

*Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków
Lecznicych*



Sebastian Lijewski

**Synteza, charakterystyka fizykochemiczna
oraz ocena możliwości zastosowania w medycynie
oraz nanotechnologii siarkowych pochodnych porfirazyn**

Praca doktorska

Promotor: dr hab. Tomasz Gośliński, prof. UM

Promotor pomocniczy: dr hab. Ewa Tykarska

Poznań, 2016

Poznan University of Medical Sciences

Departament of Chemical Technology of Drugs



Sebastian Lijewski

**Synthesis, physicochemical characteristics and potential
applications of sulfanyl porphyrazine derivatives
in medicine and nanotechnology**

PhD Thesis

Supervisor: dr hab. Tomasz Gośliński, Prof. UM

Auxiliary supervisor: dr hab. Ewa Tykarska

Poznań, 2016

Słowa kluczowe:

elektrochemia, fotosensybilizatory, porfirazyny, terapia fotodynamiczna, tlen singletowy

Badania zawarte w niniejszej rozprawie doktorskiej były częściowo finansowane z grantów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (NN401 067238) oraz Narodowego Centrum Nauki (2012/05/N/NZ7/00624 i 2012/05/E/NZ7/01204).

Wyniki badań zawartych w rozprawie doktorskiej opublikowano:

1. Dariusz Mlynarczyk, Sebastian Lijewski, Michal Falkowski, Jaroslaw Piskorz, Wojciech Szczolko, Lukasz Sobotta, Magdalena Stolarska, Lukasz Popena, Stefan Jurga, Krystyna Konopka, Nejat Düzgüneş, Jadwiga Mielcarek, Tomasz Goslinski
Dendrimeric sulfanyl porphyrazines: Synthesis, physico-chemical characterization and biological activity for potential applications in anticancer photodynamic therapy
ChemPlusChem **2016**; doi: 10.1002/cplu.201600051
IF = 3,026, Pkt. MNiSW = 30
2. Tomasz Rebis, Sebastian Lijewski, Joanna Nowicka, Lukasz Popena, Lukasz Sobotta, Stefan Jurga, Jadwiga Mielcarek, Grzegorz Milczarek, Tomasz Goslinski
Electrochemical properties of metallated porphyrazines possessing isophthaloxybutylsulfanyl substituents: Application in the electrocatalytic oxidation of hydrazine
Electrochim. Acta **2015**: 168, 216–224.
IF = 4,504, Pkt. MNiSW = 40
3. Sebastian Lijewski, Mateusz Gierszewski, Lukasz Sobotta, Jaroslaw Piskorz, Paulina Kordas, Malgorzata Kucinska, Daniel Baranowski, Zofia Gdaniec, Marek Murias, Jerzy Karolczak, Marek Sikorski, Jadwiga Mielcarek, Tomasz Goslinski
Photophysical properties and photochemistry of a sulfanyl porphyrazine bearing isophthaloxybutyl substituents
Dyes Pigments **2015**: 113, 702–708.
IF = 3,966, Pkt. MNiSW = 40
4. Sebastian Lijewski, Tomasz Rębiś, Daria Wachowska, Grzegorz Milczarek, Tomasz Gośliński
Właściwości elektrochemiczne nowych porfirazyn posiadających peryferyjne ugrupowanie 4-nitroimidazolilobutylosulfanylowe
Przem. Chem. **2014**: 93 (12) 2229–2231.
IF = 0,399, Pkt. MNiSW = 15
5. Sebastian Lijewski, Jaroslaw Piskorz, Malgorzata Kucinska, Marcin Wierzchowski, Katarzyna Czerniak, Hanna Billert, Marek Murias, Jadwiga Mielcarek, Tomasz Goslinski
Synthesis, characterization, photo-chemical properties and cytotoxicity of the novel porphyrazine functionalized with nitroimidazolylbutylsulfanyl groups
Inorg. Chem. Commun. **2013**: 29 (3) 97–100.
IF = 2,062, Pkt. MNiSW = 25

Część badań zrealizowanych w pracy doktorskiej została wykonana we współpracy z:

- Katedrą i Zakładem Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu – w zakresie pomiarów fizykochemicznych otrzymanych związków makrocyklicznych,
- Katedrą i Zakładem Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu – w zakresie badań aktywności fotodynamicznej wybranych związków makrocyklicznych na liniach komórkowych ludzkich nowotworów,
- Microbiology Department, University of the Pacific, Arthur A. Dugoni School of Dentistry, San Francisco, USA – w zakresie badań aktywności fotodynamicznej wybranych związków makrocyklicznych na liniach komórkowych ludzkich nowotworów jamy ustnej,
- Instytutem Chemii i Elektrochemii Technicznej, Politechniki Poznańskiej – w zakresie pomiarów elektrochemicznych,
- Centrum NanoBioMedycznym, Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu – w zakresie zarejestrowania widm magnetycznego rezonansu jądrowego,
- Zakładem Krystalografii, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu – w zakresie pomiarów dyfraktometrycznych.

*Panu dr. hab. **Tomaszowi Goślińskiemu**, prof. UM dziękuję za czuwanie nad każdym aspektem powstawania tej pracy. Za dzielenie się wiedzą i doświadczeniem. Za troskę, cierpliwość, poświęcony czas i szczerą zaangażowanie. Dziękuję za wszystko.*

*Pani dr hab. **Ewie Tykarskiej** dziękuję za wszelkie wsparcie, wielką życzliwość i pomoc przy opracowaniu wyników analizy rentgenostrukturalnej.*

*Grupie badawczej Pani prof. dr hab. **Jadwigi Mielcarek** i **Pani Profesor** dziękuję za pomoc, dzielenie się spostrzeżeniami i doświadczeniami.*

*Panu dr. **Jarosławowi Piskorzowi** dziękuję za pomoc przy otrzymaniu liposomów oraz przeprowadzenie badań aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*.*

*Pani mgr inż. **Ricie Kubie**, **Beacie Kwiatkowskiej**, mgr **Agnieszce Gielara–Korzańskiej**, pozostałym Pracownikom Katedry oraz wykonawcom grantu *Sonata Bis* za niespotykaną nigdzie atmosferę, koleżeństwo i pomoc.*

*Panu dr. hab. inż. **Grzegorzowi Milczarkowi**, prof. PP i Panu dr. **Tomaszowi Rębisowi** dziękuję za pomoc przy wykonaniu pomiarów cyklicznej voltamperometrii i interpretacji wyników badań.*

*Panu dr. hab. **Markowi Muriasowi**, prof. UM i Pani dr **Małgorzacie Kucińskiej** dziękuję za udostępnienie wyników badań aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*.*

*Panu prof. dr hab. **Stefanowi Jurdze**, dr. **Łukaszowi Popendzie** dziękuję za udostępnienie wyników pomiarów spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego.*

*Pani prof. dr hab. **Marii Gdaniec** dziękuję za umożliwienie wykonania pomiarów dyfraktometrycznych uzyskanych monokryształów.*

*Pracę dedykuję
pamięci Mamy,
Tacie
oraz Asi*

SPIS TREŚCI

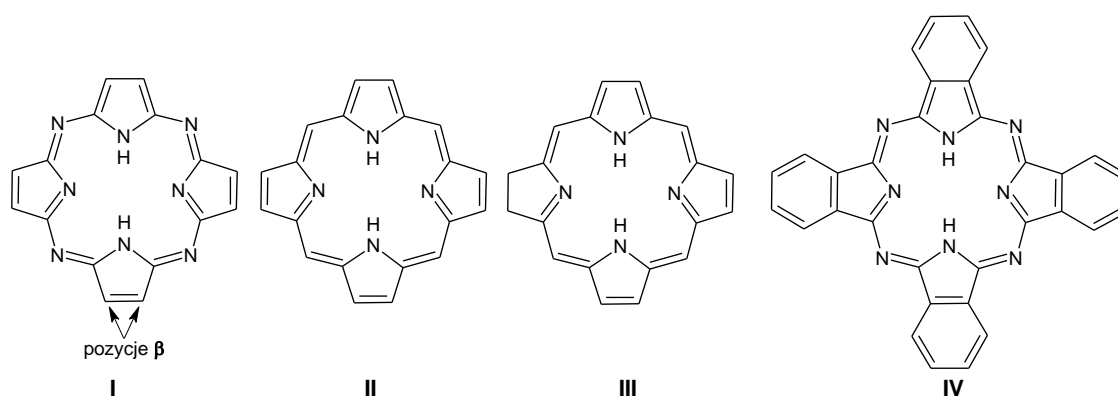
| | |
|--|----|
| I. WSTĘP | 1 |
| II. CEL PRACY | 5 |
| III. CZĘŚĆ LITERATUROWA: „PORFIRYNOIDY ZAWIERAJĄCE W STRUKTURZE SIARKE” | 6 |
| III.1. Porfirynoidy z atomem siarki w strukturze pierścienia makrocyklicznego | 6 |
| III.2. Makrocykle tetrapiolowe z peryferyjnymi podstawnikami sulfanylowymi | 11 |
| III.3. Porfirynoidy podstawione peryferyjnie lub aksjalnie podstawnikami zawierającymi w strukturze siarkę | 19 |
| III.4. Podsumowanie | 22 |
| IV. WYNIKI I DYSKUSJA | 23 |
| IV.1. Porfirazyny z peryferyjnymi ugrupowaniami 4-nitroimidazolilobutylo-sulfanylowymi | 23 |
| IV.1.1. Synteza i charakterystyka | 23 |
| IV.1.2. Ocena zdolności generowania tlenu singletowego oraz tlenku azotu | 26 |
| IV.1.3. Aktywność fotodynamiczna <i>in vitro</i> | 27 |
| IV.1.4. Badania elektrochemiczne | 30 |
| IV.2. Porfirazyny siarkowe posiadające rozbudowane aryloksylove ugrupowania peryferyjne | 32 |
| IV.2.1. Synteza oraz charakterystyka | 33 |
| IV.2.2. Aktywność fotodynamiczna <i>in vitro</i> | 47 |
| IV.2.3. Właściwości elektrochemiczne | 48 |
| IV.3. Porfirazyny posiadające peryferyjne ugrupowania arylometrylosulfanylowe | 52 |
| IV.3.1. Synteza i charakterystyka | 52 |
| IV.3.2. Wyjaśnienie braku reaktywności związków posiadających ugrupowanie 4-bromobenzylosulfanylowe w reakcjach sprzęgania | 64 |
| IV.3.3. Aktywność fotodynamiczna <i>in vitro</i> | 68 |

| | |
|---|-----|
| V. PODSUMOWANIE I WNIOSKI..... | 70 |
| VI. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA | 73 |
| VI.1. Informacje ogólne | 73 |
| VI.2. Zastosowane odczynniki i rozpuszczalniki | 74 |
| VI.3. Synteza | 76 |
| VI.4. Badania krystalograficzne | 84 |
| VI.5. Badania elektrochemiczne z wykorzystaniem nanorurek | 85 |
| VI.6. Przygotowanie liposomów | 85 |
| VII. STRESZCZENIE | 87 |
| VIII. ABSTRACT | 90 |
| IX. SPIS STOSOWANYCH SKRÓTÓW | 93 |
| X. SPIS RYSUNKÓW, SCHEMATÓW ORAZ TABEL | 94 |
| X.1. Rysunki | 94 |
| X.2. Schematy..... | 97 |
| X.3. Tabele | 98 |
| X.4. Wykresy | 99 |
| XI. LITERATURA..... | 100 |
| XII. SUPLEMENT | 106 |

We wstępie i części literaturowej zastosowano numerację związków cyframi rzymskimi

I. WSTĘP

Porfirazyny **I** to aromatyczne makro- oraz heterocykliczne związki, które należą do dużej rodziny porfiryroidów zbudowanych przeważnie z czterech jednostek pirolowych. W układach występujących w przyrodzie, jak porfiryny **II** czy chloryny **III**, pierścienie pirolowe połączone są ugrupowaniami metinowymi. Natomiast porfirazyny będące związkami syntetycznymi, posiadają ugrupowania azometinowe. Kolejną grupą syntetycznych porfiryroidów są ftalocyjaniny **IV**, które posiadają w strukturze skondensowane pierścienie pirolowe i benzenowe (**Rys. 1**) [1].



Rys. 1. Struktury wybranych grup związków porfiryroidowych **I – IV**.

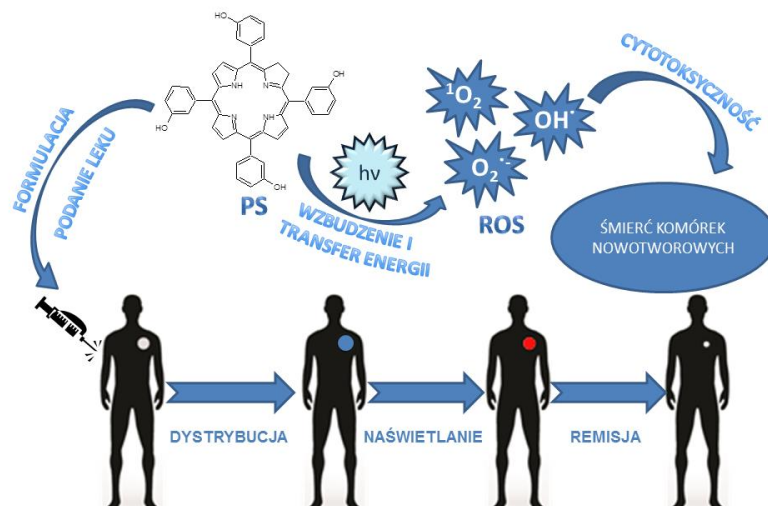
W centrum rdzenia cząsteczki porfiryroidu może zachodzić koordynacja kationów różnych metali, a powstały makrocykl określa się jako porfiryroid metalowany. W przypadku braku kationu metalu w rdzeniu makrocykla, jest określany jako bezmetaliczny. Wprowadzenie dodatkowych atomów azotu w ugrupowaniach azometinowych, do pierścienia tetrapirołowego prowadzi do zwiększenia właściwości σ -donorowych i π -akceptorowych makrocykla, co sprzyja silniejszemu wiązaniu jonów metali [1]. Porfirazyny **I** w części peryferyjnej mogą zostać podstawione w pozycjach β (**Rys. 1**) m.in. grupami alkilowymi, aromatycznymi, heteroaromatycznymi, tiolowymi, aminowymi lub hydroksylowymi. Budowa cząsteczki porfirazyny i ftalocyjaniny implikuje interesujące właściwości fizykochemiczne, w szczególności fotochemiczne oraz elektrochemiczne [2,3].

W przyrodzie porfiryroidy pełnią niezwykle ważne funkcje. Hem wchodzący w skład hemoglobiny jest przenośnikiem tlenu, natomiast jako grupa prostetyczna enzymów z grupy cytochromu P450, warunkuje ich aktywność katalityczną. W przypadku organizmów

zielonych chlorofil bierze udział w procesie fotosyntezy. Metylokobalamina (Wit. B₁₂), która z chemicznego punktu widzenia jest pochodną koryny, pełni funkcje regulatorowe w procesie produkcji czerwonych krwinek. Przedstawione przykłady wskazują, jak różnorodne funkcje w przyrodzie pełnią makrocykle tetrapirolowe [4].

Naturalne oraz syntetyczne porfirynoidy są intensywnie badane ze względu na unikatowe właściwości fizykochemiczne oraz możliwości zastosowania w technice, przemyśle oraz medycynie. Związki te cieszą się szczególnym zainteresowaniem jako barwniki, elementy do budowy układów scalonych, sensorów, ogniw fotowoltaicznych oraz jako katalizatory reakcji chemicznych [5–13]. W medycynie znalazły zastosowanie w diagnostyce fotodynamicznej (PDD, *Photodynamic Diagnosis*) i innych metodach obrazowania, w tym w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego (MRI, *Magnetic Resonance Imaging*) [14–17]. Porfirynoidy są przede wszystkim szeroko stosowanymi fotouczulaczami wykorzystywanymi w leczeniu schorzeń dermatologicznych, infekcji bakteryjnych oraz chorób nowotworowych w terapii fotodynamicznej (PDT, *Photodynamic Therapy*) [18,19].

W PDT fotouczulacz (PS, *Photosensitizer*), podany pacjentowi miejscowo lub dożylnie, krąży w organizmie kumulując się w tkankach chorobowo zmienionych. Naświetlanie narządu lub tkanki odbywa się z wykorzystaniem promieniowania elektromagnetycznego o odpowiedniej długości fali. Podstawą PDT jest reakcja fotodynamiczna, podczas której dochodzi do absorpcji kwantu promieniowania przez PS. Wzbudzony fotouczulacz przekazuje energię na inne cząsteczki, w tym na tlen lub wodę, co prowadzi do wytworzenia reaktywnych form tlenu (ROS, *Reactive Oxygen Species*). Do ROS zalicza się również niezwykle aktywny fotodynamicznie tlen singletowy (¹O₂), będący formą tlenu trypletowego (³O₂), występującego w środowisku. ROS reagując z organellami komórkowymi i błonami prowadzą do ich uszkodzenia, a w konsekwencji śmierci komórek na drodze apoptozy lub nekrozy [18–21] (**Rys. 2**).



Rys. 2. Schemat reakcji i terapii fotodynamicznej.

Związki, które po wzbudzeniu nie przekazują energii na inne cząsteczki, ani nie wykazują właściwości emisyjnych (fluorescencja i fosforescencja), mogą zaabsorbowaną energię wyemitować w postaci ciepła, co również jest wykorzystane w leczeniu nowotworów. Wzrost temperatury po wzbudzeniu promieniowaniem widzialnym wykorzystuje terapia fototermiczna – PTT (*Photothermal Therapy*), która stosowana łącznie z PDT, podnosi skuteczność leczenia [22].

Obecnie najczęściej wykorzystywanym fotouczulaczem, jest opracowany ponad 50 lat temu Photofrin[®], będący pochodną hematoporfiryny. Photofrin[®] to trudna do odtworzenia postać farmaceutyczna, będąca mieszaniną ok. 60 związków: monomerów, dimerów i oligomerów otrzymywanych podczas chemicznej obróbki hematoporfiryny. Stosowane obecnie fotouczulacze posiadają wiele ograniczeń. Z tego względu poszukiwane są związki charakteryzujące się lepszą czystością i korzystniejszymi właściwościami fotochemicznymi oraz pozbawione działań ubocznych towarzyszących PDT, takich jak nadwrażliwość na światło [23,24].

Zdolność makrocykla do absorpcji promieniowania elektromagnetycznego w określonym zakresie długości fali, determinuje możliwość jego zastosowania w terapii fotodynamicznej. Szczególnie istotne jest posiadanie przez fotouczulacz maksimum absorpcji w zakresie 600 – 800 nm. Jest to tzw. okno optyczne tkanek, w którym absorpcja występujących w organizmie aminokwasów, hemoglobiny i kofaktorów jest najmniejsza [25].

Dzięki temu światło może przenikać tkanki głębiej i skuteczniej aktywować obecny w nich fotouczulacz.

Ważnym czynnikiem mającym wpływ na skuteczność PDT są rozmiary cząsteczki fotouczulacza. Chorobowo zmienione tkanki charakteryzują się większą przepuszczalnością naczyń krwionośnych oraz zmniejszonym drenażem limfatycznym, w porównaniu z tkankami zdrowymi, wykazując efekt zwiększonej przepuszczalności i zatrzymania, określany jako EPR (*Enhanced Permeability and Retention*) [26,27]. Zjawisko to sprawia, że większe cząsteczki kumulują się w tkankach nowotworowych, natomiast nie przenikają do zdrowych tkanek. Dane literaturowe wskazują, że stosując fotosensybilizatory o ściśle określonych rozmiarach cząsteczek, można zwiększyć ich selektywność względem komórek nowotworowych, a tym samym uzyskać większą skuteczność i bezpieczeństwo terapii. Dlatego dąży się do zwiększenia promienia cząsteczki fotouczulacza m.in. stosując podstawniki dendrymeryczne. Wykorzystuje się także różnego rodzaju nośniki, jak np. micelle, liposomy, cząstki polimerowe czy koniugaty z hydrofilowymi polimerami [28–30].

II. CEL PRACY

W części literaturowej niniejszej pracy doktorskiej postanowiono zgromadzić i przeanalizować dostępne piśmiennictwo na temat porfirynoidów, zawierających w strukturze atom siarki. Założono przeanalizowanie wpływu tego heteroatomu na właściwości tetrapirolowych związków makrocyklicznych, w szczególności na charakterystykę foto-, elektrochemiczną, zdolność generowania tlenu singletowego oraz możliwość zastosowania w medycynie i nanotechnologii.

Zaplanowano omówienie zagadnień części literaturowej z wyróżnieniem następujących grup makrocykli:

- I. związki porfirynoidowe zawierające siarkę w strukturze pierścienia makrocyklicznego,
- II. makrocykle tetrapirolowe z peryferyjnymi podstawnikami sulfanyłowymi,
- III. porfirynoidy podstawione peryferyjnie lub aksjalnie podstawnikami zawierającymi w strukturze siarkę.

W części doświadczalnej zaplanowano następujące badania:

- I. Otrzymanie porfirazyn siarkowych posiadających zróżnicowane podstawniki peryferyjne, w tym bezmetalicznych oraz zawierających w centrum koordynacyjnym jony różnych metali;
- II. Szczegółową charakterystykę otrzymanych związków mającą na celu potwierdzenie ich tożsamości oraz określenie właściwości fizykochemicznych;
- III. Badania fotochemiczne otrzymanych związków, w szczególności ocenę zdolności generowania tlenu singletowego, celem określenia potencjalnego zastosowania jako fotouczulaczy;
- IV. Badania elektrochemiczne w celu określenia właściwości oksydacyjno-redukcyjnych zsyntetyzowanych porfirazyn i potencjalnego zastosowania w nanotechnologii, technice lub przemyśle. Dla związków charakteryzujących się odpowiednimi parametrami jak rozpuszczalność, stabilność fizykochemiczna oraz zdolność generowania tlenu singletowego zaplanowane zostało przeprowadzenie badań aktywności fotodynamicznej *in vitro* z wykorzystaniem linii komórek nowotworowych.

Przewidziano uzyskanie porfirazyn posiadających w części peryferyjnej ugrupowania:

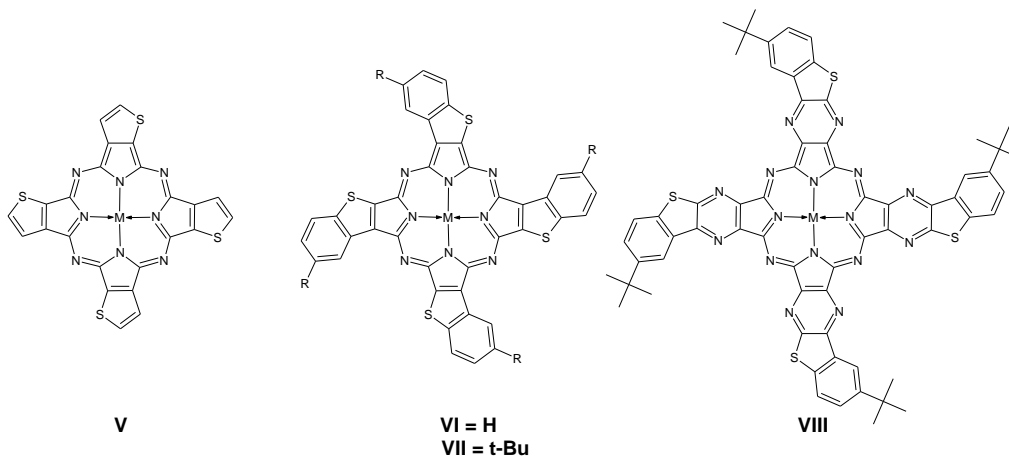
- a. 4-nitroimidazolilobutylosulfanyłowe,
- b. aryloksyłowe,
- c. aryłometylosulfanyłowe.

III. CZĘŚĆ LITERATUROWA: „PORFIRYNOIDY ZAWIERAJĄCE W STRUKTURZE SIARKĘ”

Spośród zsyntetyzowanych w ostatnich latach makrocykli, znaczną grupę stanowią porfirynoidy zawierające w strukturze atom siarki. Wprowadzona do cząsteczki makrocykla siarka może spełniać różnorodne funkcje. Jako atom cięższy od węgla, siarka obecna w związku makrocyklicznym modyfikuje znacznie jego właściwości, m.in. zdolność absorpcji promieniowania elektromagnetycznego. Tak zwany efekt ciężkiego atomu, zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia przejścia międzysystemowego. W fotochemii związków makrocyklicznych jest to cenna właściwość, gdyż wpływa na zdolność przechodzenia związku w stan trypletowy, ważny w reakcji fotodynamicznej. Z tego względu obecność ciężkiego atomu w cząsteczce fotouczulacza, może przekładać się na wyższą aktywność fotodynamiczną [31]. Grupa sulfanylowa w części peryferyjnej związku makrocyklicznego, stwarza wiele możliwości rozbudowy peryferium o nowe grupy funkcyjne. Ponadto atom siarki wchodzący w skład podstawników peryferyjnych, nadaje makrocyklom specyficzne cechy, jak np. zdolność tworzenia mostków siarczkowych.

III.1. Porfirynoidy z atomem siarki w strukturze pierścienia makrocyklicznego

Pierwsze doniesienia na temat syntetycznych porfirynoidów posiadających w strukturze atom siarki pochodzą z 1937 roku i dotyczą ftalocyjanin zawierających skondensowane pierścienie tiofenowe **V** i tionaftenowe **VI** [32] (**Rys. 3**). Związki te zostały otrzymane przez Patricka Linstead'a – protoplastę badań nad ftalocyjaninami, który jako pierwszy określił budowę tej grupy związków [33].



Rys. 3. Struktury związków **V** – **VIII**. M – jon metalu.

Badania tej grupy makrocykli są w dalszym ciągu kontynuowane, szczególnie przez zespół P. Stuzhina [34]. Wspomniani autorzy w ostatnich latach przebadali szczegółowo właściwości absorpcyjne porfirazyn o skondensowanych pierścieniach tionaftenowych **VI** i **VII**, posiadających kationy różnych metali w centrum. Ponadto otrzymano również tionaftenową pochodną pirazynoporfirazy **VIII** (**Rys. 3**) i przeprowadzono studia dotyczące protonacji obu grup porfirynoidów. Badania wykazały, że ujemny efekt indukcyjny atomu siarki we fragmencie tianaftenowym cząsteczki, zmniejsza zasadowość atomów azotu w pozycjach *mezo*, w porównaniu z analogicznymi porfirynami i ftalocyjaninami. Za właściwości kwasowo-zasadowe porfirazy **VIII**, odpowiadają zarówno atomy azotu *mezo*, jak i zawarte w pierścieniach pirazyny [35].

Atom siarki może stanowić ważny element układu tetrapirolowego, jak chociażby w tiaporfirynach **IX** (**Rys. 4**). W makrocyklach tiaporfirynowych jeden lub więcej atomów azotu w pierścieniach pirolowych jest zastąpionych atomami siarki. Zamiana pirolowych atomów azotu na atom/y siarki skutkuje wieloma konsekwencjami, takimi jak chociażby zanik zdolności pierścienia makrocyklicznego do wiązania jonów metali. 21-Tiaporfiryny i 21,23-ditiaporfiryny posiadają niższy poziom energetyczny stanu singletowego niż porfiryny i metaloporfiryny. W przypadku, gdy tiaporfiryny są związane kowalencyjnie albo niekowalencyjnie z innym makrocyklem, daje to możliwość jednokierunkowego transferu elektronów w układach multiporfirynowych [36]. Powstające w ten sposób połączenia mogą posłużyć w przyszłości do konstrukcji m.in. nowoczesnych układów scalonych oraz systemów sztucznej fotosyntezy. 21,23-Ditiaporfiryny posiadają też korzystne właściwości z punktu widzenia PDT, tzn. absorpcję promieniowania elektromagnetycznego z zakresu widzialnego, przesuniętą w stronę fal dłuższych oraz wysoką wydajność generowania tlenu singletowego. Ponadto zmieniając ilość i rodzaj hydrofilowych ugrupowań w pozycjach *mezo* pierścienia makrocyklicznego, można regulować ich fotocytotoksyczność wobec komórek i tkanek nowotworowych.

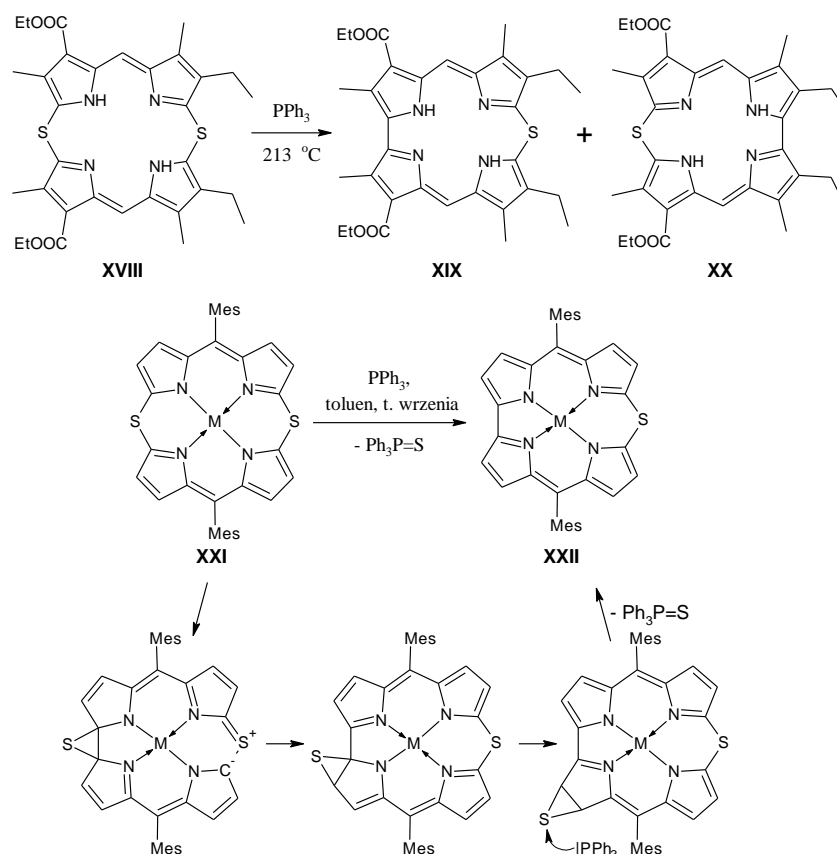
Grupa badawcza M. Detty'ego otrzymała kilka serii związków z grupy 21,23-ditiaporfiryn, a następnie określiła zdolność generowania tlenu singletowego oraz aktywność przeciwnowotworową. Większość otrzymanych porfiryn charakteryzowała się wysoką wydajnością generowania tlenu singletowego na poziomie od 0,5 do 0,8; co korespondowało z dużą skutecznością przeciwnowotworową, zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo* [37–39].

W badaniach Stilts i wsp. porównywali właściwości terasulfonowej soli sodowej ditiaporfiryny **X** (**Rys. 4**), z terasulfonową solą sodową porfiryny [37]. Ditiapochodna

sulfonowane. Obie grupy związków, tj. **XI** – **XIII** wykazywały wyższą aktywność niż stosowany klinicznie Photofrin[®].

Z kolei You i wsp. przebadali serię 21,23-tiaporfiryn posiadających wzrastającą ilość grup karboksylowych **XIV** – **XVII** (Rys. 4) [39]. Badania wykazały, że ilość grup karboksylowych w cząsteczce ma niewielki wpływ na zdolność absorpcji, gdyż maksima absorpcji występowały w zakresie 695 – 701 nm. Wszystkie cztery pochodne charakteryzowały się także podobną zdolnością generowania tlenu singletowego ($\Phi_{\Delta} = 0,7 - 0,8$). Związki te okazały się niezwykle skutecznymi fotouczulaczami względem komórek linii R3230AC, wywodzących się z nowotworu sutka u szczurów.

Atom siarki wprowadzony w pozycję *mezo* pierścienia porfirynoidu skutkuje pojawieniem się u *mezo*-tiaporfiryn interesujących właściwości. W 1972 roku Broadhurst i wsp. otrzymali *mezo*-ditiaporfirynę **XVIII** (Schemat 1) [40].



Schemat 1. Struktury *mezo*-tiaporfiryn **XVIII** – **XXII**. Reakcja eliminacji atomu siarki z pierścienia makrocyklicznego, wraz z mechanizmem zaproponowanym przez Kamiya i wsp. [41]. Mes – grupa 3,5-dimetylobenzylowa.

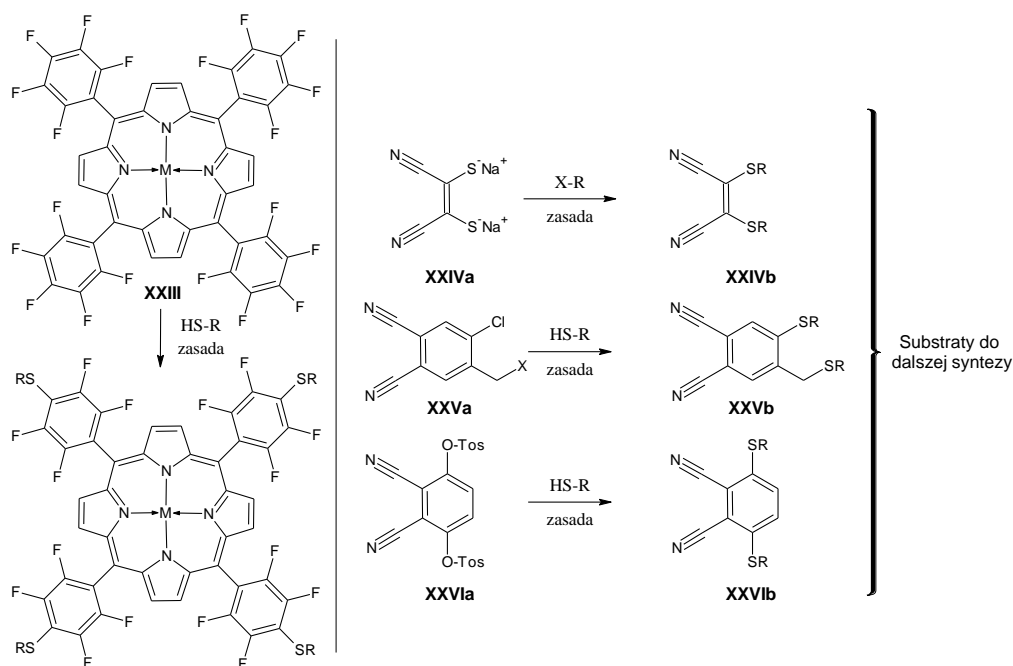
Autorzy zauważyli, że w wysokiej temperaturze, w obecności trifenylfosfiny ma miejsce przekształcenie pierścienia 5,15-ditiaporfiryny w układ 10-tiakorynowy. Mimo pomyslnych

rokowań i ciekawych właściwości, układ *mezo*-ditiaporfirynowy nie był szerzej analizowany aż do 2012 roku, w którym Kamiya i wsp. opracowali syntezę serii metalowanych *mezo*-ditiaporfiryn **XXI** oraz przeanalizowali ich przekształcenie do odpowiednich 10-tiakoryn **XXII** [41]. Ponadto posiłkując się metodami obliczeniowymi, zaproponowali także mechanizm reakcji eliminacji atomu siarki z układu ditiaporfirynowego **XXI**. Autorzy postulowali, że w pierwszym etapie reakcji ma miejsce utworzenie się fragmentu tiacyklopropanowego w cząsteczce tiaporfiryny. Kolejno następuje migracja mostka siarczkowego w kierunku peryferium pierścienia, gdzie atom siarki poddany nukleofilowemu atakowi cząsteczki trifenylofosfiny, zostaje oderwany od układu tetrapirolowego, co w rezultacie prowadzi do powstania 10-tiakoryny **XXII**.

III.2. Makrocykle tetrapirołowe z peryferyjnymi podstawnikami sulfanyłowymi

Atom siarki może służyć jako ogniwo łączące pierścień porfirynoidu z różnego rodzaju grupami funkcyjnymi. Grupy sulfanyłowe są obecne w wielu klasach porfirynoidów, ze względu na możliwość zastosowania zróżnicowanych metod wprowadzenia podstawnika do cząsteczki makrocykla.

Dogodną metodą wprowadzania różnego rodzaju podstawników do makrocykla porfirynowego lub jego analogów (chloryny, bakteriochloryny), jest reakcja pochodnych perfluorofenyłowych, np. w pozycjach *mezo* pierścienia **XXIII** (Schemat 2), ze związkami tiolowymi. Reakcja zachodzi nawet w temperaturze pokojowej i może przebiegać bez udziału zasady, a więc w warunkach nie prowadzących do dekompozycji związków makrocyklicznych. Metoda ta jest czasami stosowana przy wprowadzaniu do cząsteczki porfirynoidu ugrupowań cukrowych [42,43].



Schemat 2. Sposoby wprowadzenia ugrupowania zawierającego siarkę do cząsteczek związków makrocyklicznych oraz ich prekursorów. X = Cl, Br; M = jon metalu lub 2H.

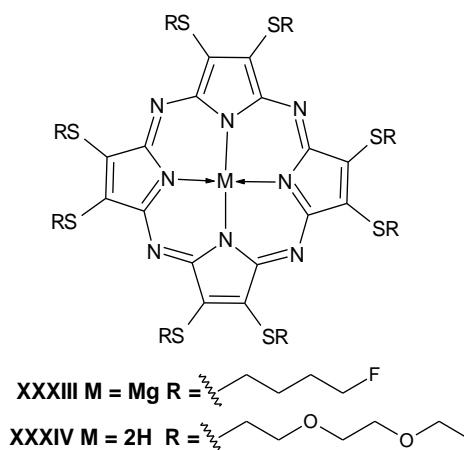
W przypadku syntetycznych porfirynoidów, jak porfirazyny czy ftalocyjaniny, wprowadzenie do struktury podstawnika zajmującego peryferyjną pozycję w docelowym makrocyklu, następuje najczęściej na etapie otrzymywania jego maleonitrylowego lub ftalonitrylowego prekursora. Podczas syntezy sulfanyłowych porfirazyn wykorzystuje się najczęściej reakcję alkilowania soli disodowej dimerkaptomaleonitrylu **XXIVa**, za pomocą

odpowiednich halogenków alkilowych. Otrzymaną pochodną maleonitrylu **XXIVb** poddaje się kolejno reakcji makrocyklizacji [44]. Ftalocyjaniny podstawione tioeterami otrzymuje się poprzez makrocyklizację odpowiednich pochodnych ftalonitrylu **XXVb**. Natomiast substratami do otrzymywania **XXVb** są pochodne ftalonitrylu **XXVa**, w których atomy fluorowca są połączone z atomami węgla, o charakterze aromatycznym lub alifatycznym [45,46]. W przypadku mniej reaktywnych czynników nukleofilowych, w reakcjach stosuje się ftalonitryl z ugrupowaniami tosyłowymi **XXVIa** [47].

Duży wkład w rozwój wiedzy o sulfanylowych porfirazynach, w tym również dotyczący aktywności przeciwnowotworowej, wniosła brytyjsko–amerykańska grupa badawcza A. G. M. Barretta i B. Hoffmana. Od blisko 30-stu lat autorzy przeprowadzili szczegółowe badania wielu grup makrocykli porfirynoidowych [48,49]. Grupa Barretta–Hoffmana zainicjowała badania dotyczące zależności pomiędzy strukturą, a aktywnością przeciwnowotworową sulfanylowych porfirazyn złożonych ze związków typu **A₄**, **A₃B** oraz **A₂B₂** (**Rys. 5**). Vesper i wsp. zbadali aktywność fotodynamiczną serii anionowych porfirazyn **XXVII** – **XXIX**, wobec komórek nowotworowych raka płuc linii A549 [50]. Toksyczność i fotocytotoksyczność zostały określone także dla komórek embrionalnych linii WI–38 VA13. Badane porfirazyny różniły się właściwościami fizykochemicznymi, w tym posiadały różną ilość grup karboksylowych, różny charakter hydrofilowo/hydrofobowy cząsteczki, co wpływało na zdolność generowania tlenu singletowego. Największą selektywnością wobec komórek nowotworowych wykazała pochodna **XXIX**, zawierająca najmniejszą ilość reszt kwasowych w cząsteczce – związek najbardziej hydrofobowy. Natomiast związki **XXVII** i **XXVIII** wykazały znacznie większą aktywność, zarówno wobec komórek nowotworowych, jak i embrionalnych.

W dalszych badaniach Lee i wsp. ocenili serię porfirazyn bezmetalicznych i cynkowych **XXX–XXXII**, zawierających rozbudowane, eterowe podstawniki sulfanylowe, które wpływały na zwiększenie rozpuszczalności makrocykli [51]. Zakres badań obejmował także ocenę wpływu obecności jonów metalu w centrum koordynacyjnym. Wykazano, że wbudowanie jonu cynku(II) do rdzenia makrocykla, spowodowało znaczny wzrost generowania tlenu singletowego, w porównaniu z pochodnymi demetalowanymi. Spośród badanych związków, makrocykl **XXX** nie wykazał znacznej fototoksyczności na liniach nowotworowych i prawidłowych komórkach. Natomiast związki **XXXI** oraz **XXXII**, na obu liniach komórkowych przejawiały znaczną toksyczność niezależną od promieniowania, a zależną od stężenia. Badania wykazały zatem, że nawet niewielka modyfikacja w cząsteczce fotouczulacza, niesie za sobą znaczne zmiany właściwości fotodynamicznych.

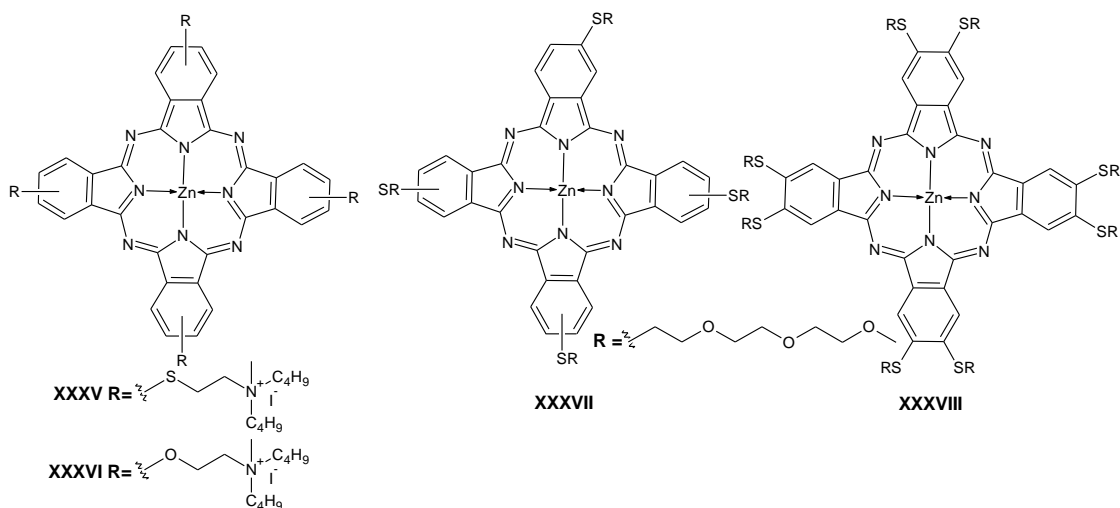
z obecności ugrupowań fluorobutylosulfanylowych, co przełożyło się na większą przenikalność do komórek nowotworowych.



Rys. 6. Struktury porfirazyn **XXXIII** – **XXXIV**.

Wśród syntetycznych porfirynoidów, również ftalocyjaniny cieszą się dużym zainteresowaniem badaczy. Makrocykle te charakteryzują się intensywną absorpcją światła o długości fali powyżej 600 nm, dużą trwałością fotochemiczną oraz wysoką zdolnością generowania tlenu singletowego. Jednocześnie niekorzystnymi właściwościami są słaba rozpuszczalność oraz tendencja do agregacji, co znacznie utrudnia ich zastosowanie w terapii. Z tego względu od lat prowadzone są intensywne badania w zakresie wykorzystania ich właściwości fotouczulających przy jednoczesnym ograniczeniu wad. Przykładem jest sulfonowana ftalocyjanina glinowa badana klinicznie pod nazwą Photosens[®] względem m.in nowotworów piersi, płuc oraz związanej z wiekiem degeneracji plamki żółtej [53,54].

Gauna i wsp. ocenili aktywność fotodynamiczną dwóch cynkowych ftalocyjanin kationowych (**Rys. 7**), posiadających peryferyjne ugrupowania dibutyloamoniowe, połączone z cząsteczką ftalocyjaniny mostkami sulfanylowymi **XXXV** lub eterowymi **XXXVI** [55]. Aktywność fotodynamiczną związków oceniono z wykorzystaniem komórek ludzkiego raka jamy nosowo-gardłowej linii KB. Pomimo, że ftalocyjanina eterowa **XXXVI** wykazywała wyższą wydajność kwantową generowania tlenu singletowego ($\Phi_{\Delta} = 0,67$), w porównaniu ze związkiem **XXXV** ($\Phi_{\Delta} = 0,42$), to jednak analog siarkowy okazał się dużo bardziej skuteczny wobec komórek nowotworowych. Wymienieni autorzy podjęli również próbę analizy widm elektronowych ftalocyjanin **XXXV** oraz **XXXVI** i wykazali, że zastąpienie atomów tlenu atomami siarki przekłada się na występowanie batochromowego przesunięcia maksimum absorpcji ftalocyjaniny **XXXV**.



Rys. 7. Struktury ftalocyjanin **XXXV** – **XXXVIII**.

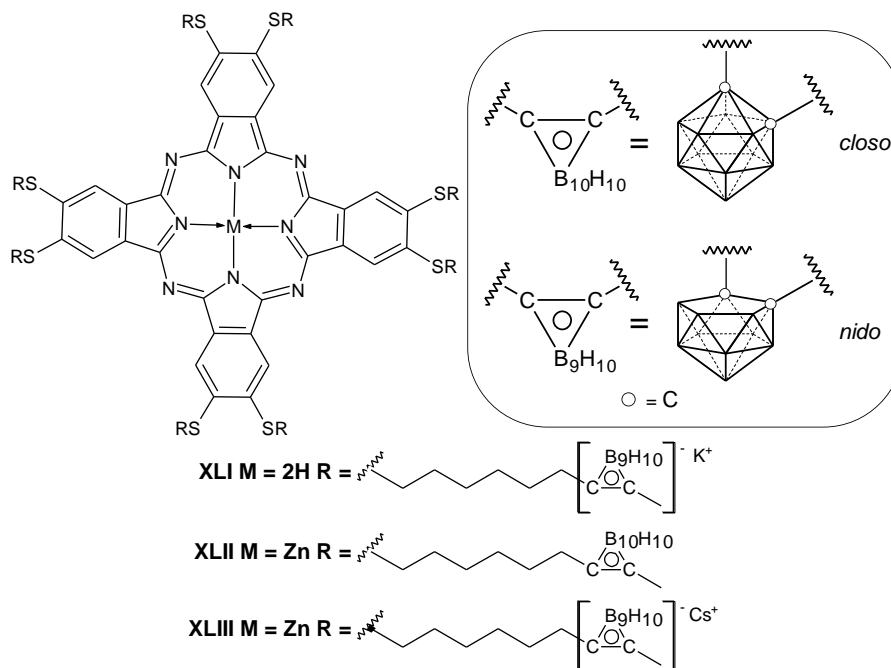
Z kolei Atilla i wsp. otrzymali dwie ftalocyjaniny **XXXVII** i **XXXVIII**, posiadające odpowiednio cztery i osiem peryferyjnych ugrupowań trioksoundecylosulfanylowych (**Rys. 7**) [56]. Otrzymane makrocykle w porównaniu z ftalocyjaniną niepodstawioną charakteryzowały się zwiększoną rozpuszczalnością w wielu rozpuszczalnikach, wysoką wydajnością kwantową fluorescencji (Φ_F odpowiednio 0,20 i 0,13) oraz generowania tlenu singletowego (Φ_Δ odpowiednio 0,64 i 0,72). Jednak aktywność fotodynamiczną wobec linii komórkowej ludzkiego nowotworu sutka MCF-7, wykazał jedynie związek tetrapodstawiony **XXXVII**, który posiadał większą zdolność przenikania do komórek.

Zupełnie inne podejście w leczeniu nowotworów z wykorzystaniem makrocykli porfirynoidowych, zaprezentowała włoska grupa badawcza pod kierownictwem G. Ricciardiego z University of Basilicata w Potenza. Badacze opracowali syntezę porfirazyn i ftalocyjanin z ugrupowaniami karboranylowymi, a następnie ocenili ich przydatność dla terapii borowo–neutronowej (BNCT, *Boron neutron capture therapy*). Terapia wychwytu neutronów (NCT, *Neutron Capture Therapy*), wykorzystuje zjawisko wychwytu termicznych neutronów przez niektóre izotopy, szczególnie ^{10}B oraz ^{157}Ga [57]. W BNCT wykorzystuje się leki, które zawierają izotop boru ^{10}B i posiadają zdolność do selektywnej kumulacji w tkance nowotworowej. Atom ^{10}B bombardowany strumieniem wolnych (termicznych) neutronów emitowanych z reaktora lub akceleratora ulega wzbudzeniu, a następnie rozpadowi na cząstki α , jądra ^7Li oraz emituje kwanty promieniowania γ (**Schemat 3**). W konsekwencji rozpad izotopu boru prowadzi do niszczenia znajdujących się w pobliżu komórek nowotworowych. Niska energia produktów rozpadu BNCT oszczędza tkanki zdrowe [58].

