

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ CHEMIE A FARMACEUTICKÉ ANALÝZY



**Syntéza a studium supramolekulárních vlastností azaftalocyaninů
využitelných jako senzory**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Eliška Sikorová



Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Jiří Demuth, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA

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

V Hradci Králové 12. 5. 2023

PODĚKOVÁNÍ

Na úvod této práce bych ráda srdečně poděkovala svému školiteli PharmDr. Jiřímu Demuthovi, Ph.D. a vedoucímu výzkumné skupiny prof. PharmDr. Petru Zimčíkovi, Ph.D. za jejich odborné vedení, za jejich cenné rady, praktickou pomoc a trpělivost při vypracovávání této diplomové práce v průběhu mého magisterského studia. Dále bych ráda poděkovala celému kolektivu Výzkumné skupiny azaftalocyaninových barviv za ochotu pomoci, poradit a za příjemné pracovní prostředí.

Poděkování také patří kolektivu Katedry organické a bioorganické chemie za změření NMR spekter, a dále prof. PharmDr. Lucii Novákové, Ph.D. za změření HRMS spekter.

Také děkuji Specifickému vysokoškolskému výzkumu (SVV 260 666) za finanční podporu.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát Eliška Sikorová

Školitel PharmDr. Jiří Demuth, Ph.D.

Název diplomové práce Syntéza a studium supramolekulárních vlastností azaftalocyaninů využitelných jako senzory

Azaftalocyaniny jsou planární aromatické makrocykly, které byly odvozeny od přírodních porfyrinů. Základní skelet tvoří čtyři isoindolové jednotky, které jsou spojeny v pozicích 1 a 3 azamethinovými můstky, čímž vzniká rozsáhlý systém konjugovaných dvojných vazeb, díky němuž vykazují tyto sloučeniny unikátní optické a elektrické vlastnosti. Azaftalocyaniny nacházejí široké využití, a to jako průmyslová barviva, konduktory, fotosenzitizéry používané ve fotodynamické terapii, zhášecí fluorescence či fluorescenční senzory a další. Sloučeniny nasyntetizované během této diplomové práce lze použít jako zajímavý typ senzorů pro sledování koordinačních analytů v roztoku. Proto se tato práce dále zabývá studiem supramolekulárních vlastností nasyntetizovaných sloučenin, a to především schopností tvořit agregáty typu J-dimerů, které vznikají koordinací periferního dusíku pyridylu na centrální zinečnatý kationt druhého azaftalocyaninu. J-dimery připomínají „schodovité“ uspořádání na rozdíl od druhého typu agregace, a to H-dimerů připomínajících „sendvič“. Síla interakce mezi periferním dusíkem jedné sloučeniny a centrálním kationtem druhé je velmi ovlivněna objemností periferního substituentu, což lze podložit absorpčními a emisními spektry poslední připravené sloučeniny s hexakis[(2,6-diisopropyl)fenylsulfanyl] substitucí, která dimery téměř netvořila.

ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Analysis

Candidate Eliška Sikorová

Supervisor PharmDr. Jiří Demuth, Ph.D.

Title of Thesis Synthesis and study of supramolecular properties of azaphthalocyanines usable as sensors

Azaphthalocyanines are planar aromatic macrocycles that were derived from natural porphyrins. The basic skeleton consists of four isoindole units which are linked at positions 1 and 3 by azamethine bridges, resulting in an extensive system of conjugated double bonds that give these compounds unique optical and electrical properties. Azaphthalocyanines are widely used as industrial dyes, conductors, photosensitizers in photodynamic therapy, fluorescence quenchers or fluorescence sensors, etc. The compounds synthesized during this thesis can be used as an interesting type of sensors for sensing coordination analytes in solution. That is why this work deals with the study of the supramolecular properties of the synthesized compounds, in particular the ability to form J-dimer type aggregates, which are formed by coordination of the peripheral pyridyl nitrogen to the central zinc cation of the second azaphthalocyanine. J-dimers resemble a „step-like“ arrangement in contrast to the second type of aggregation, namely H-dimers resembling a „sandwich“. The strength of the interaction between the peripheral nitrogen of one compound and the central cation of the other is strongly influenced by the bulkiness of the peripheral substituent. This can be supported by the absorption and emission spectra of the last prepared compound with hexakis[(2,6-diisopropyl)phenylsulfanyl] substituent which formed almost no dimers.

OBSAH

OBSAH.....	6
1 Seznam použitých zkratk	6
2 Cíl práce.....	7
3 Teoretická část.....	8
3.1 Struktura ftalocyaninů a azaftalocyaninů.....	8
3.2 Vlastnosti ftalocyaninů a azaftalocyaninů	9
3.2.1 Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti	9
3.2.2 Strukturní vlivy na fotofyzikální vlastnosti	11
3.2.3 Zhášení fluorescence.....	12
3.2.4 ICT a PET	13
3.3 Využití ftalocyaninů a azaftalocyaninů.....	15
3.3.1 Průmyslové využití	15
3.3.2 Fotodynamická terapie.....	16
3.3.3 Senzory	18
3.3.4 Zhášeče	19
3.4 Agregace	20
3.4.1 H-agregáty	20
3.4.2 J-agregáty.....	21
4 Metodická část.....	23
4.1 Syntéza prekurzorů.....	23
4.1.1 Diaminomaleonitrilová syntéza	23
4.1.2 Nukleofilní substituce (S_N)	24
4.1.3 S_{NAr} (aromatická nukleofilní substituce).....	24
4.2 Cyklotetramerizační reakce.....	25
4.3 Vybrané fotofyzikální metody	27
4.3.1 Kvantový výtěžek produkce singletového kyslíku	27

4.3.1.1	Chemické metody stanovení.....	27
4.3.1.2	Fyzikální metody stanovení.....	28
4.3.2	Kvantový výtěžek fluorescence	28
5	Experimentální část	30
5.1	Syntéza prekurzorů.....	30
5.1.1	Syntéza 5,6-dibutoxy-pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (1).....	30
5.1.2	Syntéza 5-(pyridin-2-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (2)	31
5.1.3	Syntéza 5,6-bis((2,6-diisopropylfenyl)thio)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (5) 32	
5.1.3.1	Příprava <i>S</i> -(2,6-diisopropylfenyl)karbamothioátu (3).....	32
5.1.3.2	Příprava 2,6-diisopropylbenzenthionu (4).....	33
5.1.3.3	Příprava 5,6-bis((2,6-diisopropylfenyl)thio)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (5) 34	
5.1.4	Syntéza 5-(1-methyl-1H-imidazol-2-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (7)....	34
5.1.4.1	Syntéza (1-methyl-1H-imidazol-2-yl)ethanonu (6).....	34
5.1.4.2	Syntéza 5-(1-methyl-1H-imidazol-2-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (7) 35	
5.2	Cyklotetramerizace a chelatační reakce	36
5.2.1	Příprava 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(butoxy)- 1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (11H2).....	36
5.2.2	Příprava 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(pentan-3-ylthio)- 1,4,8,11,15, 18,22,25-oktaazaftalocyaninu (12H2).....	37
5.2.3	Příprava zinečnatého komplexu 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24- hexakis(pentan-3-ylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (12Zn)	38
5.2.4	Příprava 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(pentan-3-ylthio)-1,4- diazafthalocyaninu (13H2).....	39
5.2.5	Příprava zinečnatého komplexu 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24- hexakis(pentan-3-ylthio)-1,4-diazafthalocyaninu (13Zn).....	41

5.2.6	Příprava	2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylthio)-1,4,8,11,15,18, 22,25-oktaazaftalocyaninu (14H2).....	42
5.2.7	Příprava	zinečnatého komplexu 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (14Zn).....	43
5.2.8	Příprava	2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(2,6-diisopropylfenylthio)-1,4, 8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (15H2)	44
5.2.9	Příprava	zinečnatého komplexu 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(2,6-diisopropylfenylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (15Zn)	45
5.3	Stanovení	fotofyzikálních parametrů	46
5.3.1	Kvantový	výtěžek singletového kyslíku	46
5.3.2	Kvantový	výtěžek fluorescence	46
5.4	Studium	supramolekulárních interakcí	47
6	Výsledky	a diskuze.....	48
6.1	Syntéza	49
6.1.1	Syntéza	prekurzorů	49
6.1.2	Syntéza	AzaPcs a inkorporace zinečnatého kationtu.....	52
6.2	Stanovení	fotofyzikálních parametrů	55
6.3	Hodnocení	tvorby dimerů	56
7	Závěr	62
8	Seznam	použité literatury	64

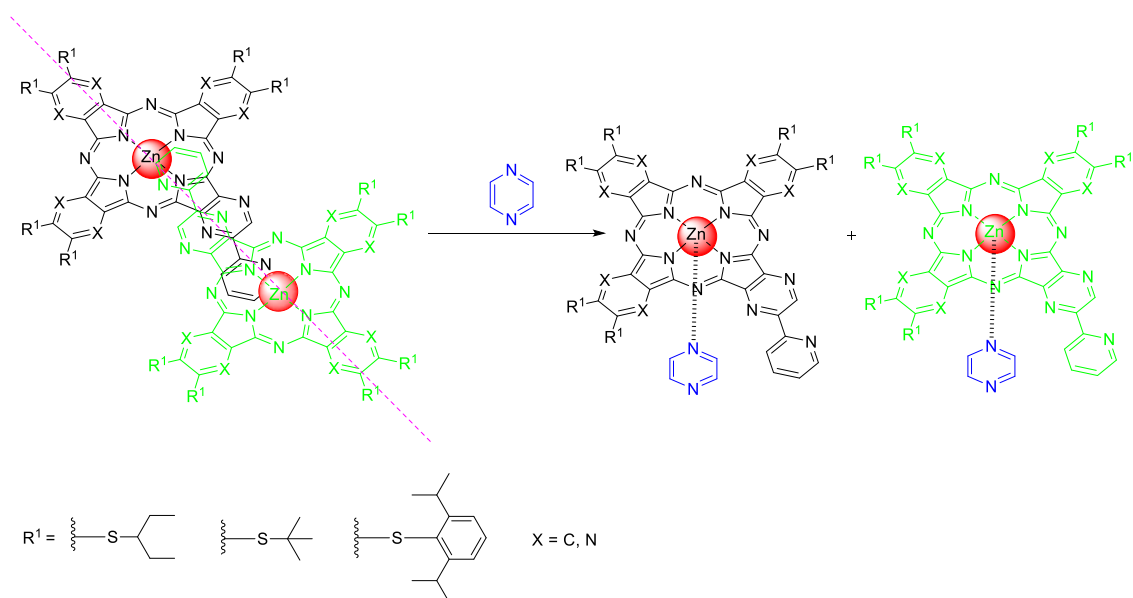
1 Seznam použitých zkratek

AzaPc	Azaftalocyanin (z angl. Azaphthalocyanine)
DAMN	Diaminomaleonitril
DCM	Dichlormethan
DEE	Diethylether
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPBF	1,3-difenylisobenzofuran (z angl. 1,3-diphenylisobenzofuran)
CHF	Chloroform
ICT	Intramolekulární přenos náboje (z angl. intramolecular charge transfer)
K_p	Rovnovážná konstanta monomerizace
MeOH	Methanol
MF	Mobilní fáze
<i>n</i> BuLi	<i>n</i> -butyllithium
Pc	Ftalocyanin (z angl. Phthalocyanine)
PDT	Fotodynamická terapie (z angl. Photodynamic therapy)
PET	Fotoindukovaný přenos elektronů (z angl. Photoinduced electron transfer)
R_f	Retenční faktor
S_NAr	Aromatická nukleofilní substituce
S_{N1-Ar}	Aromatická nukleofilní substituce monomolekulární
S_{N2-Ar}	Aromatická nukleofilní substituce bimolekulární
TFA	Kyselina trifluoroctová
TOL	Toluen
ZnPc	Nesubstituovaný zinečnatý ftalocyanin

2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce byla syntéza nesymetrických derivátů azaftalocyaninů, které mohou být využitelné jako specifický typ senzorů. Zamýšlené sloučeniny mohou tvořit supramolekulární struktury, tzv. J-dimery, tudíž byl následně zkoumán vliv periferní substituce na stabilitu J-dimerů.

První část diplomové práce se zabývala syntézou jednotlivých prekurzorů a následně cyklotetramerizačními reakcemi těchto prekurzorů v jednotlivé nesymetrické deriváty azaftalocyaninů typu AAAB. V další části této diplomové práce byly studovány fotofyzikální vlastnosti nasyntetizovaných cyklotetramerů a dále vliv periferní substituce na supramolekulární vlastnosti azaftalocyaninů pomocí titrací vhodným ligandem, který způsoboval rozvolnění J-agregátů (Obr. 1).

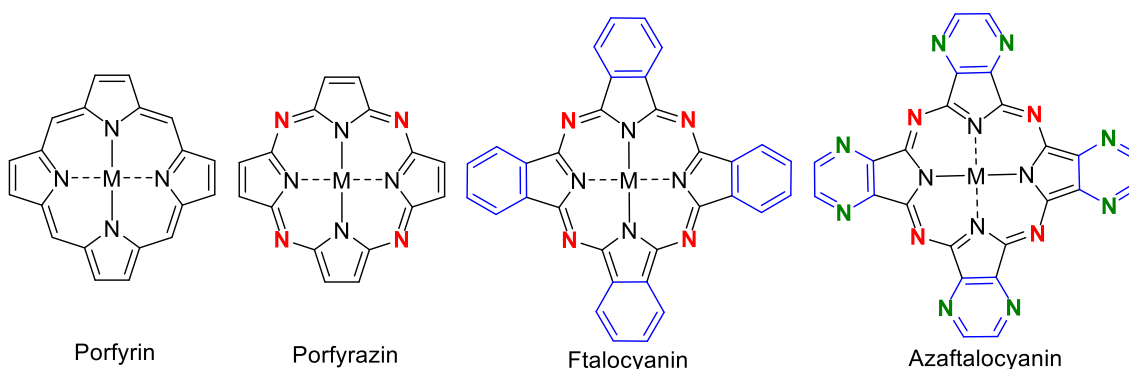


Obr. 1 Schématické znázornění titrace J-dimeru pyrazinem.

3 Teoretická část

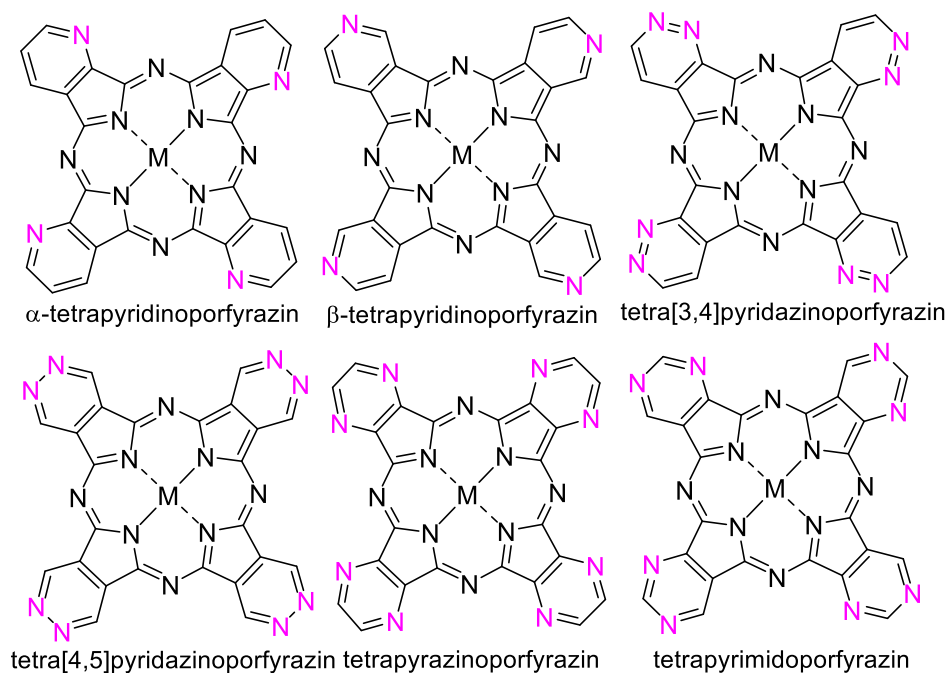
3.1 Struktura ftalocyaninů a azaftalocyaninů

Ftalocyaniny (Pcs, z angl. Phthalocyanines) jsou syntetické planární aromatické makrocykly odvozené od přírodních porfyrinů, sloučenin typu hemu nebo chlorofylu. Samotná struktura Pcs se skládá ze čtyř isoindolových jednotek, které jsou spojeny v pozicích 1 a 3 azamethinovými můstky (Obr. 2). Záměnou benzenových jader Pcs za šestičlenné dusíkaté heterocykly vznikly azaftalocyaniny (AzaPcs, z angl. Azaphthalocyanines). Díky rozsáhlému systému konjugovaných dvojných vazeb absorbují tyto sloučeniny světlo, a proto jsou zbarveny do modra, zelena či fialova dle jejich absorpčních maxim. Kromě zbarvení disponují Pcs a AzaPcs dalšími unikátními optickými a elektrickými vlastnostmi. [1, 2]



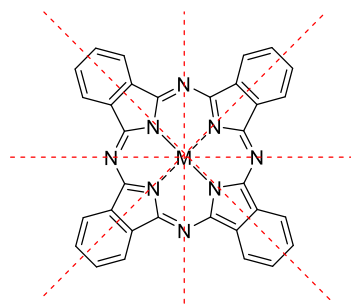
Obr. 2 Modifikace porfyrinového jádra. Obrázek převzat a upraven dle [3]

Azaftalocyaniny se od ftalocyaninů liší izosterní záměnou methinových skupin benzenových jader za atomy dusíku. Dle umístění a počtu dusíků rozlišujeme mnoho různých strukturních podtypů těchto sloučenin: tetrapyridinoporfyriziny, tetrapyrizinoporfyriziny, tetrapyridazinoporfyriziny, tetrapyrimidoporfyriziny atd. (Obr. 3). Tato záměna uhlíku za dusík způsobuje silnější agregaci těchto sloučenin, nejspíše kvůli vyšší elektronegativitě dusíku, a tím zesílení elektrostatických interakcí mezi molekulami barviva. [4, 5]



Obr. 3 Jednotlivé podtypy AzaPcs. Obrázek přepracován dle [4]

Pcs a AzaPcs mohou mít symetrický či nesymetrický charakter. Symetrické sloučeniny mají 4 roviny symetrie (Obr. 4). Nesymetrické sloučeniny vznikají syntézou dvou různých prekurzorů A a B a dochází ke vzniku 6 kongenerů (AAAA, AAAB, ABAB, AABB, ABBB, BBBB), které jsou následně separovány pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu. [6]

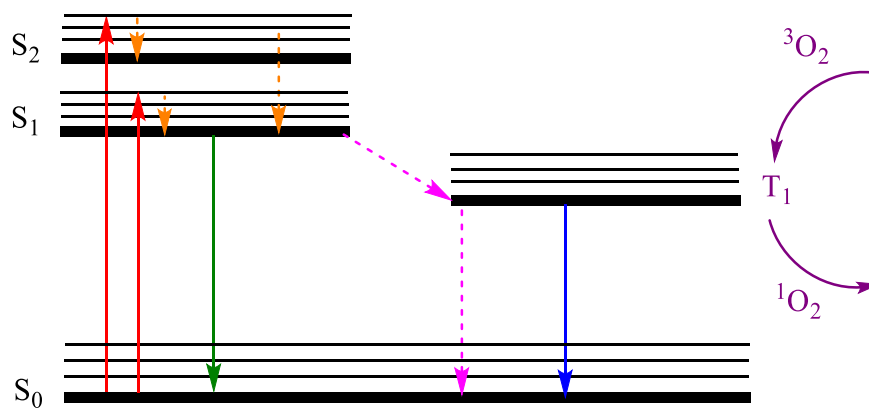


Obr. 4 Roviny symetrie Pc. Obrázek převzat a upraven dle [4]

3.2 Vlastnosti ftalocyaninů a azaftalocyaninů

3.2.1 Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti

Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti vychází zejména ze systému konjugovaných dvojných vazeb těchto makrocyclů. AzaPcs absorbují světlo, jehož energii dokážou využít k dalším aplikacím. Všechny děje probíhající po absorpci světla se dají vyjádřit pomocí Jablonského diagramu (Obr. 5).



Obr. 5 Jablonskiho diagram: *Absorpce fotonu, fluorescence, interní konverze, mezisystémový přechod, fosforescence, produkce singletového kyslíku.* Obrázek převzat a upraven dle [7]

Molekula v základním stavu (S₀) má 2 elektrony s opačným spinem, po absorbování světelné energie (fotonu) dojde k přenosu jednoho elektronu ze základního stavu (S₀) do stavu s vyšší energií (S₁), tzv. excitovaný singletový stav. Jelikož excitovaná molekula je velmi nestabilní, tak se nadbytečné energie zbavuje různými způsoby, a to spontánně vnitřní konverzí, dále uvolněním tepla nebo vyzářením energie formou fluorescence. Pro fluorescenci platí, že energie emitovaného světla je nižší než energie absorbovaného světla, protože dochází při tomto procesu ke ztrátě části energie, tudíž emise probíhá na delší vlnové délce než absorpce – spektrum je posunuto bathochromně (k červené oblasti spektra). Tento fenomén se označuje jako Stokesův posun a je zásadní například pro detekční techniky založené na fluorescenci, protože umožňuje oddělení emisních vlnových délek fluoroforu od excitačních vlnových délek excitačního zdroje. [7, 8]

Další možností zbavení se nadbytečné energie sloučeninou je mezisystémový přechod do stabilnějšího tripletového stavu (T₁) s obráceným spinem jednoho elektronu (mají souhlasný spin). V tomto stavu má sloučenina poměrně dlouhou dobu života, protože se nachází v tzv. „spinově zakázaném stavu“. Relaxovat může buď fosforescencí, předáním energie tripletovému kyslíku, což vede k produkci singletového kyslíku, anebo návratem do excitovaného stavu S₁. [7]

Přeměna kyslíku na singletový kyslík naznačená výše se nazývá fotoproces II. typu, který je mnohem jednodušší a častější než fotoproces I. typu. Při fotoprocusu I. typu fotosenzitizér (PS, z angl. Photosensitiser) reaguje přímo s organickou molekulou v buněčném mikroprostředí, získává atom vodíku nebo elektron a vytváří radikál. Následnou autooxidací redukováného PS vzniká superoxidový aniontový radikál (O₂^{•-}). Dismutací nebo jednoelektronovou redukcí O₂^{•-} vzniká peroxid vodíku (H₂O₂), který zase

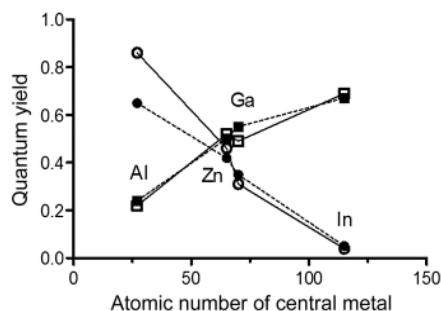
může projít jedoelektronovou redukcí na silný a prakticky nerozlišující oxidanthydroxylový radikál (HO^\bullet). [9]

Procesy zmíněné výše (fluorescenci či produkci singletového kyslíku) lze kvantifikovat pomocí kvantových výtěžků fluorescence (Φ_F) a singletového kyslíku (Φ_A). V případě Φ_A se jedná o podíl vzniklých molekul $^1\text{O}_2$ k počtu absorbovaných fotonů, Φ_F je podílem počtu emitovaných fotonů k počtu absorbovaných fotonů. Jejich součet musí být v rozmezí od 0 do 1, neboť platí zákon zachování energie. Více viz. kapitoly 4.3.1 a 4.3.2.

