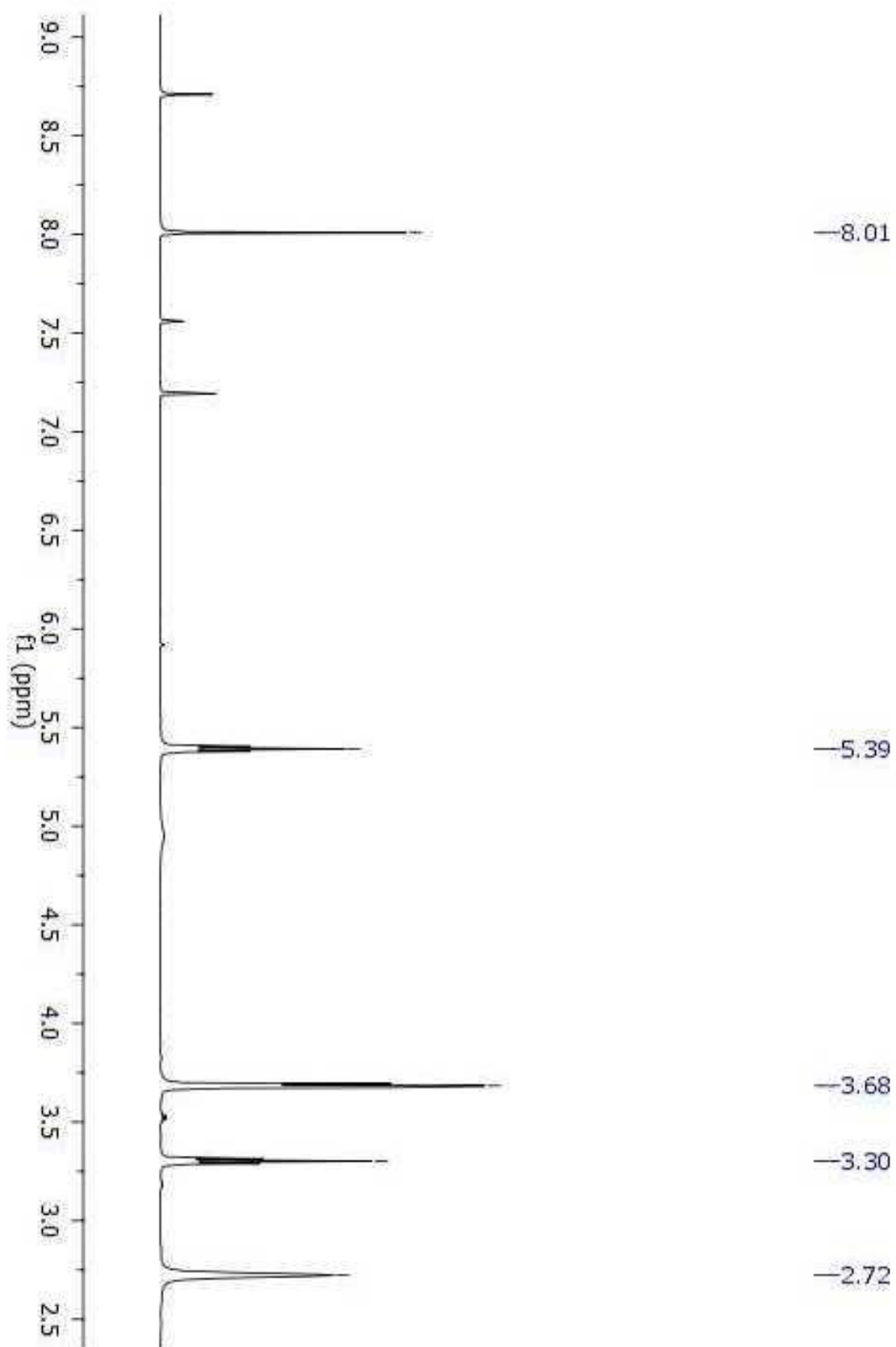
Widmo ^{13}C NMR 3,6-Di[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]-1,2-dicyjanobenzen (32)