W dalszych badaniach uzyskano siarkową porfirazynę funkcjonalizowaną peryferyjnie łańcuchami, związanymi z jednym klasterem karboranowym **XL** (**Rys. 8**), która została zbadana pod kątem selektywności i zdolności gromadzenia się w nowotworach okrężnicy i czerniaka gryzoni. Karboranową porfirazynę **XL** inkorporowano w liposomy o różnym ładunku powierzchniowym, a następnie oceniono jej stężenie w komórkach nowotworu okrężnicy szczura linii DHD/K12/TRb oraz czerniaka myszy linii B16-F10. Stwierdzono, że największe powinowactwo do komórek nowotworowych posiadały dodatnio naładowane liposomy. Stężenie porfirazyn w komórkach było 30 razy większe od stosowanej w BNCT borofenyloalaniny [61]. Dalsze badania obejmowały określenie właściwości fotochemicznych związku **XL**, z wykorzystaniem pomiarów ultraszybkiej absorpcji przejściowej oraz metod obliczeniowych. Uzyskane wyniki sugerowały, że po wzbudzeniu światłem następuje szybkie, bezpromieniste przejście ze stanu wzbudzonego S_1 do stanu podstawowego S_0 . Nie uzyskano stanu trypletowego, co przełożyło się na brak właściwości fotouczulających. Związki te nie generują tlenu singletowego. Z drugiej strony, maksimum absorpcji związku **XL** znajduje się w obszarze powyżej 700 nm, a bezpromieniste przejście ze stanu wzbudzonego do podstawowego sprawia, że związki są dobrymi kandydatami do PTT [62]. Połączenie zalet terapii borowo-neutronowej z terapią fototermiczną, mogłoby prowadzić do skuteczniejszego leczenia opornych nowotworów.

W dalszych badaniach Pietrangeli i wsp. zaplanowali otrzymanie dobrze rozpuszczalnego w wodzie koniugatu porfirynoidowo-karboranowego, który pod wpływem światła powodowałby wzrost temperatury lub generowanie tlenu singletowego. W ten sposób wykorzystując jeden lek, można zastosować sprzężone leczenie BNCT oraz PTT/PDT. W tym celu zsyntetyzowano rozpuszczalną w wodzie ftalocyjaninę posiadającą w peryferium grupy karboranowe [63]. Poddanie reakcji makrocyclizacji odpowiedniej pochodnej ftalonitrylu w temperaturze 140 °C oraz zastosowanie 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-enu (DBU) jako zasady pozwoliło uzyskać tzw. formę *nido* układu karboranylowego, która posiada charakter anionu. Po zastosowaniu żywicy jonowymiennej otrzymano makrocykl w formie soli potasowej **XLI** (**Rys. 9, wstawka**). Natomiast w celu uzyskania makrocykla wykazującego zdolność generowania tlenu singletowego, Pietrangeli i wsp. w procesie stapiania poddali ftalonitryl makrocyclizacji z octanem cynku [64]. Otrzymano ftalocyjaninę **XLII** użyto kolejno w reakcji łagodnej deboronacji z udziałem CsF, co doprowadziło do przekształcenia obojętnego tzw. układu *closo* karboranu, w formę anionową **XLIII**. Następnie oceniono zdolność generowania tlenu singletowego otrzymanych związków oraz zbadano *in vitro* stężenie boru w komórkach DHD/K12/TRb, wywodzących

się z nowotworu okrężnicy szczurów. Forma obojętna oraz sól charakteryzowały się wydajnością generowania tlenu singletowego, wynoszącą odpowiednio $\Phi_{\Delta} = 0,63$ i $0,24$. Chociaż **XLIII** wykazała nieco mniejszą zdolność generowania tlenu singletowego, to poprawa rozpuszczalności w wodzie pozwoliła na wzrost stężenia izotopu ^{10}B w komórkach linii nowotworowych DHD/K12/TRb.



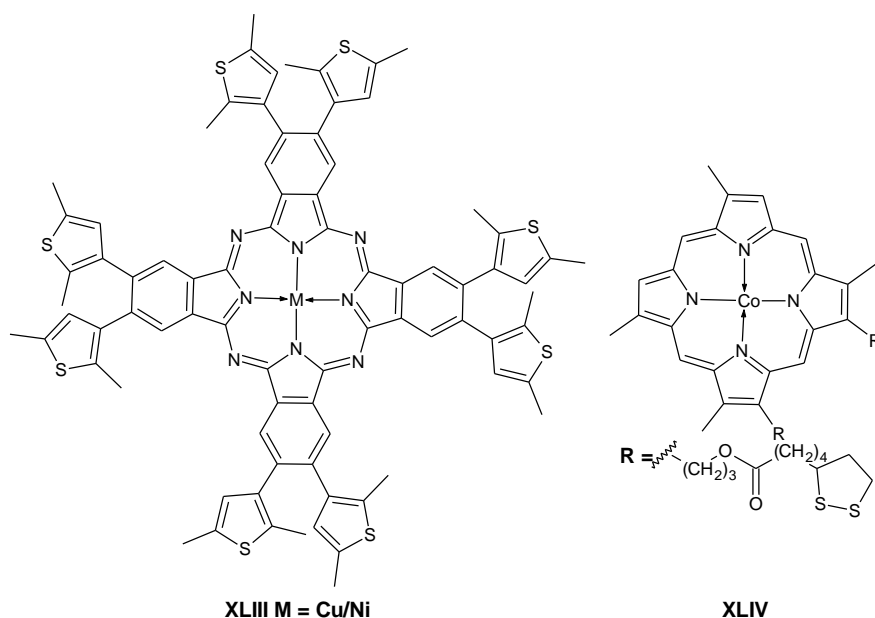
Rys. 9. Klasterowe kompleksy karboranowe skoniugowane z pierścieniami ftalocyjaninowymi o potencjalnym zastosowaniu w BNCT i PDT **XLI – XLIII**.

Badania obejmujące karboranowe porfirazyne pozwalają wnioskować, że połączenie makrocykli porfirynoidowych z karboranami, skutkuje otrzymaniem związków o potencjalnym zastosowaniu w multimodalnej terapii nowotworów. Szczególnie uzasadnione są dalsze badania z wykorzystaniem karboranylowych porfirynoidów, rozpuszczalnych w wodzie lub inkorporowanych w liposomy.

III.3. Porfirynoidy podstawione peryferyjnie lub aksjalnie podstawnikami zawierającymi w strukturze siarkę

Atom siarki jest pierwiastkiem często występującym w podstawnikach peryferyjnych porfirynoidów. Połączenie podstawników zawierających atom siarki z cząsteczką porfirynoidu, może skutkować otrzymaniem związków o unikalnych właściwościach optycznych, elektro- lub fotochemicznych. Zdolność atomu siarki do koordynowania związków chemicznych lub jonów jest często wykorzystywana w chemii materiałowej i technice. Atom siarki zajmuje wówczas położenia peryferyjne na końcu długich łańcuchów połączonych z makrocyklem lub wchodzi w skład podstawników aksjalnych. Ten sposób podstawienia pozwala na utworzenie różnego rodzaju kompleksów lub zakotwiczenie cząsteczki porfirynoidu na powierzchni różnych materiałów.

Chen i wsp. zsyntetyzowali serię ftalocyjanin metalicznych posiadających peryferyjnie połączone pierścienie tiofenowe **XLIII** (Rys. 10) [65]. Otrzymane makrocykle charakteryzowały się szczególnymi właściwościami optyki nieliniowej trzeciego rzędu. Materiały wykazujące takie właściwości mogą zostać wykorzystane do opracowania nowoczesnych urządzeń stosowanych w fotonice, przechowywaniu danych czy materiałów służących do ochrony wzroku.

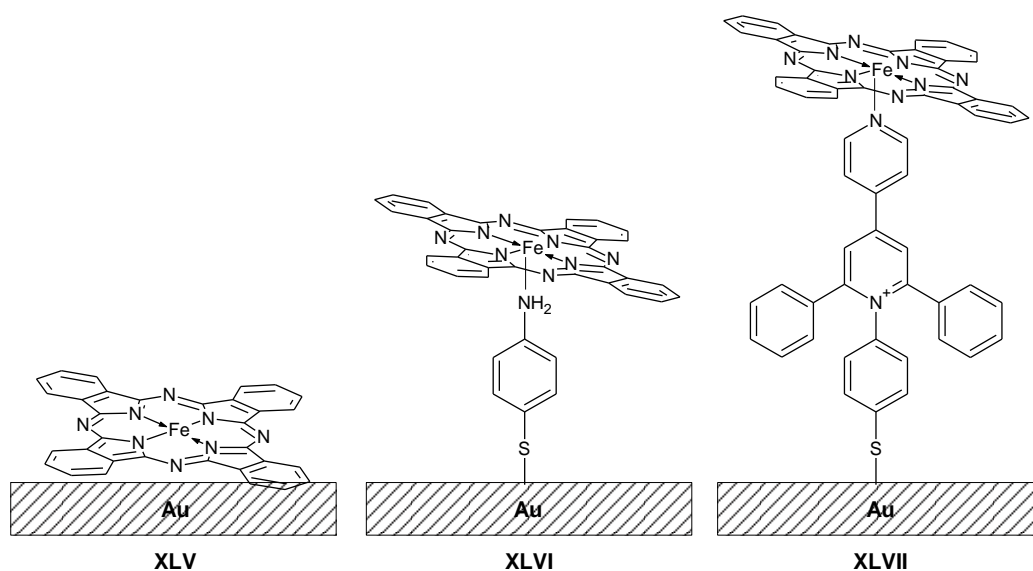


Rys. 10. Struktury związków **XLIII** i **XLIV**.

Otrzymana przez Eberle i wsp. porfiryra kobaltowa posiadająca dwa ugrupowania liponowe w cząsteczce **XLIV** (Rys. 10), została wykorzystana do modyfikacji złotych

elektrod [66]. Zdolność związku **XLIV** do spontanicznego tworzenia monomolekularnych warstw na powierzchni złota potwierdzono m.in. skaningową mikroskopią tunelową. Tak spreparowane elektrody wykazały aktywność katalityczną do redukcji cząsteczkowego tlenu w środowisku kwasowym.

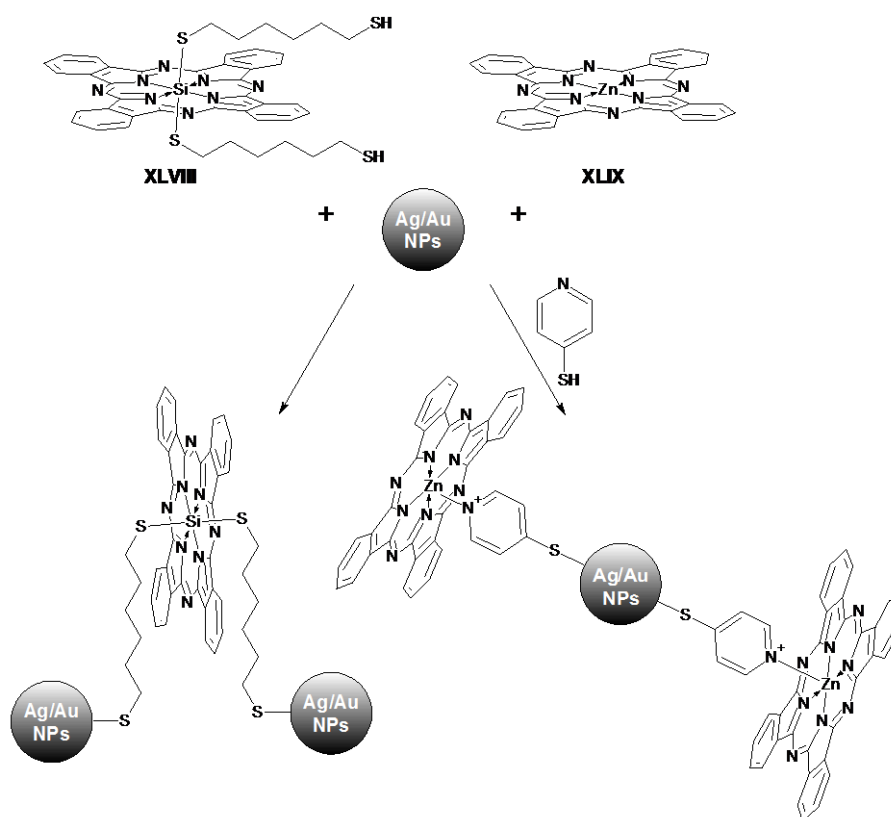
Badania w zakresie zdolności do samorzutnego tworzenia monomolekularnych warstw oraz katalizowania redukcji tlenu przez metalowane ftalocyjaniny, przeprowadzili również Ponce i wsp. [67]. W tym celu wykorzystano ftalocyjaniny żelazowe oraz miedziowe w połączeniach ze złotymi elektrodami, modyfikowanymi grupami 4-aminofenolotiolowymi oraz 1-(4-merkaptofenilo)-2,6-difenilo-4-(4-pirydylo)pirydyniowymi. Autorzy zauważyli dużo większą aktywność katalityczną pochodnych żelazowych. Ponadto dla obu serii makrocykli zaobserwowano, że najbardziej aktywne były elektrody w których pierścień ftalocyjaniny był najbardziej oddalony od powierzchni. Jak przedstawiono na **Rys. 11** dla pochodnych żelazowych zdolność katalityczna malała w szeregu **XLVII** > **XLVI** > **XLV**.



Rys. 11. Elektrody złote modyfikowane kompleksami ftalocyjaninowymi **XLV** – **XLII**.

Interesujące badania dotyczące wiązania ftalocyjanin do nanocząstek złota i srebra, określenie właściwości fotochemicznych oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej przeprowadzili Masilela i wsp. [68]. Do otrzymania kompleksów z nanocząstkami metali wykorzystano ftalocyjaninę krzemową zmodyfikowaną aksjalnie 1,6-heksanoditiolem **XLVIII** oraz ftalocyjaninę cynkową **XLIX** (**Schemat 4**). Następnie zbadano zdolność generowania tlenu singletowego otrzymanych w wyniku połączenia makrocykli z nanocząstkami metali. W wyniku tego procesu zarówno w przypadku ftalocyjaniny krzemowej **XLVIII**, jak i cynkowej **XLIX** odnotowano wzrost wydajności kwantowej

generowania tlenu singletowego. Należy podkreślić, że spośród uzyskanych połączeń najwyższą zdolność generowania tlenu singletowego wykazywała ftalocyjanina krzemowa **XLVIII** z nanocząstkami srebra; dla której zanotowano wzrost wartości Φ_{Δ} z 0,53 do 0,90. Poprawę wydajności kwantowej generowania tlenu singletowego odnotowano także w przypadku ftalocyjaniny **XLIX**, ponieważ otrzymanie kompleksów z nanocząstkami złota przełożyło się na wzrost Φ_{Δ} z 0,56 do 0,63. Fotouczulacze w formie wolnej, jak i w kompleksach z nanocząstkami zostały poddane ocenie aktywności przeciwbakteryjnej *in vitro*, zarówno w fazie jasnej, jak i ciemnej przeciwko szczepom *B. subtilis* oraz *S. aureus*. Mimo, że ftalocyjanina cynkowa charakteryzowała się wyższą zdolnością generowania tlenu singletowego, to większą skutecznością przeciwdrobnoustrojową wykazał się związek **XLVIII**. Autorzy sugerują, że wyższa aktywność biologiczna wynika z większej lipofilowości cząsteczki uwarunkowanej obecnością łańcuchów heksanoditiolowych. Zarówno wolne fotouczulacze, jak i nanocząstki były zdolne do zahamowania wzrostu bakterii bez udziału światła, jak i po ekspozycji na promieniowanie, gdzie skuteczność była większa. Zastosowanie kompleksów z nanocząstkami spowodowało wzrost aktywności przeciwbakteryjnej fotouczulaczy, a dużo większą wrażliwość wykazały szczepy Gram dodatnie – *B. subtilis*.



Schemat 4. Ftalocyjaniny **XLVIII** oraz **XLIX**. Synteza kompleksów **XLVIII** i **XLIX** z nanocząstkami srebra i złota (Ag/AuNPs).

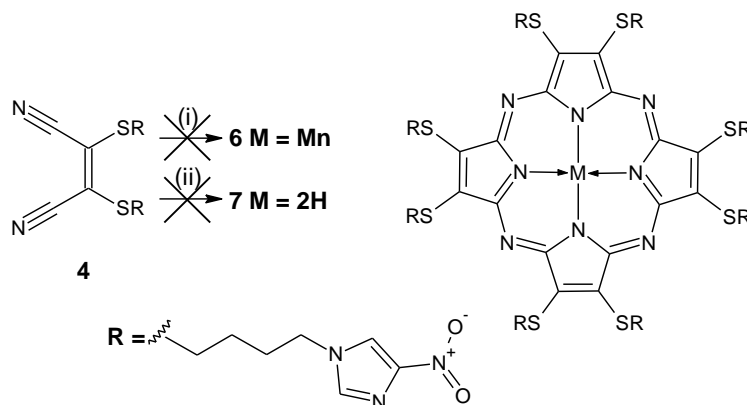
III.4. Podsumowanie

Dotychczas prowadzone badania aktywności biologicznej w obrębie siarkowych pochodnych porfirazyn i ftalocyjanin wykazały, że poza takimi właściwościami fotosensybilizatorów jak stabilność fotochemiczna, rozpuszczalność, zdolność generowania tlenu singletowego, innym ważnym czynnikiem decydującym o powodzeniu PDT, jest odpowiednie przenikanie związku do komórek nowotworowych. Projektując nowe fotouczulacze dla potrzeb terapii fotodynamicznej, należy pamiętać o zachowaniu odpowiedniej równowagi pomiędzy hydro- i lipofilnością, co można osiągnąć stosując odpowiednie podstawniki peryferyjne. Wydaje się, że poszukiwanie nowych fotosensybilizatorów wśród siarkowych ftalocyjanin i porfirazyn jest szczególnie uzasadnione, gdyż związki te posiadają korzystne właściwości fotofizyczne (rozpuszczalność, wydajne obsadzanie stanów trypletowych) oraz fotochemiczne (generowanie tlenu singletowego).

Ugrupowanie sulfanylowe znajdujące się w części peryferyjnej makrocykla daje duże możliwości modyfikacji. Poprzez zastosowanie odpowiednich podstawników peryferyjnych, możliwe jest uzyskanie odpowiedniej równowagi pomiędzy hydrofilowością, zwiększającą rozpuszczalność fotouczulacza w płynach ustrojowych i lipofilowością, warunkującą przenikanie przez błony lipidowe. Wydaje się, że dalszy rozwój tej grupy związków, będzie możliwy dzięki zastosowaniu nowych, rozbudowanych ugrupowań peryferyjnych.

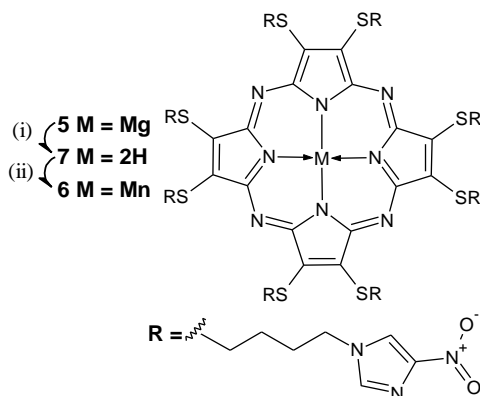
Atom siarki może zostać także wykorzystany w postaci podstawnika cząsteczki makrocykla lub służyć jako swego rodzaju kotwica dla osadzania porfirynoidów na powierzchni różnych materiałów, w tym elektrod lub nanocząstek.

makrocyklicznego. Z tego względu wykorzystano inną procedurę syntetyczną. W tym celu podjęto próbę syntezy porfirazyny bezmetalicznej **7**, którą kolejno wykorzystano jako substrat do otrzymania serii porfirazyn metalowanych. Jak przedstawia **Schemat 6** zastosowanie pochodnej maleonitrylu **4** we wrzącym N,N-dimetyloaminoetanolu (DMAE) również nie skutkowało otrzymaniem zakładanego związku makrocyklicznego **7**.



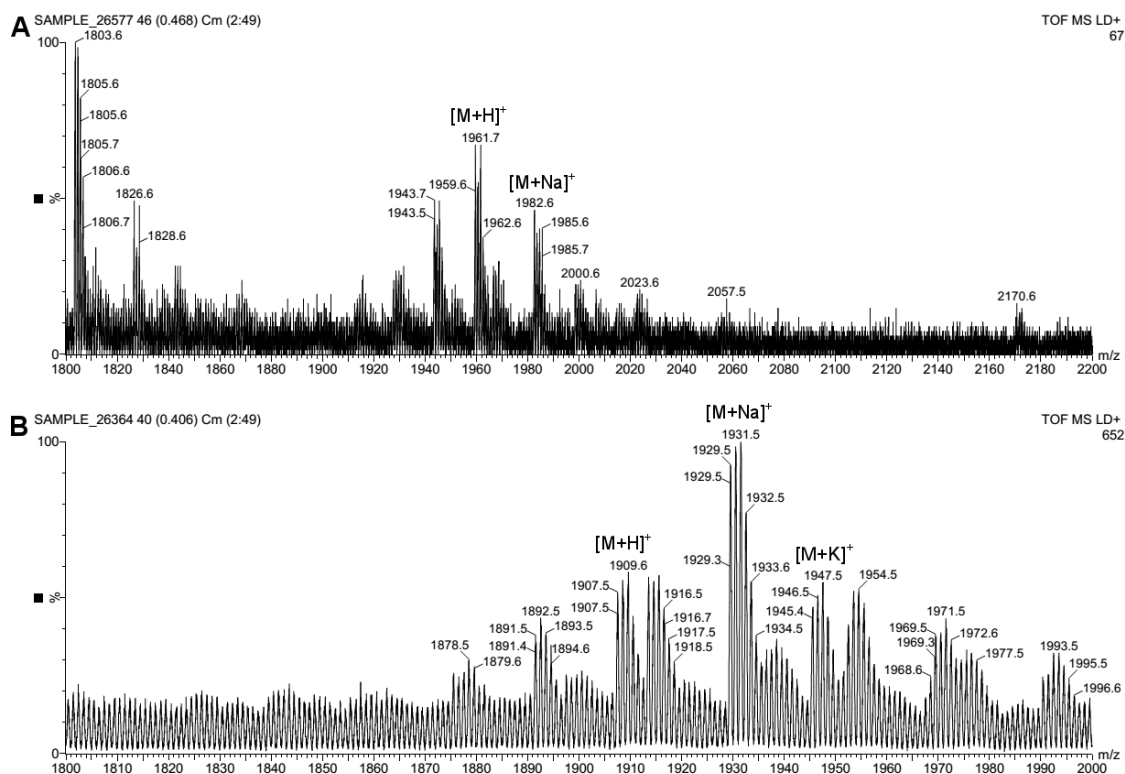
Schemat 6. Reagenty i warunki reakcji: (i) $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, DBU, *n*-pentanol, 130 °C, 19 godz.; (ii) DMAE, t. wrzenia, 19 godz.

Z tego względu zastosowano metodę pośrednią z wykorzystaniem demetalacji porfirazyny magnezowej **5**, za pomocą kwasu trifluorooctowego. Proces prowadzono w ciemności, w atmosferze gazu obojętnego przez 20 minut. Powstałą w reakcji porfirazynę bezmetaliczną **7** wykorzystano w procesie metalacji solą manganu(II) ($\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$), co doprowadziło do powstania metaloporfirazyny **6** (**Schemat 7**). Ze względu na niewielką stabilność porfirazyny demetalowanej **4**, metalację prowadzono natychmiast po zakończeniu reakcji demetalacji i izolacji produktu. Porfirazyna manganu(II) **6** charakteryzowała się stabilnością fizykochemiczną w warunkach oczyszczania oraz podczas prowadzonych badań.



Schemat 7. Reagenty i warunki reakcji: (i) CF_3COOH , t. pokojowa, 20 min; (ii) $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, DMF, 70 °C, 20 godz.

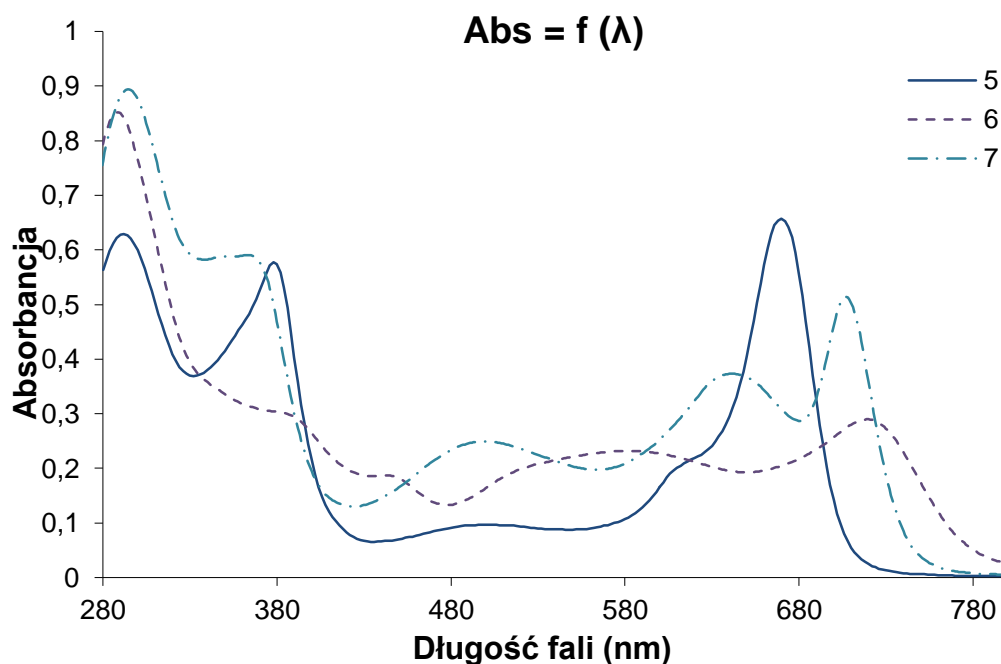
Demetalowana porfirazyna **7** oraz jej pochodna manganowa **6**, zostały scharakteryzowane z wykorzystaniem spektrofotometrii UV–Vis oraz spektrometrii MS MALDI. W przypadku obu związków uzyskano protonowane jony molekularne $[M+H]^+$ o wartościach m/z 1960 i 1907, odpowiednio dla **6** oraz **7**. Zaobserwowano także jony sodowane $[M+Na]^+$ posiadające kolejno wartości m/z równe 1982 i 1929. Ponadto w przypadku związku bezmetalicznego **7**, odnotowano jon $[M+K]^+$ o wartości m/z 1945 (**Rys. 12**).



Rys. 12. Widma MS MALDI związków **6** (A) oraz **7** (B).

Jak zobrazowano na **Wykresie 1** stwierdzono pewne podobieństwa w przebiegu elektronowych widm absorpcji związków **6** i **7**, w porównaniu z widmem porfirazyny magnezowej **5**. We wszystkich przypadkach widoczne jest wyraźne pasmo z maksimum występującym w zakresie 289 – 295 nm, powstające w wyniku absorpcji promieniowania przez peryferyjne ugrupowania 4-nitroimidazolowe. Dodatkowo w przypadku związku demetalowanego **7**, pasmo Q jest mniej intensywne i rozszczepione na dwa sub-pasma z maksimum absorpcji (λ_{\max}) odpowiednio przy 642 i 707 nm. Jest to uwarunkowane obniżeniem symetrii cząsteczki. W przypadku porfirazyny manganowej **6**, pasmo Q charakteryzuje się mniejszą intensywnością i ulega przesunięciu w kierunku fal dłuższych ($\lambda_{\max} = 719$ nm). Również bardzo rozciągnięte jest pasmo absorpcji odpowiadające przejściu

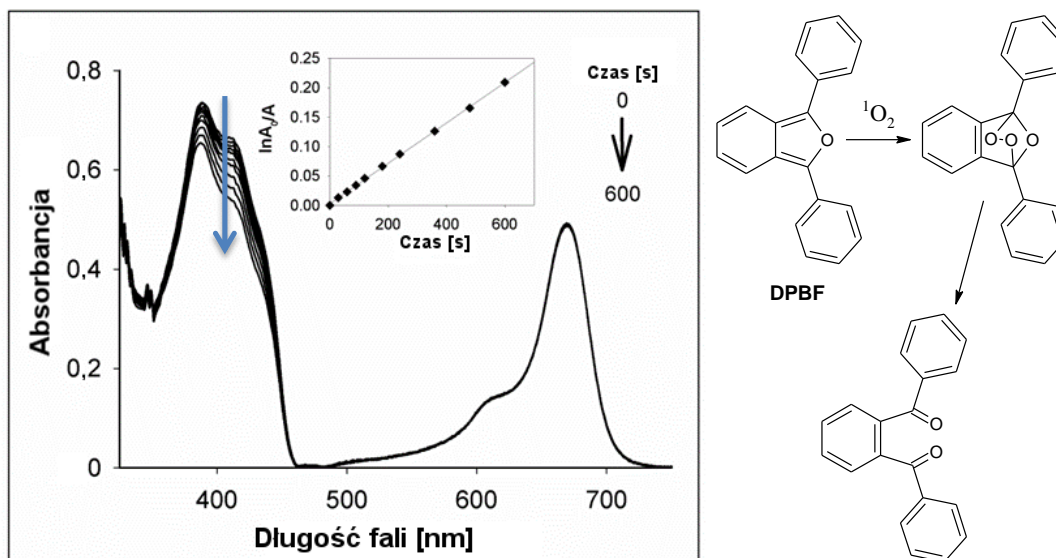
$n \rightarrow \pi^*$, z maksimum przy długości fali 581 nm, które jest efektem donorowych właściwości peryferyjnych atomów siarki do aromatycznego pierścienia makrocyklicznego. Taki przebieg widma UV–Vis porfirazyny **6**, może sugerować dużą tendencję do agregacji (**Wykres 1**).



Wykres 1. Widma UV–Vis związków: **5** w octanie etylu : metanolu, 5:3, v/v oraz **6** i **7** w dichlorometanie : metanolu, 10:1, v/v.

IV.1.2. Ocena zdolności generowania tlenu singletowego oraz tlenu azotu

Makrocykl **5** oceniono pod względem zdolności generowania tlenu singletowego, wykorzystując reakcję fotoutleniania 1,3-difenyloizobenzofuranu (DPBF). DPBF posiada charakterystyczne pasmo absorpcji z maksimum przy 417 nm, które zanika w miarę utlenienia pod wpływem tlenu singletowego ($^1\text{O}_2$) i tworzenia się endonadtlenku (**Rys. 13**) [72]. Proces naświetlania DPBF oraz porfirazyny **5** prowadzono w DMF oraz DMSO. Podczas naświetlania mieszaniny DPBF oraz porfirazyny **5** w DMF i wzbudzeniu promieniowaniem widzialnym o długości fali odpowiadającej maksimum absorpcji ($\lambda = 671$ nm), obserwowano zanik pasma absorpcji posiadającego maksimum przy długości fali 417 nm. Próbę odniesienia stanowiła ftalocyjanina cynkowa (ZnPc) wykazująca $\Phi_{\Delta\text{DMF}} = 0,56$ [73], $\Phi_{\Delta\text{DMSO}} = 0,25$ [74]. Wydajność kwantowa generowania tlenu singletowego w dimetyloformamidzie oraz dimetylosulfotlenku przez **5**, wynosiła odpowiednio: $\Phi_{\Delta\text{DMF}} = 0,045$; $\Phi_{\Delta\text{DMSO}} = 0,035$.



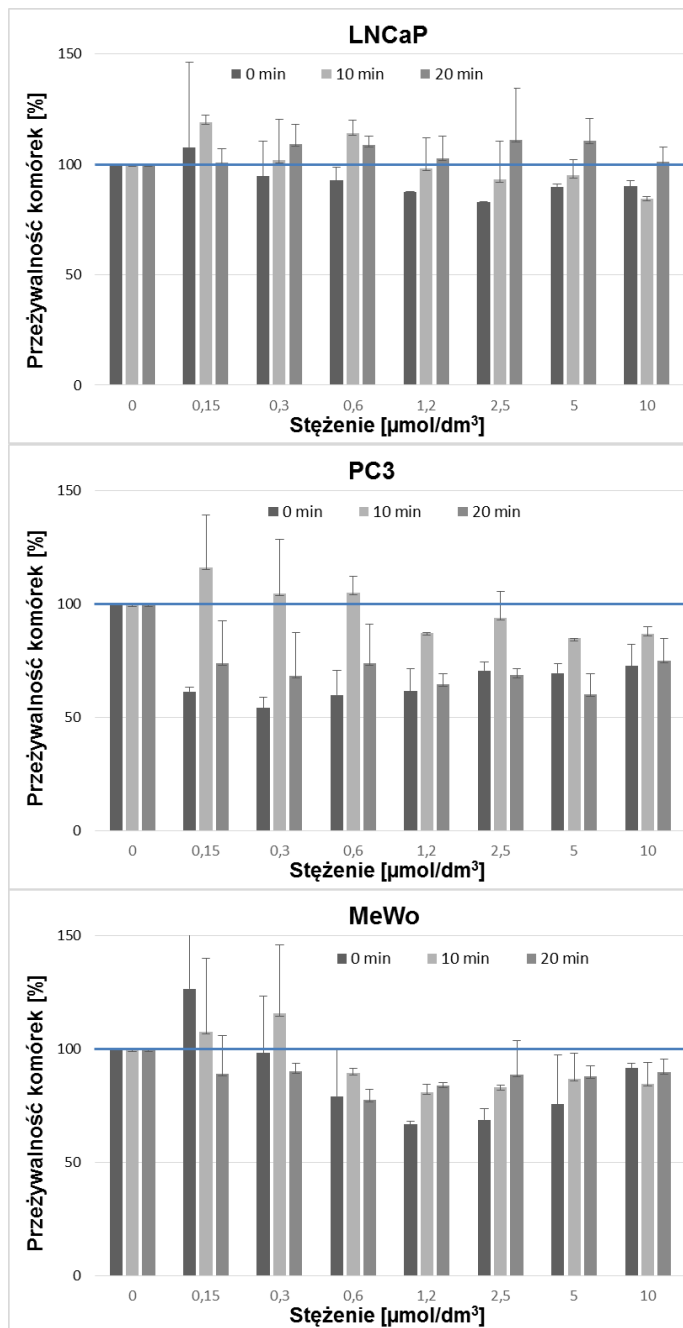
Rys. 13. Zmiany absorpcji obserwowane w widmie UV–Vis mieszaniny DPBF oraz porfirazyny **5** w DMF w czasie naświetlania (10 min). Wstawka przedstawia wykres kinetyki pierwszego rzędu utleniania DPBF. Zmiany w absorpcji pasma Q podczas eksperymentu nie przekraczały 1%. Schemat reakcji utleniania DPBF tlenem singletowym.

Związki posiadające ugrupowania nitrowe mogą wykazywać bimodalną aktywność fotodynamiczną, tzn. po wzbudzeniu światłem generują reaktywne formy tlenu, a także tlenek azotu(II), również wykazujący działanie terapeutyczne [75]. W identyfikacji NO powstającego podczas naświetlania roztworu fotouczulacza, wykorzystywana jest zdolność kompleksowania tlenu azotu(II) przez zredukowaną mioglobinę. Powstający w wyniku produkt wykazuje charakterystyczne pasmo absorpcji z maksimum przy 419 nm [76]. W przypadku naświetlania mieszaniny porfirazyny **5** i zredukowanej mioglobiny w buforze fosforanowym o pH 6,8, nie zaobserwowano zmian w przebiegu widma UV–Vis, które nie potwierdziło zdolności generowania tlenu azotu(II) przez porfirazynę **5**.

IV.1.3. Aktywność fotodynamiczna *in vitro*

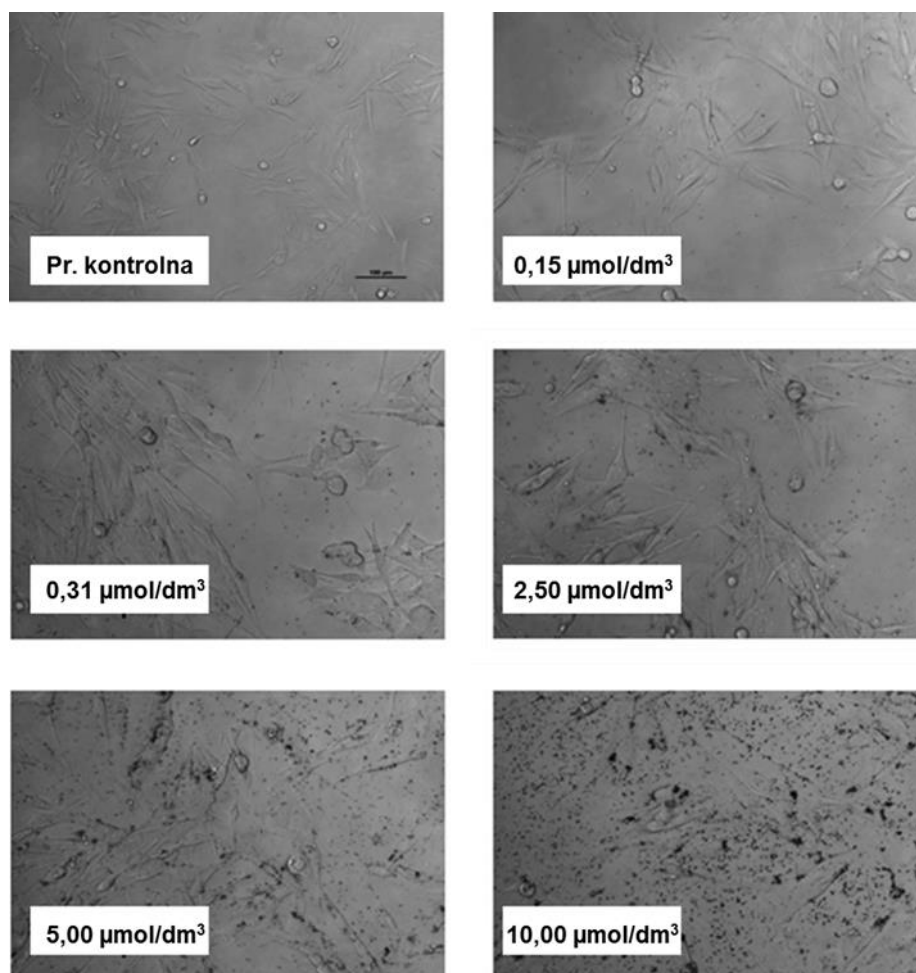
Aktywność przeciwnowotworową **5** oceniono *in vitro* na dwóch ludzkich liniach komórkowych raka prostaty PC3, LNCaP oraz linii komórkowej ludzkiego czerniaka MeWo. Przeżywalność komórek określono za pomocą testu MTT [77], który polegał na redukcji żółtego, rozpuszczalnego w wodzie bromku 3-(4,5-dimetylo-2-tiazolilo)-2,5-difenylo-2*H*-tetrazoliowego (MTT) do niebieskich, nierozpuszczalnych w wodzie kryształów formazanu. Reakcja zachodzi tylko w żywych komórkach, a powstający formazan oznacza

się spektrofotometrycznie. Aktywność cytotoksyczną fotouczulacza zbadano bez udziału światła (faza ciemna). Stwierdzono, że porfirazyna **5** wykazuje niewielką toksyczność wobec wymienionych linii komórkowych; obserwowano kilku-, kilkunasto-procentowe zmniejszenie przeżywalności (**Rys. 14**).



Rys. 14. Aktywność fotodynamiczna *in vitro* porfirazyny **5** w stężeniach od 0 do 10 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ wobec komórek linii LNCaP, PC3 oraz MeWo. Przeżywalność komórek hodowli nienaświetlanych (0 min) oraz po 10 i 20 min naświetlania. Wykres przedstawia średnią \pm odchylenie standardowe [70].

Toksyczność w fazie jasnej określono po 10 i 20 min naświetlania komórek inkubowanych z fotosensybilizatorem przez 24 godz. Najbardziej wrażliwe okazały się hodowle komórkowe linii PC3, których przeżywalność została zmniejszona o 30–40% w odniesieniu do próby kontrolnej. Efektywność fotouczulacza zależała od czasu naświetlania. Większą fotocytotoksyczność zaobserwowano po 20 min ekspozycji na światło. Działanie cytotoksyczne było także zależne od stężenia fotosensybilizatora, jednakże nie stwierdzono zależności liniowej. Przeżywalność komórek nowotworowych malała ze wzrostem stężenia **5**, natomiast przy wyższych stężeniach (powyżej $2,5 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$), efektywność fotosensybilizatora malała. Zaobserwowane zależności mogą być spowodowane tendencją porfirazyny **5** do agregacji, co potwierdzono przy użyciu mikroskopu świetlnego (**Rys. 15**). Stwierdzono, że w fazie jasnej największą odpornością na działanie cytotoksyczne **5** posiadała linia komórkowa LNCaP.



Rys. 15. Zdjęcia mikroskopowe komórek linii MeWo wraz z porfirazyną **5** w stężeniach od $0,15$ do $10,00 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$. Pasek na zdjęciu komórek kontrolnych wskazuje $100 \mu\text{m}$ (zdjęcia udostępnione przez dr. hab. Marka Muriasa, prof. UM i wsp.) [70].

Badania aktywności przeciwnowotworowej wykonano we współpracy z grupą badawczą Pana dr. hab. Marka Muriasa, prof. UM z Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu [70].

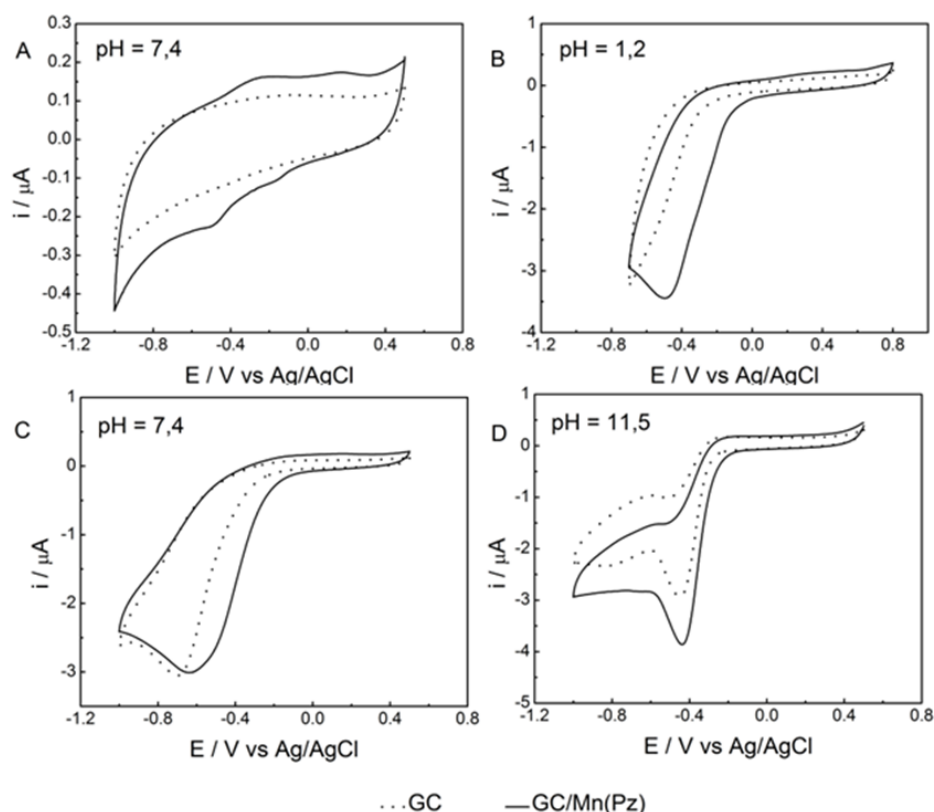
IV.1.4. Badania elektrochemiczne

Pomiary elektrochemiczne zostały przeprowadzone z użyciem potencjostatu/galwanostatu Autolab PGSTAT128N, w trójelektrodowym układzie wykorzystującym elektrodę roboczą wykonaną z węgla szklanego (GC), elektrodę chlorosrebrową (Ag/AgCl w 3 M KCl) jako elektrodę odniesienia oraz drut platynowy jako elektrodę pomocniczą. Pomiary wykonano w buforach Brittona-Robinsona o pH 7,4 i 11,5 oraz 0,1 mol/dm³ HClO₄ o pH 1,2 jako elektrolitach podstawowych.

Badania elektrochemiczne wykonano z wykorzystaniem manganowej porfirazyny **6**, zaadsorbowanej na powierzchni elektrody z GC. Do badań wykorzystano metodę woltamperometrii cyklicznej (CV, *Cyclic Voltammetry*) oraz roztwory odtlenione i nieodtlenione. Na **Rysunku 16 A** przedstawiono krzywe CV zarejestrowane w odtlenionym buforze o pH 7,4 dla czystej elektrody (GC) oraz elektrody zmodyfikowanej porfirazyną **6** (GC/Mn(Pz)). Pojemność podwójnej warstwy elektrycznej w przypadku zastosowania elektrody modyfikowanej (GC/Mn(Pz)), była nieznacznie większa w porównaniu z niemodyfikowaną (GC). W przebiegu krzywych CV obserwowano parę pików redoks przy potencjale -0,37 V, które były skutkiem jednoelektronowej przemiany związanej z aktywnością jonu centralnego Mn^{3+/2+} [78].

Badania przeprowadzone przy różnej szybkości przesuwu potencjału (5–250 mV/s), wykazały liniową zmianę prądów obu pików w funkcji szybkości przesuwu potencjału. Obserwowane zależności sugerowały, że procesy wymiany ładunku zachodziły w warstwie powierzchniowej. Następnie przeprowadzono badania wpływu porfirazyny **6**, na redukcję tlenu wykorzystując elektrolity o różnych wartościach pH. Krzywe woltamperometryczne uzyskane w roztworach nieodtlenionych (**Rys. 16 B–D**) wykazały intensywne piki procesów nieodwracalnych w zakresie potencjałów ujemnych. W warunkach pomiaru w elektrolitach nieodtlenionych z wykorzystaniem elektrod zmodyfikowanych, zauważalna była zmiana przebiegu rejestrowanych krzywych CV. W środowisku kwasowym o pH = 1,2 redukcja tlenu na elektrodzie GC, przebiegała ze znacznym nadpotencjałem. Kształt krzywej sugeruje, że wymiana elektronów na granicy faz, jest etapem ograniczającym szybkość procesu. Wykorzystanie elektrody modyfikowanej (GC/Mn(Pz)), skutkowało przesunięciem pików

redukcji w kierunku potencjałów dodatnich z obniżeniem nadpotencjału. Zaobserwowane zmiany są potwierdzeniem wzrostu szybkości wymiany elektronów pomiędzy cząsteczkami tlenu a elektrodą. Podobny efekt katalityczny, polegający na przesunięciu potencjału wydzielania tlenu w kierunku anodowym, zaobserwowano również stosując roztwory o pH 7,4.



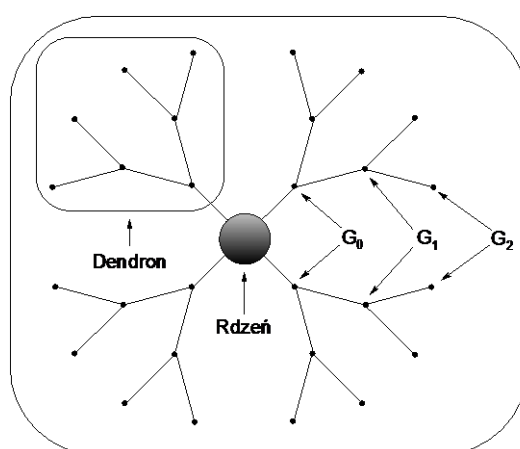
Rys. 16. Krzywe CV w różnych warunkach pH dla elektrody z węgla szklonego (GC) oraz elektrody GC zmodyfikowanej manganową porfirazyną **6** (GC/Mn(Pz)) w roztworach odtlenionym (**A**) oraz w roztworach nieodtlenionych (**B**, **C**, **D**). Szybkość przesuwu potencjału 10 mVs^{-1} [79].

W środowisku alkalicznym (pH 11,5), przy zastosowaniu zmodyfikowanej elektrody (GC/Mn(Pz)), potencjał redukcji nie ulegał przesunięciu natomiast zaobserwowano wzrost rejestrowanego prądu katodowego, w porównaniu z wartościami rejestrowanymi dla elektrody niemodyfikowanej (GC). Modyfikacja elektrody GC poprzez zaadsorbowanie cienkiej warstwy porfirazyny **6**, umożliwiła poprawę wydajności elektroredukcji tlenu.

Pomiary elektrochemiczne zostały przeprowadzone we współpracy z dr. T. Rębisem i dr. hab. G. Milczarkiem, prof. PP z Politechniki Poznańskiej [79].

IV.2. Porfirazyny siarkowe posiadające rozbudowane aryloksylowe ugrupowania peryferyjne

Budowa omówionych w niniejszym podrozdziale związków, posiadających rozbudowane peryferium wskazuje, że mają one strukturę dendrymeryczną. Częsteczki dendrymeryczne stanowią rozgałęzione struktury składające się ze zdefiniowanego, powtarzającego się wielokrotnie wielofunkcyjnego „meru”. Zbudowane są z występującego w centrum cząsteczki rdzenia, który jest otoczony kolejnymi warstwami rozgałęzień, zwanych generacjami ($G_0, 1, 2, \dots$). Poszczególne „gałęzie” połączone bezpośrednio z rdzeniem zwane są dendronami (**Rys. 17**).

