

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



**PŘÍPRAVA A STUDIUM AMINOFTALOCYANINŮ II.**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

IVAN MOCÁK



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

Hradec Králové, 2020



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

V Hradci Králové

.....



V úvodě bych rád poděkoval svému školiteli prof. PharmDr. Petru Zimčikovi, Ph.D. za jeho odborné a cenné rady, trpělivé vedení, pomoc a podporu při vypracování této diplomové práce. Moje upřímné poděkování dále patří PharmDr. Jiřímu Demuthovi, Ph.D. za pomoc a rady v laboratorním bádání a doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. za změřeni NMR spekter. Za příjemné a milé pracovní prostředí děkuji celému kolektivu Azaphthalocyanine group.



# Obsah

1	Abstrakt .....	9
2	Abstract.....	10
3	Seznam použitých zkratk .....	11
4	Cíl práce.....	12
5	Teoretická část.....	13
5.1	Ftalocyaniny a azaftalocyaniny .....	13
5.2	Obecné vlastnosti Pc a AzaPc .....	16
5.3	Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti .....	21
5.3.1	Fluorescence a singletový kyslík .....	21
5.3.2	Zhášení fluorescence.....	23
5.3.3	ICT a PET .....	24
5.4	Využití Pc a AzaPc.....	27
5.4.1	Průmyslové využití .....	27
5.4.2	Fotodynamická terapie (PDT) .....	29
5.4.3	Zhášče fluorescence .....	32
6	Metodická část.....	36
6.1	Syntéza AzaPc prekurzorů .....	36
6.2	Cyklotetramerizační reakce.....	37
7	Experimentální část .....	39
7.1	Použité chemikálie a přístroje .....	39
7.2	Příprava prekurzorů.....	40
7.2.1	Příprava 5,6-di(piperidin-1-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (1) .....	40
7.2.2	Příprava 5,6-bis(dipropylamino)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (2) .....	41

7.3	Cyklotetramerizační a chelatační reakce.....	42
7.3.1	Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-okta(piperidin-1-yl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (3) .....	42
7.3.2	Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(dipropylamino)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (4).....	43
7.3.3	Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-okta(piperidin-1-yl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninátu zinečnatého komplexu (5) .....	44
7.3.4	Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(dipropylamino)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninátu zinečnatého komplexu (6).....	45
7.4	Studium stability J-dimerů a měření hodnot kvantových výtěžků fluorescence a singletového kyslíku.....	46
8	Diskuze .....	47
9	Závěr.....	51
10	Seznam použité literatury .....	52



# 1 Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

**Kandidát:** Ivan Mocák

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

**Název diplomové práce:** Příprava a studium aminorftalocyaninů II.

Azaftalocyaniny (AzaPc) jsou dusíkaté analogy ftalocyaninů (Pc), které se od nich liší záměnou benzenového jádra za jádro pyrazinové, pyridinové nebo pyridazinové. Vyznačují se širokým spektrem charakteristických fotofyzikálních a fotochemických vlastností, díky kterým nacházejí své uplatnění v mnoha oblastech, jako například průmyslová barviva, fotosenzitizéry ve fotodynamické terapii nebo jako fluorescenční senzory.

V posledních letech roste význam dialkylamino substituovaných AzaPc v oblasti zhášení fluorescence. Díky svému širokému absorpčnímu spektru jsou vhodnými kandidáty stát se univerzálními zhášeči. Za jejich zhášení fluorescence zodpovídá proces nazývaný intramolekulární přenos náboje (ICT) z periferních dialkylamino skupin. Tyto skupiny ovšem dávají také vznik unikátním supramolekulárním útvarům — J-dimerům. V této práci je zkoumán vliv objemnosti dialkylamino substituentů na tvorbu J-dimerů, které se ve srovnání s druhou formou, H-dimery, vyskytují vzácněji. Výsledky práce také popisují, jak tvorba J-dimerů ovlivňuje proces ICT.

Syntéza zkoumaných AzaPc začala přípravou jejich prekurzorů z vhodných výchozích látek. Prekurzory vznikaly nukleofilní substitucí 5,6-dichlorpyrazinu-2,3-dikarbonitrilu žádanými aminy. Vzniklé látky následně podstoupili cyklotetramerizaci za použití butanolátu lithného. Získali se tak bezkovové symetrické AzaPc s periferně navázanými dialkylamino substituenty. Tyto AzaPc byly nakonec chelatovány zinečnatými ionty, čím se získali jejich zinečnaté deriváty. Poté byly změřeny absorpční a fluorescenční spektra v prostředí různě polárních rozpouštědel. Měřena byla i produkce singletového kyslíku za využití stejných rozpouštědel.

## 2 Abstract

**Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové**

Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Analysis

**Candidate:** Ivan Mocák

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

**Title of diploma thesis:** Synthesis and investigation of aminophthalocyanines II.

Azaphthalocyanines (AzaPc) are nitrogen analogues of phthalocyanines (Pc) where benzene rings are replaced for pyrazine, pyridine or pyridazine respectively. AzaPc are characterized by broad spectrum of characteristic photophysical and photochemical properties that are responsible for their use in many areas, e.g. as industrial dyes, as photosensitizers in photodynamic therapy or as fluorescent sensors.

In recent years, importance of dialkylamino substituted AzaPc has been rising in area of fluorescence quenching. Their broad absorption spectrum makes them suitable candidates to become universal quenchers. Process responsible for their quenching ability is called intramolecular charge transfer (ICT) from peripheral dialkylamino groups. These groups are also responsible for formation of unique supramolecular arrangement - J-dimers. The influence of bulky dialkylamino substituents on formation of J-dimers, which occurrence is rarer than the other possible form – H-dimers, is studied in this work. Results also describe how ICT is affected by self-assembly into J-dimers.

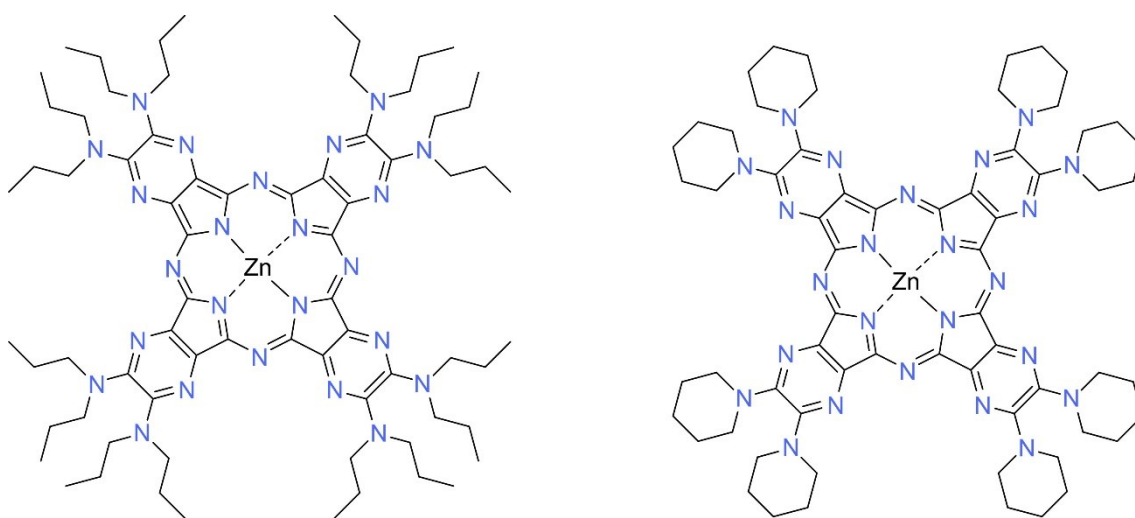
Synthesis of studied AzaPc began with preparation of their precursors from suitable starting molecules. Precursors were prepared by nucleophilic substitution of 5,6-dichloropyrazine-2,3-dicarbonitrile with desired amines. These precursors undergo cyclotetramerization with use of lithium butanolate. Metal-free AzaPc bearing peripheral dialkylamino substituents were obtained in this process. Subsequently, these AzaPc were chelated by zinc (II) cations, which resulted in their respective zinc (II) derivatives. The absorption and fluorescence spectra of synthesized AzaPc were measured in solvents of different polarity. Production of singlet oxygen was also measured in the same solvents.

### 3 Seznam použitých zkratek

AzaPc	azaftalocyanin
CuPc	měďnatý ftalocyanin
DMF	dimethylformamid
DPA AzaPc	dipropylamino substituovaný azaftalocyanin
$\Phi_{\Delta}$	kvantový výtěžek singletového kyslíku
$\Phi_F$	kvantový výtěžek fluorescence
HOMO	nejvyšší obsazený molekulový orbital
HpD	hematoporfyrinový derivát
ICT	intramolekulární přenos náboje
LUMO	nejnižší neobsazený molekulový orbital
NMR	nukleární magnetická rezonance
ODN	oligodeoxyribonukleotid
Pc	ftalocyanin
PDT	fotodynamická terapie
PET	světlem indukovaný přenos elektronu
PPD AzaPc	piperidinyl substituovaný azaftalocyanin
PS	fotosenzitizér
PYR	pyridin
RET	rezonanční přenos energie
$R_f$	retenční faktor
TOL	toluen

## 4 Cíl práce

Cílem mé diplomové práce je příprava symetrických azaftalocyaninů (AzaPc) nesoucích na své periférii dialkylamino substituenty (Obr. 1). AzaPc jsou dusíkaté analogy ftalocyaninů (Pc), které se od nich liší záměnou benzenového jádra za jádro pyrazinové, pyridinové nebo pyridazinové. Vyznačují se širokým spektrem charakteristických fotofyzikálních a fotochemických vlastností, díky kterým nacházejí své uplatnění v mnoha oblastech, jako například průmyslová barviva, fotosenzitizéry ve fotodynamické terapii nebo jako fluorescenční senzory. V posledních letech roste význam dialkylamino substituovaných AzaPc v oblasti zhášení fluorescence. Díky svému širokému absorpčnímu spektru jsou vhodnými kandidáty stát se univerzálními zhášeči. Za jejich zhášení fluorescence zodpovídá proces nazývaný intramolekulární přenos náboje (ICT) z periferních dialkylamino skupin. Tyto skupiny ovšem dávají také vznik unikátním supramolekulárním útvarům — J-dimerům. V této práci je zkoumán vliv objemnosti dialkylamino substituentů na tvorbu J-dimerů, které se ve srovnání s druhou formou, H-dimery, vyskytují vzácněji. Výsledky práce také popisují, jak tvorba J-dimerů ovlivňuje proces ICT. Jako cílové látky byly zvoleny zinečnaté deriváty AzaPc, protože se běžně používají jako zhášeče fluorescence a navíc zinečnatý kationt umožňuje snadnou tvorbu J-dimerů chelatací.



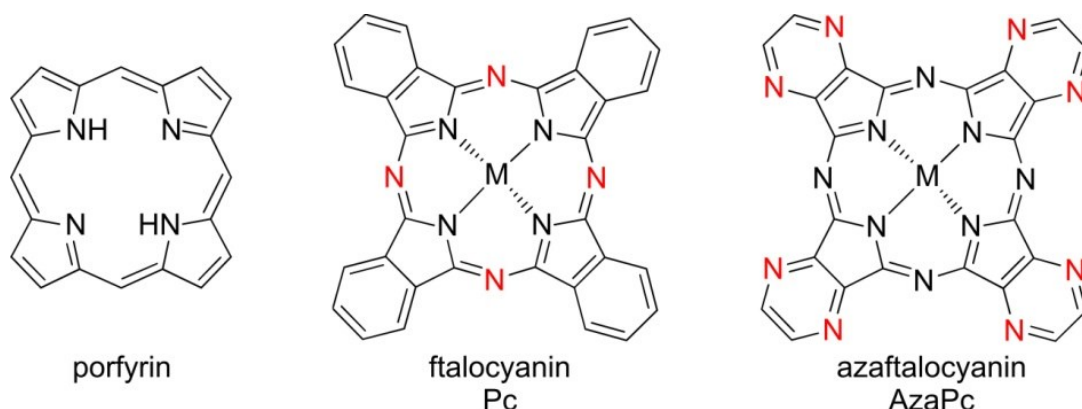
**Obrázek 1.** Požadované struktury cílových AzaPc

## 5 Teoretická část

### 5.1 Ftalocyaniny a azaftalocyaniny

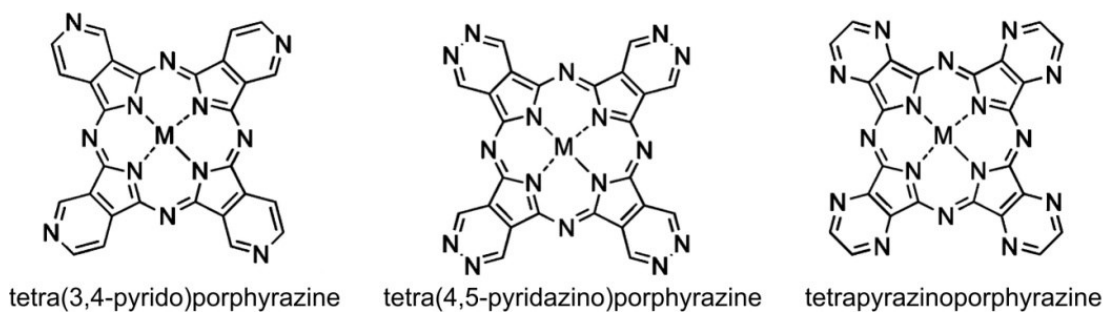
Jednou skupinou z množství organických látek, které v minulém století zaznamenaly dynamický a zajímavý rozvoj od svého objevení, je skupina látek označovaná jako ftalocyaniny (Pc) (Obr. 2). Poprvé použil pojem ftalocyanin britský vědec R. P. Linstead, který se významně podílel na objasnění jejich struktury, v roce 1934. Potvrdil také, že centrální prsteneček Pc má nápadnou podobnost s přírodními porfyriny. [1] Zájem o tyto molekuly vzrostl až v 60. letech a mimořádné pozornosti se Pc dostává počátkem devadesátých let a v současnosti stále více nabývá na významu. [2]

V případě Pc se tedy jedná se o makrocyclické sloučeniny s charakteristickou aromatickou strukturou, avšak syntetického původu. Další zajímavou skupinou jsou od Pc odvozené jejich dusíkaté analogy tzv. azaftalocyaniny (AzaPc), zejména jejich podskupina tetrapyrazinoporfyraziny. [3]



**Obrázek 2.** Podobnost ve strukturách Pc a AzaPc s porfyrinem.

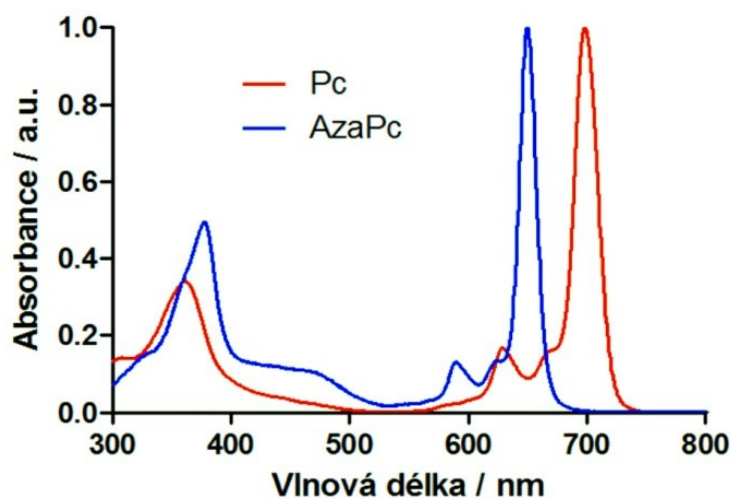
Pod pojmem aza-analogy se rozumí, že některé atomy uhlíku v planárním makrocyclickém útvaru byly nahrazeny atomy dusíku, což dává možnost vzniku několika typům AzaPc. [2] Na základě pozice a počtu těchto dusíku můžeme rozlišit například tetrapyridoporfyraziny, tetrapyridazinoporfyraziny, tetrapyrazinoporfyraziny (Obr. 3). [4]



**Obrázek 3.** Příklady různých typů struktur AzaPc. Převzato z [5].

Jednotlivé typy struktur, jak vyplývá z názvů, se liší nahrazením benzenového jádra ve struktuře Pc jádrem pyridinovým, pyridazinovým nebo pyrazinovým.