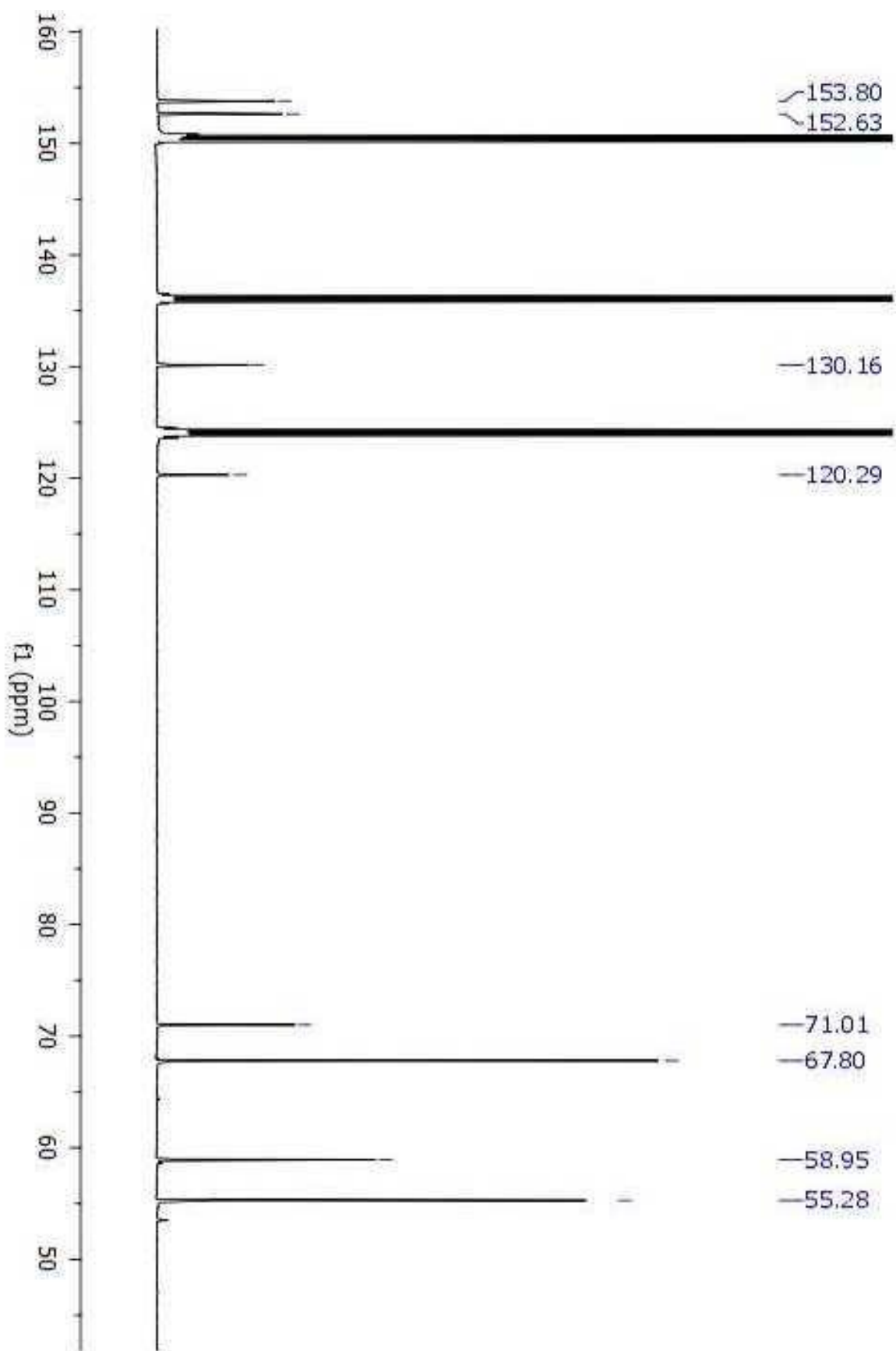
Widmo ¹H NMR Magnez(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]ftalocyjanina (33)



