

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **235382**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **402264**

(22) Data zgłoszenia: **27.12.2012**

(51) Int.Cl.
C07D 487/22 (2006.01)
C09B 47/04 (2006.01)
A61K 41/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **Zastosowanie nitroimidazolowych i polietierowo-nitroimidazolowych pochodnych ftalocyjanin**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
07.07.2014 BUP 14/14

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
13.07.2020 WUP 09/20

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA
MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU,
Poznań, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

MARCIN WIERZCHOWSKI, Poznań, PL
TOMASZ GOŚLIŃSKI, Poznań, PL
KRYSTYNA KONOPKA, San Bruno, US
JUSTYNA KRUK, Bierzglinek, PL
MICHAŁ MIERZWICKI, Poznań, PL
ŁUKASZ SOBOTTA, Czarnków, PL
NEJAT DUZGUNES, Mill Valley, US
JADWIGA MIELCAREK, Poznań, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Wojciech Lisiecki

PL 235382 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie nowych nitroimidazolowych i polieterowo-nitroimidazolowych pochodnych ftalocyjanin o ogólnym wzorze 1, do wytwarzania leków stosowanych w terapii fotodynamicznej.

Różnorodność chorób nowotworowych wymusza poszukiwanie nowych, skuteczniejszych metod terapii i środków leczniczych.

Jednym z kierunków rozwoju metod terapeutycznych w onkologii jest terapia fotodynamiczna (Photodynamic Therapy) – PDT, która umożliwia niszczenia tkanek nowotworowych, bez uszkodzania tkanek zdrowych, w sposób selektywny. Metoda ta polega na wykorzystaniu reakcji fotochemicznych, sensybilizowanych specjalnymi barwnikami. W PDT czynnik fotouczulający podaje się do tkanki nowotworowej, gdzie jest następnie aktywowany światłem.

Terapia fotodynamiczna stosowana jest również w leczeniu schorzeń wywołanych infekcjami bakteryjnymi lub pierwotniakowymi. Doniesienia prasy naukowej potwierdzają również możliwość zastosowania terapii fotodynamicznej w przypadku takich schorzeń skórnych jak: rogowacenie słoneczne, łuszczyca, choroby o podłożu autoimmunologicznym, w okulistyce i stomatologii (1).

Rola fotouczulacza polega na przeniesieniu energii wzbudzenia na tlen cząsteczkowy, celem wygenerowania aktywnych form tlenu lub przez atak wzbudzonego fotouczulacza na biomolekuły obecne w komórce. Z reaktywnych form tlenu wytwarzanych w procesie fotodynamicznym najważniejszą rolę spełnia tzw. tlen singletowy czyli cząsteczka tlenu wzbudzona do pierwszego stanu singletowego ($^1\Delta g$). W literaturze opisano dwa mechanizmy reakcji fotodynamicznej. Oba mogą występować jednocześnie, ale o dominacji jednego z nich, decyduje ciśnienie parcjalne tlenu w miejscu zachodzenia reakcji fotochemicznej (2).

Reakcja przebiega wg typu I, gdy w tkance poddawanej terapii fotodynamicznej występuje niskie stężenie parcjalne cząsteczek tlenu. Pod wpływem światła cząsteczka fotosensybilizatora jest wzbudzana ze stanu podstawowego S_0 , do pierwszego stanu wzbudzonego S_1 , a następnie przechodzi do najniższego stanu trypletowego T_1 . Przejście w stan T_1 jest kluczowe, ponieważ to ta wzbudzona forma cząsteczki odpowiedzialna jest za wszystkie dalsze przemiany fotodynamiczne. Fotouczulacz wzbudzony do stanu trypletowego reaguje bezpośrednio z cząsteczkami akceptorowymi, przenosząc wodór lub elektron na cząsteczki substratów, którymi są m.in. różnego rodzaju biocząsteczki obecne w komórce, co skutkuje uszkodzeniem organelli komórek (3). Uszkodzenie zmienionych chorobowo tkanek może też zachodzić na drodze reakcji cząsteczek wody z fotosensybilizatorem w stanie T_1 generując powstanie reaktywnych form tlenu jak rodniki nadtlenkowe, nadtlenek wodoru, oraz rodniki hydroksylowe. Wymienione reaktywne formy tlenu atakują obecne w komórce biomolekuły takie jak aminolipidy i białka (4).

W reakcji typu II tak jak i w reakcji typu I kluczową rolę odgrywają cząsteczki fotouczulacza w stanie T_1 . W reakcji typu II stężenie parcjalne tlenu jest na tyle wysokie że to właśnie z cząsteczką tlenu reaguje fotosensybilizator w stanie T_1 co prowadzi do powstania reaktywnej formy tlenu, tlenu singletowego $^1\Delta g$. Ta aktywna forma tlenu jest szczególnie korzystna w przypadku terapii chorób bakteryjnych gdyż nie odnotowano wykształcenia się w organizmach bakterii lub pierwotniaków mechanizmów odpornościowych na ten czynnik bójczy.

Reakcje wywołane oboma mechanizmami działania fotouczulaczy prowadzą do śmierci komórki, najczęściej na drodze apoptozy. Badania kliniczne wykazały, że *in vivo* przewagę zyskuje mechanizm typu II, jednakże jego wywołanie jest uzależnione od różnych parametrów środowiskowych, takich jak pH, stężenie tlenu i inne. Mechanizm typu II przez zużywanie w reakcji cząsteczek tlenu powoduje, że stopniowo wzrasta stan hipoksji w tkance i coraz więcej przemian fotodynamicznych zachodzi według mechanizmu I.

W dotychczasowej praktyce najczęściej stosowaną w PDT grupą związków stosowanych jako fotosensybilizatory są porfirynoidy, w szczególności porfiryny i ftalocyjaniny. Porfiryny są naturalnymi lub syntetycznymi makrocyclicznymi, aromatycznymi związkami zbudowanymi z czterech pierścieni pirolu połączonych mostkami metinowymi.

Obecnie w terapii fotodynamicznej stosuje się najczęściej preparaty porfirynoidowe będące pochodnymi naturalnych porfiryn jak protoporfiryna IX. Najczęściej stosowanym klinicznie fotosensybilizatorem jest porfimer sodowy, będący mieszaniną ok. 60 oligomerów otrzymanych na drodze chemicznej obróbki hematoporfiryny. Ponadto kliniczne zastosowanie znalazły prometabolity fotouczulaczy porfirynowych, takich jak kwas 5-aminolewulinowy i 5-aminolewulinian metylu.

Przykładami innych stosowanych klinicznie fotouczulaczy jest, temoporfm (3,3',3",3'''-(2,3-dihydroporfiryn-5,10,15,20-tetrailo)tetrafenol), talaporfin (mono-L-aspartyl chloryna e6) i photochlor (2-(1'-heksyloksyetylo)-2-dewinylopirorofeoforbid-a).

Ftalocyjaniny są aromatycznymi układami makrocyklicznymi złożonymi z czterech pierścieni izoindolowych (benzopirrolowych), połączonych mostkami azametynowymi. W odróżnieniu od porfiryn są związkami nie występującym w przyrodzie. Dynamicznie rozwijającą się grupą związków charakteryzujących się pożądanymi w terapii fotodynamicznej właściwościami są ftalocyjaniny.

Związki te posiadają silne pasmo absorpcyjne (tzw. pasmo Q) odpowiedzialne za powstawanie mechanizmu fotodynamicznego w zakresie od 600 do 800 nm co mieści się w tzw. oknie biologicznym. Oznacza to, że związki te mogą być bezpiecznie wzbudzone światłem z tego zakresu długości fali bez niebezpieczeństwa pochłaniania promieniowania przez obecną w komórkach wodę i biocząsteczki. W porównaniu do ftalocyjanin stosowane obecnie porfiryny posiadają słabe pasmo Q i są wzbudzone przez naświetlanie najczęściej światłem o długości fali około 400–410 nm w tzw. paśmie Soreta (od 200 do 400 nm). Promieniowanie o tej długości charakteryzuje się mniejszą penetracją tkanek.

Przykładem ftalocyjaninowego fotosensybilizatora stosowanego w praktyce klinicznej jest Photosens, będący mieszaniną w różnym stopniu sulfonowanej ftalocyjaniny glinu. Związek ten został zastosowany z dobrymi rezultatami m.in. w terapii złośliwych nowotworów skóry i oskrzeli u 36 pacjentów (5). Badania Hu M. (6) potwierdziły aktywność przeciwnowotworową 2-hydroksyftalocyjaniny cynku (II), 2,3-dihydroksyftalocyjaniny cynku (II), 2,9-dihydroksyftalocyjaniny cynku (II) i 2,9,16-trihydroksyftalocyjaniny cynku (II) w testach *in vitro* potwierdziły możliwość wykorzystania ich w terapii fotodynamicznej nowotworów.

Fadel M. (7) wykazał możliwość zastosowania jako fotosensybilizatora ftalocyjaniny cynku (II). Związek ten charakteryzuje się jednak słabą rozpuszczalnością w wodzie dlatego stosowanie jego w fototerapii wymaga specjalnych technik. Fadel M., wykazał możliwość zastosowania ftalocyjaniny cynkowej w fototerapii prowadzonej u zwierząt z zastosowaniem cienkich filmów polimerowych jako nośników. Podobne rezultaty uzyskał Larroque C. (8), który w badaniach na myszach potwierdził skuteczność działania jako fotouczulacza połączeń ftalocyjaniny cynkowej z albuminami surowicy bydłowej wobec nowotworu EMT-6. W przypadku innej pochodnej ftalocyjanin 1-[4-(hydroksymetylo)fenoksy]ftalocyjaniny cynku (II) potwierdzono *in vitro* fotodynamiczną aktywność przeciwgrzybiczną wobec grzybów *Candida albicans* (9).

Obecność różnych podstawników w pozycjach peryferyjnych i nieperyferyjnych pierścieni ftalocyjanin pozwala na znaczącą zmianę właściwości w szczególności w zależności od typów podstawników można uzyskać związki o różnej rozpuszczalności w środowisku wodnym lub lipidach. Ma to ogromne znaczenia dla biodostępności związków i procesu selektywnej kumulacji. Częsteczki ftalocyjanin można poddawać licznym modyfikacjom chemicznym. Jak wykazali Nyokong i Michel (10, 11) ftalocyjaniny można modyfikować poprzez podstawienie jonów metalu w centrum koordynacyjnym oraz poprzez wprowadzenie różnych podstawników do części peryferyjnej.

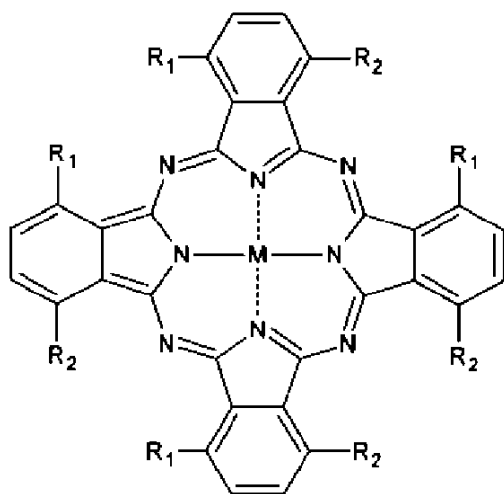
Obecnie silnie rozwijającą się metodą poprawy parametrów farmakokinetycznych jest pegylacja. Metoda pegylacji polega na dołączaniu łańcuchów polietylenoglikolowych opisana m.in. przez Pasuta (12, 13). Stosowanie tego typu podstawników zwiększa słabą rozpuszczalność w wodzie niemodyfikowanych ftalocyjanin i ich kompleksów z metalami. Lv i wsp. (14) opisali połączenie ftalocyjaniny cynkowej z czterema łańcuchami polietylenoglikolowymi. Potwierdziło skuteczność pegylacji jako czynnika zwiększającego biodostępność ftalocyjanin *in vivo*.

Możliwość modyfikacji struktury chemicznej ftalocyjanin pozwala na połączenie tej grupy cząsteczek z innymi cząsteczkami, posiadającymi własną aktywność biologiczną. Zgodnie z jedną ze stosowanych zasad projektowania leku medyczną hybrydyzacją chemiczną (MCH Medicinal Chemical Hybridization) dąży się do połączenia dwóch cząsteczek farmakologicznie czynnych. Nowe cząsteczki powstałe zgodnie z metodą MHC oprócz cech wynikających z obecności obu fragmentów farmakologicznie czynnych mogą posiadać dodatkowe unikalne właściwości (15, 16).

Związki stosowane jako fotosensybilizatory mają zróżnicowaną selektywność wobec tkanek zmienionych chorobowo tzn. kumulują się również w tkankach normatywnych. Istnieje więc konieczność takiej modyfikacji budowy cząsteczek aby zwiększyć maksymalnie selektywność wchłaniania związków stosowanych w PDT (17).

Celem wynalazku było stworzenie nowych polieterowych, nitroimidazolowych i polieterowo-nitroimidazolowych pochodnych ftalocyjanin, opracowanie sposobu ich otrzymywania oraz zastosowanie do wytwarzania leków stosowanych w terapii fotodynamicznej o działaniu przeciwnowotworowym.