Podobně jako Pc, obsahují AzaPc systém konjugovaných vazeb. Tahle vlastnost se projevuje jako zbarvení látky od zelené přes modrou až k fialové, a to v závislosti od toho, kde se nachází jejich absorpční pás v oblasti světelného spektra (Obr. 4). [2]



**Obrázek 4.** Porovnání absorpčních pásů Pc a AzaPc. Převzato a upraveno z [6].

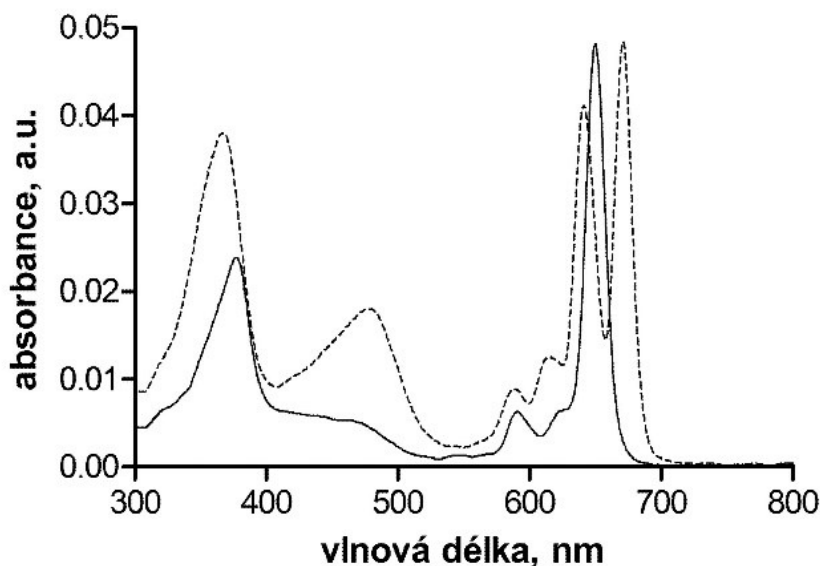
Díky svým fotochemickým a fotofyzikálním vlastnostem jsou AzaPc v praxi oceňovanými molekulami. Tyto vlastnosti je možné ovlivnit několika faktory. Jednou z možností je chelatace molekuly různými ionty kovů, např. Zn, Mg, Fe, Cu atd. Dále na jejich vlastnosti z hlediska složení molekuly má vliv periferní substituce AzaPc. Výjimečným jevem ovlivňujícím jejich vlastnosti je agregace. V neposledním řadě je možné ovlivnit jejich vlastnosti protonací molekuly AzaPc [2] nebo koordinací centrálního atomu s molekulami rozpouštědla. [7]

## 5.2 Obecné vlastnosti Pc a AzaPc

Pc a AzaPc jsou zajímavými molekulami díky svým specifickým vlastnostem. Na následujících řádcích budou některé tyto vlastnosti, díky kterým v současné praxi jejich využitelnost roste, blíže popsány.

### Absorpční vlastnosti

Jak již bylo zmíněno v úvodu, AzaPc a také Pc díky svému planárnímu makrocyclickému útvaru, který obsahuje rozsáhlý systém konjugovaných vazeb, nabývají různé odstíny barev (modré, zelené, případně fialové zbarvení) v závislosti na pozici absorpčních pásů. Makrocyclický systém Pc/AzaPc se vyznačuje dvěma typickými pásy – v oblasti kolem 360 nm se nachází tzv. B-pás a v oblasti přesahující 600 nm se nachází Q-pás. Q-pás je silně charakteristickým pro každou molekulu Pc/AzaPc, jelikož jeho poloha a tvar může být ovlivněna nejen složením makrocyklu, ale i chováním látky v pevné fázi a v roztoku, interakcí s jinými molekulami, dokonce i protonizací části molekuly (Obr. 5). [2]



**Obrázek 5.** Absorpční spektra zinečnatého AzaPc (plná čára) a bezkovového AzaPc (přerušovaná čára). Převzato z [2].



## **Rozpustnost**

Rozpustnost Pc a jejich derivátů je důležitou vlastností pro jejich použití v praxi. Nesubstituované kovové Pc jsou těžce rozpustné v běžných laboratorních rozpouštědlech. Připojením funkčních skupin je jednou z možností zvýšení rozpustnosti. U většiny substituovaných Pc a AzaPc však dochází k snížení stability v porovnání s jejich nesubstituovanými protějšky. [8] Zavedením např. karboxylových [9], sulfonátových, kvarterních ammoniových skupin dochází k zlepšení rozpustnosti ve vodě. [5] Negativní vliv na rozpustnost má i fenomén typický pro Pc a AzaPc, a to tvorba agregátů. [10]

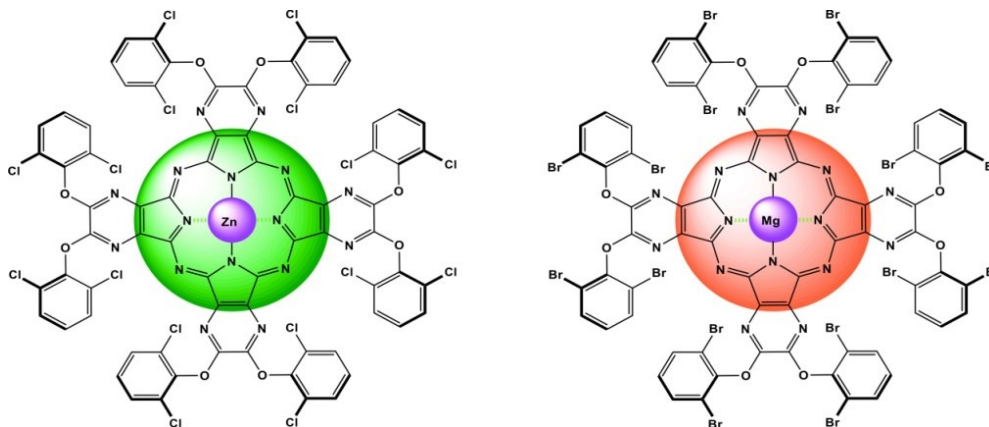
## **Acidobazicit**

Důležitými atomy podílejícími se na acidobazických vlastnostech jsou dusíky lokalizované v azomethinových skupinách Pc/AzaPc a v pyrazinu molekul AzaPc, které jsou zodpovědné za bazicitu těchto molekul. V případě bezkovových molekul Pc a AzaPc ovlivňují acidobazicitu také kyselé vodíky pyrrolových cyklů. Sloučeniny tak nabývají charakter i slabých *N*-kyselin. To je důvodem, proč jsou některé AzaPc amfoterní. Obecně lze AzaPc charakterizovat jako méně bazické a více kyselé než Pc díky odtahujícímu efektu pyrazinových jader. [4]

## **Centrální chelatovaný kation**

Charakteristickým znakem, který spojuje AzaPc s analogy ze skupiny Pc nebo porfyrinů, je možnost chelatace různých kationtů kovů do svého centra (Obr. 6). Získávají tím tak specifické vlastnosti. Podle typu chelatovaného kationtu kovu může dojít např. ke změně polohy pásů v absorpčních spektrech, ovlivněna je i schopnost produkce singletového kyslíku, změny se projevují i v emisi fotonů formou fluorescence nebo molekula může nabýt nové a zajímavé oxidoredukční schopnosti. Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti mohou ovlivnit zejména kovy a polokovy jako Zn, Mg nebo Al, k ovlivnění oxidoredukčních vlastností se mohou použít železnaté, kobaltnaté nebo měďnaté ionty kovů. V praxi jsou nejvíce prozkoumanými komplexy se zinečnatými a hořečnatými centrálními kationty. U molekul tohoto typu byl pozorován tzv. efekt těžkého atomu. Dochází u něj k upřednostnění produkce

singletového kyslíku na úkor vyzáření fotonu v důsledku chelatace atomy s vyšším atomovým číslem. Právě proto mají zinečnaté komplexy nižší emisi fluorescence a vyšší tvorbu singletového kyslíku, a hořečnaté komplexy naopak. [2]



**Obrázek 6.** AzaPc s rozdílnými centrálně chelatovanými kationty kovů.

Převzato a upraveno z [11].

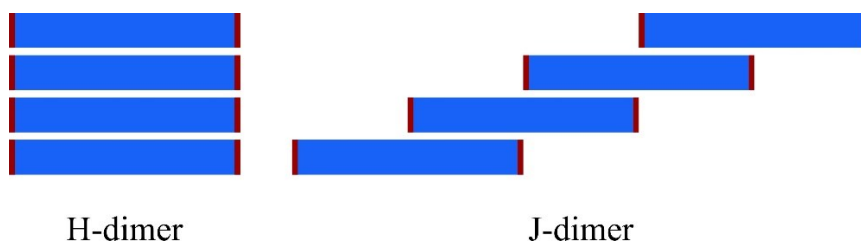
### Periferní substituce

Pro charakterizaci Pc/AzaPc je důležitá substituce na periférii makrocyklu. Podstatné jsou polohy, na kterých jsou substituenty navázané na makrocyklus, přítomnost a volba heteroatomu, kterým jsou substituenty připojeny. Pro fluorescenční vlastnosti je nejvhodnějším heteroatomem kyslík, u alkyloxy substituovaných AzaPc je vyzáření fluorescence nejvyšší. Nejlepším fotodynamickým efektem disponují AzaPc substituované přes síru, jelikož u alkylsulfanylových substituentů je pozorována největší tvorba singletového kyslíku. U alkylamino substituovaných AzaPc je naopak emise fluorescence a produkce singletového kyslíku velice malá. [4]

### Agregace

Planární makrocyklický charakter struktur Pc a AzaPc pod vlivem silných  $\pi$ - $\pi$  interakcí má sklon vytvářet dimery a vyšší agregáty. [10] Jsou známé 2 typy agregátů, které mohou Pc/AzaPc formovat – H-typ a J-typ (Obr. 7), přičemž první typ je v literatuře

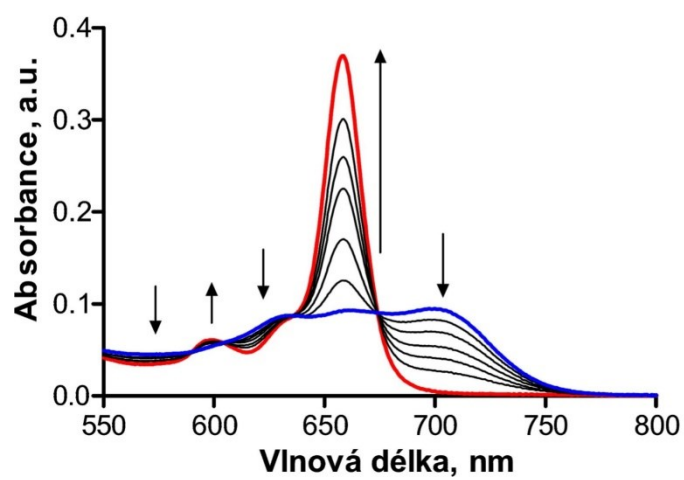
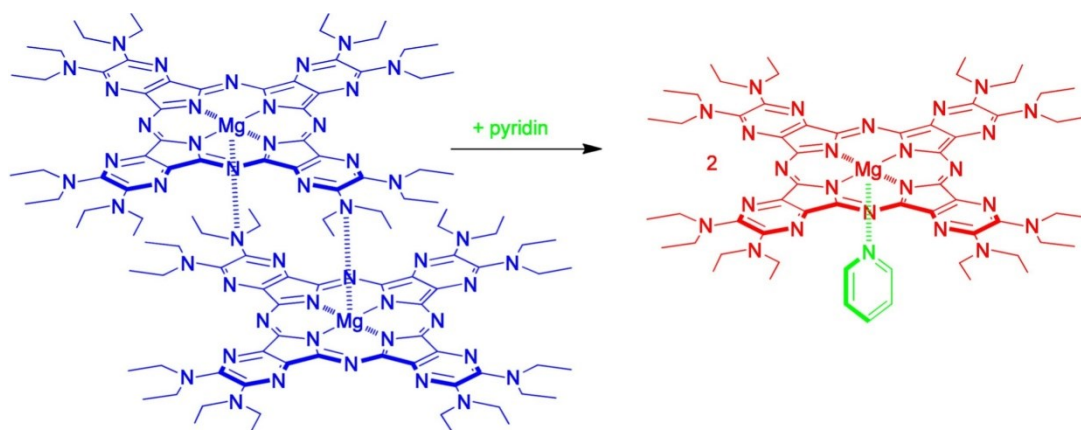
naprosto majoritní. Na základě orientace indukovaných přechodových dipólů jednotlivých monomerů vznikají jednotlivé typy. Monomery H-typu agregátů jsou uspořádány do tzv. „k tváři tvář“ (face-to-face) konformace, ve kterých jsou přechodové dipóly kolmé na rovinu spojující centra monomerů. Naopak, u J-dimerů jsou monomery organizované do tzv. „bok po boku“ (side-by-side) konformace a jejich přechodové dipóly jsou paralelní k rovině spojující monomerní centra. [12] Ve většině aplikací Pc/AzaPc je přítomnost agregátů nežádoucím prvkem, a to z důvodu ovlivnění fotofyzikálních a fotochemických vlastností [13][14] nebo komplikovaného čištění při syntéze.



**Obrázek 7.** Schématické znázornění H-typu a J-typu agregátů.

Adekvátní substitucí na periferii lze docílit snížení agregace. Například zavedením objemného substituentu dochází k sterickému bránění, a tím je znemožněno přiblížení druhého monomeru. [13] Dalším příkladem je navázání substituentů nesoucích náboje, u kterých působením elektrostatických odpuzivých sil nedojde k tvorbě agregátu. [15] Také v závislosti na schopnosti rozpouštědla koordinovat centrální atom (Obr. 8), koncentraci rozpouštědla a typu zavedeného centrálního atomu ve struktuře Pc/AzaPc může docházet k podpoření nebo inhibici agregace. [13]

**J-dimery** se vyskytují vzácněji ve srovnání s H-dimery. [14][16] Na rozdíl od H-dimerů se vyznačují vyšší fluorescencí. Tím mohou najít své využití například v oblasti značení DNA. [16] Zajímavým faktem pozorovaným při J-dimerech v pevné fázi je schopnost formování organizovaných nanoagregátů s průměrnou velikostí nanočástice 220 nm. Tím se otevírá možnost jejich využití při vývoji optických materiálů. [17] U J-dimerů byla pozorována i tvorba tříložkového supramolekulárního systému mezi „hostitelským“ Pc a dvěma rozlišnými ligandy. [18]



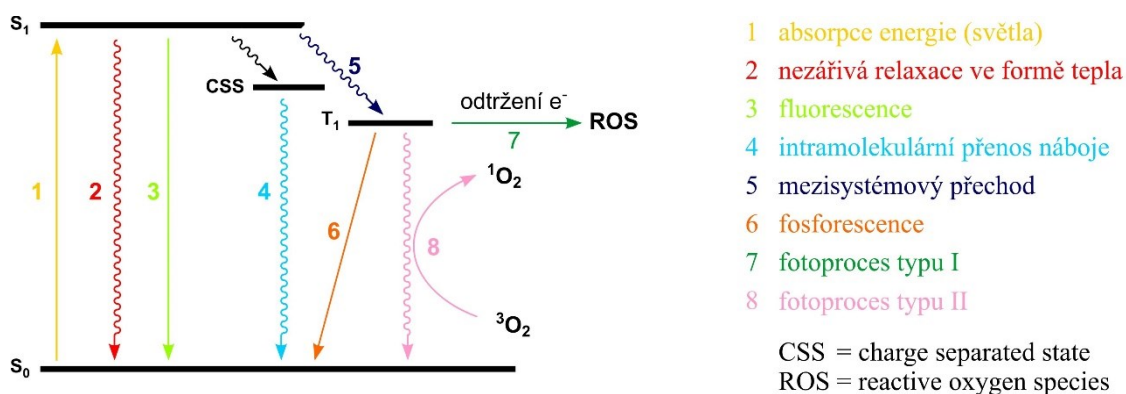
**Obrázek 8.** Změny absorpčního spektra vlivem pyridinu na dimer, jehož koordinací s centrálním atomem dochází k monomerizaci AzaPc. Převzato a upraveno z [17].