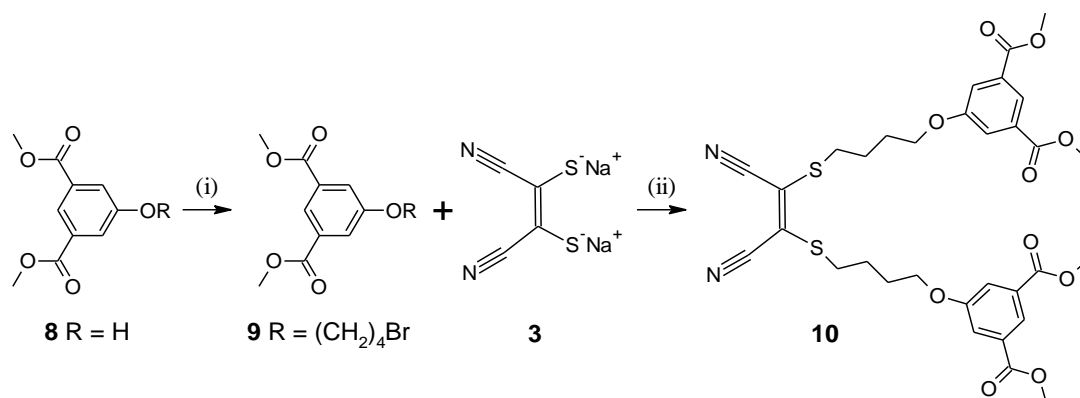


Rys. 17. Schematyczne przedstawienie budowy cząsteczki dendrymeru. G_0, G_1, G_2 – rozgałęzienia określane mianem generacji.

Pierwsza synteza związków dendrymerycznych została dokonana w 1978 r. przez grupę F. Vögtle'a i wsp. [80]. Wyjątkowa budowa nadaje tym związkom specyficzne właściwości fizykochemiczne, określane jako tzw. efekty dendrytyczne (*dendritic effect*) [81]. Pierwszym z opisywanych efektów jest wzmocnienie niektórych właściwości fizykochemicznych, co jest spowodowane mnogością (zbiorem) grup funkcyjnych znajdujących się na powierzchni cząsteczki dendrymeru. Drugi z efektów dendrytycznych polega na osłonie rdzenia cząsteczki przed czynnikami zewnętrznymi. Trzeci efekt dotyczy zdolności wytworzenia we wnętrzu cząsteczki dendrymeru, izolowanego mikrośrodowiska wykazującego inne właściwości niż otoczenie cząsteczki. Efekt ten może w niedalekiej przyszłości posłużyć do konstruowania układów, zdolnych do kontrolowanego uwalniania substancji chemicznych na poziomie molekularnym [82].

IV.2.1. Synteza oraz charakterystyka

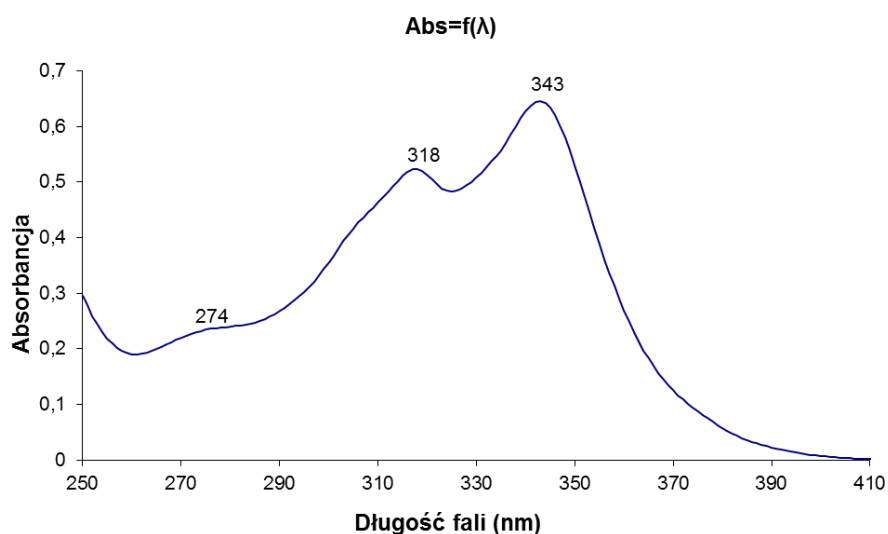
W pierwszej kolejności przeprowadzono reakcję alkilacji izoftalanu-5-hydroksydymetylu **8**, z wykorzystaniem 1,4-dibromobutanu w obecności węglanu potasu jako zasady wg metody literaturowej [83]. Następnie związek **9** posłużył jako substrat do alkilacji soli disodowej dimerkaptomaleodinitrylu **3** we wrzącym metanolu. Efektem procesu było otrzymanie pochodnej maleonitrylu **10** (Schemat 8).



Schemat 8. Synteza związków **9** i **10**. Reagenty i warunki reakcji: (i) Br(CH₂)₄Br, K₂CO₃, DMF, 50 °C, 20 godz. [83]; (ii) CH₃OH, t. wrzenia, 6 godz.

W celu potwierdzenia tożsamości związku **10** wykorzystano analizę elementarną, spektrometrię MS MALDI, spektroskopię UV–Vis oraz NMR obejmującą widma ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹H–¹H COSY, ¹H–¹³C HSQC, ¹H–¹³C HMBC.

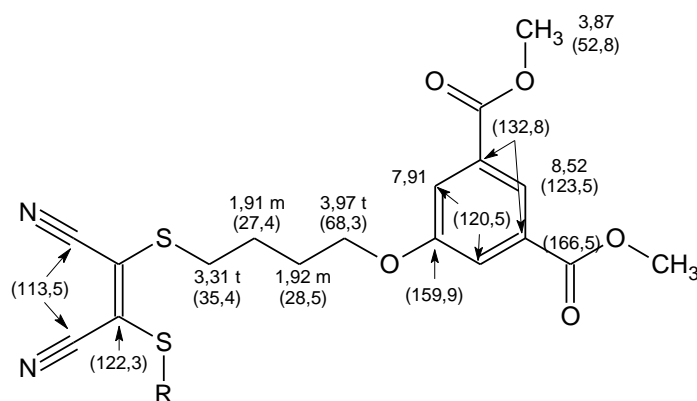
W widmie UV–Vis pochodnej maleonitrylu **10** zaobserwowano trzy pasma elektronowe (Wykres 2).



Wykres 2. Widmo UV–Vis pochodnej maleonitrylu **10** w dichlorometanie.

Rozciągnięte pasmo absorpcji z maksimum przy 318 nm przypisano obecności w cząsteczce podstawionego pierścienia izoftalanowego. Natomiast pasma z $\lambda_{\max} = 274$ i 343 nm są wynikiem absorpcji sprzężonego układu wiązań podwójnych i potrójnych wchodzących w skład ugrupowania maleonitrylu.

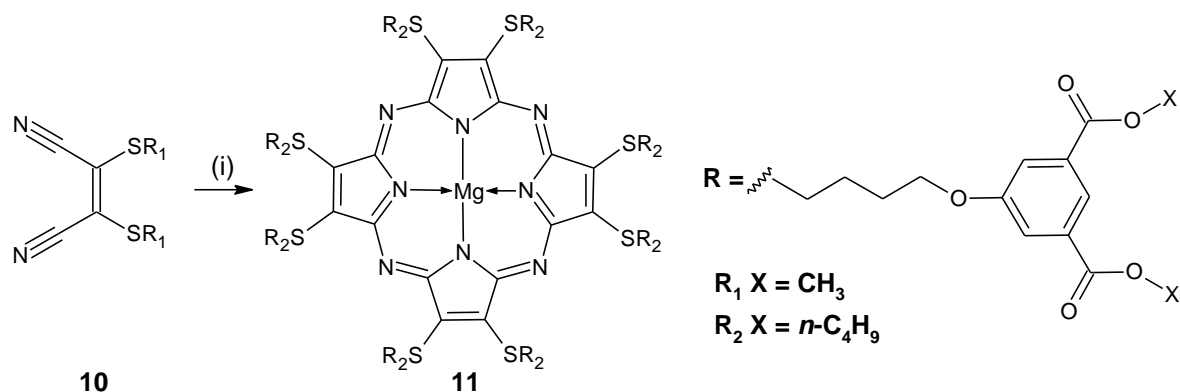
W widmie ^1H NMR pochodnej maleonitrylu **10** obecne są sygnały protonów przy 8,52 ppm i 7,91 ppm, pochodzące od pierścienia benzenowego. Obserwowano również sygnały, związane z obecnością protonów łańcucha butylowego o wartościach przesunięcia chemicznego 3,31 ppm; 1,91 ppm; 1,92 ppm oraz 3,97 ppm (kolejność protonów od grupy metylenowej położonej najbliżej mostka sulfanylowego). Obecny jest również sygnał przy 3,87 ppm, potwierdzający obecność protonów grupy metylowej w cząsteczce. W widmie ^{13}C NMR widoczne są sygnały przy 159,9 ppm i 132,8 ppm, pochodzące od czwartorzędowych atomów węgla pierścienia benzenowego oraz sygnał przy 166,5 ppm atomu węgla grupy karbonylowej. Sygnał o wartości 113,5 ppm pochodzi od czwartorzędowego atomu węgla grupy cyjanowej, natomiast przy 122,3 ppm od czwartorzędowego atomu węgla grupy etenowej. Ponadto stwierdzono obecność sygnałów atomów węgla łańcucha butylowego przy 35,4 ppm; 27,4 ppm; 28,5 ppm; 68,3 ppm oraz od węgla grupy metylowej przy 52,8 ppm. Sygnały od pozostałych atomów węgla pierścienia benzenowego pojawiły się przy wartościach 123,5 i 120,5 ppm (**Rys. 18**).



Rys. 18. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla związku **10** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm.

Następnie zbadano reaktywność związku **10** w reakcji makrocyklizacji w warunkach Linstead'a (**Schemat 9**) [2]. W tym celu zastosowano *n*-butanol w obecności *n*-butanolanu magnezu, który otrzymano na drodze roztworzenia magnezu w *n*-butanolu w obecności katalitycznej ilości jodu w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. W wyniku otrzymano symetryczną porfirazynę **11**. Ze względu na zasadowe środowisko reakcji oraz obecność

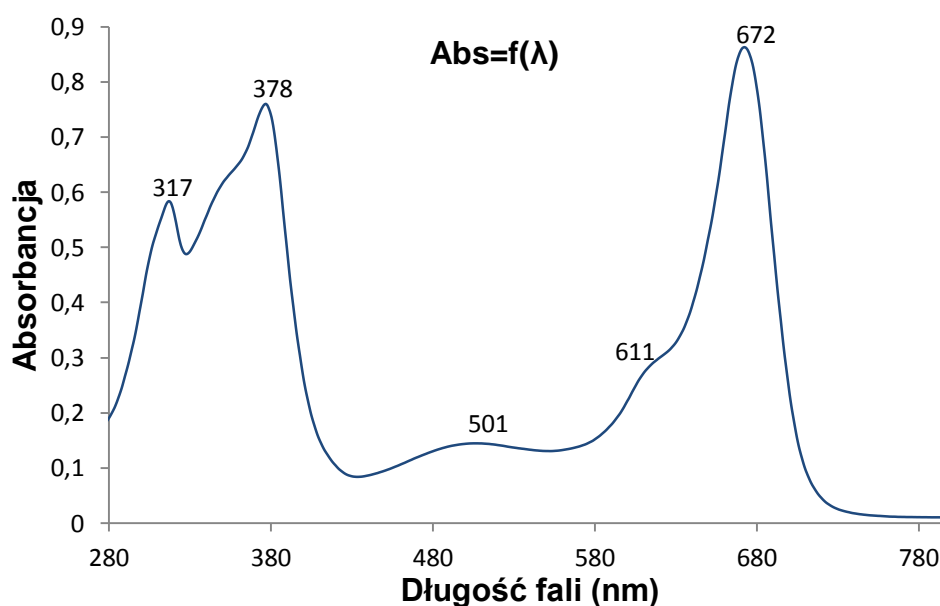
n-butanolu jako alkoholu w ugrupowaniach estrowych podstawnika peryferyjnego makrocykla zaszła reakcja transestryfikacji estru metylowego w *n*-butylowy.



Schemat 9. Reagenty i warunki reakcji: (i) $\text{Mg}(\text{O}n\text{-C}_4\text{H}_9)_2$, $n\text{-C}_4\text{H}_9\text{OH}$, t. wrzenia, 21 godz.

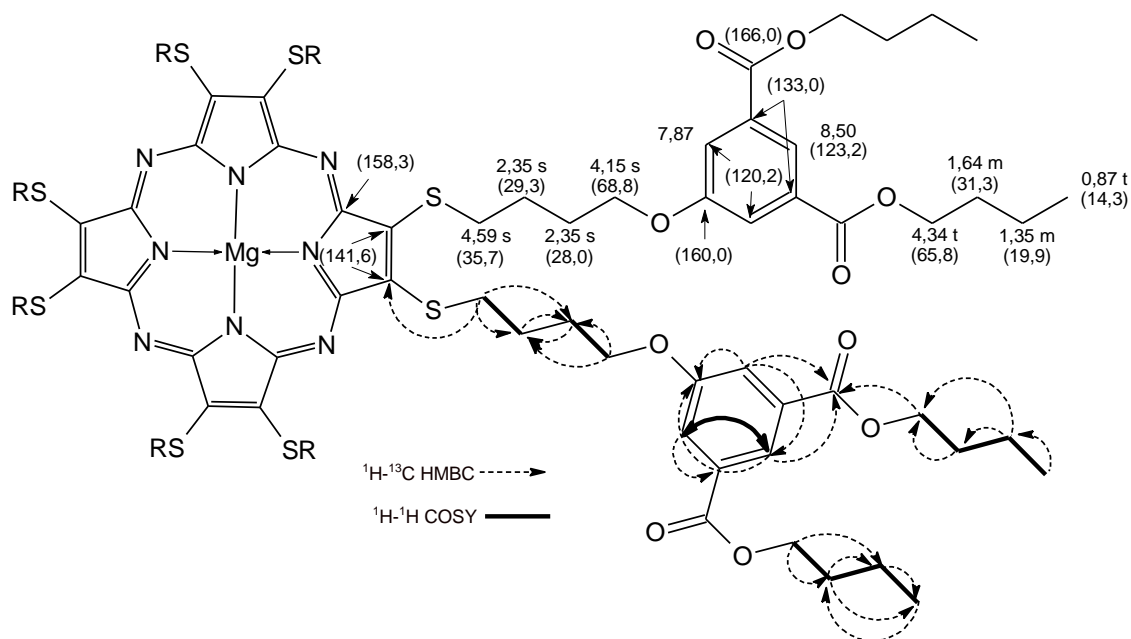
Powstanie makrocykla **11** potwierdzono z wykorzystaniem spektrofotometrii UV–Vis, spektrometrii MS MALDI oraz różnych technik spektroskopii NMR.

W widmie UV–Vis związku **11** zaobserwowano charakterystyczne dla porfirynoidów, dobrze wykształcone i ostre pasma: pasmo Q z maksimum absorpcji przy długości fali 672 nm oraz pasmo Soreta z maksimum przy długości fali 378 nm. Pasma Q, odpowiadające przejściom $\pi \rightarrow \pi^*$ posiada zaznaczone ramię wstępujące przy 611 nm, co potwierdza wysoką symetrię związku. Pasma absorpcji o maksimum przy 317 nm jest związane z obecnością w cząsteczce aromatycznych ugrupowań izoftalowych. Pasma absorpcji typu $n \rightarrow \pi^*$, o maksimum przy długości fali 501 nm, jest efektem donorowych właściwości peryferyjnych atomów siarki do aromatycznego pierścienia makrocyklicznego (**Wykres 3**).



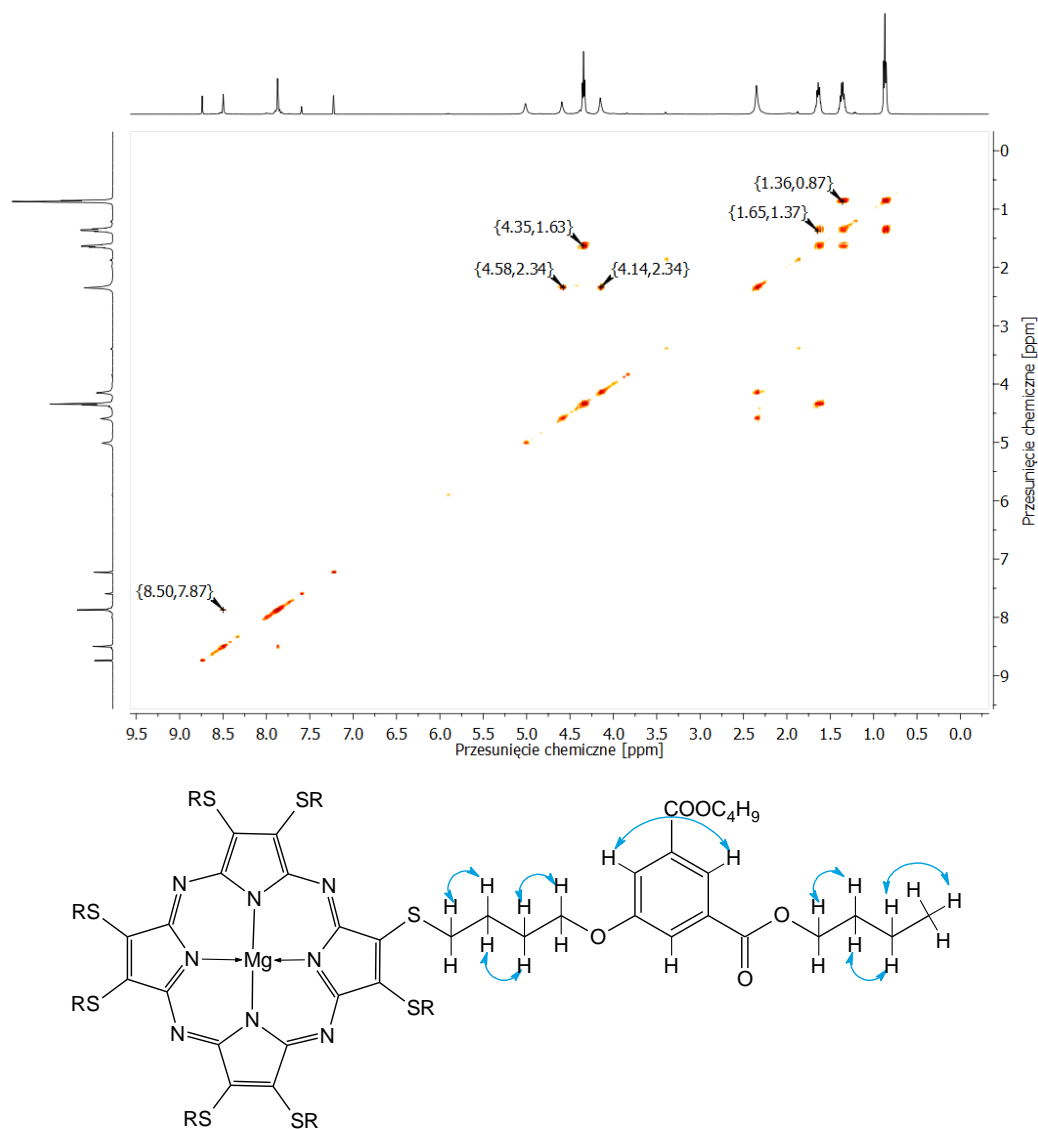
Wykres 3. Widmo UV–Vis porfirazyny **11** w dichlorometanie.

W widmie ^1H NMR porfirazyny **11** odnotowano sygnały pochodzące od czterech par protonów łańcucha alifatycznego (przy 4,59 ppm, 2,35 ppm i 4,12 ppm), występującego pomiędzy peryferyjnym ugrupowaniem izoftalanowym, a siarkowym makrocyklem. Sygnały protonów pochodzące od pierścienia benzenowego, pojawiły się przy 8,50 ppm i 7,87 ppm. Zaobserwowano również cztery sygnały, pochodzące od protonów znajdujących się we fragmencie cząsteczki stanowiącym resztę alkoholową, którym przypisano wartości: 4,34; 1,64; 1,35 oraz 0,87 ppm. W widmie ^{13}C NMR odnotowano pojawienie się sygnałów, pochodzących od czwartorzędowych atomów węgla pierścienia imidazolowego przy 158,3 ppm i 141,6 ppm oraz pierścienia benzenowego przy 160,0 ppm i 133,0 ppm. Sygnał przy 166,0 ppm pochodzi natomiast od czwartorzędowego atomu węgla grupy karbonylowej, natomiast sygnały od pozostałych atomów węgla pierścienia benzenowego posiadają wartości 123,2 ppm i 120,2 ppm. Sygnały od atomów węgla grup metylenowych łańcucha alkilowego, występującego pomiędzy pierścieniem tetrapirolowym a ugrupowaniem izoftalanowym, pojawiły się przy 35,7; 29,3; 28,0 oraz 68,8 ppm. Natomiast sygnały węgla łańcucha butylowego obecnego w ugrupowaniu estrowym odnotowano przy 65,8; 31,3; 19,9 oraz 14,3 ppm (**Rys. 19**).



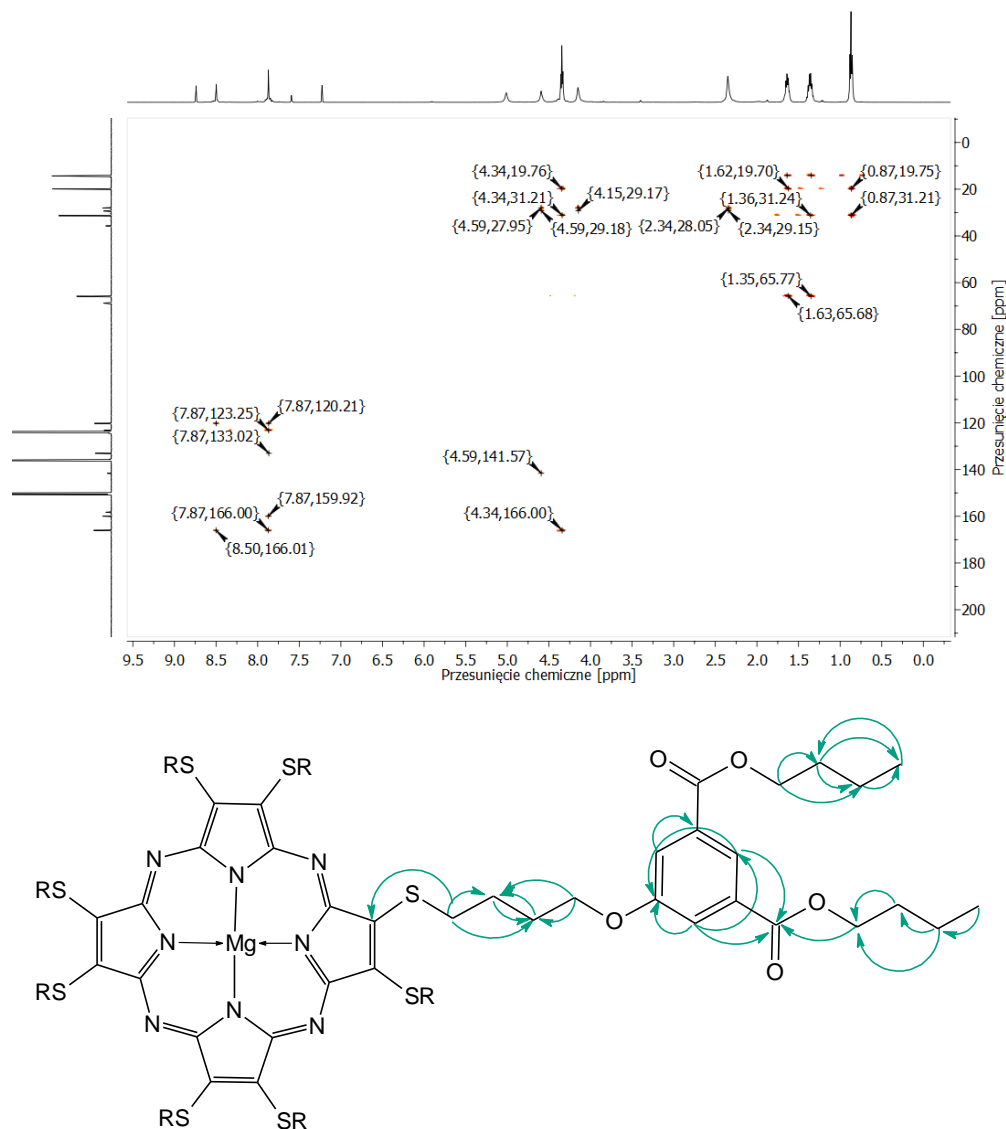
Rys. 19. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **11** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych NMR.

Precyzyjne przypisanie sygnałów obserwowanych w widmach NMR do właściwych atomów, było możliwe dzięki zarejestrowaniu widm dwuwymiarowych. Widmo ^1H - ^{13}C HSQC umożliwiło przypisanie do sygnałów poszczególnych atomów węgla, odpowiednich sygnałów protonów. Widmo ^1H - ^1H COSY pozwoliło na zidentyfikowanie sygnałów protonów połączonych z sąsiadującymi atomami węgla. Analiza widma umożliwiła rozróżnienie sygnałów pochodzących od dwóch czterowęglowych łańcuchów alkilowych. Jeden z łańcuchów łączył ugrupowanie izoftalanowe z siarkowym makrocyklem natomiast drugi występował w estrowym fragmencie cząsteczki. Ponadto w widmie ^1H - ^1H COSY odnotowano wyraźny sygnał potwierdzający występowanie sprzężenia protonów aromatycznych w pozycjach C2 (8,50 ppm) oraz C4 (7,87 ppm) grupy izoftalanowej (**Rys. 19 i 20**).



Rys. 20. Widmo ^1H - ^1H COSY związku **11** w pirydynie- d_5 . Sprzężenia pomiędzy protonami zaobserwowane w widmie ^1H - ^1H COSY.

Uzupełnieniem badań spektralnych była analiza widma ^1H - ^{13}C HMBC, która potwierdziła informacje uzyskane na podstawie integracji sygnałów, tj. przypisanie grup sygnałów pochodzących od dwóch czterowęglowych łańcuchów alifatycznych (**Rys. 19 i 21**).

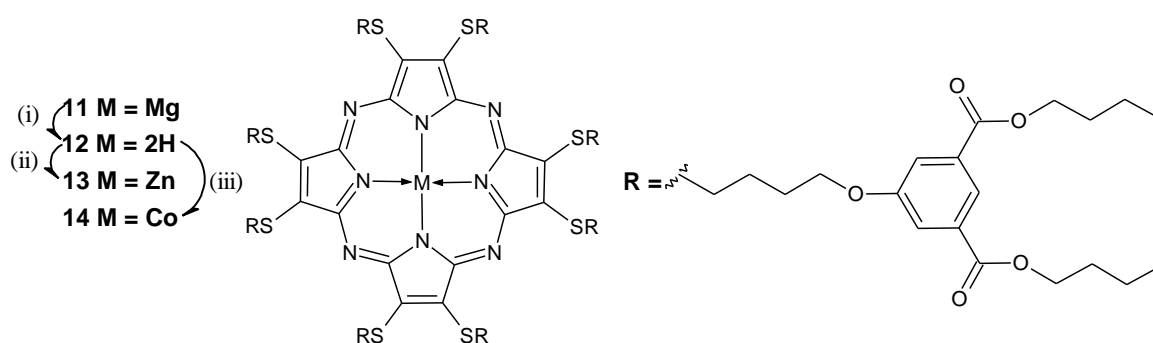


Rys. 21. Widmo ^1H - ^{13}C HMBC związku **11** w pirydynie- d_5 . Sprzężenia pomiędzy atomami wodoru a atomami węgla, oddalonymi od 2 do 4 wiązań, zaobserwowane w widmie ^1H - ^{13}C HMBC.

Na podstawie analizy widma ^1H - ^{13}C HMBC zidentyfikowano łańcuch butylowy łączący pierścień porfirazyny z grupą izoftalanową oraz łańcuch stanowiący resztę alkoholową w grupie estrowej. Bardzo cenne diagnostycznie okazało się sprzężenie obserwowane pomiędzy atomami wodoru i węgla z przesunięciami chemicznymi przy 4,59 ppm i 141,6 ppm. Sprzężenie to świadczy o sąsiedztwie grupy metylenowej z pierścieniem porfirazynowym i jednocześnie potwierdza, że grupa sygnałów protonów o przesunięciach

4,59; 2,35 oraz 4,12 ppm oraz związane z nimi atomy węgla posiadające przesunięcia chemiczne kolejno 35,7; 29,3; 28,0 oraz 68,8 ppm, pochodzi od atomów łącznika butylowego. Również sprzężenie protonu o przesunięciu chemicznym 4,34 ppm z atomem węgla o $\delta = 166,0$ ppm, umożliwiło przypisanie sygnałów protonów o przesunięciach chemicznych kolejno przy 4,34; 1,64, 1,35 oraz 0,87 ppm do peryferyjnej grupy butoksykarbonylowej.

W ramach kolejnych prac syntetycznych przeprowadzono reakcję demetalacji związku **11**, do porfirazyny bezmetalicznej **12** prowadząc reakcję w kwasie trifluorooctowym i czasie 30 minut. Związek **12** poddano następnie reakcjom metalacji z wykorzystaniem octanu cynku(II) oraz chlorku kobaltu(II) w DMF, na drodze ogrzewania w 70 °C przez 24 godz., co doprowadziło do otrzymania odpowiednich metaloporfirazyn **13** i **14** (Schemat 10).

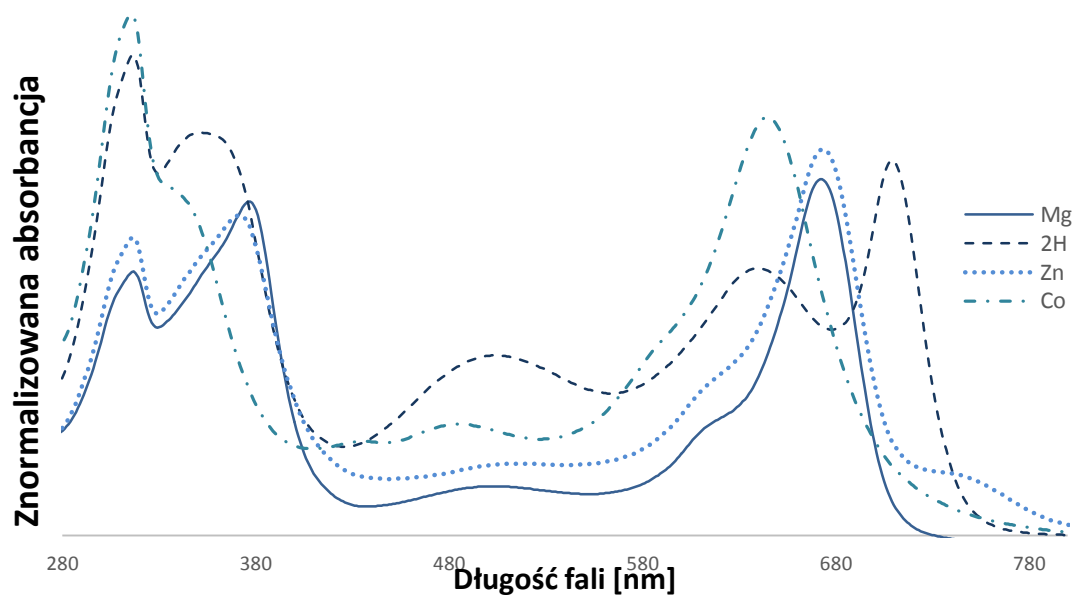


Schemat 10. Reagenty i warunki reakcji: (i) CF_3COOH , t. pokojowa, 30 min;
(ii) $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$, DMF, 70 °C, 24 godz.; (iii) $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$, DMF, 70 °C, 24 godz.

Otrzymane porfirazyny zostały scharakteryzowane z wykorzystaniem spektrofotometrii UV–Vis, spektrometrii MS MALDI oraz różnych technik spektroskopii NMR. W odniesieniu do porfirazyny **14**, ze względu na ferromagnetyczne właściwości centralnego jonu kobaltu(II), nie przeprowadzono badań spektroskopii NMR.

Jak zobrazowano na Wykresie 4 przebieg widm UV–Vis porfirazyn **11** - **14** wykazuje cechy charakterystyczne dla porfirazyn. Dla makrocykli **11** – **14** szczególnie charakterystyczne jest pasmo absorpcji peryferyjnego ugrupowania izoftalanowego wykazującego maksimum λ_{max} w zakresie 316 – 317 nm. Obserwowany przebieg widm stanowi potwierdzenie małego wpływu centrum pierścienia makrocyklicznego, na zdolności absorpcyjne peryferyjnych ugrupowań izoftalanowych. Natomiast drugie charakterystyczne pasmo tj. pasmo Soreta dla związków **11** – **14** zlokalizowane jest w zakresie 330 – 380 nm. Maksima absorpcji pasma Soreta pochodnej magnezowej **11** i cynkowej **13** obserwowano odpowiednio przy 371 i 378 nm. W przypadku porfirazyny bezmetalicznej **12**, pasmo Soreta posiada łagodniejszy przebieg a maksimum absorpcji jest przesunięte w stronę fal krótszych

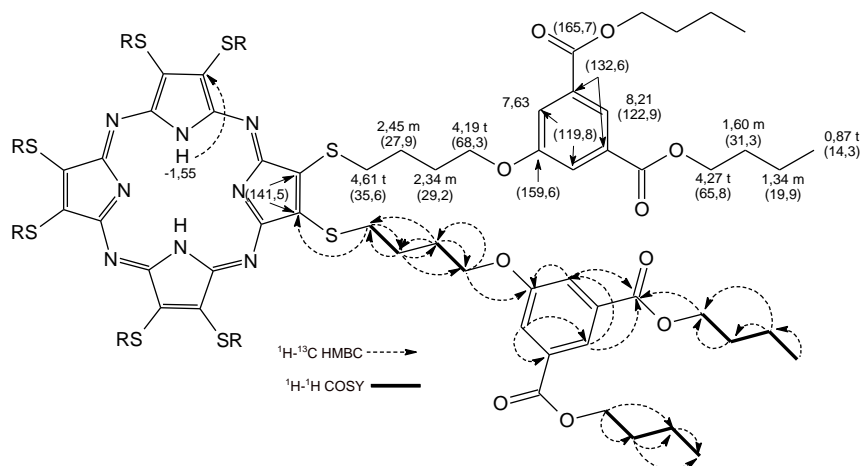
i wynosi 351 nm. Natomiast pasmo Soreta porfirazyny kobaltowej **14**, jest słabo zaznaczone i wykazuje $\lambda_{\max} = 316$ nm, częściowo pokrywając się z pasmem absorpcji ugrupowania izoftalanowego. Jak wiadomo na przebieg widma UV–Vis porfirazyn ma wpływ zarówno modyfikacja peryferyjna, jak i zmiany w centrum koordynacyjnym. Potwierdzenie tej zależności odnotowano również dla widm elektronowych porfirazyn **11** – **14**. Przebieg pasm Q pochodnych magnezowej **11** i cynkowej **13** jest bardzo podobny, z maksimum występującym przy tej samej długości fali $\lambda_{\max} = 673$ nm. Podstawienie rdzenia porfirazyny jonem kobaltu(II) (**14**) spowodowało poszerzenie pasma Q oraz przesunięcie w kierunku fal krótszych a maksimum absorpcji obserwowano przy 645 nm. Również znaczne zmiany przebiegu pasma Q obserwuje się dla porfirazyny bezmetalicznej **12**. Usunięcie centralnego jonu z pierścienia makrocyklicznego spowodowało spadek symetrii cząsteczki, czego konsekwencją stało się rozszczepienie pasma Q na dwa, mniej intensywne pasma. W wyniku rozszczepienia pojawia się intensywniejsze i ostre pasmo, które osiąga maksimum absorpcji przy 709 nm. Natomiast łagodniejsze, poszerzone pasmo absorpcji wykazuje maksimum przy 639 nm.



Wykres 4. Widma UV–Vis porfirazyn **11** – **14** w dichlorometanie.

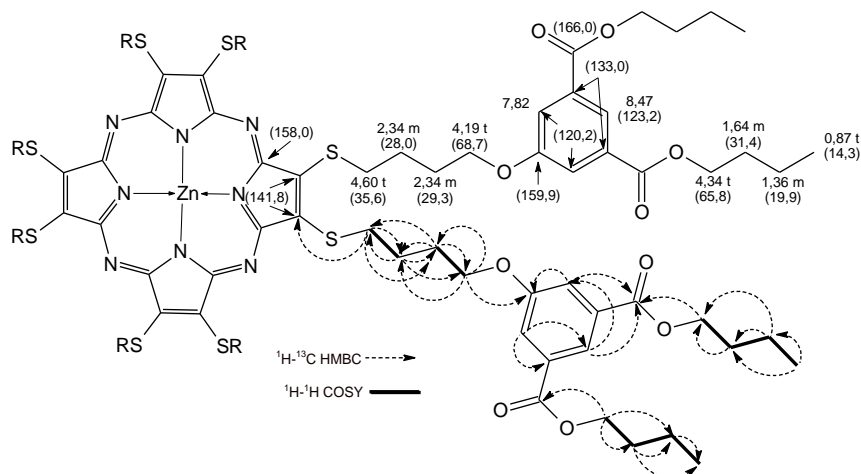
W widmach NMR porfirazyny **12** zaobserwowano podobne przesunięcia dla sygnałów pochodzących od atomów wodoru i węgla, jak dla porfirazyny magnezowej **11**. Jednocześnie stwierdzono kilka charakterystycznych różnic. Przede wszystkim, w widmie ^1H NMR związku **12** pojawił się sygnał protonów pirolowych obecnych w pierścieniu makrocyklicznym o przesunięciu chemicznym -1,55 ppm. Należy podkreślić, że sygnały

protonów grup metylenowych wchodzących w skład łącznika butylowego, uległy wyraźnemu zróżnicowaniu na multiplety przy 2,45 oraz 2,34 ppm (**Rys. 22**).



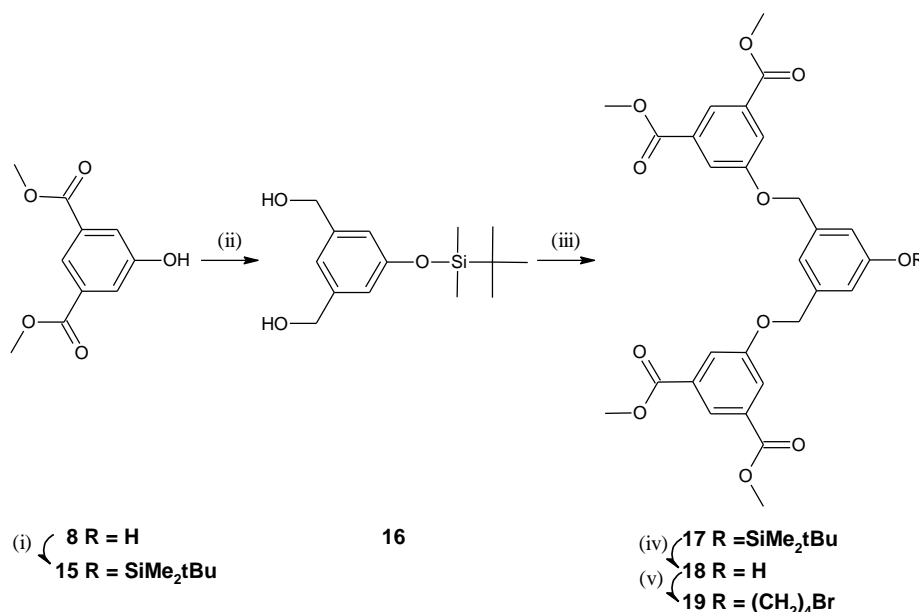
Rys. 22. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **12** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych NMR.

Widmo ^1H NMR porfirazyny cynkowej **13** wykazuje większe podobieństwo w porównaniu do pochodnej magnezowej **11**. Ponownie obserwowano sygnały protonów dwóch środkowych grup metylenowych łącznika butylowego, wykazujące tę samą wartość przesunięcia chemicznego 2,34 ppm. W widmie ^{13}C NMR odnotowano pojawienie się obu sygnałów węgla pirolowych makrocykla przy 158,0 i 141,8 ppm (**Rys. 23**).



Rys. 23. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **13** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych NMR.

Dalsze prace syntetyczne doprowadziły do rozbudowy podstawnika peryferyjnego, związków z ugrupowaniami izoftalanowymi. W tym celu zsyntetyzowano 3,5-bis[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksymetylo]fenol **18** według procedury S. Högera [84]. W pierwszej kolejności wykorzystano chlorek *tert*-butyldimetylosililowy w celu zabezpieczenia grupy hydroksylowej 5-hydroksyizoftalanu dimetylu **8** otrzymując związek **15**. Następnie zredukowano ugrupowania estrowe do grup alkoholowych związku **15** z wykorzystaniem glinowodoru litu. Związek o charakterze diolu **16**, wykorzystano jako substrat w reakcji Mitsunobu z estrem **8**, co pozwoliło na otrzymanie rozgałęzionej pochodnej eterowej **17**. Blokadę grupy hydroksylowej związku **17** usunięto z wykorzystaniem fluorku tetrabutylamoniowego. Otrzymany związek **18** został poddany alkilacji 1,4-dibromobutanem w obecności węgla potasu w dimetyloformamidzie, co doprowadziło do uzyskania związku **19** (Schemat 11).

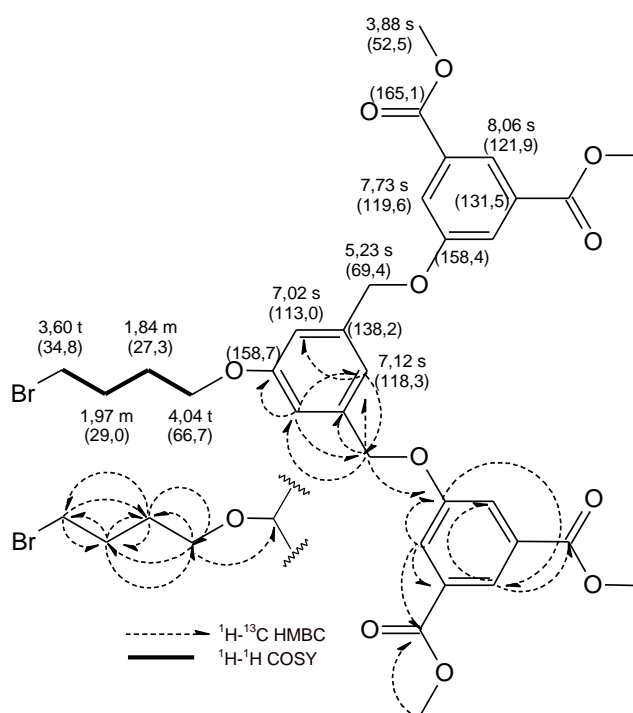


Schemat 11. Reagenty i warunki reakcji: (i) chlorek *tert*-butyldimetylosililowy, imidazol, DMF, t. pokojowa, 20 godz.; (ii) LiAlH_4 , THF, t. pokojowa, 2 godz.; (iii) azodikarboksylan dietylu, PPh_3 , THF, t. pokojowa, 20 godz. (iv) fluorek tetrabutylamoniowy, THF, t. pokojowa, 1 godz. (i-iv [84]); (v) $\text{Br}(\text{CH}_2)_4\text{Br}$, K_2CO_3 , DMF, 50 °C, 22 godz.

Tożsamość otrzymanego związku **19** potwierdzono z wykorzystaniem spektrofotometrii UV-Vis, spektrometrii MS ES oraz różnych technik spektroskopii NMR. Zastosowanie technik dwuwymiarowych: ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC

NMR pozwoliło na jednoznaczne przypisanie obserwowanych sygnałów do odpowiadających im atomów wodoru i węgla.

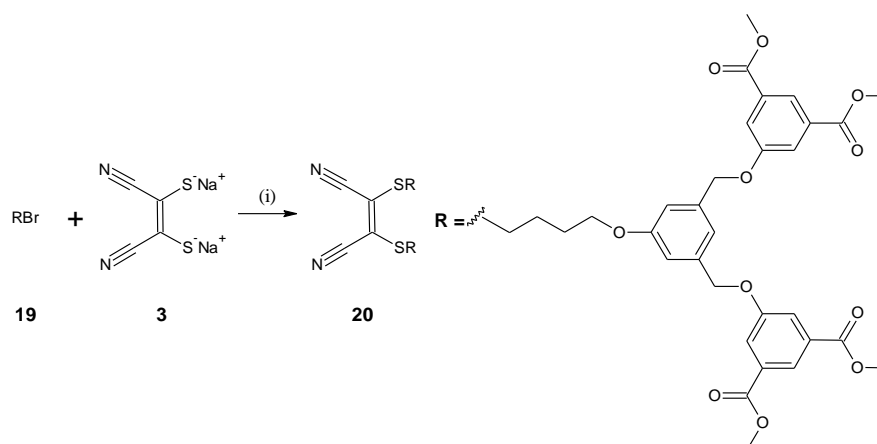
W widmie ^1H NMR związku **19** obserwowano sygnały protonów łańcucha 4-bromobutyłowego przy 3,60; 1,97; 1,84 oraz 4,04 ppm. Zaobserwowano dwa wyraźne singlety pochodzące od protonów peryferyjnych grup metyloowych przy (3,88 ppm) oraz grupy metylenowej przy wiązaniu eterowym pomiędzy pierścieniami aromatycznymi (**Rys. 24**). Sygnały protonów obecnych w pierścieniu aromatycznym odnotowano jako singlety dla C2 i C5 przy 7,02 ppm, dla C4 przy 7,12 ppm. Natomiast sygnały protonów pierścieni izoftalanowych zaobserwowano przy wyższych wartościach przesunięć chemicznych, tj. przy 7,73 ppm dla C2' i C5' oraz przy 8,06 ppm dla C4'.



Rys. 24. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla związku **19** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm.

Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych.

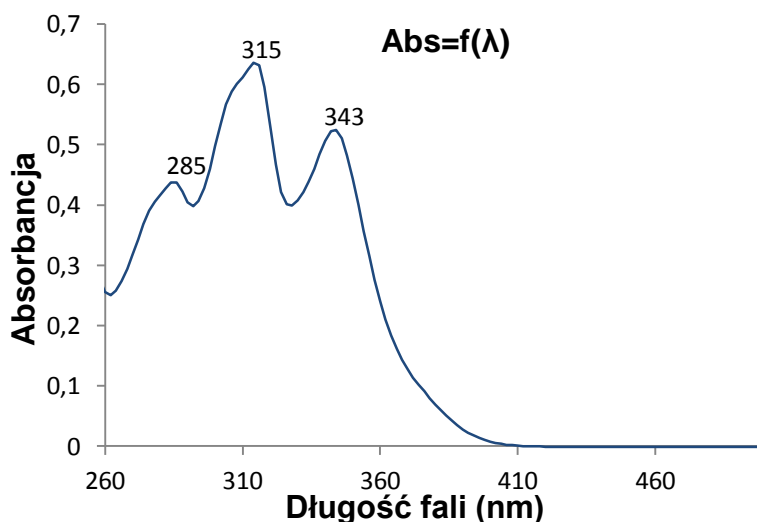
W kolejnym etapie badań związek **19** wykorzystano w reakcji alkilacji soli disodowej dimerkaptomaleonitrylu **3**, w obecności węgla potasu w dimetyloformamidzie. Reakcja prowadzona w $50\text{ }^\circ\text{C}$ przez 21 godz. umożliwiła otrzymanie pochodnej maleonitrylu **20** posiadającej ugrupowania dendrymeryczne pierwszej generacji (**Schemat 12**).



Schemat 12. Reagenty i warunki reakcji: (i) K_2CO_3 , DMF, 50°C , 21 godz.

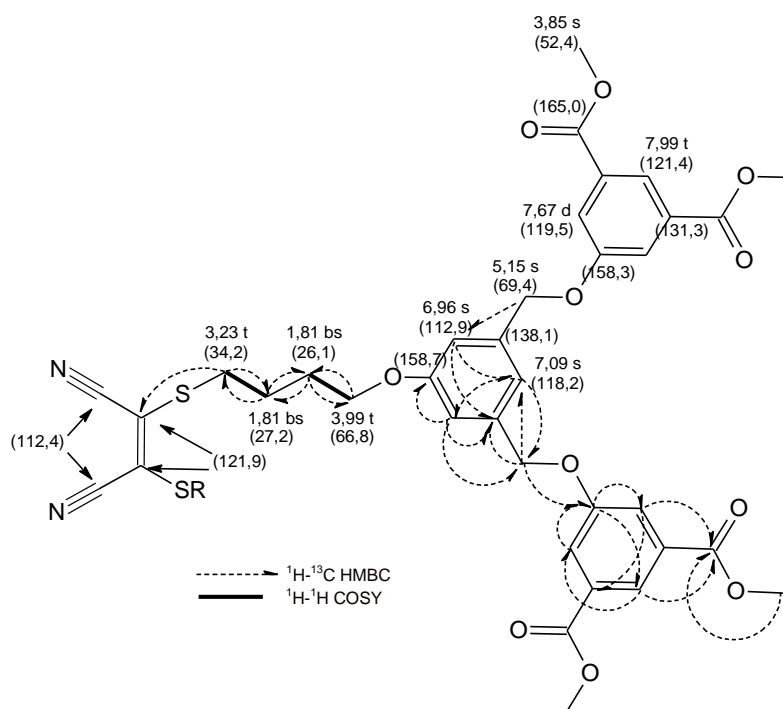
Tożsamość chemiczną związku **20** potwierdzono wykorzystując analizę elementarną, spektrometrię MS MALDI, spektroskopię UV–Vis oraz NMR obejmującą widma ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^1H – ^1H COSY, ^1H – ^{13}C HSQC, ^1H – ^{13}C HMBC.