3.2.2 Strukturní vlivy na fotofyzikální vlastnosti

AzaPcs a Pcs mohou do svého centra chelatovat různé kationty kovů, polokovů (např. Zn^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Si^{4+}) nebo dva atomy vodíku. Tyto centrální atomy mají výrazný vliv na jednotlivé vlastnosti těchto sloučenin. Ftalocyaniny bez centrálního kationtu kovu nevykazují téměř žádné kvantové výtěžky. Schopnost prodloužit životnost tripletových stavů a také zvýšit kvantový výtěžek singletového kyslíku mají především diamagnetické kovy a polokovy jako Zn, Mg, Al a Si, což také zvyšuje fototoxicitu těchto sloučenin. Více vazné centrální kationty (např. Si, Ru) dále umožňují zavedení dalšího substituentu do axiální pozice, a tím se zabrání agregaci Pcs, tudíž sloučenina zůstává monomerní v roztoku, což je velkou výhodou. [3, 10, 11]

Centrální kationt má tedy vliv na hodnoty kvantových výtěžků singletového kyslíku a fluorescence. Projevuje se zde efekt těžkého atomu („heavy atom effect“), kdy u atomů s vyšším atomovým číslem převládá mezisystémový přechod nad emisí fluorescence. Například u hořečnatých či hlinitých AzaPcs, s nižšími atomovými hmotnostmi kationtu, jsou vyšší hodnoty kvantových výtěžků fluorescence než hodnoty kvantových výtěžků singletového kyslíku, což u AzaPcs se zinkem či indiem (s vyššími hodnotami atomových čísel) je naopak. Závislost kvantových výtěžků na atomové hmotnosti je téměř lineární (Obr. 6). [12]



Obr. 6 Závislost kvantového výtěžku fluorescence (kruhy) a kvantového výtěžku singletového kyslíku (čtverce) na atomové hmotnosti centrálního kovu v AzaPcs, obrázek převzat z [12]

Vlastnosti Pcs lze ovlivnit také substitucí periferie halogenem, a to těžkým (např. bromem, jodem), kdy dochází ke zvýšení produkce singletového kyslíku a snížení fluorescence. Rozdíly však nejsou tak patrné jako u změn centrálních kationtů. [12]

I první atom na spojnici makrocyklu s periferním řetězcem vykazuje efekt těžkého atomu, a tudíž zvyšuje produkci singletového kyslíku, kdy hodnoty kvantových výtěžků singletového kyslíku klesají od alkylsulfanylu k aryloxylu a alkylu. [2]

Isosterní záměnou benzenového kruhu u ftalocyaninů za dusíkatý heterocyklus dochází k hypsochromnímu posunu absorpčního maxima Q-pásu u AzaPcs. Dále mají AzaPcs vyšší tendenci agregovat (schopnost tvořit dimery a vyšší agregáty), a to zejména ve vodném prostředí. Když AzaPcs zagregují, jejich excitované stavy jsou zhaseny, a tak tyto sloučeniny přestanou produkovat singletový kyslík či emitovat fluorescenci. Agregaci lze potlačit zavedením dlouhých alkylových řetězců nebo objemných substituentů na periferii makrocyklu, které předcházejí těmto agregacím. Kationtové (např. kvartérní amoniová skupina) nebo aniontové (např. karboxylová skupina) substituenty, které jsou vázány v těsné blízkosti makrocyklického jádra, jsou prostorově orientovány téměř kolmo k rovině Pc a snižují agregaci na základě elektrostatických odpuzivých sil. [3, 10, 13]

3.2.3 Zhášení fluorescence

Mezi principy zhášení patří kolizní, statické zhášení a rezonanční přenos náboje.

- 1) Fluorescenční rezonanční přenos náboje (FRET, z angl. Fluorescence resonance energy transfer)

FRET probíhá, když fluorofor (donor) emituje foton, který je přijat akceptorem. V důsledku toho se energetická hladina donoru vrátí do základního stavu bez emitování jeho vlastní fluorescence. Jako akceptor může být použit jiný fluorofor nebo

nefluoreskující molekula. Tento mechanismus závisí na dipólové orientaci obou molekul a na jejich vzájemné vzdálenosti. Nezbytný je také překryv emisního spektra donoru a absorpčního spektra fluoroforu. Přesnějším označením by bylo pouze Rezonanční přenos energie, protože během přenosu nedochází k emisi fotonu. [14, 15]

Pokud je akceptorem fluorofor, přenesená energie může být uvolněna fluorescenčně. Pokud je akceptorem nefluoreskující molekula, pak je absorbovaná energie přeměněna na teplo. [15]

2) Statické zhášení

Při tomto typu zhášení dochází ke vzniku komplexu (heterodimeru) mezi fluoroforem a jiným fluoroforem nebo nefluoreskující molekulou po jejich vzájemném kontaktu, proto je toto zhášení někdy nazýváno jako „kontaktní zhášení“. Po kontaktu tyto dvě molekuly interagují pomocí protonově vázaných elektronů prostřednictvím vodíkových vazeb. Vzniklý komplex má své unikátní elektronové vlastnosti, například nefluoreskuje či má jedinečné absorpční spektrum, tzn. absorpční spektrum je odlišné od prosté sumy absorpčních spekter samostatných molekul. Po absorpci světelné energie se excitovaný stav tohoto komplexu okamžitě vrátí do základního stavu bez vyzáření fluorescence. Příkladem mohou být agregované molekuly barviv. [15]

3) Kolizní zhášení

Toto zhášení je také nazýváno jako „dynamické zhášení“. Ke koliznímu zhášení dochází, když fluorofor v excitovaném stavu (donor elektronu) je deaktivován při kontaktu s jinou molekulou (akceptor elektronu) ve stejném roztoku. Po tomto kontaktu se fluorofor vrátí do základního stavu bez emise fluorescence. Obecně dochází k tomuto zhášení bez trvalé změny v molekule (bez fotochemické reakce). Jako kolizní zhášeče mohou působit halogeny, aminy či kyslík. [14, 15]

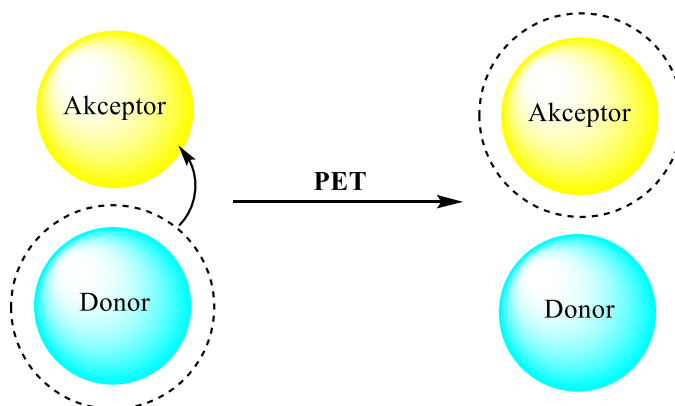
Další možností zhášení excitovaných stavů je PET a ICT, které jsou podrobněji popsány v další kapitole.

3.2.4 ICT a PET

Fotoindukovaný přenos elektronů (PET)

Mezimolekulární PET (z angl. Photoinduced electron transfer) je proces, při kterém je elektron přenesen z elektron-donující molekuly na molekulu elektron-akceptující (Obr. 7). Při tomto přenosu tak vzniká radikálový kation donoru a radikálový anion akceptoru.

Celý tento proces je zakončen druhou výměnou elektronu, kdy excitovaný elektron akceptoru přejde do základní energetické hladiny donoru. Dochází k přeměně světelné energie na elektrickou nebo chemickou. [16]



Obr. 7 Přenos elektronů při PET. Obrázek převzat a upraven dle [17]

V polárních rozpouštědlech probíhá proces přenosu elektronů přes tripletové stavy excitovaných akceptorů či donorů, přičemž vzniká radikálový iontový pár. Reaktivita systému je velmi závislá na povaze ftalocyaninového makrocyklu, na periférii makrocyklu, na přítomnosti iontu, a na polaritě rozpouštědla. [16]

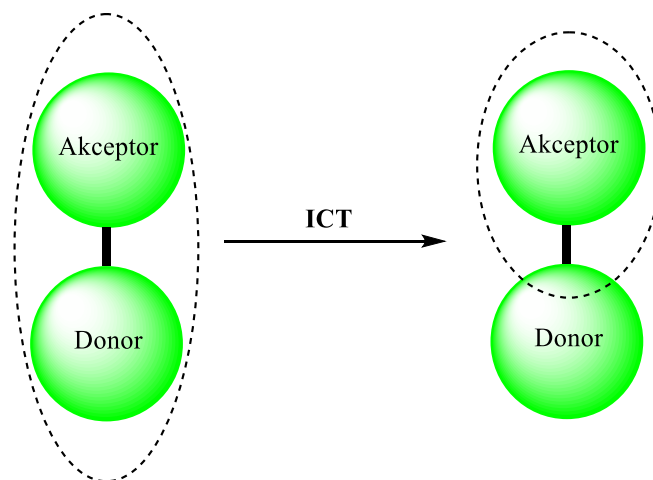
Při intramolekulárním PET u (Aza)Pc funguje jako donor volný elektronový pár na dusíku periferního substituentu a jako akceptor funguje samotné jádro makrocyklu. Při zablokování tohoto donoru se objeví fotofyzikální a fotochemické vlastnosti srovnatelné s analogem (Aza)Pc bez donoru elektronového páru. Donorový dusík nemusí být pouze na periférii Pc, ale může být i vázán v axiální poloze za použití centrálního Si^{4+} kationtu. [18]

Intramolekulární přenos náboje

K ICT (intramolekulární přenos náboje, z angl. intramolecular charge transfer) dochází mezi periferním donorem a makrocyclickým akceptorem, jenž musí být v konjugaci. (18)

K ICT dochází u sloučenin, které mají volný elektronový pár na dusíkovém atomu, např. alkylamino- a dialkylamino- deriváty AzaPcs. Tento elektronový pár se zapojuje do konjugace dvojných vazeb makrocyklu a po excitaci se velmi rychle přerozdělí hustota náboje v molekule a následně dojde k rychlému návratu do základního stavu bez emise fotonu (Obr. 8). Již jedno donorové centrum účinně zhasí excitované stavy AzaPc. Donorová centra se dají blokovat, např. protonizací v kyselém prostředí nebo chelatací

s kationty, což se dá využít k návrhu nových senzorů, které mění intenzitu fluorescence dle množství analytu v prostředí. [2]



Obr. 8 Přenos elektronů při ICT. Obrázek převzat a upraven dle [17]

3.3 Využití ftalocyaninů a azaftalocyaninů

3.3.1 Průmyslové využití

Pcs mají široké uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích díky své stabilitě a jednoduchosti syntézy. Pcs se používají převážně jako průmyslová barviva či pigmenty pro kontrolu růstu mikroorganismů, díky svým polovodivým vlastnostem jako materiály pro elektrochromní displeje, jako elektrokatalyzátory při redukcí kyslíku anebo jako média pro optické ukládání. [19]

Barviva

Obrovské využití nacházejí Pcs jako barviva, díky stálosti, intenzitě a rovnoměrnosti barev. Důležité jsou především Cu^{II} Pcs a deriváty, které jsou jak v rozpuštěném, tak i v agregovaném stavu stále chemicky i fotochemicky. Nejvíce využívaný jako modrý pigment je nesubstituovaný Cu^{II} Pc, jako zelené pigmenty se používají halogenované Cu^{II} Pc (např. měďnatý hexadekachloro Pc). Pigmenty ve formě prášků, suspenzí či past nacházejí využití jako tiskařské barvy, nátěry či k barvení plastů a textilu. [20]

Kapalné krystaly

Dalším využitím AzaPcs je využití ve formě kapalných krystalů. Zvyšováním koncentrace molekul AzaPcs dochází k vytvoření multimeru, který bez rozpouštědla vykazuje termotropní kapalně-krystalický stav, což znamená, že při zvýšení teploty dochází k fázovým přechodům (z pevné do kapalné, mezifázové přechody atd.). Při obměňování struktury Pcs se mění i vlastnosti jejich krystalů. Například sloučeniny

s dlouhými alkoxy řetězci mají vyšší symetrii mezofáze při nižších teplotách, i když se obvykle tento jev vyskytuje při teplotách vyšších. Tekuté krystaly pak nacházejí využití v displejích (LCDs) či jako vizuální teplotní senzory. [20]

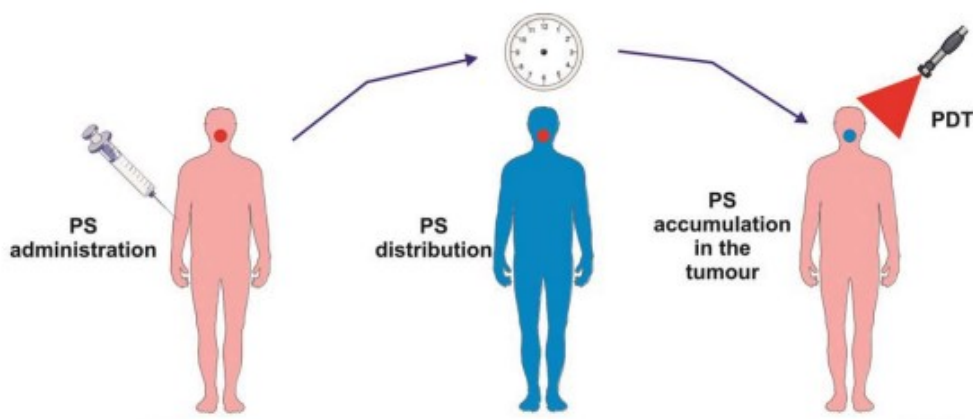
Optika, elektronika a fotoelektronika

Pro použití v optických, elektronických a fotoelektronických součástkách je nutná velmi vysoká čistota Pcs. Proto se používají při syntéze mírnější podmínky. Ftalocyaniny se využívají v CD/R (zapisuje se pouze jednou). CD/R se skládá z polykarbonátu, na který navazuje barvivo, Ag nebo Au jako reflexní prvek a ochranná vrstva laku. Ozařování se provádí laserem o vlnové délce 780 nm, barvivo je excitováno. Energie v tomto stavu se uvolní zčásti jako teplo, které rozloží barvivo a lehce deformuje polykarbonát, a takto dochází k zápisu na disk. Při čtení disku se používá nižší intenzita laseru a odraz je slabší. [20]

Další uplatnění Pcs je jako optické filtry, v nelineární optice, jako chemické senzory, fotoreceptory nebo v elektrofotografických tonerech a organických solárních článcích. Pcs díky svým katalytickým vlastnostem (souvisí s typem centrálního kovu) nacházejí také využití jako fotokonduktory v laserových tiskárnách. [20]

3.3.2 Fotodynamická terapie

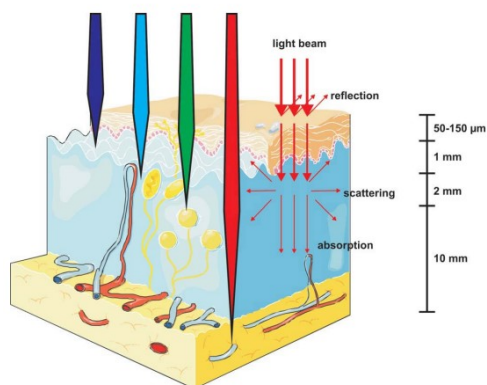
Fotodynamická terapie (PDT, z angl. Photodynamic therapy) je terapeutickou metodou, a to zejména při léčbě nádorů v časných stádiích. Tento klinicky schválený postup působí selektivně cytotoxicky na maligní buňky. Spočívá v podání fotosenzitivní sloučeniny (fotosenzitizéru) do organismu, buď topicky ve formě masti nebo systémově. Tato sloučenina se nespecificky kumuluje v neoplastické tkáni a následně je ozářena světlem o specifické vlnové délce odpovídající absorpčnímu Q-pásmu (Obr. 9). Fotosenzitizér absorbuje světelnou energii a dochází k jeho excitaci do singletového stavu. Následně se mezisystémovým přechodem dostane fotosenzitizér do tripletového stavu. V tomto stavu fotosenzitizér reaguje s tripletovým kyslíkem a vzniká singletový kyslík ($^1\text{O}_2$) fotoprocesem typu II. [9, 21]



Obr. 9 Princip fotodynamické terapie. Obrázek převzat z [9]

Singletový kyslík je vysoce selektivní, protože má krátkou dobu života (přibližně 10-320 nanosekund), tudíž má možnost difundovat pouze do malé vzdálenosti, takže je ničena pouze ozářená tkáň, ve které je umístěn fotosenzitizér. Další reaktivní formou vznikající touto reakcí jsou kyslíkové radikály, které jsou dalším zdrojem oxidativního stresu pro zasažené buňky. Tyto děje vedou k přímé smrti nádorových buněk formou apoptózy nebo nekrózy, k poškození mikrovaskulárního systému a k vyvolání lokální zánětlivé reakce. [9]

PDT je velmi výhodná díky minimální toxicitě pro normální tkáň a díky minimálním systémovým účinkům. Možný rozsah vlnových délek pro excitaci fotosenzitizéru se pohybuje v rozmezí 630 až 800 nm. V tomto rozmezí proniká světlo nejhlouběji do tkáně (Obr. 10) a zároveň přibližně do 800 nm zůstává zachována dostatečná energie pro generování singletového kyslíku. Absorpce fotonů s vlnovou délkou delší než 800 nm neposkytuje dostatek energie k excitaci fotosenzitizéru. [9]



Obr. 10 Průnik světla skrz tkáň. Obrázek převzat z [9]

První generace, například hematoporfyrin absorbovala světlo o krátké vlnové délce 630 nm, což není dostatečná vlnová délka, aby světlo pronikalo hluboko do tkáně. Druhá generace, například ftalocyaniny, tetrafenylporfyriny jsou na tom o něco lépe než generace první, jelikož absorbují světlo při delších vlnových délkách, které mají lepší přístup do tkání. Tuto absorpci Q-pásu posiluje především periferní benzenové jádro. A třetí generace vychází z ftalocyaninů, které jsou napojeny na biomolekuly (lipidy, nukleosidy, peptidy...) pro cílenější kumulaci barviva v organismu. [5, 19]

Výhodou AzaPcs je vyšší produkce singletového kyslíku a optimální fyzikální vlastnosti (silná absorpce světla mezi 660–700 nm). Bathochromně lze tyto absorpční pásy posunout až k 750 nm, a to přikondenzováním dalších benzenových jader. [13]

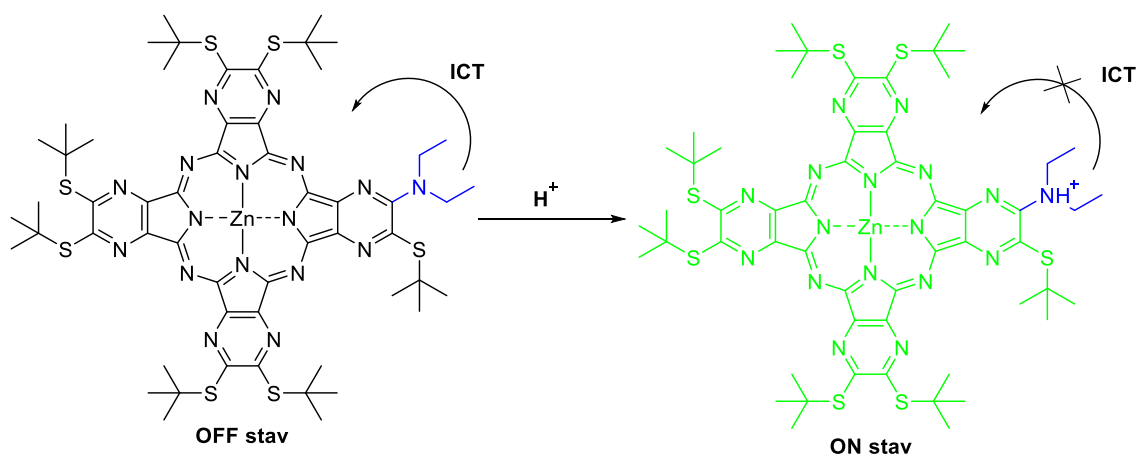
3.3.3 Senzory

Fluorescenční senzory se skládají se ze dvou funkčních částí – signální a rozpoznávací částí. Senzory fungují na vratném přepínání mezi zapnutým (ON) a vypnutým (OFF) stavem po navázání analytu na rozpoznávací část senzoru. Signální část molekuly ovlivňuje vlastnosti absorbovaného a emitovaného světla. Pokud senzor emituje světlo v červené oblasti může být s výhodou použit v biologickém prostředí, protože červené světlo má největší přístup do tkáně. [18]