## 5.3 Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti

### 5.3.1 Fluorescence a singletový kyslík

Pc a AzaPc jsou oceňovanými molekulami díky svým charakteristickým fotofyzikálním a fotochemickými vlastnostem, přičemž nejvýraznější místo zastupují fluorescence a produkce singletového kyslíku. Pro jejich lepší pochopení je vhodné se obeznámit s procesy, které jsou s nimi spojeny a jim předchází.

Jak již bylo zmíněno, Pc/AzaPc obsahují systém konjugovaných vazeb, díky kterému mají schopnost absorpce světla určitých vlnových délek. Tím získávají svoje typické zbarvení. Díky přijaté energii se molekuly dostávají do excitovaných stavů. Tyto stavy a procesy s nimi spojené nejvýstižněji znázorňuje Jablonského diagram (Obr. 9). [2]



Obrázek 9. Jablonského diagram. Převzato a upraveno z [2].

Látka po přijetí energie přechází ze základního stavu  $S_0$  do excitovaného singletového stavu  $S_1$ . Pro navrácení do stavu  $S_0$  může látka využít několik způsobů, jak energii uvolnit. Mezi nejvyužívanější cesty patří vyzáření fotonu fluorescencí; dále tzv. nezářivé procesy, u kterých dochází k uvolnění energie ve formě tepla; a v neposlední řadě mezisystémový přechod do tripletového stavu  $T_1$ . V posledním zmíněném  $T_1$  stavu může dojít opět k několika procesům, a to fosforescenci (emitování energie jako fotonu), fotoprocésu typu I a fotoprocésu typu II. Z výše zmíněných pochodů jsou pro medicínské využití nejdůležitější fluorescence a mezisystémový

přechod do tripletového stavu, jehož důsledkem (v rámci fotoprocesu typu II) je vznik mimořádně reaktivní částice, tzv. singletového kyslíku, jenž tvoří základ pro fotodynamickou terapii. Důležitým nezářivým procesem je i tzv. intramolekulární přenos náboje (intramolecular charge transfer, ICT), díky kterému nabývají zejména AzaPc jedinečné uplatnění v rámci molekulárních senzorů. Pokud k tomuto procesu dochází, díky své rychlosti dominuje nad ostatními pochody, a tím pádem je upřednostněn. [2]

### **Fluorescence**

Pojem fluorescence, jako jeden z procesu luminiscence, označuje jev, při kterém dochází k uvolnění energii ve formě emise fotonu z elektronově excitovaných stavu. Spin elektronu, jenž se nachází v excitovaném  $S_1$  stavu, je spárován se spinem elektronu, který se nachází v základním stavu  $S_0$ . To dovoluje návrat excitovaného elektronu do stavu  $S_0$ , a děje se tak vyzářením fotonu. Jedná se o rychlý děj trvající kolem 10 ns od excitace až po návrat do základního stavu. Látky vykazující tenhle způsob relaxace excitovaného stavu se označují jako fluorofory, obvykle se jedná o aromatické molekuly. [19] Kromě vysoké rychlosti fluorescence je důležitou charakteristikou fluoroforu tzv. kvantový výtěžek fluorescence ( $\Phi_F$ , Rovnice 1). Ten je definován jako poměr množství emitovaných fotonů k počtu absorbovaných fotonů. Tím je vyjádřena pravděpodobnost fluorescence jako relaxačního pochodu. [2]

$$\Phi_F = \frac{\text{počet emitovaných fotonů}}{\text{počet absorbovaných fotonů}}$$

**Rovnice 1.** Kvantový výtěžek fluorescence

Mezi další charakteristiky fluorescence řadíme intenzitu, spektrální složení, polarizaci, dobu dohasínání a koherenční vlastnosti. [20]

### Singletový kyslík

Pojmem singletový kyslík se rozumí vysoce reaktivní cytotoxická forma kyslíku, který je úzce spjat s molekulou Pc, případně AzaPc, ve fotodynamické terapii (PDT). Pro vznik singletového kyslíku je důležitá absorpce světla Pc, čím se molekula dostává do excitovaného stavu  $S_1$ . Následní transformace do tripletového stavu  $T_1$  může pokračovat tzv. fotoreakcí typu II, při které excitované Pc předá svoji energii molekulárnímu kyslíku [21], který se nachází v základním, energeticky nejnižším tripletovém stavu [22], a tím dochází k vzniku singletového kyslíku. Takle vysoce reaktivní částice, spolu s reaktivními formami kyslíku, které vznikly ve fotoreakci typu I, mají hlavní podíl na účinku PDT. [21] Fotoprocesy I a II typu jsou kompetitivní reakční cesty, přičemž převaha jednoho z nich záleží na fyzikálně-chemických a fotofyzikálních vlastnostech použité látky v PDT. [22] Důležitou charakteristikou je kvantový výtěžek singletového kyslíku ( $\Phi_{\Delta}$ , Rovnice 2), který je vyjádřen jako poměr počtu molekul singletového kyslíku vůči množství absorbovaných fotonů. [2]

$$\Phi_{\Delta} = \frac{\text{počet vzniklých molekul singletového kyslíku}}{\text{počet absorbovaných fotonů}}$$

**Rovnice 2.** Kvantový výtěžek singletového kyslíku

#### **5.3.2 Zhášení fluorescence**

Zhášení fluorescence představuje proces typický pro alkylamino a dialkylamino substituované AzaPc. [2]

Zhášení fluorescence je definováno několika mechanismy. Jedná se o *statické zhášení*, *kolizní zhášení* (někdy nazývané i jako dynamické zhášení) a *rezonanční přenos energie (RET)*. [19]

Statické zhášení je charakteristické vytvořením komplexu mezi excitovanou látkou (donorem) a zhášečem (akceptorem). Tento komplex se odlišuje od původních látek svými vlastnostmi a po absorpci světla se vrací do základního stavu bez emise fotonu. Při kolizním zhášení předává excitovaný donor svůj elektron z nejnižšího neobsazeného molekulového orbitalu (LUMO) zhášeči, přičemž zhášeč následně předá zpět elektron z nejvyššího obsazeného molekulového orbitalu (HOMO) donoru. Tím pádem zhášeč

zůstává v excitovaném stavu. Při RET dochází k přenosu energie na malou vzdálenost, kdy po absorpci světla se elektron donoru přesouvá z LUMO do HOMO. Po interakci se zhášečem se donor vrací do základního stavu, zatímco elektron zhášeče je přesunut do orbitalu s vyšším excitovaným stavem. Následně dochází k vyzáření energie ze zhášeče buď emisí fotonu, nebo jiným způsobem (např. v podobě tepla). Nutno zmínit, že v případě kolizního zhášení a RET je minimálně částečný překryv absorpčního spektra zhášeče a emisního spektra excitované látky nezbytný. [19]

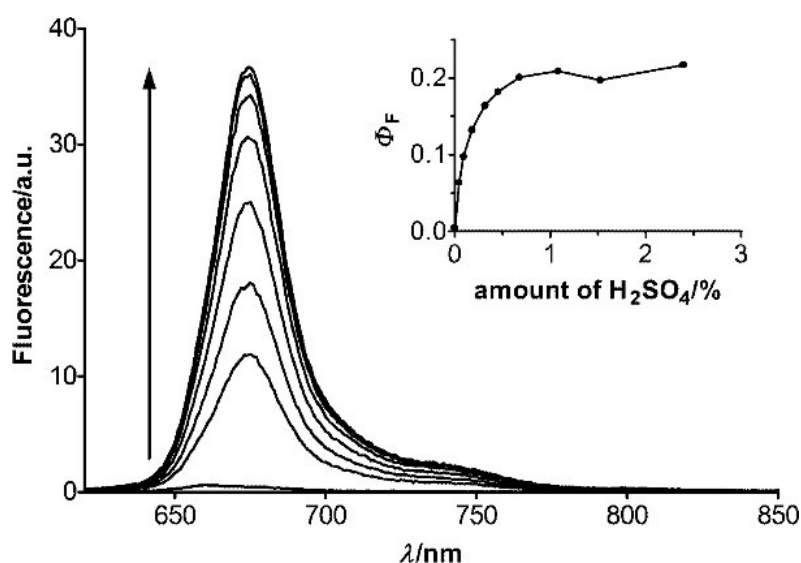
Ke zhášení fluorescence vedou i další důležité mechanismy, a to intramolekulární přenos náboje (ICT) a světlem vyvolaný přenos energie (PET), které jsou popsány v následující kapitole.

### 5.3.3 ICT a PET

*Intramolekulární přenos náboje (ICT)* označuje proces přenosu náboje z elektronově bohatého donoru na elektronově chudý akceptor v rámci jedné molekuly, kdy donor a akceptor jsou spolu v konjugaci (Obr. 11). [23] V posledních letech byl zkoumán vliv substituentů, jako např. *N,N*-dialkylaminu, v AzaPc molekule. Zjistilo se, že právě *N,N*-dialkylamin plní funkci donoru elektronů a makrocyclické jádro struktury AzaPc slouží jako jejich akceptor. [2] Dochází tak k přerozdělení elektronů a molekula se pak rychle vrací do základního stavu. ICT se tak podílí na zhášení excitovaného stavu  $S_1$  jako jeden z nezářivých kompetitivních procesů. [2][23]

Existuje několik možností, jak je možno blokovat ICT. Například protonace *N,N*-dialkylamino substituentu vytváří velkou překážku pro ICT, což se projevuje nárůstem intenzity fluorescence (Obr. 10). To potvrzuje fakt, že se volný elektronový pár dusíku podílí na tvorbě ICT, a tudíž i na zhásecím procesu. [7] Blokováním ICT se tedy molekula AzaPc nachází v tzv. ON stavu, v případě probíhajícího ICT je molekula v OFF stavu. [24] K ovlivnění funkce ICT přispívá i polarita rozpouštědla. V polárních rozpouštědlech je ICT výrazně usnadněn, zatímco v nepolárních je často inhibován. Je vhodné poznamenat, že průběh ICT je ovlivněn i počtem donorových center [7], přičemž již jeden donor dokáže vyvolat ICT a efektivně zhášet [2], 2 terciární aminy téměř kompletně zhášejí excitované stavy. K poklesu výtěžků singletového kyslíku a fluorescence dochází postupně se zvyšujícím se počtem dialkylamino substituentů. [7]

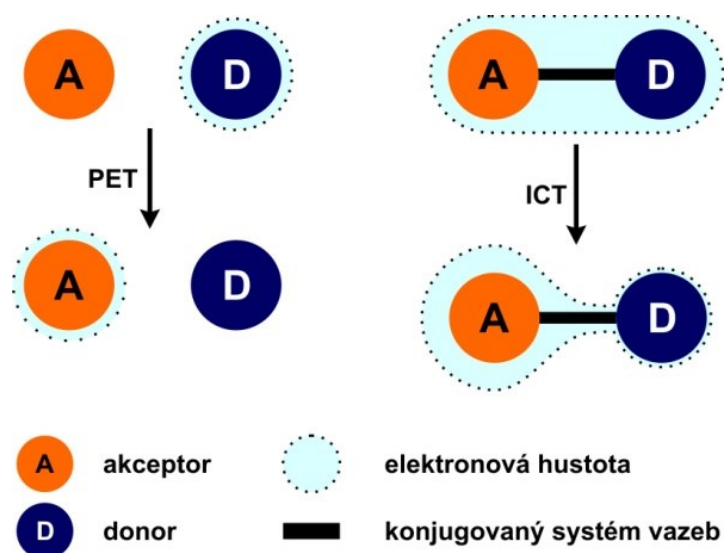




**Obrázek 10.** Příklad změny fluorescenčního emisního spektra molekuly AzaPc, u které dochází k zvýšení intenzity fluorescence protonací dusíkatého periferního substituentu v důsledku postupného zvyšování množství přítomné H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Převzato z [24].

Pokud se již v molekule nachází více než 5 donorových center, molekula je tak neovlivnitelná vůči změnám vnějšího prostředí, produkce fluorescence a singletového kyslíku je tak skoro nulová. To se pak dá využít při vývoji nových sond pro DNA zhášení. [2]

O *fotoindukovaném elektronovém přenosu (PET)* (Obr. 11) mluvíme tehdy, když po přenosu elektronu z donoru na akceptor dochází k vytvoření tzv. "charge separated state" (donor a akceptor nejsou v konjugaci). Ten je složený z radikálového kationtu donoru a z radikálového aniontu akceptoru. [25] Při návratu do základního stavu však už nedochází k emisi fotonu, energie se vyzařuje v podobě tepla. Předaný elektron nakonec přechází zpět na donor. [19] Podobně jako ICT, PET je možné regulovat navázáním substituentů na periferii a protonací centrálního atomu. [26]



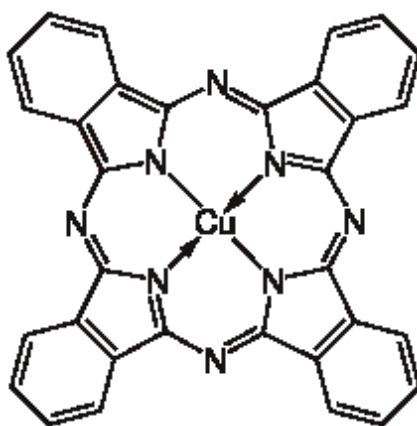
**Obrázek 11.** Zjednodušený princip ICT a PET. Převzato a upraveno z [27].

## 5.4 Využití Pc a AzaPc

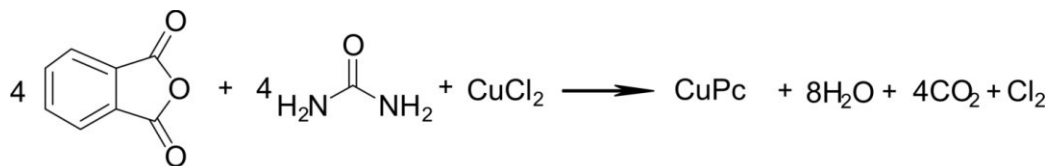
### 5.4.1 Průmyslové využití

Pc jsou široce používány jako modrá a zelená barviva již desítky let. V současnosti roční celosvětová produkce činí okolo 80 tisíc tun, přičemž až 95 % se využívá jako barvivo. Pc a jejich deriváty představují až 25 % syntetických organických pigmentů. Kolem 40 % z celkového množství barviv se využívá jako barvy pro tiskařské účely, kolem 30 % se používá jako laky a barvy, na barvení plastů jde okolo 20 % a zbývajících 10 % se používá při finálních barevných úpravách různých produktů. [28]

Nejdůležitější a nejčastěji používané barvivo je měďnatý Pc (CuPc, Obr. 12). Industriálně se připravuje cyklotetramerizací derivátů ftalové kyseliny (nejčastěji anhydrid), močoviny, měďnatých soli a katalyzátoru (Obr. 13). Jedná se o nejlevnější verzi výroby barviva. Reakce probíhá v pecích při teplotě 150 - 300 °C nebo ve vysoce vroucím rozpouštědle při 200 °C. Výtěžek tvoří okolo 90 % měďnatého Pc. Problémem tohoto procesu je zůstatek malého množství nečistot v produktu, který je těžko odstranitelný. Z toho důvodu CuPc připraven tímto způsobem není vhodný pro využití v optických, elektronických a fotoelektronických součástkách, kde jsou nutné Pc vyšší čistoty. Ty se získávají cyklotetramerizační reakcí za použití ftalonitrilu jako výchozí látky. [28]



**Obrázek 12.** Struktura prvního komerčně vyráběného měďnatého Pc



**Obrázek 13.** Reakce výroby CuPc používaná v průmyslovém zpracování.

Převzato z [28].