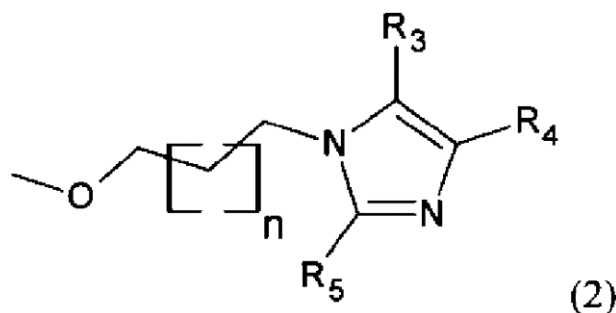
Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie do wytwarzania leków stosowanych terapii przeciwnowotworowej nowych nitroimidazolowych oraz polieteroowo-nitroimidazolowych pochodnych ftalocyjanin o ogólnym wzorze 1,



(1)

w którym

- M oznacza 2H, Mg(II), Zn(II), Mn(II), Mn(III)Cl, Fe(II), Fe(III)Cl, Co(II), Cu(II)
- w zależności od izomeru, zawsze jeden z podstawników R₁ i R₂, przy danym pierścieniu benzenowym, oznacza H a drugi grupę o ogólnym wzorze 2,



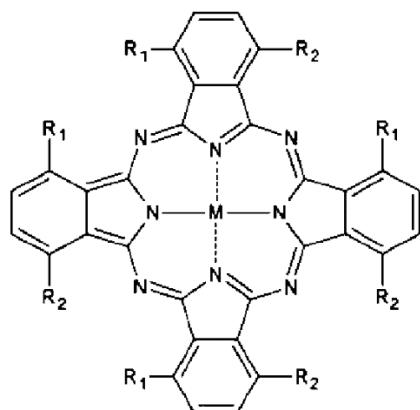
(2)

w którym:

- n przyjmuje wartość od 0 do 20
- co najmniej jeden podstawnik R₃, R₄, R₅ oznacza -NO₂, a pozostałe dwa są równe lub różne i oznaczają -H, -CH₃, -NO₂,
- przy czym wszystkie podstawniki o wzorze 2 są w danym związku równe lub różne.

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie wszystkich odmian izomerycznych o ogólnym wzorze 1.

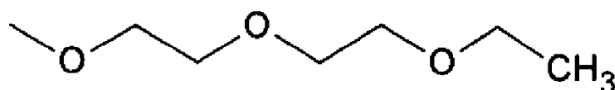
W drugim aspekcie przedmiotem wynalazku jest zastosowanie do wytwarzania leków stosowanych terapii przeciwnowotworowej nowych polieteroowo-nitroimidazolowych pochodne ftalocyjanin oraz ich wszystkie odmiany izomeryczne, o ogólnym wzorze 1,



(1)

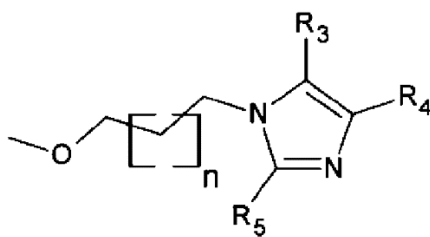
w którym:

- M oznacza 2H, Mg(II), Zn(II), Mn(II), Mn(III)Cl, Fe(II), Fe(III)Cl, Cu(II), Co(II)
- przy co najmniej jednym ugrupowaniu izoindolowym podstawniki R₁ i R₂ są równe i oznaczają grupę o wzorze 2.



(3)

- zaś przy pozostałych ugrupowaniach i izoindolowych podstawniki R₁ i R₂ są różne i wówczas zawsze jeden z podstawników R₁ lub R₂ oznacza H a drugi grupę o wzorze 2.



(2)

w którym:

- n przyjmuje wartość od 0 do 20
- co najmniej jeden podstawnik R₃, R₄, R₅ oznacza -NO₂ a pozostałe dwa są równe lub różne i oznaczają -H, -CH₃, -NO₂.

Związki według drugiego aspektu wynalazku zawierają od 1 do 3 ugrupowań izoindolowo-polieterowych i odpowiednio od 3 do 1 ugrupowań izoindolowo-nitroimidazolowych.

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie związków według wzoru 1 gdzie M, R₁ i R₂ mają wyżej podane znaczenie do wytwarzania leków stosowanych w terapii przeciwnowotworowej w szczególności w terapii PDT, także w terapii chorób skórnych.

Związki według wynalazku w szczególności mogą znaleźć zastosowanie w terapii PDT nowotworów i stanów przednowotworowych takich jak: rak pęcherza moczowego, raka przełyku, raka jelita grubego, raka sromu, nowotwory skóry i błon śluzowych, rak podstawnokomórkowy skóry, choroba Bowena, ziarniak grzybiasty, odoskrzelowy rak płuc, rak sromu, rak kolczystokomórkowy skóry, głowy i szyi w szczególności nowotworów kolczystokomórkowych skóry, głowy i szyi a najkorzystniej nowotworów kolczystokomórkowych jamy ustnej.

Związki według wynalazku w szczególności mogą znaleźć zastosowanie w terapii PDT chorób skóry takich jak choroba Pageta (forma skórna), rogowacenie starcze, trądzik różowaty, trądzik oporny na inne formy terapii, łysienie plackowate, świetlnie zapalenie czerwieni warg, kłykciny kończyste, łuszczyca, liszaj twardzinowy sromu, zapalenie pęcherza moczowego

Aktywność związków według wynalazku wobec komórek nowotworowych badano w zarówno pod kątem tzw. toksyczności ciemnej tzn. bez dostępu światła jak i jasnej czyli pod kątem przydatności tych związków w terapii PDT

Toksyczność ciemna

Badanie toksyczności przeprowadzono dla dwóch typów komórek nowotworowych raka kolczystokomórkowego jamy ustnej: linii komórkowej HSC-3 oraz linii komórkowej H413.

Kultury komórek nowotworowych linii komórkowe HSC-3 i H413 umieszczono na płytce z 48-studzienkami (BD Falcon™, Franklin Lakes, NJ, USA) odpowiednio o gęstości komórek $1,8 \times 10^5$ i $1,4 \times 10^5$ w 1 ml podłoża Dulbecco's Modified Eagle (D-MEM High Glucose (DME H-21) (4,5 g/L Glucose, 0,584 g/L L-glutamine, 3,7 g/L NaHCO₃) z dodatkiem surowicy bydlęcej, FBS i czerwieni fenolowej zwanego dalej w opisie pełną pożywką hodowlaną. Następnego dnia wszystkie hodowle komórek, za wyjątkiem prób kontrolnych, przemyto 0,5 ml buforu fosforanowego (PBS) i dodano 1 ml pożywki wzbogaconej o odpowiednią ilość fotouczulacza i DMSO nie przekraczającego stężenia 0,5% ale bez FBS (aby uniknąć wiązania cząsteczek fotosensybilizatora z białkami surowicy) i czerwieni fenolowej i kontynuowano inkubację w temperaturze 37°C, przez 24 godz., w tym czasie nastąpiła kumulacja fotouczulacza wewnątrz komórek nowotworowych. Następnie komórki zostały przemyte dwukrotnie buforem fosforanowym w celu usunięcia ze środowiska hodowli (pożywki) niewchłoniętego przez komórki fotouczulacza, po czym umieszczone zostały w 1 ml pełnej pożywki hodowlanej. Komórki inkubowano kolejne 24 godz. w temperaturze 37°C. Żywotność komórek oceniono testem z użyciem Alamar Blue. Kontrolne komórki inkubowano z pożywką zawierającą 0,5% DMSO. DMSO w stężeniu nieprzekraczającym 0,5% stosowano również w pożywce z fotouczulaczem. W tabeli 1 przedstawiono uzyskane wyniki. Miarą przeżywalności komórek procentowy stosunek liczby komórek inkubowanych z fotosensybilizatorem do liczby komórek próbek kontrolnych. Dane przedstawiają wartości średnie ± odchylenie standardowe.

Dla oznaczenia związków podanych badaniom i szczegółowo opisanych w niniejszym opisie zastosowano następujące skróty:

Pc-1 – oznacza – 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaninę cynku (II)

Pc-2 – oznacza – 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaninę magnezu (II)

Pc-3 – oznacza – 1,4,8,11,15,18-heksakis[1,4,7-trioksanonylo]-22-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)etoksy]ftalocyjaninę magnezu (II)

Pc-4 – oznacza – 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaninę.

Tabela 1

Związek	Stężenie [μM]	Procent przeżywalności	
		Komórki HSC-3	H413
Pc-1	0,1	101,8 ± 2,8	80,7 ± 7,7
	1	106,5 ± 5,8	64,4 ± 6,5
	5	67,1 ± 2,1	54,0 ± 10,4
	10	5,1 ± 1,1	0±0
	50	0±0	0±0
Pc-2	0,1	103,5 ± 7,1	73,6 ± 1,0
	1	94,5 ± 2,1	63,2 ± 7,7
	5	100,2 ± 6,5	66,5 ± 1,5
	10	65,9 ± 4,8	31,1 ± 5,6
	50	0±0	0±0
Pc-3	0,01	104,5 ± 3,1	131,7 ± 7,4
	0,1	101,8 ± 0,6	123,6 ± 0,4
	1	98,2 ± 3,6	85,6 ± 1,8
	5	105,5 ± 0,4	75,7 ± 0,7
	10	95,5 ± 0,4	55,8 ± 5,6
	50	32,5 ± 12,4	0±0

Występujące w tabeli wartości względnej przeżywalności komórek po zastosowaniu fotosensybilizatora większe od wartości kontrolnych są wynikiem tzw. efektu hormetycznego. Efekt ten powoduje zwiększenie żywotności organizmów w tym przypadku komórek nowotworowych przez stymulowanie go niskimi dawkami czynników destrukcyjnych.

Uzyskane wyniki aktywności cytotoksycznej w fazie ciemnej wobec komórek raka kolczystokomórkowego jamy ustnej HSC-3 jak H413 potwierdziły działanie cytotoksyczne nowych ftalocyjanin według wynalazku. Najwyższą aktywnością w fazie ciemnej wobec komórek HSC-3 charakteryzowała się ftalocyjanina Pc-1, której IC_{50} mieściła się w przedziale od 4,65 μM do 6,90 μM . Wobec komórek nowotworowych raka kolczystokomórkowego jamy ustnej H413 najaktywniejsza okazała się ftalocyjanina Pc-3, której IC_{50} wyniosło $\sim 5 \mu\text{M}$.

Toksyczność jasna

W celu potwierdzenia przydatności związków według wynalazku w terapii PDT zbadano aktywność fotodynamiczną wobec modelu biologicznego jakim były komórki nowotworowe. Badanie toksyczności jasnej przeprowadzono dla komórek nowotworowych jamy ustnej a mianowicie raka kolczystokomórkowego jamy ustnej z wykorzystaniem linii komórkowej HSC-3. Płytkę z kulturami linii komórkowej HSC-3 przygotowano identycznie jak w przypadku badania toksyczności ciemnej. Następnego dnia wszystkie hodowle komórek, za wyjątkiem prób kontrolnych, przemyto 0,5 ml buforu fosforanowego (PBS) i dodano 1 ml pożywki wzbogaconej o odpowiednią ilość fotouczulacza i DMSO nie przekraczającego stężenia 0,5%, bez FBS (aby uniknąć wiązania cząsteczek fotosensybilizatora z białkami surowicy i czerwieni fenolowej i kontynuowano inkubację w temperaturze 37°C, przez 24 godz., w tym czasie nastąpiła kumulacja fotouczulacza wewnątrz komórek nowotworowych. Następnie komórki zostały przemyte dwukrotnie buforem fosforanowym w celu usunięcia ze środowiska hodowli (pożywki) niewchłoniętego przez komórki fotouczulacza, po czym umieszczone zostały w 1 ml pełnej pożywki hodowlanej ale bez czerwieni fenolowej. Komórki inkubowano kolejne 24 godz. w temperaturze 37°C. Następnie komórki zostały poddane naświetlaniu z zastosowaniem filtra wodnego światłem o długości fali λ od 650 do 850 nm w odległości 10 cm źródła światła (żarówka Dura Max 75W Med 120 V A19 CI/LL 20 W; Philips Electronics North America Corporation, Andover, MA). Irradiancja na poziomie studzienek wynosiła 36 mW/cm². Czas naświetlania wynosił 20 minut. Po naświetlaniu usunięto pożywkę, po czym dodano 1 ml pełnej pożywki hodowlanej. Kontynuowano inkubację komórek przez kolejne 24 godz. w temperaturze 37°C. Kontrolne komórki inkubowano z pożywką zawierającą 0,5% DMSO. DMSO w stężeniu nieprzekraczającym 0,5% stosowano również w pożywce z fotouczulaczem. W tabeli 2 przedstawiono uzyskane wyniki. Miarą przeżywalności komórek procentowy stosunek liczby komórek inkubowanych z fotosensybilizatorem do liczby komórek próbek kontrolnych. Dane przedstawiają wartości średnie \pm odchylenie standardowe.

Tabela 2

Związek	Stężenie	Procent przeżywalności
		Komórki HSC-3
Pc-1	0,1 μM	76,1 \pm 4,5
	1 μM	0 \pm 0
Pc-2	0,1 μM	94,1 \pm 6,2
	1 μM	20,0 \pm 4,7
	5 μM	0 \pm 0
Pc-3	0,01 μM	109,0 \pm 3,0
	0,1 μM	61,0 \pm 1,5
	1 μM	0 \pm 0
	5 μM	0 \pm 0
	10 μM	0 \pm 0

Dane o aktywności przeciwnowotworowej w fazie jasnej wykazują, że już przy stężeniach niższych od 1 μM przeżywalność komórek wynosi 0.

W tabeli 3 podano wyliczone, na podstawie danych odnoszących się do toksyczności w fazie jasnej (tabela 1) i ciemnej (tabela 2) wartości IC_{50} (IC_{50} stężenie powodujące 50% zahamowanie namnażania komórek nowotworowych).

Tabela 3

Związek	Toksyczność jasna [μM] HSC-3 [IC_{50}]	Toksyczność ciemna [μM]	
		HSC-3 [IC_{50}]	H413 [IC_{50}]
Pc-1	0,111	4,65 – 6,90	-
Pc-2	0,47	~11,5	~18,0
Pc-3	0,105	> 10	~ 5

Badanie cytotoxyczności w fazie ciemnej na liniach komórkowych HSC-3 i H413 wykazały aktywność przeciwnowotworową badanych trzech związków na poziomie IC_{50} wyższe niż 4,65 μM . Wobec komórek HSC-3 w fazie ciemnej najwyższą aktywność wykazała ftalocyjanina Pc-1. Jej aktywność określona za pomocą IC_{50} mieściła się w przedziale 4,65–6,90 μM . W fazie ciemnej wzrost komórek linii H413 hamowała ftalocyjanina Pc-3 – IC_{50} na poziomie ~5 μM . W pozostałych przypadkach IC_{50} miało wartość powyżej 10 μM .