Dialkylamino-substituované AzaPcs podléhají po excitaci velmi rychlému ICT, které je velmi účinné při deaktivaci makrocyklu. K potlačení fluorescence (vypnutý stav) stačí i jedno donorové centrum. Pro přepnutí do ON-stavu je nutné zablockovat donor elektronového páru, buď protonizací/deprotonizací donorového centra (fenolická hydroxylová skupina, terciální amin), nebo koordinací kationtů do donorového centra v případě azacrownu. Proto je možné rozlišit sloučeniny senzitivní na pH a senzory citlivé na kationty kovů. [22]

pH senzitivní fluorescenční senzory

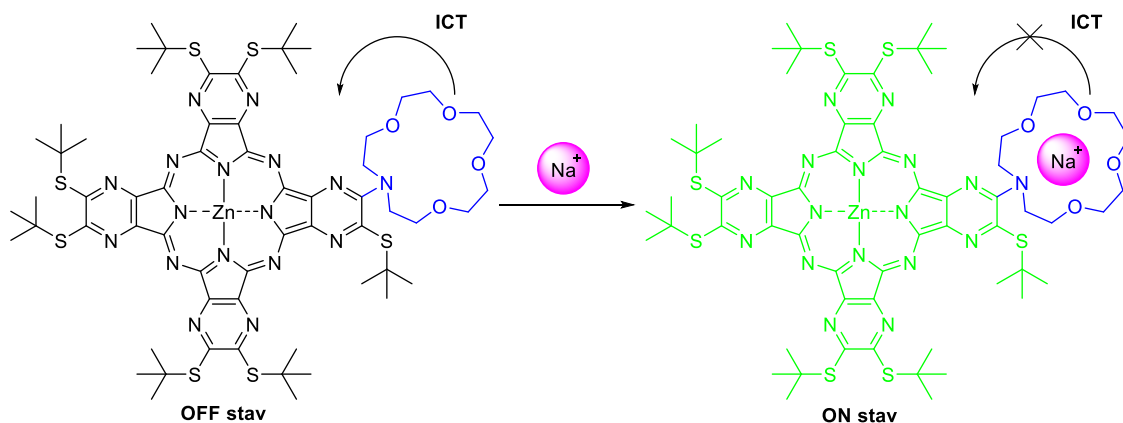
OFF/ON stavy jsou ovlivňovány navazováním vodíku na dusíkový atom v kyselém prostředí (Obr. 11) nebo odštěpením vodíku z fenolické hydroxylové skupiny v bazickém prostředí. Toto přepínání mezi stavy je reverzibilní. [18]



Obr. 11 Princip pH senzitivních fluorescenčních sensorů. Obrázek převzat a upraven dle [23]

Senzory senzitivní na kationty kovů

OFF/ON stavy probíhají koordinační vazbou kationtu (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) na azacrown tvořící rozpoznávací část senzoru (Obr. 12). U AzaPcs sensorů senzitivních na kationty kovů nedochází k falešné pozitivitě v kyselém prostředí, protože donor není příliš zásaditý na rozdíl od jiných strukturních základů. [18]



Obr. 12 Princip sensorů senzitivních na kationty kovů, **Akceptor** – zinečnatý AzaPc s *tert*-butylsulfanylovými skupinami, **donor** – terciární amin ze skupiny aza-crownů. Obrázek převzat a upraven dle [23]

3.3.4 Zhášecí

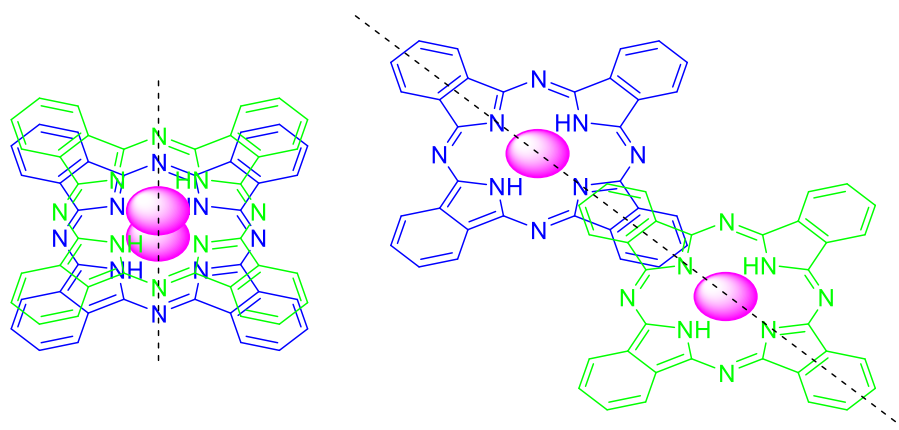
Zhášení fluorescence se využívá hojně v biochemii, genetice a molekulární biologii pro identifikaci a kvantifikaci definovaných sekvencí DNA. Tyto sekvence DNA představují některé genové mutace, nebo virová onemocnění. Jako vysoce účinné zhášecí mohou být použity oktakis(dialkylamino) substituované AzaPcs, jelikož díky ICT mají téměř nulové kvantové výtěžky fluorescence a singletového kyslíku. Limitovaná

produkce singletového kyslíku je v tomto případě výhodou (oproti PDT), jelikož vysoce reaktivní singletový kyslík by mohl zničit oligonukleotidovou sondu. [24–26]

3.4 Agregace

Pcs a AzaPcs mají tendenci agregovat, a to zejména ve vodném prostředí. Pokud dojde k agregaci, tak AzaPcs a Pcs ztratí své unikátní fotofyzikální vlastnosti, a tudíž přestanou produkovat singletový kyslík a fluorescenci, a tím ztrácí své praktické využití. Pro zamezení agregace je nutné vybrat vhodná rozpouštědla (THF, pyridin, CHF). S výhodou by rozpouštědlo mělo mít koordinační vlastnosti – koordinace rozpouštědel na centrální kationt (Zn^{2+} , Mg^{2+}), která brání agregaci. Další možností, jak předcházet agregaci, je zavedení objemných substituentů na periferii či substituentů s náboji, které zamezují agregacím. Kationtové (např. kvartérní amoniová skupina) nebo aniontové (např. sůl karboxylové kyseliny) substituenty jsou umístěny téměř kolmo k rovině Pc a snižují agregaci na základně elektrostatických odpuzivých sil. [13]

Existují dva základní typy agregátů, a to H-dimery a J-dimery. Jak H-dimery, tak i J-dimery jsou paralelně uspořádané molekuly barviva. V H-agregátech se barviva řadí čelem k sobě, což se označuje jako „sendvičové“ uspořádání, zatímco J-agregáty mají molekuly barviv uspořádané v konfiguraci od „okraje k okraji“. [27]

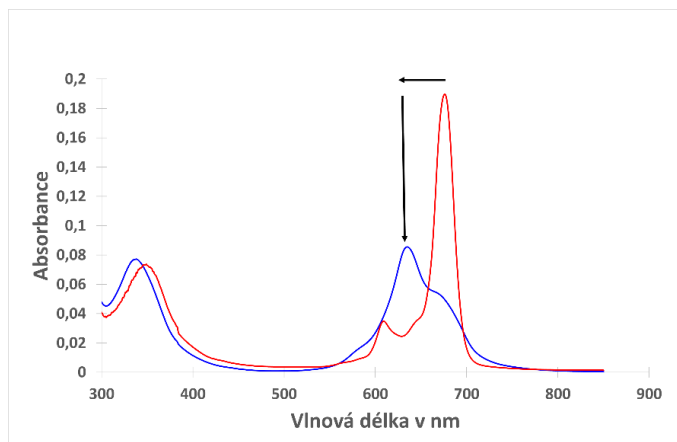


Obr. 13 H-*typ* agregace (vlevo), J-*typ* agregace (vpravo). Obrázek převzat a upraven dle [27]

3.4.1 H-agregáty

H-agregáty, také označované jako „*head-to-head*“, se vyskytují u planárních makrocyclických molekul s konjugovaným systémem dvojných vazeb jako nejčastější typ agregace a jsou způsobeny překryvem jejich π - π systémů. Tyto agregáty se obvykle oddělují při zředění roztoku. Tyto agregáty jsou neaktivní a nefluorescenční. H-agregáty

mají v absorpčním spektru hypsochromně posunutý Q-pás a sníženou jeho intenzitu (Obr. 14). [25, 27]

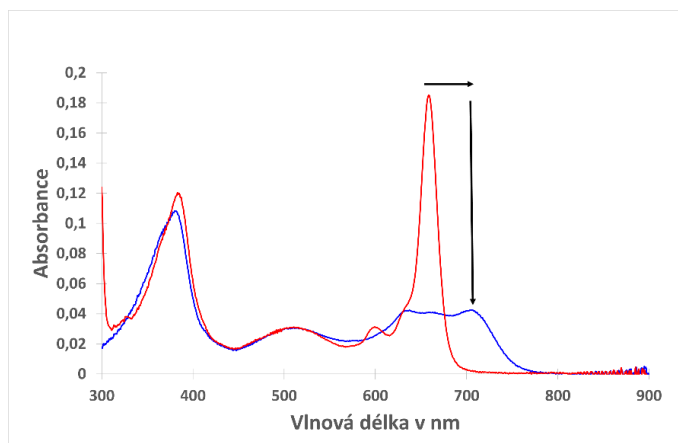


Obr. 14 Typ agregace u AzaPcs, kdy **červená** znázorňuje absorpční spektrum monomerní sloučeniny a **modrá** absorpční spektrum sloučeniny agregované. a) H-typ agregace s viditelným poklesem a hypsochromním posunem Q-pásu.

3.4.2 J-agregáty

J-dimery, také označovány jako „*head-to-tail*“, vznikají u AzaPcs díky koordinaci volného elektronového páru na periferní aminoskupině na centrální kationt kovu druhé molekuly. Tato agregace může být posílena také π - π překryvem mezi makrocykly. J-agregáty se projevují červeně posunutými pásy v blízkosti 750 nm (Obr. 15). Tyto agregáty bývají stabilnější než výše zmíněné H-agregáty. U J-dimerů, které mají základ v oktakis(dialkylamino) substituovaných AzaPcs, dochází po agregaci k potlačení relaxace skrze ICT a díky tomu mají vyšší Φ_F (kvantový výtěžek fluorescence) a Φ_Δ (kvantový výtěžek singletového kyslíku) než jejich monomery. [25, 27]

V nekoordinačních rozpouštědlech, jako je toluen, dochází ke změnám v absorpčním Q-pásu, který se stává méně intenzivní a objevuje se druhé absorpční maximum (cca 636 a 700 nm). V případě přidavku koordinačního rozpouštědla dojde k monomerizaci a k objevení ostrého Q-pásu, který je typický pro monomerní sloučeninu okolo 660 nm. [25]

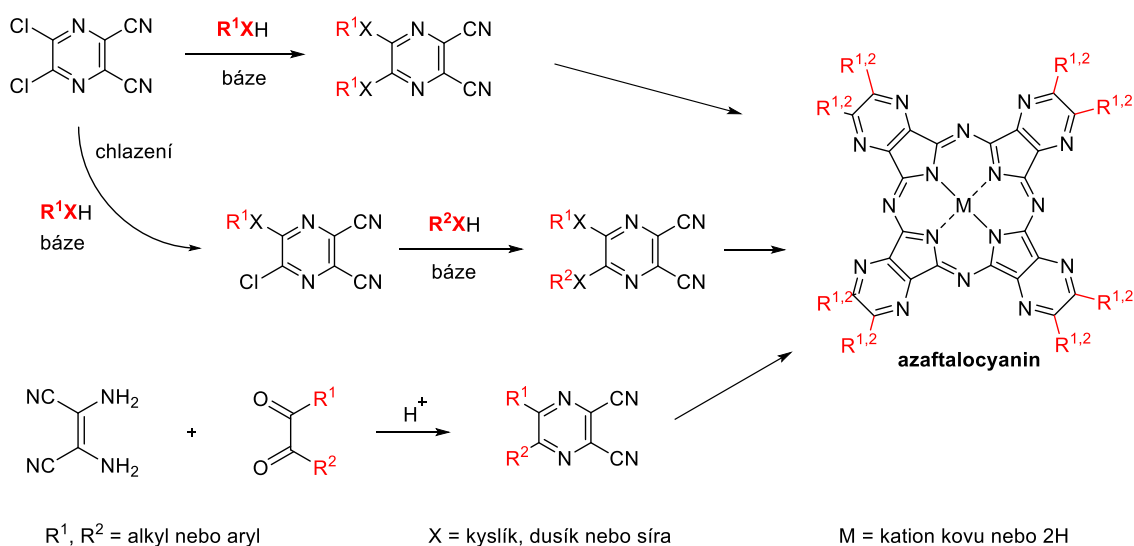


Obr. 15 Typ agregace u AzaPcs, kdy **červená** znázorňuje absorpční spektrum monomerní sloučeniny a **modrá** absorpční spektrum sloučeniny agregované. **b)** J-typ agregace s viditelným poklesem a bathochromním posunem Q-pásu.

4 Metodická část

4.1 Syntéza prekurzorů

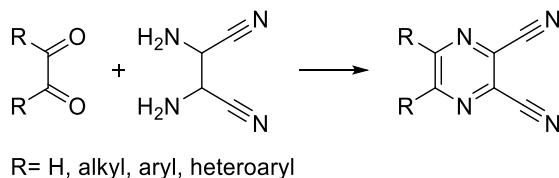
AzaPcs jsou připravovány cyklizačními reakcemi substituovaných prekurzorů pyrazin-2,3-dikarbonitrilů, které jsou syntetizovány buď pomocí diaminomaleonitrilové syntézy nebo pomocí aromatické nukleofilní substituce (Obr. 16).



Obr. 16 Obecné postupy přípravy prekurzorů AzaPcs. Obrázek převzat a upraven dle [17]

4.1.1 Diaminomaleonitrilová syntéza

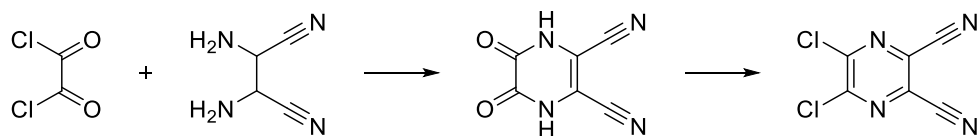
Diaminomaleonitrilová syntéza spočívá v kondenzační reakci diaminomaleonitrilu (DAMN) a vicinálního diketonu v kyselém prostředí (např. v kyselině octové nebo v HCl) (Obr. 17). Substituenty na diketonu následně tvoří periferní substituci finálního AzaPc. Tato metoda se s výhodou používá, když jsou periferní substituenty AzaPc vázány přes vazbu uhlík-uhlík. [5, 28]



Obr. 17 Schéma kondenzace DAMN s diketonem. Obrázek převzat z [5]

Diaminomaleonitrilové syntézy se využívá i při přípravě výchozí sloučeniny pro aromatickou nukleofilní substituci – 5,6-dichloropyrazin-2,3-dikarbonitrilu, která

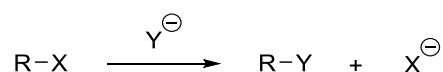
je využívána pro přípravu prekurzorů se substituenty vázanými přes heteroatom (Obr. 18). [5]



Obr. 18 Schéma přípravy 5,6-dichloropyrazin-2,3-dikarbonitrilu. Obrázek převzat z [5]

4.1.2 Nukleofilní substituce (S_N)

Činidlem neboli nukleofilem bývá malá molekula s volným elektronovým párem, například Cl^- , Br^- , NC^- , NH_3 , která se váže na místo v substrátu s nedostatkem elektronů. Substrát obsahuje skupiny, které polarizují vazby, a tak umožňují snazší nukleofilní atak. Odstupující skupina musí být vždy méně bazická než činidlo, jelikož nižší bazicita se rovná nižší nukleofilně (Obr. 19). Odstupující skupinou tedy nemůže být například silná báze jako hydroxylový anion, pokud však nedojde k jeho protonizaci a k odštěpení ve formě vody. [28]



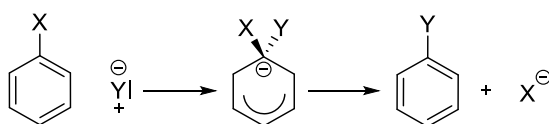
Obr. 19 Obecné schéma nukleofilní substituce. Obrázek převzat z [28]

4.1.3 S_NAr (aromatická nukleofilní substituce)

S_NAr je známa již více než 150 let [29]. Dochází při ní k náhradě substituentu vázaného na aromatickém jádře nukleofilní částicí. Tyto reakce probíhají za drsnějších podmínek kvůli značné stabilitě aromatických systémů. Pokud je uhlík, na kterém je vázána nahrazovaná skupina, aktivován indukčním nebo mezomerním efektem jiného substituentu vázaného na aromátu, pak tyto reakce mohou probíhat snadněji. Dalším faktorem ovlivňujícím průběh reakce je sama nahrazovaná skupina. Snadno lze nahradit například halogeny či nitroskupiny, špatně nahrazovatelný je například vodík. S_NAr je u 5,6-dichloropyrazin-2,3-dikarbonitrilu usnadněna vysokou elektron deficiencí uhlíků v polohách 2 a 3, což je způsobeno zápornými indukčními efekty chloru a pyrazinového dusíku, a dále mezomerním efektem karbonitrilové skupiny. Jako samotné nukleofilní činidlo se používají thioláty, alkoholáty, fenoláty, či aminy. [5, 28]

Nukleofilní aromatická substituce může probíhat třemi mechanismy, a to mechanismem mononukleárním (S_N1-Ar), mechanismem bimolekulárním adičně-eliminačním (S_N2-Ar) a bimolekulárním eliminačně-adičním. S_N1-Ar je nejběžnější reakcí diazoniových solí,

a to hlavně rozklad na fenoly a ethery. Při S_N2 -Ar adičně-eliminační uhlík s nahrazovanou skupinou dočasně přechází z planární hybridizace sp^2 na sp^3 . Konjugace dvojných vazeb je narušena a elektrony jsou koncentrovány do poloh *ortho* a *para* (Obr. 20). [28]



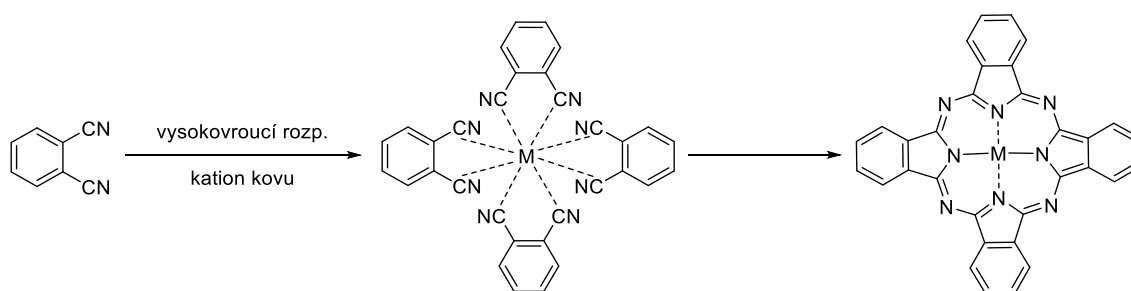
Obr. 20 Schéma průběhu adičně-eliminační S_N2 -Ar. Obrázek převzat z [28]

S_N2 -Ar eliminačně-adiční probíhá při reakcích aromátů s velmi silnými bázemi (např. s alkalickými amidy nebo organokovovými sloučeninami). [28]

4.2 Cyklotetramerizační reakce

Po syntéze prekurzorů přicházejí na řadu cyklizační reakce, jejichž podmínky jsou ovlivněny jak substituenty, tak i kationtem kovu, který má být do struktury vložen. Elektron odtahující substituenty zvyšují reaktivitu karbonitrilů navázaných na prekurzoru, zatímco elektrondonující (např. alkylaminy) snižují reaktivitu. [5]

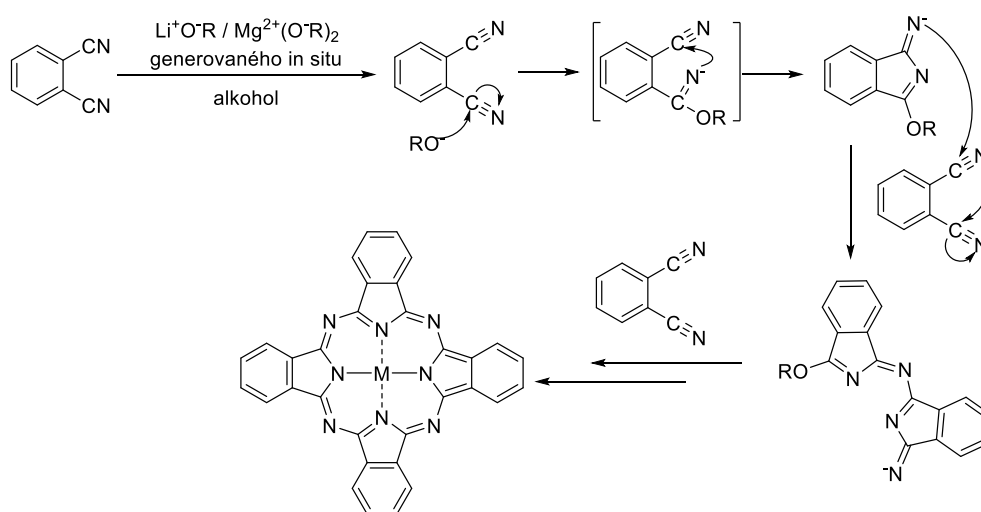
První možností přípravy je tzv. **templátová metoda**, kdy dochází k zahřívání prekurzorů s vhodnou solí kovu ve vysokovroucím rozpouštědle (DMF, pyridin, chinolin) (Obr. 21). [5]



Obr. 21 Templátová metoda cyklotetramerizační reakce. Obrázek převzat a upraven dle [4]

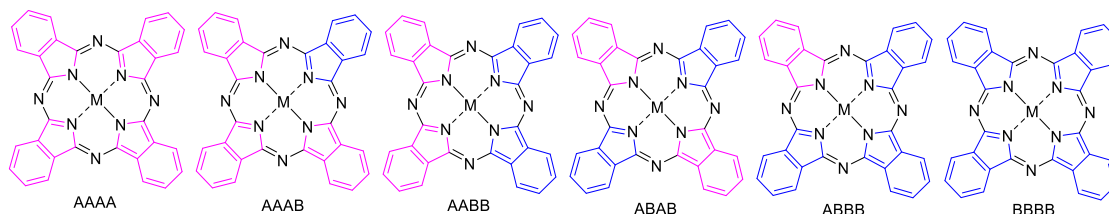
Další, více využívanou metodou je **metoda postupné výstavby kruhu** (tzv. Linsteadova metoda), kdy jsou jako iniciátory reakce použity alkoholáty, které atakují karbonitrily. Mírnější butanolát hořečnatý se používá k zamezení výměnným reakcím periferních substituentů jako alkylsulfanylové skupiny za alkoxy skupiny. K těmto záměnám by docházelo při použití butanolátu lithného, který je nukleofilnější než butanolát hořečnatý. Butanolát litný je vhodné použít u prekurzorů se silnými elektrondonujícími skupinami ve struktuře jako jsou dialkylamino substituce. Při použití butanolátu lithného

vznikají s výhodou sloučeniny bez centrálního kationtu, na rozdíl od butanolátu hořečnatého, kdy je do struktury koordinován hořečnatý kationt (Obr. 22). Následné čištění pomocí sloupcové chromatografie probíhá lépe u bezkovových derivátů, protože deriváty s centrálním kationtem kovů trpí chvostováním na silikagelu. Z tohoto důvodu je nutné zvláště při syntéze nesymetrických sloučenin před separací odstranit hořečnatý kationt z centra AzaPc pomocí *p*-toluensulfonové kyseliny. Tímto se dosáhne snazšího odseparování vzniklých kongenerů a následně je nutné opět inkorporovat zamýšlený kationtu kovu. [4, 30]



Obr. 22 Metoda postupné výstavby kruhu cyklotetramerizační reakce. Obrázek převzat a upraven dle [4]

Syntéza nesymetrických Pcs a AzaPcs vychází z kondenzace dvou různých prekurzorů (A a B). Touto reakcí vzniká směs šesti různých derivátů, a to AAAA, AAAB, AABB, ABAB, ABBB a BBBB (Obr. 23). Tyto produkty se musí chromatograficky oddělit. Cílem je většinou získat převážně produkt typu AAAB, proto je vstupní poměr výchozích prekurzorů A a B roven 3:1. Následně je nutné separovat 6 vzniklých kongenerů pomocí sloupcové chromatografie. [31]



Obr. 23 Jednotlivé typy vznikajících kongenerů. Obrázek převzat a upraven dle [4]

4.3 Vybrané fotofyzikální metody

4.3.1 Kvantový výtěžek produkce singletového kyslíku

Kvantový výtěžek singletového definuje účinnost Pc/AzaPc konvertovat energii přijaté fotony na singletový kyslík (Rovnice 1).