Nesubstituovaný měďnatý Pc se používá zejména jako modrý pigment. Postprocesovými modifikacemi lze upravit sílu a odstín barvy CuPc. Halogenované CuPc se využívají jako zelené pigmenty. Pc substituované sulfonovými kyselinami nacházejí využití při barvení bavlny. [28]

Pro aplikaci v elektrických a elektronických zařízeních jsou kromě absorpčních vlastností pro Pc důležité i jejich organické semikonduktivní a fotokonduktivní vlastnosti. [28]

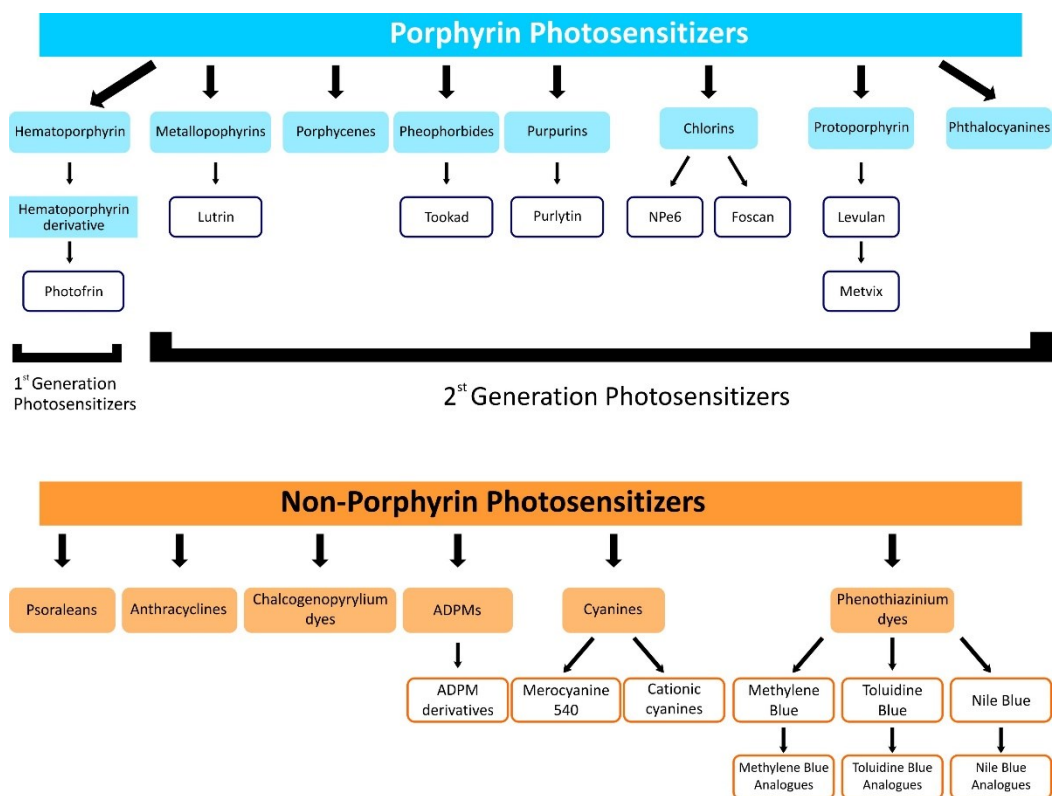
Pc mají důležité uplatnění při používání CD disků. Podílejí se na tvorbě malých jamek na povrchu, čímž dochází k digitálnímu zápisu dat v binárním kódu. Vzniklé jamky jsou pak čteny pomocí laseru. Své uplatnění nacházejí i jako součást LCD monitorů, kde tvoří základ pro dva ze tří základních barevných komponentů. Pc jsou taky významnou součástí laserových tiskáren, kde základem těchto tiskáren je fotokonduktor citlivý na světlo. V současnosti je více než 90 % organických fotokonduktorů založených na Y-modifikaci titaničitého ftalocyaninu. Kromě nízké ceny tohoto ftalocyaninu, mezi výhody patří také vynikající fotostabilita, velmi dobrá fotokonduktivita a absorpce světla ve vyšších vlnových délkách viditelného světla. Velmi dobré fotokonduktivní vlastnosti potvrzuje i fakt, že kvantové výtěžky absorpce světla dosahují hodnoty blízké 1. [28] Pc mají obrovský potenciál i jako fotosenzitivní materiál pro nelineární optiku a optická ukládací zařízení. [17]

### 5.4.2 Fotodynamická terapie (PDT)

PDT je jedna z aplikací, ve kterých Pc našly využití v posledních letech. Jedná se o léčebnou metodu nejen léčby rakoviny, ale i jiných onemocnění, která využívá kombinaci světla a fotosenzitizéru (PS). [29]

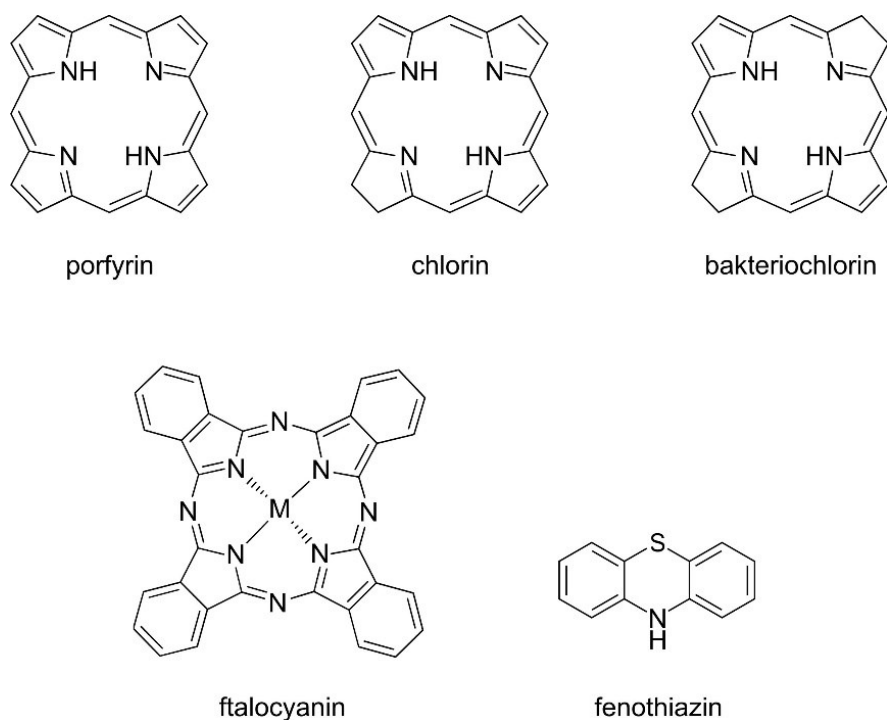
Úspěšná éra PDT začala studiiemi R. L. Lipsona a S. Schwartze na Mayo Clinic v roce 1960. Na detekci nádoru použili hematoporfyrinový derivát (HpD), směs, která obsahuje také několik porfyrinů, jako monomerů, dimerů a oligomerů. Později byla sloučenina zdokonalena a pod názvem Photofrin® (porfimer sodný) se stala prvním nejpoužívanějším fotosenzitizérem v klinické PDT. Vývoj pokračuje a bylo vyvinuto několik dalších nových fotosenzitizérů. [30]

Fotosenzitizéry (PS) jsou obecně rozděleny do dvou typů – porfyrinové a neporfyrinové (Obr. 14). PS odvozené od porfyrinů jsou v současnosti dále klasifikované jako fotosenzitizéry první, druhé a třetí generace. První generace zahrnuje HpD a porfimer. Druhá generace byla vyvíjena s cílem odstranit některé problémy vyskytující se v první generaci, jako je prodloužená fotosenzitivita kůže a suboptimální penetrace světla do tkáně. V porovnání s první generací jsou PS druhé generace z chemického hlediska také čistějšími látkami [31], absorbují světlo při delších vlnových délkách a fotosenzitivita po léčbě trvá podstatně kratší dobu. [32] Do třetí generace se řadí PS z druhé generace, které jsou navázané na nosiče (protilátky, lipozomy) zvyšující selektivní kumulaci do nádorové tkáně. Vývoj neporfyrinových PS však nepokročil tak výrazně jako u porfyrinových derivátů. V posledních letech jsou v popředí látky z kationických PS, jako methylenová nebo toluidinová modř. Cílem kumulace většiny těchto molekul jsou mitochondrie transformovaných buněk. [31]



**Obrázek 14.** Rozdělení PS. Převzato a upraveno z [31].

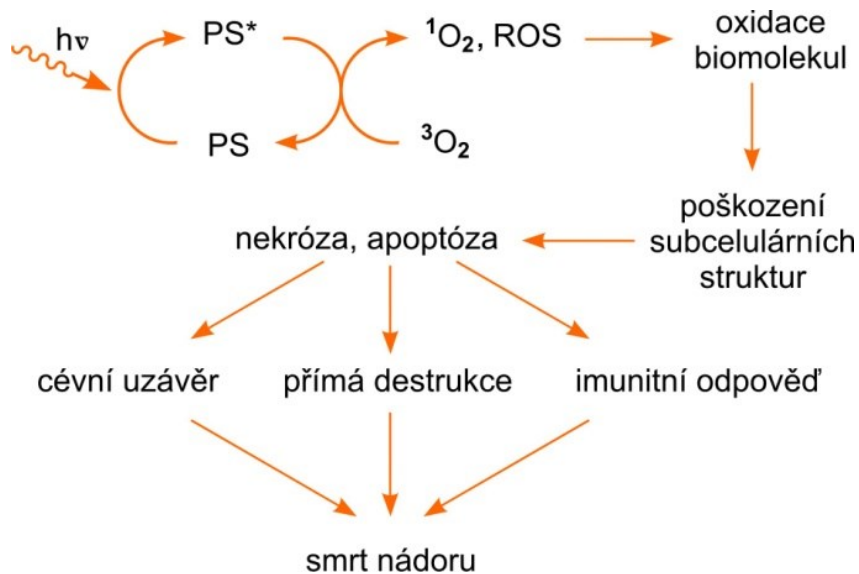
Kromě porfyrinů, které byli mezi prvními schválenými fotosenzitizéry, řadíme mezi vhodná léčiva pro PDT látky ze skupin chlorinů, bakteriochlorinů, ftalocyaninů a fenothiazinů (Obr. 15). Společným charakteristickým znakem těchto látek je jejich silná absorpce v červené části spektra, blížíci se až infračervené části spektra (obvykle kolem 660 nm). V těchto oblastech je lidská tkáň nejvíce propustná pro světlo a rozptyl světla je nejmenší. [5]



**Obrázek 15.** Základní skelety struktur PS.

PDT kombinuje tři netoxické složky: světlo, kyslík a fotosenzitizér. Kromě přímého účinku na rakovinové buňky, v dlouhodobém měřítku podněcuje reakci imunitního systému a lokálně přispívá k přerušení vaskulárního systému v okolí místa, kde se rakovinové buňky nachází. [5]

Počátečním krokem PDT je ozáření PS světlem, který je nakumulován v tkáni. Po absorpci světla vhodné vlnové délky se PS dostává do excitovaného stavu a může tak podstoupit mezisystémový přechod do jeho tripletového stavu. Uvolnění z tohoto stavu do základního stavu zahrnuje několik mechanismů, přičemž pro PDT je důležitý přenos energie na molekulu kyslíku. Díky uvedenému procesu dochází ke vzniku reaktivní formy kyslíku tzv. singletového kyslíku, který je hlavní účinnou složkou v PDT (Obr. 16). [29]



**Obrázek 16.** Princip působení PDT. Převzato a upraveno z [2].

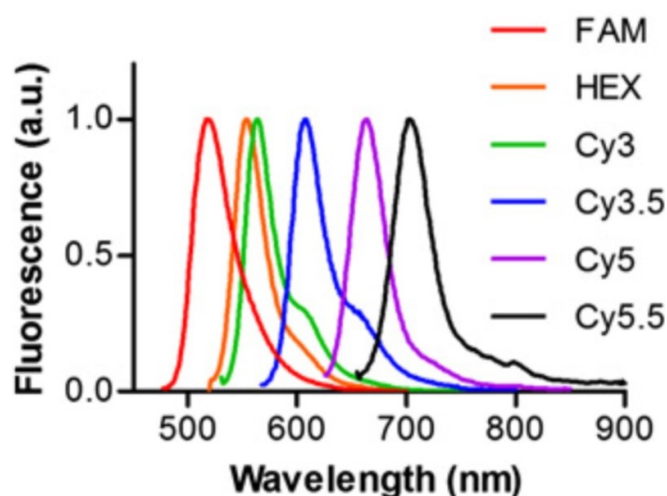
Metody PDT jsou neustále předmětem pozornosti mnohých vědeckých výzkumů a studií. Zájem o tuto oblast výzkumu je spojen se širokými možnostmi aplikace metod PDT v diagnostice a léčbě především onkologických onemocnění. Avšak slibné výsledky byly nedávno dosaženy také v jiných oblastech medicíny, a to v případě kožních a cévních onemocnění a některých infekčních onemocnění. [33] Své uplatnění nachází i při dezinfekci vody a konzervaci potravin. [34]

#### 5.4.3 Zhášecí fluorescence

Zhášení fluorescence fluorescenční sondy různými procesy je základním mechanismem pro několik různých testů využívaných v biochemii, analytické chemii, biologii a genetické analýze. [35] Metoda využívá kombinaci dvou barviv – fluoroforu, tzv. reportéru, a zhášecí (Obr. 18). Po vhodném přiblížení je schopen zhášec snižovat fluorescenci fluoroforu, což vede ke změnám v intenzitě fluorescence. Nové typy zhášeců tzv. dark quenchers (tmavé zhášecí) jsou moderním typem zhášeců bez vlastní fluorescence, což podstatně zjednodušuje hybridizační testy a zvyšuje jejich citlivost (původní zhášecí se často vyznačovaly vlastní fluorescencí). [36]



Přes množství různých dostupných fluoroforů vycházejí běžně používané zlášeče pouze z několika typů struktur. Často jsou vhodné pouze pro malý počet fluoroforů kvůli omezenému překryvu s emisními spektry fluoroforů (Obr. 17). [37] Proto je vývoj nových vysoce účinných a univerzálních zlášečů mimořádně žádaný. V poslední době jsou slibným novým typem tmavých zlášečů alkylamino substituované AzaPc. Nemají schopnost fluorescence díky jedinečnému způsobu deaktivace excitovaných stavů pomocí ICT a absorbují v širokém rozmezí 250-750 nm. [36]

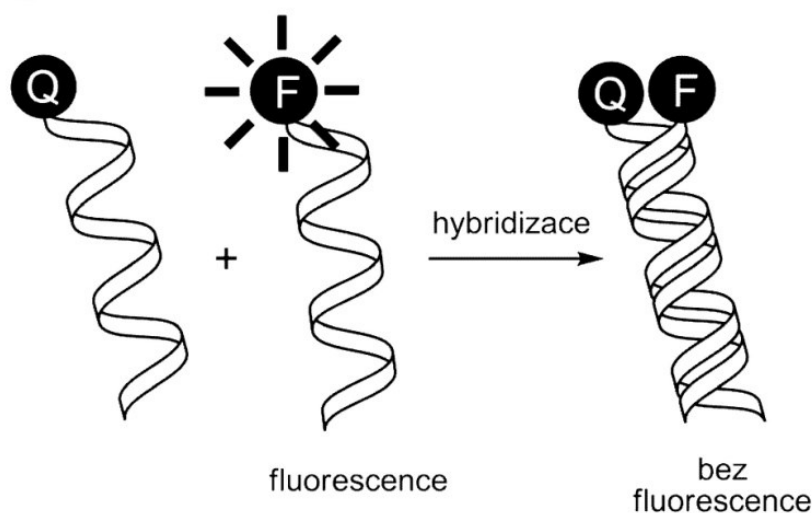


**Obrázek 17.** Emisní fluorescenční spektra prakticky využívaných fluoroforů.

Převzato z [36].