Przebadano aktywność przeciwnowotworową w tzw. fazie jasnej czyli po naświetleniu hodowli komórek światłem z zakresu od 650 do 850 nm co odpowiada zakresowi długości fal świetlnych optymalnych dla zastosowań w terapii fotodynamicznej. Przeprowadzony eksperyment, w którym przebadano aktywność cytotoxyczną, związków według wynalazku, wobec linii komórek HSC-3 w warunkach fazy jasnej symuluje warunki terapii fotodynamicznej.

Najaktywniejszy okazała się ftalocyjanina Pc-3 dla której IC_{50} wyniosło 0,105 μM . Zbliżoną aktywność wykazała również – ftalocyjanina Pc-1 – IC_{50} 0,111 μM . Z badanej grupy związków najmniej aktywna okazała się ftalocyjanina Pc-2 z wartością IC_{50} równą 0,470 μM .

Najaktywniejsza w fazie jasnej 1,4,8,11,15,18-heksakis[1,4,7-trioksanonylo]-22-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)etoksy]ftalocyjanina magnezu (II), która charakteryzowała się również najwyższym ilorazem aktywności w fazie jasnej względem aktywności w fazie ciemnej wnoszącym 0,0105. Ftalocyjanina Pc-1 wobec badanej linii komórkowej HSC-3 charakteryzowała się prawie dwukrotnie wyższą wartością ilorazu aktywności w fazie jasnej do aktywności w fazie ciemnej względem ftalocyjaniny Pc-3 i mieścił się w przedziale od 0,0161 do 0,0239. Iloraz aktywności w fazie jasnej do aktywności w fazie ciemnej dla ftalocyjaniny Pc-2 (II) osiągnął wartość 0,0409, co świadczy o mniejszej przydatności w zastosowaniach terapeutycznych tej ftalocyjaniny spośród przebadanej grupy. Im mniejsza jest wartość ilorazu aktywności w fazie jasnej do aktywności w fazie ciemnej tym mniejsze jest niebezpieczeństwo działania cytotoxycznego wobec komórek normalnych organizmu podczas terapii fotodynamicznej i łatwiejsze sterowanie procesem leczenia z zastosowaniem PDT.

Fotodynamiczny efekt bójący wobec komórek nowotworowych a także drobnoustrojów chorobotwórczych wywołany jest obecnością reaktywnych form tlenu (RFT). Najbardziej pożądaną formą RFT jest cząsteczkowy tlen singletowy $^1\Delta_g$. Związek ten jest generowany pod wpływem światła i fotouczulacza z obecnego w tkankach tlenu w stanie podstawowym – tripletowym. W przypadku zastosowań terapeutycznych procesy fotodynamiczne zachodzą z przewagą fotodynamicznego mechanizmu II w którym za działanie terapeutyczne odpowiedzialny jest powstający tlen singletowy. Nowe ftalocyjaniny według wynalazku mają zdolność do generowania tlenu singletowego z rozpuszczonego w roztworze tlenu tripletowego pod wpływem naświetlania roztworów nowych ftalocyjanin światłem z zakresu 600 do 800 nm.

Związki według wynalazku charakteryzują się zdolnością generowania tlenu singletowego. Zdolności generowania tlenu singletowego wyznaczono przy pomocy testu wykorzystującego reakcję 1,3-difenyloizobenzofuranu (DPBF) z tlenem singletowym $^1\Delta_g$.

W wyniku reakcji tlenu singletowego $^1\Delta_g$ powstałego pod wpływem fotosensybilizatora i światła, 1,3-difenyloizobenzofuran (DPBF) jest przekształcany w o-dibenzoilobenzen (ODB). Wzbudzony do formy singletowej tlen cząsteczkowy przyłącza się do cząsteczki DPBF-u tworząc addukt o charakterze nadtlenu, który dalej przekształca się do ODB.

Ocenę zdolności generowania tlenu singletowego przez związki według wynalazku wykonano w DMSO i DMF. Bez dostępu światła przygotowano roztwory DPBF oraz roztwory ftalocyjanin w/w rozpuszczalnikach o absorpcji 1,0. Następnie roztwory DPBF zmieszano z roztworem ftalocyjaniny

w stosunku 1:1, po czym mieszaninę naświetlano, w temperaturze pokojowej, monochromatyczną wiązką światła o długości fali odpowiadającej maksimum absorpcji pasma Q badanego związku i natężeniu $\sim 0,5 \text{ mW/cm}^2$. Jako źródło światła używano zestaw złożony z łukowej lampy ksenonowej o mocy 150 W (*Optel*) oraz monochromatora (*Optel*). Roztwór naświetlano w kuwecie o długości drogi optycznej $l = 1 \text{ cm}$. W trakcie naświetlania roztwór mieszano mieszadłem magnetycznym, z przerwami na czas pomiaru spektrofotometrycznego. W odstępach sekundowe: 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 540 wykreślano widma absorpcyjne UV-Vis.

Na figurze 1 przedstawiono zmiany widm UV-Vis w trakcie przeprowadzania testu z DPBF-em po wybranych interwałach czasowych dla ftalocyjaniny Pc-2, a na figurze 2 dla ftalocyjaniny Pc-1. (dla czytelności pominięto niektóre widma dla pośrednich czasów naświetlania). Parametrem pozwalającym porównać wydajność tworzenia tlenu singletowego jest wydajność kwantowa generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}). Im wartość Φ_{Δ} jest wyższa tym dany fotosensybilizator cechuje się większą zdolnością do generowania tlenu singletowego.

Zdolność generowania tlenu singletowego wyznaczono jako obniżenie się intensywności pasma absorpcji DPBF dla długości fali 417 nm. Na figurach 3 i 4 (odpowiednio dla ftalocyjaniny Pc-2 i dla ftalocyjaniny Pc-1. przedstawiono zależności $\ln(A_0/A) = k(t)$, gdzie A – absorbancja, A_0 absorbancja w czasie t_0 , k – stała szybkości zaniku DPBF. Następnie z zależności między stałą szybkości reakcji rozpadu DPBF i kierunkową prostą $\ln(A_0/A) = k(t)$ $k = a$ wyznaczono wydajności kwantowe generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}) porównując nachylenie krzywych kinetycznych standardu – ftalocyjaniny (II) z nachyleniem badanego fotosensybilizatora ftalocyjaninowego wyznaczonych w takich samych warunkach.

W tabeli 4 podano wydajności kwantowe generowania tlenu singletowego (Φ_{Δ}) w warunkach tlenowych dla znanego fotosensybilizatora uznawanego za wzorzec ftalocyjaniny cynku (II) (dane zaczerpnięto z Seotsanyana-Mokhosi I., Kuznetsova N., Nyokong T.: Photochemical studies of tetra-2,3-pyridinoporphyrazines. *J. Photochem. Photobiol. A*. 2001, 140, 215–222.) oraz wydajności kwantowe wybranych ftalocyjanin według wynalazku, a mianowicie dla ftalocyjaniny Pc-1 i ftalocyjaniny Pc-2. Niższe aktywności fotodynamiczne nowych związków według wynalazku wobec uznawanej za wzorzec ftalocyjaniny cynkowej są rekompensowane zwiększoną biodostępnością tych pochodnych gdyż charakteryzuje je dużo lepsza rozpuszczalność w wodzie.

Wzorcowa ftalocyjanina cynkowa jest nierozpuszczalna w wodzie stąd jej zastosowanie kliniczne wymaga użycza specjalnych formułacji farmaceutycznych np. liposomów. Utrudnia to jej 330 penetrację do tkanek w procesie terapeutycznym.

Na różnice w obserwowanej wartościach wydajności kwantowej generowania tlenu singletowego wpływa również zjawisko tworzenia agregatów przez cząsteczki fotosensybilizatora. Nowe zmodyfikowane pochodne według wynalazku posiadające podstawniki o charakterze poliglikoli w mniejszym stopniu ulegają agregacji czy opsonizacji (fagocytowaniu) co skutkuje większą biodostępnością i trwałością związków w środowisku tkanki.

Tabela 4

Pochodna	rozpuszczalnik	Długość fali światła wzbudzającego [nm]	Wydajność kwantowa tlenu singletowego Φ_{Δ}
Pc-4	DMF	757	$0,0097 \pm 0,0003$
	DMSO	764	$0,0070 \pm 0,0007$
Pc-1	DMF	731	$0,4644 \pm 0,0161$
	DMSO	740	$0,3397 \pm 0,0081$
Pc-2	DMF	732	$0,3182 \pm 0,0070$
	DMSO	766	$0,0100 \pm 0,0009$
Pc-3	DMF	724	$0,1548 \pm 0,0038$
	DMSO	756	$0,0113 \pm 0,0008$
Substancje odniesienia			
ftalocyjanina cynku (II)	DMF	670	0,67*
	DMSO	672	0,56*

*) Seotsanyana-Mokhosi I

Nowe pochodne ftalocyjanin posiadają zdolność generowania tlenu singletowego. Związki mogą zatem działać zgodnie z II mechanizmem terapii fotodynamicznej. Jest to korzystne ponieważ mechanizm ten jest bardziej wydajny i nie ma doniesień dotyczących powstania oporności na tlen singletowy

w terapii dotyczącej infekcji drobnoustrojami chorobotwórczymi. Z danych literaturowych wiadomo, że związki posiadające zdolność generowania tlenu singletowego z reguły wykazują działanie przeciwbakteryjne. McCluskey i wsp. (18) wykazali na podstawie badań zależności pomiędzy generowaniem tlenu singletowego przez fotouczulacze, którymi były cynowe pochodne fulerenów C60, C70 i C80 procesie fotodynamicznym, a aktywnością przeciwbakteryjną taką aktywność wobec bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich naświetlając światłem z zakresu fal widzialnych. Kluczową rolę w działaniu przeciwbakteryjnym tlenu singletowego wobec *E. coli* potwierdzili również Bagchi i Basu (19). Również Badania dotyczące aktywności przeciwprzywrotniakowej przeprowadzone przez Barbosa (20) potwierdzają skuteczność terapii fotodynamicznej wobec *Trypanosoma cruzi* co tłumaczy się obecnością tlenu singletowego wygenerowanego w procesie fotodynamicznym.

Dzięki aktywności tlenu singletowego generowanego przez związki według wynalazku mogą one znaleźć zastosowanie również jako środki bakteriobójcze zarówno do dezynfekcji jak i jako środki terapeutyczne do zwalczania następujących infekcji: bakteryjnych, pierwotniakowych, grzybiczych, wirusowych. Generowanie tlenu singletowego przez związki według wynalazku umożliwia ich zastosowanie w dezynfekcji pola operacyjnego, narzędzi chirurgicznych i aparatury medycznej i jako preparatów przyspieszających gojenie ran operacyjnych.

Istotnym parametrem decydującym o biodostępności i selektywnym transporcie do tkanki, która poddawane jest terapii fotodynamicznej jest rozpuszczalność w wodzie. Rozpuszczalność nowych ftalocyjanin w wodzie ustalono na podstawie widm UV-Vis dla różnych stężeń. Widma UV-Vis dla wybranych stężeń w zakresie od $1,24 \times 10^{-6}$ do $2,21 \times 10^{-5}$ dla 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny magnezu (II) przedstawia figura 5, a dla chlorku 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjanina manganu (III) figura 6. Wzorcowa ftalocyjanina cynku (II) nie rozpuszcza się w wodzie w wyżej wymienionym zakresie stężeń i nie można wykreślić dla tego związku widm absorpcyjnych UV-Vis. Nowe ftalocyjaniny według wynalazku wykazują przewagę nad wzorcem ponieważ rozpuszczają się w wodzie w wyżej wymienionym zakresie stężeń. Pozwala to na stosowanie ich w terapii w formie roztworów wodnych w przeciwieństwie do ftalocyjaniny cynku (II), która musi być stosowana w specjalnych formach postaci leku np. mikroemulsjach.

Na podstawie serii widm wyznaczono wartości molowych współczynników ekstynkcji, które dla 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjanina magnezu (II) wynoszą: $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ 327 (4,61), 502 (4,14), 775 (4,78), 812 (4,80), a dla chlorku 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjanina manganu (III): $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$: 358 (4,56), 552 (4,18), 748 (4,34), 837 (4,88).

Ftalocyjaniny według wynalazku charakteryzują się zdolnością do fluorescencji pod wpływem wzbudzenia światłem zewnętrznym. Dzięki czemu mogą znaleźć zastosowanie w diagnostyce. Obecnie w diagnostyce fluorescencja porfiryn jest wykorzystywana do oceny kumulacji endogennych porfiryńoidów np. protoporfiryna IX czy proleków, np. 5-aminolewulinian heksylu czy kwas 5-aminolewulinowy, które są metabolizowane w tkance nowotworowej do porfiryn. Zastosowanie ftalocyjanin pozwala na wykorzystanie w diagnostyce absorpcji promieniowania zakresu pasma Soreta i pasma Q, które jest znacznie silniejsze niż przypadku porfiryn. Vasilchenko i wsp. potwierdzają możliwość wykorzystania glinowych pochodnych ftalocyjanin w dentystyce i autotransplantologii skóry (21).

W wyniku naświetlania światłem o długości fali odpowiedniej dla pasma Q danej ftalocyjaniny wykreślono widmo fluorescencji, odpowiednie wartości maksimum podano w tabeli 5.