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

Rovnice 1 Kvantový výtěžek produkce singletového kyslíku.

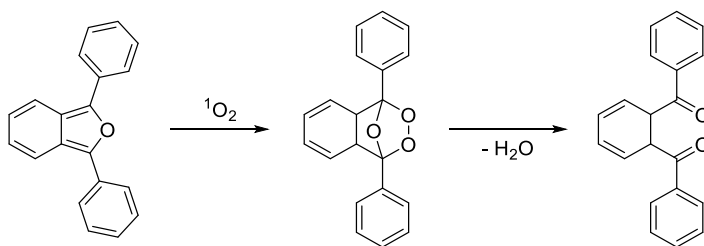
Pro co nejvyšší výtěžek Φ_{Δ} je nezbytné, aby ozařované prostředí bylo nasyceno kyslíkem, protože v opačném případě by výsledek nebyl konzistentní.

4.3.1.1 Chemické metody stanovení

Chemické metody jsou založeny na reakci sloučeniny s vhodnými sloučeninami tzv. scavengery, se kterými tvoří charakteristické produkty fotooxidace se změněnými fyzikálními vlastnostmi, které se dají snadno detekovat. Tato metoda je velmi jednoduchá na provedení, avšak častým problémem těchto reakcí je nemožnost rozlišení vlivu $^1\text{O}_2$ a ostatních kyslíkových částic. Proto musí být dbáno, aby použité scavengery byly dostatečně selektivní pro $^1\text{O}_2$. [7, 32]

Zhášecí metoda je založená na přidání fyzikálního zhášeče, například azidu sodného nebo beta-karotenu, kdy je sledována inhibice reakce $^1\text{O}_2$. U chemických zhášečů, jako například histidinu je sledována reakční rychlost nebo vyšší výtěžek reakčního produktu endoperoxidu. [7]

Při **odbarvovacích metodách** se během reakce se $^1\text{O}_2$ snižují absorpční pásy scavenger molekuly (obsahuje konjugovaný systém dvojných vazeb) úměrně s množstvím generovaného $^1\text{O}_2$. Při reakci se $^1\text{O}_2$ vznikají ze scavengerů endo- či hydroperoxydy. V organických rozpouštědlech bývá většinou používán jako scavenger 1,3-difenylisobenzofuran (DPBF), kdy je sledován pokles absorbance při 414 nm (Obr. 24). [7]



Obr. 24 Rozklad DPBF po kontaktu se singletovým kyslíkem. Obrázek převzat a upraven dle [4]

Během stanovení kvantového výtěžku singletového touto metodou se pozoruje pokles absorpce roztoku DPBF. Jako referenční sloučenina se používá nesubstituovaný zinečnatý ftalocyanin, který má Φ_{Δ} 0,53 v THF a 0,56 v DMF. Kvantový výtěžek je následně vypočítán (Rovnice 2):

$$1) \Phi_{\Delta}^S = \Phi_{\Delta}^R \frac{k^S I_{aT}^R}{k^R I_{aT}^S} \quad 2) I_a = I_0(1 - e^{-2.3A})$$

Rovnice 2 1) rovnice použitá pro výpočet 1O_2 – směrnice křivky závislosti $\ln(A_0/A_t)$ na době ozáření (A_0 a A_t jsou absorpance DPBF před a po ozáření) (k), celkové množství přijatého světla ($I_a T$) (horní indexy: „R“ pro referenční sloučeninu a „S“ pro vzorek) od 530 nm do 850 nm. 2) rovnice pro výpočet množství přijatého světla – transmitance filtru při dané vlnové délce (I_0) a absorpance vzorku při dané vlnové délce (A). Rovnice převzaty z [33]

Celé měření se provádí v triplikátu a výsledné údaje jsou následně z těchto pokusů zprůměrovány. [33]

4.3.1.2 Fyzikální metody stanovení

Mezi fyzikální metody patří přímá detekce luminiscence 1O_2 (časově rozlišená nebo za stacionárních podmínek) při 1270 nm, fototermální techniky (fotoakustická kalorimetrie) a časově rozlišená absorpce 1O_2 v IČ oblasti. Jelikož je vznik a reakce 1O_2 detekován přímo, nehrozí zde vliv vedlejších reakcí s chemickými činidly. Luminiscenční metoda je standardní technikou k detekci kvantového výtěžku. [3, 32, 34]

4.3.2 Kvantový výtěžek fluorescence

Kvantový výtěžek fluorescence je hlavním parametrem charakterizující emisní vlastnosti chromoforu v prostředí. Jedná se o poměr počtu emitovaných fotonů na celkový počet fotonů absorbovaných vzorkem (Rovnice 3).

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

Rovnice 3 Kvantový výtěžek fluorescence.

Jednou z možností stanovení Φ_F je využití porovnávací metody, při které je nutné změřit jak emisní spektra, tak i spektra absorpční. [35] Jako referenční sloučenina opět slouží nesubstituovaný ZnPc s fluorescencí v THF=0,32. Obě sloučeniny (stanovovaná i referenční) jsou excitovány při totožné vlnové délce (zde konkrétně 595 nm). Sledována je plocha pod křivkou příslušného emisního spektra. Kvantový výtěžek fluorescence je následně vypočítán dle této rovnice (Rovnice 4):

$$\Phi_F^S = \Phi_F^R \left(\frac{F^S}{F^R} \right) \left(\frac{1 - 10^{-A^R}}{1 - 10^{-A^S}} \right) \left(\frac{n^S}{n^R} \right)^2$$

Rovnice 4 Rovnice pro výpočet Φ_F – plocha pod křivkou emisního spektra (F), absorbance při excitační vlnové délce (A), index lomu použitého rozpouštědla (n) (horní indexy: referenční sloučenina (R) a vzorek (S)). Rovnice pro výpočet Φ_F – plocha pod křivkou emisního spektra (F), absorbance při excitační vlnové délce (A), index lomu použitého rozpouštědla (n) (horní indexy: referenční sloučenina (R) a vzorek (S)). Rovnice převzata dle [33]

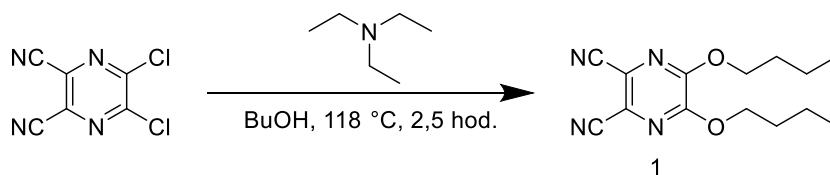
Experiment se opět provádí v triplikátu a údaje jsou (Obr. 36) následně zprůměrovány.
[36]

5 Experimentální část

Všechna organická rozpouštědla použitá pro syntézu byla v analytické kvalitě. Bezvodý butanol pro cyklotetramerizaci byl sušen hořčíkem a pod zpětným chladičem byl při teplotě varu oddestilován v čas potřeby. Nesubstituovaný zinečnatý ftalocyanin (ZnPc) byl zakoupen od firmy Sigma-Aldrich. Všechny ostatní chemikálie pro syntézu byly zakoupeny u certifikovaných dodavatelů (např. Sigma-Aldrich, TCI Europe, Acros, nebo Merck) a byly použity tak, jak byly dodány. Pro tenkovrstvou chromatografii (TLC) byly použity hliníkové folie pokryté silikagelem 60 F254 (Merck). Pro čištění produktu sloupcovou chromatografií byl použit Merck Kieselgel 60 (0,040–0,063 mm). ^1H a ^{13}C NMR spektra byla měřena na přístrojích VARIAN VNMR S500 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) a Jeol JNM-ECZ600R (Jeol, Akišima, Japonsko). Zapsané chemické posuny jsou vztaženy relativně k vnitřnímu standardu $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$. Hodnoty J jsou uváděny v Hz. UV-Vis spektra byla měřena na přístroji Shimadzu UV-2600 spektrofotometr (Shimadzu, Kjóto, Japonsko). HR MS spektra byla měřena pomocí UHPLC systému Acquity UPLC I-class (Waters, Millford, USA) ve spojení s hmotnostním spektrometrem s vysokým rozlišením (HR MS) Synapt G2Si (Waters, Manchester, Velká Británie) založeném na Q-TOF (Quadropole Time-of-Flight). Chromatografie pro toto HR MS měření byla provedena s využitím kolony Acquity UPLC Protein BEH C4 ($2,1 \times 50$ mm; $1,7 \mu\text{m}$, 300 \AA) s gradientovou elucí acetonitrilem a 0,1% kyselinou mravenčí při průtoku $0,4 \text{ ml/min}$. K detekci byla použita ionizace elektrosprejem (ESI) v pozitivním módu. ESI spektra byla zaznamenána v rozmezí $500\text{--}5000 \text{ m/z}$ s využitím leucin-enkefalinu jako referenční sloučeniny a jodidu sodného k externí kalibraci, nebo v rozmezí $50\text{--}2000 \text{ m/z}$ s využitím leucin-enkefalinu jako referenční sloučeniny a mravenčanu sodného pro externí kalibraci. Fluorescence a transmitance byly měřeny na FS5 spektrofluorimetru nebo FLS-1000 (Edinburgh Instruments, Edinburgh, Velká Británie).

5.1 Syntéza prekurzorů

5.1.1 Syntéza 5,6-dibutoxy-pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (1)



Syntéza probíhala dle publikovaného postupu [37]. V destilační baňce byl smíchán triethylamin (3,07 ml, 22 mmol) s bezvodým butanolem (30 ml) a reakční směs byla

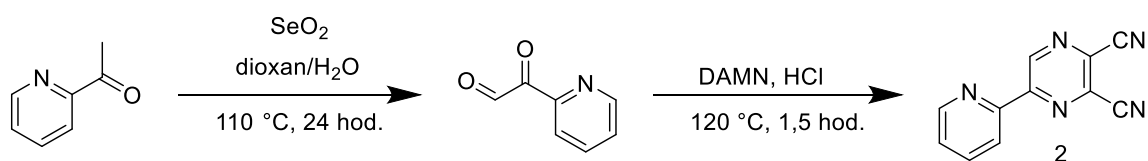
30 min míchána při pokojové teplotě. 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitril (2,0 g, 10 mmol) byl přidán do reakční směsi, která byla následně míchána po dobu 2,5 hod pod zpětným chladičem při varu rozpouštědla. Následně byla reakční směs odpařena na vakuové odparce, surový zbytek byl rozpuštěn v toluenu a v děličce promyt vodou (3× 10 ml). Organická část byla vysušena síranem sodným, zfiltrována přes smotek vaty a odpařena. Finální sloučenina byla přečištěna pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (MF: toluen) s R_f (retenční faktor) 0,5.

Vznikla žlutá olejovitá sloučenina **1** s výtěžkem reakce 1,2 g (43 %).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4.51 (t, $J = 6.6$ Hz, 4H), 1.89 – 1.82 (m, 4H), 1.56 – 1.48 (m, 4H), 1.01 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 161.99, 112.87, 110.61, 77.25, 77.00, 76.74, 69.39, 30.31, 18.95, 13.63.

5.1.2 Syntéza 5-(pyridin-2-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (**2**)

Postup č.1:

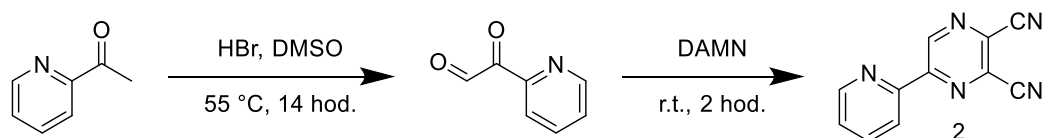


V destilační baňce byl smíchán oxid seleničitý (0,67 g, 6 mmol) se směsí dioxanu/vody (9:1, 7,2 ml/0,8 ml, 4 ml/1 mmol 2-acetylpyridinu, 8 ml). Následně byl přidán 2-acetylpyridin (0,22 ml, 2 mmol). Reakční směs byla míchána 24 hodin pod zpětným chladičem při 110 °C. Došlo ke změně barvy směsi ze žluté na tmavě červenou.

Poté byl přidán diaminomaleonitril (DAMN) (0,44 g, 4 mmol), kyselina chlorovodíková (0,4 ml, 2 mmol) a reakční směs byla míchána 1,5 hodiny při varu rozpouštědla. Reakční směs byla nalita do 40 ml vody a následně vytřepána do CHF (3× 30 ml). Bylo provedeno TLC organické fáze s MF: CHF:MeOH (200:1) a nebyly nalezeny stopy možného produktu.

Tato reakce nebyla úspěšná, produkt **2** nevznikl. Proto byl vyzkoušen postup č.2.

Postup č.2:



2-acetylpyridin (0,9 ml, 8 mmol) byl smíchán v destilační baňce se 46-48% kyselinou bromovodíkovou (8 ml) a dimethylsulfoxidem (DMSO) (8 ml). Tato reakční směs byla míchána 14 hodin při 55 °C. Následně byl přidán DAMN (1,73 g, 16 mmol) a reakce se míchala při laboratorní teplotě (r.t., z angl. room temperature) po dobu 2 hodin.

Reakční směs byla odpařena na vakuové odparce a postupně vymyta z baňky ethyl-acetátem (50 ml), 5% roztokem NaHCO₃ (100 ml) a nakonec znovu ethyl-acetátem (30 ml). Jednotlivé fáze byly přemístěny do dělicí nálevky a rozděleny, organická fáze byla sesbírána a vodná fáze byla promyta ethyl-acetátem (3× 30 ml). Veškerá organická fáze byly spojeny a vysušeny pomocí bezvodého Na₂SO₄, zkolírovány a odpařeny do sucha na vakuové odparce. Finální sloučenina byla přečištěna pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (MF: CHF, R_f = 0,33).

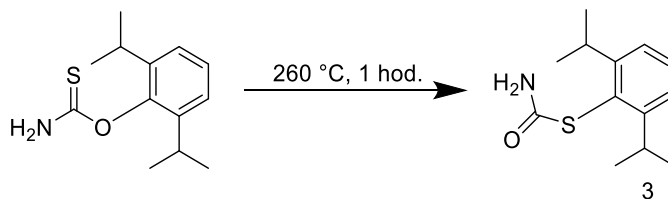
Vznikla bílá krystalická sloučenina **2** o výtěžku 1,189 g (72 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.99 (s, 1H), 8.83 – 8.81 (m, 1H), 8.50 – 8.48 (m, 1H), 7.98 (td, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 7.56 – 7.53 (m, 1H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 152.99, 150.48, 150.17, 145.90, 137.72, 132.60, 132.39, 126.72, 123.37, 113.14, 112.93. HRMS (ESI): m/z vypočítáno pro C₁₁H₅N₅: [M+H]⁺: 208,0618; nalezeno: 208,0625.

5.1.3 Syntéza 5,6-bis((2,6-diisopropylfenyl)thio)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (**5**)

Syntéza probíhala dle publikovaného postupu [38].

5.1.3.1 Příprava *S*-(2,6-diisopropylfenyl)karbamothioátu (**3**)

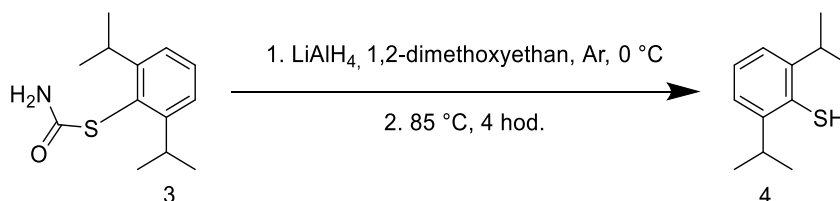


O-(2,6-diisopropylfenyl)karbamothioát (1,5 g, 6,2 mmol) ve 25ml destilační baňce byl umístěn do kovového bloku a pod vzdušným chladičem byl taven při 260 °C po dobu 1 hodiny. Následně byla sloučenina, která vysublimovala a vykristalizovala na stěnách chladiče, smyta acetonem a zbytky rozpouštědla byly odpařeny ve vakuové odparce. Odpařená směs byla přečištěna pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (MF: CHF:TOL – 1:1), kde produktem byla nejspodnější skvrna na TLC s R_f = 0,3.

Výtěžek přesmyku činil 0,938 g sloučeniny **3** (63 %).

5.1.3.2 Příprava 2,6-diisopropylbenzenthionu (4)

Postup č.1:



K LiAlH₄ (201 mg, 5,3 mmol) v destilační baňce naplněné argonem se za chlazení v ledové lázni postupně přidával po kapkách 1,2-dimethoxyethan (5 ml). Sloučenina **3** (0,94 g, 3,5 mmol) byla rozpuštěna pod argonem v 1,2-dimethoxyethanu (5 ml). Následně byl tento roztok přidáván po kapkách k suspenzi LiAlH₄. Následně bylo ukončeno chlazení a reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem při bodu varu rozpouštědla 4 hodiny. Směs připomínala šedé bahno.

Po 4 hodinách byla reakce ukončena přikapáním MeOH, který odstranil nadbytek nezreagovaného hydridu. Reakční směs byla nalita do 5% kyseliny sírové (20 ml) a vyextrahována diethyletherem (3× 30 ml). Sraženina se ve vodě lehce rozpustila a v diethyletheru byla směs čirá. Organické fáze byly posbírány, vysušeny bezvodým Na₂SO₄, zfiltrovány a odpařeny na rotační vakuové odparce. Odpařený zbytek byl rozpuštěn v chloroformu a 2-merkптоethanolu (9,95 ml, 140 mmol). Směs byla míchána přes noc a poté byl nadbytek 2-merkптоethanolu odpařen na vakuové odparce.

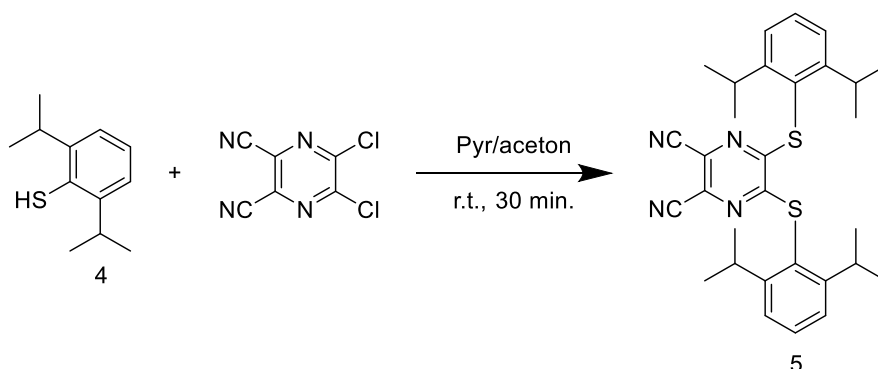
Odpařenou směs jsme přečistili pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (MF: CHF: TOL (1:1)) s R_f = 0,26, avšak po rozdělení sloučenin bylo zjištěno, že redukce sloučeniny **3** neproběhla, a že se jedná o nezreagovanou výchozí sloučeninu.

Postup č.2:

Tento postup kopíroval postup č. 1, ale bylo zde použito čtyřnásobné množství LiAlH₄. Na reakci bylo použito 500 mg sloučeniny **3** (1,9 mmol) a 400 mg LiAlH₄ (11,4 mmol).

Pomocí sloupcové chromatografie s MF: Hex:TOL (5:1) s R_f = 0,6 bylo získáno 77 mg redukovaného produktu **4** s výtěžkem 15 %.