Při tvorbě vhodného AzaPc zlášeče musí být splněno několik důležitých podmínek. Periferní substituenty by měly být objemné z důvodu snížení agregace, která je typická pro planární makrocyclické systémy (jakými jsou AzaPc) a snižuje jejich rozpustnost, a zároveň komplikuje jejich izolaci a čištění. Tyto substituenty by měly být rovněž připojeny na makrocyclické jádro pomocí dusíku, aby byl umožněn průběh ICT. Takové AzaPc nemají vlastní fluorescence, která by interferovala s detekcí fluorescenčního signálu fluoroforu, a stávají se tak tmavými zlášeči. Dialkylamino substituenty splňují obě z výše zmíněných podmínek. Kvantové výtěžky singletového kyslíku by měly být co nejnižší, protože singletový kyslík je znám poškozováním oligodeoxyribonukleotidové (ODN) části sondy. U dialkylamino substituentů jsou tyto

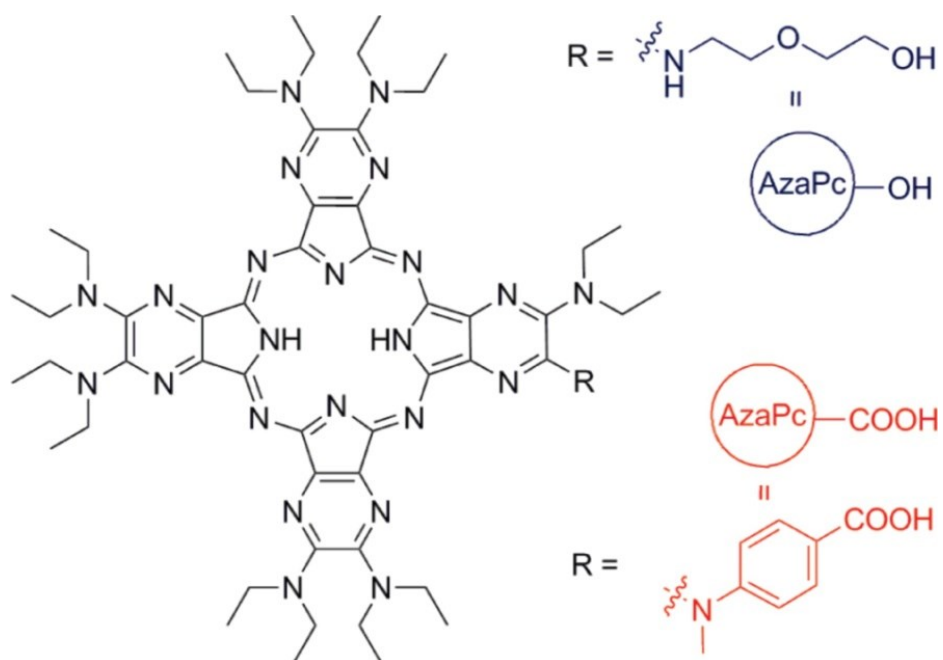
nízké výtěžky dosaženy díky ICT. Další důležitou součástí AzaPc by měla být funkční skupina, která by byla vhodná pro navázání na pevnou fázi při přípravě ODN sond. Strategie navázání AzaPc na pevnou fázi je založena na cykloadici v rámci tzv. "klik" chemie, která je známá svou selektivitou a vysokými výtěžky. V rámci výběru centrálního kationtu AzaPc se jeví zinečnaté ionty jako nejefektivnější pro účinné zhášení fluorescence. [36]



**Obrázek 18.** Princip detekce DNA sekvencí pomocí dvojice fluorofor – zhášec.

Převzato z [2].

Sondy založené na AzaPc (Obr. 19) efektivně zhášejí široký rozsah běžně používaných fluoroforů, jakými jsou například FAM a Cy5, přičemž jejich účinek zhášení převyšuje běžně používané zhášec. AzaPc tak mají vysoký potenciál se stát zhášeci volby pro kterýkoliv běžně používaný fluorofor nebo hybridizační test. [37]



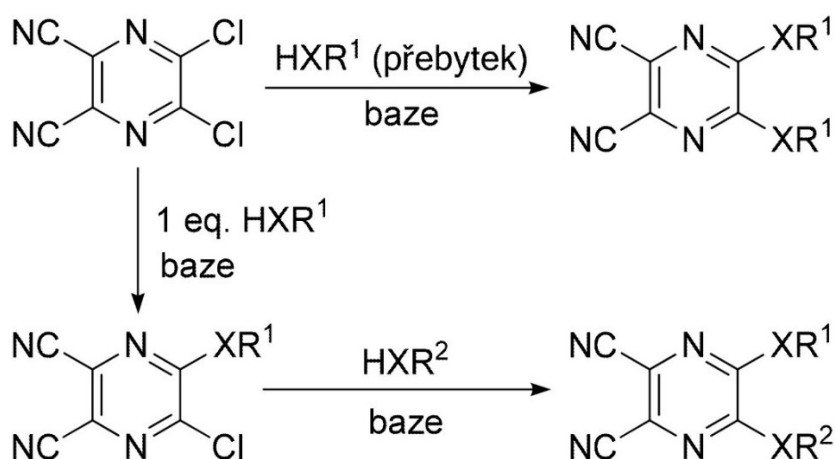
**Obrázek 19.** Příklady struktur molekul AzaPc, které byly použity jako zhášedce fluorescence. Převzato z [37].

## 6 Metodická část

### 6.1 Syntéza AzaPc prekurzorů

Výchozími látkami pro syntézu AzaPc cyklotetramerizací jsou vhodně substituované pyrazin-2,3-dikarbonitrily. Nitrilové skupiny jsou důležitými účastníky vzniku centrálních pyrrolových jader a vazeb mezi jednotlivými částmi finálního makrocyclického útvaru. Příprava pyrazin-2,3-dikarbonitrilů je podstatným krokem pro celkové vlastnosti konečných AzaPc, protože substituenty navázané na periferii AzaPc molekuly se již zavádějí do struktury pyrazin-2,3-dikarbonitrilů. [2]

Pro navázání periferních substituentů přes heteroatom je vhodná nukleofilní substituce 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (Schéma 1.), která probíhá v přebytku nukleofilního činidla. Vzniklé látky mají navázané stejné substituenty v polohách 5 a 6. Monosubstituované látky vznikají v případě použití jednoho ekvivalentu nukleofilu. Tyto látky mohou být atakovány jiným nukleofilem, čímž by vznikly prekurzory s dvěma různými substituenty (Schéma 1.). [2]

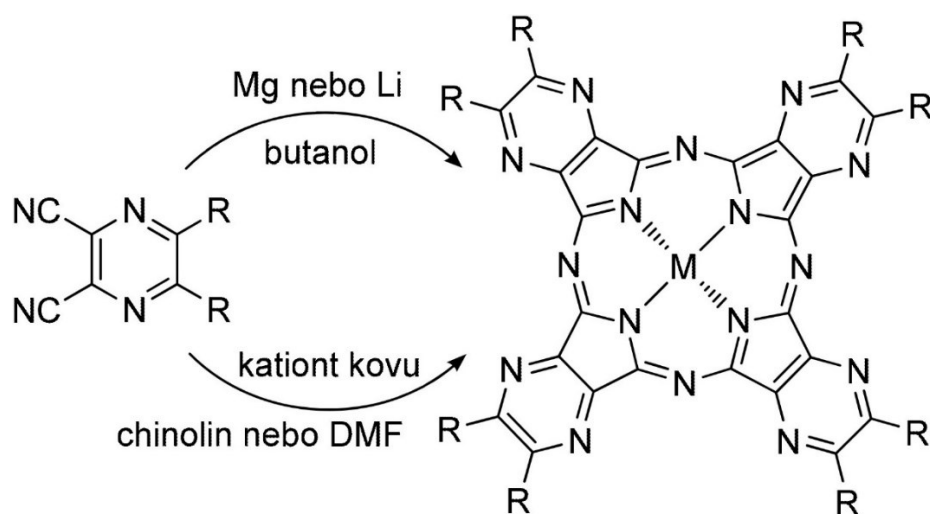


**Schéma 1.** Nukleofilní substituce 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu v přebytku nukleofilního činidla a za použití jednoho ekvivalentu nukleofilu.

Převzato a upraveno z [2].

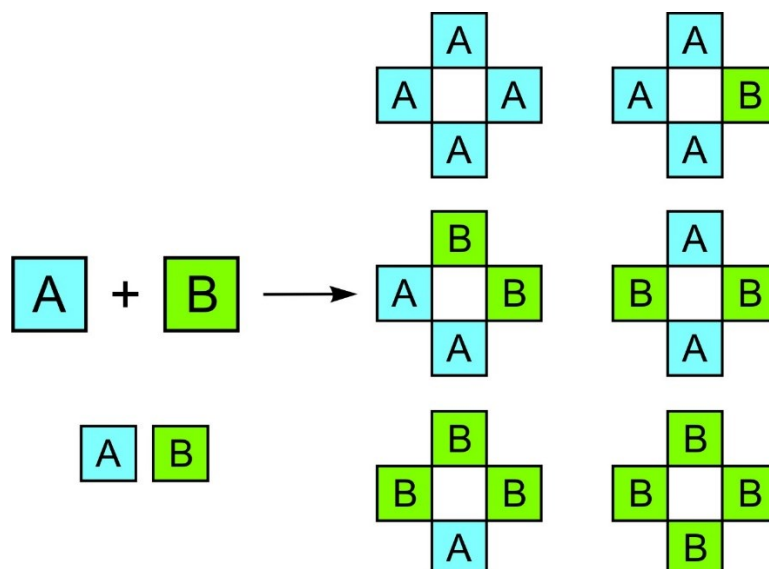
## 6.2 Cyklotetramerizační reakce

Cyklotetramerizace je reakcí vzniku AzaPc molekul, které se účastní čtyři molekuly pyrazin-2,3-dikarbonitrilu. Rozlišují se dva základní mechanismy, kterými vznikají makrocykly AzaPc (Schéma 2). První metoda je založena na tzv. templátovém efektu kationtu kovu, který je ve výsledku centrálně chelátován v molekule. Předpokládaným krokem je seskupení prekurzorů kolem kationtu kovu, čím se přiblíží k sobě na krátkou vzdálenost. Zahřátím na vyšší teplotu ve vysoko vroucím rozpouštědle (DMF, chinolin) se umožní tvorba jádra AzaPc. Podstatnou složkou druhého mechanismu je reakce alkoholátů alifatických alkoholů s elektrondeficitním uhlíkem nitrilové skupiny. Dochází k postupné tvorbě AzaPc makrocyklu, kde nejdříve vzniká alkykarboximidát, který dále napadá nitrilové skupiny, což vyústí v cyklotetramerizaci. Tímto způsobem jsou nejčastěji využívány lithné a hořečnaté alkoholáty. Nutno zmínit, že metodou templátového efektu se dosahují nižší výtěžky než použitím alkoholátu, avšak někdy je použití této metody nezbytné. [2]



**Schéma 2.** Mechanismy cyklotetramerizace AzaPc – využití hořečnatého/lithného alkoholátu nebo templátovým efektem kationtu kovu. Převzato a upraveno z [2].

Počet prekurzorů vstupujících do cyklotetramerizace může ovlivnit konečnou strukturu AzaPc. Pokud od reakce vstupuje pouze jeden prekurzor, dochází ke vzniku symetrických AzaPc. Existují však případy, ve kterých jsou požadovány nesymetrické AzaPc, u kterých je rozložení substituentů na periférii rozdílné. Obvykle se jedná o studium vlivu struktury AzaPc na fotofyzikální a fotochemické parametry nebo zdokonalení jisté využívané vlastnosti. Při tvorbě nesymetrických AzaPc se účastní reakce dva prekurzory A a B (Schéma 3). Jedná se o tzv. statistickou kondenzaci. Výsledkem této reakce je šest různých kongenerů, které je však nutno následně odseparovat chromatografickými metodami pro získání cílené látky. Navzdory obtížnějšímu procesu poskytuje tato metoda nesymetrické molekuly s výhodnějšími vlastnostmi než symetrické látky. [2]



**Schéma 3.** Schématické znázornění statistické kondenzace prekurzorů A a B, jejímž výsledkem je šest různých kongenerů AzaPc. Převzato a upraveno z [2].

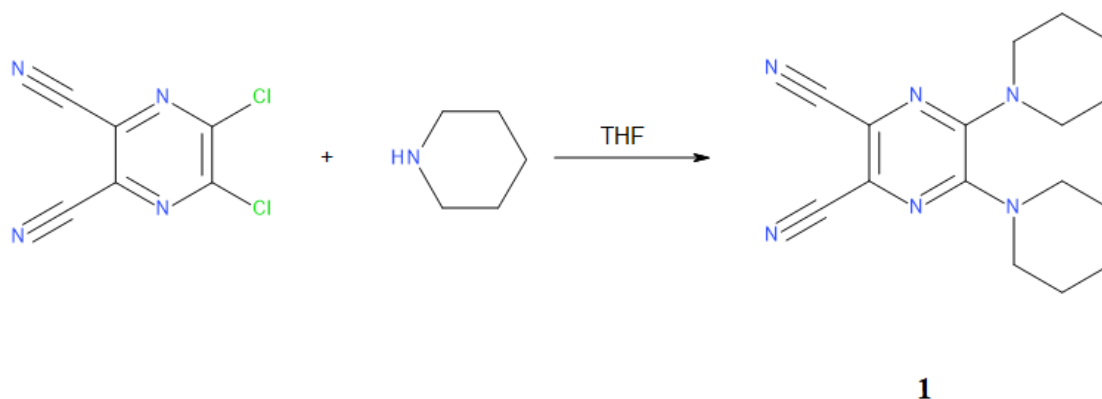
## 7 Experimentální část

### 7.1 Použité chemikálie a přístroje

Rozpouštědla a výchozí látky použité v reakcích byly zakoupeny od firem Penta, Sigma-Aldrich/Merck, TCI Chemicals a Acros. Přístroj použitý ke změření teplot tání látek byl ELECTROTHERMAL IA9200. Průběh reakcí byl sledován tenkovrstvou chromatografií (TLC) na deskách Merck Kieselgel 60 F254. Vyhodnocení desek bylo prováděno na UV lampě při vlnových délkách 254 a 366 nm. Stacionární fáze Merck Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm) byla používána k čištění produktů sloupcovou chromatografií. Složení mobilních fází jsou uvedeny u jednotlivých reakcí. Shimadzu UV-2600PC spectrophotometer byl používán k měření spekter UV/VIS. Pro naměření infračervených spekter byl použit IČ spektrofotometr Nicolet 6700 v ATR módu. Přístrojem VNMR S500 byla měřena <sup>1</sup>H NMR a <sup>13</sup>C NMR spektra. Fluorescenční spektra byla změřena na spektrofluorometru FS5 (Edinburgh Instruments) s fotonásobičem R928P.