W widmie UV–Vis pochodnej maleonitrylu **20** zaobserwowano trzy pasma. Pasma absorpcji z maksimum przy 285 nm przypisano obecności ugrupowań 3,5-bis(metylenoksy)fenolowych. Natomiast pasmo wykazujące maksimum przy długości fali 315 nm, powstaje w wyniku absorpcji promieniowania przez grupę izoftalanową. Pasma to wykazuje większą intensywność w porównaniu z wartościami odnotowanymi w widmie związku **10**, co może wiązać się ze zwiększeniem liczby grup chromoforowych w cząsteczce. Natomiast pasmo o maksimum przy wartości 343 nm, jest wynikiem absorpcji promieniowania przez sprzężony układ wiązań podwójnych i potrójnych ugrupowania maleonitrylowego (**Wykres 5**). Pasma absorpcji o maksimum przy takiej samej długości fali tj. 343 nm, występuje w widmie UV–Vis pochodnej maleonitrylu **10** (por. **Wykres 2**).



Wykres 5. Widmo UV–Vis pochodnej maleonitrylu **20** w dichlorometanie.

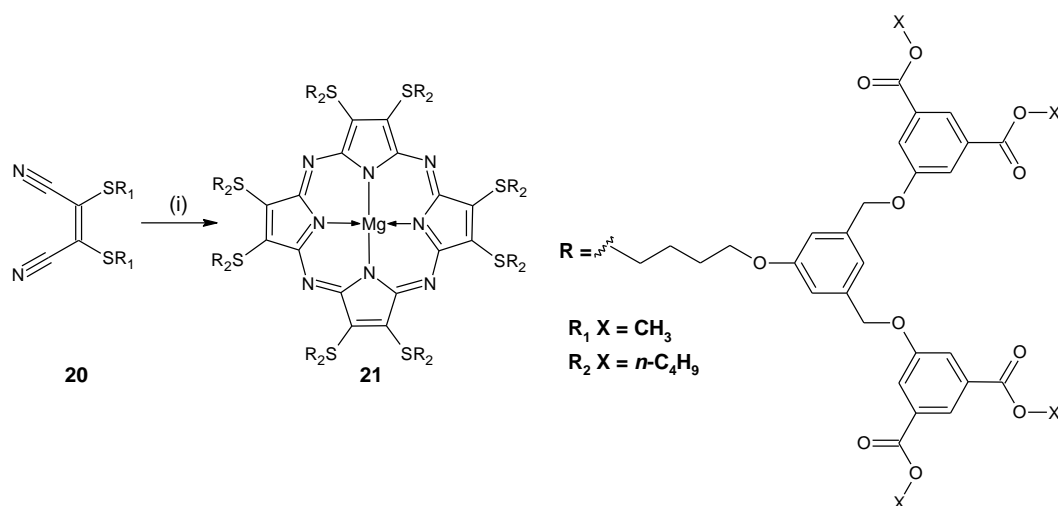
Widma ^1H i ^{13}C NMR pochodnej maleonitrylu **20** wykazują duże podobieństwo do widm związku **19**. Zaobserwowano, że kolejność pojawiania się sygnałów pochodzących od odpowiadających sobie atomów wodoru i węgla jest taka sama, a wartości przesunięć chemicznych bardzo zbliżone. W widmie ^1H NMR można zaobserwować występowanie sygnałów dwóch protonów grup metylenowych, znajdujących się wewnątrz łańcucha butylowego przy tej samej wartości przesunięcia chemicznego – 1,81 ppm. W widmie ^{13}C NMR przy 112,4 i 121,9 ppm, zaobserwowano sygnały atomów węgla odpowiednio grup cyjanowych oraz ugrupowania etylenowego (**Rys. 25**).



Rys. 25. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla związku **20** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm.

Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych.

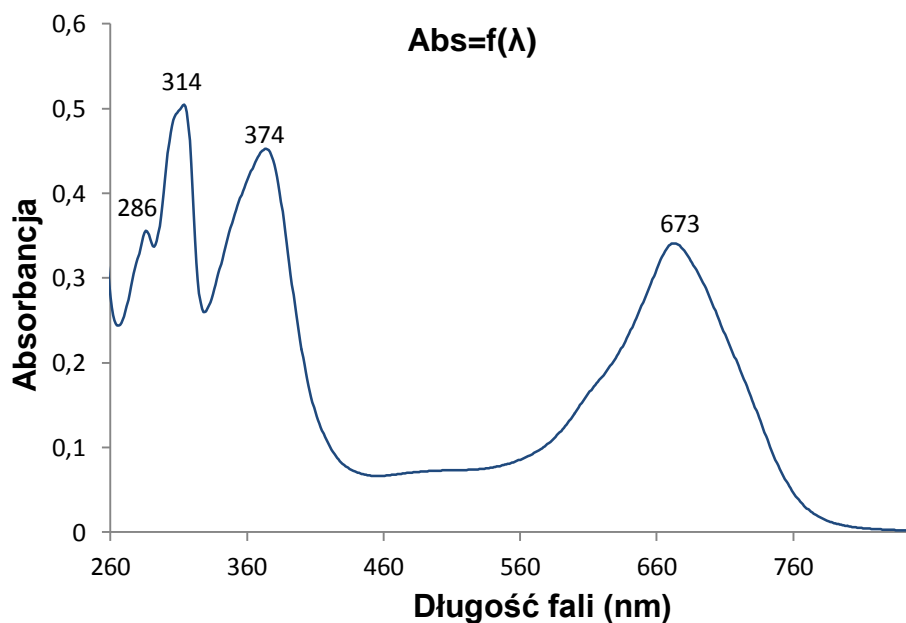
W dalszych pracach syntetycznych skupiono się na ocenie reaktywności otrzymanej pochodnej maleonitrylu **20**, w reakcji makrocyclizacji z wykorzystaniem *n*-butanolanu magnezu w *n*-butanolu. Reakcja doprowadziła do otrzymania symetrycznej magnezowej porfirazyny **21**, o rozgałęzionych peryferyjnych ugrupowaniach aryloksylowych – ugrupowaniach dendrymerycznych pierwszej generacji (**Schemat 13**).



Schemat 13. Reagenty i warunki reakcji: (i) $Mg(On-C_4H_9)_2$, $n-C_4H_9OH$, t. wrzenia, 22 godz.

Powstanie makrocykla zostało potwierdzone z użyciem spektrofotometrii UV–Vis, spektrometrii MS MALDI oraz różnych technik spektroskopii NMR.

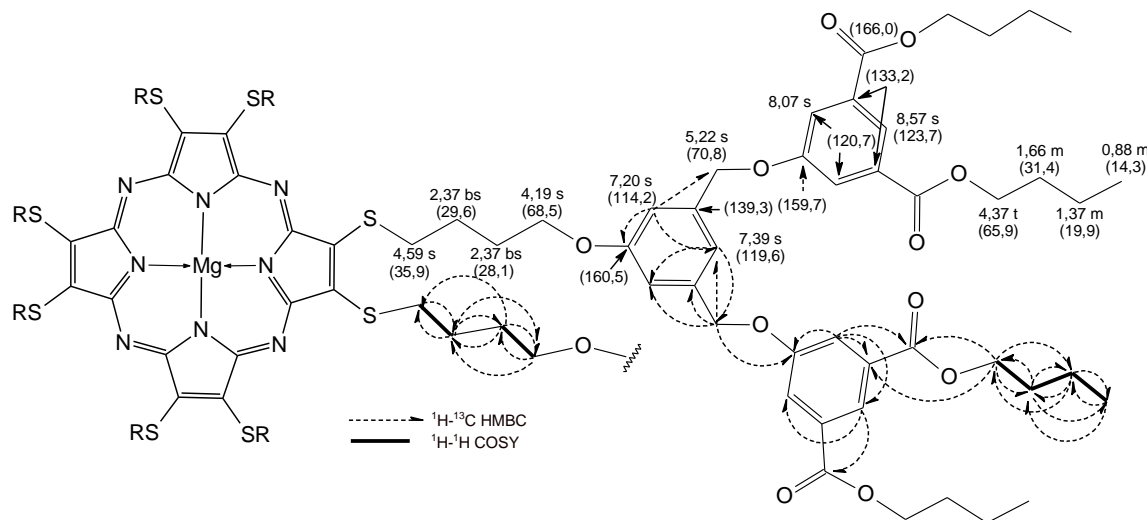
W widmie UV–Vis porfirazyny **21** zaobserwowano pasma Soreta oraz Q z λ_{max} odpowiednio przy 374 i 673 nm. W widmie stwierdzono obecność również wyraźnych pasm absorpcji o maksimum przy 286 i 314 nm, pochodzące od pierścieni aromatycznych ugrupowania peryferyjnego (**Wykres 6**).



Wykres 6. Widmo UV–Vis porfirazyny **21** w dichlorometanie.

W widmie 1H NMR porfirazyny **21** zaobserwowano intensywne sygnały protonów peryferyjnej grupy butylowej, wchodzącej w skład ugrupowań estrowych o przesunięciach

chemicznych kolejno przy 4,37; 1,66; 1,37 oraz 0,88 ppm. W widmie ^{13}C NMR odnotowano sygnały atomów węgla peryferyjnego łańcucha butylowego, występujące kolejno przy 65,9; 31,4; 19,9 oraz 14,3 ppm (**Rys. 26**).



Rys. 26. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **21** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych NMR.

IV.2.2. Aktywność fotodynamiczna *in vitro*

Ze względu na niską rozpuszczalność porfirazyny **21** w wodzie oraz w mieszaninie DMSO i wody, przygotowano formułację liposomalną. Stosunek molowy poszczególnych składników w liposomach wynosił: porfirazyna **21** (0,1) : PG (2) : POPC (8).

Aktywność przeciwnowotworowa została określona dla postaci liposomalnej związku **21**, z udziałem jak i bez udziału światła, przeciwko komórkom ludzkiego nowotworu prostaty linii LNCaP. Przeżywalność komórek określono z wykorzystaniem testu MTT.

Badania wykazały, że porfirazyna **21** nie wykazuje fotocytotoksyczności wobec komórek LNCaP. Ponadto zauważono wzrost przeżywalności komórek nowotworowych poddanych działaniu fotouczulacza. Natomiast w eksperymencie bez naświetlania, ze wzrostem stężenia fotouczulacza w zakresie od 0 do $5,4 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ przeżywalność komórek rośnie i dopiero powyżej stężenia porfirazyny **21** wynoszącego $1,35 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ przyjmuje wartość mniejszą niż w próbie kontrolnej. Natomiast w fazie jasnej procent komórek, które przeżyły eksperyment jest znacznie większy w porównaniu z próbą kontrolną oraz komórkami poddanymi ocenie toksyczności w fazie ciemnej (**Tabela 1**).

Tabela 1. Aktywność fotodynamiczna porfirazyny **21** wobec komórek linii LNCaP. Wyniki zaprezentowano jako procent przeżywalności w porównaniu do próby kontrolnej (wartość średnia i odchylenie standardowe na podstawie dwóch eksperymentów).

| Stężenie [$\mu\text{mol}/\text{dm}^3$] | Przeżywalność komórek [%] | | | |
|--|---------------------------|-------|------------|-------|
| | Faza ciemna | | Faza Jasna | |
| 0 | 100,00 ± | 8,24 | 100,00 ± | 11,83 |
| 0,08 | 145,33 ± | 10,71 | 199,69 ± | 12,38 |
| 0,16 | 131,07 ± | 13,58 | 169,33 ± | 9,98 |
| 0,34 | 123,91 ± | 10,08 | 170,86 ± | 15,54 |
| 0,68 | 113,78 ± | 13,90 | 137,35 ± | 14,28 |
| 1,35 | 98,93 ± | 12,49 | 135,27 ± | 11,83 |
| 2,70 | 80,35 ± | 12,27 | 121,89 ± | 9,11 |
| 5,40 | 69,89 ± | 8,67 | 111,98 ± | 7,19 |

Jak przedstawiono w **Tabeli 1** wyniki badań biologicznych świadczą o braku toksyczności porfirazyny **21**. Zastosowana w eksperymencie forma estrowa związku **21** może być traktowana jako prolek, który po hydrolizie peryferyjnych grup *n*-butanolanowych ulega przekształceniu w formę kwasową rozpuszczalną w wodzie. Można założyć, że przekłada się to na zmianę fotocytotoksyczności.

Wyniki badań fotocytotoksyczności zostały udostępnione przez grupę badawczą dr. hab. Marka Muriasa, prof. UM z Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

IV.2.3. Właściwości elektrochemiczne

Do badań elektrochemicznych wybrano porfirazynę kobaltową **14**, ze względu na obecność w cząsteczce kationu metalu o spodziewanych właściwościach oksydacyjno-redukcyjnych. Pomiary przeprowadzono z zastosowaniem woltamperometrii cyklicznej oraz różnicowej woltamperometrii pulsowej (DPV, *Differential Pulse Voltammetry*). Wykorzystano trójelektrodowy układ pomiarowy złożony z dyskowej elektrody z węgla szklanego, jako elektrody roboczej (powierzchnia = 0,02 cm²), drutu platynowego, jako elektrody pomocniczej oraz drutu srebrnego, jako elektrody *quasi*-referencyjnej. Wartości potencjałów wyznaczono wykorzystując ferrocen jako wzorzec wewnętrzny. Do badań stosowano roztwór porfirazyny kobaltowej **14** o stężeniu ok. 0,10 mg/cm³ oraz chloran(VII) tetrabutylamoniowy (TBAP), który spełniał rolę elektrolitu podstawowego.

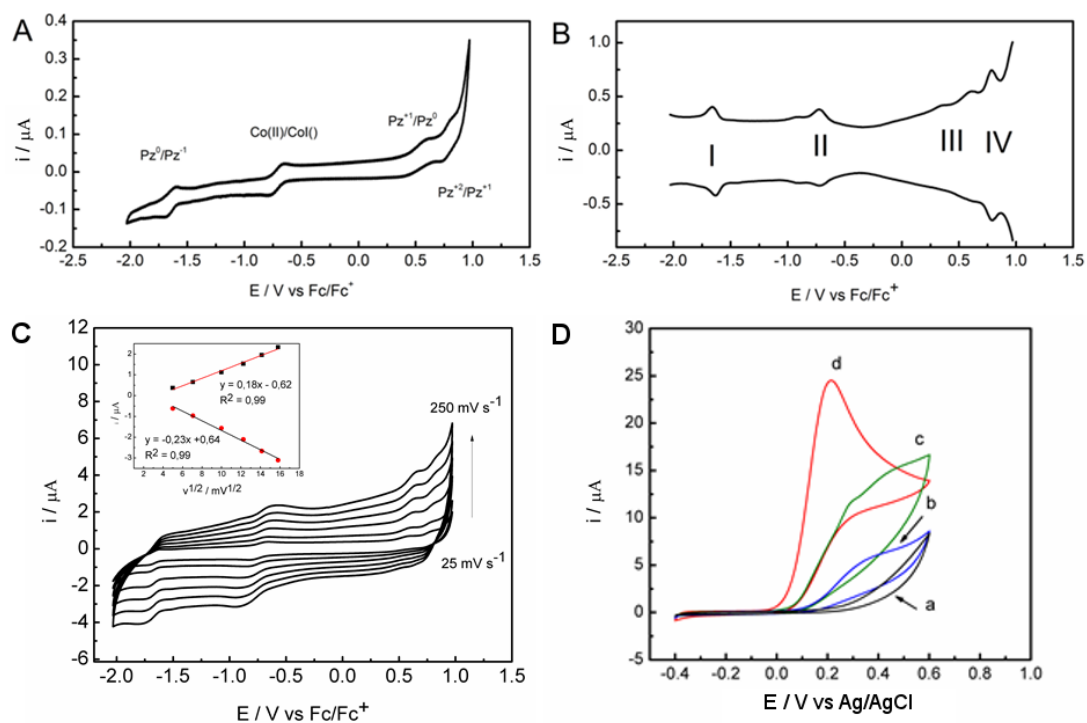
Przed pomiarami układ został nasycony azotem w celu usunięcia rozpuszczonego tlenu cząsteczkowego.

Pomiary wykazały, że **14** ulega czterem jednoelektronowym procesom utleniania – redukcji (**Rysunek 27 B**, **Tabela 2**). Jak zobrazowano na **Rys. 27 B** proces I występujący w zakresie potencjałów ujemnych ($E_{1/2} = -1,78\text{V}$), odpowiada redukcji przebiegającej wewnątrz pierścienia makrocyklicznego, zawierającego znaczną ilość elektronów. Atomy bloku energetycznego „d” zazwyczaj posiadają stan energetyczny znajdujący się pomiędzy HOMO i LUMO porfirynoidów. Z tego względu pik przy potencjale $-0,71\text{ V}$, należy przypisać przemianie związanej z reakcją redoks jonu centralnego Co(II)/Co(I) [85] (**Rys. 27 A**).

Z danych literaturowych wynika, że kobaltowe pochodne porfirazyn badane w rozpuszczalnikach niekoordynujących, takich jak dichlorometan, nie wykazują sygnałów utleniająco-redukujących obserwowanych w CV uwarunkowanych procesem Co(III)/Co(II) [86,87]. W związku z tym można wnioskować, że piki pojawiające się w zakresie potencjałów dodatnich obrazują procesy utlenienia pierścienia makrocyklicznego. Różnica potencjału $E_{1/2}$ pomiędzy pikami IV i III wynosi $0,26\text{ V}$ i jest znacznie mniejsza niż obserwowana dla procesów redoks zachodzących w pierścieniu makrocyklicznym, która wg danych literaturowych najczęściej osiąga wartość $\Delta E = \text{ok. } 0,42\text{V}$ [86,88]. Zauważone różnice mogą wynikać z agregacji makrocykla a skutkiem jest zmiana kształtu obserwowanych pików. Jak zobrazowano na **Rys. 27 B** piki stają się nieregularne i mają tendencje do rozdawiania. Stwierdzono ponadto mniejszą intensywność piku III w porównaniu z pikiem IV.

Cykliczne voltamperogramy porfirazyny **14** zarejestrowane ze zmienną szybkością przesuwu potencjału, wskazują na dobrą propagację ładunku (**Rysunek 27 C**). Analiza zależności prądów piku II, od pierwiastka szybkości przesuwu potencjału ($v^{1/2}$) wskazuje, że najwolniejszym etapem procesu jest dyfuzja do powierzchni elektrody, obserwowano liniową zależność wartości prądów od $v^{1/2}$.

Uzyskane wyniki sugerują, że porfirazyna kobaltowa **14**, ze względu na występowanie dodatkowych procesów utleniania-redukcji wynikających z obecności aktywnego jonu centralnego, może znaleźć potencjalne zastosowanie jako katalizator przeniesienia ładunku w reakcjach redoks.



Rys. 27. (A) CV porfirazyny **14** w dichlorometanie z dodatkiem TBAP, szybkość przesuwu potencjału 50 mV/s. (B) Wykresy DPV dla porfirazyny **14**. (C) CV zmierzone dla porfirazyny **14** w dichlorometanie z dodatkiem TBAP z różną szybkością przesuwu potencjału (25–250 mVs⁻¹). Wstawka przedstawia zależność pomiędzy prądem anodowego i katodowego piku Co(II)/Co(I) a pierwiastkiem kwadratowym prędkości przesuwu potencjału. (D) CV porfirazyny **14** w buforze fosforanowym o pH = 7,4 dla $v = 10 \text{ mVs}^{-1}$ w obecności 2mmol/dm³ hydrazyny z użyciem elektrod: a) GC, b) GC/**14**, c) GC/MWCNTs i d) GC/MWCNTs/**14** [88].

Tabela 2. Parametry voltamperometryczne porfirazyny **14**.

| | Procesy redoks | | | | $\Delta E_{1/2}$ |
|-------------------|----------------|-------|------|------|------------------|
| | I | II | III | IV | |
| $E_{1/2}$ [V] | -1,78 | -0,71 | 0,58 | 0,84 | 1,29 |
| ΔE_P [mV] | 100 | 235 | - | 60 | |
| i_{pa} / i_{pc} | - | 0,7 | - | - | |

$\Delta E_{1/2} = \text{HOMO} - \text{LUMO}$, różnica pomiędzy pierwszym pikiem utleniania i pierwszym pikiem redukcji, odpowiadająca przerwie energetycznej związków nieposiadających elektroaktywnego metalu centralnego lub przerwa odpowiadająca stanom energetycznym ligandu i elektroaktywnego kationu centralnego. Wartości $E_{1/2}$, ΔE_P podane względem wzorca wewnętrznego Fc/Fc⁺ ($E_{1/2} = 0,44 \text{ V vs Ag}_{\text{met}}$)

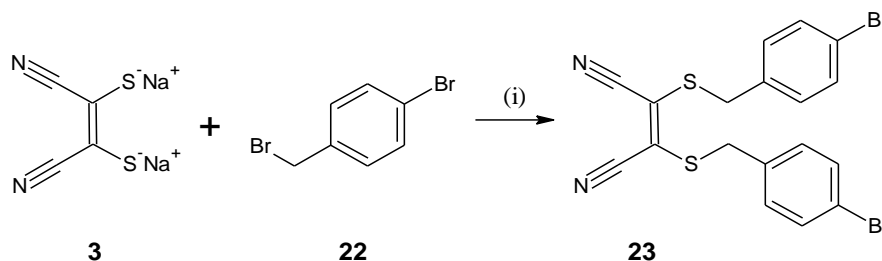
W kolejnym badaniu wykorzystano elektrodę z węgla szklanego, która została zmodyfikowana przez zaadsorbowanie cienkiej warstwy porfirazyny **14** (GC/**14**), wielościennych nanorurek węglowych (GC/MWCNTs) (MWCNTs, *Multiwall Carbon Nanotubes*) a także z wykorzystaniem MWCNTs i **14** (GC/MWCNTs/**14**). Następnie wykonano cykliczne voltammogramy w buforowanym roztworze hydrazyny o stężeniu 2 mmol/dm^3 , z wykorzystaniem niezmodyfikowanej oraz zmodyfikowanych elektrod. W przypadku elektrody zmodyfikowanej z wykorzystaniem MWCNTs i porfirazyny **14** (GC/MWCNTs/**14**), zauważono znaczny spadek nadpotencjału podczas utleniania hydrazyny. Różnica nadpotencjału w porównaniu z niezmodyfikowaną elektrodą wynosiła ok. 200 mV. Dodatkowo elektroda GC/MWCNTs/**14** wykazała największą wartość prądu podczas utleniania hydrazyny. Elektroda GC/MWCNTs/**14** przejawiała efekt synergistyczny podczas procesu elektROUTLENIA hydrazyny, w porównaniu z elektrodami zmodyfikowanymi tylko z wykorzystaniem nanorurek (GC/MWCNTs) lub porfirazyny kobaltowej **14** (GC/**14**). Elektroda zmodyfikowana z wykorzystaniem nanorurek i porfirazyny **14** (GC/MWCNTs/**14**) wykazała silne właściwości elektrokatalityczne w procesie utleniania hydrazyny. Uzyskane wyniki sugerują, że porfirazyna **14** może być uwzględniana przy projektowaniu sensorów amperometrycznych i elektrokatalizatorów.

Badania elektrochemiczne wykonano pod merytorycznym kierunkiem dr. Tomasza Rębisia i we współpracy z dr. hab. G. Milczarkiem z Politechniki Poznańskiej [88].

IV.3. Porfirazyny posiadające peryferyjne ugrupowania arylometylosulfanylowe

IV.3.1. Synteza i charakterystyka

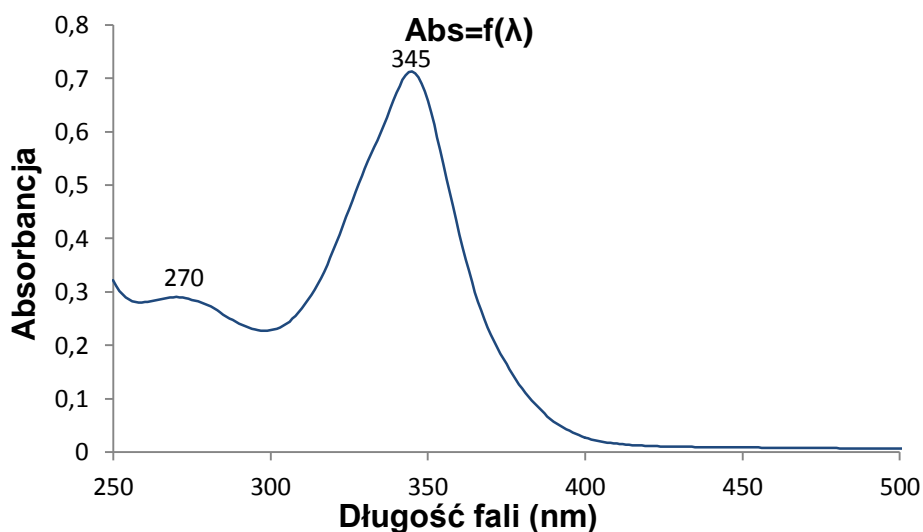
Sól disodową dimerkaptomaleonitrylu **3** poddano reakcji alkilacji z wykorzystaniem bromku 4-bromobenzylowego **22** we wrzącym metanolu. Otrzymano pochodną maleonitrylu **23** (Schemat 14).



Schemat 14. Reagenty i warunki reakcji: (i) CH₃OH, t. wrzenia, 4 godz.

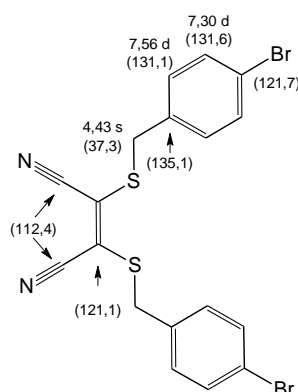
Tożsamość nowej pochodnej maleonitrylu potwierdzono z wykorzystaniem spektrometrii mas oraz spektroskopii UV–Vis, NMR oraz analizy elementarnej.

W przebiegu widma UV–Vis pochodnej maleonitrylu **23** zaobserwowano intensywne, dobrze wykształcone pasmo z λ_{\max} przy 345 nm, pochodzące od ugrupowania maleonitrylowego i odpowiadające przejściom elektronowym typu $\pi \rightarrow \pi^*$ i $n \rightarrow \pi^*$. W przebiegu widma zaobserwowano słabo wykształcone pasmo z maksimum przy 270 nm, będące wynikiem absorpcji podstawnika 4-bromobenzylometylosulfanylowego (Wykres 7).

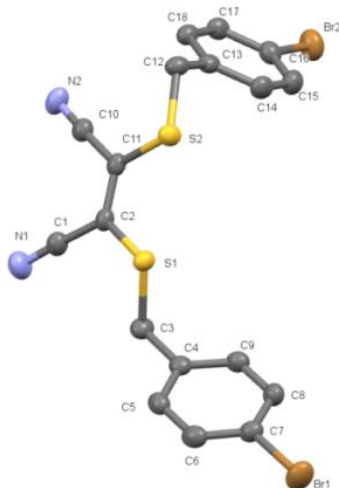


Wykres 7. Widmo UV–Vis pochodnej maleonitrylu **23** w dichlorometanie.

W widmie ^1H NMR związku **23** zaobserwowano dwa charakterystyczne dublety przy $\delta = 7,30$ oraz $7,55$ ppm pochodzące od protonów grupy 4-bromobenzylsulfanylowej o stałej sprzężenia $^3J = 8$ Hz. Ponadto pojawił się singlet przy $4,43$ ppm związany z obecnością protonów mostka metylenowego. W widmie ^{13}C NMR związku **23** odnotowano sygnały atomów węgla w grupach etenowych przy $121,1$ ppm, cyjanowych przy $112,4$ ppm, atomów węgla pierścienia aromatycznego przy $121,7$; $131,1$; $131,6$; $135,1$ ppm. Zanotowano także sygnał przy $37,3$ ppm wynikający z obecności grupy metylenowej (**Rys. 28**).



Rys. 28. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla pochodnej maleonitrylu **23** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm.



Związek **23** poddano krystalizacji z roztworu: dichlorometan i metanol (1:1, v/v) metodą powolnego odparowywania rozpuszczalnika. Rentgenowska analiza strukturalna wykazała, że związek **23** krystalizuje w układzie jednoskośnym, w grupie przestrzennej $P2_1/n$ (**Rys. 29, Tabela 3**). W niezależnej części komórki elementarnej znajduje się jedna cząsteczka pochodnej maleonitrylu **23**. Obydwa podstawniki bromobenzylowe przyjmują różne konformacje lecz znajdują się po tej samej stronie płaszczyzny maleonitrylu.

Rys. 29. Struktura cząsteczki pochodnej maleonitrylu **23** przedstawiająca numerację atomów. Dla przejrzystości rysunku pominięto atomy wodoru.

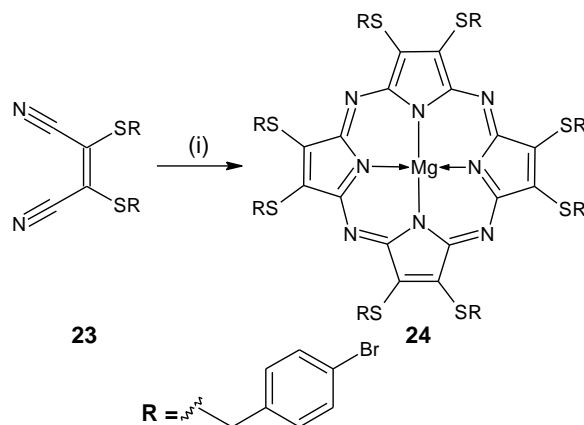
Tabela 3. Dane krystalograficzne pochodnej maleonitrylu **23**.

| | |
|--|-------------------------------------|
| Wzór sumaryczny | $C_{18}H_{12}Br_2N_2S_2$ |
| Masa cząsteczkowa (u) | 480,24 |
| Układ krystalograficzny | Jednoskośny |
| Grupa przestrzenna | $P2_1/n$ |
| Parametry komórki elementarnej a, b, c (Å) | 8,1346 (1); 23,4423 (4); 9,8566 (2) |
| β (°) | 91,997 (1) |
| V (Å ³) | 1878,45 (5) |
| Z – liczba cząsteczek w komórce elementarnej | 4 |
| Współczynnik absorpcji μ (mm ⁻¹) | 7,56 |

Tabela 4. Dane pomiaru dyfraktometrycznego oraz parametry dotyczące jakości rozwiązania struktury pochodnej maleonitrylu **23**.

| | |
|---|--------------------|
| Wymiary kryształu (mm) | 0,40 × 0,20 × 0,05 |
| Temperatura pomiaru (K) | 130 |
| Typ promieniowania | Cu $K\alpha$ |
| Dyfraktometr | SuperNova |
| Korekcja absorpcji | Multi-scan [89] |
| T_{min}, T_{max} | 0,232; 1,000 |
| Liczba zmierzonych, niezależnych i obserwowanych refleksów [$I > 2\sigma(I)$] | 10440, 3319, 3158 |
| $R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$ | 0,026; 0,069; 1,07 |
| Liczba udokładnianych parametrów | 217 |
| Liczba nałożonych więzów | 0 |
| $\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³) | 0,54 –0,57 |

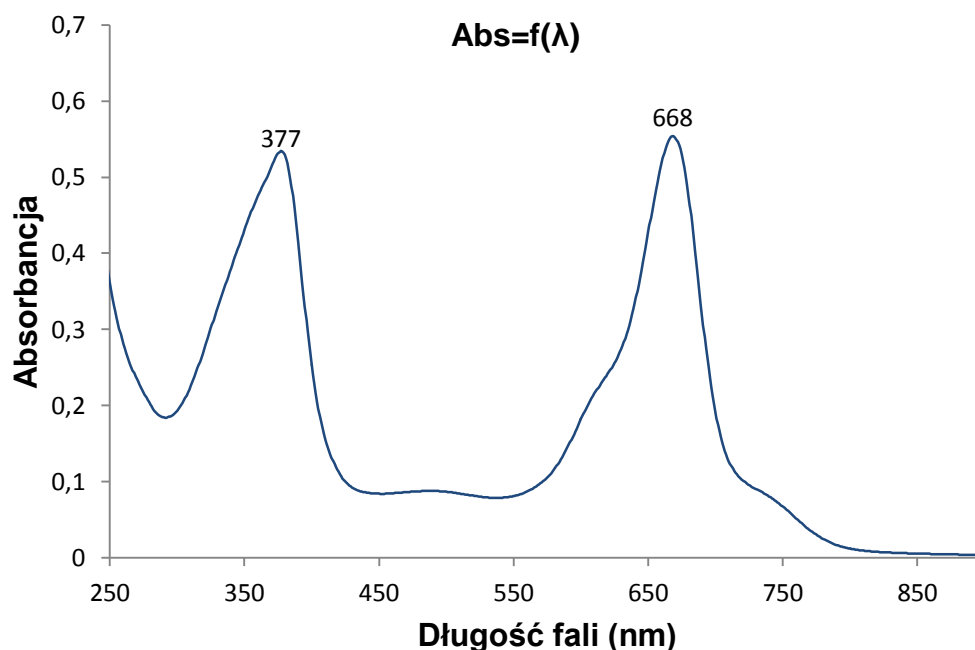
W kolejnym etapie oceniono reaktywność pochodnej maleonitrylu **23** w makrocyclizacji Linstead. W wyniku reakcji otrzymano symetryczną, magnezową porfirazynę posiadającą peryferyjne podstawniki 4-bromobenzylsulfanylowe **24** (Schemat 15) [2].



Schemat 15. Reagenty i warunki reakcji: (i) $\text{Mg}(\text{On-C}_4\text{H}_9)_2$, $n\text{-C}_4\text{H}_9\text{OH}$, t. wrzenia, 22 godz.

Otrzymany makrocykl **24** scharakteryzowano z wykorzystaniem spektrometrii mas, spektroskopii UV–Vis oraz jedno- i dwuwymiarowych technik NMR.

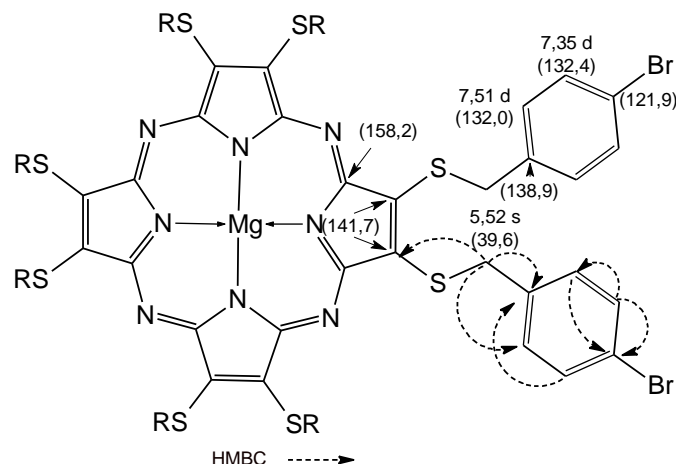
W przebiegu widma UV–Vis porfirazyny **24** w dichlorometanie stwierdzono pasma Soreta i Q, wykazujące maksimum absorpcji odpowiednio przy 377 i 668 nm. Ok. 470 nm pojawiło się mało intensywne pasmo absorpcji typu $n \rightarrow \pi^*$, świadczące o właściwościach elektrodonorowych atomów siarki do pierścienia makrocyklicznego (**Wykres 8**).



Wykres 8. Widmo UV–Vis porfirazyny **24** w dichlorometanie.

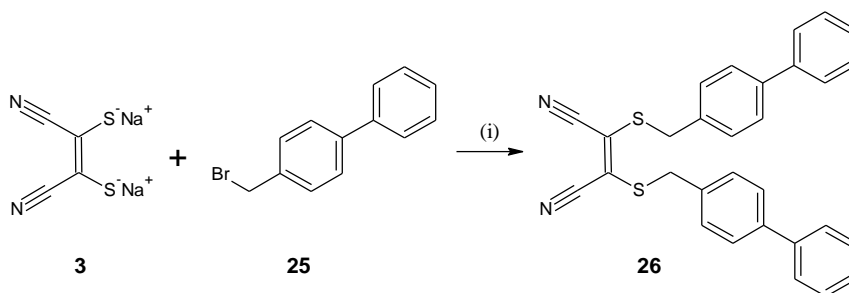
W widmie ^1H NMR związku **24** zaobserwowano dwa dublety o $\delta = 7,35$ oraz $7,51$ ppm, pochodzące od protonów grupy 4-bromobenzylsulfanylowej. Ponadto sygnał protonów grupy metylenowej pojawił się przy $5,52$ ppm. W widmie ^{13}C NMR związku **24** odnotowano

sygnały pochodzące od atomów węgla pierścienia makrocykla przy 141,7 oraz 158,2 ppm. Odnotowano także sygnały pierścienia 4-bromobenzylowego przy 121,9; 132,0; 132,4; 138,9 ppm oraz sygnały atomów węgla grupy metylenowej przy 39,6 ppm (**Rys. 30**).



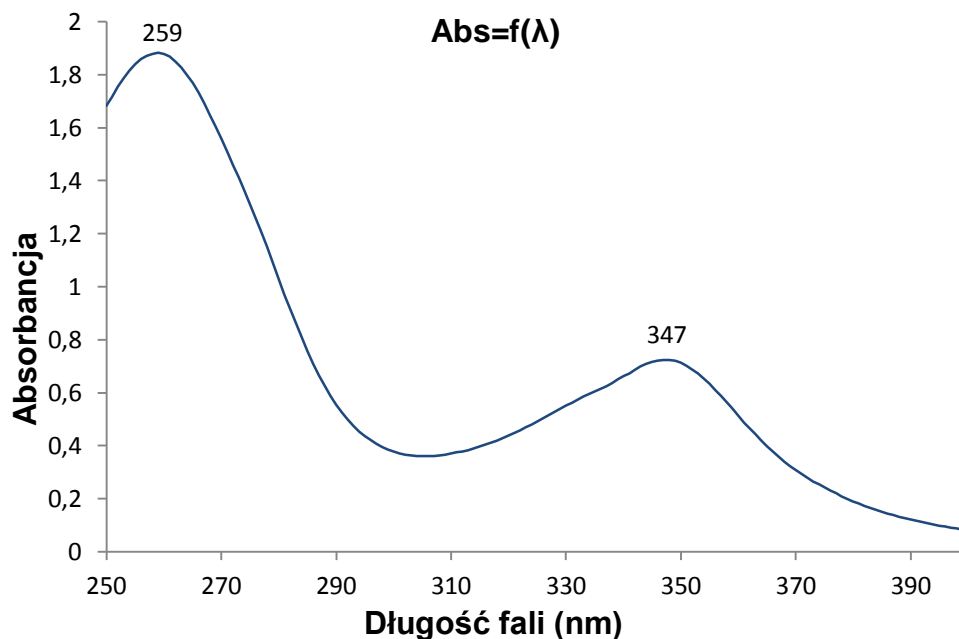
Rys. 30. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **24** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm.

Następnie reakcja alkilowania soli disodowej dimerkaptomaleonitrylu z użyciem **25**, umożliwiła otrzymanie pochodnej dimerkaptomaleonitrylu posiadającej ugrupowania 4-bifenylometylowe **26** (**Schemat 16**). Proces prowadzono w metanolu, w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika.



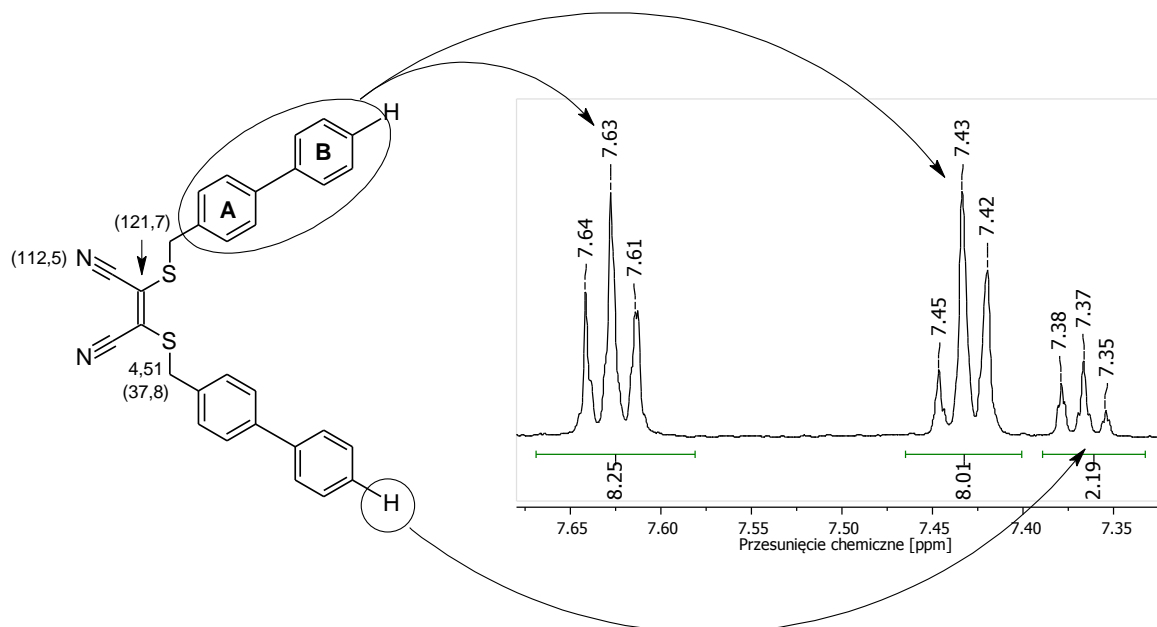
Schemat 16. Reagenty i warunki reakcji: (i) CH_3OH , t. wrzenia, 4 godz.

W przebiegu widma UV–Vis związku **26** występują dwa elektronowe pasma absorpcji. Intensywnie wykształcone pasmo z maksimum przy 259 nm, jest wynikiem absorpcji promieniowania przez fragment cząsteczki z podstawnikiem 4-bifenylometylowym. Odnotowano także mniej intensywne pasmo z maksimum przy 347 nm będące skutkiem absorpcji przez ugrupowanie maleonitrylowe (**Wykres 9**).



Wykres 9. Widmo UV–Vis pochodnej maleonitrylu **26** w dichlorometanie.

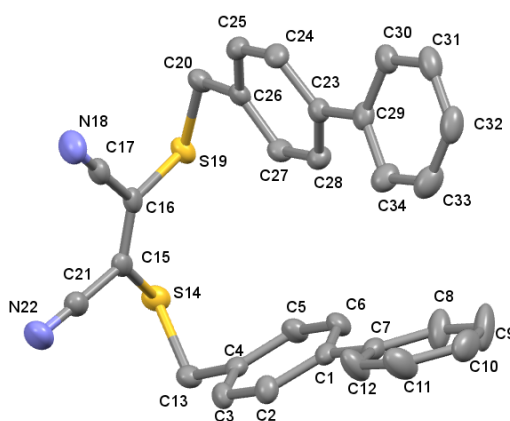
W widmie ^1H NMR pochodnej maleonitrylu **26** zaobserwowano pasma dwóch trypletów, przy 7,63 ppm oraz przy 7,43 ppm, pochodzące od protonów grup 4-bifenylilometrylowych (**Rys. 31**).



Rys. 31. Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **26** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Fragment widma ^1H NMR pochodnej maleonitrylu **26**.

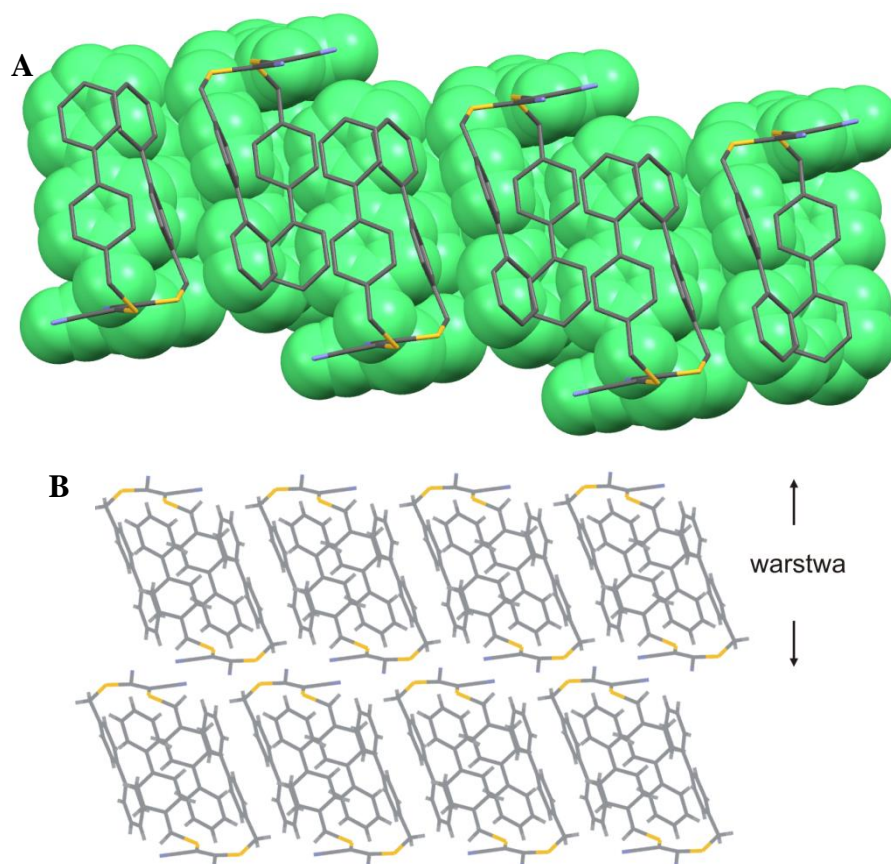
Tryplet o przesunięciu chemicznym 7,37 ppm odpowiada protonom w pozycji C4' pierścienia B. Widoczny jest również sygnał przy 4,51 ppm pochodzący od protonów grupy metylenowej. W widmie ^{13}C NMR pochodnej maleonitrylu **26** odnotowano sygnał atomów węgla grupy metylenowej przy 37,8 ppm. Ponadto obecne są sygnały atomów węgla grup cyjanowych przy 112,5 ppm oraz grupy etenowej przy 121,7 ppm. Zaobserwowano także osiem sygnałów pochodzących od atomów węgla grupy 4-bifenylilowej przy 125,5; 126,9; 127,6; 128,9; 129,5; 134,7; 139,3 oraz 139,6 ppm.

Próby krystalizacji związku **26** zostały przeprowadzone z szeregu rozpuszczalników. Monokryształ odpowiedni do badań metodą dyfrakcji promieni rentgenowskich otrzymano z mieszaniny: dichlorometan i metanol (1:1, v/v). Związek **26** krystalizuje w układzie jednoskośnym, w grupie przestrzennej $P2_1/n$. W niezależnej części komórki elementarnej znajduje się jedna cząsteczka **26**. Analiza rentgenostrukturalna wykazała, że oba podstawniki 4-bifenylilometylosulfanylowe znajdują się po tej samej stronie płaszczyzny ugrupowania maleonitrylowego (**Rys. 32**). W kryształach cząsteczki związku **26** powtórzone osią 2_1 tworzą wstęgę, której budowa jest oparta na oddziaływaniach van der Waalsa (**Rys. 33 A**). Agregacja wstęg prowadzi do powstania warstwy o hydrofobowym wnętrzu zbudowanej z reszt 4-bifenylilometylosulfanylowych. Spolaryzowane fragmenty dicyjanoetenowe znajdują się na powierzchniach warstwy (**Rys. 33 B**).



Rys. 32. Struktura cząsteczki związku **26** przedstawiająca numerację atomów.

Dla przejrzystości rysunku pominięto atomy wodoru.



Rys. 33. Supramolekularna organizacja cząsteczek związku **26** w sieci krystalicznej:
(A) budowa wstęgi. Kolorem zielonym oznaczono promienie van der Waalsa atomów;
(B) struktura warstwowa, rzut wzdłuż kierunku wstęgi.

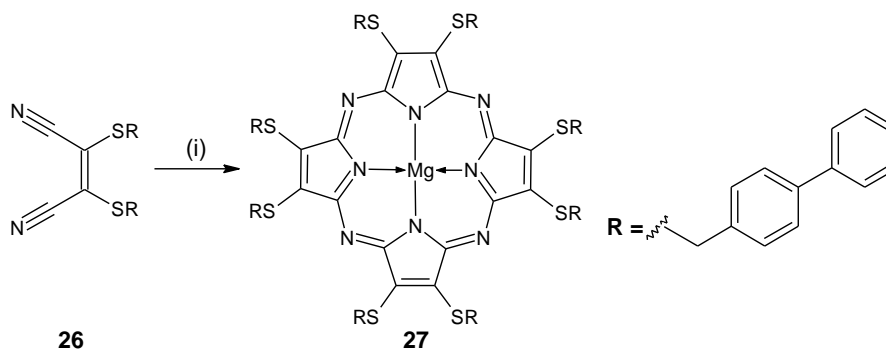
Tabela 5. Dane krystalograficzne związku **26**.

| | |
|--|--|
| Wzór sumaryczny | $C_{30}H_{22}N_2S_2$ |
| Masa cząsteczkowa (u) | 474,61 |
| Układ krystalograficzny | Jednoskośny |
| Grupa przestrzenna | $P2_1/n$ |
| Parametry komórki elementarnej a, b, c (Å) oraz β (°) | 14,7200 (7); 10,5650 (5); 16,0640 (7) 103,301 (4) |
| V (Å ³) | 2431,2 (2) |
| Z – liczba cząsteczek w komórce elementarnej | 4 |
| Współczynnik absorpcji μ (mm ⁻¹) | 0,24 |

Tabela 6. Dane pomiaru dyfraktometrycznego oraz parametry dotyczące jakości rozwiązania struktury związku **26**.