5.1.3.3 Příprava 5,6-bis((2,6-diisopropylfenyl)thio)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (5)

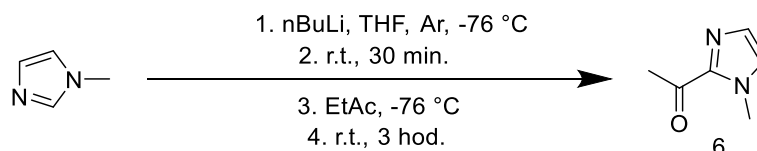


5,6-dichloropyrazin-2,3-dikarbonitril (41 mg, 0,2 mmol) byl rozpuštěn v acetonu (10 ml) a smíchán se sloučeninou **4** (77 mg, 0,4 mmol). K roztoku byly přidány 4 kapky pyridinu. Po přidání pyridinu čirá reakční směs zežloutla. Reakční směs byla míchána při r.t. po dobu 30 minut. Reakční směs byla následně odpařena na vakuové odparce a přečištěna pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (MF: CHF:TOL (1:1)) s $R_f = 0,5$ a následně byla provedena rekrystalizace z horkého ethanolu pro odstranění dalších nečistot, které měly velice podobný R_f . Touto nukleofilní substitucí bylo získáno 50 mg sloučeniny **5** ve formě žlutých krystalů s výtěžkem reakce 49 %.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.52 (td, $J = 7.7, 5.8$ Hz, 2H), 7.31 (dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, 4H), 3.41 (hept, $J = 6.9$ Hz, 3H), 3.24 (hept, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.28 – 1.13 (m, 21H), 1.12 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 163.99, 160.08, 153.55, 153.46, 148.23, 132.27, 131.89, 130.69, 128.32, 127.31, 126.12, 124.84, 124.66, 122.92, 121.55, 113.34, 112.38, 112.25, 32.60, 32.44, 24.73, 23.63.

5.1.4 Syntéza 5-(1-methyl-1H-imidazol-2-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (7)

5.1.4.1 Syntéza (1-methyl-1H-imidazol-2-yl)ethanonu (6)



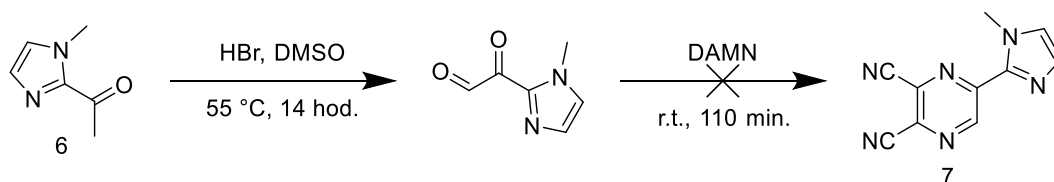
N-methylimidazol (1,46 ml, 18,3 mmol) pod argonem byl smíchán s 50 ml bezvodého tetrahydrofuranu dle výchozího postupu [39]. Reakční baňka byla přemístěna do chladicí lázně o teplotě -76°C . Následně bylo po kapkách přidán *n*-BuLi (*n*-butyllithium) (2,5 M v hexanu, 7,31 ml, 18,3 mmol). Po přidání *n*-BuLi byla chladicí lázeň odstraněna

a reakční směs byla míchána 30 minut při laboratorní teplotě. Následně byla směs opět ochlazená na $-76\text{ }^{\circ}\text{C}$ a po kapkách byl přidáván bezvodý ethylacetát (2,24 ml, 22,8 mmol). Lázeň byla opět odstraněna a směs byla míchána 3 hodiny při laboratorní teplotě.

Poté byl do směsi přidán 20% vodný roztok NH_4Cl (2 ml). Směs byla odpařena na vakuové odparce a následně byl k odpařenému zbytku přidán 5 % roztok NaHCO_3 (40 ml). Směs byla vytřepávána s CH_2Cl_2 (2×30 ml). Organická část byla vysušena pomocí Na_2SO_4 , zfiltrována a odpařena. Následně nebylo nutné provádět žádnou další purifikaci. Bylo získáno 1,7 g produktu **6** s výtěžkem reakce 75 %.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.10 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 3.96 (s, 3H), 2.62 (s, 3H). ^{13}C NMR (151 MHz CDCl_3) δ 190.72, 143.35, 129.12, 127.01, 36.26, 27.20.

5.1.4.2 Syntéza 5-(1-methyl-1H-imidazol-2-yl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (**7**)



Sloučenina **6** (197 mg, 1,6 mmol) byla v destilační baňce smíchána s 46-48% HBr (1,6 ml) a DMSO (1,6 ml). Tato směs reagovala po dobu 14 hodin při $55\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po oxidaci byl do reakce přidán DAMN (343 mg, 3,2 mmol) a reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě 110 minut. Do směsi byl přidán 5% roztok NaHCO_3 (30 ml) a směs byla vyextrahovaná ethylacetátem (3×30 ml). Organická složka byla vysušena pomocí Na_2SO_4 , zfiltrována a odpařena na vakuové odparce.

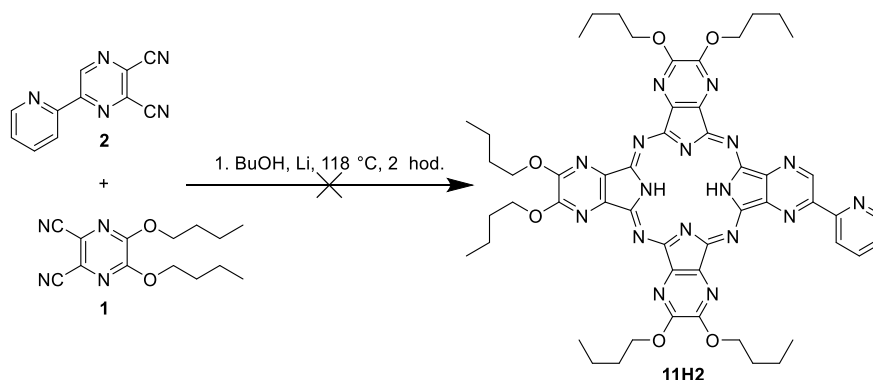
Nejintenzivnější skvrna na TLC byla vyizolována pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (MF: $\text{CHF}:\text{MeOH}$ (20:1) s $R_f = 0,26$, nicméně NMR analýza nepotvrdila totožnost sloučeniny **7**.

5.2 Cyklotetramerizace a chelatační reakce

Prekurzory **8**, **9** a **10**, které jsou použity v následujících kapitolách, byly připraveny mými kolegy v laboratoři.

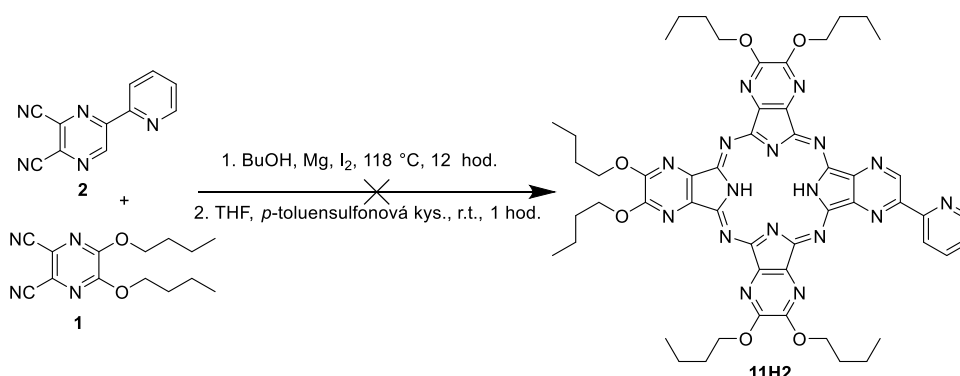
5.2.1 Příprava 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(butoxy)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (**11H2**)

Postup č. 1:



Čerstvě nadestilovaný butanol (30 ml) spolu s Li (28 mg, 4 mmol) a výchozími sloučeninami **2** (30 mg, 0,14 mmol) a **1** (119 mg, 0,43 mmol) byly zahřívány po dobu 2 hodin pod zpětným chladičem při bodu varu butanolu. Následně byla reakce odpařena a do směsi byla přidána 1% HCl (15 ml) pro odstranění nadbytku Li. Směs byla vyextrahovaná pomocí DCM (3× 30 ml). Bylo provedeno TLC (MF: THF), ale nebyly pozorovány žádné zelené skvrny, tudíž produkt **11H2** tímto postupem nebyl nasyntetizován, proto byl vyzkoušen postup č.2.

Postup č. 2:



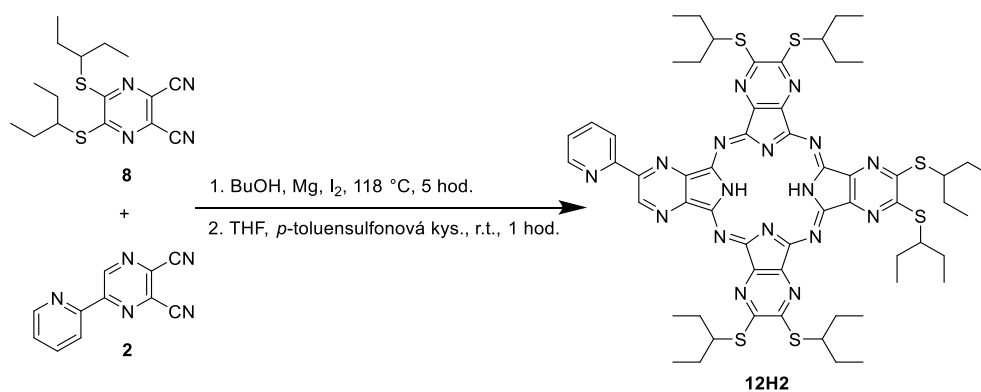
V destilační baňce s čerstvě nadestilovaným butanolem (20 ml) byl smíchán hořčík (99 mg, 4 mmol) a pár zrnek jódu. Směs byla zahřívána při bodu varu butanolu po dobu 3 hodin pod zpětným chladičem se sušícím nástavcem až do vzniku butanolátu

hořečnatého. Následně byly přidány obě výchozí sloučeniny, **1** (120 mg, 0,44 mmol) a **2** (30 mg, 0,14 mmol) a směs byla míchána při 118 °C přes noc.

Druhý den byla směs odpařena a následně byla do reakční směsi přidána 50 % kyselina octová pro odstranění nadbytku butanolátu hořečnatého. Reakce byla míchána 1 hodinu při laboratorní teplotě a směs byla následně přefiltrována přes skládaný filtrační papír. Sraženina byla na filtru promyta vodou. Z filtru byla směs rozpuštěna do destilační baňky pomocí THF. K roztoku cyklotetramerů v THF byl přidán monohydrát kys. *p*-toluensulfonové (275 mg, 1,4 mmol) a při laboratorní teplotě byla směs míchána 1 hodinu. Reakční směs byla dále odpařena a odpařený zbytek byl suspendován v roztoku 5% NaHCO₃ (30 ml) pro zbavení protonizace na pyridylovém dusíku, následně vyextrahována pomocí DCM (3× 30 ml). Organické fáze byly spojeny a odpařeny na rotační vakuové odparce.

Na TLC byla patrná pouze jedna skvrna. Směs byla pročištěna pomocí sloupcové chromatografie (MF: THF). Při tomto postupu se podařilo nasyntetizovat pouze symetrická sloučenina s oktakis(butoxy) substitucí. Produkt **11H2** nevznikl.

5.2.2 Příprava 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(pentan-3-ylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (**12H2**)



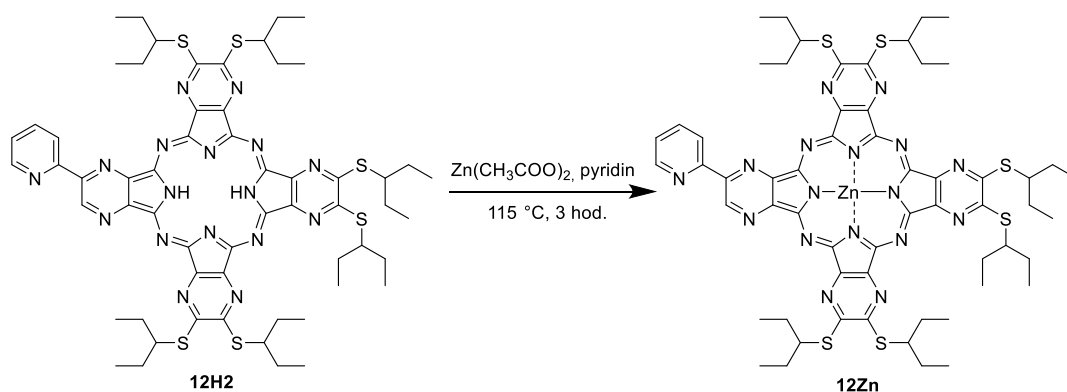
Do destilační baňky s čerstvě předestilovaným butanolem (50 ml) byl přidán hořčík (680 mg, 28 mmol) a pár krystalků jódu. Tato směs byla 2 hodiny míchána při bodu varu butanolu pod zpětným chladičem se sušící rourkou do vzniku butanolátu hořečnatého. Následně byly přidány výchozí sloučeniny **8** (1004 mg, 3 mmol) a **2** (207 mg, 1 mmol) a směs byla dále míchána 5 hodin při 118 °C, následně odpařena. Během reakce došlo ke zbarvení reakční směsi do zelena.

Směs byla rozpuštěna v THF (50 ml) a baňka byla vložena na 15 minut do ultrazvuku. Následně byl přidán monohydrát kyseliny *p*-toluensulfonové (7,98 g, 42 mmol) a směs byla hodinu míchána při laboratorní teplotě za účelem odkovení směsi. Reakční směs byla odpařena. Odpařený zbytek byl suspendován v 5% roztoku NaHCO₃ (50 ml) a směs byla extrahovaná pomocí CHF (3× 50 ml). Organické fáze byly posbírány, vysušeny pomocí bezvodého Na₂SO₄, zfiltrány přes smotek vaty a poté odpařeny na vakuové odparce.

Vzniklá reakční směs byla separována sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: CHF), kdy byla oddělena symetrická sloučenina. Následně pokračovalo čištění dalším sloupcem s MF: CHF/Aceton (100:1 se zrychlováním MF → 50:1). Poté byly frakce naadsorbovány na silikagel do dalšího sloupce a promyty hexanem a methanolem pro odstranění nečistot. Finální sloučenina byla vymyta ze silikagelu směsí rozpouštědel (CHF/MeOH/THF – 1:1:1), zfiltrována a odpařena na rotační vakuové odparce. Bylo získáno 160 mg (13 %) čistého produktu **12H2** v podobě zelených krystalků.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 10.48 (s, 1H), 9.04 – 9.00 (m, 1H), 8.92 – 8.87 (m, 1H), 8.00 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.54 – 7.50 (m, 1H), 5.05 (p, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.94 – 4.77 (m, 4H), 4.77 – 4.68 (m, 1H), 2.43 – 2.08 (m, 24H), 1.53 – 1.20 (m, 36H), -1.46 (s, 2H). ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 161.43, 161.27, 161.14, 158.81, 158.78, 155.45, 154.52, 151.83, 150.42, 149.90, 149.75, 146.09, 145.07, 141.24, 141.10, 140.92, 140.82, 137.20, 125.03, 122.66, 50.50, 50.10, 49.97, 49.71, 49.43, 27.41, 27.35, 27.32, 27.29, 27.26, 27.16, 12.10, 11.86, 11.83, 11.76, 11.66, 11.56. HRMS (ESI): *m/z* vypočítáno pro C₅₉H₇₃N₁₇S₆: [M+H]⁺: 1212.4632; nalezeno: 1212.4657.

5.2.3 Příprava zinečnatého komplexu 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(pentan-3-ylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (**12Zn**)

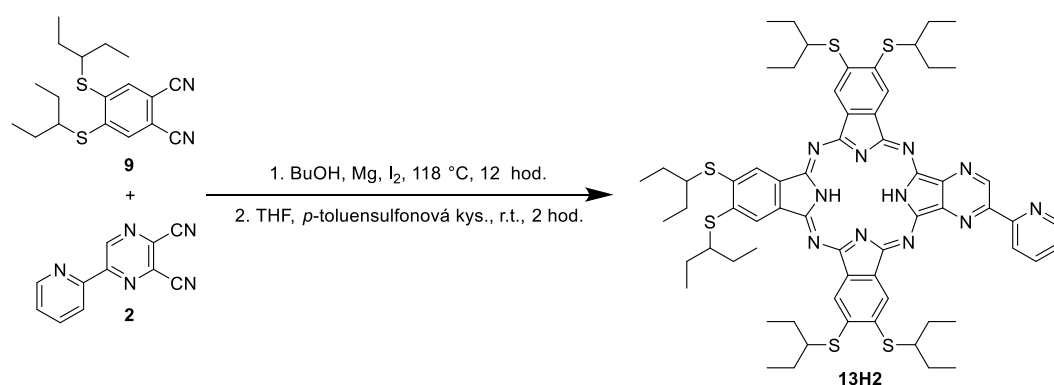


V destilační baňce byla rozpuštěna sloučenina **12H2** (180 mg, 0,15 mmol) v pyridinu (10 ml). K reakční směsi byl přidán $\text{Zn}(\text{AcO})_2$ (272 mg, 1,5 mmol.) a reakce byla zahřívána pod zpětným chladičem 3 hodiny při bodu varu pyridinu. Následně byla směs odpařena, odpařený zbytek byl rozpuštěn v DCM (30 ml) a promyt destilovanou vodou (50 ml), aby se směs zbavila nezreagovaného octanu zinečnatého. Organická fáze byla odebrána a vodná fáze byla následně vyextrahována znovu pomocí DCM (2× 30 ml), organické fáze byly spojeny, vysušeny pomocí bezvodého Na_2SO_4 , zfiltrány přes smotek vaty a odpařeny.

Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: CHF:Aceton (90:1) a CHF:Aceton (100:1)). Bylo získáno 90 mg čistého produktu o výtěžku reakce 47 %.

^1H NMR (600 MHz, pyridin- d_5) δ 10.75 (s, 1H), 9.22 (dt, $J = 7.8, 1.1$ Hz, 1H), 8.87 – 8.85 (m, 1H), 8.02 (td, $J = 7.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.43 – 7.40 (m, 1H), 5.08 – 5.00 (m, 4H), 4.93 – 4.90 (m, 1H), 4.85 – 4.82 (m, 1H), 2.26 – 2.16 (m, 16H), 2.12 – 1.93 (m, 8H), 1.42 – 1.34 (m, 24H), 1.30 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H), 1.16 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (151 MHz, pyridin- d_5) δ 158.48, 158.41, 158.31, 154.99, 151.96, 151.90, 151.84, 151.80, 151.50, 151.44, 150.77, 150.36, 150.06, 149.35, 146.01, 145.95, 145.85, 144.77, 137.49, 135.64, 134.99, 125.18, 123.63, 122.97, 122.74, 49.95, 49.92, 49.60, 27.63, 27.50, 27.32, 11.90, 11.87, 11.63, 11.39. HRMS (ESI): m/z vypočítáno pro $\text{C}_{59}\text{H}_{71}\text{N}_{17}\text{S}_6\text{Zn}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1274.3767; nalezeno: 1274.3779.

5.2.4 Příprava 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(pentan-3-ylthio)-1,4-diazaftalocyaninu (**13H2**)



Hořčík (398 mg, 16,4 mmol), čerstvě predestilovaný butanol (15 ml) a pár krystalků jódu byly smíchány v destilační baňce a zahřívány 2 hodiny při bodu varu butanolu až do vzniku butanolátu hořečnatého. Následně byly přidány sloučeniny **9** (583 mg, 1,8 mmol) a **2** (122 mg, 0,6 mmol) a tato směs byla zahřívána a míchána při bodu varu

rozpouštědla přes noc pod zpětným chladičem se sušícím nástavcem. Poté byla reakční směs odpařena a byla přidána 50% kyselina octová (20 ml). Baňka byla vložena na 15 minut do ultrazvuku, poté byla směs míchána za laboratorní teploty 1 hodinu. Po hodině byla ke směsi přidána destilovaná voda (30 ml) a suspenze byla přefiltrována přes skládaný filtr a promyta vodou. Filtrační koláč byl z filtračního papíru rozpuštěn pomocí THF do destilační baňky a zakoncentrován na objem 20 ml.

Pro odkovení kongenerů byl přidán do výše zmíněného roztoku monohydrát kyseliny *p*-toluensulfonové (555 mg, 2,9 mmol) a reakční směs byla míchána hodinu při laboratorní teplotě. Jelikož reakce dle TLC (CHF:Tol, 1:1) neproběhla dostatečně, tak byla přidána další *p*-toluensulfonová kyselina (555 mg, 2,9 mmol) a další hodinu byla směs míchána. Poté byla reakce odpařena na vakuové odparce. Odpařený zbytek byl suspendován v roztoku 5% NaHCO₃ (50 ml) a směs byla vyextrahována pomocí DCM (3× 30 ml). Organické fáze byly posbírány, vysušeny pomocí bezvodého Na₂SO₄, zfiltrány přes smotek vaty a poté odpařeny na vakuové odparce.

Směs byla čištěna pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (MF: CHF:TOL (1:1), která byla postupně zrychlována CHF:MeOH (10:1 → 10:2), dále CHF:Pyr (10:1), nakonec čistým pyridinem), čímž byla oddělena symetrická sloučenina.

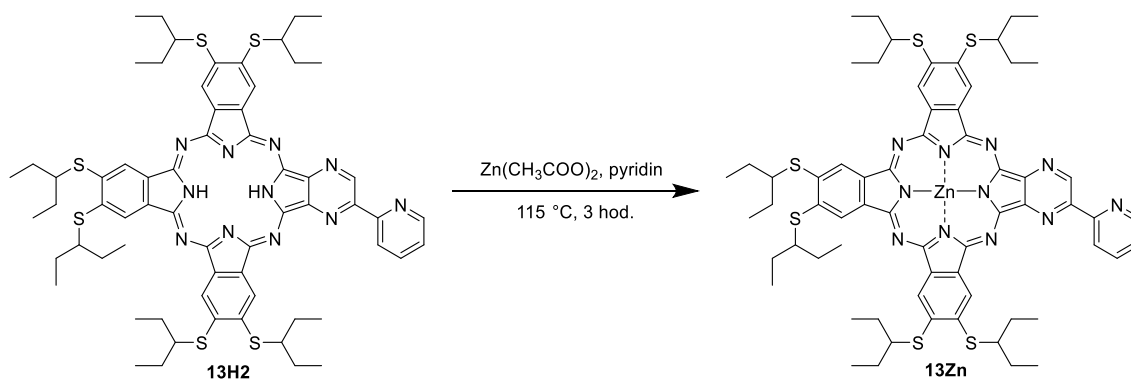
Následně bylo prováděno další čištění pomocí sloupcové chromatografie (MF: TOL:THF (10:1 s R_f = 0,42 a 8:1)), ale stále byly na TLC patrné mírné nečistoty.