Tabela 5

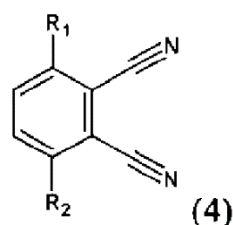
Pochodna	rozpuszczalnik	Długość fali światła wzbudzającego [nm]	Stężenie [mol/dm ³]*	Kwantowa wydajność fluorescencji Φ_F
Pc-4	DMF	757	$4,03 \cdot 10^{-6}$	0,0108
	DMSO	764	$4,11 \cdot 10^{-6}$	0,0080
Pc-1	DMF	731	$3,36 \cdot 10^{-6}$	0,1013
	DMSO	740	$4,16 \cdot 10^{-6}$	0,0223
Pc-2	DMF	732	$2,91 \cdot 10^{-6}$	0,0539
	DMSO	766	$3,23 \cdot 10^{-6}$	0,0233
Substancja odniesienia				
ftalocyjanina cynku (II)	DMF	670		0,17
	DMSO	672		0,20

Przykładowo na figurze 7 przedstawiono widmo emisyjne w DMF dla ftalocyjaniny Pc-1 przy długości fali wzbudzającej zbliżonej do pasma Q – 660 nm, a na figurze 8 przy długości fali wzbudzającej w paśmie Soreta – 325 nm. Pochodne ftalocyjanin według wynalazku charakteryzują się zdolnością fluoryzowania w wyniku wzbudzenia światłem w szerokim zakresie widma w tym w zakresie fal świetlnych okna biologicznego przez co są potencjalnie użyteczne jako markery stosowane w diagnostyce medycznej. Fluorescencje tych związków w bliskie podczerwieni te można wzbudzać stosując źródła światła z zakresu od 300 do 400 nm tzn. w zakresie długości fal emitowanych przez większość urządzeń diagnostycznych jak i źródeł światła o długości fali od 600 do 800 nm, W tabeli 2 podano wartości kwantowej wydajności fluorescencji (Φ_F) (parametr opisującego stosunek wyemitowanych w procesie fluorescencji fotonów w stosunku do liczby fotonów pochłoniętych). Dla wybranej grupy związków w DMF-ie uzyskano wartości Φ_F w zakresie od 6,35% do 59,59% wartości względem wzorcowej ftalocyjaniny cynku (II). W przypadku fluorescencji w DMSO wartości te mieściły się między 4,00% a 11,65% Φ_F względem wzorcowej ftalocyjaniny cynku (II) zjawisko fluorescencji jest wykorzystywane w celach diagnostycznych w szczególności do oceny kumulacji związków w tkankach. Kumulacja jest zależna od typu tkanki (normatywna czy zmutowana) oraz od biodostępności, która z kolei zależy od rozpuszczalności w wodzie. Obserwowane wartości Φ_F są niższe niż dla ftalocyjaniny cynkowej (II), co jest zrekompensowane dzięki dobrej rozpuszczalności w wodzie nowych pochodnych ftalocyjanin, co wykazano w niniejszym opisie.

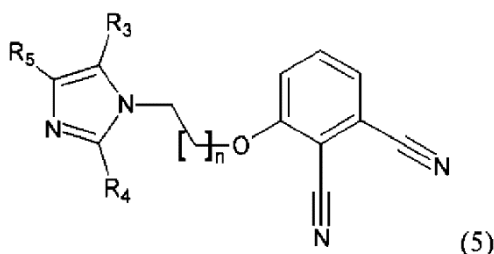
Obecne w cząsteczkach nowych ftalocyjanin fragmenty ftalocyjaninowe i nitroimidazolowe posiadają uzupełniający się mechanizm działania. W czasie terapii fotodynamicznej następuje proces zużycia obecnego w tkance tlenu cząsteczkowego który ulega przemianom w ramach mechanizmu II terapii fotodynamicznej. Następuje zatem stopniowa hipoksja leczonej tkanki co dodatkowo wzmacnia działanie obecnego w cząsteczce fragmentu nitroimidazolowego. Oba obecne fragmenty nitroimidazolowy i ftalocyjaninowy posiadają działanie synergistyczne.

Niektóre z nowych ftalocyjanin uzyskanych według wynalazku posiadają jako podstawniki – nitroimidazole połączone linkerem alkilowym. Nitroimidazole są grupą związków posiadającą swoją własną aktywność przeciwnowotworową i przeciwbakteryjną o innym niż ftalocyjaniny mechanizmie działania.

Polieterowe oraz nitroimidazolowe lub polieterowo-nitroimidazolowe pochodnych ftalocyjanin i ich izomerów o ogólnym wzorze 1, w którym M oznacza Mg zaś R_1 i R_2 mają wyżej podane znaczenie otrzymuje się w procesie makrocyclizacji (cyklotetrameryzacji) odpowiednich dinitryli o ogólnym wzorze 4



w którym podstawniki R_1 i R_2 , są równe i oznaczają grupę o wzorze 2 lub wzorze 5



w którym:

- n przyjmuje wartość od 0 do 20
- co najmniej jeden podstawnik R_3 , R_4 , R_5 oznacza $-\text{NO}_2$, a pozostałe dwa są równe lub różne i oznaczają $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{NO}_2$,

metodą Linsteda w obecności alkoholany magnezowego, korzystnie otrzymywanego bezpośrednio w środowisku reakcji w wyniku reakcji rozdrobnionego magnezu metalicznego z alkoholem. Sposób z wykorzystaniem metody Linsteda otrzymywania magnezowych kompleksów ftalocyjanin polega na rozpuszczeniu lub zawieszeniu w rozpuszczalniku, pierwszorzędowych alkoholany magnezu o długości łańcucha od C₁ do C₁₀ i odpowiedniego dinitryla lub odpowiednich dinitryli. Reakcje prowadzi się w temperaturze wyższej niż 70°C, silnie mieszając w czasie od 30 minut do 30 dni, w atmosferze gazu obojętnego uniemożliwiającego dostęp tlenu z powietrza. Alkoholany magnezowe można stosować gotowe lub generować bezpośrednio przed dodaniem dinitryla lub dinitryli. Reakcje prowadzi się alkoholu pierwszorzędowym o długości łańcucha od C₄ do C₄₀. Alkoholany magnezowy otrzymuje się w znanymi metodami korzystnie bezpośrednio przed reakcją cyklizacji. Proces makrocyklizacji prowadzi się w temperaturze wyższej niż 70°C, korzystnie w temperaturze od 110 do 200°C. Z względu na możliwość rozkładu powstających produktów makrocyklizacji proces należy prowadzić przy jak najmniejszej ekspozycji na światło.

Po zakończeniu reakcji mieszaninę reakcyjną schładza się do temperatury pokojowej, sączy się od wytrąconych produktów ubocznych i nieprzereagowanych substratów np. przez ziemię okrzemkowa. Po odparowaniu rozpuszczalnika, najlepiej pod zmniejszonym ciśnieniem, produkty oczyszcza się i izoluje metodami chromatografii kolumnowej. Jako rozpuszczalniki i eluenty stosuje się w szczególności mieszaniny takich rozpuszczalników jak: octan etylu, metanol, tetrahydrofuran, dichlorometan, chloroform, trietyloamina. Jako fazę stacjonarną stosuje się żel krzemionkowy i żel krzemionkowy do odwróconego układu faz.

Sposobem tym otrzymuje się wyłącznie pochodne magnezowe ftalocyjanin.

Polieterowe oraz nitroimidazolowe lub polietreowo-nitroimidazolowe pochodne ftalocyjanin i ich izomerów o ogólnym wzorze 1, w którym M, R₁ i R₂ mają wyżej podane znaczenie otrzymuje się w procesie makrocyklizacji (cyklotetrameryzacji) odpowiednich dinitryli o ogólnym wzorze 4 lub 5, w których podstawniki R₁, R₂, R₃, R₄ i R₅ mają wyżej podane znaczenie, w rozpuszczalniku lub w stopie (w formie stopionej) w obecności zasady heterocyklicznej najkorzystniej 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) a w przypadku gdy M oznacza Mg (II), Zn (II), Mn (II), Fe(II), Mn(III)Cl, Fe(III)Cl, Cu(II), Co(II) jako substrat stosuje się dodatkowo sole tych pierwiastków, korzystnie chlorki lub octany. Jako rozpuszczalnik stosuje się alkohole pierwszorzędowe o długości łańcucha od C₄ do C₁₀, korzystnie wybrane z grupy: n-pentanol, n-heksanol, dimetyloaminoetanol lub ich mieszaniny, w środowisku zasadowym. W przypadku zastosowania w syntezie innych soli niż chlorki manganu i żelaza dla pochodnych Mn(III) i Fe(III) dokonuje się wymiany anionu przez mieszanie rozpuszczonej ftalocyjaniny w rozpuszczalniku organicznym, nie mieszającym się z wodą, z nasyconym roztworem chlorku sodu. W innym wariantcie w przypadku syntezy pochodnych ftalocyjanin Fe(III)Cl i Mn(III)Cl, pochodne ftalocyjanin Fe (II) i Mn (II) rozpuszcza się kompleksy ftalocyjanin w rozpuszczalniku organicznym niemieszającym się z wodą, a następnie miesza z nasyconym wodnym roztworem chlorku sodu przy dostępie tlenu z powietrza.

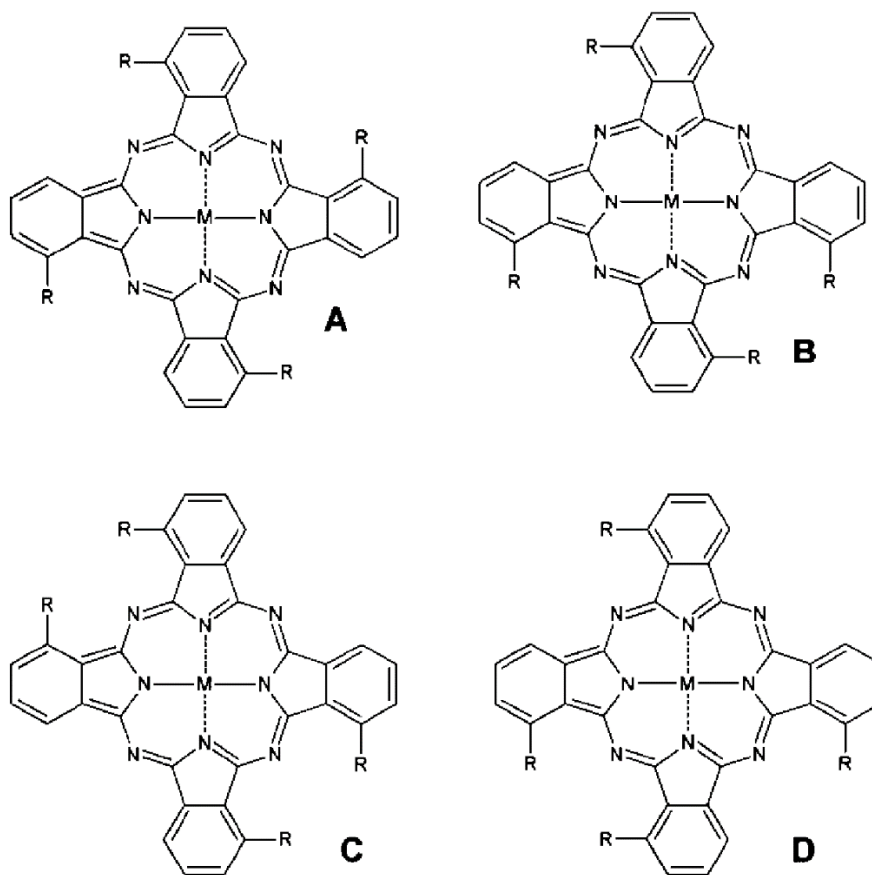
W przypadku wolnych ftalocyjanin (M oznacz 2H) proces polega na rozpuszczeniu lub zawieszeniu w rozpuszczalniku, dinitryla lub dinitryli oraz zasady heterocyklicznej, a następnie silnym mieszanii w temperaturze wyższej niż 70°C w czasie od 30 minut do 30 dni, w środowisku gazu obojętnego uniemożliwiającego dostęp tlenu z powietrza. W przypadku kiedy produktem mają być kompleksy metaliczne ftalocyjanin stosuje się dodatkowo sole pierwiastka metalicznego, tworzącego kompleks, w stosunku sól: dinitryl co najmniej 0,25:1, korzystnie w stosunku 0,5:1. Jako rozpuszczalniki stosuje się w alkohole pierwszorzędowe o długości łańcucha od C₃ do C₄₀, korzystnie 1-pentanol i 1-heksanol, lub aminoalkohole (aminowe pochodne alkoholi I-rzędowych) o długości łańcuch od C₁ do C₂₀, korzystnie dimetyloaminoetanol. Reakcję prowadzi się w temperaturze wyższej niż 70°C, a korzystnie w temperaturze od 110 do 200°C. Korzystne jest prowadzenie reakcji przy jak najniższej ekspozycji na światło gdyż może to prowadzić do rozkładu powstających produktów makrocyklizacji. Jako sole pierwiastka metalicznego stosuje się jego sole nieorganiczne i organiczne, przy czym korzystne jest stosowanie węglanów, chlorków i octanów.

Niezależnie czy syntezę prowadzi się metodą Linsteda czy metodą makrocyklizacji w obecności soli metalu i zasady, w przypadku syntezy pochodnych ftalocyjanin zawierających różne podstawione ugrupowania izoindolowe stosuje się mieszaninę dwóch lub więcej różnych dinitryli. W zależności od oczekiwanej budowy pochodnej ftalocyjaniny stosuje się bądź to równy udział poszczególnych dinitryli lub nadmiar molowy jednego dinitryla nad pozostałymi np. aby uzyskać ftalocyjaninę typu A₃B (trzy podstawione ugrupowania izoindolowe pochodzą od dinitryla A a jeden od dinitryla B) stosuje się dinitryle

w stosunku molowym co najmniej 3:1 lub wyższym przy czym korzystne jest stosowanie nadmiaru od 7:1 do 10:1.

W przypadku syntezy podstawionych ftalocyjanin zawierających różne podstawione ugrupowania izoindolowe otrzymuje się od jednego do kilkunastu produktów i ich różnych izomerów konstytucyjnych, w których występuje różna ilość fragmentów izoindolowych zależna od składu wyjściowej mieszaniny różnych dinitryli, przy czym nie wszystkie produkty powstają w ilościach możliwych do wyizolowania. Ilość poszczególnych izomerycznych produktów oraz konfiguracja fragmentów pochodzących od danego dinitryla zależy od relatywnej reaktywności zastosowanych w mieszaninę dinitryli, symetrii dinitryli, zawady przestrzennej spowodowanej obecnością podstawników w dinitrylach oraz temperatury.