## 7.2 Příprava prekurzorů

### 7.2.1 Příprava 5,6-di(piperidin-1-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (1)



5,6-Dichloropyrazin-2,3-dikarbonitril (1,00 g, 5,04 mmol) byl v 250ml baňce rozpuštěn v tetrahydrofuranu (THF, 100 ml). Následně za stálého míchání po kapkách byl přidáván piperidin (2,98 ml, 7,65 mmol). Reakční směs se nechala reagovat po dobu 1 hodiny za stálého míchání při laboratorní teplotě. Ihned po přidání piperidinu došlo k změně barvy na žlutou a začala se objevovat sraženina. Průběh reakce byl monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC) v soustavě hexan-aceton (4:1,  $R_f = 0,32$ ). Po reakci byl produkt přefiltrován od vzniklé soli a přefiltrovaný roztok byl odpařen na vakuové rotační odparce. Následně byla provedena rekrystalizace z methanolu. Po rekrystalizaci byl produkt přefiltrován. Výsledkem reakce byla žlutá krystalická látka **1**.

**Výtěžek:** 1,24 g (83 %)

**Molekulová hmotnost:** 296,4 **T. t.:** 170,3 – 171,5 °C

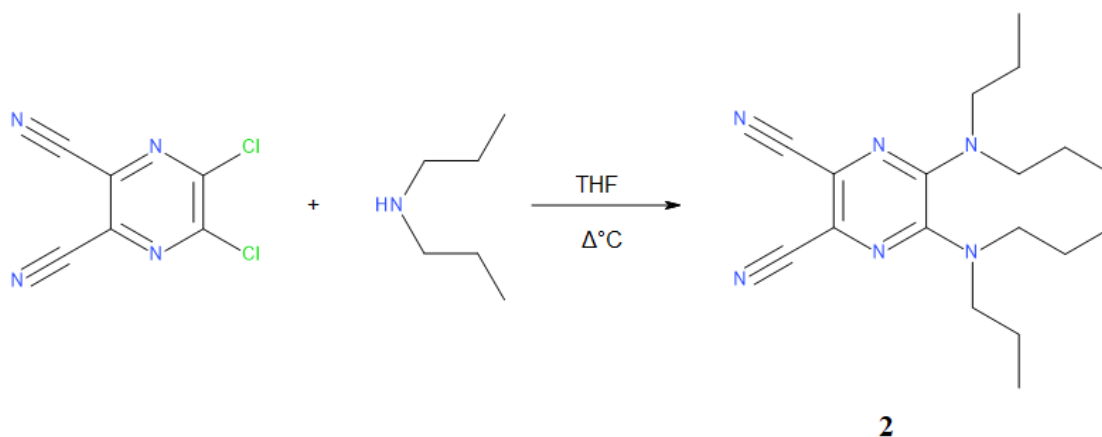
$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.49 – 3.44 (m, 8H), 1.69 – 1.64 (m, 12H).

$^{13}\text{C NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.79, 120.46, 114.87, 47.23, 25.41, 24.24.

İĀ (ATR) v 2944 (CH), 2857 (CH), 2227 (CN), 1516, 1460, 1273.



## 7.2.2 Příprava 5,6-bis(dipropylamino)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (2)



5,6-Dichloropyrazin-2,3-dikarbonitril (1,00 g, 5,03 mmol) byl rozpuštěn v tetrahydrofuranu (THF, 100 ml). Za stálého míchání a při teplotě 90 °C pod zpětným chladičem byl následně přidáván po kapkách dipropylamin (4,13 ml, 30,15 mmol). Reakce probíhala 2 hodiny. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v soustavách hexan-ethylacetát (5:1,  $R_f = 0,46$ ) a čistý toluen ( $R_f = 0,50$ ). Po reakci byla směs odpařena na rotační vakuové odparce. Produkt byl třikrát vytřepán do ethylacetátu. Organická fáze byla pak odpařena na rotační vakuové odparce. Výsledný produkt byl nakonec rekrystalizován z methanolu. Výsledkem byla žlutá krystalická látka **2**.

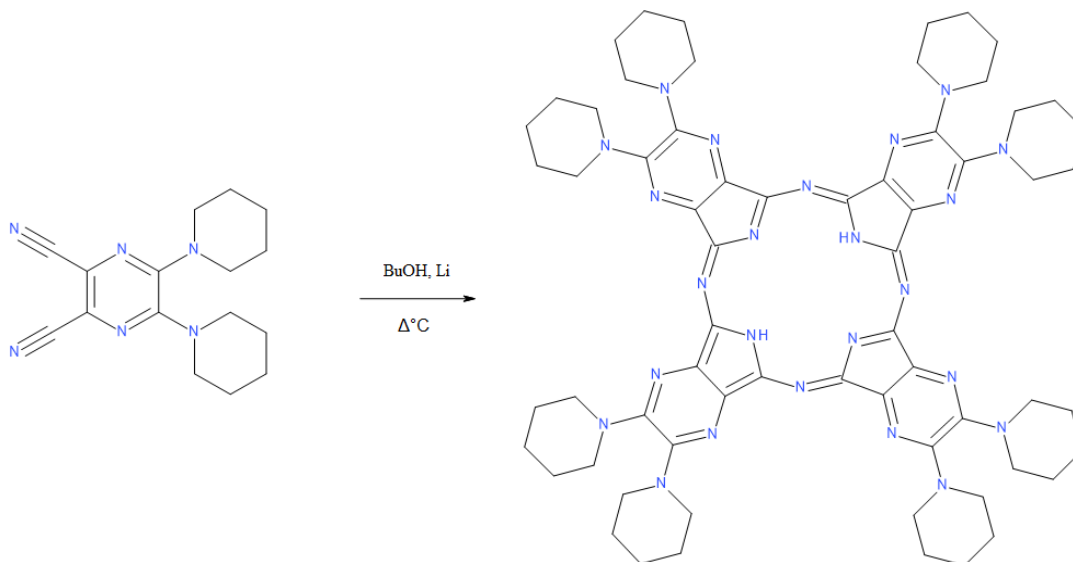
**Výtěžek:** 1,23 g (75 %)

**Molekulová hmotnost:** 328,5 **T. t.:** 100,2 – 101,6 °C

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.45 – 3.39 (m, 8H), 1.49 (h,  $J = 7.4$  Hz, 8H), 0.81 (t,  $J = 7.4$  Hz, 12H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.08, 120.01, 115.07, 50.42, 20.82, 11.49. IČ (ATR)  $\nu$  2963 (CH), 2931 (CH), 2874 (CH), 2220 (CN), 1524s.

## 7.3 Cyklotetramerizační a chelatační reakce

### 7.3.1 Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-okta(piperidin-1-yl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (3)



3

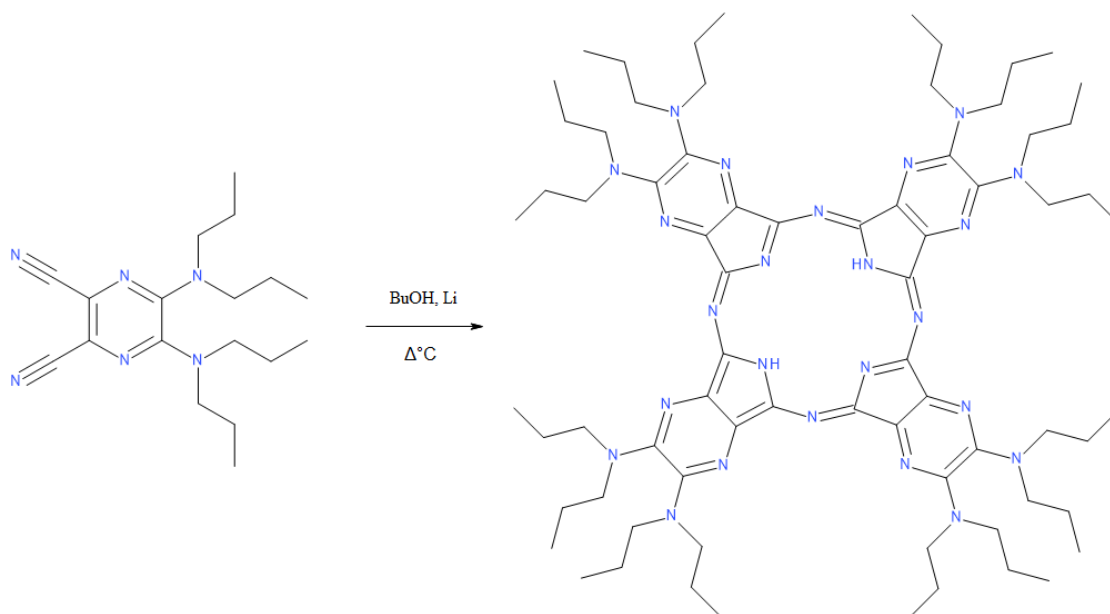
Látka **1** (0,40 g, 1,35 mmol) byla v 250ml baňce rozpuštěna v čerstvě předestilovaném bezvodém butanolu (BuOH, 15 ml). Směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 2 hodiny, přičemž na začátku bylo do směsi přidáno lithium (65,57 mg, 9,45 mmol). Reakční směs vykazovala na konci reakce tmavě zelené zbarvení. Po skončení reakce bylo rozpouštědlo odpařeno na rotační vakuové odparce. Následně byla ověřena čistota pomocí TLC v soustavě dichlormethan-aceton (50:1,  $R_f = 0,23$ ). Výslední produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi dichlormethan-aceton (50:1). Po chromatografii byl produkt suspendován v methanolu a přefiltrován přes skládaný filtr. Získaným produktem byla tmavě zelená krystalická látka **3**. Nutno poznamenat, že chování látky při čištění (zejména její nízká rozpustnost) a při filtraci ovlivnilo množství získaného produktu.

**Výtěžek:** 131,1 mg (33 %)

**Molekulová hmotnost:** 1187,5

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta$  4.11 – 3.54 (m, 32H), 1.89 – 1.69 (m, 32H), 1.69 - 1.51 (m, 16H). Signály v  $^{13}\text{C}$  NMR nebyly detekovány. IČ (ATR) v 3273 (NH), 2927 (CH), 2847 (CH), 1411.

### 7.3.2 Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(dipropylamino)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (4)



4

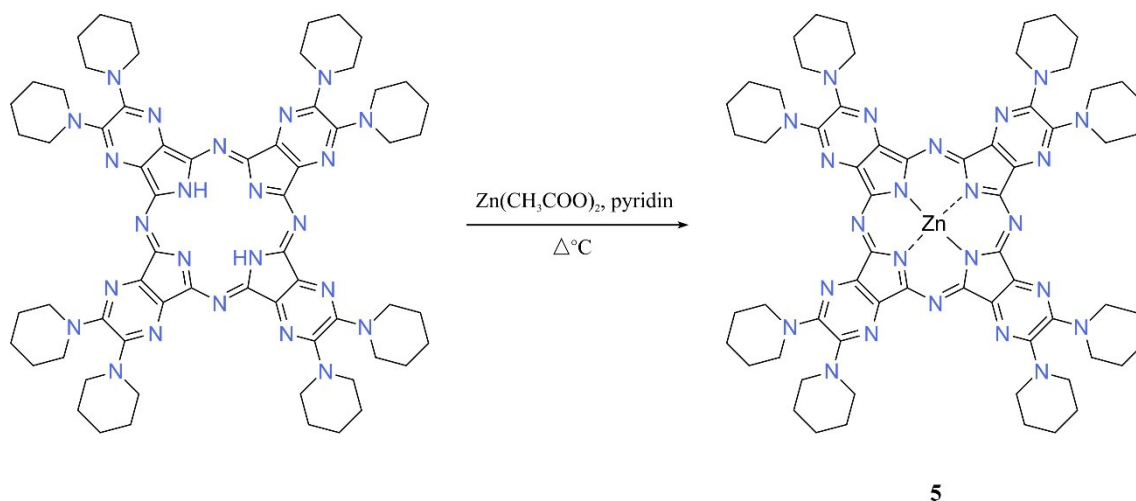
Látka **2** (0,40 g, 1,22 mmol) byla v 250ml baňce rozpuštěna v čerstvě predestilovaném bezvodém butanolu (BuOH, 15 ml). Do směsi bylo přidáno lithium (59,16 mg, 8,52 mmol) na začátku procesu zahřívání, který probíhal pod zpětným chladičem a trval 2 hodiny. Po skončení reakce bylo rozpouštědlo odpařeno na rotační vakuové odparce. Čistota produktu byla následně ověřena pomocí TLC v soustavě dichlormethan-aceton (30:1,  $R_f = 0,67$ ). Následnou sloupcovou chromatografií v mobilní fázi dichlormetan-aceton (30:1) byl výsledný produkt přečištěn. Po odpaření čistých frakcí byl produkt suspendován v methanolu a přefiltrován přes skládaný filtr. Reakcí byla získána tmavě fialová krystalická látka **4**.

**Výtěžek:** 232,3 mg (58 %)

**Molekulová hmotnost:** 1315,9

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta$  3.96 (t,  $J = 7.3$  Hz, 32H), 1.83 – 1.75 (m, 32H), 1.02 (t,  $J = 7.3$  Hz, 48H). Signály v  $^{13}\text{C}$  NMR nebyly detekovány. IČ (ATR) v 3301 (NH), 2960 (CH), 2932 (CH), 2873 (CH), 1424.

### 7.3.3 Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-okta(piperidin-1-yl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyanináto zinečnatého komplexu (5)



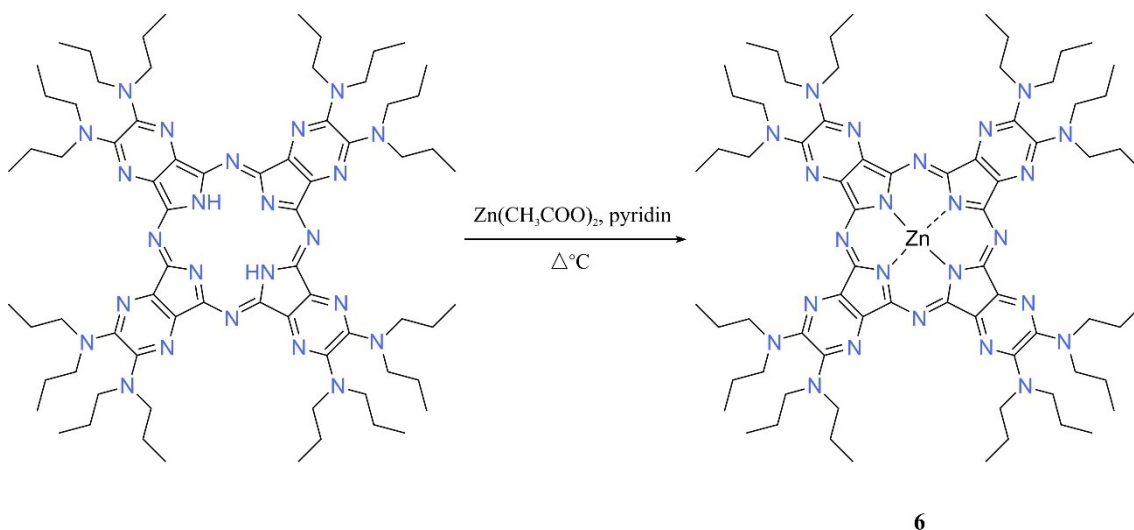
AzaPc **3** (131,1 mg, 0,11 mmol) byl navážen do 100ml baňky. K němu byl následně přidán bezvodý octan zinečnatý (202,6 mg, 1,10 mmol). Nakonec byl do směsi přidán pyridin (20 ml). Směs byla ponechána reagovat 5 hodin při teplotě 130 °C za stálého míchání pod zpětným chladičem. Po dokončení reakce byl z produktu odpařen pyridin do sucha na rotační vakuové odparce. Do výsledného produktu byla přidána voda. Tato směs byla následně přefiltrována přes skládaný filtr. Zůstatek na filtru byl převeden do baňky. Následnou sloupcovou chromatografií za využití mobilní fáze aceton-dichlormethan v poměru 1:50 byl produkt přečištěn. Výsledným produktem byla tmavě zelená krystalická látka **5**.