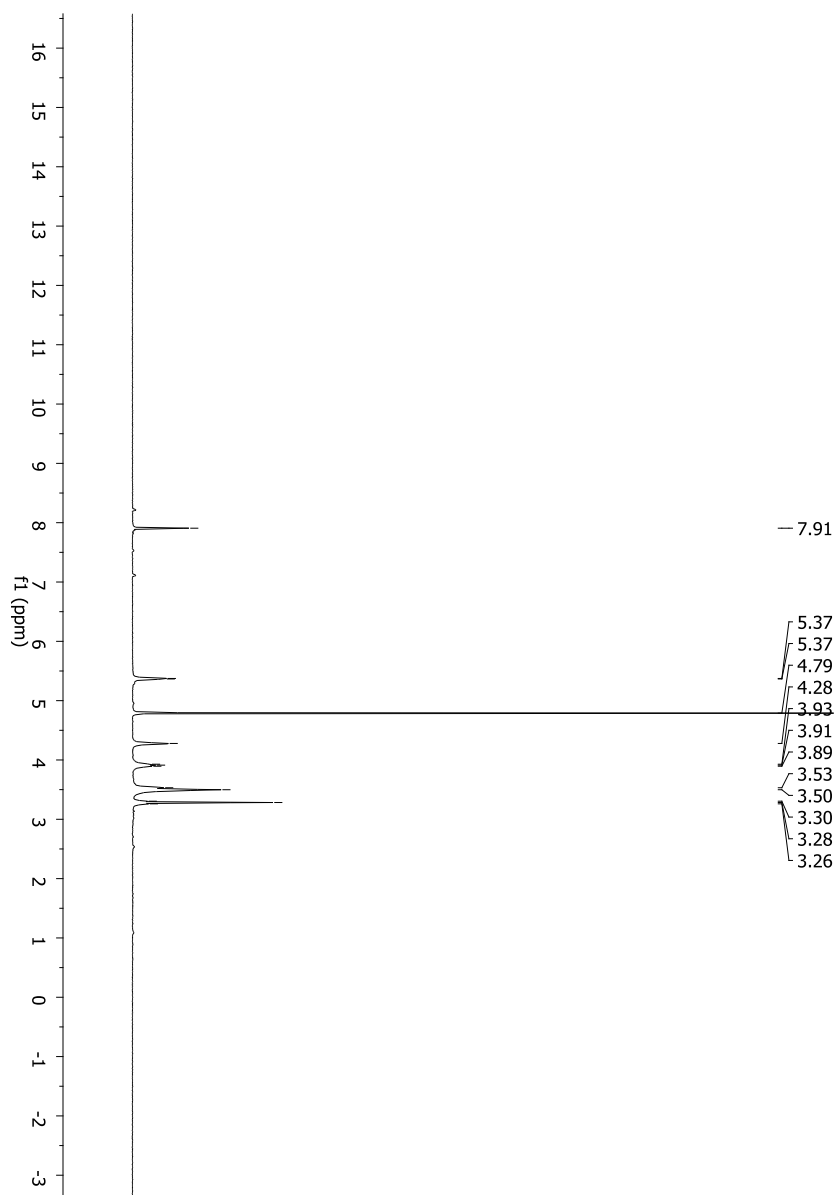
Widmo ^{13}C NMR Magnez(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]ftalocyjanina (33)



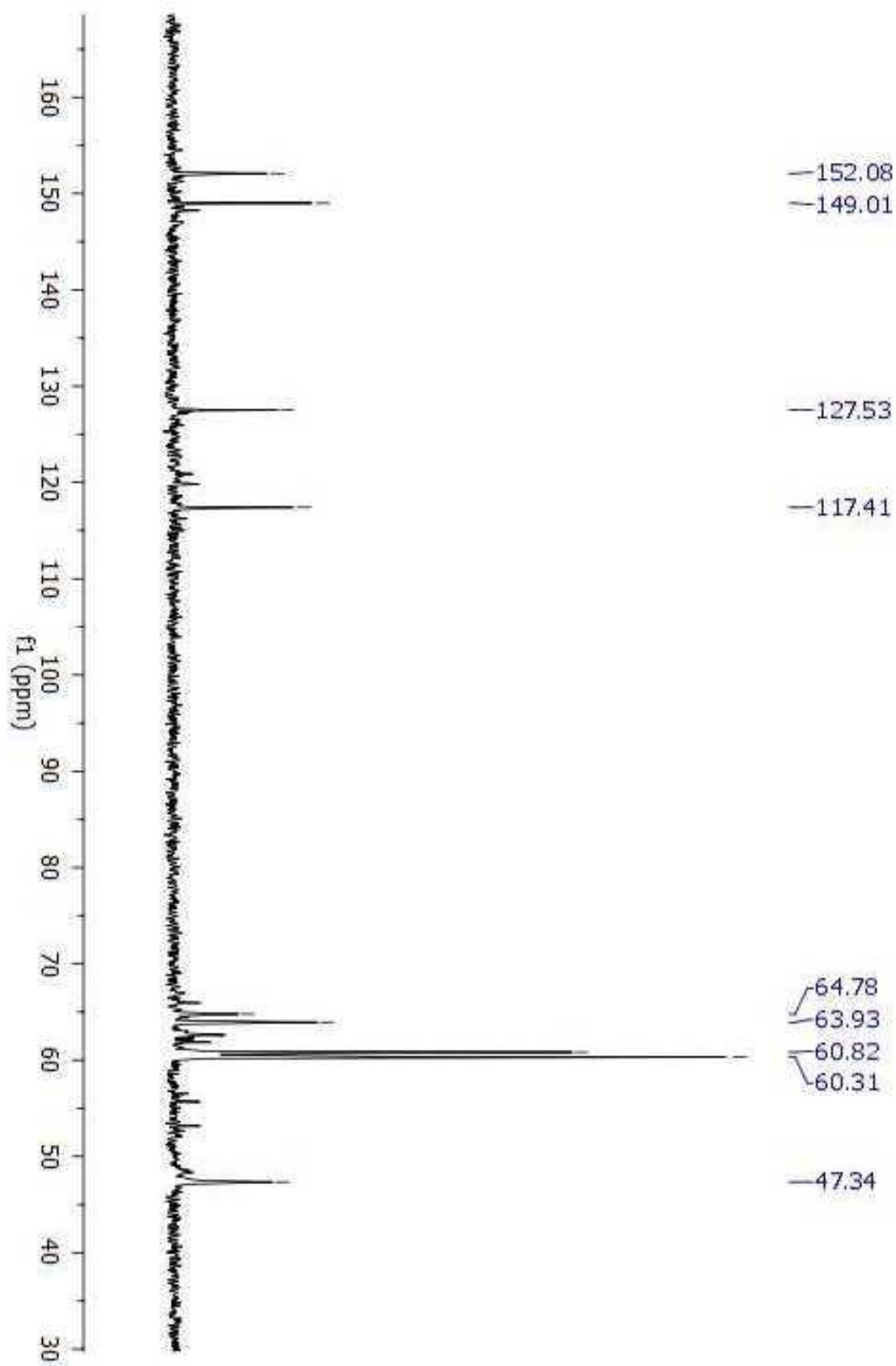
Widmo ¹H NMR Cynk(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]ftalocyjanina (34)