Przykładowo w przypadku syntezy monopodstawionych dinitryli monoeterowych mogą powstawać cztery izomery konstytucyjne. Ze względu na zawadę przestrzenną najczęściej w takim przypadku obserwuje się powstawanie w przewodzie izomeru A o symetrii C_{4h} ale możliwe jest również otrzymanie jako głównego produktu reakcji izomeru B o symetrii C₁, izomeru C o symetrii D₂ i D o symetrii C₂:



gdzie R oznacza podstawnik monoeterowy.

Wynalazek ilustrują, ale nie ograniczają jego zakresu, przykłady.

Reakcje syntezy przedstawione w przykładach były prowadzone w naczyniach reakcyjnych, które w czasie trwania reakcji były odizolowane od światła, które może powodować rozkład powstających produktów lub substratów.

W przykładach (o ile nie podano inaczej) do rozdzielu chromatograficznego stosowano 40, 50 i 100 cm kolumny szklane wypełnione żelazem krzemionkowym 60 H (40–60 μm) firmy Merck jako fazą stacjonarną.

W przykładach stosowane są skrótowo oznaczające:

- THF – tetrahydrofuran,
- DMF – N,N-dimetyloformamid,
- EtOAc – octan etylu
- DBU – 1,8-Diazabicyklo(5.4.0)undek-7-en

Przykład 1

W osuszonej kolbce o poj. 100 cm³ umieszczono 146 mg świeżo otrzymanego butanolanu magnezu, 20 cm³ 1-butanolu, i dodano 0,600 g (1,5 mmol) 2,3-dicyjano-1,4-bis(1,4,7-trioksanonylo)benzenu. Całość ogrzewano przez 24 h w temperaturze wrzenia 1-butanolu, intensywnie mieszając, w atmosferze azotu. Po zakończeniu reakcji, mieszaninę przesączono pod obniżonym ciśnieniem, przez ziemię okrzemkową, a następnie pod zmniejszonym ciśnieniem odparowano 1-butanol. Surowy produkt wstępnie oczyszczano na 100 cm kolumnie, a jako eluentu użyto mieszaniny octanu etylu: heksan w stosunku 20:1. Zbierano frakcję zawierającą 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny magnezu (II) po czym po oddestylowaniu rozpuszczalników ponownie oczyszczano na 100 cm kolumnie, eluentem była mieszanina 4:1 CH₂Cl₂:CH₃OH. Z eluatu oddestylowano rozpuszczalniki. Otrzymano 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaninę magnezu (II) w postaci ciemnego brązowo-zielonego osadu w ilości 200 mg (33,46%); **tt**>50°C,

R_f (10:1 THF:CH₃OH) 0,78;

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} [nm] (log ε): 799 (4,52), 758 (4,32), 326 (4,16);

MS (MALDI-TOF): *m/z* [M+2H⁺] 1595,8;

HPLC (CH₃OH:H₂O 95:5) 99,89%, (CH₃OH) 98,09%, (CH₃OH:THF 70:30) 100%;

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 7,97 (s, 1H), 5,38 (t, *J* = 4,9 Hz, 2H), 4,33 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 3,87 (dd, *J* = 5,6, 4,1 Hz, 2H), 3,63 (dd, *J* = 5,6, 4,2 Hz, 2H), 3,41 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,09 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 152,33, 150,17, 149,90, 149,63, 135,77, 135,52, 135,27, 123,76, 123,52, 123,27, 120,74, 72,49, 71,20, 70,66, 70,32, 66,51, 15,48.

Przykład 2

W osuszonej kolbce o poj. 50 cm³ umieszczono 117 mg świeżo otrzymanego butanolanu magnezu, 30 cm³ 1-butanolu i dodano 0,350 g (1,2 mmol) 1-[2-(2,3-dicyjanofenyloksy)etylu]-2-metylo-5-nitro-1H-imidazolu. Całość ogrzewano przez 24 h w temperaturze wrzenia 1-butanolu, intensywnie mieszając w atmosferze azotu. Po zakończeniu reakcji w celu usunięcia osadu butanolanu magnezu mieszaninę przesączono przez warstwę ziemi okrzemkowej, następnie pod zmniejszonym ciśnieniem odparowano 1-butanol. Uzyskany surowy produkt rozpuszczono w 2 ml mieszaniny CH₂Cl₂:CH₃OH 7:1, wstępnie oczyszczono na 100 cm kolumnie, a jako eluentu użyto mieszanina CH₂Cl₂:CH₃OH 7:1. Po odparowaniu rozpuszczalników z eluatu zawierającego 1,8,18,25-tetrakis[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)etoksy]ftalocyjaninę magnezu (II) przeprowadzono drugi rozdział chromatograficzny z zastosowaniem takiej samej kolumny i eluentu o składzie CH₂Cl₂:CH₃OH 4:1. Z eluatu oddestylowano rozpuszczalniki. Uzyskano 45 mg (13%) 1,8,18,25-tetrakis[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)etoksy]ftalocyjaniny magnezu (II). **tt**>350°C,

R_f (20:1 CH₂Cl₂:CH₃OH) 0,19,

MS (MALDI-TOF): *m/z* [M+H]⁺ 1213,1,

¹H NMR (400 MHz, pirydyna *d*₅) δ 9,52–9,39 (m, 4H), 8,34 (s, 2H), 8,22–8,06 (m, 4H), 8,16 (s, ukryty, 2H), 7,80–7,70 (m, 4H), 5,44 (t, *J* = 80,7 Hz, 16H), 2,92 (s, 6H), 2,66 (s, 6H),

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna *d*₅) δ 156,21, 156,09, 154,78, 154,46, 154,13, 153,97, 152,65, 152,54, 152,34, 142,51, 139,41, 139,39, 134,00, 133,85, 132,62, 131,35, 131,23, 131,08, 130,98, 127,83, 127,71, 127,33, 127,27, 118,28, 117,73, 117,48, 117,19, 115,35, 71,04, 69,30, 69,22, 14,87, 14,51.

Przykład 3

W wysuszonej kolbce pojemności 100 ml umieszczono 1,80 g (4,59 mmol) 2,3-dicyjano-1,4-bis(1,4,7-trioksanonylo)benzenu, 0,42 g (2,29 mmol) octanu cynku, 0,69 g (4,53 mmol) DBU, oraz 9 ml 1-pentanolu. Mieszaninę reakcyjną ogrzewano, w temperaturze 130°C, przez 24 godziny, w atmosferze azotu. Następnie zawartość kolby ochłodzono i pod zmniejszonym ciśnieniem oddestylowano 1-pentanol. Surowy produkt rozdzielono na 100 cm kolumnie. Do, wstępnego rozdziału a jako eluent zastosowano mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 30:1. Z eluatu zawierającego produkt główny odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem metanol i dichlorometan, a uzyskaną pozostałość zawieszono w 2 ml eluentu, który był octan etylu i nałożono na 30 cm kolumnę. Po usunięciu nieprzereagowanych substratów i produktów ubocznych, zmieniono eluent na mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 4:1, zbierając frakcję, w której znajdowała się 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaniny cynku (II) (10,63%); **tt**>50°C;

R_f (30:1 CH₂Cl₂:CH₃OH) 0,5;

UV-Vis (C₂H₅OH): λ_{max} (log ε): 725 nm (4,72), 653 (4,07), 332 (4,12);

HPLC (CH₃OH:H₂O 95:5) 99,87%, (CH₃OH:H₂O:CH₂Cl₂ 85:10:5) 100,00%,

(CH₃OH:H₂O:CH₂Cl₂ 80:5:15) 98,75%;

MS (MALDI-TOF): m/z [M+H⁺] 1633,7;

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*5) δ 7,98 (s, 8H), 5,41 (t, $J = 5,0$ Hz, 16H), 4,34 (t, $J = 5,0$ Hz, 16H), 3,88 (dd, $J = 5,6, 4,3$ Hz, 16H), 3,63 (dd, $J = 5,6, 4,2$ Hz, 16H), 3,41 (q, $J = 7,0$ Hz, 16H), 1,09 (t, $J = 7,0$ Hz, 24H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna *d*5) δ 153,13, 152,30, 129,27, 120,75, 72,58, 71,16, 70,70, 70,30, 66,48, 15,47.

Przykład 4

W kolbce o pojemności 100 ml umieszczono: 0,098 g (0,328 mmol) 1-[2-(2,3-dicyjanofenyl)oksy]etylo]-2-metylo-5-nitro-1H-imidazolu; 0,239 g (1,312 mmol) octanu cynku; 0,900 g (2,293 mmol) 2,3-dicyjano-1,4-bis(1,4,7-trioksanonylo)benzenu; 0,389 cm³ (0,397 g, 2,621 mmol) DBU oraz 5 cm³ 1-pentanolu. Mieszaninę reakcyjną ogrzewano w temp. 130°C, mieszając pod chłodnicą zwrotną w atmosferze azotu przez 24 h. Po zakończeniu reakcji pod zmniejszonym ciśnieniem odparowano 1-pentanol. Suchą pozostałość rozpuszczono w 2 ml mieszaniny CH₂Cl₂:CH₃OH w stosunku 10:1 i poddano wstępnemu rozdzielaniu chromatograficznemu. Rozdział prowadzono z zastosowaniem 100 cm kolumny, a jako eluent zastosowano mieszaninę 10:1 CH₂Cl₂:CH₃OH. W wyniku przeprowadzonego rozdzielania wyizolowano dwie frakcje chromatograficzne zawierające dwa główne produkty reakcji 1,4,8,11,15,18-heksakis[1,4,7-trioksanonylo]-22-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazo)etoksy]ftalocyjaniny cynku (II) oraz 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny cynku (II). Pozostałych teoretycznie możliwych izomerów ftalocyjanin nie udało się wyizolować najprawdopodobniej z powodu, że powstały w ilościach nie dających się wyizolować lub były nierozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych lub tworzyły silne połączenia z nierozpuszczalnymi produktami ubocznymi.

A. Oczyszczanie 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny cynku (II) po wstępnym rozdziale.

Przeprowadzono sześciokrotnie procedurę oczyszczania chromatograficznego na 40 cm kolumnie polegającą na odparowaniu rozpuszczalników z poprzedniego eluatu zawierającego 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny cynku (II), rozpuszczeniu pozostałości w 2 ml eluentu, nałożeniu na kolumnę i przepuszczaniu przez kolumnę jako eluent mieszaniny CH₂Cl₂:CH₃OH w stosunku 17:1. Po odparowaniu z ostatniego eluatu rozpuszczalników otrzymano 260 mg (27,73%) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny cynku (II); $t_t > 50^\circ\text{C}$,

R_f (10:1 CH₂Cl₂:CH₃OH) 0,53;

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} [nm] (log ϵ): 800 (4,67), 757 (4,49), 327 (4,31);

MS (MALDI-TOF): m/z [M+2H⁺] 1634;

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*5) δ 7,98 (s, 8H), 5,41 (t, $J = 5,0$ Hz, 16H), 4,34 (t, $J = 5,0$ Hz, 16H), 3,88 (dd, $J = 5,6, 4,3$ Hz, 16H), 3,63 (dd, $J = 5,6, 4,2$ Hz, 16H), 3,41 (q, $J = 7,0$ Hz, 16H), 1,09 (t, $J = 7,0$ Hz, 24H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna-*d*5) δ 153,13, 152,30, 129,27, 120,75, 72,58, 71,16, 70,70, 70,30, 66,48, 15,47.

B. Oczyszczanie 1,4,8,11,15,18-heksakis[1,4,7-trioksanonylo]22-metylo-5-nitro-1H-imidazo)etoksy]ftalocyjaniny cynku (II) po wstępnym rozdziale.

Z eluatu odparowano rozpuszczalniki, rozpuszczono w 2 ml eluentu o składzie 17:1 CH₂Cl₂:CH₃OH, nałożono na 40 cm kolumnę i przemywano eluentem. Procedurę powtórzono czterokrotnie. Po zakończeniu czwartego cyklu z eluatu odparowano rozpuszczalniki i zawieszono w 2 ml octan etylu, nałożono na 40 cm kolumnę i, przemywano eluentem, którym był octanem etylu do czasu całkowitego usunięcia pozostałości substratów i produktów ubocznych, a następnie 630 octan etylu zamieniono na mieszaninę 17:1 CH₂Cl₂:CH₃OH. Po odparowaniu z eluatu rozpuszczalników otrzymano 12 mg (2,36%) 1,4,8,11,15,18-heksakis[1,4,7-trioksanonylo]-22-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazo)etoksy]ftalocyjaniny cynku (II); $t_t > 50^\circ\text{C}$

R_f (15:1 CH₂Cl₂:CH₃OH) 0,357;

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} [nm] 966, 877, 581, 314;

MS (MALDI-TOF): m/z [M-Zn²⁺] 1476, [M+3Na⁺] 1608;

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*5) δ 8,50–8,46 (s, 1H), 8,02–7,93 (q, 2H), 7,40–7,38 (d, 2H), 6,99–6,97 (d, $J = 3,2$ Hz, 2H), 5,46–5,38 (t, 2H), 4,74–4,69 (t, 2H), 4,68–4,64 (t, 2H), 4,41–4,36 (m, 2H), 4,36–4,31 (t, 2H), 3,91–3,85 (t, 2H), 3,64–3,59 (t, 2H), 3,44–3,39 (q, 2H), 2,35–2,33 (s, 1H), 1,09–1,06 (t, 3H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna-*d*5) δ 153,15, 152,35, 152,30, 150,42, 150,18, 149,91, 149,64, 149,36, 136,04, 135,79, 135,54, 135,29, 135,01, 129,69, 124,02, 123,78, 123,53, 123,28, 122,99, 120,76, 74,07, 72,61, 71,15, 70,72, 70,32, 66,82, 66,50, 64,33, 61,78, 41,15, 15,50, 14,31.