**Výtěžek:** 21,4 mg (16 %)

**Molekulová hmotnost:** 1250,89

NMR spektra nebylo možné změřit kvůli špatné rozpustnosti. IČ (ATR) v 2932 (CH), 2852 (CH), 1416. UV-vis (DMF)  $\lambda_{\max}$  ( $\epsilon$ ) 655 (171 600), 599 (31 400), 503 (27 500), 379 (120 700).

### 7.3.4 Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(dipropylamino)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyanináto zinečnatého komplexu (6)



Produkt **4** (232,3 mg, 0,18 mmol) byl navážen do 100ml baňky, ke kterému byl následně přidán bezvodý octan zinečnatý (323,9 mg, 1,77 mmol). Směs byla nakonec doplněna pyridinem (20 ml). Reakce směsi probíhala 5 hodin při teplotě 130 °C za stálého míchání pod zpětným chladičem. Po dokončení reakce byl z produktu odpařen pyridin do sucha na rotační vakuové odparce. Výsledný produkt byl smíchán s vodou. Tato směs byla následně přefiltrována přes skládaný filtr. Zůstatek na filtru byl převeden do baňky. Následovalo přečištění produktu sloupcovou chromatografií za využití mobilní fáze aceton-dichlormethan v poměru 1:30. Výsledným produktem byla tmavě fialová krystalická látka **6**.

**Výtěžek:** 97,8 mg (42 %)

**Molekulová hmotnost:** 1379,24

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta$  3.89 (d,  $J = 7.8$  Hz, 32H), 1.76 – 1.64 (m, 32H), 0.95 (t,  $J = 7.4$  Hz, 48H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta$  151.13, 142.45, 50.86, 21.30, 11.98, 11.95. Jeden aromatický signál nebyl detekován. IČ (ATR) v 2962 (CH), 2932 (CH), 2873 (CH), 1418. UV-vis (DMF)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ) 661 (186 800), 601 (35 500), 521 (38 600), 381 (124 600).

## 7.4 Studium stability J-dimerů a měření hodnot kvantových výtěžků fluorescence a singletového kyslíku

Studium stability J-dimerů a měření hodnot kvantových výtěžků fluorescence a singletového kyslíku probíhalo podobně jako v již publikované práci. [38]

**Při studování stability J-dimerů** byly AzaPc **5** (v koncentraci 5 uM) a **6** (v koncentraci 1 uM) v toluenu převedeny do kyvety a následně změřena jejich absorbance. Následně byl do kyvety přidáván pyridin až do maximální koncentrace pyridinu (2 M), přičemž absorpce byla měřena po každém přidavku pyridinu. Disociační konstanta byla pak vypočtena nelineární regresí z grafu závislosti množství monomeru na koncentraci pyridinu za použití programu GraphPad Prism.

**Hodnoty kvantového výtěžku fluorescence  $\Phi_F$**  byly měřeny spektrofluorometrem FS5 (Edinburgh Instruments) za využití porovnávací metody, přičemž jako referenční látka byl použit nesubstituovaný zinečnatý Pc ( $\Phi_F = 0.32$  v THF). [39] Stanovení hodnot  $\Phi_F$  probíhalo v triplikátu a výsledné hodnoty v diskuzi představují průměrné hodnoty těchto měření. Předpokládaná experimentální chyba měření byla  $\pm 10 \%$ . Absorpce vzorků při excitační vlnové délce byla držena pod hodnotou 0,05 a při maximu Q-pásu pod hodnotou 0,1, aby se předešlo efektu vnitřního filtru. Výsledky hodnot  $\Phi_F$  byly korigovány pro indexy lomů rozpouštědel. V případě směsi toluen/pyridin byl použit 1% roztok pyridinu v toluenu, což odpovídá 0,124 M pyridinu v toluenu.

**Hodnoty kvantových výtěžků singletového kyslíku  $\Phi_\Delta$**  byly stanoveny porovnávací metodou založenou na rozkladu chemické sondy pro singletový kyslík (1,3-difenyliisobenzofuran). Detaily metody jsou blíže popsány v literatuře. [40] Jako referenční látka byl použit nesubstituovaný zinečnatý ftalocyanin ( $\Phi_\Delta = 0,56$  v DMF [41], 0,56 v toluenu [42]). Stanovení hodnot  $\Phi_\Delta$  bylo provedeno v triplikátu a výsledné hodnoty v diskuzi představují průměrné hodnoty těchto měření. Předpokládaná experimentální chyba měření byla  $\pm 10 \%$ . V případě směsi toluen/pyridin byl použit 1% roztok pyridinu v toluenu, což odpovídá 0,124 M pyridinu v toluenu.

## 8 Diskuze

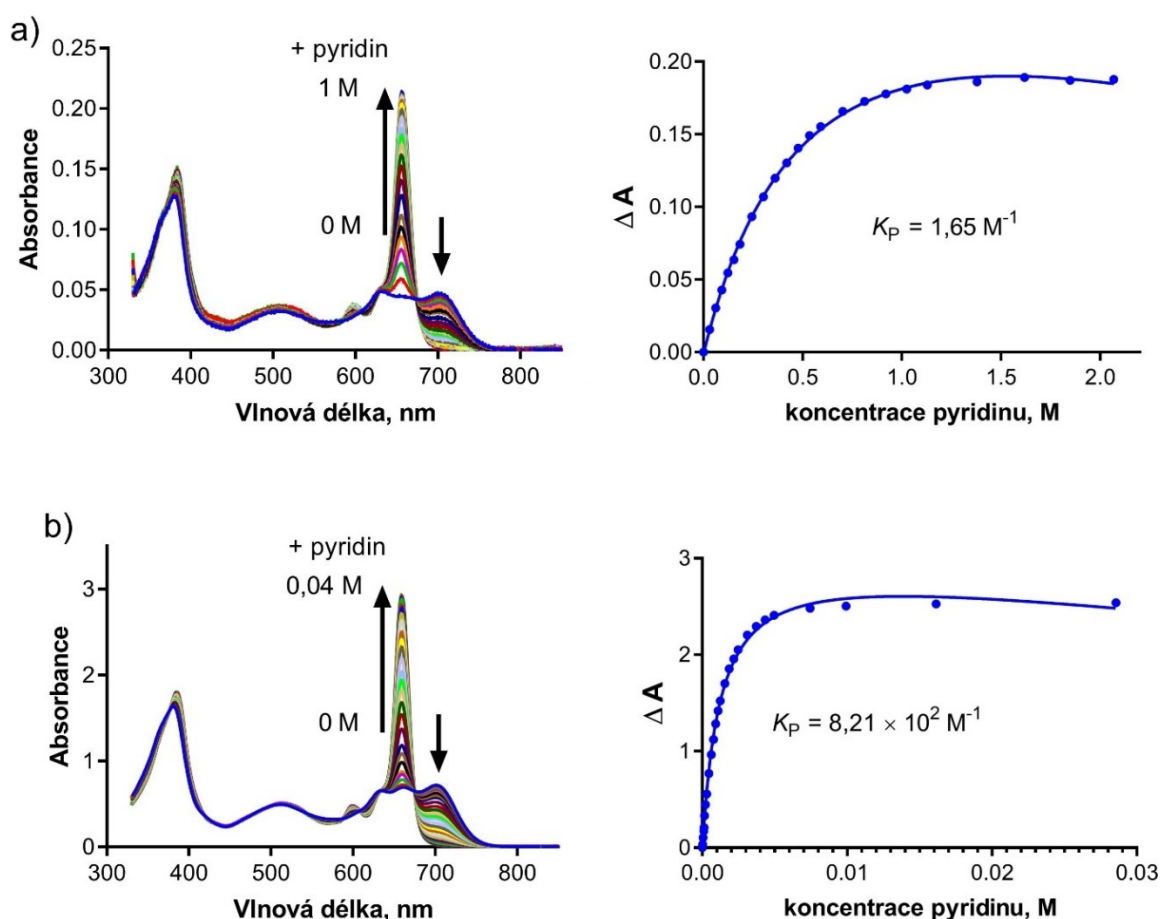
V rámci studií výzkumné skupiny Azaphthalocyanine group bylo pozorováno, že dialkylaminoazaftalocyaniny mohou tvořit supramolekulární útvary, konkrétně J-dimery, což je raritní jev u ftalocyaninů a jejich analogů, protože naprostá většina tvoří H-dimery. Tento jev je následně schopen ovlivňovat jejich využití. V této práci bylo úkolem připravit dva AzaPc s dialkylamino substitucí na periferii a zkoumat vliv objemnosti alkylových zbytků na dusíku na tvorbu J-dimerů a jejich stabilitu.

Byly navrženy dva symetrické AzaPc - první obsahoval na periferii piperidinyly substituenty, u druhého byly navázány dipropylamino substituenty. Syntéza AzaPc začala přípravou prekurzorů z 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu nukleofilní substitucí, přičemž reakce probíhaly v přebytku daného aminu s dobrými výtěžky. Dalším krokem byla cyklotetramerizace Linsteadovou metodou syntézy za využití butanolátu lithného. Ve finále jsme získali bezkovové AzaPc, protože lithný kation jako centrální atom v molekule AzaPc nadržuje a už jen v přítomnosti vody se z ní odstraňuje. Nutno zmínit fakt, že piperidinylové substituenty nezabraňovali tvorbě agregátů moc dobře, což mělo za důsledek výrazně horší rozpustnost látky. Z toho důvodu ji bylo těžší izolovat z roztoku nebo filtračního papíru. To se nakonec projevilo daleko nižšími výtěžky, které tak nebyly důsledkem nižší reaktivity, ale spíše komplikovaného zpracování a výrazných ztrát při čištění. Následně byly z bezkovových molekul připravené zinečnaté deriváty, protože tvorba J-dimerů je postavená na koordinaci s centrálním kationtem, tzn. mezi periferním dusíkem a centrálním zinečnatým kationtem. Tyto zinečnaté deriváty byly připraveny chelatací zinečnatých iontů za využití octanu zinečnatého. U piperidinyly substituovaného AzaPc byla izolace opět výrazně horší, a tím pádem i jeho výtěžky byly nízké.

Následně jsme charakterizovali konečné zinečnaté AzaPc pomocí absorpčních spekter, jelikož u J-dimerů je Q-pás typicky roztažený a je posunutý bathochromně do červené oblasti spektra oproti monomeru (Obr. 20). Důležitým faktem je, že pokud se absorpční spektra změří v nekoordinujícím rozpouštědle, jako je třeba toluen, tak tam nedochází ke kompetici rozpouštědla s vazbou na zinečnatý kationt, a vážou se na něj periferní aminy, čímž vzniká J-dimer. Ve chvíli, kdyby se spektra měřila v koordinujících rozpouštědlech, jako je třeba pyridin, tak by rozpouštědlo kompetovalo s vazbou

periferních aminosubstituentů na zinečnatý kationt. Tím pádem zůstává molekula monomerní s molekulou rozpouštědla koordinovanou na centrální kationt. To se dá pak využít pro porovnání stability zkoumaných J-dimerů.

Při srovnávání stability byla využita titrace pyridinem. U dipropylamino substituovaného AzaPc **6** už po malých přídavicích pyridinu docházelo k rozpadu J-dimeru, kdežto u piperidinyl substituovaného AzaPc **5** byla potřebná koncentrace pyridinu poměrně vysoká (Obr. 20). Z průběhů křivek bylo pak možné odvodit disociační konstantu ( $K_P$ ), která je rozdílná jak pro dipropylamino substituovaný, tak i pro piperidinyl substituovaný AzaPc. To naznačuje zásadní rozdíl v stabilitě J-dimerů. Dipropylaminové substituenty, díky své objemnosti, snižují stabilitu J-dimeru, kdežto piperidinylové substituenty jsou více méně skoro planární a tvorbu J-dimeru spíše podporují.



**Obrázek 20.** Absorpční spektra studovaných AzaPc (piperidinyl substituovaný AzaPc **5** (a); dipropylamino substituovaný AzaPc **6** (b)) při postupném zvyšování koncentrace pyridinu. Grafy vpravo vyjadřují změnu absorbance v maximu Q-pásu monomerní formy.



Následně jsme studovali i vliv J-dimerů na fotofyzikální vlastnosti. Šlo zejména o vliv na průběh ICT, který je pro dialkylamino substituované AzaPc typický. Avšak při tvorbě J-dimeru docházelo jistým způsobem k inhibici ICT. Pro proces ICT byla důležitá i polarita rozpouštědla. Čím je rozpouštědlo polárnější, tím je průběh ICT silnější a charakteristické hodnoty  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  jsou tím pádem extrémně nízké. Zatímco v nepolárních rozpouštědlech je ICT hodně inhibován a hodnoty  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  jsou mnohem vyšší.

**Tabulka 1.**

Rozpouštědla	Hodnoty $\Phi_F$		Hodnoty $\Phi_\Delta$	
	PPD AzaPc 5	DPA AzaPc 6	PPD AzaPc 5	DPA AzaPc 6
<b>DMF</b>	$5,225 \times 10^{-5}$	$6,188 \times 10^{-5}$	0,004	0,005
<b>TOL</b>	0,233	0,039	0,291	0,141
<b>TOL+1%PYR</b>	- <sup>a</sup>	0,006	- <sup>a</sup>	0,063

**Tabulka 1.** Hodnoty kvantových výtěžků fluorescence ( $\Phi_F$ ) a singletového kyslíku ( $\Phi_\Delta$ ) studovaných AzaPc (*PPD AzaPc* = piperidinylyl substituovaný AzaPc; *DPA AzaPc* = dipropylamino substituovaný AzaPc; *DMF* = dimethylformamid; *TOL* = toluen; *PYR* = pyridin). <sup>a</sup> Látka nebyla plně monomerní při použitím přídavku pyridinu. Díky vysoké stabilitě J-dimerů nebylo možné stanovit hodnoty v tomto rozpouštědle.

Jak vyplývá z Tabulky 1, hodnoty  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  jsou v polárním rozpouštědle (dimethylformamid, DMF) výrazně nízké, což potvrzuje průběh ICT a nedochází zde ani k agregaci – molekuly AzaPc se vyskytují ve stavu monomeru. V nepolárním rozpouštědle (toluen, TOL) jsou již hodnoty  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  mnohem vyšší, což naznačuje, že proces ICT je inhibován a tvorba J-dimeru je podporována. Pro porovnání vlivu J-dimeru a monomeru v nepolárním rozpouštědle byly hodnoty  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  ještě změřeny i v toluenu, který navíc obsahoval 1 % pyridinu. Malé množství pyridinu zabezpečovalo monomerizaci AzaPc, přičemž nedocházelo k zvýšení polarity toluenu, který zabezpečoval inhibici ICT. Jak je patrné z hodnot  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$ , nepřítomnost J-dimeru

snižuje  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  v porovnání s hodnotami naměřenými v čistém toluenu. Toto stanovení mohlo být provedeno pouze pro látku **6**.