Widmo ^{13}C NMR Cynk(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(morfolin-4-ylo)etoksy]ftalocyjanina (34)



Widmo ^1H NMR Jodek magnez(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(4-N-metylmorfolin-4-ilo)etoksy]ftalocyjaniny (35)



Widmo ^{13}C NMR Jodek magnez(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[2-(4-N-metylmorfolin-4-ilo)etoksy]ftalocyjaniny (35)

OŚWIADCZENIE

Wyrażam zgodę na udostępnienie mojej rozprawy doktorskiej w Czytelni Naukowej Biblioteki Głównej Uniwersytetu Medycznego im. K.Marcinkowskiego w Poznaniu oraz w formie elektronicznej w Wielkopolskiej Bibliotece Cyfrowej (www.wbc.poznan.pl).

Poznań, dnia.....

.....

(podpis)

OŚWIADCZENIE

Niniejszym oświadczam, iż jestem autorem pracy.....**doktorskiej**..... p.t.:

"Synteza, charakterystyka i właściwości biologiczne nowych układów porfirynoidowych o rozbudowanych grupach peryferyjnych"

Praca ta została przeze mnie napisana samodzielnie (bez jakiegokolwiek udziału osób trzecich), przy wykorzystaniu wykazanej w pracy literatury przedmiotu i materiałów źródłowych, stanowi ona pracę oryginalną, nie narusza praw autorskich oraz dóbr osobistych osób trzecich i jest wolna od jakichkolwiek zapożyczeń.

Oświadczam również, że wymieniona praca nie zawiera danych i informacji, które zostały uzyskane w sposób niedozwolony prawem oraz nie była dotychczas przedmiotem żadnej urzędowej procedury związanej z uzyskaniem stopnia ...**naukowego: doktor nauk farmaceutycznych**..., a złożona przeze mnie dyskietka/płyta CD zawiera elektroniczny zapis przedstawionej przeze mnie pracy.

Jednocześnie oświadczam, że nieodpłatnie udzielam Uniwersytetowi Medycznemu im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu licencji do korzystania z wyżej wymienionej pracy bez ograniczeń czasowych i terytorialnych w zakresie obrotu nośnikami, na których pracę utrwalono przez: wprowadzanie do obrotu, użyczenie lub najem egzemplarzy w postaci elektronicznej a nadto upoważniam Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu do przechowywania i archiwizowania pracy w zakresie wprowadzania jej do pamięci komputera oraz do jej zwielokrotniania i udostępniania w formie elektronicznej oraz drukowanej.

Imię i nazwisko

Data, podpis