Przykład 5

W kolbce o poj. 100 cm³ umieszczono 273 mg (2,8 mmola) świeżo otrzymanego butanolanu magnezu, 50 cm³ 1-butanolu, i dodano 1,000 g (2,548 mmol) 2,3-dicyjano-1,4-bis(1,4,7-trioksanonylo)benzenu oraz 0,076 g (0,255 mmol) 1-[2-(2,3-dicyjanofenyloksy)etylo]-2-metylo-5-nitro-1H-imidazolu. Całość ogrzewano przez 24 h w temp. wrzenia 1-butanolu, intensywnie mieszając w atmosferze azotu. Po zakończeniu reakcji mieszaninę przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem przez warstwę ziemi orkzemkowej i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem 1-butanol.

Suchą pozostałość zawieszono w 2 ml mieszaniny CH₂Cl₂:CH₃OH w stosunku 10:1 i poddano wstępnemu rozdzielaniu chromatograficznemu na 100 cm kolumnie, a jako eluent stosowano mieszaninę CH₂Cl:CH₃OH w stosunku 10:1. Wyizolowano dwie frakcje chromatograficzne zawierające 1,4,8,11,15,18-heksakis[1,4,7-trioksanonylo]-22-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)-etoksy]ftalocyjaniny magnezu (II) oraz 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]-ftalocyjaninę magnezu (II) Pozostałych teoretycznie możliwych izomerów ftalocyjanin nie udało się wyizolować najprawdopodobniej z powodu, że powstały w ilościach nie dających się wyizolować lub były nierozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych lub tworzyły silne połączenia z nierozpuszczalnymi produktami ubocznymi.

A. Z frakcji zawierającej 1,4,8,11,15,18-heksakis[1,4,7-trioksanonylo]-22-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)etoksy]ftalocyjaninę magnezu (II) oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem dichlorometan i metanol, zawieszono w 2 ml EtOAc, naniesiono na kolumnę poddano rozdzielaniu chromatograficznemu na 50 cm kolumnie a jako eluent zastosowano EtOAc, którym przemywano do momentu wymycia z kolumny substratów i produktów ubocznych a następnie eluent zmieniono na mieszaninę 10:1 THF:CH₃OH. Z eluatu oddestylowano rozpuszczalniki. Uzyskano ciemnozielony osad 1,4,8,11,15,18-heksakis[1,4,7-trioksanonylo]-22-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)etoksy]ftalocyjaniny magnezu (II) w ilości 57 mg (14,88%); **tt**>50°C,

R_f (10:1 THF:CH₃OH) 0,85;

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} [nm] (log ϵ): 836 (4,59), 542 (3,86), 320 (4,28);

MS (MALDI TOF): *m/z* [M+H⁺] 1500;

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*5) δ 8,21–8,20 (s, 1H), 8,04–7,92 (q, 6H), 7,80–7,73 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,71–7,66 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,24–7,15 (s, 2H), 7,85–7,82 (q, 1H), 7,35–7,29 (d, 2H), 5,72–5,64 (t, 2H), 5,54–5,48 (t, 1H), 5,48–5,34 (t, 2H), 4,42–4,3 (t 2H), 4,22–4,14 (t, 2H), 3,94–3,85 (t, 2H), 3,68–3,61 (t, 2H), 3,48 3,39 (q, 2H), 2,85–2,83 (s, 3H), 1,14–1,07 (t, *J* = 7,0 Hz, 21H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna-*d*5) δ 153,90, 153,16, 152,51, 151,85, 150,18, 149,91, 149,64, 142,99, 139,38, 135,80, 135,55, 135,30, 133,90, 13029, 128,96, 127,84, 123,79, 123,00, 120,77, 116,64, 116,45, 72,72, 71,56, 71,19, 70,77, 70,36, 66,81, 66,65, 47,27, 15,52, 14,84.

B. Z frakcji zawierającej 4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaninę magnezu (II) oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem dichlorometan i metanol, zawieszono w 2 ml mieszaniny CH₂Cl₂:CH₃OH 4:1 i poddano rozdzielaniu chromatograficznemu na 50 cm kolumnie a jako eluent stosowano mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 4:1 Z eluatu oddestylowano rozpuszczalniki. Uzyskano 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaninę magnezu (II) w postaci ciemnego brązowo-zielonego osadu w ilości 315 mg (31,03%), **tt**>50°C,

R_f (10:1 THF:CH₃OH) 0,78;

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} [nm] (log ϵ): 799 (4,52), 758 (4,32), 326 (4,16);

MS (MALDI-TOF): *m/z* [M+2H⁺] 1595,8;

HPLC (CH₃OH H₂O 95:5) 99,89% (CH₃OH) 98,09% (CH₃OH:THF 70:30) 100%

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*5) δ 7,97 (s, 1H), 5,38 (t, *J* = 4,9 Hz, 2H), 4,33 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H), 3,87 (dd, *J* = 5,6, 4,1 Hz, 2H), 3,63 (dd, *J* = 5,6, 4,2 Hz, 2H), 3,41 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,09 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna-*d*5) δ 152,33, 150,17, 149,90, 149,63, 135,77, 135,52, 135,27, 123,76, 123,52, 123,27, 120,74, 72,49, 71,20, 70,66, 70,32, 66,51, 15,48.

Przykład 6

W wysuszonej kolbce o pojemności 100 ml umieszczono 272 mg (2,80 mmol) butanolanu magnezu, 50 ml 1-butanolu i dodano 1,00 g (2,55 mmol) 2,3-dicyjano-1,4-bis(1,4,7-trioksanonylo)benzenu oraz 76 mg (0,26 mmol) 1-[2-(2,3-dicyjanofenyloksy)etylo]-2-metylo-4-nitro-1H-imidazolu, i mieszano w temperaturze wrzenia przez 24 godziny, w atmosferze azotu. Po tym czasie zawartość kolbki ostu-

dzono i odparowano 1-butanol pod zmniejszonym ciśnieniem. Następnie suchą pozostałość rozpuszczono w metanolu i przesączono przez ziemię okrzemkową, pod zmniejszonym ciśnieniem, następnie metanol odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Uzyskaną suchą pozostałość zawieszono w 2 ml octanu etylu, i naniesiono na kolumnę chromatograficzną. Rozdział chromatograficzny prowadzono z zastosowaniem 100 cm kolumny a jako eluent stosowano octan etylu, który przepuszczano do momentu kiedy substraty i produkty uboczne nie zostały wymyte. Następnie eluent zamieniono na mieszaninę THF:CH₃OH w stosunku 20:1. Uzyskano dwie frakcje chromatograficzne zawierające dwa główne produkty makrocyclizacji 1-[2-(2-metylo-4-nitro-1H-imidazolo)etoksy]-8,11,15,18,22,25-heksakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaninę magnezu (II) oraz 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaninę magnezu (II).

Pozostałych teoretycznie możliwych izomerów ftalocyjanin nie udało się wyizolować.

A. Z wstępnie wyizolowanej frakcji zawierającej 1-[2-(2-metylo-4-nitro-1H-imidazolo)etoksy]-8,11,15,18,22,25-heksakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaniny magnezu (II) oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem tetrahydrofuran i metanol, rozpuszczono w 2 ml metanolu i poddano oczyszczaniu metodą chromatografii kolumnowej. W 30 cm kolumnie szklanej jako fazę stacjonarną zastosowano żel do odwróconej fazy 90 C18 – Reversed phase firmy Merck, a jako eluent stosowano metanol. Z eluatu oddestylowano rozpuszczalnik. Otrzymano 14 mg (3,53%) czystej 1-[2-(2-metylo-4-nitro-1H-imidazolo)etoksy]-8,11,15,18,22,25-heksakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaniny magnezu (II), **tt** >350°C,

R_f (20:1 THF:CH₃OH) 0,87;

UV-Vis (C₂H₅OH) λ_{\max} [nm] (log ϵ): 722 (4,55), 651 (3,90), 324 (4,32);

MS (MALDI-TOF): *m/z* [M] 1498,9;

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 8,35–7,68 (m, 10H), 5,59–5,26 (m, 12H), 5,18–4,80 (m, 1 2H), 4,69–4,50 (m, 4H), 4,47–4,13 (m, 12H), 4,05–3,75 (m, 12H), 3,56–3,33 (m, 12H), 1,17–1,02 (m, 18H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 160,00, 152,20, 151,69, 151,23, 144,02, 142,00, 140,40, 130,81, 129,21, 127,90, 119,41, 115,42, 71,50,71,39, 70,40, 70,07, 69,98, 69,91, 69,80, 69,67, 69,52, 69,37, 69,14, 65,49, 65,37, 14,38, 14,29, 13,14, 12,87.

B. Z frakcji zawierającej 4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaninę magnezu (II) oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem rozpuszczalniki, rozpuszczono w 2 ml eluentu i poddano rozdzielni chromatograficznemu na 50 cm kolumnie a jako eluent stosowano mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 4:1. Z eluatu oddestylowano dichlorometan i metanol. Otrzymano 300 mg (29,18%) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaniny magnezu (II) – **tt**>50°C,

R_f (10:1 TH:CH₃OH) 0,78;

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{\max} [nm] (log ϵ): 799 (4,52), 758 (4,32), 326 (4,16);

MS (MALDI-TOF): *m/z* [M+2H⁺] 1595,8;

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 7.97 (s, 1H), 5.38 (t, *J* = 4.9 Hz, 2H), 4.33 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H), 3.87 (dd, *J* = 5.6, 4.1 Hz, 2H), 3.63 (dd, *J* = 5.6, 4.2 Hz, 2H), 3.41 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.09 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 152.33, 150.17, 149.90, 149.63, 135.77, 135.52, 135.27, 123.76, 123.52, 123.27, 120.74, 72.49, 71.20, 70.66, 70.32, 66.51, 15.48.

P r z y k ł a d 7

W osuszonej kolbce o poj. 100 cm³ umieszczono 836 mg (8,60 mmol) świeżo przygotowanego butanolanu magnezowego, 50 cm³ 1-butanolu i dodano 1,000 g (7,8 mmol) 1,2-dicyjanobenzenu oraz 0,232 g (0,78 mmol) 1-[2-(2,3-dicyjanofenyloksy)etylo]-2-metylo-5-nitro-1H-imidazolu. Całość ogrzewano przez 24 h w temperaturze wrzenia 1-butanolu, intensywnie mieszając w atmosferze azotu. Po zakończeniu reakcji i ochłodzeniu do temperatury pokojowej mieszaninę przesączono przez warstwę ziemi okrzemkowej pod zmniejszonym ciśnieniem, odparowano rozpuszczalnik do sucha i ponownie rozpuszczono w octanie etylu. Roztwór przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem przez warstwę ziemi okrzemkowej i odparowano rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem do sucha. Otrzymaną suchą pozostałość zawieszono w 2 ml eluentu i poddano wstępnemu rozdzielni chromatograficznemu na 100 cm kolumnie, a jako eluent zastosowano mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 10:1.

Frakcji zawierającej – ftalocyjaninę magnezu (II) nie oczyszczano i nie badano jako związku znanego.

Z eluatu zawierającego 1-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)etoksy]ftalocyjaniny magnezu (II) odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem rozpuszczalniki. Suchą pozostałość zawieszono w 3 ml mieszaniny CH₃OH:THF 20:1 i naniesiono na 30 cm kolumnę wypełnioną żelem 90 C18 – Reversed phase firmy Merck a następnie przemywano eluentem o składzie CH₃OH:THF 20:1. Z eluatu odparowano rozpuszczalniki pod zmniejszonym ciśnieniem. Suchą pozostałość zawieszono w 3 ml mieszaniny CH₃OH:THF 20:1, naniesiono na 30 cm kolumnę wypełnioną żelem 90 C18 – Reversed phase firmy

Merck i przemywano eluentem o składzie CH₃OH:THF 20:1. Z eluatu odparowano rozpuszczalniki pod zmniejszonym ciśnieniem. Suchą pozostałość zawieszono w 3 ml mieszaniny CH₃OH:THF 25:1, naniesiono na 30 cm kolumnę wypełnioną żelom 90 C18 – Reversed phase firmy Merck i przemywano eluentem o składzie CH₃OH:THF 25:1. Z eluatu odparowano rozpuszczalniki pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano zielononiebieski osad 1-[2-(2-metylo-5-nitro-1H-imidazolo)etoksy]ftalocyjaniny magnezu (II) w ilości 10 mg (1,81%); **tt**>350°C,

R_f (50:1 CH₂Cl₂:CH₃OH) 0,66;

MS (MALDI TOF): *m/z* [M+H⁺] 707;

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} [nm]: 721, 692, 318.

Przykład 8

W osuszonej kolbce o poj. 100 cm³ (umieszczono 0,100 g (0,06 mmol) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny magnezu (II) i zawieszono w 25 cm³ 98% kwasu trifluorooctowego, a następnie intensywnie mieszano w atmosferze azotu przez 3 h. Po zakończeniu procesu demetalacji zawartość kolbki wylano na 200 cm³ lodu i małymi porcjami podczas mieszania w wysokim naczyniu mieszanina reakcyjna zobojętniana była stężonym roztworem wodorowęglanu sodowego do zaniku wydzielania pęcherzyków dwutlenku węgla podczas dodawania. Uzyskany roztwór ekstrahowano 30 cm³ porcjami dichlorometanu do zaniku zabarwienia warstwy organicznej po wytrząsaniu (7 razy). Połączone przesącze dichlorometanowe ekstrahowano jednokrotnie 100 ml wody destylowanej, następnie roztwór dichlorometanowy osuszano bezwodnym siarczanem magnezowym. Naczynie z roztworem dichlorometanowym podczas trwania reakcji izolowano od dostępu światła. Po odparowaniu dichlorometanu suchą pozostałość rozpuszczono w 2 ml eluentu i oczyszczano na 100 cm kolumnie, jako eluent zastosowano mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 15:1. Po odparowaniu z eluatu rozpuszczalników otrzymano 34 mg (34%) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny; **tt**>50°C,

R_f (15:1 THF:CH₃OH) 0,65;

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} [nm] (log ε): 853 (5,43), 515 (4,69), 320 (5,10);

MS (MALDI TOF): *m/z* [M+H⁺] 1572,7;

¹H NMR (400 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 7,24–7,15 (d, 2H), 5,39–5,31 (t, 2H), 4,43–4,33 (t, 2H), 3,97–3,88 (t, 2H), 3,68–3,60 (t, 2H), 3,46–3,36 (q, 2H), 1,13–1,03 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 0,13–0,01 (s, 1H);

¹³C NMR (101 MHz, pirydyna-*d*₅) δ 151,27, 148,48, 126,32, 122,37, 71,41, 70,08, 69,54, 69,21, 65,35, 14,33.