Dále byla směs naadsorbována na silikagel a promyta v malém sloupci (2 cm čistého silikagelu a pak modifikovaný SiO₂) nejprve hexanem, kdy se nic viditelného nevymývalo. Následně byl sloupec ponechán vyschnout a poté byl promýván methanolem, kdy se začaly vymývat nažloutlé nečistoty. Produkt byl ze sloupce vymyt pomocí CHF/THF (2:1).

Bylo získáno 125 mg (18 %) sloučeniny **13H2** jako zelených krystalků.

HRMS (ESI): *m/z* vypočítáno pro C₆₅H₇₉N₁₁S₆: [M+H]⁺: 1206,4917; nalezeno: 1206,4935.

5.2.5 Příprava zinečnatého komplexu 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(pentan-3-ylthio)-1,4-diazaftalocyaninu (**13Zn**)

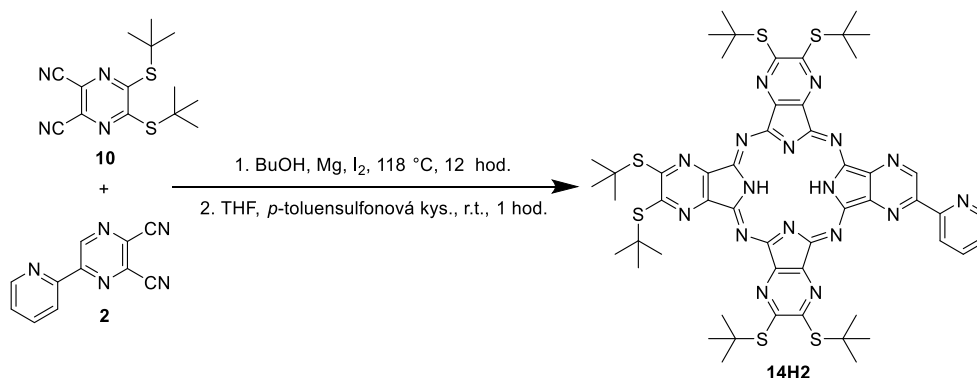


Sloučenina **13H2** (125 mg, 0,1 mmol) byla rozpuštěna v pyridinu (10 ml) a k roztoku byl přidán octan zinečnatý (190 mg, 1 mmol). Reakční směs byla míchána 3 hodiny pod zpětným chladičem při bodu varu pyridinu. Směs byla odpařena a přečištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: CHF:THF (15:1)) s $R_f = 0,63$. Získané frakce byly odpařeny a nakapány do hexanu. Tato směs byla ponechána 48 hodin v mrazáku. Následně přes filtrační papír v Büchnerově nálevce zfiltrována.

Bylo získáno 42 mg čisté zinečnaté sloučeniny **13Zn** jako zelených krystalků s výtěžkem reakce 33 %.

^1H NMR (600 MHz, pyridin- d_5) δ 10.78 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 9.66 (s, 1H), 9.65 (s, 1H), 9.63 (s, 1H), 9.61 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 9.21 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 9.01 – 8.98 (m, 1H), 8.02 (td, $J = 7.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.52 – 7.49 (m, 1H), 4.00 – 3.93 (m, 4H), 3.80 (dq, $J = 18.2, 6.2$ Hz, 2H), 2.12 – 2.06 (m, 16H), 1.98 – 1.87 (m, 8H), 1.35 (q, $J = 7.1$ Hz, 24H), 1.21 (dt, $J = 21.7, 7.3$ Hz, 12H). ^{13}C NMR (151 MHz, pyridin- d_5) δ 157.08, 157.05, 156.55, 156.44, 155.94, 153.85, 153.82, 151.56, 150.63, 149.04, 148.58, 147.81, 147.76, 144.55, 142.02, 141.77, 141.56, 141.27, 137.89, 137.53, 137.40, 137.38, 137.15, 136.90, 136.20, 135.55, 125.46, 124.72, 124.20, 123.55, 123.34, 123.29, 51.79, 51.72, 51.61, 51.54, 51.48, 27.50, 27.38, 27.25, 12.06, 12.03, 12.01, 11.72, 11.65. HRMS (ESI): m/z vypočítáno pro $\text{C}_{65}\text{H}_{77}\text{N}_{11}\text{S}_6\text{Zn}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1268.4052; nalezeno: 1268.4072.

5.2.6 Příprava 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (**14H2**)



V destilační baňce byl smíchán čerstvě nadedistilovaný butanol (50 ml) s hořčíkem (820 mg, 33,7 mmol) a s pár krystalky jódu. Tato směs byla pod zpětným chladičem se sušící zátkou míchána 2 hodiny a zahřívána při 118 °C až do vzniku naředlé „žvýkačky“ butanolátu hořečnatého. Následně byly přidány výchozí sloučeniny v poměru 1:3, a to sloučenina **2** (250 mg, 1,2 mmol) a sloučenina **10** (1108 mg, 3,6 mmol). Reakce pokračovala do druhého dne přes noc při stálém míchání a zahřívání. Během reakce došlo ke zbarvení směsi do zelena.

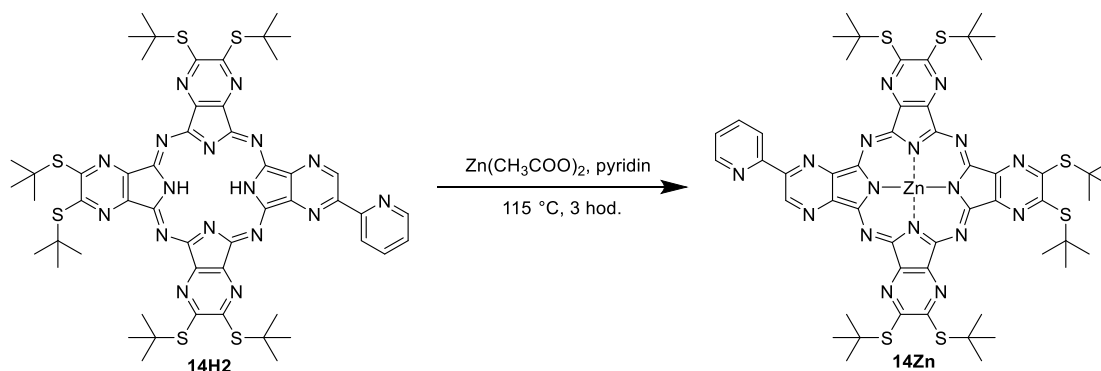
Reakční směs byla ponechána vychladnout a pak byla odpařena na vakuové odparce. K suchému produktu byla přidána 50% kyselina octová (20 ml). Destilační baňka se suspenzí byla vložena na 15 minut do ultrazvuku a poté 1 hodinu míchána za laboratorní teploty. Po hodině byla reakční směs přefiltrována přes skládaný filtr, promyta destilovanou vodou (50 ml). Hořečnaté kongenery byly rozpuštěny z filtračního papíru pomocí THF do destilační baňky a zakoncentrovány na 20 ml.

K reakční směsi byl přidán monohydrát kyseliny *p*-toluensulfonové (2289 mg, 12,0 mmol) a směs byla míchána při laboratorní teplotě 1 hodinu. Reakční směs byla odpařena a byl k ní přidán 5% roztok NaHCO₃ (50 ml). Následně byla suspenze vyextrahována pomocí DCM (3× 30 ml). Organická část byla vysušena pomocí Na₂SO₄, zfiltrována přes smotek vaty a odpařena na vakuové odparce.

Vzniklá reakční směs byla separována sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: CHF:TOL (1:1)), kdy byla ze směsi oddělena symetrická sloučenina **10H2** (R_f = 0,82). Čištění pokračovalo dalším sloupcem (MF: CHF:ethyl-acetát (10:1)) s R_f = 0,6, kdy bylo získáno 306 mg (23 %) **14H2** jako zelených krystalků.

HRMS (ESI): m/z vypočítáno pro $C_{53}H_{61}N_{17}S_6$: $[M+H]^+$: 1128.3693; nalezeno: 1128.3719.

5.2.7 Příprava zinečnatého komplexu 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (**14Zn**)

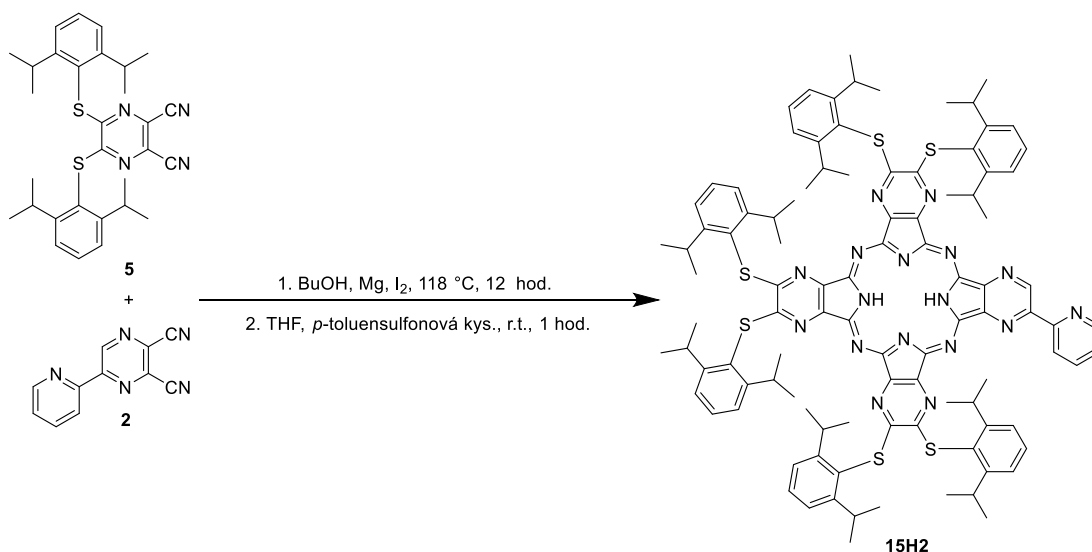


Sloučenina **14H2** (306 mg, 0,27 mmol) byla rozpuštěna v pyridinu (20 ml) a byl přidán octan zinečnatý (498 mg, 2,7 mmol). Reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 3 hodiny při $115\text{ }^\circ\text{C}$. Směs byla následně odpařena, odpařený zbytek byl rozpuštěn v DCM (30 ml) a promyt 5% roztokem $NaHCO_3$ (50 ml), aby byla směs zbavena nadbytečného nezreagovaného octanu zinečnatého. Suspenze byla vyextrahována pomocí DCM ($3 \times 30\text{ ml}$) a získaná organická část byla vysušena pomocí bezvodého Na_2SO_4 , zfiltrována přes smotek vaty a odpařena na vakuové odparce.

Bylo provedeno čištění sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: CHF)), kdy byl odstraněn zbytek symetrické sloučeniny. Poté byla požadovaná sloučenina promyta na sloupci čistým methanolem pro odstranění polárních nečistot. Dalším sloupcem (MF: CHF:THF (30:1)) s $R_f = 0,1$ bylo získáno 103 mg (32 %) čistého produktu **14Zn** jako zelených krystalků.

^1H NMR (600 MHz, pyridin- d_5) δ 10.84 (s, 1H), 9.51 (d, $J = 7.0\text{ Hz}$, 1H), 8.93 – 8.91 (m, 1H), 8.21 (td, $J = 7.5, 1.8\text{ Hz}$, 1H), 7.51 – 7.48 (m, 1H), 2.31 (s, 9H), 2.31 (s, 9H), 2.29 (s, 18H), 2.19 (s, 9H), 2.10 (s, 9H). ^{13}C NMR (151 MHz, pyridin- d_5) δ 160.16, 159.89, 159.33, 158.99, 158.74, 155.59, 152.88, 152.83, 152.62, 152.49, 152.26, 152.17, 152.03, 151.21, 151.14, 150.85, 150.60, 149.88, 145.81, 145.69, 145.63, 145.54, 145.15, 138.16, 136.20, 136.17, 135.52, 125.72, 124.16, 123.50, 123.14, 51.86, 51.76, 51.73, 51.67, 51.59, 31.20, 31.15, 31.11. HRMS (ESI): m/z vypočítáno pro $C_{53}H_{59}N_{17}S_6Zn$: $[M+H]^+$: 1190.2828; nalezeno: 1190.2827.

5.2.8 Příprava 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(2,6-diisopropylfenylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (**15H2**)



Čerstvě predestilovaný butanol v destilační baňce (30 ml) byl smíchán s hořčíkem (432 mg, 17,8 mmol) a s pár krystalky jódu. Tato směs byla míchána při bodu varu butanolu pod zpětným chladičem se sušícím nástavcem až do vzniku šedé hmoty butanolátu hořečnatého (cca 4 hod). Následně byly přidány výchozí sloučeniny **2** (131 mg, 0,6 mmol) a **5** (980 mg, 1,9 mmol). Reakční směs byla míchána přes noc do druhého dne při 118 °C. Během reakce došlo ke zbarvení směsi do zelena.

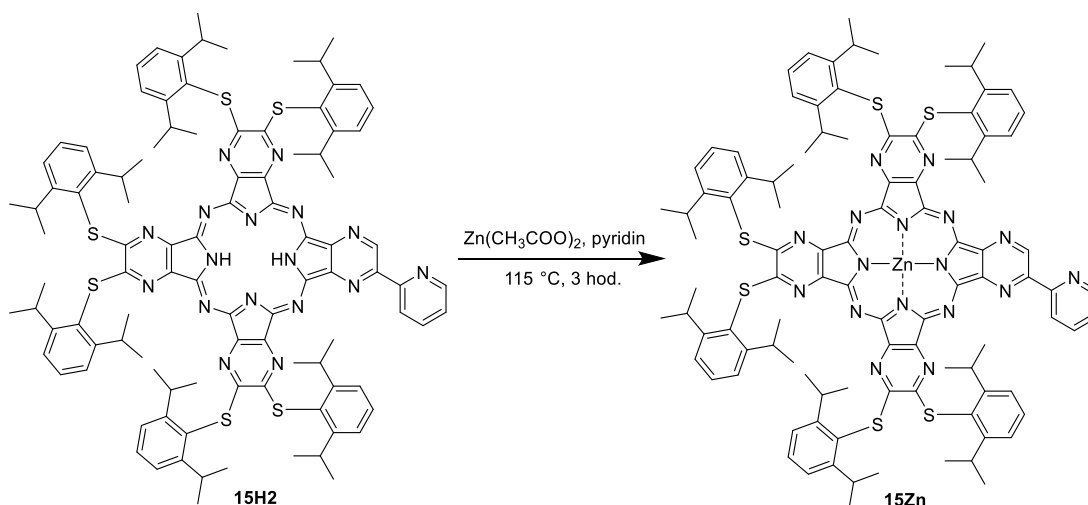
Následně byla směs odpařena, byla k ní přidána 50% kyselina octová (30 ml) a celá baňka byla vložena na 15 minut do ultrazvuku. Poté byla reakční směs míchána 2 hodiny při laboratorní teplotě. Následně byla baňka vypláchnuta destilovanou vodou (30 ml) a suspenze byla přefiltrována přes skládaný filtrační papír. Pomocí THF byla sloučenina z filtru rozpuštěna do destilační baňky a byl k ní přidán monohydrát kyseliny *p*-toluensulfonové (603 mg, 3,2 mmol) pro odkovení. Směs byla míchána při laboratorní teplotě 1 hodinu a pak odpařena na vakuové odparce. K odpařenému produktu byl přidán 5% roztok NaHCO₃ (50 ml) a směs byla vyextrahována pomocí DCM (3× 30 ml). Organická část byla vysušena Na₂SO₄, zfiltrována přes smotek vaty a odpařena na vakuové odparce.

Směs byla separována pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (MF: CHF:THF (100:1)), čímž byla oddělena symetrická sloučenina. Produkt byl ze sloupce vymyt pomocí směsi CHF/MeOH (1:1). Produkt byl dále naadsorbován na silikagel a promyt ve sloupci methanolem pro zbavení se polárních nečistot. Dočištění pak proběhlo

sloupcem (MF: CHF:DEE (10:1)) s $R_f = 0,56$, kdy bylo získáno 190 mg (18 %) produktu **15H2** jako zelených krystalků.

^1H NMR (600 MHz, pyridin- d_5) δ 10.76 (s, 1H), 9.65 – 9.62 (m, 1H), 9.05 – 9.03 (m, 1H), 8.53 (td, $J = 7.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.96 – 7.86 (m, 5H), 7.80 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.74 – 7.64 (m, 10H), 7.61 (s, 1H), 7.60 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 4.38 – 4.26 (m, 12H), 1.59 (t, $J = 8.4$ Hz, 24H), 1.54 – 1.50 (m, 48H). ^{13}C NMR (151 MHz, pyridin- d_5) δ 158.27, 158.18, 157.71, 157.63, 157.51, 157.42, 155.81, 155.43, 155.09, 155.03, 154.99, 154.91, 151.94, 151.62, 151.42, 151.34, 151.20, 151.14, 151.08, 151.04, 150.88, 150.71, 150.60, 149.89, 147.71, 147.59, 147.56, 147.52, 147.49, 147.47, 145.16, 138.09, 136.20, 136.16, 135.52, 132.22, 132.19, 132.12, 132.05, 131.88, 127.60, 127.14, 127.11, 127.07, 127.05, 125.97, 125.69, 125.67, 125.62, 125.26, 125.17, 124.16, 123.50, 123.08, 33.73, 33.70, 33.60, 24.93, 24.88.

5.2.9 Příprava zinečnatého komplexu 2-(pyrid-2-yl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(2,6-diisopropylfenylthio)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (**15Zn**)



Sloučenina **15H2** (190 mg, 0,1 mmol) byla rozpuštěna v pyridinu (20 ml) a k roztoku byl přidán $\text{Zn}(\text{AcO})_2$ (199 mg, 1,1 mmol). Reakční směs byla míchána 3 hodiny při bodu varu pyridinu pod zpětným chladičem. Produkt byl odpařen, rozpuštěn v DCM (30 ml) a byla k němu přidána destilovaná voda (50 ml) pro odstranění nezreagovaného octanu zinečnatého. Směs byla extrahována pomocí DCM (3×30 ml) a organické části byly sesbírány, vysušeny pomocí bezvodého síranu sodného, zfiltrány přes smotek vaty a odpařeny na vakuové odparce.

Směs byla pročištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (MF: CHF:MeOH (70:1)) s $R_f = 0,14$ a bylo získáno 103 mg (57 %) čistého produktu **15Zn** jako zelených krystalků.

^1H NMR (600 MHz, pyridin- d_5) δ 10.76 (s, 1H), 9.65 – 9.61 (m, 1H), 9.04 – 9.03 (m, 1H), 8.52 (td, $J = 7.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.95 – 7.86 (m, 5H), 7.80 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.67 – 7.64 (m, 2H), 7.61 (s, 1H), 7.60 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 4.38 – 4.27 (m, 12H), 1.62 – 1.56 (m, 24H), 1.53 – 1.49 (m, 48H). ^{13}C NMR (151 MHz, pyridin- d_5) δ 158.26, 158.17, 157.70, 157.62, 157.50, 157.41, 155.81, 155.43, 155.09, 155.03, 154.99, 154.91, 151.94, 151.62, 151.42, 151.33, 151.20, 151.14, 151.04, 150.60, 149.89, 147.71, 147.59, 147.56, 147.52, 147.49, 147.47, 145.15, 136.16, 135.52, 132.22, 132.11, 132.04, 131.87, 127.60, 127.14, 127.10, 127.06, 127.04, 125.96, 125.69, 125.66, 125.61, 125.26, 125.17, 124.16, 123.50, 33.73, 33.70, 33.60, 24.93, 24.88. HRMS (ESI): m/z vypočítáno pro $\text{C}_{101}\text{H}_{107}\text{N}_{17}\text{S}_6\text{Zn}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 181.6584; nalezeno: 1814.6586.

5.3 Stanovení fotofyzikálních parametrů

5.3.1 Kvantový výtěžek singletového kyslíku

Kvantový výtěžek singletového kyslíku byl stanovován pomocí **scavengerové metody** (kapitola 4.3.1.1). Stanovení probíhalo na optické lavici vybavené: xenonovou lampou (100 W, ozone-free, Newport), vodním filtrem (6 cm) a cut-off filtrem (OG530), které odfiltrovaly teplo a světlo o nižší vlnové délce než 523 nm, při kterém by mohlo docházet k nespecifickému rozkladu DPBF. Samotný experiment probíhal následovně. Roztok DPBF v DMF ($A_{414\text{nm}} \approx 1,0$; 2,5 ml) byl přenesen do 10×10 mm optické kyvety, ve které byl 1 minutu probubláván kyslíkem. Bylo provedeno měření absorpčního spektra (tzv. blank) na spektrofotometru. Následně bylo přidáno 20 μl vzorku v toluenu (100 μM), tak aby absorbance finálního roztoku byla okolo 0,1 maxima Q-pásma a bylo provedeno další měření absorpčního spektra. Roztok byl poté míchán, ozařován světlem po stanovenou dobu a následně bylo změřeno jeho absorpční spektrum. Ozařování se celkem opakovalo čtyři krát. Snížení koncentrace DPBF bylo sledováno při vlnové délce 414 nm a kvantový výtěžek vypočítán dle Rovnice 2 (kapitola 4.3.1.1). Výsledná hodnota Φ_{Δ} je průměrem 3 samostatných stanovení. Výše zmíněný postup byl opakován i pro další rozpouštědla: toluen a toluen s 1 % pyridinu.

5.3.2 Kvantový výtěžek fluorescence

Kvantový výtěžek fluorescence byl stanovován srovnávací metodou, kdy byly sledovány plochy pod křivkou emisních spekter referenční sloučeniny a vzorku. Vzorek i srovnávací látka byly excitovány světlem totožné vlnové délky (zde konkrétně 595 nm). Měření bylo prováděno nejprve v DMF. Začínalo proměřením absorbance a fluorescence kyvety

s čistým rozpouštědlem (2,5 ml). Následně bylo přidáno 20 μl vzorku (100 μM) v toluenu, tak aby absorbance byla udržena pod 0,015 a v maximu pásma Q pod 0,05 pro omezení efektu vnitřního filtru. Další krokem bylo opětovné změření absorpčních a emisních spekter. Φ_F byl pak vypočítán dle Rovnice 4 (kapitola 4.3.2). Výsledná hodnota je průměrem 3 samostatných měření.

Dále bylo prováděno měření v toluenu pro zjištění Φ_F J-dimerů. Samotné měření probíhalo stejně jako v DMF s jednou odchylkou: po doměření absorpčních a emisních spekter zkoumané sloučeniny byl vždy přidán pyridin (25 μl) pro monomerizace AzaPcs a následně bylo opět změřeno absorpční a emisní spektrum pro monomerní látky v toluenu.