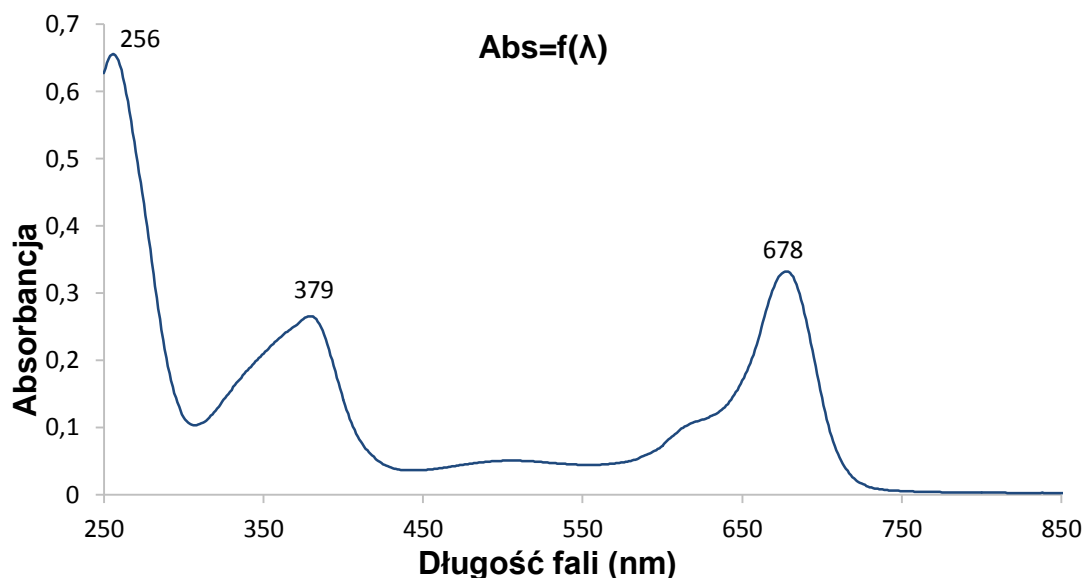
| | |
|---|--------------------|
| Wymiary kryształu (mm) | 0,8 × 0,4 × 0,1 |
| Temperatura pomiaru (K) | 130 |
| Typ promieniowania | Mo K α |
| Dyfraktometr | Xcalibur, Eos |
| Korekcja absorpcji | Multi-scan [89] |
| T_{\min} , T_{\max} | 0,933; 1,000 |
| Liczba zmierzonych, niezależnych i obserwowanych refleksów [$I > 2\sigma(I)$] | 15693, 4618, 3783 |
| $R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$, $wR(F^2)$, S | 0,038; 0,097; 1,04 |
| Liczba udokładnianych parametrów | 307 |
| Liczba nałożonych więzów | 0 |
| $\Delta\rho_{\max}$, $\Delta\rho_{\min}$ (e \AA^{-3}) | 0,26 –0,30 |

Następny etap badań dotyczył oceny reaktywności pochodnej maleonitrylu **26** w reakcji makrocyklizacji Linstead. Reakcja była prowadzona w *n*-butanolu z użyciem *n*-butanolanu magnezu jako zasady i katalitycznych ilości jodu, w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godziny (**Schemat 17**). Otrzymano makrocykl **27**, który poddano charakterystyce fizykochemicznej.

**Schemat 17.** Reagenty i warunki reakcji: (i) Mg(On-C₄H₉)₂, *n*-C₄H₉OH, t. wrzenia, 24 godz.

W przebiegu widma UV–Vis makrocykla **27** zaobserwowano cztery pasma absorpcji (**Wykres 10**). Przy 379 nm zauważono maksimum dobrze wykształconego pasma Soreta. Obserwowano także pasmo absorpcji typu $n \rightarrow \pi^*$ z maksimum przy 506 nm, które jest wynikiem właściwości donorowych peryferyjnych atomów siarki do pierścienia

aromatycznego porfirazyny. Przy 678 nm pojawiło się dobrze wykształcone i ostre pasmo Q odpowiadające przejściom $\pi \rightarrow \pi^*$, z zaznaczonym ramieniem wstępującym przy 611 nm, które świadczy o wysokim stopniu symetrii związku. Dodatkowo zaobserwowano bardzo intensywne pasmo absorpcji o $\lambda_{\max} = 256$ nm, odpowiadające absorpcji peryferyjnej grupy 4-bifenylilometylosulfanylowej.

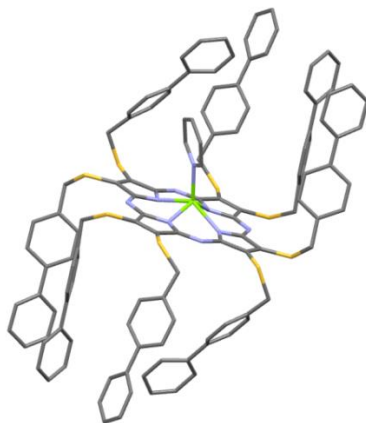


Wykres 10. Widmo UV-Vis porfirazyny **27** w dichlorometanie.

W widmie ^1H NMR porfirazyny **27** odnotowano jeden wyraźny sygnał alifatycznego protonu grupy metylenowej przy 5,69 ppm. W obszarze widma charakterystycznym dla występowania sygnałów pochodzących od protonów aromatycznych, zaobserwowano pięć sygnałów związanych z obecnością grupy 4-bifenylilometylosulfanylowej. Odnotowano trzy dublety przy 7,80 ppm, 7,51 ppm oraz 7,47 ppm. Ponadto zaobserwowano dwa tryplety przy 7,32 oraz 7,28 ppm. W widmie ^{13}C NMR widoczny jest wyraźny sygnał przy 40,3 ppm pochodzący od atomów węgla grupy metylenowej oraz dziesięć sygnałów potwierdzających obecność podstawnika 4-bifenylilometylosulfanylowego oraz pierścienia tetrapirolowego przy 127,6; 128,0; 128,1; 129,7; 130,8; 138,8; 140,7; 141,2; 141,9 i 158,5 ppm.

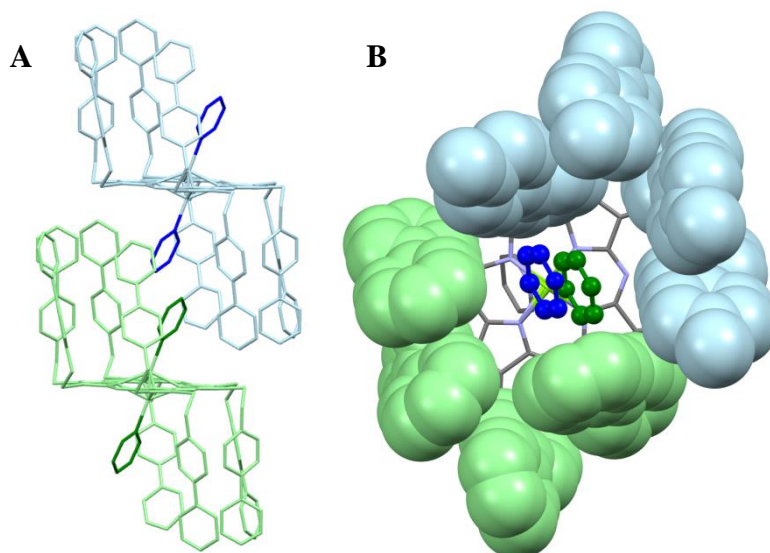
W przypadku związku **27** próby krystalizacji metodą powolnego odparowywania rozpuszczalnika z roztworu pirydyny pozwoliły na otrzymanie monokryształu. Analiza rentgenostrukturalna wykazała, że związek krystalizuje w układzie trójskośnym, w grupie przestrzennej $P\bar{1}$. W niezależnej części komórki elementarnej znajduje się połowa cząsteczki porfirazyny oraz kation magnezu i skoordynowana z nim cząsteczka pirydyny, które są nieuporządkowane względem centrum symetrii, stąd ich czynnik obsadzenia wynosi 0,5. Kation magnezu jest wychylony z płaszczyzny pierścienia porfirazyny o 0,84 Å

(Rys. 34). Cząsteczka porfirazyny posiada osiem podstawników 4-bifenylilometylosulfanylowych. Ponieważ środek rdzenia porfirynoidowego leży na centrum symetrii cztery z podstawników znajdują się po jednej stronie płaszczyzny układu tetrapirolowego, a cztery po drugiej stronie.



Rys. 34. Struktura cząsteczki porfirazyny **27**. Dla przejrzystości rysunku pominięto atomy wodoru.

W sieci krystalicznej związku **27**, cząsteczki pirydyny są zamknięte w przestrzeni otoczonej przez reszty 4-bifenylilometylosulfanylowe dwóch sąsiednich cząsteczek porfirazyny oraz pierścienie makrocykla (**Rys. 35**).



Rys. 35. Ułożenie przestrzenne dwóch cząsteczek porfirazyny **27** w kryształach. (A) rzut z boku, dwie cząsteczki porfirazyny **27** oznaczono różnymi kolorami; (B) rzut z góry, atomy podstawników 4-bifenylilometylosulfanylowych zostały otoczone promieniami van der Waalsa.

Tabela 7. Dane krystalograficzne porfirazyny **27**.

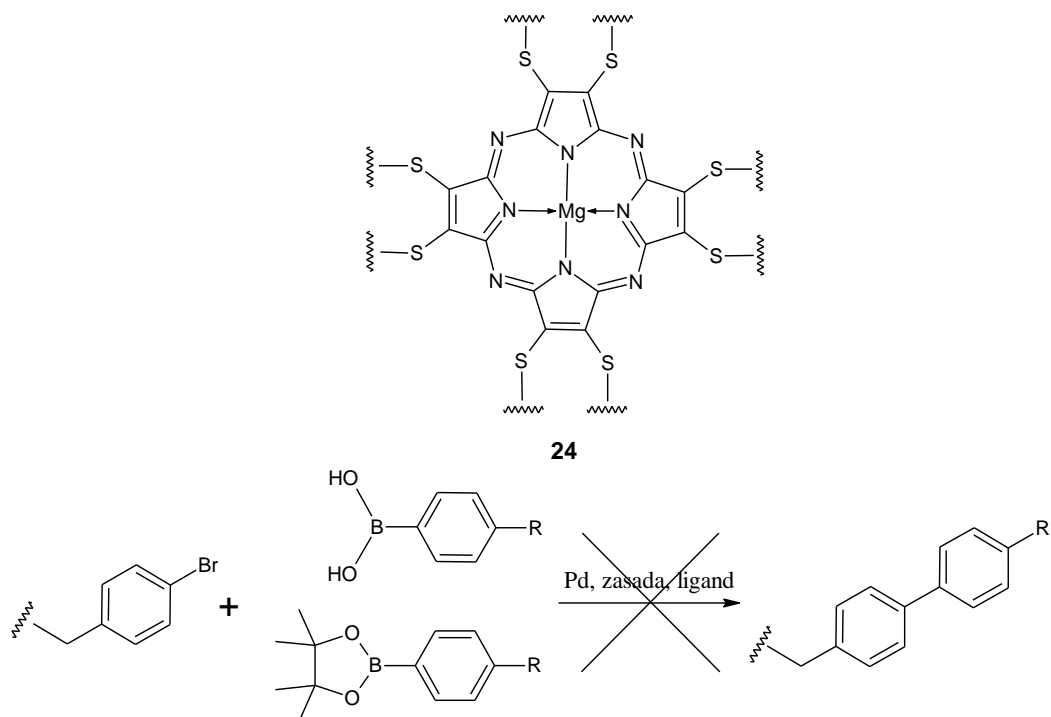
| | |
|--|--|
| Wzór sumaryczny | $C_{120}H_{88}N_8S_8Mg \cdot 1,68(C_5H_5N) \cdot 0,66(H_2O)$ |
| Masa cząsteczkowa (u) | 2067,55 |
| Układ krystalograficzny | Trójskośny |
| Grupa przestrzenna | $P\bar{1}$ |
| Parametry komórki elementarnej a, b, c (Å) | 12,4455 (3); 14,1500 (3); 16,6838 (5) |
| α, β, γ (°) | 106,259 (2); 104,706 (2); 98,808 (2) |
| V (Å ³) | 2647,46 (12) |
| Z – liczba cząsteczek w komórce elementarnej | 1 |
| Współczynnik absorpcji μ (mm ⁻¹) | 2,07 |

Tabela 8. Dane pomiaru dyfraktometrycznego oraz parametry dotyczące jakości rozwiązania struktury porfirazyny **27**.

| | |
|---|--------------------|
| Wymiary kryształu (mm) | 0,30 × 0,30 × 0,20 |
| Temperatura pomiaru (K) | 130 |
| Typ promieniowania | Cu $K\alpha$ |
| Dyfraktometr | SuperNova |
| Korekcja absorpcji | Multi-scan [89] |
| T_{min}, T_{max} | 0,570; 1,000 |
| Liczba zmierzonych, niezależnych i obserwowanych refleksów [$I > 2\sigma(I)$] | 28640, 9654, 8643 |
| $R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$ | 0,096; 0,265; 1,04 |
| Liczba udokładnianych parametrów | 648 |
| Liczba nałożonych więzów | 102 |
| $\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³) | 0,91 – 0,93 |

IV.3.2. Wyjaśnienie braku reaktywności związków posiadających ugrupowanie 4-bromobenzylsulfanylowe w reakcjach sprzężenia

W kolejnym etapie badań postanowiono uzyskać porfirazyny 4-bifenylilometylosulfanylowe z różnymi terminalnymi grupami funkcyjnymi. W tym celu przeprowadzono szereg prób z wykorzystaniem reakcji sprzężenia Suzuki–Miyaura. Reakcją Suzuki lub reakcją sprzężenia Suzuki–Miyaura nazwane jest sprzężenie winylowych lub arylowych kompleksów boru, z triflatami lub halogenkami organicznymi w obecności katalizatora palladowego. Jest to jeden ze sposobów wprowadzania pierścieni fenylovych do cząsteczki związku [90,91]. W celu rozbudowy cząsteczki porfirazyny siarkowej o funkcjonalizowane ugrupowanie bifenylilometylowe, podjęto próby przeprowadzenia reakcji Suzuki stosując różne rodzaje katalizatorów palladowych, zasad oraz rozpuszczalników i temperatury jak podano w **Tab. 9 (Schemat 18)**.



Schemat 18. Schemat reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem porfirazyny **24** jako substratu.

Tabela 9. Warunki reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem porfirazyny **24** jako substratu.

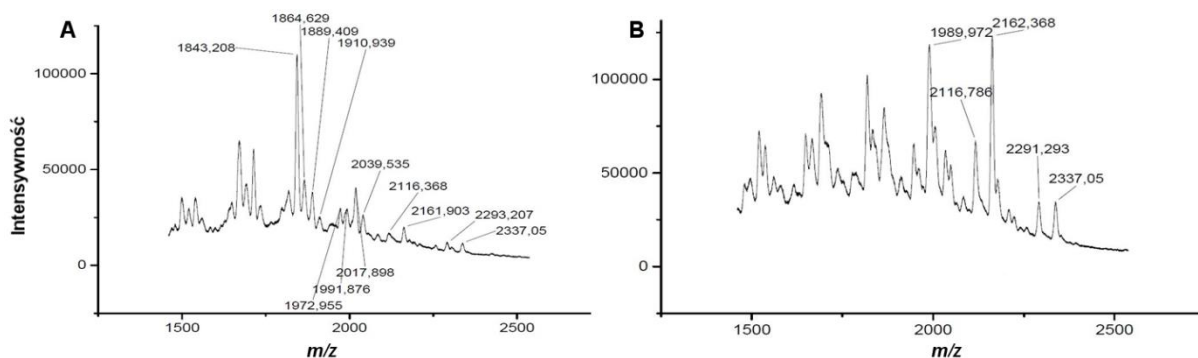
| Nr | Katalizator / Ligand | Substrat | Zasada | Rozp. | Temp. (°C) | Czas (godz.) |
|----|--|--|---------------------------------|------------------------------|------------|--------------|
| 1 | Pd(dba) ₂ / P(Cy) ₃ | Kwas fenyloboronowy | Cs ₂ CO ₃ | Dioksan | 100 | 20 |
| 2 | Pd(OAc) ₂ | Kwas fenyloboronowy | Na ₂ CO ₃ | DMF/H ₂ O | 25 | 18 |
| 3 | Pd(OAc) ₂ / P(Ph ₃) ₃ | Kwas fenyloboronowy | K ₂ CO ₃ | DMF | 80 | 19 |
| 4 | Pd(Ph ₃) ₄ | Kwas fenyloboronowy | K ₂ CO ₃ | DME/DMF/ H ₂ O | 80 | 19 |
| 5 | Pd(Ph ₃) ₄ | Kwas fenyloboronowy | K ₂ CO ₃ | DMF/H ₂ O | 90 | 2 |
| 6 | PdCl ₂ /dppf | Bis(pinakolo)diboran | K ₃ PO ₄ | DMSO | 100 | 22 |
| 7 | Pd(dba) ₂ / P(Cy) ₃ | Ester pinakolinowy kwasu 4-nitrofenyloboronowego | Cs ₂ CO ₃ | Dioksan | 100 | 4 |
| 8 | Pd(dba) ₂ / P(Cy) ₃ | Ester pinakolinowy kwasu 4-nitrofenyloboronowego | Cs ₂ CO ₃ | Dioksan | 100 | 23 |
| 9 | Pd(PPh ₃) ₄ | Ester pinakolinowy kwasu 4-nitrofenyloboronowego | Cs ₂ CO ₃ | Dioksan | 100 | 19 |
| 10 | Pd(dba) ₂ / P(Cy) ₃ | Ester pinakolinowy kwasu 4-metoksyfenyloboronowego | Cs ₂ CO ₃ | Dioksan | 100 | 24 |
| 11 | Pd(dba) ₂ / P(Cy) ₃ | Ester pinakolinowy kwasu 4-hydroksyfenyloboronowego | Cs ₂ CO ₃ | Dioksan | 100 | 22 |
| 12 | Pd(dba) ₂ / P(Cy) ₃ | Ester pinakolinowy kwasu fenyloboronowego | Cs ₂ CO ₃ | Dioksan | 100 | 21 |
| 13 | Pd(dba) ₂ / P(Cy) ₃ | Kw. 4-fluoroboronowy | Cs ₂ CO ₃ | Dioksan | 100 | 21 |
| 14 | Pd(dba) ₂ / P(Ph) ₃ | Styren | K ₂ CO ₃ | Styren | 100 | 22 |

Skróty: **Pd(dba)₂** = bis(dibenzylidenoacetone)pallad(0); **P(Cy)₃** = tricykloheksylofosfina;

dppf = 1,1'-bis(difenylofosfino)ferrocen; **DMSO** = dimetylosulfotlenek; **P(Ph)₃** = trifenylfosfina; **Pd(PPh₃)₄** = tetrakis(trifenylfosfino)pallad(0). Nr 6 na podstawie [92].

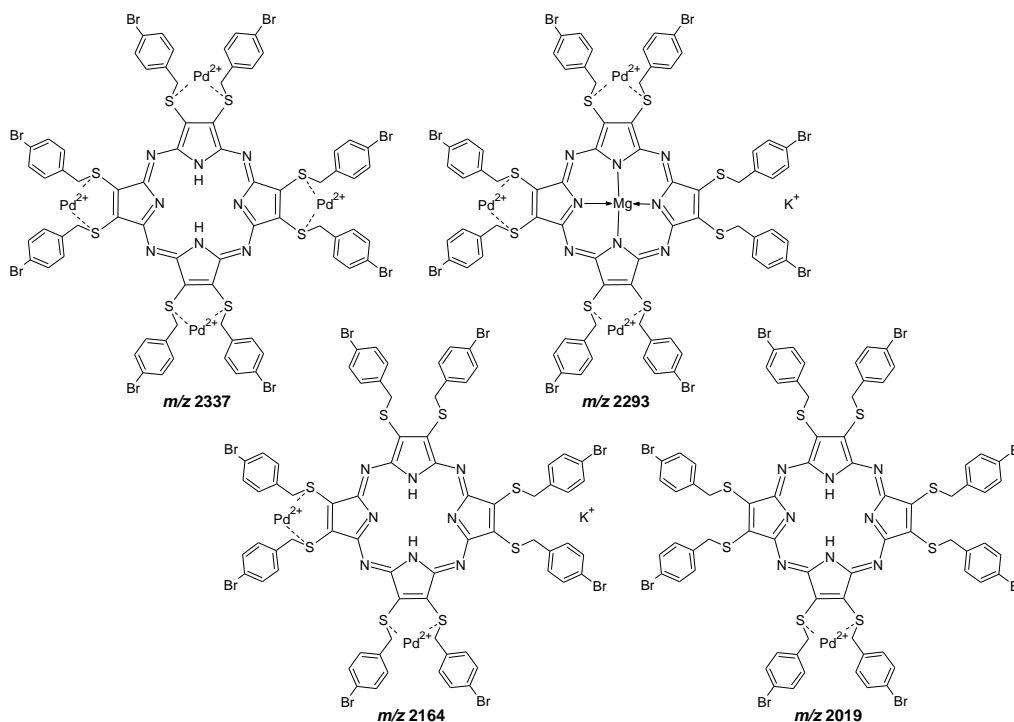
Następnie z mieszanin poreakcyjnych metodami chromatograficznymi wyizolowano związki makrocykliczne. Przeprowadzona analiza widm spektrometrii mas nie wykazała obecności spodziewanych produktów reakcji, niezależnie od zastosowanych odczynników i warunków. Należy podkreślić, że pomimo nieuzyskania spodziewanych makrocykli, analiza

widm spektrometrii mas potwierdziła powstanie kompleksów makrocykla z katalizatorem (**Rys. 36**).



Rys. 36. Widma MS MALDI produktów sprzęgania porfirazyny **24** z: (A) estrem pinakolinowym kwasu 4-nitrofenyloboronowego i Pd(dba)₂; (B) estrem pinakolinowym kwasu fenylboronowego i Pd(dba)₂. Pd(dba)₂ = bis(dibenzylidenoaceton)pallad(0).

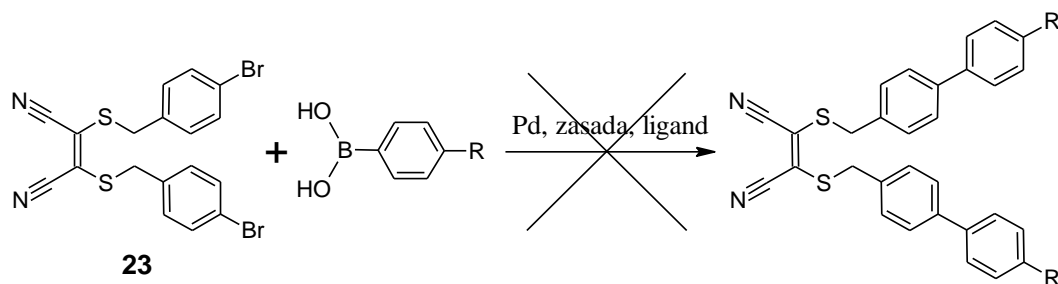
Jak przedstawiono na **Rys. 37**, na podstawie wartości sygnałów *m/z* założono, że produkty powstające w reakcjach sprzęgania stanowią koordynacyjne połączenia cząsteczki porfirazyny **24** ze związkami palladu. Obserwowany sposób kompleksowania może wynikać z obecności peryferyjnych atomów siarki w cząsteczce związku **24**, które wydają się koordynować obecne w mieszaninie reakcyjnej związku palladu.



Rys. 37. Proponowane struktury kompleksów porfirazyny **24** z jonami palladu na podstawie widm MS MALDI.

Tworzenie się trwałego kompleksu makrocykla **24** z katalizatorem blokuje cykl katalityczny reakcji Suzuki–Miyaura. Otrzymane wyniki wskazują, że sulfanylowe porfirazyny nie są odpowiednimi substratami dla reakcji sprzężenia typu Suzuki i Hecka.

W wyniku prób reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem porfirazyny **24** nie otrzymano spodziewanych produktów. W związku z tym podjęto próby reakcji sprzężenia stosując jako substrat pochodną maleonitrylu **23** (Schemat 19, Tab. 10).



Schemat 19. Schemat reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem pochodnej maleonitrylu **23** jako substratu.

Tabela 10. Warunki reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem pochodnej maleonitrylu **23** jako substratu. Nr 5 – 9 zaadaptowano na podstawie [93].

| Nr | Katalizator /Ligand | Substrat | Zasada | Rozp. | Temp. (°C) | Czas (godz.) |
|----|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------|--------------|
| 1 | Pd(OAc) ₂ | Kwas 4-metoksyfenylboronowy | Na ₂ CO ₃ | DMF/H ₂ O | 35 | 2,5 |
| 2 | Pd(OAc) ₂ | Kwas 4-metoksyfenylboronowy | Na ₂ CO ₃ | DMF/H ₂ O | 80 | 0,5 |
| 3 | Pd(Ph ₃) ₄ | Kwas 4-metoksyfenylboronowy | K ₂ CO ₃ | DMF/H ₂ O | 80 | 22 |
| 4 | Pd(OAc) ₂ | Kwas fenylboronowy | Na ₂ CO ₃ | DMF/H ₂ O | 78 | 1 |
| 5 | Pd(OAc) ₂ | Kwas fenylboronowy | K ₂ CO ₃ | Aceton/H ₂ O | Pokojowa | 22 |
| 6 | PdCl ₂ | Kwas fenylboronowy | K ₂ CO ₃ | Aceton/H ₂ O | Pokojowa | 1,5 |
| 7 | PdCl ₂ | Kwas fenylboronowy | Trietyloamina | Aceton/H ₂ O | Pokojowa | 3 |
| 8 | PdCl ₂ | Kwas fenylboronowy | DBU | Aceton/H ₂ O | Pokojowa | 23 |
| 9 | PdCl ₂ | Kwas fenylboronowy | NaOH | Aceton/H ₂ O | Pokojowa | - |

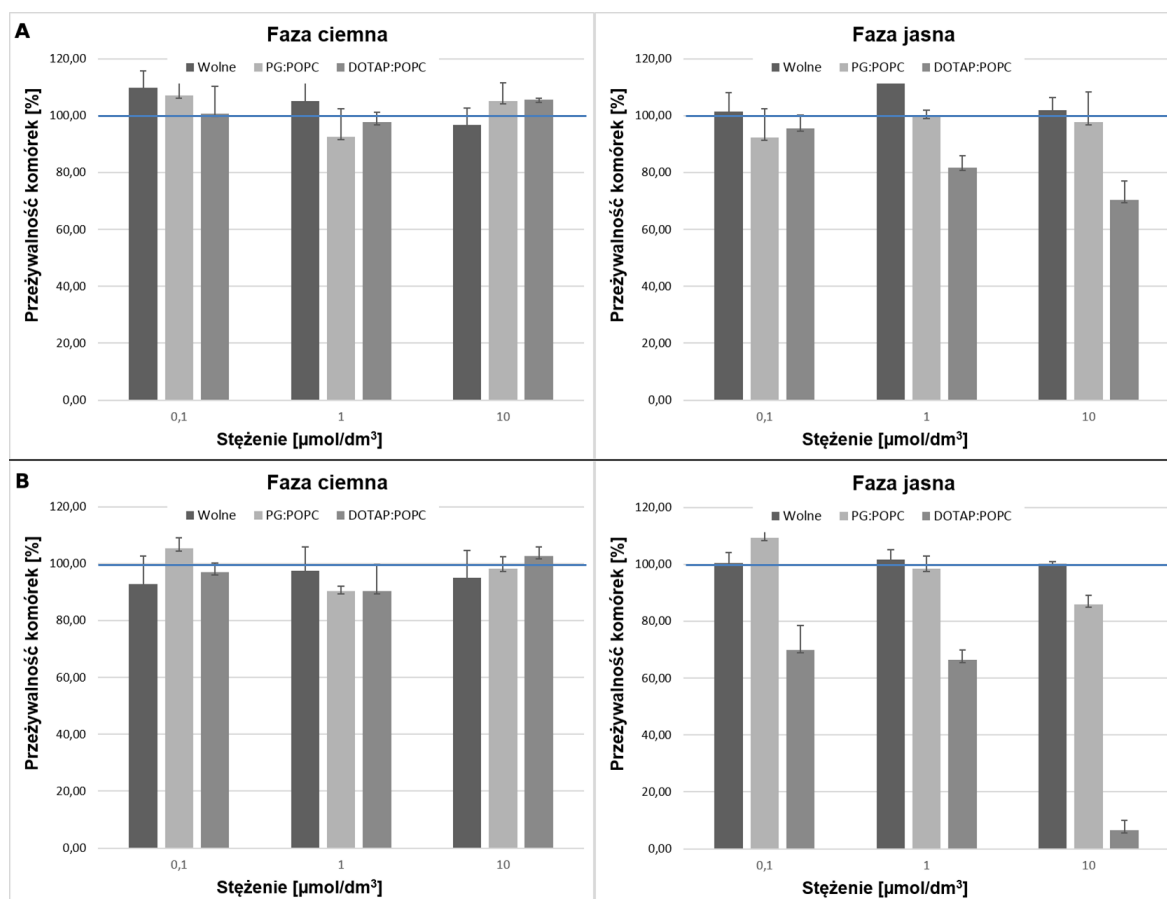
Zaprezentowane w **Tabeli 10** warunki reakcji sprzęgania Suzuki-Miyaura nie doprowadziły do uzyskania spodziewanych produktów. W odniesieniu do prób 1 – 8, analiza widm spektrometrii mas pozwoliła wnioskować, że wieloetapowa reakcja sprzęgania zatrzymywała się na etapie pośrednim, co mogło być spowodowane zastosowaniem mało reaktywnej zasady. Z tego względu w próbie nr 9 zastosowano NaOH, które okazało się zbyt silną zasadą przyczyniając się do rozpadu substratu.

Analogicznie jak to miało miejsce w odniesieniu do porfirazyny **24**, także w przypadku sulfanylowych pochodnych maleonitrylu **23** może następować koordynowanie katalizatora palladowego. W tym przypadku rolę ligandów spełniają grupy cyjanowe lub atomy siarki maleonitrylu. Dodatkowo maleonitryle w środowisku zasadowym i w podwyższonej temperaturze wykazują tendencję do makrocyklizacji, co jeszcze bardziej ogranicza możliwość ich zastosowania w tego typu reakcjach.

IV.3.3. Aktywność fotodynamiczna *in vitro*

Porfirazyny **24** oraz **27** zostały poddane badaniom aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*, z wykorzystaniem linii komórkowych CAL 27 i HSC-3 ludzkiego raka koleczystokomórkowego wywodzących się z języka oraz komórek linii HeLa wywodzącej się z raka szyjki macicy. Makrocykle zostały zbadane w formie wolnej oraz po wbudowaniu w liposomy. Przygotowano dwa rodzaje liposomów metodą uwodnienia cienkiego filmu: naładowane ujemnie złożone z PG:POPC oraz naładowane dodatnio złożone z DOTAP:POPC:Chol. Liposomy ekstrudowano przez błony poliwęglanowe w celu ujednoczenia wymiarów. Średnie wymiary liposomów zawierających **24** były zawarte w przedziale od 0,23 do 0,24 μm , natomiast **27** od 0,29 do 0,30 μm .

Badane fotouczulacze najwyższą aktywność fotodynamiczną wykazały w fazie jasnej w formie liposomów DOTAP:POPC, względem linii HSC-3. Oba związki w fazie ciemnej w zakresie badanych stężeń nie posiadały istotnej aktywności. Porfirazyna **27** wykazała umiarkowaną aktywność tylko w formie liposomów DOTAP:POPC, gdzie w stężeniu 10 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ spowodowała spadek przeżywalności komórek o ok. 30% (**Rys. 38 A**). Natomiast porfirazyna **24** wykazała w tym samym stężeniu i formulacji znakomitą aktywność i spadek przeżywalności komórek o ok. 95% (**Rys. 38 B**). Związek **24** już w stężeniu 0,1 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ wykazał wyraźne zmniejszenie (o 30%) przeżywalności komórek nowotworowych.



Rys. 38. Aktywność fotodynamiczna *in vitro* porfirazyn **27** (A) oraz **24** (B) w postaci wolnej, liposomów PG:POPC oraz DOTAP:POPC w stężeniach 0,1; 1 oraz 10 $\mu\text{mol/dm}^3$ wobec komórek linii HSC-3.

Badania aktywności fotodynamicznej *in vitro* zostały wykonane we współpracy z dr. J. Piskorzem z Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu oraz prof. N. Düzgüneşem i prof. K. Konopką z University of Pacific w San Francisco

V. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

W części literaturowej pracy dokonano przeglądu piśmiennictwa na temat porfirynoidów zawierających atomy siarki, ich właściwości fizykochemicznych oraz potencjalnego wykorzystania w medycynie, technice i przemyśle.

W części eksperymentalnej przeprowadzono syntezę porfirazyn posiadających peryferyjne ugrupowania sulfanylowe, a także określono strukturę oraz właściwości fizykochemiczne otrzymanych związków. W odniesieniu do wybranych związków oceniono właściwości fotochemiczne, elektrochemiczne oraz aktywność fotodynamiczną ukierunkowaną względem komórek nowotworowych. Istotne wyniki przeprowadzonych badań są następujące.

1. Zoptymalizowano syntezę porfirazyny magnezowej **5** z peryferyjnymi ugrupowaniami 4-nitroimidazolilobutylosulfanylowymi. Opracowano warunki oraz przeprowadzono syntezę porfirazyn modyfikowanych w centrum koordynacyjnym jonami manganu(II) **6** oraz bezmetalicznej **7**. Wykazano, że modyfikacja szklistej elektrody węglowej przez zaadsorbowanie cienkiej warstwy porfirazyny manganu(II) **6**, prowadzi do poprawy wydajności elektrodukcji tlenu.
2. Oceniono zdolność generowania tlenu singletowego porfirazyny magnezu(II) **5** z peryferyjnymi ugrupowaniami 4-nitroimidazolilobutylosulfanylowymi, wykorzystując reakcję fotooksydacji 1,3-difenyloizobenzofuranu (DPBF) i ftalocyjaninę cynkową jako związek referencyjny. Wydajności kwantowe generowania tlenu singletowego związku **5** w dimetyloformamidzie oraz dimetylosulfotlenku, wynosiły odpowiednio: $\Phi_{\Delta\text{DMF}} = 0,045$; $\Phi_{\Delta\text{DMSO}} = 0,035$.
3. Aktywność przeciwnowotworową **5** oceniono *in vitro* na dwóch ludzkich liniach komórkowych raka prostaty PC3, LNCaP oraz linii komórkowej ludzkiego czerniaka MeWo. Przeżywalność komórek określono za pomocą testu MTT. Najbardziej wrażliwe okazały się komórki linii PC3, których przeżywalność spadła o 30–40%.
4. Opracowano syntezę i scharakteryzowano porfirazyny siarkowe posiadające peryferyjne rozgałęzione ugrupowania aryloksylowe **11** – **14** oraz **21**. Pochodne porfirazyn **11** – **14** posiadały peryferyjne grupy izoftaloksybutylosulfanylowe, a w rdzeniu kationy Mg(II) **11**, Zn(II) **13**, Co(II) **14**. Natomiast porfirazyna **12** była makrocyklem bezmetalicznym. Ponadto zsyntetyzowano pochodną porfirazynową z rozbudowanym dendrymerycznym ugrupowaniem peryferyjnym pierwszej generacji **21**.

5. Opracowano formulację liposomalną porfirazyny **11**, którą poddano ocenie fotocytotoksyczności względem komórek LNCaP. Wyniki badań biologicznych wykonane zarówno w fazie ciemnej, jak i jasnej świadczyły o braku toksyczności otrzymanego związku.
6. Porfirazyna kobaltowa(II) z peryferyjnymi grupami izoftaloksybutylosulfanylowymi **14**, została poddana badaniom elektrochemicznym przy użyciu woltamperometrii cyklicznej oraz różnicowej woltamperometrii pulsowej. W badaniach wykorzystano elektrodę z węgla szklatego zmodyfikowaną przez zaadsorbowanie cienkiej warstwy wielościennych nanorurek węglowych oraz porfirazyny **14**. Pomiar wykazały, że związek **14** ulega czterem jednoelektronowym procesom utleniania – redukcji. Uzyskane wyniki sugerują, że makrocykl **14**, ze względu na występowanie dodatkowych procesów utleniania-redukcji spowodowanych obecnością aktywnego jonu centralnego, może znaleźć potencjalne zastosowanie jako katalizator przeniesienia ładunku w reakcjach utleniania – redukcji.
7. Opracowano syntezę i scharakteryzowano magnezowe porfirazyny posiadające peryferyjne ugrupowania 4-bromobenzylsulfanylowe **24** oraz 4-bifenylilometrylosulfanylowe **27**. Podjęto próby rozbudowy podstawnika 4-bromobenzylsulfanylowego makrocykla **24** w reakcjach Suzuki i Hecka, stosując różne warunki reakcji: katalizatory palladowe, zasady oraz temperaturę. Wyniki uzyskane podczas przeprowadzonych reakcji wskazywały, że peryferyjne atomy siarki obecne w cząsteczce substratu **24** koordynują związki palladu, a powstanie trwałego kompleksu makrocykla z katalizatorem utrudnia zajście reakcji sprzęgania.
8. Porfirazyny **24** oraz **27** poddano badaniom aktywności przeciwnowotworowej *in vitro* z wykorzystaniem linii komórkowych CAL 27 i HSC-3 ludzkiego raka kolczystokomórkowego, wywodzących się z języka oraz komórek linii HeLa pochodzącej z raka szyjki macicy. Makrocykle **24** i **27** zostały ocenione w formie wolnej oraz w postaci liposomalnej. Stwierdzono, że w fazie jasnej najwyższą aktywność fotodynamiczną wykazała formulacja liposomalna podczas badań względem linii HSC-3. Związki **24** i **27** w fazie ciemnej, zarówno w postaci wolnej jak i po wbudowaniu w liposomy, nie posiadały istotnej aktywności w badanym zakresie stężeń. W stężeniu $10 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ porfirazyna **27** wykazała umiarkowaną aktywność w formie liposomów, zmniejszając przeżywalność komórek nowotworowych o ok. 30%. Natomiast porfirazyna **24** w tym samym stężeniu i formulacji, posiadała wysoką aktywność i powodowała spadek przeżywalności komórek HSC-3 o ok. 95%. Związek **24** już w stężeniu $0,1 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$ wykazał wyraźny 30% spadek przeżywalności komórek nowotworowych.

9. Związki **23**, **26** i **27** poddano analizie rentgenostrukturalnej. Związki wykryły w centrosymetrycznych grupach przestrzennych: $P2_1/n$ (związek **23** i **26**) oraz $P\bar{1}$ (związek **27**). Analiza rentgenostrukturalna wykazała, że podstawniki 4-bromobenzylowe w strukturze związku **23**, jak i 4-bifenylilometrylosulfanylowe w **26** przyjmują różne konformacje, lecz znajdują się po tej samej stronie płaszczyzny ugrupowania maleonitrylu. Położenie porfirazyny **27** na centrum symetrii sprawia, że cztery z ośmiu podstawników 4-bifenylilometrylosulfanylowych znajdują się po jednej stronie płaszczyzny układu tetrapirolowego, a cztery po drugiej stronie. Cząsteczki rozpuszczalnika wbudowane w sieć krystaliczną **27** znajdują się w przestrzeniach zamkniętych przez podstawniki peryferyjne oraz pierścienie makrocykla.

VI. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

VI.1. Informacje ogólne

Reakcje chemiczne – do reakcji zastosowano szkło osuszone przez wygrzewanie w piecu w temp. 140 °C. Używano termostowanego mieszadła firmy Radley z systemem nakładek Heat-On – temperatura reakcji odnosi się do temperatury płyty grzejnej mieszadła. Reakcje prowadzono w atmosferze gazu obojętnego – argonu.

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

Chromatografia:

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) – wykonywano techniką wstępującą na płytkach z żelom krzemionkowym F254 typ 60 firmy E. Merck.

Chromatografia preparatywna kolumnowa – wykonano metodą krótkiej kolumny, z zastosowaniem żelu krzemionkowego Kieselgel 60 H (40-60 µm) oraz 60 RP-18 (40-63 µm) firmy E. Merck.

Widma UV–Vis wykreślono na spektrofotometrze Hitachi U–1900.

Widma spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) – wykonano dla:

- związków **23, 24, 26, 27** w Środowiskowym Laboratorium Unikalnej Aparatury Chemicznej Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu z wykorzystaniem aparatu Bruker pracującego przy częstotliwości roboczej 600,20 MHz dla widm ^1H i 150,92 MHz dla widm ^{13}C .
- związków **10 – 13** oraz **19 – 21**, w Centrum Nanobiomedycznym Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu z wykorzystaniem spektrometru Bruker pracującego przy częstotliwości roboczej 799,99 MHz dla widm ^1H i 201,16 MHz dla widm ^{13}C

Widma spektrometrii mas – (ES, MALDI TOF) wykonano w Środowiskowym Laboratorium Unikalnej Aparatury Chemicznej Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu z wykorzystaniem chromatografu Waters Maldi Q-Tof Premiere. Widma wysokorozdzielcze (ESI) wykonano w Europejskim Centrum Bioinformatyki i Genomiki

w Poznaniu oraz w Centrum Zaawansowanych Technologii w Poznaniu z wykorzystaniem aparatu Thermo Q Exactive.

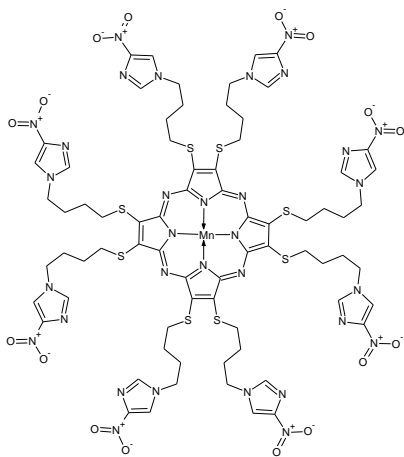
Analizę elementarną – w Środowiskowym Laboratorium Unikalnej Aparatury Chemicznej Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu z wykorzystaniem aparatu Elementar Analyser Vario EL III.

VI.2. Zastosowane odczynniki i rozpuszczalniki

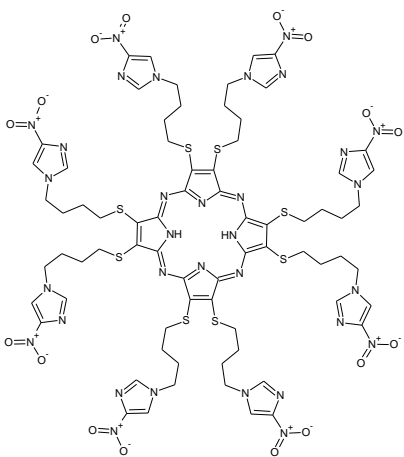
- bromek 4-bromobenzylu (Sigma – Aldrich, Tokyo Chemical Industry)
- 4-bromometylobifenyl (Tokyo Chemical Industry)
- 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU) (Alfa Aesar, Sigma – Aldrich)
- 1,3-difenyloizobenzofuran (DPBF) (Sigma – Aldrich)
- chlorek kobaltu(II) (Tokyo Chemical Industry)
- chlorek manganu(II) (Tokyo Chemical Industry)
- chlorek palladu (Tokyo Chemical Industry)
- dichlorometan (POCH, Chempur)
- ester dimetylowy kwasu 5-(4-bromobutyloksy)izoftalowego (Tokyo Chemical Industry)
- heksan frakcja z nafty (POCH)
- jod (POCH)
- kwas fenyloboronowy (Tokyo Chemical Industry)
- kwas trifluorooctowy (Tokyo Chemical Industry)
- L- α -fosfatydylo-DL glicerol (Avanti Polar Lipids– INstruchemie)
- magnez – wiórki (Sigma - Aldrich)
- metanol (POCH)
- *n*-butanol (Sigma – Aldrich, Tokyo Chemical Industry)
- N,N-dimetyloformamid (Tokyo Chemical Industry)
- octan cynku(II) (POCH)
- octan etylu (Chempur)
- octan palladu(II) (Alfa Aesar)
- siarczan magnezu bezwodny (POCH)
- sól disodowa dimerkaptomaleonitrylu (Alfa Aesar, Tokyo Chemical Industry)
- 1-palmitoilo-2-oleilo-sn-glicero-3-fosfocholina (Avanti Polar Lipids–INstruchemie)

- toluen (Chempur)
- trietyloamina (Sigma – Aldrich)
- węglan potasu (POCH)
- węglan sodu (CHEMPUR)
- wodorotlenek sodu (POCH)
- wielościennie nanorurki węglowe (MWCNT) 6–9 nm/5 μ m (Sigma – Aldrich)

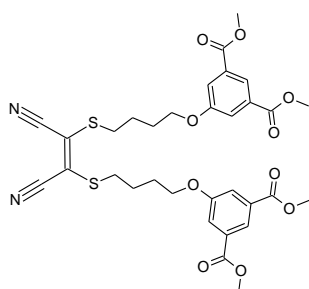
VI.3. Synteza

Mangan(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis-[4-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-ilo)butylo-sulfanylo]porfirazyna (**6**)

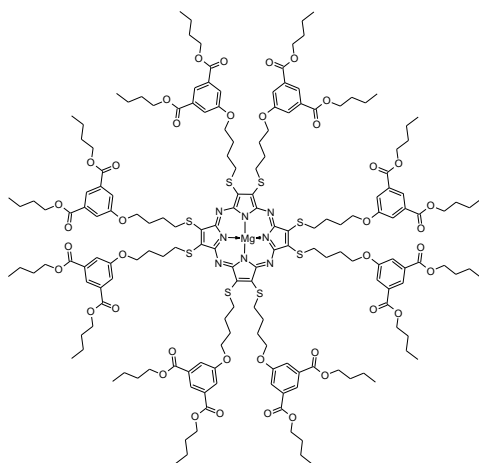
Do kolbki zawierającej porfirazynę **7** (8 mg, 0,041 mmol) dodano czterowodny chlorek manganu(II) (4 mg, 0,021 mmol) i DMF (2 cm³). Całość ogrzewano pod chłodnicą zwrotną w temp. 70 °C przez 20 godz. Po ochłodzeniu mieszaniny rozpuszczalnik odparowano do sucha. Suchą pozostałość poddano rozdzielowi chromatograficznemu (dichlorometan : metanol, 10:1, v/v). Otrzymano związek **6** (6 mg, 72%); R_f (dichlorometan : metanol, 10:1, v/v) = 0,24; UV-Vis (dichlorometan : metanol, 10:1, v/v) λ_{maks} nm (log ϵ) = 289 (4,36), 581 (3,79), 719 (3,89); MS (MALDI) m/z 1960 [M+H]⁺, 1982 [M+Na]⁺.

2,3,7,8,12,13,17,18-Oktakis-[4-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-ilo)butylosulfanylo]-porfirazyna (**7**)

Do kolbki zawierającej porfirazynę **5** (70 mg, 0,036 mmol) dodano kwas trifluorooctowy (8,5 cm³) i mieszano bez dostępu światła, w atmosferze gazu obojętnego (argon) oraz w temp. pokojowej przez 20 min. Następnie mieszaninę reakcyjną wylano na wodę z lodem (1:1, 100 cm³), zobojętniono nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu i ekstrahowano dichlorometanem. Warstwę organiczną osuszone bezwodnym siarczanem magnezu i odparowano do sucha. Suchą pozostałość poddano rozdzielowi chromatograficznemu (dichlorometan : metanol, 10:1, v/v). Uzyskano związek **7** (39 mg, 56%); R_f (dichlorometan : metanol, 10:1, v/v) = 0,58; UV-Vis (dichlorometan : metanol, 10:1, v/v) λ_{maks} nm (log ϵ) = 295 (5,45), 499 (4,89), 642 (5,07), 707 (5,21); MS (MALDI) m/z 1907 [M+H]⁺, 1929 [M+Na]⁺, 1945 [M+K]⁺.