Przykład 9

W osuszonej kolbce o pojemności 50 ml umieszczono 95 mg (0,0596 mmol) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny oraz 57 mg (0,0573 mmol) czterowodnego chlorku manganu (II), 20 ml *N,N*-dimetyloformamidu i następnie intensywnie mieszano w atmosferze azotu, w temperaturze 70°C przez 24 h. Po zakończeniu reakcji zawartość kolbki ostudzono i odparowano *N,N*-dimetyloformamid pod zmniejszonym ciśnieniem, uzyskano surowy produkt.

Surowy produkt rozpuszczono w 2 ml eluentu, nałożono na kolumnę 50 cm, jako eluent zastosowano mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 15:1. Eluat zawierający 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaniny manganu (III) odparowano do sucha, pozostałość rozpuszczono w 20 ml CH₂Cl₂: i mieszano z 20 ml stężonego roztworu NaCl w wodzie, w temperaturze pokojowej przez 30 min. Naczynie w czasie trwania mieszania było odizolowane od światła. Następnie mieszaninę pozostawiono na 30 minut w celu rozdzielania fazy wodnej i organicznej, bez dostępu światła. Fazę organiczną odseparowano i przeniesiono do rozdzielacza, dodano 20 ml wody, wytrząsano przez 20 minut, pozostawiono do momentu rozdzielania faz. Następnie warstwę organiczną oddzielono od warstwy wodnej i osuszono bezwodnym MgSO₄. Dichlorometan odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem, a suchą pozostałość poddano trzyetapowemu doczyszczaniu na kolumnie chromatograficznej.

Surowy produkt zawieszono w 2 ml mieszaniny CH₂Cl₂:CH₃OH 15:1, naniesiono na 50 cm kolumnę, jako eluent zastosowano mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 15:1, następnie z eluatu zawierającego produkt oddestylowano rozpuszczalniki, suchą pozostałość zawieszono w 2 ml eluentu (EtOAc), nałożona na 50 cm kolumnę, jako eluent stosowano octan etylu, który przepuszczano przez kolumnę do momentu usunięcia z niej produktów ubocznych a następnie zmieniono eluent na mieszaninę CH₂Cl₂:CH₃OH 15:1. Z eluatu oddestylowano rozpuszczalniki i uzyskano 66 mg (69,47%) chlorku 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaniny manganu (III); **tt**≥80°C;

R_f = 0,08 (faza: CH₂Cl₂:CH₃OH 15:1);

UV-Vis (CH₂Cl₂): λ_{max} [nm] (log ε) 812 (5,00), 729 (4,41), 558 (4,26), 485 (4,21), 344 (4,64), 279 (4,72);

MS [*m/z*] M+ 1658,09, [M-Cl]⁺ 1624,32;

IR [cm^{-1}] 754, 1070, 1116, 1213, 1274, 1309, 1503, 1601, 2866, 2930, 2974;

Raman [cm^{-1}] 84, 120, 300, 645, 755, 780, 948, 1091, 1264, 1318, 1343, 1390, 1517.

P r z y k ł a d 10

W osuszonej kolbce o pojemności 50 ml umieszczono 128 mg (0,08 mmol) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny oraz 57 mg (0,0573 mmol) chlorku miedzi (II) i 20 ml N,N-dimetyloformamidu i następnie intensywnie mieszano w atmosferze azotu, w temperaturze 70°C przez 24 h. Po zakończeniu reakcji zawartość kolbki ostudzono do temperatury pokojowej i oddestylowano N,N-dimetyloformamid pod zmniejszonym ciśnieniem. Uzyskano surowy produkt, który oczyszczano chromatograficznie. Surowy produkt rozpuszczono w 2 ml eluentu, nałożono na kolumnę 50 cm, jako eluent zastosowano mieszaninę $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 20:1. Z eluatu zawierającego 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaninę miedzi (II) odparowano rozpuszczalniki i ponownie zawieszono w 2 ml octanu etylu i nałożono na 50 cm kolumnę, jako eluent zastosowano octan etylu, który przepuszczano przez kolumnę do momentu usunięcia z niej produktów ubocznych po czym zmieniono eluent na mieszaninę, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 15:1. Po odparowaniu z eluatu rozpuszczalników otrzymano 19 mg (wyd.: 14,84%) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjanina miedzi (II); $t_t \geq 50^\circ\text{C}$;

$R_f=0,16$ (faza: $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3$ 15:1);

Uv-Vis (CH_2Cl_2) λ_{max} [nm] (log ϵ) 739 (5,39), 662 (4,77), 326 (5,00);

MS [m/z] M^+ [1633,3], $[M+H]^+$ 1634,3, $[M+K]^+$ 1672,4;

IR [cm^{-1}] 618, 755, 1073, 1114, 1213, 1267, 1501, 1601, 2867, 2975.

P r z y k ł a d 11

W wysuszonej kolbce o pojemności 50 ml umieszczono 105 mg (0,066 mmol) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis[1,4,7-trioksanonylo]ftalocyjaniny oraz 79 mg (0,33 mmol) sześciowodnego chlorku kobaltu i 20 ml N,N-dimetyloformamidu. Następnie intensywnie mieszano w atmosferze azotu, w temperaturze 70°C przez 24 h, kolbkę ostudzono i odparowano N,N-dimetyloformamid pod zmniejszonym ciśnieniem. Surowy produkt rozpuszczono w 2 ml eluentu, nałożono na kolumnę 50 cm, jako eluent zastosowano mieszaninę $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 15:1. Z eluatu odparowano rozpuszczalniki i ponownie rozpuszczono w 2 ml eluentu i nałożono na 50 cm kolumnę, jako eluent zastosowano octan etylu, który przepuszczano przez kolumnę do momentu usunięcia z niej produktów ubocznych po czym zmieniono eluent na mieszaninę, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 4:1. Po odparowaniu z eluentu rozpuszczalników otrzymano 56 mg (wyd.: 53,33%) 1,4,8,11,15,18,22,25-oktakis(1,4,7-trioksanonylo)ftalocyjaniny kobaltu (II); $t_t \geq 40^\circ\text{C}$;

$R_f=0,18$ (faza: $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 15:1);

Uv-Vis (CH_2Cl_2) λ_{max} [nm] (log ϵ) 726 (5,06), 654 (4,50), 319 (4,80);

MS [m/z] M^+ 1628,3, $[M+H]^+$ 1629,3, $[M-H]$ 1627,6;

IR [cm^{-1}] 813, 1098, 1115, 1214, 1268, 1350, 1499, 1601, 1727, 2869;

Raman [cm^{-1}] 86, 118, 647, 751, 780, 961, 1012, 1100, 1156, 1237, 1273, 1324, 1351, 1392, 1455, 1540.

P r z y k ł a d 12

Preparat zawierający nowe ftalocyjaniny podaje się od 1 do 100 godzin przed naświetlaniem, (korzystnie między 24 a 72 godziny) w formie iniekcji dożylnych. Jest to czasu na selektywną kumulację w tkance nowotworowej i eliminację z tkanek normalnych. Preparat zawierający ftalocyjaninę w stężeniu od 0,001 mg/ml do 100 mg/ml stosuje się w formie roztworu izotonicznego (np.: roztworu soli fizjologicznej lub roztworu dekstranu). Następnie po upływie czasu niezbędnego na selektywną kumulację, tkanka poddawana jest naświetlaniu światłem o długości fali świetlnej od 600 do 750 nm, np.: pompowanym argonem laserem barwinkowym (barwnik rodamina B) o długości fali promieniowania emitowanego 630 nm. Całkowita dawka stosowanego promieniowania świetlnego zmienia się w zależności od sposobu leczenia i traktowanych tkanek, a ogólnie mieści się w zakresie od 50 do 1000 J/cm^2 , korzystnie pomiędzy 100 i 350 J/cm^2

P r z y k ł a d 13

Możliwe jest stosowanie terapii fotodynamicznej z zastosowaniem nowych ftalocyjanin na powierzchnię tkanki w formie maści, emulsji lub żelu, w którym preparat stanowi nie mniej niż 0,001% wagowego, a jego stężenie zależne jest od typu tkanki, umiejscowienia zmian chorobowych i biodostępności ftalocyjaniny. W przedziale czasowym od natychmiastowego po nałożeniu do 100 godzin po nałożeniu preparatu, tkankę naświetla się źródłem światła o długości fali od 600 do 750 nm, np.: pompowanym argonem laserem barwinkowym (barwnik rodamina B) o długości fali promieniowania emitowanego 630 nm. Całkowita dawka stosowanego promieniowania świetlnego zmienia się w zależności od

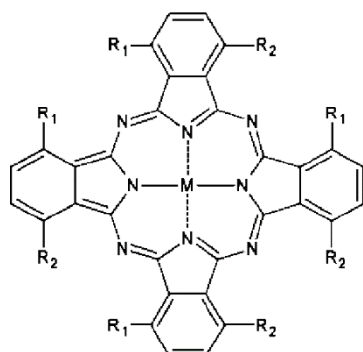
sposobu leczenia i traktowanych tkanek, a ogólnie mieści się w zakresie od 50 do 1000 J/cm², korzystnie pomiędzy 100 i 350 J/cm²

Literatura:

1. Konopka K., Goslinski T., *J. Dent. Res.*, 86 (2007) 694–707
2. Kramarenko G.G., Wilke W.W., Dayal D., Buettner G.R., Schafer F.Q., *Free Radical Biology and Medicine*, 40 (2006) 1615–1627
3. Agostinis P., Berg K., Cengel K. A., Foster T. H., Girotti A. W., Gollnick S. O., Hahn S. M., Hamblin M. R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B. C., Golab I, *Ca-Cancer J. Clin.*, 61 (2011) 250–281
4. Wainwright M., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 42 (1998) 13–28
5. Allison R.R., Downie G.H., Cuenca R., Hu X.H., Childs C., Sibata C.H., *Photodiag. Photodyn. Ther.*, 1 (2004) 27–42
6. Hu M., Brasseur N., Yildiz S.Z., van Lier J.E., Leznoff F.C., *J. MED. CHEM.* 41(11) (1998) 1789–1802
7. Fadel M., Kassab K., Fadeel D.A., *Lasers Med Sci.* 25(2) (2010) 283–72
8. Larroque C., Pelegrin A., Van Lier J. E., *Br. J. Cancer.*, 74(12) (1996) 1886–1890
9. Cosimelli B., Roncucci G., Dei D., Fantetti L., Ferroni F., Ricci M., Spinelli D., *Tetrahedron* 59 (2003) 10025–10030
10. Nyokong T., *Coord. Chem. Rev.*, 251 (2007) 1707–1722.
11. Michel S., Hoffman B.M., Baum S., Barrett A.G.M., *Prog. Inorg. Chem.*, red. Karlin K.D., J. Wiley&Sons, New York, 50 (2001) 473–590
12. Pasut G., Veronese F. M., *J Control. Release*, 161 (2012) 461–472
13. Veronese F., Pasut G., *Drug Discov. Today*, 21 (2005) 1451–1458
14. Lv F, Cao B, Cui Y, Liu T., *Molecules*, 17, (2012) 6349–6361
15. Gasco A., Boschi D., Chegaev K., Cena C., Di Stilo A., Fruttero R., Lazzarato L., Rolando B., Tosco P., *Pure Appl. Chem.*; 80(8) (2008) 1693–1701
16. Viegas C., Danuello A., Silva Bolzani V., Barreiro E.J., Fraga C.A.M., *Curr. Med. Chem.*, 14 (2007) 1829–1852
17. Haimovici R, Ciulla TA, Miller JW, Hasan T, Flotte TJ, Kenney AG, Schomacker KT, Gragoudas ES., *Retina*, 22 (2002) 65–74
18. McCluskey D. M., Smith T. N., Madasu P. K., Coumbe C. E., Mackey M.A., Fulmer P. A., Wynne J. H., Stevenson S., Phillips J. P. *ACS Appl Mater Interfaces*. 1(4) (2009) 882–887
19. Bagchi, B., Basu, S., *Photochemistry and Photobiology*, 29, (1979), 403–405)
20. A. F. S. Barbosa, L. G. P. Soares, J. M. S. Aciole, G. T. S. Aciole, I. R. Pitta, S. L. Galdino, A. L. B. Pinheiro *AIP Conf. Proc.* 1364, pp. 55–59, 5–6 November 2010, Florence, Italy
21. Vasilchenko S. Y., Volkova A. I., Ryabova A., Loschenov V. B., Konov V. I., Mamedov A. A., Kuzmin S. G., Lukyanets E. A., *J. Biophotonics* 3(5–6) (2010) 336–346
22. Matsumoto M., Hashizume H., Tomishige T., Kawasaki M., Tsobouchi H., Sasaki H., Shimokawa Y., Komatsu M., *PLoS Med.*, 3 (2006) 2131–2144
23. Walczak K., Gondela A., Suwiński J., *Eur. J. Med. Chem.*, 39 (2004) 849–853
24. De Martino G., La Regina G., Di Pasquali A., Ragno R., Bergami ni A., Ciapri ni C., Sinistro A., Maga G., Crespan E., Artico M., Silvestri R., *J. Med. Chem.*, 48 (2005) 4378–4388
25. Abdel-Jalil R.J., Übele M., Ehrlichmann W., Voelter W., Machulla H.J., *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 267 (2006) 557–560.