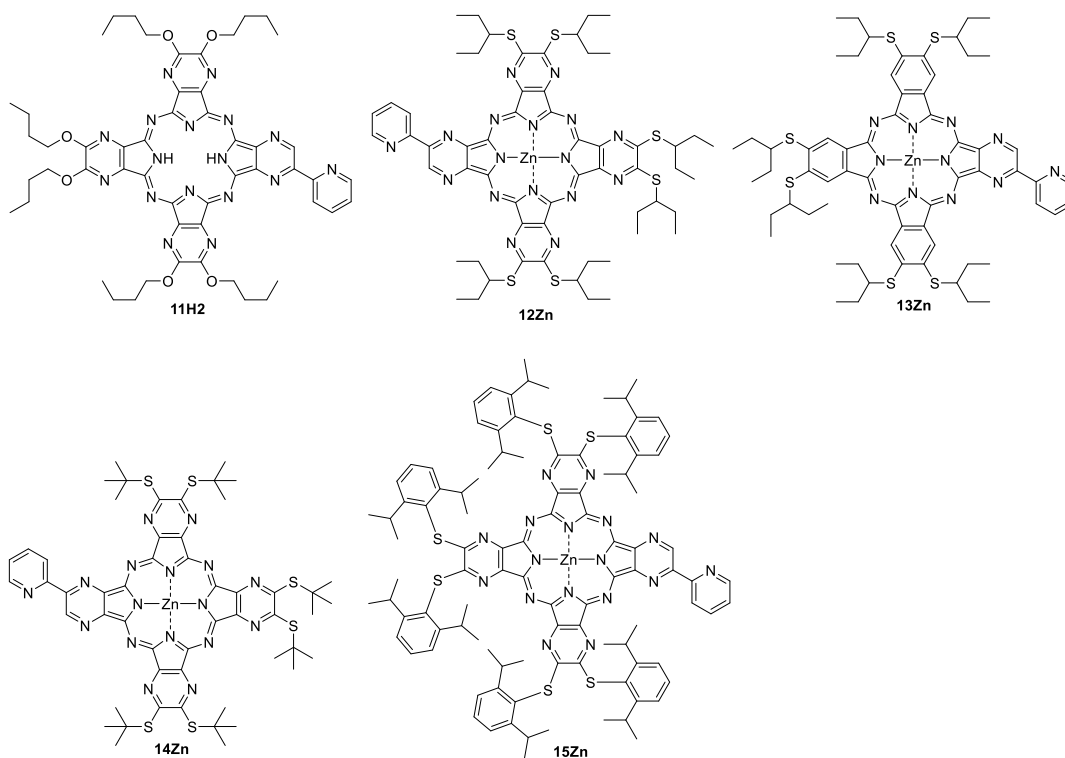
5.4 Studium supramolekulárních interakcí

Pro zkoumání supramolekulárních vlastností nasyntetizovaných AzaPcs byly připraveny 100 μM zásobní roztoky v toluenu (nekoordinální rozpouštědlo), které byly dány na 5 minut do ultrazvukové lázně pro zajištění kompletního rozpuštění. Do kyvety bylo napipetováno 2,5 ml toluenu a byla změřena baseline absorpčního i emisního spektra tzv. blank. Do kyvety s toluenem bylo přidáno 25 μl zásobního roztoku daného AzaPc a opět byla změřena obě spektra. Excitační vlnová délka (pro emisní spektra) byla zvolena v isosbestickém bodě absorpčních spekter, aby bylo zajištěno konstantní dodání energie v průběhu titrací. Následně byl po malých objemech přidáván 1M roztok pyrazinu (koordinující sloučenina) v toluenu, kdy po každém přidavku bylo změřeno absorpční i emisní spektrum. Titrace probíhala do té doby, než bylo dosaženo fáze plateau pro daný AzaPc. U sloučeniny **15Zn** byl nejprve použit 0,1M pyrazin z důvodu slabých supramolekulárních interakcí tohoto AzaPc.

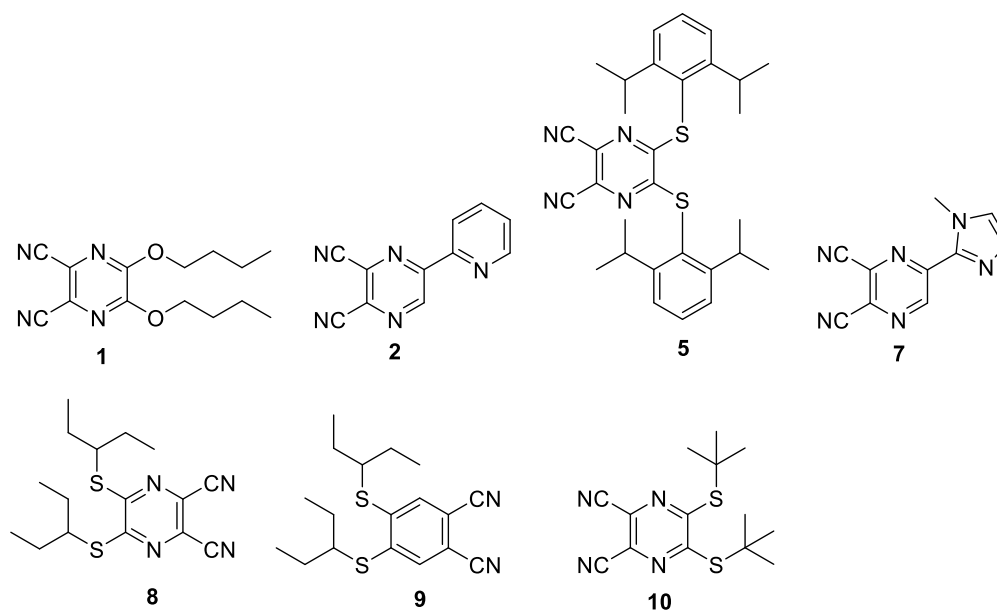
AzaPc **12Zn** byl podroben dalšímu důkladnějšímu zkoumání pomocí následujících analytů: kyselina octová, kyselina dichloroctová, kyselina trifluoroctová, kyselina benzoová, pyridin, imidazol, *N*-methyylimidazol a směs pyrazinu s kyselinou octovou (1:1).

6 Výsledky a diskuze

Cílem mé diplomové práce bylo primárně studium stability supramolekulárních J-dimerů u Pc a AzaPc s rozdílnou substitucí. Jako cílové sloučeniny byly navrženy nesymetrické deriváty zinečnatých AzaPcs s butoxy skupinou, pentan-3-ylsulfanylem, *tert*-butylsulfanylem, (2,6-diisopropylfenyl)sulfanylem jako periferními substituenty (Obr. 25). Práce byla založena nejprve na syntéze vhodných prekurzorů (aromatických dikarbonitrilů, Obr. 26), následně jejich tetramerizaci, izolaci nesymetrického (Aza)Pc typu AAAB s následným studiem fotofyzikálních vlastností (fluorescence, tvorba singletového kyslíku) a zakončena titračními experimenty, kde byla studována stabilita vytvořených J-dimerů.



Obr. 25 Přehled zamýšlených cílových sloučenin.

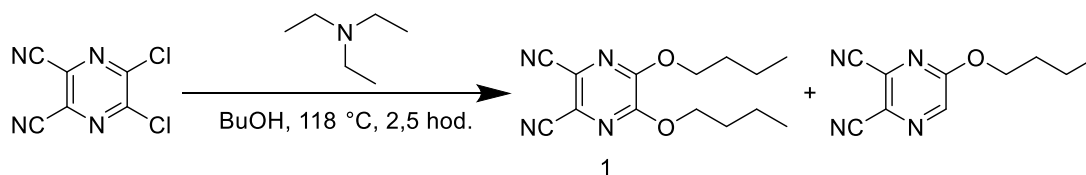


Obr. 26 Přehled prekurzorů.

6.1 Syntéza

6.1.1 Syntéza prekurzorů

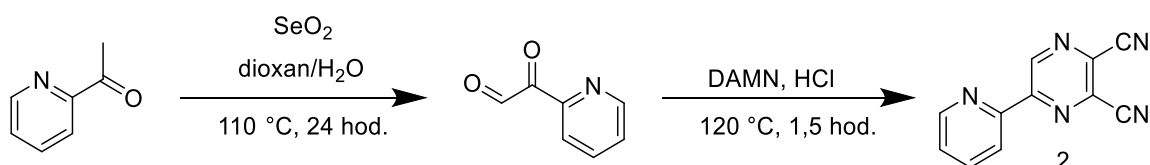
Při syntéze prekurzoru **1** (Obr. 27) jsme využili komerčně dostupný 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitril, u něhož je usnadněna nukleofilní substituce na aromatickém jádře díky zápornému mezomernímu efektu nitrilových skupin a záporných indukčních efektů pyrazinových dusíků a chloro substituentů. Díky těmto efektům je sloučenina v polohách 5 a 6 elektron deficitní, a proto je náchylnější k nukleofilnímu ataku. V reakční baňce reagoval 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitril s nadbytkem bezvodého butanolu (použit i jako rozpouštědlo) s přidavkem triethylaminu jako baze. Bohužel po 2,5 hodinách bylo na TLC stále patrné velké množství monobutoxy derivátu, tudíž jsme k reakci přidali dalších 1,5 ml triethylaminu. Tento přídavek však nepomohl, proto jsme se rozhodli reakci ukončit a izolovat dibutoxy derivát s výtěžkem reakce 14 %, což neodpovídalo literatuře (publikováno 49 %) [37]. Při druhém pokusu jsme nejprve smíchali triethylamin s bezvodým butanolem a nechali míchat 30 minut při r.t. Následně jsme přidali 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitril, nechali reakci proběhnout a separovali zamýšlený prekurzor. Druhý pokus proběhl již s výtěžkem 43 %.



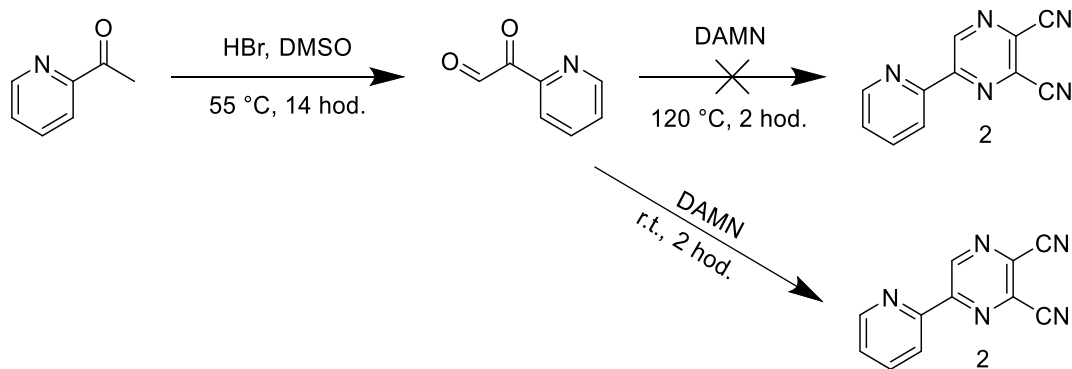
Obr. 27 Schéma přípravy sloučeniny **1**.

Příprava prekurzoru **2** probíhala dvěma postupy (Obr. 28). Při postupu č. 1 výchozí sloučenina 1-(pyridin-2-yl)ethan-1-on reagovala s oxidačním činidlem SeO₂ v prostředí dioxanu a vody. Po teoretickém vzniku vicinálního ketoaldehydu byl k reakci přidán DAMN a kyselina chlorovodíková. Po proběhnutí reakce však na TLC nebyl patrný vzniklý produkt. Při postupu č. 2 byl 1-(pyridin-2-yl)ethan-1-on oxidován pomocí kyseliny bromovodíkové v DMSO [40]. Následně vicinální ketoaldehyd reagoval s DAMN při 120 °C dle podobného postupu z literatury [41], přičemž tímto postupem produkt stále nevznikal. Následně jsme zkusili zmírnit reakční podmínky po přidání DAMN, kdy jsme reakci prováděli při laboratorní teplotě namísto zahřívání na 120 °C, čímž jsme získali produkt **2** ve výtěžku 72 %.

Postup 1:



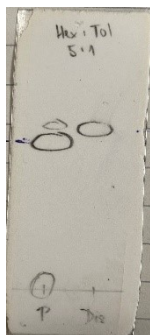
Postup 2:



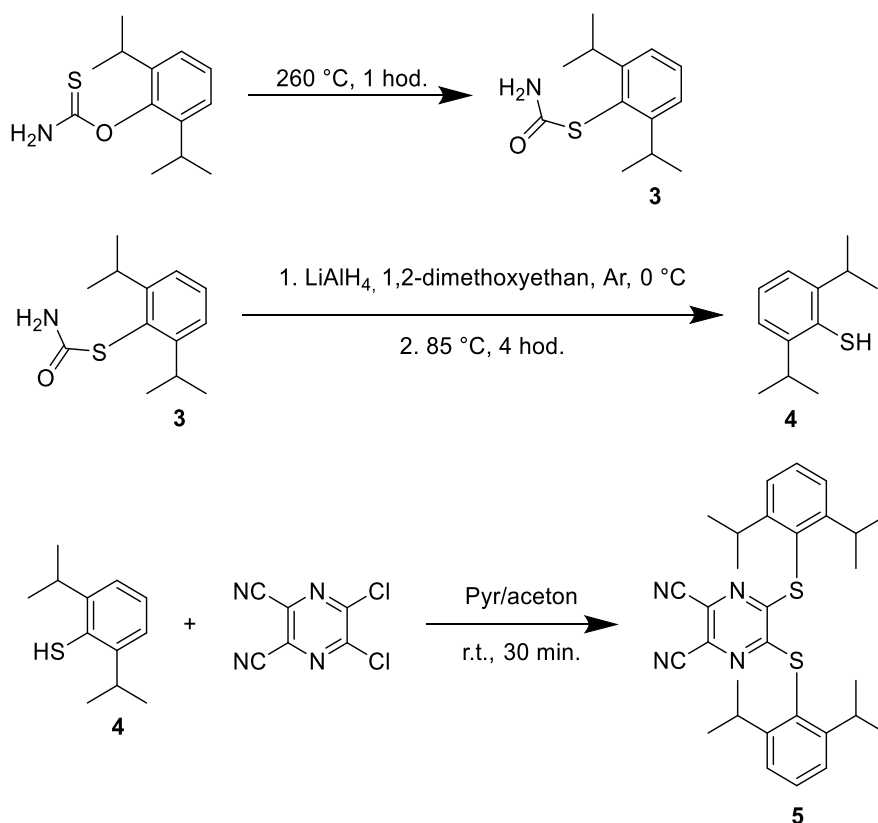
Obr. 28 Schéma dvou postupů příprav sloučeniny **2**.

Příprava sloučeniny **5** (Obr. 30) probíhala v několika krocích, a to nejprve Newman-Kwartovým přesmykem z *O*-(2,6-diisopropylfenyl)karbamothioátu na *S*-(2,6-diisopropylfenyl)karbamothioát (**3**). Přesmyk proběhl s výtěžkem reakce 63 % produktu **3**. Dalším krokem byla redukce sloučeniny **3** na thiol. Redukce měla proběhnout po přidavku 1,5 ekvivalentů redukčního činidla LiAlH₄ k 1 ekvivalentu výchozí sloučeniny, k čemuž však nedošlo. Redukce (vznik sloučeniny **4**) proběhla úspěšně až při použití 3 ekvivalentů LiAlH₄. Směs připomínala šedé bahno, do kterého se přidával

MeOH pro odstranění nadbytku nezreagovaného hydridu. Při této reakci dochází často k tvorbě disulfidu, jak jsme pozorovali také na TLC (Obr. 29). Pro rozštěpení vznikající disulfidické vazby vedlejšího produktu byl do směsi přidáván 2-merkptoethanol. Po přečištění byla získána sloučenina **4** s výtěžkem reakce pouze 15 %. Posledním krokem byla nukleofilní substituce 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu sloučeninou **4**. Reakce probíhala v acetonu a v přítomnosti pyridinu jako báze. Po přečištění sloupcovou chromatografií a rekrystalizací v ethanolu byla získána sloučenina **5** s výtěžkem 49 %.



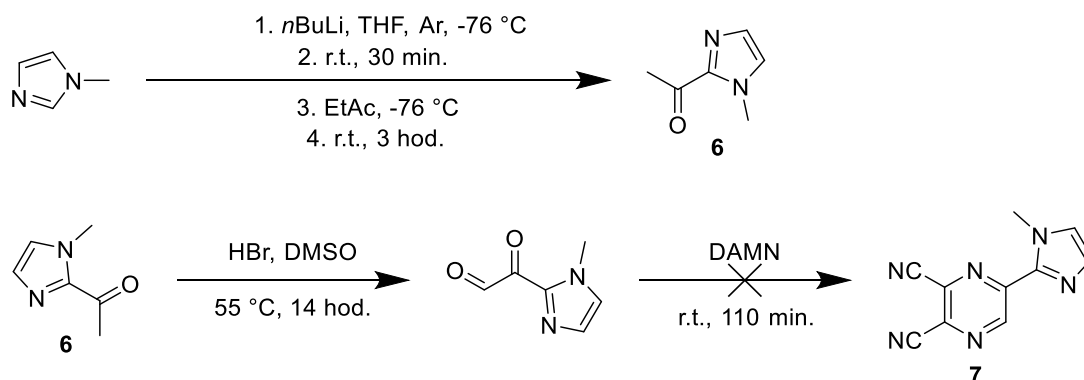
Obr. 29 TLC vzniklého thiolu (**P**) a vedlejšího produktu disulfidu (**Dis**).



Obr. 30 Schéma přípravy sloučeniny **5**.

Příprava sloučeniny **6** (Obr. 31) probíhala metalací *N*-methylimidazolu pomocí *n*-butyllithia a následně byl zaveden acetyl pomocí reakce s ethylacetátem. Z důvodu

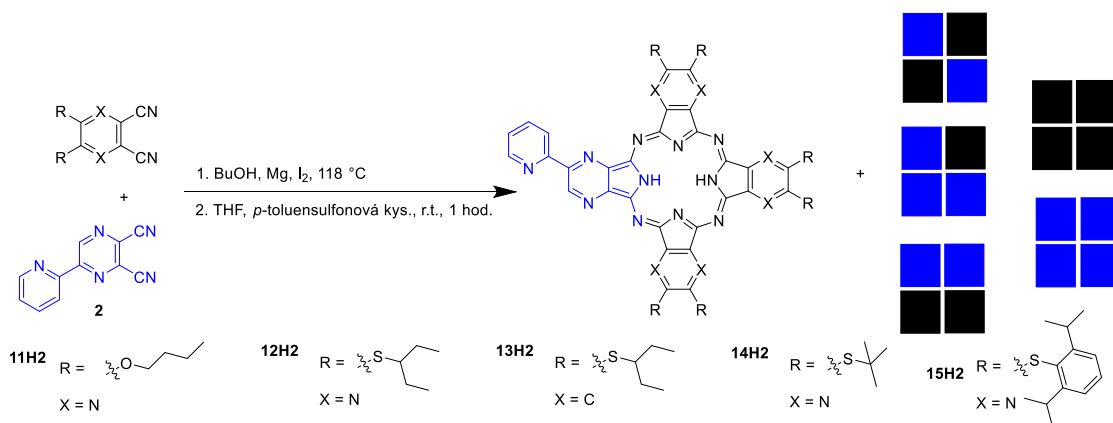
nestability *n*-butyllithia probíhala celá reakce pod argonem a za chlazení na $-76\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reakce proběhla s výtěžkem reakce 75 %. Z tohoto produktu **6** jsme se snažili pomocí oxidace kyselinou bromovodíkovou připravit ketoaldehyd, který měl následně diaminomaleonitrilovou syntézou poskytnout zamýšlený prekursor **7**. Nicméně NMR analýza po izolaci dominantní skvrny na TLC nepotvrdila totožnost sloučeniny **7**.



Obr. 31 Schéma přípravy sloučeniny **7**.

6.1.2 Syntéza AzaPcs a inkorporace zinečnatého kationtu

Při syntéze AzaPcs byla použita tzv. Linsteadova metoda postupné výstavby makrocyklu (Obr. 32).

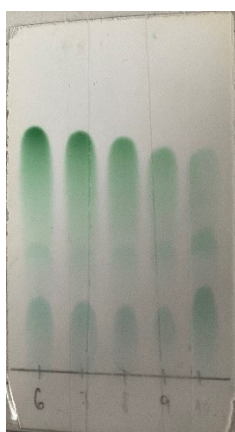


Obr. 32 Přehled syntetizovaných AzaPcs Linsteadovou metodou postupné výstavby makrocyklu.

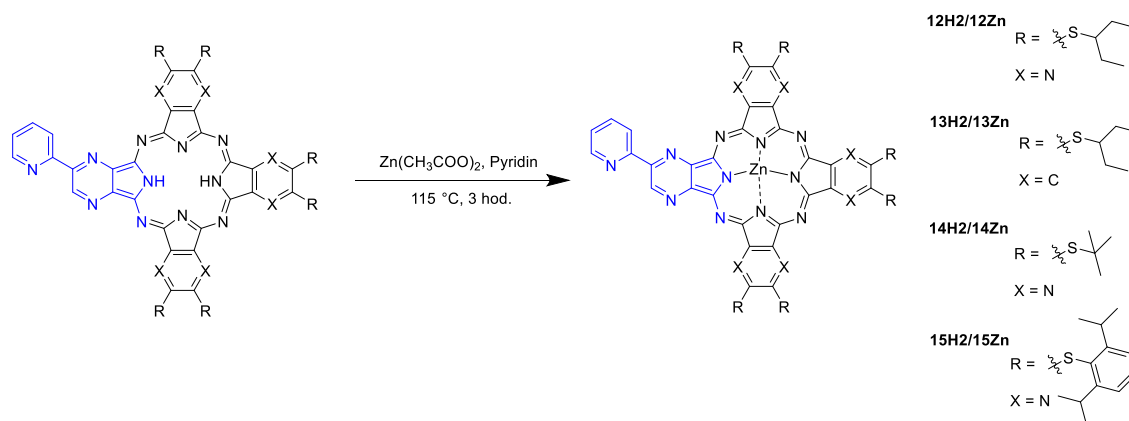
Při pokusu o přípravu **11H2** byla nejprve použita cyklotetramerizační reakce pomocí lithia v prostředí bezvodého butanolu. Cyklotetramerizace pomocí butanolátu lithného je výhodná, jelikož je získán rovnou bezkovový derivát. Tento postup však neposkytl požadovaný produkt, a proto byl vyzkoušen postup s využitím butanolátu hořečnatého, který vede ke vzniku hořečnatého komplexu AzaPc. Po reakci bylo nutné ke směsi přidat 50% kyselinu octovou, která slouží k odstranění nadbytku butanolátu hořečnatého. Dalším postupem byla reakce s monohydrátem kyseliny *p*-toluensulfonové pro odkovení

vzniklého hořečnatého azaftalocyaninu, protože kovové komplexy AzaPcs trpí chvostováním na silikagelu. Sloučeniny **2** a **1** se podařilo zcyklotetramerizovat, avšak požadovaný kongener **11H2** nevznikl. Na TLC byl patrný pouze symetrický kongener (s oktakis(butoxy) substitucí). Po těchto pokusech byl projekt s dibutoxy prekurzorem **1** opuštěn.