(2Z)-2,3-Bis{4-[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksy]butylosulfanylo}but-2-enodinitryl (10)

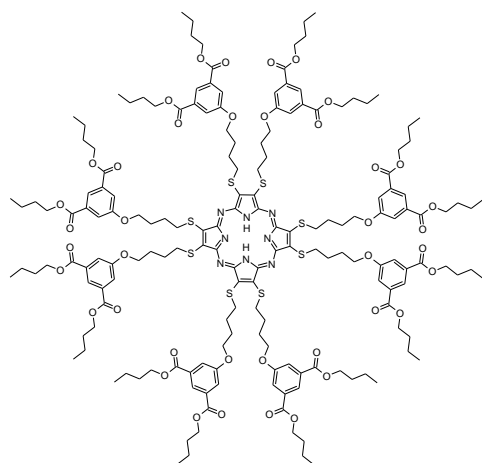
W bezwodnym metanolu (50 cm³) rozpuszczono sól disodową dimerkaptomaleonitrylu (465 mg; 2,5 mmol) oraz ester dimetylowy kwasu 5-(4-bromobutyloksy)izoftalowego **8** (2,15 g; 6,25 mmol). Reakcję prowadzono mieszając w temperaturze wrzenia pod gazem obojętnym (argon) przez 6 godzin. Następnie odparowano rozpuszczalnik, a suchą pozostałość chromatografowano (dichlorometan; następnie dichlorometan : metanol, 35:1, v/v). Otrzymano związek **10** (0,91 g; 54%) w postaci gęstej, żółtawej, oleistej cieczy, która zestalała się przy długim wymrażaniu; t.t. 75–81 °C; R_f (dichlorometan : metanol, 50:1, v/v) = 0,56; UV–Vis (dichlorometan) λ_{maks} nm (logε) = 273 (3,78), 318 (4,13), 343 (4,23); ¹H NMR (500 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 8,52 (s, 2H, C4', ArH), 7,91 (s, 4H, C2', C6', ArH), 3,97 (t, ³J = 6,0 Hz, 2H, SCH₂CH₂CH₂CH₂), 3,87 (s, 12H, COOCH₃), 3,31 (t, ³J = 6,5 Hz, 4H, SCH₂), 1,92 (m, 4H, SCH₂CH₂CH₂), 1,91 (m, 4H, SCH₂CH₂CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 166,5 (C=O), 159,9 (CH₂-O-C, ArC), 132,8 (C-CO, ArC), 123,5, (ArC), 122,3 (NC-C-S), 120,5 (ArC), 113,5 (CN), 68,3 (O-CH₂, Bu), 52,8 (COOCH₃), 35,4 (S-CH₂, Bu), 28,5 (SCH₂CH₂, Bu), 27,4 (SCH₂CH₂CH₂, Bu); MS (ES pos) *m/z* 693 [M+Na]⁺, 709 [M+K]⁺. MS (ES neg) *m/z* 705 [M+Cl]⁻; Analizę elem. obliczono dla C₃₂H₃₄N₂O₁₀S₂: C 57,30; H 5,11; N 4,18; S 9,56. Znaleziono: C 57,46; H 5,62; N 4,20, S 9,54.

Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis{4-[3,5-bis(butyloksykarbonylo)fenoksy]-butylo-sulfanylo}porfirazyna (11)

n-Butanol (10,0 cm³), wiórki magnezowe (11 mg; 0,45 mmol) oraz katalityczną ilość jodu (jeden kryształek) mieszano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, w atmosferze gazu obojętnego (argon) przez 4 godziny. Następnie mieszaninę ochłodzono, dodano pochodną maleonitrylu **10** (233 mg; 0,342 mmol) i ponownie ogrzewano przez 22 godziny. Po ochłodzeniu mieszaninę reakcyjną przesączono przez ziemię okrzemkową, którą przemyto dodatkowo dichlorometanem i toluenem. Połączone przesącze odparowano, a suchą pozostałość

chromatografowano w normalnym układzie faz (dichlorometan : metanol, 50 : 1, v/v) oraz w odwróconym układzie faz (metanol : dichlorometan; 1 : 2, v/v). Otrzymano związek **11** w postaci ciemnoniebieskiego bezpostaciowego osadu (0,111 g; 37%). R_f (heksan : octan etylu, 7 : 3, v/v) = 0,44; UV-Vis (dichlorometan) λ_{maks} nm ($\log \epsilon$) = 317 (4,77); 378 (4,89); 501 (4,17); 611 (4,45); 672 (4,94); 1H NMR (500 MHz, pirydyna- d_5) δ 8,50 (s, 8H, C4', ArH), 7,87 (s, 16H, C2'C4', ArH), 4,59 (s, 16H, SCH₂), 4,34 (t, $^3J = 6,5$ Hz, 32H, COOCH₂), 4,15 (s, 16H, SCH₂CH₂CH₂CH₂), 2,35 (bs, 32H, SCH₂CH₂CH₂), 1,64 (m, 32H, COOCH₂CH₂), 1,35 (m, 32H, COOCH₂CH₂CH₂), 0,87 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 48H, COOCH₂CH₂CH₂CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, pirydyna- d_5) δ 166,0 (C=O), 160,0 (CH₂-O-C, ArC), 158,3 (N=C Ar), 141,6 (C-S, Ar), 133,0 (C-CO, ArC), 123,2 (ArC), 120,2 (ArC), 68,8 (ArO-CH₂), 65,8 (COOCH₂), 35,7 (S-CH₂), 31,4, 29,3, 28,0, 19,9, 14,3 (CH₃); MS (MALDI) m/z 3378 [M+H]⁺; HRMS (ESI) obliczono dla C₁₇₆H₂₃₃MgN₈O₄₀S₈: 3378,4060. Znaleziono: 3378,4009 [M+H]⁺.

2,3,7,8,12,13,17,18-Oktakis{4-[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksy]butylo-sulfanylo}porfirazyna (**12**)

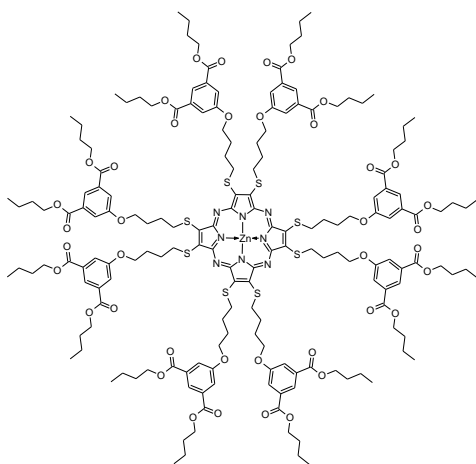


Do kolbki okrągłodennej zawierającej porfirazynę **11** (56 mg; 0,166 mmol) dodano kwas trifluorooctowy (5 cm³) i mieszano bez dostępu światła, w atmosferze gazu obojętnego oraz w temp. pokojowej przez 30 min. Następnie mieszaninę reakcyjną wylano na wodę z lodem (1:1, 100 cm³), zobojętniono nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu i ekstrahowano dichlorometanem (łącznie 100 cm³). Warstwę organiczną osuszono bezwodnym siarczanem magnezu

i odparowano do sucha. Suchą pozostałość poddano analizie chromatograficznej (dichlorometan : metanol, 50:1, v/v). Uzyskano związek **12** (18 mg; 63 %); R_f (heksan : octan etylu, 7:2, v/v) = 0,55; UV-Vis (dichlorometan) λ_{maks} nm ($\log \epsilon$) = 317 (4,33), 351 (4,25), 504 (3,90), 639 (4,07), 709 (4,22); 1H NMR (799,90 MHz, pirydyna- d_5) δ , ppm: 8,21 (s, 8H, C4', ArH); 7,63 (s, 16H, C2'C5', ArH), 4,61 (t, $^3J = 7$ Hz, 16H, SCH₂), 4,27 (t, $^3J = 7$ Hz, 32H, COOCH₂), 4,19 (t, $^3J = 6$ Hz, 16H, CH₂CH₂CH₂CH₂O), 2,45 (m, 16H, SCH₂CH₂CH₂), 2,34 (m, 16H, SCH₂CH₂CH₂), 1,60 (m, 32H, COOCH₂CH₂), 1,34 (m, 32H, COOCH₂CH₂CH₂), 0,87 (t, $^3J = 7$ Hz, 48H, CH₃), -1,55 (s, 2H, pirol-NH). ^{13}C NMR

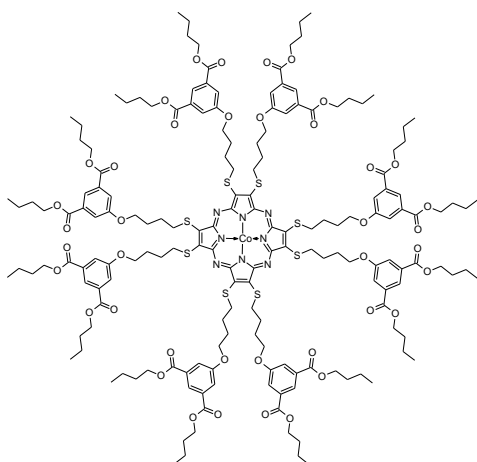
(201,16 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 165,7 (C=O), 159,6 (C1', ArC), 141,5 (C2C3, pirol), 132,6 (C3'C5', ArC), 122,9 (C4', ArC), 119,8 (C2'C5', ArC), 68,3 (CH₂CH₂CH₂CH₂O), 65,8 (COOCH₂), 35,6 (SCH₂), 31,3 (OCH₂CH₂), 27,9 (SCH₂CH₂), 29,2 (SCH₂CH₂CH₂), 19,9 (CH₂CH₃), 14,3 (CH₃). MS (MALDI): *m/z* 3356 [M+H]⁺.

Cynk(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis{4-[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksy]-butylosulfanylo}porfirazyna (13)



Do kolbki okrągłodennej zawierającej porfirazynę **12** (18 mg; 0,0054 mmol) dodano octan cynku(II) (5 mg; 0,027 mmol) i DMF (2 cm³). Całość mieszano i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną w temp. 70 °C przez 24 godz. Po ochłodzeniu mieszaniny, rozpuszczalnik odparowano. Suchą pozostałość poddano analizie chromatograficznej (heksan : octan etylu, 7:3, v/v). Otrzymano związek **13** (16 mg; wydajność 87%); R_f (heksan : octan etylu, 7:2, v/v) =

0,38; UV-Vis (dichlorometan) λ_{maks} nm (log ϵ) = 317 (4,38), 371 (4,40), 515 (3,78), 673 (4,49); ¹H NMR (799,99 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 8,47 (s, 1H, C3', ArH), 7,82 (s, 1H, C3', ArH), 4,60 (t, ³J = 7 Hz, 2H, C2', SCH₂), 4,34 (t, ³J = 7 Hz, 2H, C2', COOCH₂), 4,14 (t, ³J = 6 Hz, 2H, C2', SCH₂CH₂CH₂CH₂), 2,34 (m, 32H, SCH₂CH₂CH₂CH₂), 1,63 (m, 2H, C2', COOCH₂CH₂), 1,36 (m, 32H, COOCH₂CH₂), 0,87 (t, ³J = 7 Hz, 48H, CH₃); ¹³C NMR (201,16 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 166,0 (C=O), 159,9 (C1', ArC), 158,0 (C1C4, pirol), 141,8 (C2C3, pirol), 133,0 (C3'C5', ArC), 123,2 (C4', ArC), 120,2 (C2'C5', ArC), 68,7 (CH₂CH₂CH₂CH₂O), 65,8 (COOCH₂), 35,6 (SCH₂), 31,4 (COOCH₂CH₂), 29,3 (SCH₂CH₂CH₂), 28,0 (SCH₂CH₂), 19,9 (COOCH₂CH₂CH₂), 14,3 (CH₃); MS (MALDI) *m/z* 3418 [M+H]⁺, 3456 [M+K]⁺;

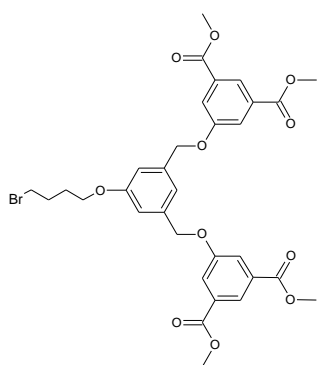


Kobalt(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis{4-[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksy]butylosulfanylo}porfirazyna (14)

Do kolbki okrągłodennej zawierającej porfirazynę **12** (26 mg; 0,0077 mmol) dodano sześciowodny chlorek

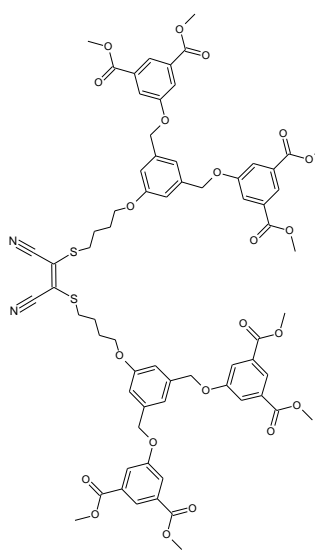
kobaltu(II) (9 mg; 0,039 mmol) i DMF (3 cm³). Całość mieszano i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną w temp. 70°C przez 24 godz. Po zakończeniu reakcji mieszaninę reakcyjną przesączono pod ciśnieniem przez ziemię okrzemkową, a zawartość kolbki i osad na ziemi okrzemkowej przemyto dichlorometanem (50 cm³) i odparowano. Suchą pozostałość chromatografowano (dichlorometan : metanol, 50:1, v/v). Otrzymano związek **14** (17 mg; 64%); R_f (heksan : octan etylu, 7:2, v/v) = 0,51; UV-Vis (dichlorometan) λ_{maks} nm (logε) = 316 (4,64), 340 (4,45), 485 (3,97), 645 (4,54); MS (MALDI) m/z 3414 [M+H]⁺.

1-(4-Bromobutoksy)-3,5-bis[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksymetylo]benzen (**19**)

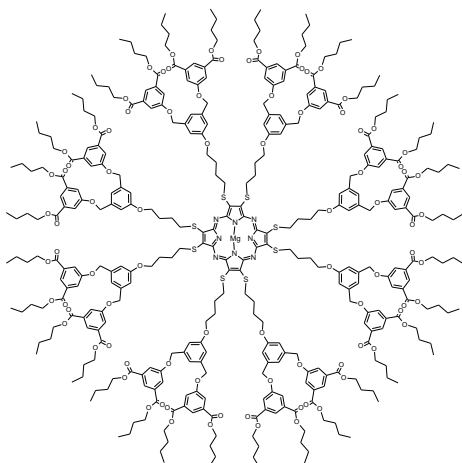


3,5-Bis[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksymetylo]fenol (0,464 g; 0,86 mmol), 1,4-dibromobutan (0,31 cm³; 2,59 mmol) oraz węglan potasu (3,6 g; 25,9 mmol) mieszano w bezwodnym DMF (6 cm³) w temp. 50 °C przez 22 godz. Następnie mieszaninę przesączono przez ziemię okrzemkową, którą przemyto dichlorometanem (50 cm³), odparowano rozpuszczalnik, a suchą pozostałość chromatografowano (dichlorometan). Otrzymano związek **19**

(434 mg, 75%) w postaci białego proszku; t.t. 129 °C; R_f (dichlorometan : metanol, 50:1, v/v) = 0,36; UV-Vis (dichlorometan) λ_{max} nm (log ε) = 286 (3,67), 307 (3,83); ¹H NMR (799,90 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8,06 (t, ⁴J = 1 Hz, 2H, C4', ArH), 7,73 (d, ⁴J = 1 Hz, 4H, C2', C6', ArH), 7,12 (s, 1H, C4, ArH), 7,02 (s, 2H, C2, C6, ArH), 5,23 (s, 4H, ArCH₂O), 4,04 (t, ³J = 6 Hz, 2H, CH₂CH₂O), 3,88 (s, 12H, OCH₃), 3,60 (t, ³J = 7 Hz, 2H, BrCH₂), 1,97 (m, 2H, BrCH₂CH₂), 1,84 (m, 2H, CH₂CH₂O); ¹³C NMR (201,16 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 165,1 (C=O), 158,7 (C1, ArC), 158,4 (C1', ArC), 138,2 (C3, C5, ArC), 131,5 (C3', C5', ArC), 121,9 (C4', ArC), 119,6 (C2', C6', ArC), 118,3 (C4, ArC), 113,0 (C2, C6, ArC), 69,4 (ArCH₂O), 66,7 (CH₂CH₂O), 52,5 (OCH₃), 34,8 (BrCH₂), 29,0 (BrCH₂CH₂), 27,3 (CH₂CH₂O); MS (ES pos) m/z 671, 673 [M+H]⁺, 695, 697 [M+Na]⁺, 711, 713 [M+K]⁺; MS (ES neg) m/z 707, 709 [M+Cl]⁻; Analizę elem. obliczono dla C₃₂H₃₃BrO₁₁×H₂O: C 55,58; H 5,10. Znaleziono: C 55,53; H 5,14.

(2Z)-2,3-Bis(4-{3,5-bis[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksymetylo]fenoksy}-butylosulfanylo)but-2-enodinitryl (20)

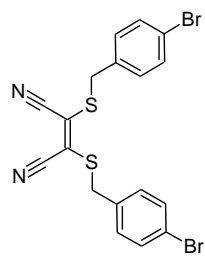
Sól disodową dimerkaptomaleonitrylu (52 mg; 0,28 mmol), **19** (434 mg; 0,64 mmol) oraz węglan potasu (300 mg; 2,17 mmol) mieszano w bezwodnym DMF (6 cm³) w temp. 50 °C przez 21 godz. Następnie, mieszaninę reakcyjną przesączono przez ziemię okrzemkową, którą przemyto dichlorometanem (50 cm³), odparowano rozpuszczalnik, a suchą pozostałość chromatografowano (dichlorometan : metanol, 50:1 do 35:1, v/v). Otrzymano związek **20** w postaci żółtego, gęstego oleju (317 mg; 85%); R_f (dichlorometan : metanol, 50:1, v/v) = 0,11; UV-Vis (dichlorometan) λ_{max} nm (log ϵ) = 285 (4,14), 315 (4,30), 343 (4,22); ¹H NMR (799,90 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,99 (d, ⁴*J* = 1 Hz, 4H, C4''), ArH), 7,67 (t, ⁴*J* = 1 Hz, 8H, C2'', C6'', ArH), 7,09 (s, 2H, C4', ArH), 6,96 (s, 4H, C2', C6', ArH), 5,15 (s, 8H, ArCH₂O), 3,99 (t, ³*J* = 6 Hz, 4H, CH₂CH₂O), 3,85 (s, 24H, OCH₃), 3,23 (t, ³*J* = 7 Hz, 4H, SCH₂), 1,81 (bs, 8H, CH₂CH₂CH₂O); ¹³C NMR (201,16 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 165,0 (C=O), 158,7 (C1', ArC), 158,3 (C1'', ArC), 138,1 (C3', C5', ArC), 131,3 (C3'', C5'', ArC), 121,9 (CS), 121,4 (C4'', ArC), 119,5 (C2'', C6'', ArC), 118,2 (C4', ArC), 112,9 (C2', C6', ArC), 112,4 (NC), 69,4 (C3'CH₂O), 66,8 (SCH₂CH₂CH₂CH₂), 52,4 (OCH₃), 34,2 (SCH₂), 27,2 (SCH₂CH₂), 26,1 (SCH₂CH₂CH₂); MS (MALDI) *m/z* 1327 [M+H]⁺, 1349 [M+Na]⁺, 1365 [M+K]⁺; Analizę elem. obliczono dla C₆₈H₆₆N₂O₂₂S₂: C, 61,53; H 5,01; N 2,11; S 4,83, Znaleziono: C 61,09; H 5,02; N 2,07; S 4,74.

Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis[(4-{3,5-bis[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksymetylo]fenoksy}butylosulfanylo)]porfirazyna (21)

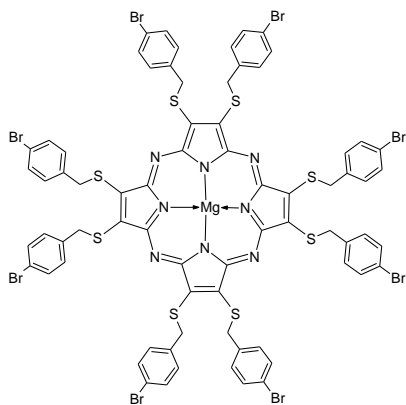
n-Butanol (2,5 cm³), wiórki magnezowe (6 mg; 0,25 mmol) oraz katalityczną ilość jodu (jeden kryształek) mieszano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, w atmosferze gazu obojętnego (argon) przez 2 godziny. Następnie mieszaninę ochłodzono i przeniesiono do kolbki zawierającej pochodną maleonitrylu **20**

(334 mg; 0,25 mmol) i ponownie ogrzewano przez 22 godziny. Po ochłodzeniu mieszaninę reakcyjną przesączono przez ziemię krzemkową, którą przemyto dichlorometanem i toluenem. Połączone przesącze odparowano, a suchą pozostałość chromatografowano w normalnym układzie faz (dichlorometan : metanol, 50 : 1, v/v), w odwróconym układzie faz (metanol potem dichlorometan) i ponownie w normalnym układzie faz (heksan : octan etylu, 7 : 3, v/v). Otrzymano związek **21** jako ciemnoniebieski bezpostaciowy osad (95 mg; 23%); R_f (heksan : octan etylu, 7:3, v/v) = 0,28; UV-Vis (dichlorometan) λ_{\max} nm (log ϵ) = 286 (4,52), 314 (4,67), 374 (4,62), 673 (4,50); $^1\text{H NMR}$ (799,90 MHz, pirydyna- d_5): δ = 8,57 (s, 16H, C4'', ArH), 8,07 (s, 32H, C2'', C6'', ArH), 7,39 (s, 8H, C4', ArH), 7,20 (sh, 16H, C2', C6', ArH), 5,22 (s, 32H, ArCH₂O), 4,59 (s, 16H, SCH₂), 4,37 (t, 3J = 7 Hz, 64H, COOCH₂), 4,19 (s, 16H, ArOCH₂CH₂), 2,37 (bs, 32H, SCH₂CH₂CH₂), 1,66 (m, 64H, COOCH₂CH₂), 1,37 (m, 64H, CH₃CH₂), 0,88 (m, 96H, CH₃); $^{13}\text{C NMR}$ (201,16 MHz, pirydyna- d_5): δ = 166,0 (C=O), 160,5 (C1', ArC), 159,7 (C1'', ArC), 139,3 (C3', C5', ArC), 133,2 (C3'', C5'', ArC), 123,7 (C4'', ArC), 120,7 (C2'', C6'', ArC), 119,6 (C4', ArC), 114,2 (C2', C6', ArC), 70,8 (ArCH₂O), 68,5 (ArOCH₂CH₂), 65,9 (COOCH₂), 35,9 (SCH₂), 31,4 (COOCH₂CH₂), 29,6 (SCH₂CH₂CH₂), 28,1 (SCH₂CH₂), 19,9 (CH₃CH₂), 14,3 (CH₃); MS (MALDI) m/z 6677 [M+H]⁺. HRMS (MALDI) obliczono dla C₃₆₈H₄₅₇MgN₈O₈₈S₈ m/z 6675,915. Znaleziono m/z 6675,762 [M+H]⁺.

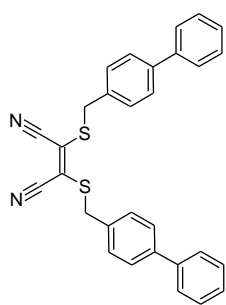
(2Z)-2,3-Bis(4-bromobenzylsulfanylo)but-2-enodinitryl (**23**)



W bezwodnym metanolu (35 cm³) rozpuszczono sól disodową dimerkaptomaleonitrylu (465 mg; 2,5 mmol) oraz bromek 4-bromobenzylu **22** (1,562 g; 6,25 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze wrzenia w atmosferze gazu obojętnego (argon) przez 4 godziny. Następnie odparowano rozpuszczalnik, a suchą pozostałość chromatografowano (heksan : octan etylu, 7:3, v/v). Otrzymano związek **23** (998 mg; 83%) w postaci żółtego proszku; t.t. 91 – 93 °C; R_f (heksan : octan etylu; 7:1, v/v) = 0,40; UV-Vis (dichlorometan) λ_{\max} nm (log ϵ) = 270 (3,75), 345 (4,14); $^1\text{H NMR}$ (600,20 MHz, DMSO- d_6) δ 7,55 (d, 4H, 3J = 8 Hz, C2C6, ArH), 7,30 (d, 4H, 3J = 8 Hz, C3C5, ArH), 4,43 (s, 4H, CH₂); $^{13}\text{C NMR}$ (150,92 MHz, DMSO- d_6) δ 135,1 (C1, ArC), 131,6 (C3C5, ArC), 131,1 (C2C6, ArC), 121,7 (C4, ArC), 121,1 (NC-C-S), 112,4 (CN), 37,3 (CH₂); MS (ES pos) m/z 503 [M+Na]⁺, 519 [M+K]⁺. MS (ES neg) m/z 515 [M+Cl]⁻; Analizę elem. obliczono dla C₁₈H₁₂Br₂N₂S₂: C 45,02; H 2,52; N 5,83; S 13,35. Znaleziono: C 45,00; H 2,46; N 5,79; S 13,26.

Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis(4-bromobenzylsulfanylo)porfirazyna (**24**)

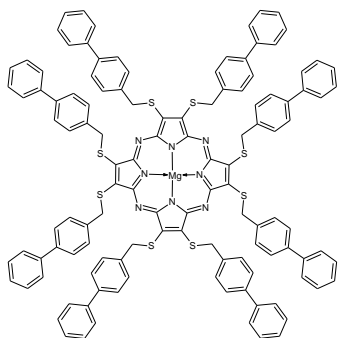
n-Butanol (6,5 cm³), wiórki magnezowe (20 mg; 0,83 mmol) oraz katalityczną ilość jodu (jeden kryształek) mieszano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, w atmosferze gazu obojętnego (argon) przez 4,5 godziny. Następnie mieszaninę ochłodzono, dodano pochodną maleonitrylu **23** (399 mg; 0,83 mmol) i dalej ogrzewano przez 23 godziny. Po ochłodzeniu mieszaninę reakcyjną przesączono przez ziemię okrzemkową, którą przemyto dichlorometanem i toluenem. Połączone przesącze odparowano, a suchą pozostałość chromatografowano (heksan : octan etylu, 7:3, v/v). Otrzymano związek **24** jako ciemnoniebieski bezpostaciowy osad (99 mg; 25%); R_f (heksan : octan etylu, 7:5, v/v) = 0,40; UV-Vis (dichlorometan) λ_{\max} nm (log ϵ) = 377 (4,56), 668 (4,58); ¹H NMR (600,20 MHz, pirydyna-*d*₅): δ 7,51 (d, 16H, ³*J* = 8,5 Hz, C2C6, ArH), 7,35 (d, 16H, ³*J* = 8,5 Hz, C3C5, ArH), 5,52 (s, 16H, CH₂); ¹³C NMR (150,92 MHz, pirydyna-*d*₅): 158,2, (C1C4, pirol), 141,7 (C2C3, pirol), 138,9 (C1, ArC), 132,4 (C3C5, ArC), 132,0 (C2C6, ArC), 121,9 (C4, ArC), 39,6 (CH₂); MS (MALDI) *m/z* 1947 [M+Na]⁺.

(2*Z*)-2,3-Bis(bifenyl-4-ilmetylosulfanylo)but-2-enodinitryl (**26**)

W 12,5 cm³ bezwodnego metanolu rozpuszczono sól disodową dimerkaptomaleonitrylu (186 mg; 1 mmol) oraz 4-bromometylobifenyl **25** (593 mg; 2,4 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze wrzenia pod gazem obojętnym przez 4 godziny. Następnie odparowano rozpuszczalnik, a suchą pozostałość chromatografowano (heksan : octan etylu, 7:1, v/v). Otrzymano związek **26** (389 mg; 82%) w postaci żółtego proszku; t.t. 140 - 141 °C; R_f (heksan : octan etylu; 7:1, v/v) = 0.4; UV-Vis (dichlorometan) λ_{\max} nm (log ϵ) = 259 (4,64), 347 (4,23); ¹H NMR (600,20 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,62 (t, 8H, ³*J* = 6 Hz, ArH), 7,43 (m, 8H, ArH), 7,37 (t, 2H, ³*J* = 6 Hz, ArH), 4,51 (s, 4H, CH₂); ¹³C NMR (150,92 MHz, DMSO-*d*₆) δ 139,6, 139,3, 134,7, 129,5, 128,9, 127,6, 126,9, 125,5,

121,7, 112,5, 37,8 (CH₂); MS (ES) m/z 497 [M+Na]⁺. Analizę elem. obliczono dla C₃₀H₂₂N₂S₂: C 75,91; H 4,67; N 5,90; S 13,51. Znaleziono: C 75,26; H 4,63; N 5,86, S 14,04.

Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis(bifenyl-4-ilometylosulfanylo)-porfirazyna (**27**)



n-Butanol (3 cm³), wiórki magnezowe (7 mg; 0,27 mmol) oraz katalityczną ilość jodu (jeden kryształek) mieszano w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika, w atmosferze gazu obojętnego (argonu) przez 2,5 godziny. Następnie mieszaninę ochłodzono, dodano pochodną maleonitrylu **26** (127 mg; 0,27 mmol) i ponownie ogrzewano przez 23 godziny. Po ochłodzeniu mieszaninę reakcyjną przesączono przez ziemię

okrzemkową, którą przemyto dichlorometanem i toluenem. Połączone przesącze odparowano, a suchą pozostałość chromatografowano (dichlorometan : metanol, 35:1, v/v). Otrzymano związek **27** jako ciemnoniebieski bezpostaciowy osad (38 mg; 29%); R_f (dichlorometan : metanol, 50:1, v/v) = 0,47; UV-Vis (dichlorometan) λ_{max} nm (log ϵ) = 256 (4,85), 379 (4,45), 678 (4,55); ¹H NMR (600,20 MHz, pirydyna-*d*₅): δ 7,80 (d, 16H, ³*J* = 6 Hz, ArH); 7,51 (d, 16H, ³*J* = 6 Hz, ArH); 7,47 (d, 16H, ³*J* = 16 Hz, ArH); 7,32 (t, 16H, ³*J* = 6 Hz, ArH); 7,28 (t, 8H, ³*J* = 12 Hz, ArH); 5,74 (s, 16H, 8xCH₂); ¹³C NMR (150,92 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 158,5; 141,9; 141,2; 140,7; 138,8; 130,8; 129,7; 128,1; 128,0; 127,6; 40,3; MS (MALDI) m/z 1921 [M+H]⁺.

VI.4. Badania krystalograficzne

Pomiary dyfrakcji promieni rentgenowskich przeprowadzono dla związków **23** oraz **27** z użyciem promieniowania Cu K α na dyfraktometrze czterokołowym SuperNova Atlas firmy Oxford Diffraction. Dla pochodnej maleonitrylu **26** pomiary dyfrakcji promieni rentgenowskich przeprowadzono z użyciem promieniowania Mo K α na dyfraktometrze czterokołowym Excalibur Eos firmy Oxford Diffraction. Pomiary prowadzono w temperaturze 130 K. Do rozwiązywania problemu fazowego wykorzystano program SIR-2004 [94] zaimplementowany w pakiecie WinGX [95]. Udokładnianie struktur prowadzono pełnomacierzową metodą najmniejszych kwadratów z użyciem programu SHELXL-2014 [96]. Czynniki temperaturowe atomów C, N i Mg były udokładniane anizotropowo. Położenia

atomów wodoru wyliczono w oparciu o kryteria geometryczne. W procesie udokładniania zmiana położenia wszystkich atomów wodoru była powiązana ze zmianą położenia atomów, do których były przyłączone. Izotropowe czynniki temperaturowe atomów wodoru były powiązane z wartością równoważnego izotropowego czynnika temperaturowego odpowiednich atomów węgla.

VI.5. Badania elektrochemiczne z wykorzystaniem nanorurek

Przed użyciem wielościennie nanorurki węglowe (MWCNT) oczyszczono stosując gorący kwas azotowy (60 °C przez 12 godz.), a następnie kwas fluorowodorowy, w celu pozbycia się amorficznego węgla oraz śladowych ilości katalizatorów stosowanych przy otrzymywaniu nanorurek. MWCNT zostały zawieszony w DMF (1 mg/cm³) i sonifikowane w celu otrzymania jednolitej mieszaniny. Badanie przeprowadzono w dichlorometanie wykorzystując roztwory zawierające porfirazynę **14** o stężeniu ok. 0,5 mmol/dm³ i TBAP o stężeniu 0,1 mol/dm³ jako elektrolit podstawowy. Dla pomiarów w roztworach wodnych przygotowano roztwór zawierający 2 mmol/dm³ hydrazyny oraz bufor fosforanowy o pH = 7,4 i stężeniu 0,5 mol/dm³. Modyfikację elektrody z węgla szklanego (GC) za pomocą nanorurek (GC/MWCNTs), przeprowadzono poprzez naniesienie niewielkiej ilości (2 µl) zawiesiny MWCNTs w DMF na powierzchnię elektrody GC i odparowanie rozpuszczalnika w temp. 60 °C. W przypadku dalszej modyfikacji (GC/MWCNTs/**14**), elektrodę (GC/MWCNTs) zanurzano na 15 min w roztworze porfirazyny **14** w dichlorometanie, a nadmiar makrocykla usunięto poprzez przemycie dichlorometanem. Modyfikację elektrody GC z wykorzystaniem porfirazyny **14** (GC/**14**), wykonano przez odparowanie 2 µl roztworu związku **14** w DMF z powierzchni elektrody.

VI.6. Przygotowanie liposomów

Formulację liposomalną związku **11** wykonano wykorzystując metodę uwodnienia cienkiego filmu [97]. W tym celu odpowiednie ilości roztworów lipidów – 1-palmitoilo-2-oleilo-sn-glicerylo-3-fosfocholiny (POPC) lub chlorku N-[1-(2,3-dioleoiloksy)propylo]-N,N,N-trimetyloamoniowego (DOTAP) i L- α -fosfatydylo-DL glicerolu (z jaja kurzego, PG) w chloroformie (25 mg/cm³) oraz porfirazyny (0,8 mg/cm³) umieszczono w szklanej probówce i odparowano do sucha na wyparce obrotowej. Film utworzony na dnie probówki

suszono przez noc w próżni, w temperaturze pokojowej, aby odparować pozostałości chloroformu. Następnie wysuszony film uwodniono roztworem soli fizjologicznej buforowanej HEPES (10 mmol/dm^3 HEPES (kwas 2-[4-(2-hydroksyetylo)piperazyno-1-ilo]etanosulfonowy), 140 mmol/dm^3 NaCl, pH = 7,4) i dyspergowano przez wirowanie przez 10 minut przy użyciu Vortex Genie 2. Powstałą zawiesinę ekstrudowano 21 razy przez membranę poliwęglanową o średnicy porów 100 nm przy użyciu ekstrudera strzykawkowego (Avanti Polar Lipids), w celu otrzymania jednowarstwowych liposomów o jednorodnym rozkładzie wielkości. Stosunek molowy końcowego preparatu liposomów wynosił fotouczulacz (0,1) : PG (2) : POPC/DOTAP (8).

VII. STRESZCZENIE

Synteza, charakterystyka fizykochemiczna oraz ocena możliwości zastosowania w medycynie oraz nanotechnologii siarkowych pochodnych porfirazyn

W części literaturowej pracy dokonano analizy dostępnego piśmiennictwa na temat porfirynoidów, zawierających w strukturze atom siarki. Porównano wyniki badań uzyskane przez różnych autorów dotyczące właściwości siarkowych tetrapirolowych związków makrocyclicznych, ze szczególnym uwzględnieniem charakterystyki fotochemicznej, w tym zdolności generowania tlenu singletowego. Przedstawiono także ich zastosowania w medycynie i nanotechnologii.

W części doświadczalnej przeprowadzono syntezę oraz charakterystykę fizykochemiczną czterech pochodnych maleonitrylu, takich jak:

1. (2Z)-2,3-Bis{4-[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksy]butylosulfanylo}but-2-enodinitryl (**10**)
2. (2Z)-2,3-Bis(4-{3,5-bis[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksymetylo]fenoksy}butylosulfanylo)but-2-enodinitryl (**20**)
3. (2Z)-2,3-Bis(4-bromobenzylsulfanylo)but-2-enodinitryl (**23**)
4. (2Z)-2,3-Bis(bifenyl-4-ilometylsulfanylo)but-2-enodinitryl (**26**)

Otrzymano również dziewięć sulfanylowych pochodnych porfirazyn, takich jak:

1. Mangan(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis-[4-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-ilo)butylosulfanylo]porfirazyna (**6**)
2. 2,3,7,8,12,13,17,18-Oktakis-[4-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-ilo)butylosulfanylo]-porfirazyna (**7**)
3. Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis{4-[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksy]butylosulfanylo}porfirazyna (**11**)
4. 2,3,7,8,12,13,17,18-Oktakis{4-[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksy]butylosulfanylo}-porfirazyna (**12**)
5. Cynk(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis{4-[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksy]butylosulfanylo}porfirazyna (**13**)
6. Kobalt(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis{4-[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksy]butylosulfanylo}porfirazyna (**14**)
7. Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis[4-{3,5-bis[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksymetylo]fenoksy}butylosulfanylo]porfirazyna (**21**)

8. Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis(4-bromobenzylsulfanylo)porfirazyna (**24**)
9. Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis(bifenyl-4-ilometylosulfanylo)porfirazyna (**27**)

W przypadku makrocykla **24** podjęto próby rozbudowy podstawnika 4-bromobenzylsulfanylowego w reakcjach sprzęgania Suzuki-Miyaura i Hecka, stosując różne katalizatory palladowe, zasady oraz warunki reakcji. Analiza uzyskanych danych wskazywała, że peryferyjne atomy siarki obecne w cząsteczce porfirazyny **24** koordynują związki palladu, co wpływa na powstanie trwałego kompleksu makrocykla z katalizatorem i utrudnia zajście reakcji sprzęgania.

Tożsamość związków potwierdzono z wykorzystaniem technik m.in. spektrometrii mas (ES i MALDI), różnych technik spektroskopii NMR (^1H , ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC oraz ^1H - ^{13}C HMBC) oraz spektrofotometrii UV-Vis. Dla pochodnych maleonitrylu **10**, **20**, **23** i **26** wykonano analizę elementarną. Ponadto otrzymano monokryształy związków **23**, **26** i **27**, które poddano analizie rentgenostrukturalnej. Związki **23** i **26** wykryły w układzie jednoskośnym i grupie przestrzennej $P2_1/n$. Natomiast porfirazyna **27** wykryła w układzie trójskośnym i grupie przestrzennej $P\bar{1}$.

Związek **6** oraz **14** poddano badaniom elektrochemicznym z wykorzystaniem cyklicznej (CV) i różnicowej pulsowej (DPV) woltamperometrii. Stwierdzono, że modyfikacja szklistej elektrody węglowej za pomocą zaadsorbowanej cienkiej warstwy porfirazyny manganu(II) **6**, poprawia wydajność elektrodredukcji tlenu. Natomiast po zaadsorbowaniu cienkiej warstwy porfirazyny kobaltu(II) **14** i wielościennych nanorurek węglowych na powierzchni szklistej elektrody węglowej zaobserwowano duży potencjał elektrokatalityczny związany z utlenianiem hydrazyny. Porfirazyna **14** może być brana pod uwagę jako związek do projektowania sensorów amperometrycznych i elektrokatalizatorów.

Ocena właściwości fotochemicznych obejmowała m.in. wyznaczenie wydajności kwantowej generowania tlenu singletowego. W odniesieniu do porfirazyny **5** wydajność kwantowa generowania tlenu singletowego wynosiła $\Phi_{\Delta\text{DMF}} = 0,045$ i $\Phi_{\Delta\text{DMSO}} = 0,035$, odpowiednio w dimetyloformamidzie oraz dimetylosulfotlenku. Pomiary przeprowadzono metodą pośrednią z wykorzystaniem ftalocyjaniny cynku(II) jako związku referencyjnego.

Aktywność przeciwnowotworową **5** oceniono *in vitro* na komórkach dwóch linii ludzkiego nowotworu prostaty PC3, LNCaP oraz linii komórkowej ludzkiego czerniaka MeWo. Przeżywalność komórek badano z wykorzystaniem testu MTT. Stwierdzono, że najbardziej wrażliwe były komórki nowotworowe linii PC3, których przeżywalność spadała o 30–40% w odniesieniu do próby kontrolnej.

Opracowano formułę liposomalną porfirazyny **11**, którą poddano ocenie aktywności fotodynamicznej względem komórek linii LNCaP. Wyniki badań zarówno w fazie ciemnej, jak i jasnej świadczą o braku toksyczności porfirazyny **11**.

Porfirazyny **24** i **27** zostały poddane badaniom na dwóch liniach komórkowych ludzkiego raka kolczystokomórkowego CAL 27 i HSC-3 oraz linii komórkowej HeLa, wywodzącej się z raka szyjki macicy. Makrocycle zostały zbadane w formie wolnej oraz po wbudowaniu w liposomy. Fotouczulacze w formie liposomów wykazały najwyższą aktywność fotodynamiczną w fazie jasnej, względem komórek linii HSC-3. Porfirazyna **27** charakteryzowała się umiarkowaną aktywnością, zmniejszając przeżywalność komórek HSC-3 o ok. 30%, po zastosowaniu stężenia 10 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$. Natomiast porfirazyna **24** w tym samym stężeniu wykazała wysoką aktywność i spadek przeżywalności komórek o ok. 95%. Na podkreślenie zasługuje, że związek **24** już w stężeniu 0,1 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ wykazał wyraźny, 30% spadek przeżywalności komórek nowotworowych.

Część badań zawartych w pracy doktorskiej została zrealizowana we współpracy z: (i) Katedrą i Zakładem Chemii Nieorganicznej i Analitycznej oraz Katedrą i Zakładem Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu; (ii) Microbiology Department, University of the Pacific, Arthur A. Dugoni School of Dentistry, San Francisco, USA; (iii) Instytutem Chemii i Elektrochemii Technicznej, Politechniki Poznańskiej; (iv) Centrum NanoBioMedycznym, Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz (v) Zakładem Krystalografii, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu.

VIII. ABSTRACT

Synthesis, physicochemical characteristics and potential applications of sulfanyl porphyrazine derivatives in medicine and nanotechnology

In the theoretical part of PhD thesis the available literature concerning porphyrinoids with sulfur was analyzed. The data obtained on sulfur porphyrinoids by different authors were compared. The results concerned especially photochemical characteristics, including singlet oxygen generation ability. Possible applications in nanotechnology and medicine of macrocycles containing sulfur were presented.

In the experimental part of dissertation four maleonitrile derivatives were synthesized and characterized:

1. (2Z)-2,3-Bis{4-[3,5-bis(methoxycarbonyl)phenoxy]butylsulfanyl}but-2-enedinitrile (**10**)
2. (2Z)-2,3-Bis(4-{3,5-bis[3,5-bis(methoxycarbonyl)phenoxy]methyl}phenoxy)-butylsulfanyl)but-2-enedinitrile (**20**)
3. (2Z)-2,3-Bis(4-bromobenzylsulfanyl)but-2-enedinitrile (**23**)
4. (2Z)-2,3-Bis(biphenyl-4-ylmethylsulfanyl)but-2-enedinitrile (**26**)

Moreover, nine derivatives of sulfanyl porphyrazines were synthesized:

1. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis-[4-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-yl)butylsulfanyl]-porphyrazinato manganese(II) (**6**)
2. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis-[4-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-yl)butylsulfanyl]porphyrazine (**7**)
3. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis[4-(3,5-dibutoxycarbonylphenoxy)butylsulfanyl]-porphyrazinato magnesium(II) (**11**)
4. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis[4-(3,5-dibutoxycarbonylphenoxy)butylsulfanyl]-porphyrazine (**12**)
5. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis[4-(3,5-dibutoxycarbonylphenoxy)butylsulfanyl]-porphyrazinato zinc(II) (**13**)
6. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis[4-(3,5-dibutoxycarbonylphenoxy)butylsulfanyl]-porphyrazinato cobalt(II) (**14**)
7. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis(4-{3,5-bis[3,5-bis(butoxycarbonyl)phenoxy]methyl}phenoxy)butylsulfanyl)porphyrazinato magnesium(II) (**21**)
8. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis(4-bromobenzylsulfanyl)porphyrazinato magnesium(II) (**24**)

9. 2,3,7,8,12,13,17,18-Octakis(biphenyl-4-ylmethylsulfanyl)porphyrazinato magnesium(II) (**27**)

For macrocycle **24** attempts to enlarge 4-bromobenzylsulfanyl substituent using Suzuki-Miyaura and Heck coupling reactions were made. Different catalysts, bases and reaction conditions were applied. During experiments it turned out that peripheral sulfur atoms in the structure of porphyrazine **24** seem to coordinate palladium catalyst. Therefore, the formation of stable macrocycle–catalyst complex hinders coupling reactions.

Identity of obtained compounds was confirmed using mass spectrometry (ES and MALDI), different NMR spectroscopy techniques (^1H , ^{13}C , ^1H – ^1H COSY, ^1H – ^{13}C HSQC and ^1H – ^{13}C HMBC) and UV–Vis spectrophotometry.

For maleonitrile derivatives **10**, **20**, **23** and **26** elemental analyses were performed. Moreover, for compounds **23**, **26** and **27** monocrystals were subjected to X-ray diffraction analysis. Maleonitrile derivatives **23** and **26** crystalized in monoclinic crystal system and $P2_1/n$ space group. Porphyrazine **27** crystalized in triclinic crystal system and $P\bar{1}$ space group.

Porphyrazines **6** and **14** were subjected to the electrochemical studies using cyclic (CV) and differential pulse (DPV) voltammetry. It was found that a glassy carbon electrode modified with thin layer of manganese(II) porphyrazine **6** increases oxygen electroreduction yield. Moreover, glassy carbon electrode modified with multiwall carbon nanotubes and cobalt(II) porphyrazine **14** showed high catalytic potential towards the oxidation of hydrazine. Porphyrazine **14** can be considered as a material for amperometric sensors and electrocatalysts.

Evaluation of photochemical properties included determination of singlet oxygen generation quantum yield. Singlet oxygen generation quantum yield of porphyrazine **5** was determined and reached the value of $\Phi_{\Delta\text{DMF}} = 0,045$ and $\Phi_{\Delta\text{DMSO}} = 0,035$ in dimethylformamide and dimethylsulfoxide respectively. Measurements were carried out following indirect method with 1,3-diphenylisobenzofuran as a singlet oxygen quencher and zinc(II) phthalocyanine as a reference.

Photodynamic *in vitro* activity of porphyrazine **5** was assessed against two prostate human cancer LNCaP and PC3 cell lines and one melanoma derived MeWo cell line. Viability of cancer cells was evaluated with MTT assay. PC3 cell line was found to be the most susceptible and cell viability decreased by 30–40% after treatment with porphyrazine **5**.

Liposomal formulation of porphyrazine **11** was prepared and subjected to *in vitro* photodynamic activity studies using LNCaP cell line. Studies revealed lack of activity of photosensitizer formulation both in dark and light toxicity experiments.

Porphyrazines **24** and **27** were incorporated into liposomes possessing different surface charge. Liposomes and free photosensitizers were subjected to *in vitro* photodynamic activity studies using human oral squamous cell carcinoma cell lines derived from the tongue CAL 27, HSC-3 and human cervical epithelial adenocarcinoma HeLa cells. The highest photodynamic activity was found for liposomal formulations against HSC-3 cell line. Porphyrazine **27** revealed moderate activity, the viability of HSC-3 cells decreased by ca. 30% after treatment with **27** in liposomes at 10 μM concentration. Porphyrazine **24** in liposomes at the same concentration showed high photocytotoxicity and HSC-3 cells viability decrease by 95% was found. Noteworthy is that liposomal formulation of **24** was moderately active at 0,1 μM concentration with 30% viability decrease.

Part of the studies included in the dissertation has been carried out in the collaboration with: (i) the Department of Inorganic and Analytical Chemistry and the Department of Toxicology at the Poznan University of Medical Sciences; (ii) the Microbiology Department, University of the Pacific, Arthur A. Dugoni School of Dentistry, San Francisco, USA; (iii) the Institute of Chemistry and Technical Electrochemistry, Poznan University of Technology; (iv) NanoBioMedical Centre, Adam Mickiewicz University in Poznan, and (v) the Department of Crystallography Faculty of Chemistry Adam Mickiewicz University.