Zastrzeżenia patentowe

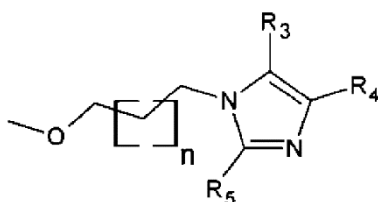
1. Zastosowanie nitroimidazolowych lub polieterowo-nitroimidazolowych pochodnych ftalocyjanin i ich izomerów o ogólnym wzorze 1,



(1)

w którym:

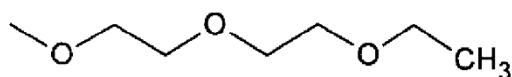
- M oznacza 2H, Mg(II), Zn(II), Mn(II), Mn(III)Cl, Fe(II), Fe(III)Cl, Co(II), Cu(II)
- a w zależności od izomeru, zawsze jeden z podstawników R₁ i R₂ przy danym pierścieniu benzenowym, oznacza H a drugi grupę o ogólnym wzorze 2,



(2)

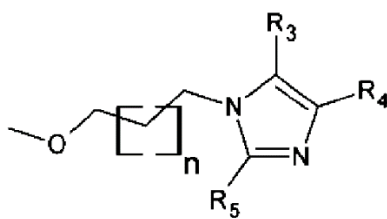
w którym:

- n przyjmuje wartość od 0 do 20
- co najmniej jeden podstawnik R₃, -R₄, R₅ oznacza -NO₂, a pozostałe dwa są równe lub różne i oznaczają -H, -CH₃, -NO₂,
- przy czym wszystkie podstawniki o wzorze 2 są w danym związku równe lub różne lub gdy.
- przy co najmniej jednym ugrupowaniu izoindolowym, podstawniki R₁ i R₂, są równe i oznaczają grupę o wzorze 3



(3)

- zaś przy pozostałych ugrupowaniach izoindolowych podstawniki R₁ i R₂, są różne wówczas zawsze jeden z podstawników R₁ lub R₂ oznacza H a drugi grupę o wzorze 2.



(2)

w którym:

- n przyjmuje wartość od 0 do 20
- co najmniej jeden podstawnik R₃, R₄, R₅ oznacza -NO₂, a pozostałe dwa są równe lub różne i oznaczają -H, -CH₃, -NO₂

znamiennie tym, że związki te stosuje się w do wytwarzania preparatów w terapii przeciwnowotworowej.

2. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że związki stosuje się do wytwarzania preparatów stosowanych w terapii nowotworów i stanów przednowotworowych takich jak: rak pęcherza moczowego, raka przełyku, raka jelita grubego, raka sromu, nowotwory skóry i błon śluzowych, rak podstawnocomórkowy skóry, choroba Bowena, rak kolczystocomórkowy skóry, głowy i szyi, ziarniak grzybiasty, odoskrzelowy rak płuc, rak sromu.
3. Zastosowanie według zastrz. 2, **znamiennie tym**, że związki stosuje się do wytwarzania preparatów stosowanych w terapii nowotworów kolczystocomórkowych jamy ustnej.
4. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że związki stosuje się do wytwarzania preparatów stosowanych w terapii PDT nowotworów i stanów przednowotworowych takich jak: rak pęcherza moczowego, raka przełyku, raka jelita grubego, raka sromu, nowotwory skóry i błon śluzowych, rak podstawnocomórkowy skóry, choroba Bowena, rak kolczystocomórkowy skóry głowy i szyi, ziarniak grzybiasty, odoskrzelowy rak płuc, rak sromu.

Rysunki

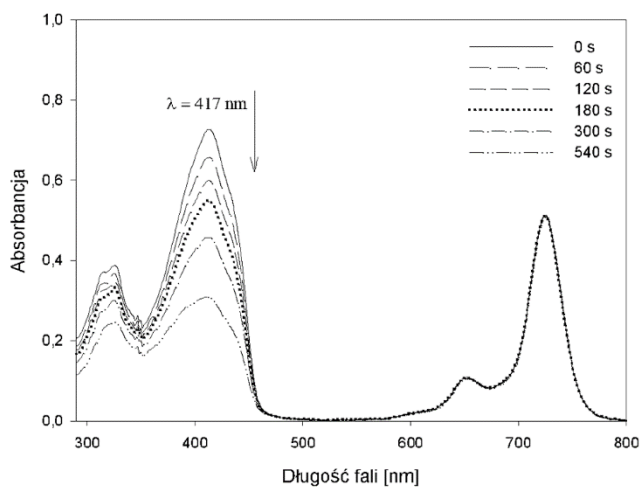


Fig. 1

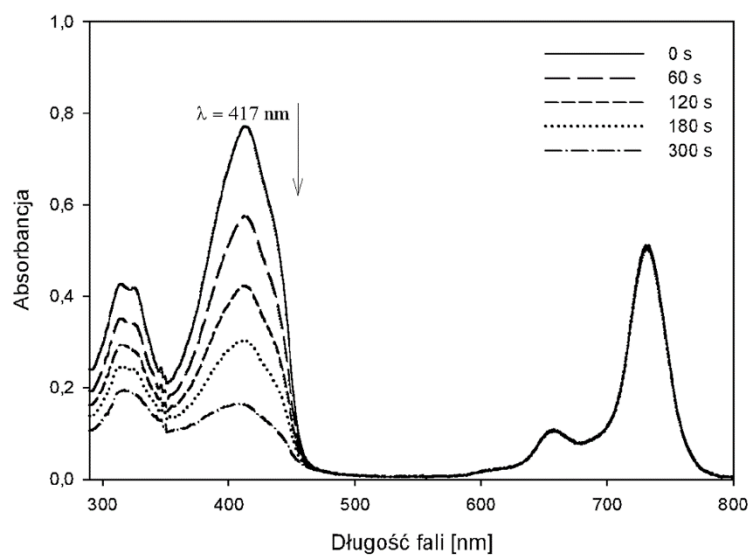


Fig. 2

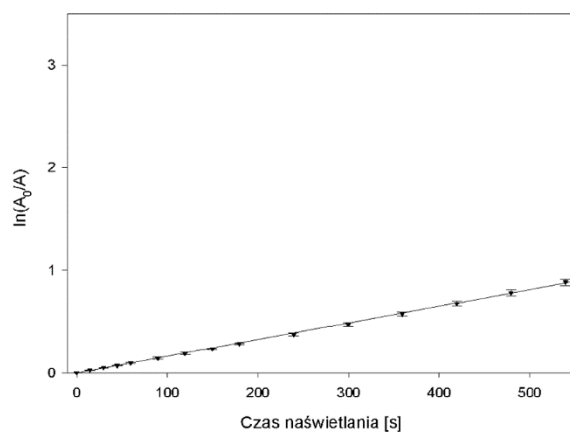


Fig. 3

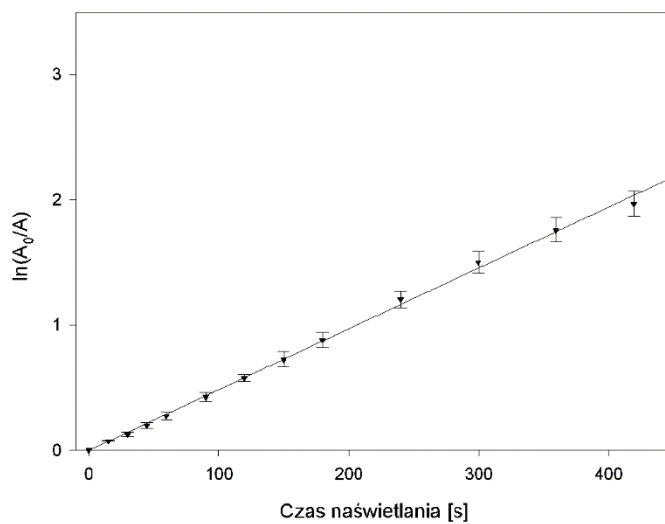


Fig. 4

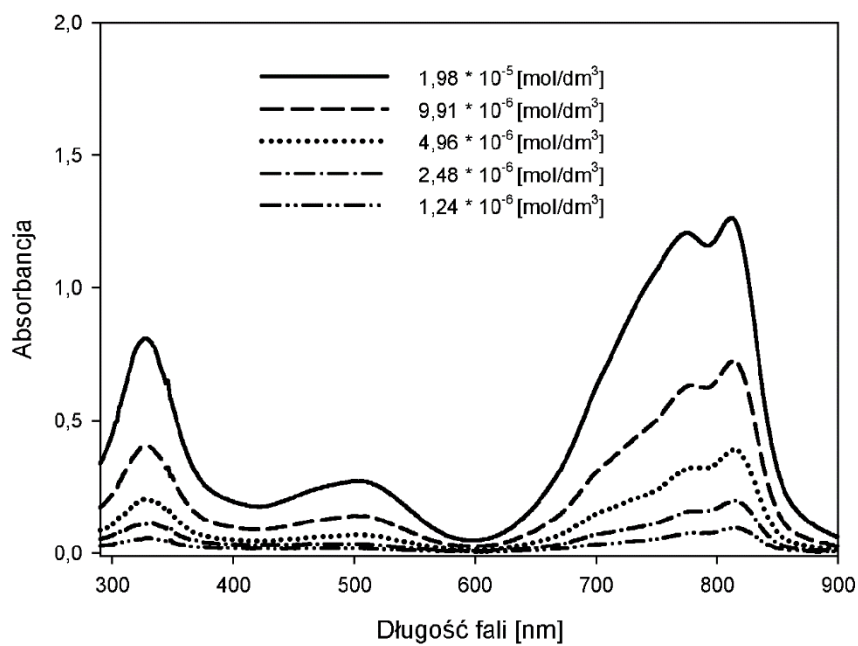


Fig. 5

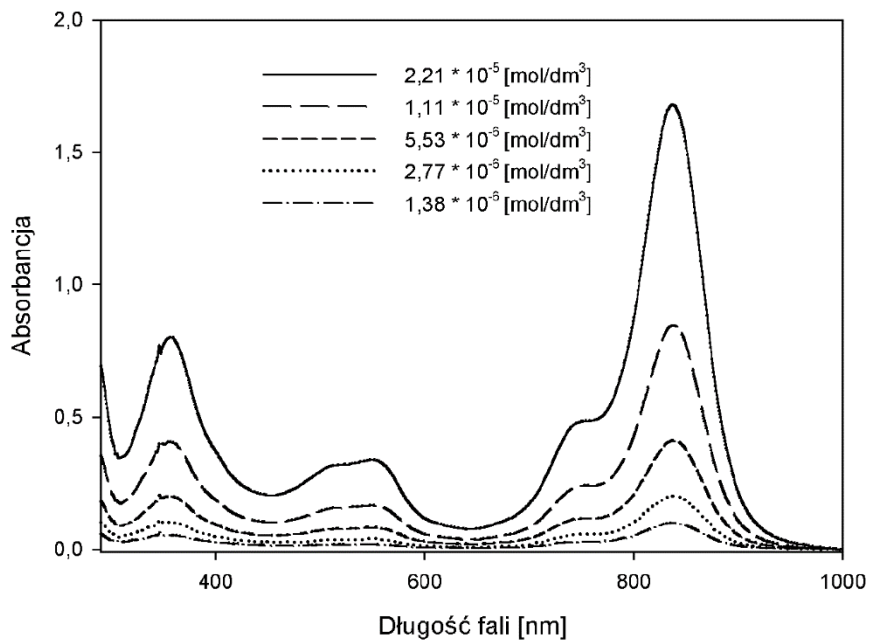


Fig. 6

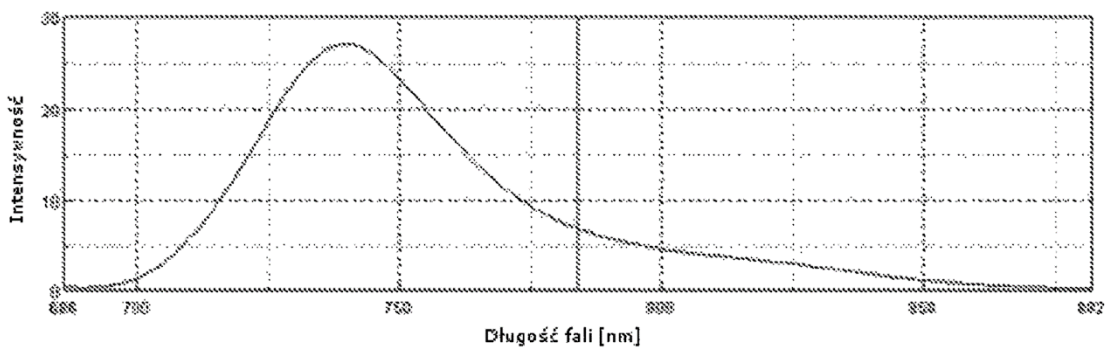


Fig. 7

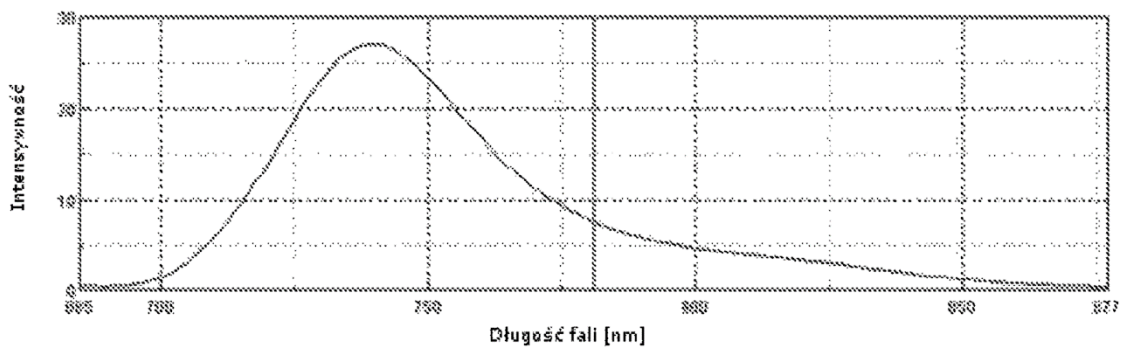


Fig. 8