Ze získaných výsledků lze usoudit, že J-dimer se jistým způsobem podílí na inhibici ICT. Měření v toluenu s pyridinem proběhlo jenom v případě dipropylamino substituovaného AzaPc **6**, jelikož by pro monomerizaci piperidinyl substituovaného AzaPc **5** byla nutná vyšší koncentrace pyridinu (cca 15-20 %, Obr. 20), což by mohlo mít za následek změnu polaritu toluenu a ovlivnění naměřených hodnot  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$ .

## 9 Závěr

Cílem mé diplomové práce bylo zkoumat vliv alkylamino substituentů AzaPc na tvorbu J-dimerů, kterých výskyt je mnohem raritnější, jelikož drtivá většina ftalocyaninů tvoří H-dimery.

V rámci mé diplomové práce byly syntetizovány nejdřív 2 prekurzory:

- 5,6-di(piperidin-1-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitril
- 5,6-bis(dipropylamino)pyrazin-2,3-dikarbonitril

Z nich byly cyklotetramerizací připraveny 2 symetrické bezkovové AzaPc. Následně byla provedena chelatace zinečnatého kationtu za vzniku finálních zinečnatých AzaPc. První AzaPc obsahoval piperidinyl jako periferní substituent, druhý AzaPc měl navázaný dipropylamino substituent. V práci byl studován vliv těchto konkrétních substituentů na tvorbu J-dimerů.

Ukázalo se, že objemné dipropylamino substituenty výrazně snižují stabilitu J-dimerů v nekoordinujících rozpouštědlech. Z výsledků měření lze usoudit, že vznik J-dimerů ovlivňoval fotofyzikální vlastnosti. To znamená, že pokud došlo k tvorbě J-dimeru, tak průběh ICT, jakožto typického procesu deaktivace excitovaných stavů u alkylamino substituovaných AzaPc, byl výrazně inhibován. Pokud se však AzaPc vyskytoval jako monomer, vykazoval ICT výraznější průběh. V polárních rozpouštědlech, jako je třeba v DMF, již probíhal ICT zcela kompletně. Ovlivnění ICT se tak projevilo na hodnotách kvantových výtěžků fluorescence a singletového kyslíku, které jsou důležitými charakteristikami AzaPc.

## 10 Seznam použité literatury

- [1] LINSTEAD R. P.; Phthalocyanines. Part I. A New Type of Synthetic Colouring Matters. *J. Chem. Soc.* 1934, **212**, 1016-1017.
- [2] ZIMCIK P.; Azaftalocyaniny - Od syntéz přes fotochemické a fotofyzikální vlastnosti k aplikacím. *Chem. Listy.* 2012, **106**(4), 275–282. ISSN 00092770.
- [3] KOPECKY K., ZIMCIK P., NOVAKOVA V., MILETIN M., MUSIL Z., STRIBNA J.; The synthesis and characterization of metal-free, unsymmetrical azaphthalocyanines with hydroxy groups and their complex formation with pyridine. *Dyes Pigm.* 2008, **78**(3), 231–238. ISSN 01437208. Dostupné z: doi:10.1016/j.dyepig.2007.12.009
- [4] ZIMCIK P., NOVAKOVA V., MILETIN M., KOPECKY K.; Azaphthalocyanines containing pyrazine rings with focus on the alkylheteroatom, aryl and heteroaryl substitution and properties important in photodynamic therapy. *Makroeterotsikly.* 2008, **1**(1), 21–29. ISSN 19989539. Dostupné z: doi:10.6060/mhc2008.1.21
- [5] MILETIN M., ZIMCIK P., NOVAKOVA V.; Photodynamic properties of aza-analogues of phthalocyanines. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2018, **17**(11), 1749-1766. ISSN 14749092. Dostupné z: doi:10.1039/c8pp00106e
- [6] VACHOVA L., NOVAKOVA V., KOPECKY K., MILETIN M., ZIMCIK P.; Effect of intramolecular charge transfer on fluorescence and singlet oxygen production of phthalocyanine analogues. *Dalton Trans.* 2012, **41**(38), 11651-11656. ISSN 14779226. Dostupné z: doi:10.1039/c2dt31403g
- [7] NOVAKOVA V., ZIMCIK P., MILETIN M., VACHOVA L., KOPECKY K., LANG K., CHABERA P., POLIVKA T.; Ultrafast intramolecular charge transfer in tetrapyrazinoporphyrazines controls the quantum yields of fluorescence and singlet oxygen. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, **12**(11), 2555–2563. ISSN 14639076. Dostupné z: doi:10.1039/b918546a
- [8] GHANI F., KRISTEN J., RIEGLER H.; Solubility properties of unsubstituted metal phthalocyanines in different types of solvents. *J. Chem. Eng. Data.* 2012, **57**(2), 439–449. ISSN 00219568. Dostupné z: doi:10.1021/je2010215

- [9] CHERNONOSOV A. A., ERMILOV E. A., RÖDER B., SOLOVYOVA L. I., FEDOROVA O. S.; Effect of Some Substituents Increasing the Solubility of Zn(II) and Al(III) Phthalocyanines on Their Photophysical Properties. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2014, **2014(III)**. ISSN 1687479X. Dostupné z: doi:10.1155/2014/952632
- [10] CLAESSENS Ch. G., HAHN U., TORRES T.; Phthalocyanines: From outstanding electronic properties to emerging applications. *Chem. Rec.* 2008, **8(2)**, 75–97. ISSN 15278999. Dostupné z: doi:10.1002/tcr.20139
- [11] AL-SAWAH M., NAZEER A. A., SALAH L., DURMUŞ M., MAKHSEED S.; Novel azaphthalocyanines with efficient anti-corrosion capability: Effect of halogens and heavy metals. *J. Mol. Liq.* 2019, **293**, 111545. ISSN 01677322. Dostupné z: doi:10.1016/j.molliq.2019.111545
- [12] SAKA E. T., GÖL C., DURMUŞ M., HKANTEKIN H., BIYIKLIOGLU Z.; Photophysical, photochemical and aggregation behavior of novel peripherally tetra-substituted phthalocyanine derivatives. *J. Photochem. Photobiol., A.* 2012, **241**, 67–78. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2012.05.023
- [13] KOSTKA M., ZIMCIK P., MILETIN M., KLEMERA P., KOPECKY K., MUSIL Z.; Comparison of aggregation properties and photodynamic activity of phthalocyanines and azaphthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol., A.* 2006, **178(1)**, 16–25. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2005.06.014
- [14] NOVAKOVA V., ZIMCIK P., KOPECKY K., MILETIN M., KUNES J., LANG K.; Self-assembled azaphthalocyanine dimers with higher fluorescence and singlet oxygen quantum yields than the corresponding monomers. *Eur. J. Org. Chem.* 2008, (19), 3260–3263. ISSN 1434193X. Dostupné z: doi:10.1002/ejoc.200800317
- [15] ZIMCIK P., MILETIN M., MUSIL Z., KOPECKY K., KUBZA L., BRAULT D.; Cationic azaphthalocyanines bearing aliphatic tertiary amino substituents - Synthesis, singlet oxygen production and spectroscopic studies. *J. Photochem. Photobiol., A.* 2006, **183(1–2)**, 59–69. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2006.02.022

- [16] DEMUTH J., MILETIN M., KUCERA R., RUZICKA A., HAVLINOVA Z., LIBRA A., NOVAKOVA V., ZIMCIK P.; Self-assembly of azaphthalocyanine-oligodeoxynucleotide conjugates into J-dimers: Towards biomolecular logic gates. *Org. Chem. Front.* 2020, **7**(3), 445–456. ISSN 20524129. Dostupné z: doi:10.1039/c9qo01364d
- [17] TOLBIN A. Y., PUSHKAREV V. E., TOMILOVA L. G., ZEFIROV N. S.; Monohydroxyphthalocyanines as potential precursors to create nanoscale optical materials. *J. Porphyrins Phthalocyanines.* 2017, **21**(2), 128–134. ISSN 10991409. Dostupné z: doi:10.1142/S1088424617500213
- [18] GARCÍA-IGLESIAS M., PEUNTINGER K., KAHNT A., KRAUSMANN J., VÁZQUEZ P., GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ D., GULDI D. M., TORRES T.; Supramolecular assembly of multicomponent photoactive systems via cooperatively coupled equilibria. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, **135**(51), 19311–19318. ISSN 00027863. Dostupné z: doi:10.1021/ja410114d
- [19] LAKOWICZ J. R.; *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Vol. 3. 2006, Springer. ISBN 978-0-387-31278-1
- [20] FISAR Z.; Fluorescenční spektroskopie v neurovědách. [online], 2003, [cit. 2020-08-14].  
URL: <<http://www1.lfl.cuni.cz/~zfsisar/fluorescence/Default.htm>>
- [21] KASHEF N., HUANG Y. Y., HAMBLIN M. R.; Advances in antimicrobial photodynamic inactivation at the nanoscale. *Nanophotonics.* 2017, **6**(5), 853-879. ISSN 21928614. Dostupné z: doi:10.1515/nanoph-2016-0189
- [22] LANG K., MOSINGER J., WAGNEROVA D. M.; Pokroky ve fotochemii singletového kyslíku. *Chem. Listy.* 2005, **99**(4), 211–221. ISSN 00092770.
- [23] MISRA R., BHATTACHARYYA S. P.; *Intramolecular Charge Transfer: Theory and Application*. 2018. ISBN 978-3-527-34156-6
- [24] NOVAKOVA V., MILETIN M., KOPECKY K., ZIMCIK P.; Red-emitting dyes with photophysical and photochemical properties controlled by pH. *Chem. - Eur. J.* 2011, **17**(50), 14273–14282. ISSN 09476539. Dostupné z: doi:10.1002/chem.201101123

- [25] ESCUDERO D.; Revising Intramolecular Photoinduced Electron Transfer (PET) from First-Principles. *Acc. Chem. Res.* 2016, **49**(9), 1816–1824. ISSN 15204898. Dostupné z: doi:10.1021/acs.accounts.6b00299
- [26] NOVAKOVA V., HLADIK P., FILANDROVA T., ZAJICOVA I., KREPSOVA V., MILETIN M., Lenco J., ZIMCIK P.; Structural factors influencing the intramolecular charge transfer and photoinduced electron transfer in tetrapyrazinoporphyrazines. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2014, **16**(11), 5440-5446. ISSN 14639076. Dostupné z: doi:10.1039/c3cp54731k
- [27] NOVAKOVA V.; *Příprava a studium vlastností azaanalogů ftalocyaninů*. Disertační práce, Hradec Králové, 2011. Karlova Univerzita v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
- [28] WÖHRLE D., SCHNURPFEIL G., MAKAROV S. G., KAZARIN A., SUVOROVA O. N.; Practical Applications of Phthalocyanines – from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices. *Makroeterotsikly.* 2012, **5**(3), 191-202. ISSN 19989539. Dostupné z: doi:10.6060/mhc2012.120990w
- [29] ZIMCIK P., MILETIN M, KOSTKA M., SCHWARZ J., MUSIL Z., KOPECKY K.; Synthesis and comparison of photodynamic activity of alkylheteroatom substituted azaphthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol., A.* 2004, **163**(1–2), 21–28. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/S1010-6030(03)00421-0
- [30] DOUGHERTY T. J., GOMER Ch. J., HENDERSON B. W., JORI G., KESSEL D., KORBELIK M., MOAN J.; Qian PENG. Photodynamic Therapy. *JNCI, J. Natl. Cancer Inst.* 1998, **90**(12), 889–905. ISSN 0027-8874. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/90.12.889
- [31] O'CONNOR A. E., GALLAGHER W. M., BYRNE A. T.; Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: Preclinical and clinical advances in photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.* 2009, **85**(5), 1053–1074. ISSN 00318655. Dostupné z: doi:10.1111/j.1751-1097.2009.00585.x

- [32] ZIMCIK P., MILETIN M., RADILOVA H., NOVAKOVA V., KOPECKY K., SVEC J., RUDOLF E.; Synthesis, properties and in vitro photodynamic activity of water-soluble azaphthalocyanines and azanaphthalocyanines. *Photochem. Photobiol.* 2010, **86**(1), 168–175. ISSN 00318655. Dostupné z: doi:10.1111/j.1751-1097.2009.00647.x
- [33] LOSCHENOV V. B., KONOV V. I., PROKHOROV A. M.; Photodynamic therapy and fluorescence diagnostics. *Laser Phys.* 2000, **10**(6), 1188–1207. ISSN 1054-660X.
- [34] RYCHTARIKOVA R., KUNCOVA G.; Immobilized Singlet Oxygen Photosensitizers and Their Antimicrobial Effect. *Chem. Listy.* 2009, **103**(10), 800–813.
- [35] DEMUTH J., KUCERA R., KOPECKY K., HAVLINOVA Z., LIBRA A., NOVAKOVA V., MILETIN M., ZIMCIK P.; Efficient Synthesis of a Wide-Range Absorbing Azaphthalocyanine Dark Quencher and Its Application to Dual-Labeled Oligonucleotide Probes for Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reactions. *Chem. - Eur. J.* 2018, **24**(38), 9658–9666. ISSN 15213765. Dostupné z: doi:10.1002/chem.201801319
- [36] KOPECKY K., NOVAKOVA V., MILETIN M., KUCERA R., ZIMCIK P.; Synthesis of new azaphthalocyanine dark quencher and evaluation of its quenching efficiency with different fluorophores. *Tetrahedron.* 2011, **67**(33), 5956–5963. ISSN 00404020. Dostupné z: doi:10.1016/j.tet.2011.06.038
- [37] KOPECKY K., NOVAKOVA V., MILETIN M., KUCERA R., ZIMCIK P.; Solid-phase synthesis of azaphthalocyanine-oligonucleotide conjugates and their evaluation as new dark quenchers of fluorescence. *Bioconjugate Chem.* 2010, **21**(10), 1872–1879. ISSN 10431802. Dostupné z: doi:10.1021/bc100226x
- [38] DEMUTH J., MILETIN M., MACHAN M., KANTOR M., ZIMCIK P., NOVAKOVA V.; Synthesis and J-Dimer Formation of Tetrapyrazinoporphyrazines with Different Functional Groups for Potential Biomolecular Probe Applications. *ChemPlusChem.* 2020, **85**(3), 527–537. ISSN 21926506. Dostupné z: doi:10.1002/cplu.202000026



- [39] ZIMCIK P., NOVAKOVA V., KOPECKY K., MILETIN M., USLU KOBAK R. Z., SVANDRLIKOVA E., VACHOVA L., LANG K.; Magnesium azaphthalocyanines: An emerging family of excellent red-emitting fluorophores. *Inorg. Chem.* 2012, **51**(7), 4215–4223. ISSN 00201669. Dostupné z: doi:10.1021/ic2027016
- [40] NOVAKOVA V., MILETIN M., FILANDROVA T., LENCO J., RUZICKA A., ZIMCIK P.; Role of steric hindrance in the Newman-Kwart rearrangement and in the synthesis and photophysical properties of arylsulfanyl tetrapyrazinoporphyrazines. *J. Org. Chem.* 2014, **79**(5), 2082–2093. ISSN 00223263. Dostupné z: doi:10.1021/jo402791c
- [41] MICHELSEN U., KLIESCH H., SCHNURPFEIL G., SOBBI A. K., WÖHRLE D.; Unsymmetrically Substituted Benzonaphthoporphyrazines: A New Class of Cationic Photosensitizers for the Photodynamic Therapy of Cancer. *Photochem. Photobiol.* 1996, **64**(4), 694–701. ISSN 00318655. Dostupné z: doi:10.1111/j.1751-1097.1996.tb03126.x
- [42] OGUNSIPE A., MAREE D., NYOKONG T.; Solvent effects on the photochemical and fluorescence properties of zinc phthalocyanine derivatives. *J. Mol. Struct.* 2003, **650**(1–3), 131–140. ISSN 00222860. Dostupné z: doi:10.1016/S0022-2860(03)00155-8