IX. SPIS STOSOWANYCH SKRÓTÓW

| | | |
|-------------|---|--|
| BNCT | – | Terapia borowo–neutronowa (<i>Boron neutron capture therapy</i>) |
| CV | – | Cykliczna voltamperometria (<i>Cyclic voltammetry</i>) |
| DBU | – | 1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (<i>1,8-Diazabicycloundec-7-ene</i>) |
| DMAE | – | N,N-Dimetyloaminoetanol (<i>N,N-Dimethylaminoethanol</i>) |
| DMF | – | Dimetyloformamid (<i>Dimethylformamide</i>) |
| DMSO | – | Dimetylosulfotlenek (<i>Dimethyl sulfoxide</i>) |
| DOTAP | – | Chlorek N-[1-(2,3-dioleoiloksy)propylo]-N,N,N-trimetyloamoniowy (<i>1,2-dioleoyl-3-trimethylammoniumpropane, chloride salt</i>) |
| DPV | – | Różnicowa voltamperometria pulsowa (<i>Differential pulse voltammetry</i>) |
| GC | – | Węgiel szklisty (<i>Glassy carbon</i>) |
| HEPES | – | Kwas 2-[4-(2-hydroksyetylo)piperazyno-1-ilo]etanosulfonowy (<i>4-(2-hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid</i>) |
| MWCNT | – | Wielościennie nanorurki węglowe (<i>Multiwall Carbon Nanotubes</i>) |
| NCT | – | Terapia wychwytu neutronów (<i>Neutron capture therapy</i>) |
| OSCC | – | Rak płaskonabłonkowy jamy ustnej (<i>Oral Squamous Cell Carcinoma</i>) |
| POPC | – | 1-Palmitoilo-2-oleilo-sn-glicerylo-3-fosfocholina (<i>1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine</i>) |
| PDD | – | Diagnostyka fotodynamiczna (<i>Photodynamic Diagnosis</i>) |
| PDT | – | Terapia fotodynamiczna (<i>Photodynamic Therapy</i>) |
| PTT | – | Terapia fototermiczna (<i>Photothermal Therapy</i>) |
| PG | – | L- α -Fosfatydylo-DL glicerol (<i>L-α-phosphatidyl-DL glycerol</i>) |
| PS | – | Fotouczulacz (<i>Photosensitizer</i>) |
| ROS | – | Reaktywne formy tlenu (<i>Reactive Oxygen Species</i>) |
| t.t. | – | Temperatura topnienia |
| t. wrzenia | – | Temperatura wrzenia |
| t. pokojowa | – | Temperatura pokojowa |
| TBAP | – | Chloran(VII) tetrabutylamoniowy (<i>Tetrabutylammonium perchlorate</i>) |

X. SPIS RYSUNKÓW, SCHEMATÓW ORAZ TABEL

X.1. Rysunki

- Rys. 1.** Struktury wybranych grup związków porfirynoidowych **I – IV**.....1
- Rys. 2.** Schemat reakcji i terapii fotodynamicznej.....3
- Rys. 3.** Struktury związków **V – VIII**. M – jon metalu.....6
- Rys. 4.** Struktury wybranych 21,23-tiaporfiryn **IX – XVII**. X = N lub S.....8
- Rys. 5.** Struktury porfirazyn **XXVII – XXXII**.....13
- Rys. 6.** Struktury porfirazyn **XXXIII – XXXIV**.....14
- Rys. 7.** Struktury ftalocyjanin **XXXV – XXXVIII**.....15
- Rys. 8.** Klasterowe kompleksy karboranowe skoniugowane z pierścieniami porfirazynowymi o potencjalnym zastosowaniu w BNCT **XXXIX – XL**.....16
- Rys. 9.** Klasterowe kompleksy karboranowe skoniugowane z pierścieniami ftalocyjaninowymi o potencjalnym zastosowaniu w BNCT i PDT **XLI – XLIII**.....18
- Rys. 10.** Struktury związków **XLIII i XLIV**.....19
- Rys. 11.** Elektrody złote modyfikowane kompleksami ftalocyjaninowymi **XLV – XLII**.....20
- Rys. 12.** Widma MS MALDI związków **6 (A)** oraz **7 (B)**.....25
- Rys. 13.** Zmiany absorpcji obserwowane w widmie UV–Vis mieszaniny DPBF oraz porfirazyny **5** w DMF w czasie naświetlania (10 min). Wstawka przedstawia wykres kinetyki pierwszego rzędu utleniania DPBF. Zmiany w absorpcji pasma Q podczas eksperymentu nie przekraczały 1%. Schemat reakcji utleniania DPBF tlenem singletowym.....27
- Rys. 14.** Aktywność fotodynamiczna *in vitro* porfirazyny **5** w stężeniach od 0 do 10 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ wobec komórek linii LNCaP, PC3 oraz MeWo. Przeżywalność komórek hodowli nienaświetlanych (0 min) oraz po 10 i 20 min naświetlania. Wykres przedstawia średnią \pm odchylenie standardowe.....28
- Rys. 15.** Zdjęcia mikroskopowe komórek linii MeWo wraz z porfirazyną **5** w stężeniach od 0,15 do 10,00 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$. Pasek na zdjęciu komórek kontrolnych wskazuje 100 μm (zdjęcia udostępnione przez dr. hab. Marka Muriasa, prof. UM i wsp.).....29
- Rys. 16.** Krzywe CV w różnych warunkach pH dla elektrody z węgla szklanego (GC) oraz elektrody GC zmodyfikowanej manganową porfirazyną **6** (GC/Mn(Pz))

- w roztworach odtlenionym (**A**) oraz w roztworach nieodtlenionych (**B**, **C**, **D**).
Szybkość przesuwu potencjału 10 mVs^{-1}31
- Rys. 17.** Schematyczne przedstawienie budowy cząsteczki dendrymeru. G_0 , G_1 , G_2 – rozgałęzienia określane mianem generacji.....32
- Rys. 18.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla związku **10** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm.....34
- Rys. 19.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **11** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych NMR.....36
- Rys. 20.** Widmo ^1H - ^1H COSY związku **11** w pirydynie- d_5 . Sprzężenia pomiędzy protonami zaobserwowane w widmie ^1H - ^1H COSY.....37
- Rys. 21.** Widmo ^1H - ^{13}C HMBC związku **11** w pirydynie- d_5 . Sprzężenia pomiędzy atomami wodoru a atomami węgla, oddalonymi od 2 do 4 wiązań, zaobserwowane w widmie ^1H - ^{13}C HMBC.....38
- Rys. 22.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **12** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych NMR.....41
- Rys. 23.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **13** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych NMR.....41
- Rys. 24.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla związku **19** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych.....43
- Rys. 25.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla związku **20** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C) NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych.....45
- Rys. 26.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **21** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ^1H (^{13}C)

- NMR podano w ppm. Strzałki przedstawiają sprzężenia obserwowane w widmach dwuwymiarowych NMR.....47
- Rys. 27.** (A) CV porfirazyny **14** w dichlorometanie z dodatkiem TBAP, szybkość przesuwu potencjału 50 mV/s. (B) Wykresy DPV dla porfirazyny **14**. (C) CV zmierzone dla porfirazyny **14** w dichlorometanie z dodatkiem TBAP z różną szybkością przesuwu potencjału (25–250 mVs⁻¹). Wstawka przedstawia zależność pomiędzy prądem anodowego i katodowego piku Co(II)/Co(I) a pierwiastkiem kwadratowym prędkości przesuwu potencjału. (D) CV porfirazyny **14** w buforze fosforanowym o pH = 7,4 dla $v = 10 \text{ mVs}^{-1}$ w obecności 2mmol/dm³ hydrazyny z użyciem elektrod: a) GC, b) GC/**14**, c) GC/MWCNTs i d) GC/ MWCNTs/**14**.....50
- Rys. 28.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla pochodnej maleonitrylu **23** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ¹H (¹³C) NMR podano w ppm.....53
- Rys. 29.** Struktura cząsteczki pochodnej maleonitrylu **23** przedstawiająca numerację atomów. Dla przejrzystości rysunku pominięto atomy wodoru.....53
- Rys. 30.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **24** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ¹H (¹³C) NMR podano w ppm.....56
- Rys. 31.** Analiza przesunięć chemicznych atomów wodoru i węgla porfirazyny **26** na podstawie widm NMR. Wartości przesunięć chemicznych w widmach ¹H (¹³C) NMR podano w ppm. Fragment widma ¹H NMR pochodnej maleonitrylu **26**.....57
- Rys. 32.** Struktura cząsteczki związku **26** przedstawiająca numerację atomów. Dla przejrzystości rysunku pominięto atomy wodoru.....58
- Rys. 33.** Supramolekularna organizacja cząsteczek związku **26** w sieci krystalicznej: (A) budowa wstęgi. Kolorem zielonym oznaczono promienie van der Waalsa atomów; (B) struktura warstwowa, rzut wzdłuż kierunku wstęgi.....59
- Rys. 34.** Struktura cząsteczki porfirazyny **27**. Dla przejrzystości rysunku pominięto atomy wodoru.....62
- Rys. 35.** Ułożenie przestrzenne dwóch cząsteczek porfirazyny **27** w kryształce, przedstawiono dwa rzuty.....62
- Rys. 36.** Widma MS MALDI produktów sprzęgania porfirazyny **24** z: (A) estrem pinakolinowym kwasu 4-nitrofenyloboronowego i Pd(dba)₂;

- (B) estrem pinakolinowym kwasu fenyloboronowego i Pd(dba)₂. Pd(dba)₂ = bis(dibenzylidenoaceton)pallad(0).....66
- Rys. 37.** Proponowane struktury kompleksów porfirazyny **24** z jonami palladu na podstawie widm MS MALDI.....66
- Rys. 38.** Aktywność fotodynamiczna *in vitro* porfirazyn **27** (A) oraz **24** (B) w postaci wolnej, liposomów PG:POPC oraz DOTAP:POPC w stężeniach 0,1; 1 oraz 10 μmol/dm³ wobec komórek linii HSC-3.....69

X.2. Schematy

- Schemat 1.** Struktury *mezo*-tiapofiryn **XVIII** – **XXII**. Reakcja eliminacji atomu siarki z pierścienia makrocyklicznego, wraz z mechanizmem zaproponowanym przez Kamiya i wsp. [41]. Mes – grupa 3,5-dimetylobenzylowa.....9
- Schemat 2.** Sposoby wprowadzenia ugrupowania zawierającego siarkę do cząsteczek związków makrocyklicznych oraz ich prekursorów. X = Cl, Br; M = jon metalu lub 2H.....11
- Schemat 3** Schemat reakcji rozpadu atomu ¹⁰B pod wpływem neutronu termicznego.....16
- Schemat 4.** Ftalocyjaniny **XLVIII** oraz **XLIX**. Synteza kompleksów **XLVIII** i **XLIX** z nanocząstkami złota i srebra (Ag/AuNPs).....21
- Schemat 5.** Reagenty i warunki reakcji: (i) 1,4-dibromobutan, NaH, DMF, t. pokojowa → t. wrzenia, 2 godz. [71]; (ii) K₂CO₃, DMF, 50 °C, 24 godz.; (iii) Mg(On-C₄H₉)₂, *n*-C₄H₉OH, t. wrzenia, 21 god.....23
- Schemat 6.** Reagenty i warunki reakcji: (i) MnCl₂×4H₂O, DBU, *n*-pentanol, 130 °C, 19 godz.; (ii) DMAE, t. wrzenia, 19 godz.....24
- Schemat 7.** Reagenty i warunki reakcji: (i) CF₃COOH, t. pokojowa, 20 min; (ii) MnCl₂×4H₂O, DMF, 70 °C, 20 godz.....24
- Schemat 8.** Synteza związków **9** i **10**. Reagenty i warunki reakcji: (i) Br(CH₂)₄Br, K₂CO₃, DMF, 50 °C, 20 godz. [83]; (ii) CH₃OH, t. wrzenia, 6 godz.....33
- Schemat 9.** Reagenty i warunki reakcji: (i) Mg(On-C₄H₉)₂, *n*-C₄H₉OH, t. wrzenia, 21 godz.....35
- Schemat 10.** Reagenty i warunki reakcji: (i) CF₃COOH, t. pokojowa, 30 min; (ii) (CH₃COO)₂Zn, DMF, 70 °C, 24 godz.; (iii) CoCl₂×6H₂O, DMF, 70 °C, 24 godz.....39

| | |
|--|----|
| Schemat 11. Reagenty i warunki reakcji: (i) chlorek <i>tert</i> -butylodimetylosililowy, imidazol, DMF, t. pokojowa, 20 godz.; (ii) LiAlH ₄ , THF, t. pokojowa, 2 godz.; (iii) azodikarboksylan dietylu, PPh ₃ , THF, t. pokojowa, 20 godz. (iv) fluorek tetrabutylamoniowy, THF, t. pokojowa, 1 godz. (i-iv [84]); (v) Br(CH ₂) ₄ Br, K ₂ CO ₃ , DMF, 50 °C, 22 godz..... | 42 |
| Schemat 12. Reagenty i warunki reakcji: (i) K ₂ CO ₃ , DMF, 50 °C, 21 godz..... | 44 |
| Schemat 13. Reagenty i warunki reakcji: (i) Mg(<i>On</i> -Bu) ₂ , <i>n</i> -butanol, t. wrzenia, 22 godz..... | 46 |
| Schemat 14. Reagenty i warunki reakcji: (i) CH ₃ OH, t. wrzenia, 4 godz..... | 52 |
| Schemat 15. Reagenty i warunki reakcji: (i) Mg(<i>On</i> -C ₄ H ₉) ₂ , <i>n</i> -C ₄ H ₉ OH, t. wrzenia, 22 godz..... | 55 |
| Schemat 16. Reagenty i warunki reakcji: (i) CH ₃ OH, t. wrzenia, 4 godz..... | 56 |
| Schemat 17. Reagenty i warunki reakcji: (i) Mg(<i>On</i> -C ₄ H ₉) ₂ , <i>n</i> -C ₄ H ₉ OH, t. wrzenia, 24 godz..... | 60 |
| Schemat 18. Schemat reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem porfirazyny 24 jako substratu..... | 64 |
| Schemat 19. Schemat reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem pochodnej maleonitrylu 23 jako substratu..... | 67 |

X.3. Tabele

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Aktywność fotodynamiczna porfirazyny 21 wobec komórek linii LNCaP. Wyniki zaprezentowano jako procent przeżywalności w porównaniu do próby kontrolnej (wartość średnia i odchylenie standardowe na podstawie dwóch eksperymentów)..... | 48 |
| Tabela 2. Parametry woltamperometryczne porfirazyny 14 | 50 |
| Tabela 3. Dane krystalograficzne pochodnej maleonitrylu 23 | 54 |
| Tabela 4. Dane pomiaru dyfraktometrycznego oraz parametry dotyczące jakości rozwiązania struktury pochodnej maleonitrylu 23 | 54 |
| Tabela 5. Dane krystalograficzne pochodnej maleonitrylu 26 | 59 |
| Tabela 6. Dane pomiaru dyfraktometrycznego oraz parametry dotyczące jakości rozwiązania struktury pochodnej maleonitrylu 26 | 60 |
| Tabela 7. Dane krystalograficzne porfirazyny 27 | 63 |
| Tabela 8. Dane pomiaru dyfraktometrycznego oraz parametry dotyczące jakości rozwiązania struktury porfirazyny 27 | 63 |

| | |
|---|----|
| Tabela 9. Warunki reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem porfirazyny 24 jako substratu..... | 65 |
| Tabela 10. Warunki reakcji Suzuki-Miyaura z wykorzystaniem pochodnej maleonitrylu 23 jako substratu. Nr 5 – 9 zaadaptowano na podstawie [93]..... | 67 |

X.4. Wykresy

| | |
|---|----|
| Wykres 1. Widma UV–Vis związków: 5 w octanie etylu : metanolu, 5:3, v/v oraz 6 i 7 w dichlorometanie : metanolu, 10:1, v/v..... | 26 |
| Wykres 2. Widmo UV–Vis pochodnej maleonitrylu 10 w dichlorometanie..... | 33 |
| Wykres 3. Widmo UV–Vis porfirazyny 11 w dichlorometanie..... | 35 |
| Wykres 4. Widma UV–Vis porfirazyn 11 – 14 w dichlorometanie..... | 40 |
| Wykres 5. Widmo UV–Vis pochodnej maleonitrylu 20 w dichlorometanie..... | 44 |
| Wykres 6. Widmo UV–Vis porfirazyny 21 w dichlorometanie..... | 46 |
| Wykres 7. Widmo UV–Vis pochodnej maleonitrylu 23 w dichlorometanie..... | 52 |
| Wykres 8. Widmo UV–Vis porfirazyny 24 w dichlorometanie..... | 55 |
| Wykres 9. Widmo UV–Vis pochodnej maleonitrylu 26 w dichlorometanie..... | 57 |
| Wykres 10. Widmo UV–Vis porfirazyny 27 w dichlorometanie..... | 61 |

XI. LITERATURA

- [1] M.S. Rodríguez-Morgade, P.A. Stuzhin, The chemistry of porphyrazines: an overview, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 08 (2004) 1129–1165.
- [2] S.L.J. Michel, B.M. Hoffman, S.M. Baum, A.G.M. Barrett, Peripherally Functionalized Porphyrazines: Novel Metallomacrocycles with Broad, Untapped Potential, w: K.D. Karlin (Ed.), *Prog. Inorg. Chem.*, John Wiley & Sons, Inc., New York, USA, 2002: 473–590.
- [3] M.J. Fuchter, C. Zhong, H. Zong, B.M. Hoffman, A.G.M. Barrett, Porphyrazines: Designer Macrocycles by Peripheral Substituent Change, *Aust. J. Chem.* 61 (2008) 235–255.
- [4] K.M. Smith, Porphyrins, Corrins and Phthalocyanines, w: *Compr. Heterocycl. Chem.*, Elsevier, 1984: 377–442.
- [5] C.D. Cuyper, M.L. Pérez-Cotapos S (Ed.), *Dermatologic Complications with Body Art*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2010.
- [6] G. Das, B. Sain, S. Kumar, M.O. Garg, G. Murali Dhar, Synthesis, characterization and catalytic activity of cobalt phthalocyanine tetrasulphonamide in sweetening of LPG, *Catal. Today* 141 (2009) 152–156.
- [7] C.M. Drain, J.T. Hupp, K.S. Suslick, M.R. Wasielewski, X. Chen, A perspective on four new porphyrin-based functional materials and devices, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 6 (2002) 243–258.
- [8] T. Hori, X. Peng, N. Aratani, A. Takagi, T. Matsumoto, T. Kawai, Z.S. Yoon, M.-C. Yoon, J. Yang, D. Kim, A. Osuka, Synthesis of Nanometer-Scale Porphyrin Wheels of Variable Size, *Chem. - Eur. J.* 14 (2008) 582–595.
- [9] J.J. Krutak, M.R. Cushman, M.A. Weaver, Method for tagging petroleum products, US Patent (1996) 5525516.
- [10] M. Kryjewski, A. Śmigielska, T. Gośliński, Makrocykle porfirynoidowe jako związki budulcowe do tworzenia nanoukładów, *Przem. Chem.* 89 (2010) 727–733.
- [11] S. Puangmalee, A. Petsom, P. Thamyongkit, A porphyrin derivative from cardanol as a diesel fluorescent marker, *Dyes Pigments* 82 (2009) 26–30.
- [12] A.M. Shultz, O.K. Farha, J.T. Hupp, S.T. Nguyen, A Catalytically Active, Permanently Microporous MOF with Metalloporphyrin Struts, *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009) 4204–4205.
- [13] D. Wöhrle, G. Schnurpfeil, S.G. Makarov, A. Kazarin, O.N. Suvorova, Practical Applications of Phthalocyanines – from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices, *Macroheterocycles* 5 (2012) 191–202.
- [14] Haroon-Ur-Rashid, M.N. Umar, K. Khan, M.N. Anjum, M. Yaseen, Synthesis and relaxivity measurement of porphyrin-based Magnetic Resonance Imaging (MRI) contrast agents, *J. Struct. Chem.* 55 (2014) 910–915.
- [15] H. Kostron, Photodynamic Diagnosis and Therapy and the Brain, w: C.J. Gomer (Ed.), *Photodyn. Ther.*, Humana Press, Totowa, NJ, 2010: 261–280.
- [16] J.A. Witjes, Hexyl aminolevulinat in the detection of bladder cancer: a viewpoint by J. Alfred Witjes, *Drugs* 66 (2006) 579–580.
- [17] D. Zaak, W.F. Wieland, C.G. Stief, M. Burger, Routine Use of Photodynamic Diagnosis of Bladder Cancer: Practical and Economic Issues, *Eur. Urol. Suppl.* 7 (2008) 536–541.
- [18] T.J. Dougherty, C.J. Gomer, B.W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, Photodynamic therapy, *J. Natl. Cancer Inst.* 90 (1998) 889–905.

- [19] A.P. Castano, T.N. Demidova, M.R. Hamblin, Mechanisms in photodynamic therapy: part one—photosensitizers, photochemistry and cellular localization, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 1 (2004) 279–293.
- [20] D. Kessel, Photodynamic therapy: from the beginning, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 1 (2004) 3–7.
- [21] P. Skupin-Mrugalska, J. Piskorz, T. Goslinski, J. Mielcarek, K. Konopka, N. Düzgüneş, Current status of liposomal porphyrinoid photosensitizers, *Drug Discov. Today* 18 (2013) 776–784.
- [22] B.-P. Jiang, L.-F. Hu, D.-J. Wang, S.-C. Ji, X.-C. Shen, H. Liang, Graphene loading water-soluble phthalocyanine for dual-modality photothermal/photodynamic therapy via a one-step method, *J. Mater. Chem B* 2 (2014) 7141–7148.
- [23] R.R. Allison, H.C. Mota, C.H. Sibata, Clinical PD/PDT in North America: An historical review, *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 1 (2004) 263–277.
- [24] S. Yano, S. Hirohara, M. Obata, Y. Hagiya, S. Ogura, A. Ikeda, H. Kataoka, M. Tanaka, T. Joh, Current states and future views in photodynamic therapy, *J. Photochem. Photobiol. C* 12 (2011) 46–67.
- [25] F.F. Jöbsis-vanderVliet, Discovery of the Near-Infrared Window into the Body and the Early Development of Near-Infrared Spectroscopy, *J. Biomed. Opt.* 4 (1999) 392–396.
- [26] V. Torchilin, Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 63 (2011) 131–135.
- [27] H. Maeda, Macromolecular therapeutics in cancer treatment: The EPR effect and beyond, *J. Control. Release* 164 (2012) 138–144.
- [28] S. Herlambang, M. Kumagai, T. Nomoto, S. Horie, S. Fukushima, M. Oba, K. Miyazaki, Y. Morimoto, N. Nishiyama, K. Kataoka, Disulfide crosslinked polyion complex micelles encapsulating dendrimer phthalocyanine directed to improved efficiency of photodynamic therapy, *J. Control. Release* 155 (2011) 449–457.
- [29] E. Paszko, C. Ehrhardt, M.O. Senge, D.P. Kelleher, J.V. Reynolds, Nanodrug applications in photodynamic therapy, *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 8 (2011) 14–29.
- [30] T. Goslinski, J. Piskorz, Fluorinated porphyrinoids and their biomedical applications, *J. Photochem. Photobiol. C* 12 (2011) 304–321.
- [31] X. Chen, Y. Li, A. Wang, L. Zhou, S. Lu, J. Zhou, Y. Lin, S. Wei, Protonation salt derivative with heavy-atom effect on phthalocyanine for enhanced in vitro photodynamic therapy, *Dyes Pigments* 114 (2015) 93–104.
- [32] R.P. Linstead, E.G. Noble, J.M. Wright, 187. Phthalocyanines. Part IX. Derivatives of thiophen, thionaphthen, pyridine, and pyrazine, and a note on the nomenclature, *J. Chem. Soc. Resumed* (1937) 911–921.
- [33] R.P. Linstead, 212. Phthalocyanins. Part I. A new type of synthetic colouring matters, *J. Chem. Soc. Resumed* (1934) 1016–1017.
- [34] E.S. Taraymovich, A.B. Korzhenevskii, Y.V. Mitasova, R.S. Kumeev, O.I. Koifman, P.A. Stuzhin, Synthesis and spectral study of tetra(2,3-thianaphtheno)-porphyrazine, its tetra- *tert* -butyl derivative and their Mg(II), Al(III), Ga(III) and In(III) complexes, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 15 (2011) 54–65.
- [35] E.S. Taraimovich, P.A. Stuzhin, O.I. Koifman, Acid-base properties of thianaphthene-annulated porphyrazine and tetra(pyrazino)porphyrazine complexes with aluminum group metals, *Russ. J. Gen. Chem.* 83 (2013) 392–397.
- [36] Y. Pareek, M. Ravikanth, Thiaporphyrins: from building blocks to multiporphyrin arrays, *RSC Adv.* 4 (2014) 7851–7880.
- [37] C.E. Stilts, M.I. Nelen, D.G. Hilmey, S.R. Davies, S.O. Gollnick, A.R. Oseroff, S.L. Gibson, R. Hilf, M.R. Detty, Water-Soluble, Core-Modified Porphyrins as Novel,

- Longer-Wavelength-Absorbing Sensitizers for Photodynamic Therapy, *J. Med. Chem.* 43 (2000) 2403–2410.
- [38] D.G. Hilmey, M. Abe, M.I. Nelen, C.E. Stilts, G.A. Baker, S.N. Baker, F.V. Bright, S.R. Davies, S.O. Gollnick, A.R. Oseroff, S.L. Gibson, R. Hilf, M.R. Detty, Water-Soluble, Core-Modified Porphyrins as Novel, Longer-Wavelength-Absorbing Sensitizers for Photodynamic Therapy. II. Effects of Core Heteroatoms and *Meso*-Substituents on Biological Activity, *J. Med. Chem.* 45 (2002) 449–461.
- [39] Y. You, S.L. Gibson, R. Hilf, S.R. Davies, A.R. Oseroff, I. Roy, T.Y. Ohulchansky, E.J. Bergey, M.R. Detty, Water Soluble, Core-Modified Porphyrins. 3. Synthesis, Photophysical Properties, and in Vitro Studies of Photosensitization, Uptake, and Localization with Carboxylic Acid-Substituted Derivatives, *J. Med. Chem.* 46 (2003) 3734–3747.
- [40] M.J. Broadhurst, R. Grigg, A.W. Johnson, Sulphur extrusion reactions applied to the synthesis of corroles and related systems, *J. Chem. Soc. Perk. T. 1.* (1972) 1124–1135.
- [41] H. Kamiya, T. Kondo, T. Sakida, S. Yamaguchi, H. Shinokubo, *meso*-Thiaporphyrinoids Revisited: Missing of Sulfur by Small Metals, *Chem. - Eur. J.* 18 (2012) 16129–16135.
- [42] S. Ahmed, E. Davoust, H. Savoie, A.N. Boa, R.W. Boyle, Thioglycosylated cationic porphyrins—convenient synthesis and photodynamic activity in vitro, *Tetrahedron Lett.* 45 (2004) 6045–6047.
- [43] S. Singh, A. Aggarwal, S. Thompson, J.P.C. Tomé, X. Zhu, D. Samaroo, M. Vinodu, R. Gao, C.M. Drain, Synthesis and Photophysical Properties of Thioglycosylated Chlorins, Isobacteriochlorins, and Bacteriochlorins for Bioimaging and Diagnostics, *Bioconjug. Chem.* 21 (2010) 2136–2146.
- [44] J. Piskorz, P. Skupin, S. Lijewski, M. Korpusinski, M. Sciepora, K. Konopka, S. Sobiak, T. Goslinski, J. Mielcarek, Synthesis, physical–chemical properties and in vitro photodynamic activity against oral cancer cells of novel porphyrazines possessing fluoroalkylthio and dietherthio substituents, *J. Fluor. Chem.* 135 (2012) 265–271.
- [45] M.M. Ayhan, M. Durmuş, A.G. Gürek, Synthesis, photophysical and photochemical studies of novel liquid crystalline phthalocyanines, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 13 (2009) 722–738.
- [46] M. Mayukh, C.M. Sema, J.M. Roberts, D.V. McGrath, Solvent-Free Synthesis of Soluble, Near-IR Absorbing Titanyl Phthalocyanine Derivatives, *J. Org. Chem.* 75 (2010) 7893–7896.
- [47] G. Mbambisa, T. Nyokong, Synthesis and electrochemical characterisation of a near infrared absorbing oxo vanadium(IV) octapentylthio-phthalocyanine, *Polyhedron* 27 (2008) 2799–2804.
- [48] S.J. Lange, J.W. Sibert, C.L. Stern, A.G.M. Barrett, B.M. Hoffman, Macrocyclic dithiomaleonitrile derivatives containing sulfur and nitrogen heteroatoms, *Tetrahedron* 51 (1995) 8175–8188.
- [49] T. Goslinski, C. Zhong, M.J. Fuchter, A.J.P. White, A.G.M. Barrett, B.M. Hoffman, Serendipitous synthesis of trimetallic porphyrazine triads, *Tetrahedron Lett.* 50 (2009) 5178–5181.
- [50] B.J. Vesper, S. Lee, N.D. Hammer, K.M. Elseth, A.G.M. Barrett, B.M. Hoffman, J.A. Radosevich, Developing a structure–function relationship for anionic porphyrazines exhibiting selective anti-tumor activity, *J. Photochem. Photobiol. B* 82 (2006) 180–186.
- [51] S. Lee, B.J. Vesper, H. Zong, N.D. Hammer, K.M. Elseth, A.G.M. Barrett, B.M. Hoffman, J.A. Radosevich, Synthesis and Biological Analysis of Thiotetra(ethylene glycol) monomethyl Ether-Functionalized Porphyrazines: Cellular Uptake and Toxicity Studies, *Met.-Based Drugs* 2008 (2008) 1–13.

- [52] T.-W. Leung, S.Y. Tung, W.-K. Sze, F.C.-S. Wong, K.-K. Yuen, C.M.-M. Lui, S.-H. Lo, T.-Y. Ng, S.-K. O, Treatment results of 1070 patients with nasopharyngeal carcinoma: An analysis of survival and failure patterns, *Head Neck* 27 (2005) 555–565.
- [53] V.V. Sokolov, V.I. Chissov, R.I. Yakubovskaya, E.I. Aristarkhova, E.V. Filonenko, T.A. Belous, G.N. Vorozhtsov, N.N. Zharkova, V.V. Smirnov, M.B. Zhitkova, Photodynamic therapy (PDT) of malignant tumors by photosensitizer photosens: results of 45 clinical cases, w: B. Ehrenberg, G. Jori, J. Moan (Eds.), Barcelona, Spain, 1996: 281–287.
- [54] O.I. Apolikhin, I.V. Chernishov, A.V. Sivkov, D.V. Altunin, S.G. Kuzmin, G.N. Vorozhtsov, Adjuvant Photodynamic Therapy (PDT) with Photosensitizer Photosens for Superficial Bladder Cancer. Experimental investigations to treat prostate cancer by PDT with Photosens., w: Eur. Conf. Biomed. Opt., Optical Society of America, 2007: 6632–6664.
- [55] G.A. Gauna, J. Marino, M.C. García Vior, L.P. Roguin, J. Awruch, Synthesis and comparative photodynamic properties of two isosteric alkyl substituted zinc(II) phthalocyanines, *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011) 5532–5539.
- [56] D. Atilla, N. Saydan, M. Durmuş, A.G. Gürek, T. Khan, A. Rück, H. Walt, T. Nyokong, V. Ahsen, Synthesis and photodynamic potential of tetra- and octa-triethyleneoxysulfonyl substituted zinc phthalocyanines, *J. Photochem. Photobiol. A* 186 (2007) 298–307.
- [57] Principles of Neutron Capture Therapy, w: Boron Gadolinium Neutron Capture Ther. Cancer Treat., World Scientific, 2012: 35–40.
- [58] A.H. Soloway, W. Tjarks, B.A. Barnum, F.-G. Rong, R.F. Barth, I.M. Codogni, J.G. Wilson, The chemistry of neutron capture therapy, *Chem. Rev.* 98 (1998) 1515–1562.
- [59] D. Pietrangeli, A. Rosa, S. Ristori, A. Salvati, S. Altieri, G. Ricciardi, Carboranyl-porphyrazines and derivatives for boron neutron capture therapy: From synthesis to in vitro tests, *Coord. Chem. Rev.* 257 (2013) 2213–2231.
- [60] D. Pietrangeli, A. Rosa, G. Ricciardi, Synthesis and characterization of nanosized polycarboranyl-porphyrazine conjugates, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 15 (2011) 1024–1032.
- [61] S. Altieri, M. Balzi, S. Bortolussi, P. Bruschi, L. Ciani, A.M. Clerici, P. Faraoni, C. Ferrari, M.A. Gadan, L. Panza, D. Pietrangeli, G. Ricciardi, S. Ristori, Carborane Derivatives Loaded into Liposomes as Efficient Delivery Systems for Boron Neutron Capture Therapy, *J. Med. Chem.* 52 (2009) 7829–7835.
- [62] D. Pietrangeli, A.V. Soldatova, D. Casarini, A. Rosa, G. Ricciardi, On the flexibility of carboranylalkylthio substituents in porphyrazines and its relevance to the photophysical properties, *Inorg. Chem. Front.* 1 (2014) 464–467.
- [63] D. Pietrangeli, A. Rosa, A. Pepe, G. Ricciardi, Symmetrically Substituted *nido* - Carboranylphthalocyanines: Facile Synthesis, Characterization, and Solution Properties. Evidence for Intra- and Intermolecular H⁺/K⁺ Exchange, *Inorg. Chem.* 50 (2011) 4680–4682.
- [64] D. Pietrangeli, A. Rosa, A. Pepe, S. Altieri, S. Bortolussi, I. Postuma, N. Protti, C. Ferrari, L. Cansolino, A.M. Clerici, E. Viola, M.P. Donzello, G. Ricciardi, Water-soluble carboranyl-phthalocyanines for BNCT. Synthesis, characterization, and in vitro tests of the Zn(II)-nido-carboranyl-hexylthiophthalocyanine, *Dalton Trans.* 44 (2015) 11021–11028.
- [65] Z. Chen, X. Zhou, Z. Li, L. Niu, J. Yi, F. Zhang, The third-order optical nonlinearities of thiophene-bearing phthalocyanines studied by Z-scan technique, *J. Photochem. Photobiol. A* 218 (2011) 64–68.

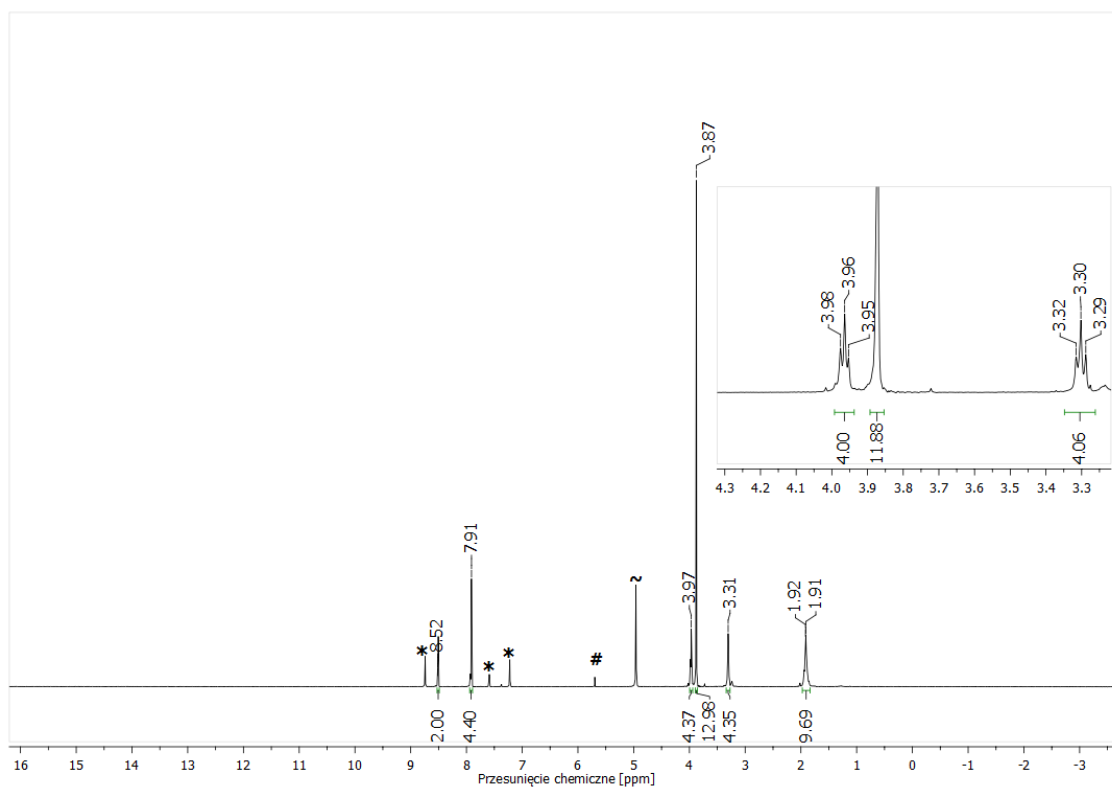
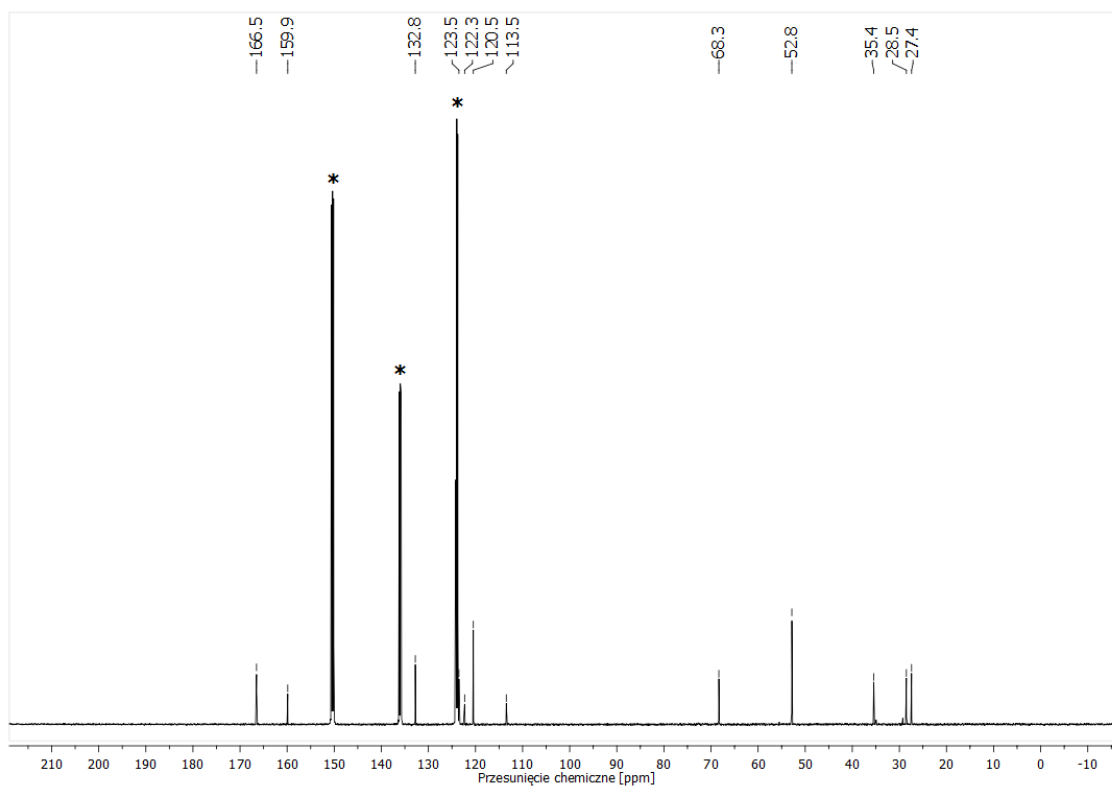
- [66] C.S. Eberle, A.S. Viana, F.-P. Montforts, L.M. Abrantes, Synthesis and self-assembly of a novel cobalt(II) porphyrin lipoic acid derivative on gold, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 14 (2010) 101–107.
- [67] I. Ponce, J.F. Silva, R. Oñate, M.C. Rezende, M.A. Paez, J.H. Zagal, J. Pavez, F. Mendizabal, S. Miranda-Rojas, A. Muñoz-Castro, R. Arratia-Pérez, Enhancement of the Catalytic Activity of Fe Phthalocyanine for the Reduction of O₂ Anchored to Au(111) via Conjugated Self-Assembled Monolayers of Aromatic Thiols As Compared to Cu Phthalocyanine, *J. Phys. Chem. C* 116 (2012) 15329–15341.
- [68] N. Masilela, E. Antunes, T. Nyokong, Axial coordination of zinc and silicon phthalocyanines to silver and gold nanoparticles: an investigation of their photophysicochemical and antimicrobial behavior, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 17 (2013) 417–430.
- [69] S. Lijewski, Synteza i właściwości fizyko–chemiczne nowych porfirazyn posiadających peryferyjne rozbudowane ugrupowania tiolowe, Praca magisterska, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu (2011).
- [70] S. Lijewski, J. Piskorz, M. Kucinska, M. Wierzchowski, K. Czerniak, H. Billert, M. Murias, J. Mielcarek, T. Goslinski, Synthesis, characterization, photochemical properties and cytotoxicity of the novel porphyrazine functionalized with nitroimidazolylbutylsulfanyl groups, *Inorg. Chem. Commun.* 29 (2013) 97–100.
- [71] F. Aldabbagh, W.R. Bowman, E. Mann, A.M.Z. Slawin, Bu₃SnH mediated oxidative radical cyclisation onto imidazoles and pyrroles, *Tetrahedron* 55 (1999) 8111–8128.
- [72] E.A. Mayeda, A.J. Bard, Production of singlet oxygen in electrogenerated radical ion electron transfer reactions, *J. Am. Chem. Soc.* 95 (1973) 6223–6226.
- [73] W. Spiller, H. Kliesch, D. Wöhrle, S. Hackbarth, B. Röder, G. Schnurpfeil, Singlet Oxygen Quantum Yields of Different Photosensitizers in Polar Solvents and Micellar Solutions, *J. Porphyr. Phthalocyanines* 2 (1998) 145–158.
- [74] R.W. Redmond, J.N. Gamlin, A Compilation of Singlet Oxygen Yields from Biologically Relevant Molecules, *Photochem. Photobiol.* 70 (1999) 391–475.
- [75] N. Kandoth, E. Vittorino, M.T. Sciortino, T. Parisi, I. Colao, A. Mazzaglia, S. Sortino, A Cyclodextrin-Based Nanoassembly with Bimodal Photodynamic Action, *Chem. - Eur. J.* 18 (2012) 1684–1690.
- [76] K. Ghosh, S. Kumar, R. Kumar, Synthesis and characterization of a novel ruthenium nitrosyl complex and studies on photolability of coordinated NO, *Inorg. Chem. Commun.* 14 (2011) 146–149.
- [77] S.M. Abdelghany, D. Schmid, J. Deacon, J. Jaworski, F. Fay, K.M. McLaughlin, J.A. Gormley, J.F. Burrows, D.B. Longley, R.F. Donnelly, C.J. Scott, Enhanced Antitumor Activity of the Photosensitizer *meso*-Tetra(*N*-methyl-4-pyridyl) Porphine Tetra Tosylate through Encapsulation in Antibody-Targeted Chitosan/Alginate Nanoparticles, *Biomacromolecules* 14 (2013) 302–310.
- [78] N. Sehlotho, T. Nyokong, Effects of ring substituents on electrocatalytic activity of manganese phthalocyanines towards the reduction of molecular oxygen, *J. Electroanal. Chem.* 595 (2006) 161–167.
- [79] S. Lijewski, T. Rębiś, D. Wachowska, G. Milczarek, T. Gośliński, Właściwości elektrochemiczne nowych porfirazyn posiadających peryferyjne ugrupowanie 4-nitroimidazolilobutylosulfanylowe, *Przem. Chem.* 93 (2014) 2229–2231.
- [80] E. Buhleier, W. Wehner, F. Vögtle, “Cascade”- and “Nonskid-Chain-like” Syntheses of Molecular Cavity Topologies, *Synthesis* 1978 (1978) 155–158.
- [81] H.-F. Chow, C.-F. Leung, G.-X. Wang, Y.-Y. Yang, Dendritic effects in functional dendrimer molecules, *Comptes Rendus Chim.* 6 (2003) 735–745.

- [82] G. Pistolis, A. Malliaris, D. Tsiourvas, C.M. Paleos, Poly (propyleneimine) dendrimers as pH-sensitive controlled-release systems, *Chem. - Eur. J.* 5 (1999) 1440–1444.
- [83] L. Zhu, M. Lu, D. Qu, Q. Wang, H. Tian, Coordination-assembly for quantitative construction of bis-branched molecular shuttles, *Org. Biomol. Chem.* 9 (2011) 4226–4233.
- [84] S. Höger, Methoxycarbonyl-Terminated Dendrons via the Mitsunobu Reaction: An Easy Way to Functionalized Hyperbranched Building Blocks, *Synthesis*. 1997 (1997) 20–22.
- [85] S. Tuncer, A. Koca, A. Gül, U. Avciata, Synthesis, characterization, electrochemistry and spectroelectrochemistry of novel soluble porphyrazines bearing unsaturated functional groups, *Dyes Pigments* 92 (2012) 610–618.
- [86] M. Kandaz, A.R. Özkaya, A. Koca, B. Salih, Water and alcohol-soluble octakis-metalloporphyrazines bearing sulfanyl polyetherol substituents: Synthesis, spectroscopy and electrochemistry, *Dyes Pigments* 74 (2007) 483–489.
- [87] S. Tuncer, A. Koca, A. Gul, U. Avciata, 1,4-Dithiaheterocycle-fused porphyrazines: Synthesis, characterization, voltammetric and spectroelectrochemical properties, *Dyes Pigments* 81 (2009) 144–151.
- [88] T. Rebis, S. Lijewski, J. Nowicka, L. Popenda, L. Sobotta, S. Jurga, J. Mielcarek, G. Milczarek, T. Goslinski, Electrochemical properties of metallated porphyrazines possessing isophthaloxybutylsulfanyl substituents: Application in the electrocatalytic oxidation of hydrazine, *Electrochim. Acta* 168 (2015) 216–224.
- [89] Agilent, CrysAlis PRO. Agilent Technologies Ltd, Yarnton, Oxfordshire, England, 2014.
- [90] N. Miyaura, A. Suzuki, Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds, *Chem. Rev.* 95 (1995) 2457–2483.
- [91] A. Suzuki, Recent advances in the cross-coupling reactions of organoboron derivatives with organic electrophiles, 1995–1998, *J. Organomet. Chem.* 576 (1999) 147–168.
- [92] T. Ishiyama, M. Murata, N. Miyaura, Palladium(0)-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Alkoxydiboron with Haloarenes: A Direct Procedure for Arylboronic Esters, *J. Org. Chem.* 60 (1995) 7508–7510.
- [93] L. Liu, W. Wang, C. Xiao, A simple and efficient protocol for Suzuki coupling reactions of aryl chlorides and aryl bromides in aqueous DMF, *J. Organomet. Chem.* 749 (2014) 83–87.
- [94] M.C. Burla, R. Caliandro, M. Camalli, B. Carrozzini, G.L. Cascarano, L. De Caro, C. Giacovazzo, G. Polidori, R. Spagna, *SIR2004*: an improved tool for crystal structure determination and refinement, *J. Appl. Crystallogr.* 38 (2005) 381–388.
- [95] L.J. Farrugia, *WinGX* and *ORTEP for Windows*: an update, *J. Appl. Crystallogr.* 45 (2012) 849–854.
- [96] G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with *SHELXL*, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* 71 (2015) 3–8.
- [97] N. Düzgüneş, Preparation and Quantitation of Small Unilamellar Liposomes and Large Unilamellar Reverse-Phase Evaporation Liposomes, w: *Methods Enzymol.*, Elsevier, 2003: 23–27.

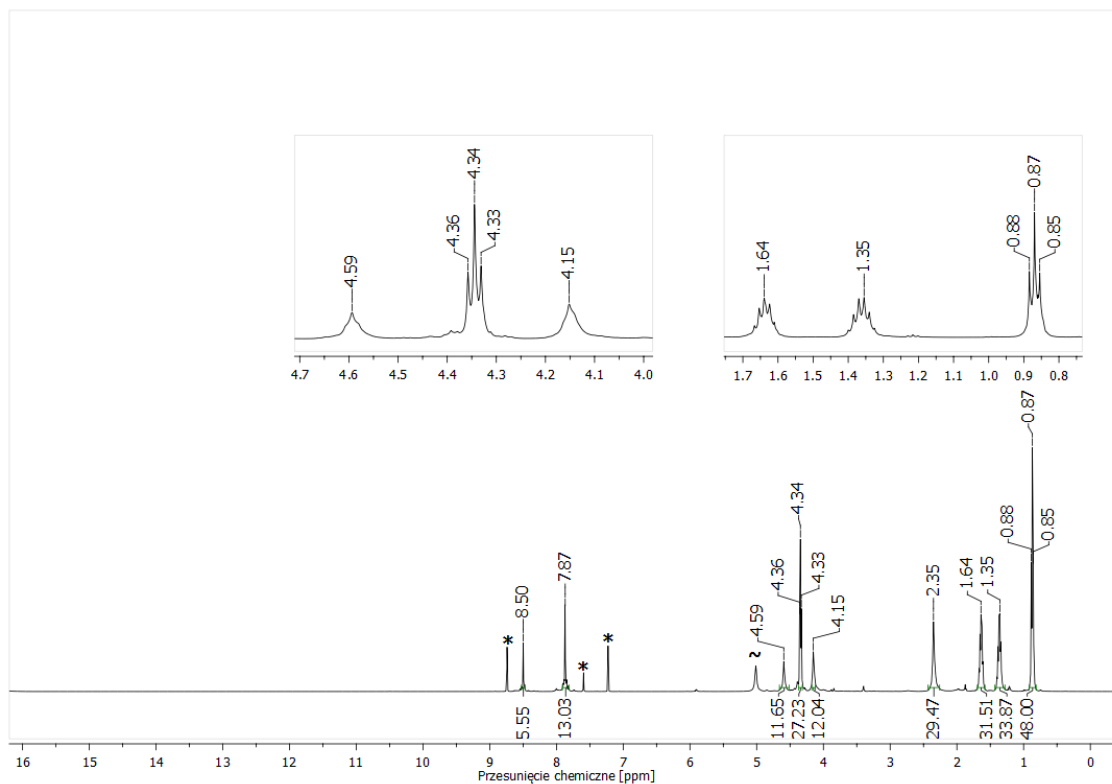
XII. SUPPLEMENT

W suplemencie zastosowano następujące oznaczenia dla sygnałów rozpuszczalników obserwowanych w widmach NMR:

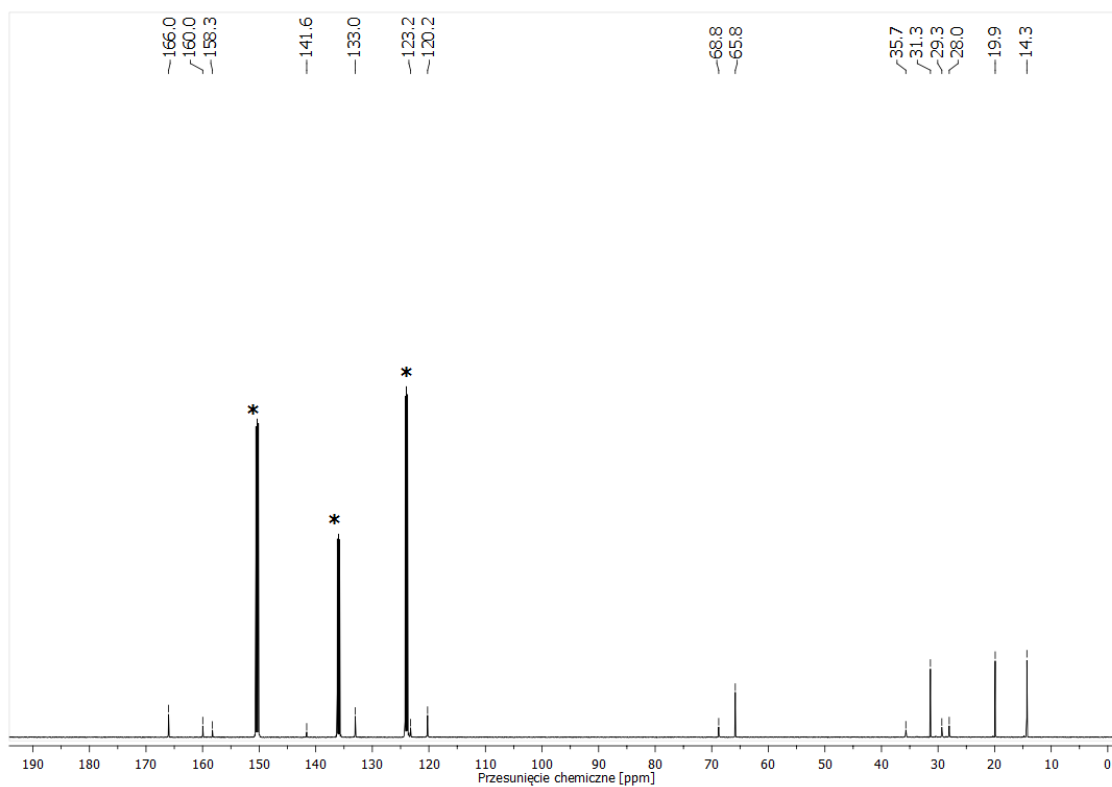
- * – sygnał reszkowy deuterowanego rozpuszczalnika (pirydyna- d_5 , DMSO- d_6)
- ~ – woda
- # – dichlorometan
- \$ – dimetyloformamid

(2Z)-2,3-Bis{4-[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksy]butylosulfanylo}but-2-enodinitryl (**10**)Widmo ^1H NMR związku **10** w pirydynie- d_5 Widmo ^{13}C NMR związku **10** w pirydynie- d_5

Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis{[4-(3,5-dibutoksykarbonylofenoksy)butylo]-sulfanylo}porfirazyna (**11**)

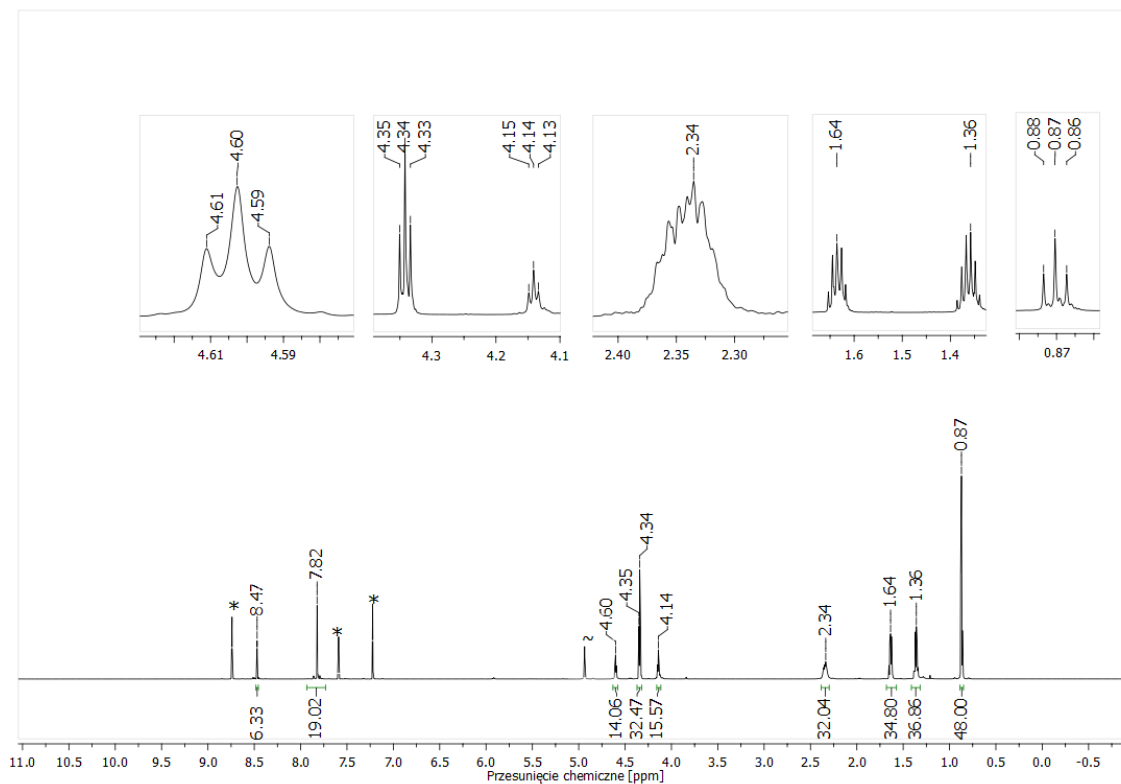


Widmo ^1H NMR związku **11** w pirydynie- d_5

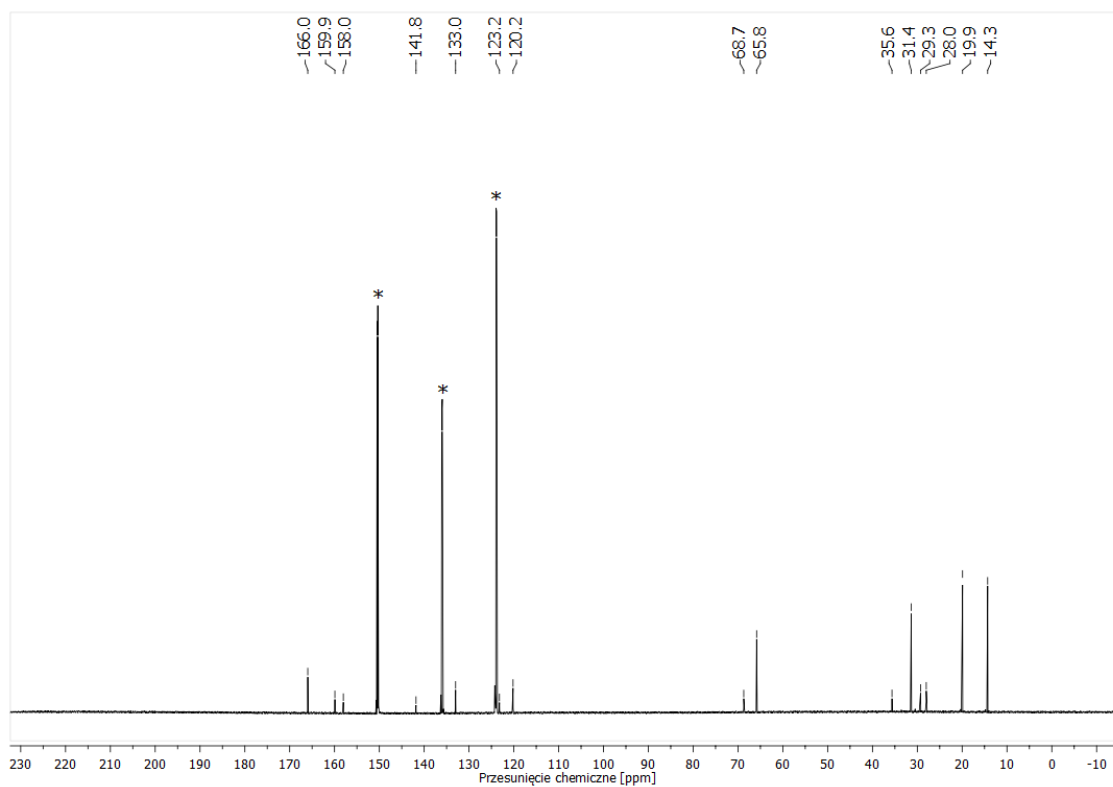


Widmo ^{13}C NMR związku **11** w pirydynie- d_5

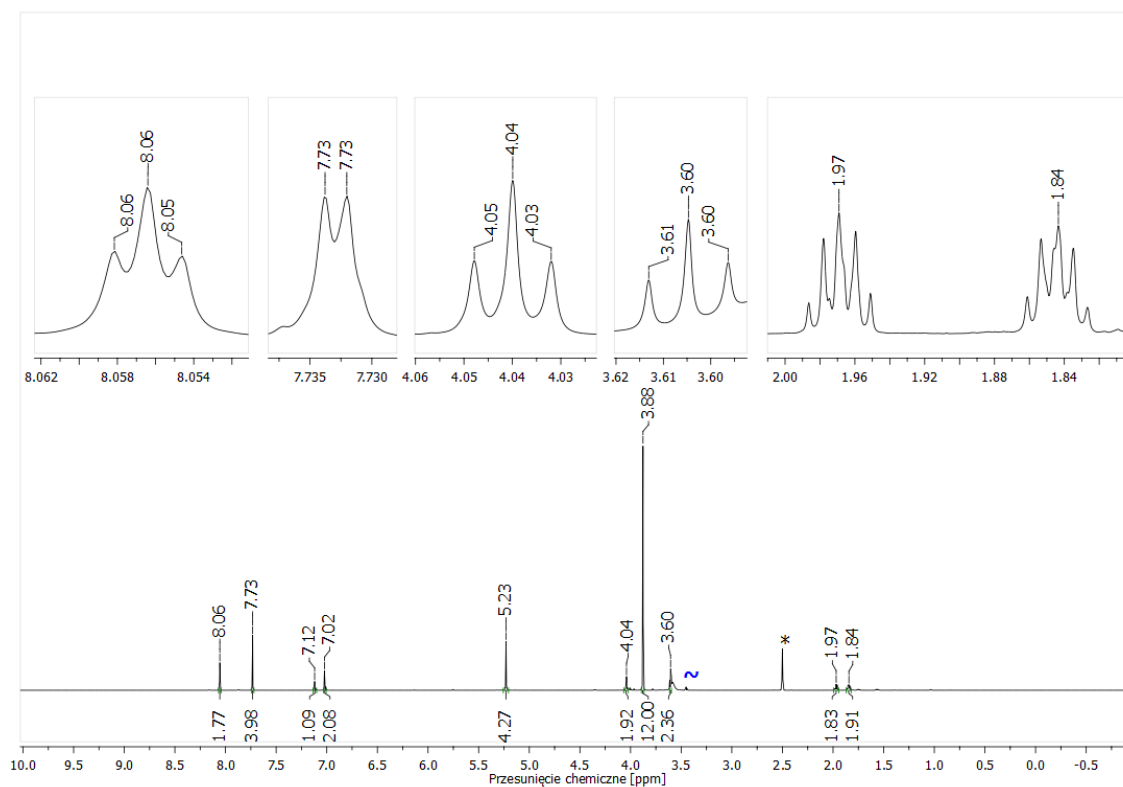
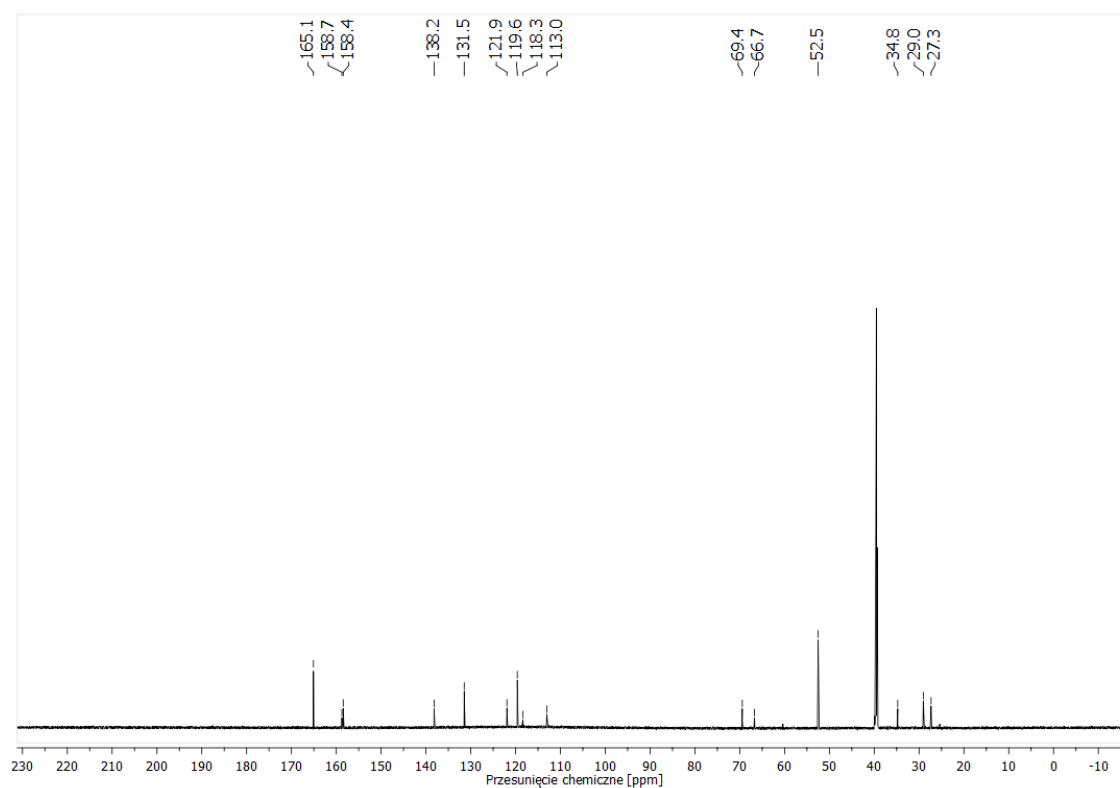
Cynk(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis{[4-(3,5-dibutoksykarbonylofenoksy)butylo]-
-sulfanylo}porfirazyna (**13**)



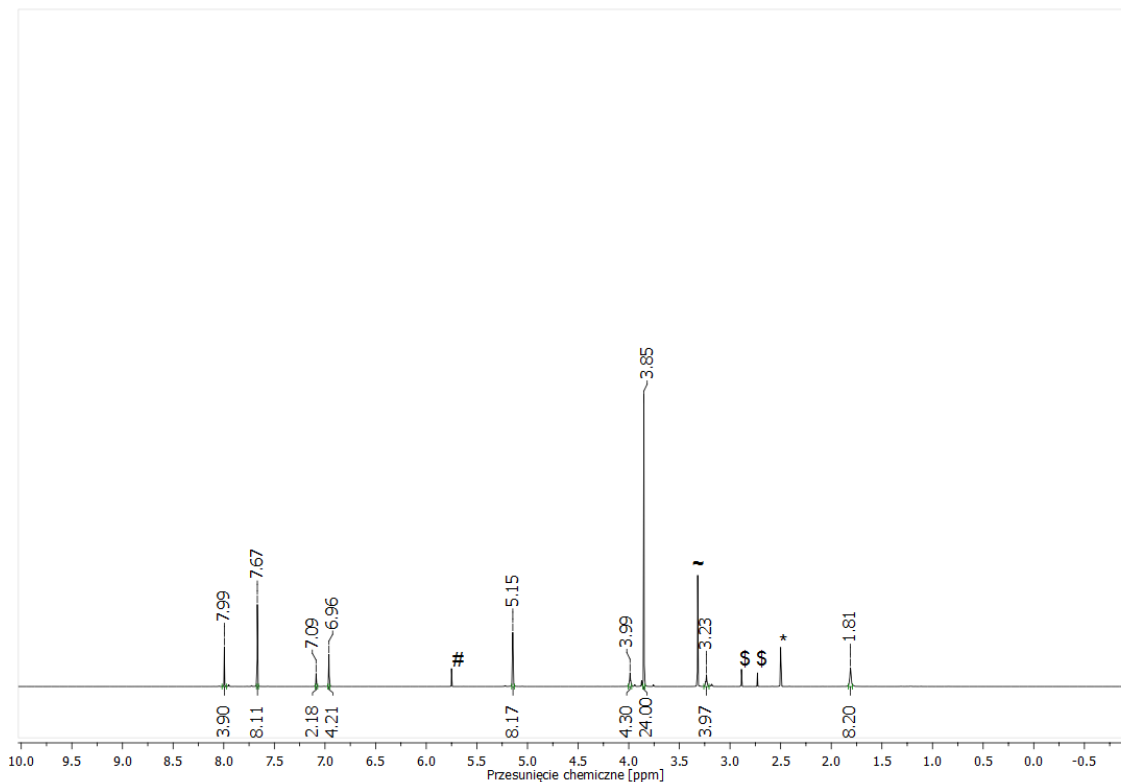
Widmo ^1H NMR związku **13** w pirydynie- d_5



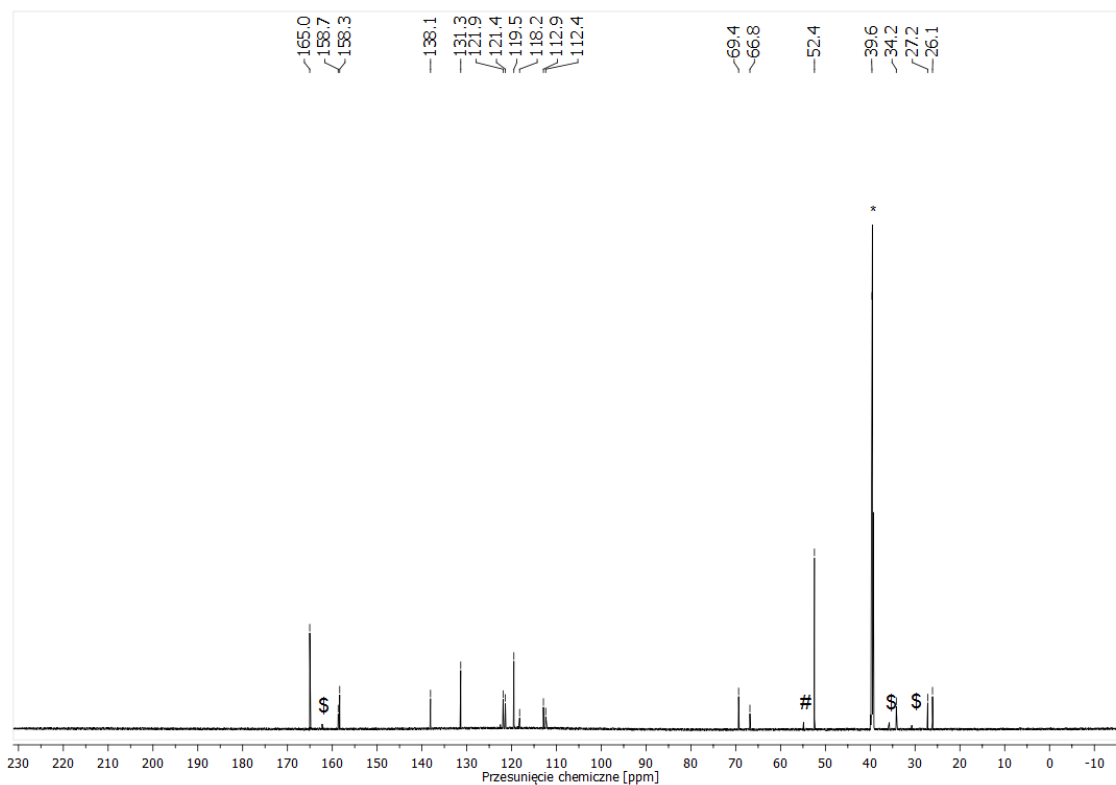
Widmo ^{13}C NMR związku **13** w pirydynie- d_5

1-(4-Bromobutoksy)-3,5-bis[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksymetylo]benzen (**19**)Widmo ^1H NMR związku **19** w $\text{DMSO-}d_6$ Widmo ^{13}C NMR związku **19** w $\text{DMSO-}d_6$

(2Z)-2,3-Bis(4-{3,5-bis[3,5-bis(metoksykarbonylo)fenoksymetylo]fenoksy}butylo sulfanylo)but-2-enodinitryl (**20**)

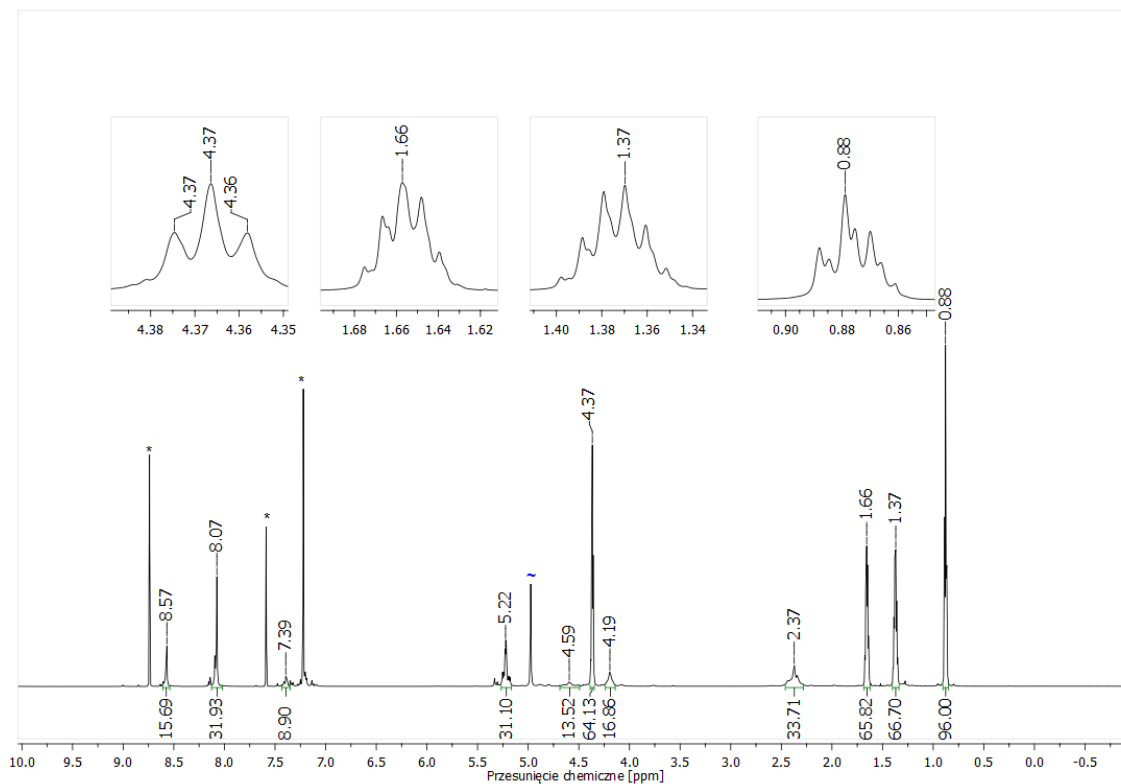


Widmo ^1H NMR związku **20** w $\text{DMSO-}d_6$

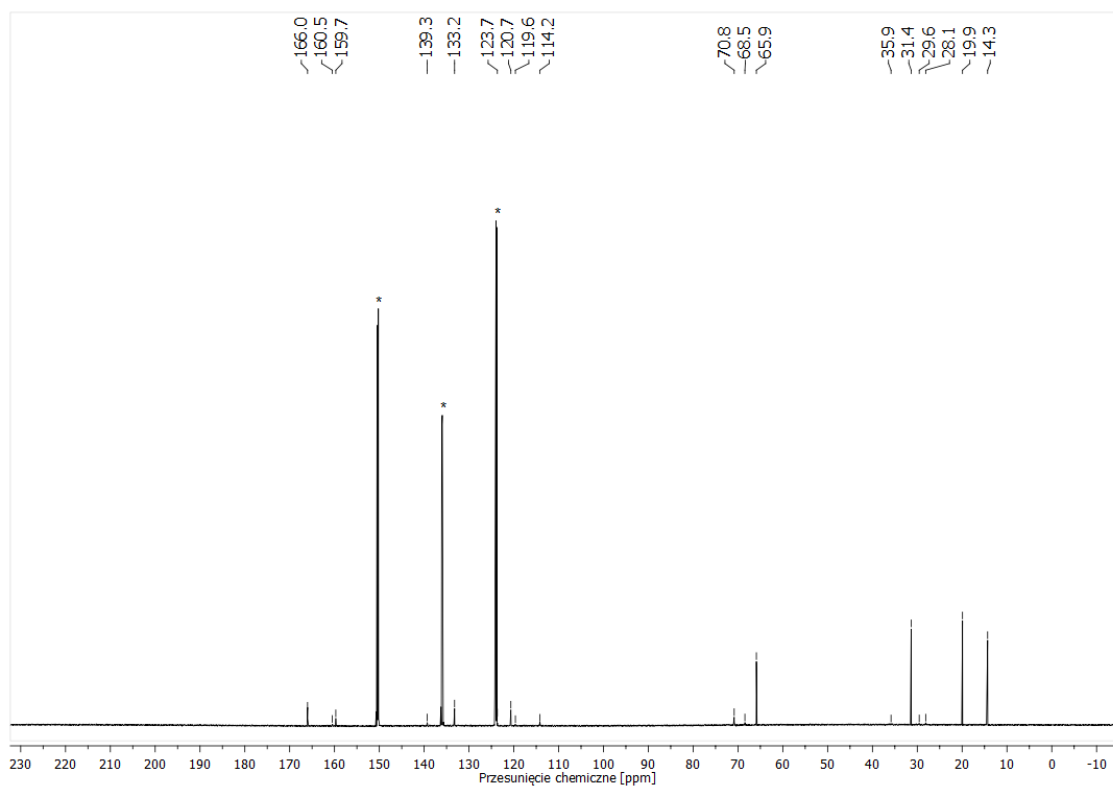


Widmo ^{13}C NMR związku **20** w $\text{DMSO-}d_6$

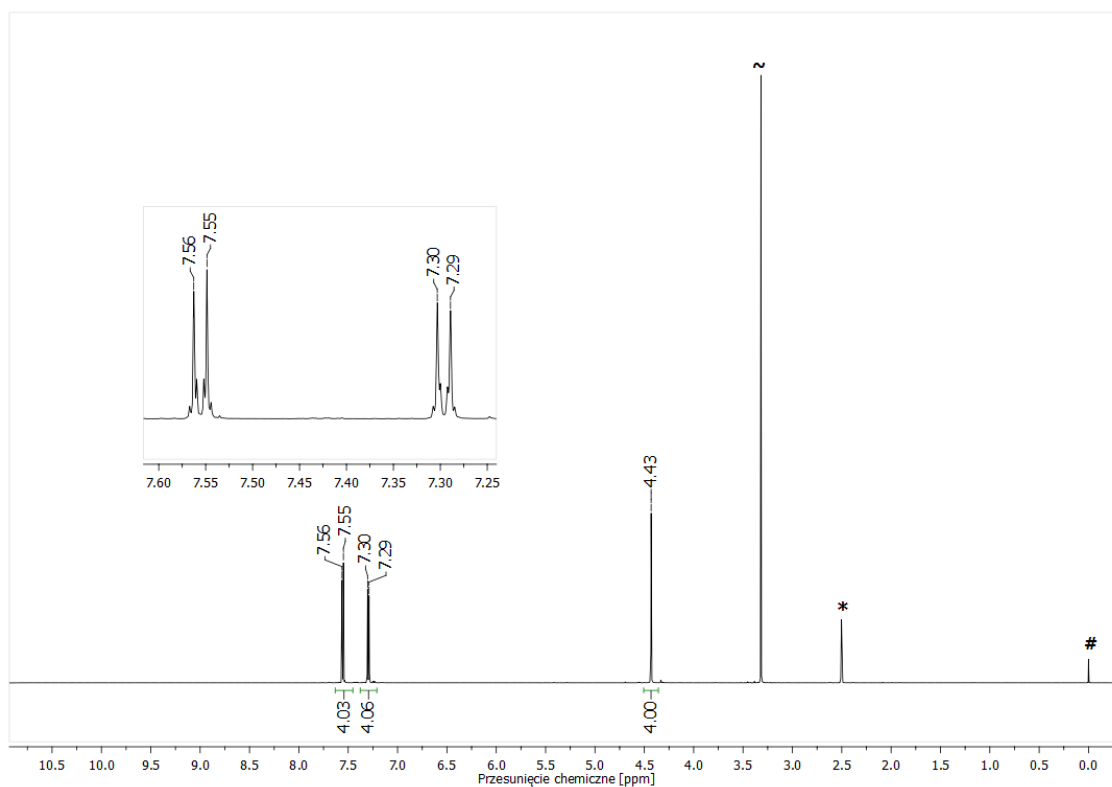
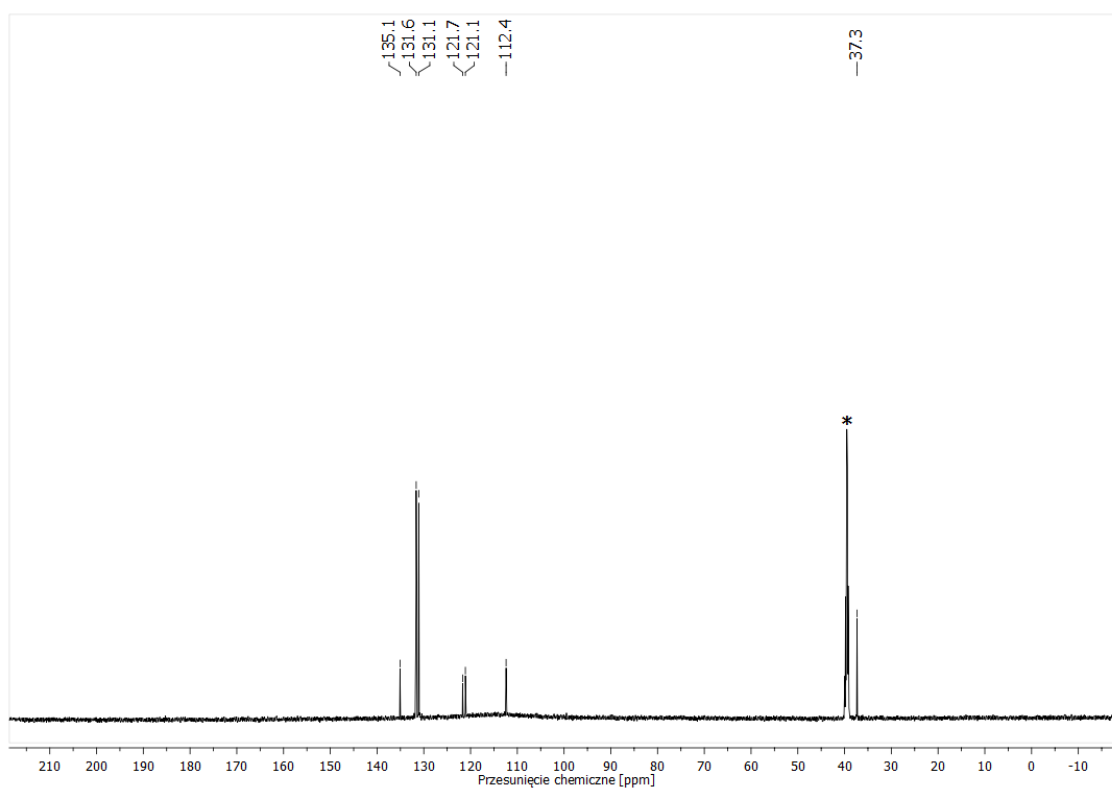
Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis[(4-{3,5-bis[3,5-bis(butoksykarbonylo)fenoksymetylo]fenoksy}butylosulfanylo)]porfirazyna (**21**)

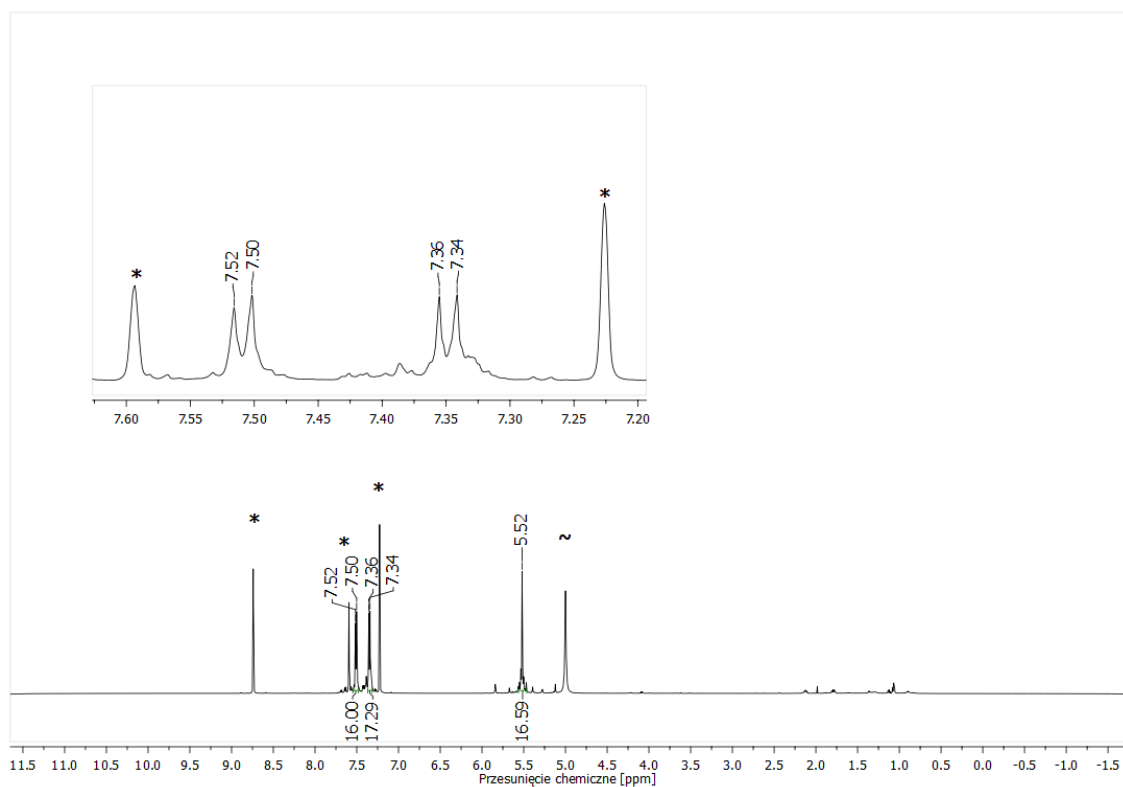
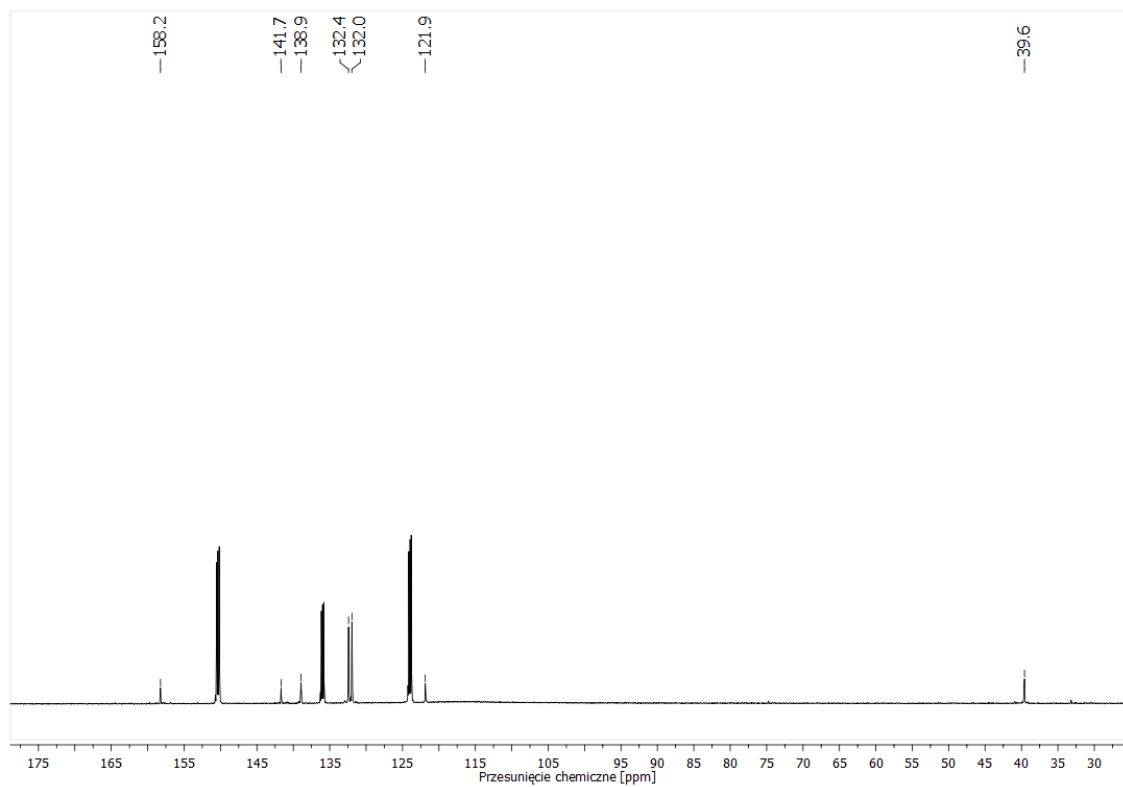


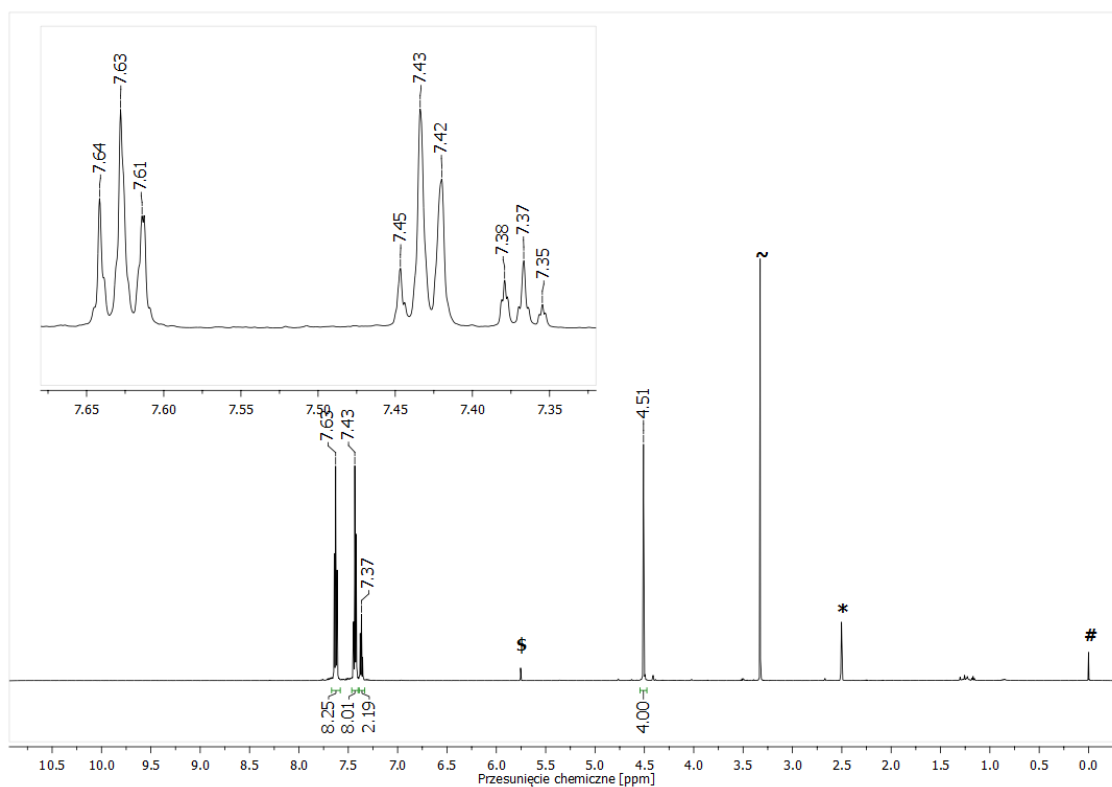
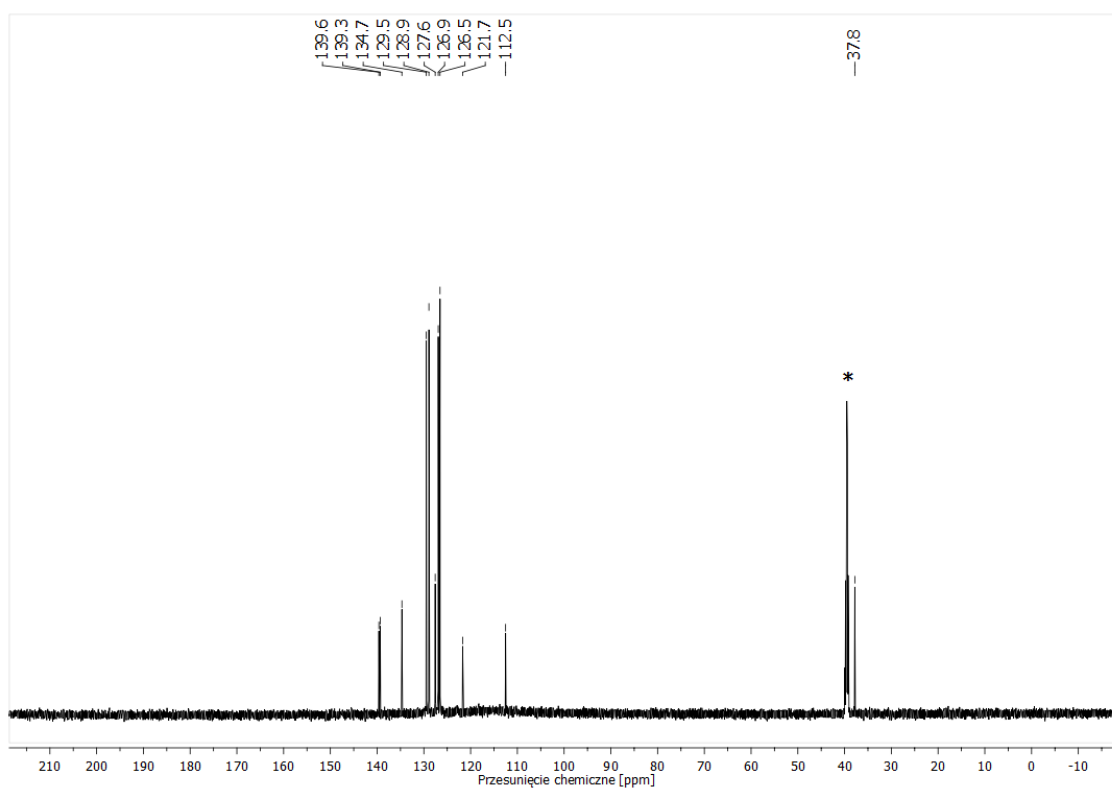
Widmo ^1H NMR związku **21** w pirydynie- d_5

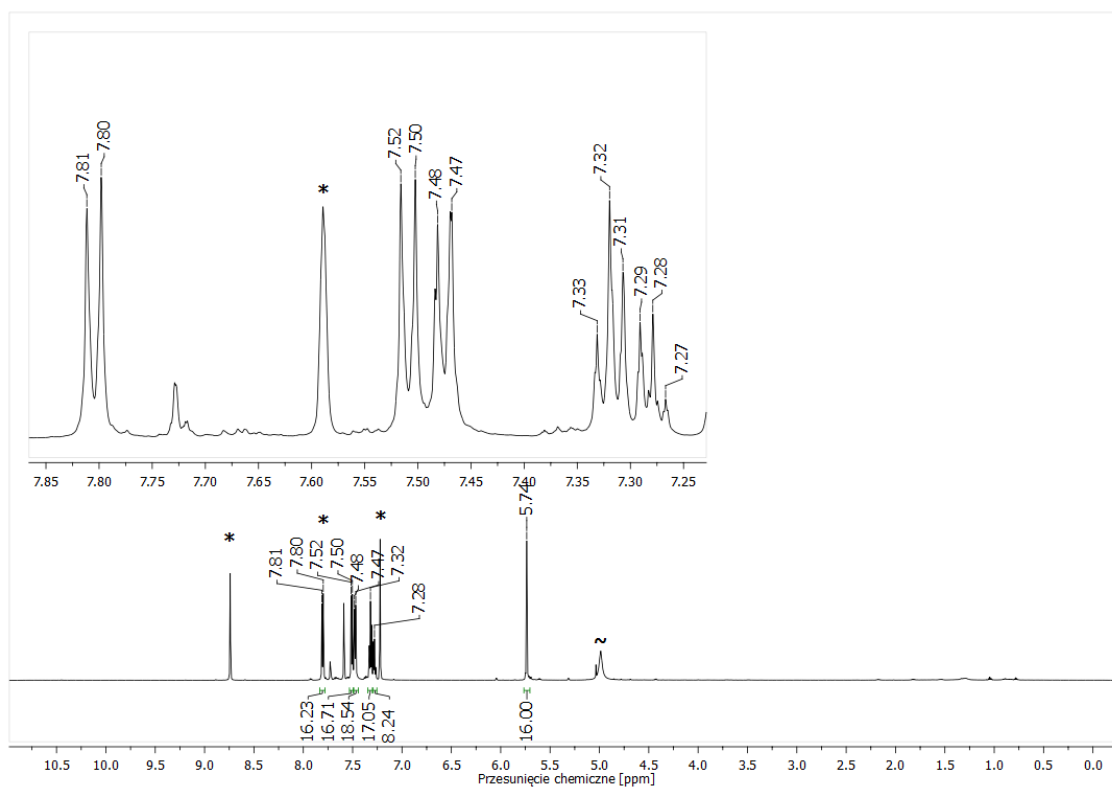
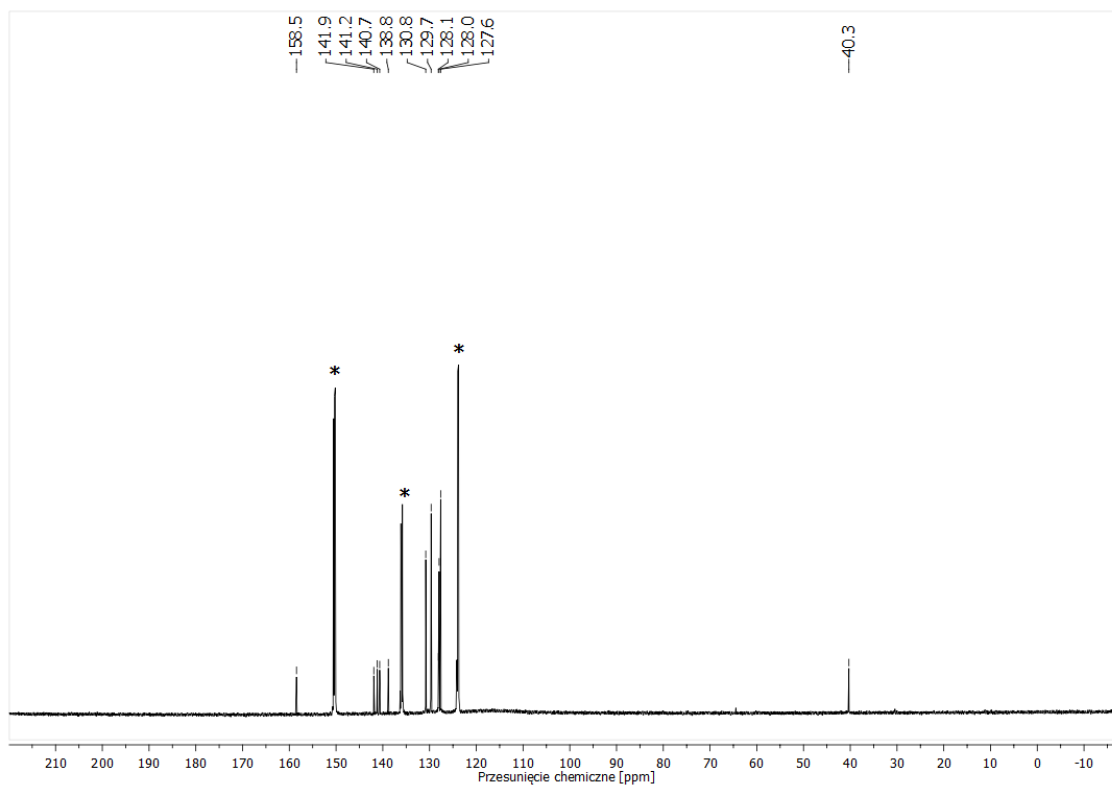


Widmo ^{13}C NMR związku **21** w pirydynie- d_5

(2Z)-2,3-Bis(4-bromobenzoylsulfanylo)but-2-enodinitryl (23)Widmo ¹H NMR związku **23** w DMSO-*d*₆Widmo ¹³C NMR związku **23** w DMSO-*d*₆

Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis(4-bromobenzylsulfanylo)porfirazyna (**24**)Widmo ¹H NMR związku **24** w pirydynie-*d*₅Widmo ¹³C NMR związku **24** w pirydynie-*d*₅

(2Z)-2,3-Bis(bifenyl-4-ilometylosulfanylo)but-2-enodinitryl (26)Widmo ¹H NMR związku **26** w DMSO-*d*₆Widmo ¹³C NMR związku **26** w DMSO-*d*₆

Magnez(II) 2,3,7,8,12,13,17,18-oktakis(bifenyl-4-ilometylosulfanylo)porfirazyna (**27**)Widmo ¹H NMR związku **27** w pirydynie-*d*₅Widmo ¹³C NMR związku **27** w pirydynie-*d*₅

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 fizykochemiczna oraz ocena możliwości zastosowania w medycynie oraz nanotechnologii siarkowych pochodnych porfirazyn".

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