Cyklotetramerizační reakce s prekurzory, kde periferní substituenty byly připojeny přes atom síry, bylo nezbytné provádět vždy s butanolátem hořečnatým, aby se zamezilo nežádoucí záměně alkyl(aryl)sulfanylů za butoxy skupiny. Cyklizace výchozích prekurzorů **8** a **2** proběhla úspěšně za vzniku **12H2**. Vznikla směs 6 hořečnatých kongenerů. Při první syntéze jsme zvolili přečištění sloupcovou chromatografií ještě ve formě hořečnatých komplexů. Toto čištění však nebylo velmi úspěšné, jelikož směs AzaPcs se hodně zachycovala na silikagelu, a proto kongenery nebylo možné separovat (Obr. 33). Proto při dalším pokusu jsme směs nejdříve odkovili a až následně prováděli separování sloučenin, což vedlo k izolaci mírně znečištěného kongeneru **12H2**. Následně jsme přistoupili k dalšímu kroku syntézy finální sloučeniny a předpokládali, že k úplnému dočištění dojde až po inkorporaci zinečnatého kationtu. Poslední reakcí tudíž byla chelatace zinečnatého kationtu, a to reakcí se $Zn(AcO)_2$ v pyridinu zahříváno na bod varu po dobu 3 hodin (Obr. 34). Reakční směs byla po odpaření pyridinu promyta vodou pro zbavení se nadbytku octanu zinečnatého. Jelikož kongener **12Zn** byl velmi obtížně izolovatelný, zůstala 100 mg frakce, která z časových důvodů nebyla dočištěna, proto výtěžek reakce 47 % je částečně zkreslený.



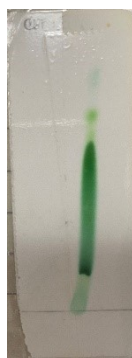
Obr. 33 Příklad TLC při čištění sloučeniny **12H2** (zachycování na silikagelu).



Obr. 34 Inkorporace zinečnatého kationtu do nasyntetizovaných struktur.

Příprava **13H2** probíhala cyklizací sloučeniny **9** a **2** dle stejného postupu jako v případě **12H2**. Izolovaná sloučenina **13H2** na NMR vykazovala hodně alifatických signálů (nečistoty), proto byla naadsorbována na silikagel a promyta hexanem. Ze sloupce se však nevymývaly nečistoty, proto byl sloupec ponechán vyschnout a následně byl promyt methanolem, kdy se ze sloupce již vymývaly nahnědlé nečistoty. Jelikož tento kongener stále nebyl dostatečně dočištěn (důvod neuvedení NMR zápisu), bylo rozhodnuto o převedení na zinečnatý komplex **13Zn**. Ani po převedení se nepodařilo sloučeninu úplně dočistit, a proto může být výtěžek reakce zkreslen, neboť je uveden výtěžek pouze čisté frakce.

Cyklizací sloučenin **10** a **2** jsme získali směs kongenerů, ze které jsme úspěšně separovali většinu symetrické sloučeniny. Čištění sloupcovou chromatografií bylo opět náročné, jelikož produkt **14H2** velmi chvostoval na silikagelu (Obr. 35), a proto se nám nepodařilo získat úplně čistý produkt (důvod neuvedení NMR zápisu). Po vzniku **14Zn** byl při přečišťování odstraněn zbytek symetrického AzaPc. Pro odstranění polárních nečistot byla provedena sloupcová chromatografie čistým methanolem. Z důvodu zachycování produktu na silikagelu může být tímto 32% výtěžek reakce ovlivněn.

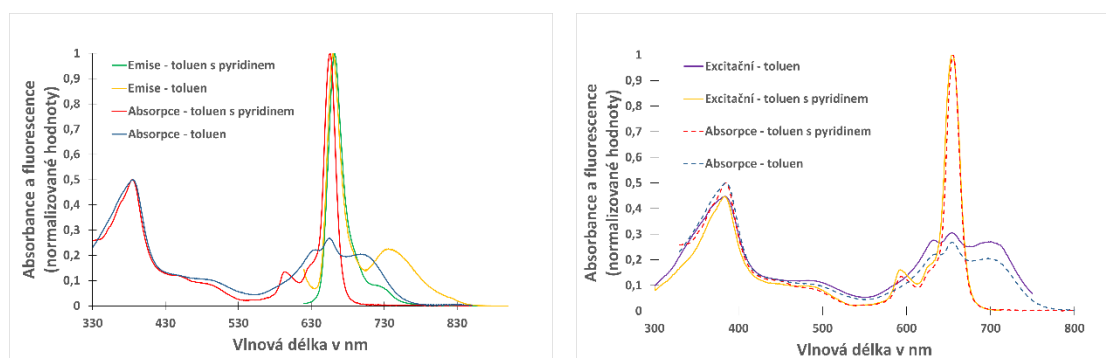


Obr. 35 Chvostování sloučeniny **14H2** na silikagelu.

AzaPc **15H2** byl připraven cyklizací sloučenin **5** a **2**. Po vyizolování požadovaného kongeneru bylo přistoupeno k inkorporaci zinečnatého kationtu, kdy po vzniku **15Zn** byla ponechána 68 mg frakce, která z časových důvodů nebyla dočištěna, proto je výtěžek reakce nižší.

6.2 Stanovení fotofyzikálních parametrů

U všech nasyntetizovaných sloučenin byla změřena absorpční a emisní spektra v monomerní (DMF, toluen s 1 % pyridinu) i agregované (toluen) formě (Obr. 36).



Obr. 36 Vlevo: Rozdíl v absorpčním a emisním spektru sloučeniny **12Zn** – *absorpční* a *emisní* spektrum monomeru, *absorpční* a *emisní* spektrum dimeru. Vpravo: Excitační spektra sloučeniny **12Zn** – *absorpční* spektrum monomeru, *absorpční* spektrum dimeru, *excitační* spektrum dimeru a *excitační* spektrum monomeru.

Ze spekter byla zjištěna absorpční i emisní maxima (Tabulka 1). U sloučeniny **13Zn** je patrný rozštěpený Q-pás i v monomerní formě (Obr. 37b), z důvodu nesymetrie makrocyclického jádra (3 isoindolové podjednotky a jedna pyrrolo[3,4-b]pyrazinová).

Tabulka 1 Fotofyzikální parametry připravených AzaPcs.

	DMF			Toluen			Toluen+1% pyridin		
	λ_A [nm]	$\log \epsilon$ [dm ³ ·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹]	λ_F [nm]	λ_A [nm]	$\log \epsilon$ [dm ³ ·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹]	λ_F [nm]	λ_A [nm]	$\log \epsilon$ [dm ³ ·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹]	λ_F [nm]
12Zn	655	5,36	662	656/701	4,75/4,64	660/ 741	656	5,37	662
13Zn	692/701	5,24/5,20	711	663/708 /758	4,69/4,59/ 4,58	712	696/ 706	5,23/5,20	714
14Zn	655	5,35	663	660/682	4,71/4,73	661/ 727	656	5,40	662
15Zn	660	5,24	669	662/694	5,00/4,62	669	661	5,24	669

Dalšími stanovovanými fotofyzikálními parametry byly kvantové výtěžky fluorescence a singletového kyslíku, které byly opět stanovovány v monomerní (DMF, toluen s 1 % pyridinu) i agregované (toluen) formě (Tabulka 2). Při porovnání získaných hodnot je zřejmé, že hodnoty kvantových výtěžků monomerních stavů (DMF, toluen s 1 %

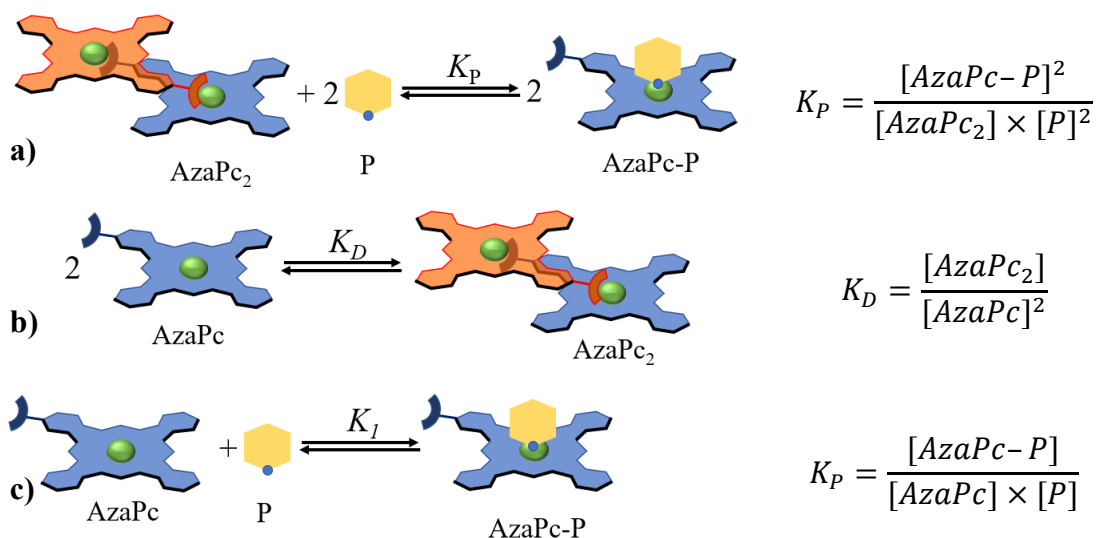
pyridinu) jsou téměř shodné. V agregovaných stavech (toluen) dochází k potlačení fluorescence a k zvýšení Φ_A pro sloučeniny **12Zn** a **14Zn**. U sloučeniny **13Zn**, která je kombinací 3 isoindolových podjednotek a jedné pyrrolo[3,4-b]pyrazinové dochází sice ke snížení Φ_F , ale Φ_A zůstává zachován. AzaPc **15Zn** vykázal v agregovaném stavu pouze mírný nárůst Φ_A při stejném Φ_F , protože látka téměř netvoří dimery.

Tabulka 2 Kvantové výtěžky singletového kyslíku a fluorescence

	Φ_A			Φ_F		
	DMF	TOL	TOL +1%Pyr	DMF	TOL	TOL +1%Pyr
12Zn	0,6134	0,9125	0,6633	0,2788	0,0390	0,3105
13Zn	0,6759	0,6059	0,7105	0,1245	0,0270	0,1489
14Zn	0,5923	0,8259	0,6257	0,3002	0,0701	0,3386
15Zn	0,6969	0,8080	0,7197	0,1631	0,1921	0,1782

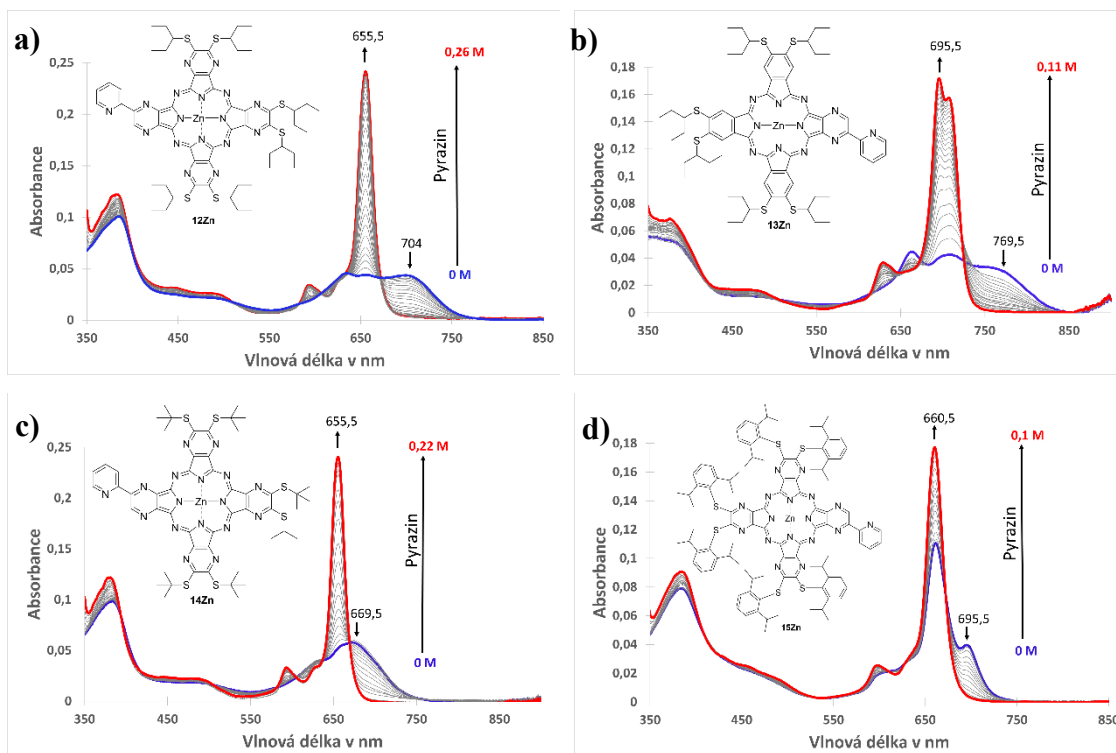
6.3 Hodnocení tvorby dimerů

Vlastnosti J-dimerů dobře popisuje série konstant, které jsou znázorněny a popsány níže. Konstanta K_P charakterizuje schopnost koordinujícího ligandu rozvolnit J-dimer (Rovnice 5a) a je v podstatě složená ze dvou individuálních konstant K_D a K_1 . Konstanta K_D popisuje ochotu sloučeniny tvořit dimer (Rovnice 5b). Konstanta K_1 popisuje sílu vazby koordinačního ligandu na monomerní AzaPc (Rovnice 5c) a měla by být totožná pro stejné makrocyclické jádro s tímž centrálním kationtem při vazbě konkrétního ligandu/analytu.

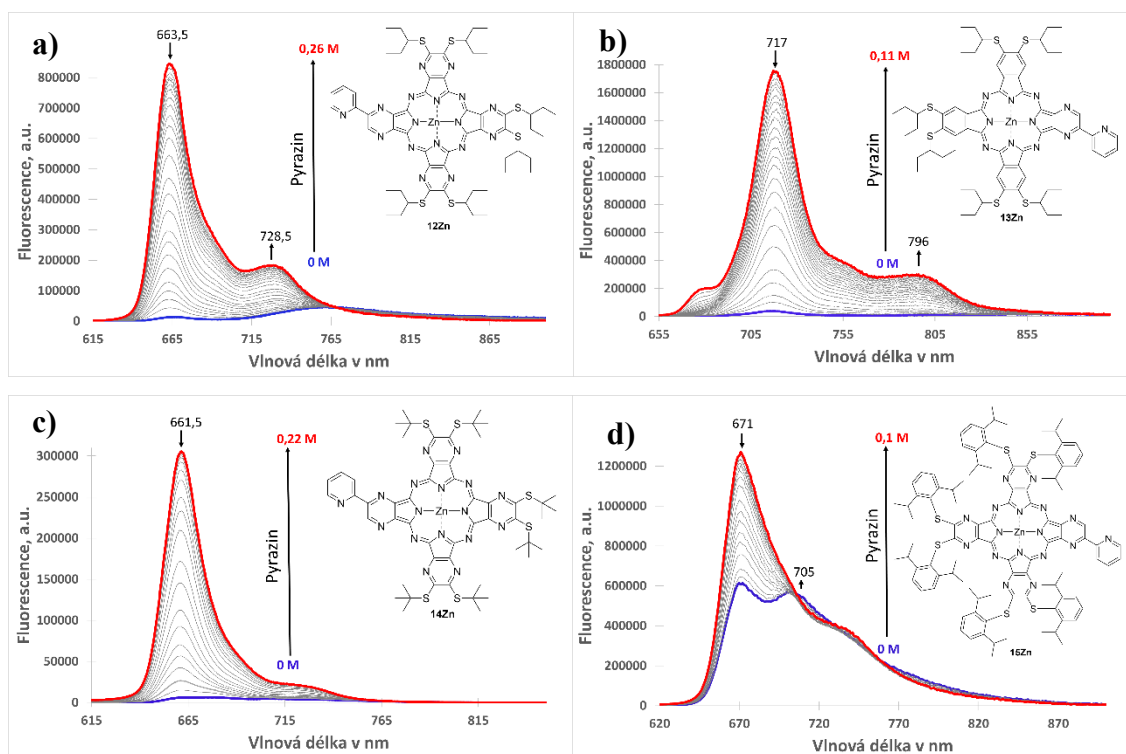


Rovnice 5 Rovnice pro výpočet a) rovnovážné monomerizační konstanty analytem (P), b) dimerizační konstanty, c) asociační konstanty.

Studium J-dimerů a jejich rovnovážných konstant bylo prováděno v toluenu, kdy byly roztoky AzaPcs v tomto nekoordinujícím rozpouštědle postupně titrovány roztokem pyrazinu. Pyrazin slouží jako koordinační sloučenina, která postupným přidávkem převádí sloučeninu z dimerního uspořádání na monomerní. Titrace pyrazinem byla provedena u všech nasyntetizovaných (Aza)Pcs, a to u **12Zn**, **13Zn**, **14Zn** a **15Zn**. Následně byla zkoumána jak absorpční spektra (Obr. 37) tak spektra emisní (Obr. 38).

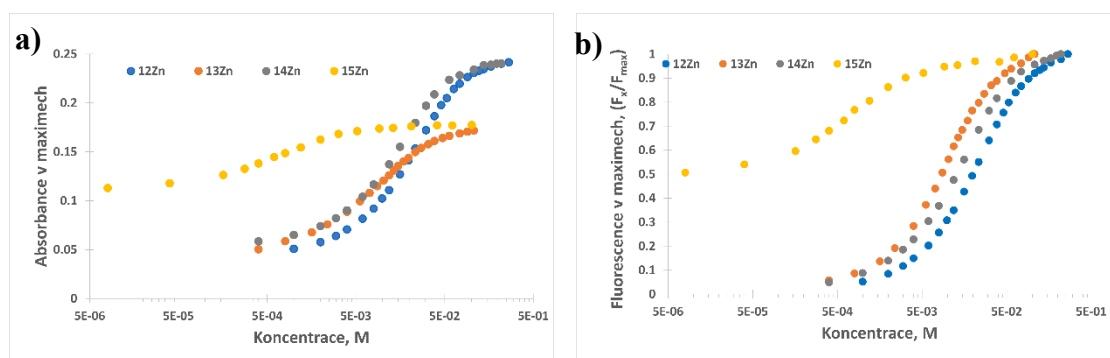


Obr. 37 Titrace 1 μM roztoku připravených AzaPcs v toluenu pomocí pyrazinu (změny v celém absorpčním spektru při přechodu z *J*-dimeru na *monomer*) a) 12Zn, b) 13Zn, c) 14Zn a d) 15Zn.



Obr. 38 Titrace 1 μM roztoku připravených AzaPcs v toluenu pomocí pyrazinu (změny v celém emisním spektru při přechodu z *J*-dimeru na *monomer*) a) 12Zn, b) 13Zn, c) 14Zn a d) 15Zn.

Ze spekter byla zjištěna absorpční maxima, pomocí kterých byla získána rovnovážná konstanta monomerizace pyrazinem (K_P) (z křivky nárůstu absorpce v absorpčním maximu v závislosti na koncentraci pyrazinu) (Obr. 39a). Z emisních spekter byla následně vytvořena křivka nárůstu fluorescence v závislosti na koncentraci pyrazinu v roztoku, ze které lze také vypočítat hodnotu K_P (Obr. 39b).



Obr. 39 a) Závislost A_{max} Q-pásu pro jednotlivé AzaPcs. b) Závislost intenzity fluorescence v emisním maximu monomerů jednotlivých AzaPcs na koncentraci pyrazinu.

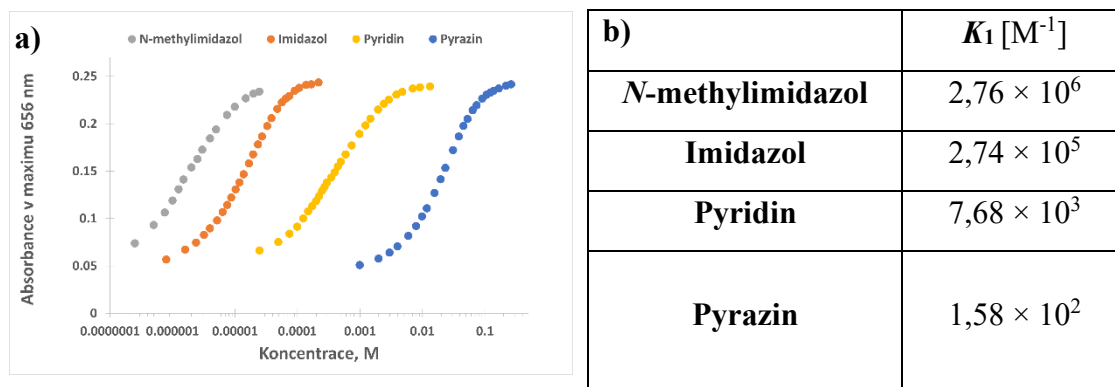
Konstanta K_P (Tabulka 3) byla vypočtena na základě matematických modelů, které vytvořil spolupracovník naší výzkumné skupiny RNDr. Jan Labuta, Ph.D. (Supermolecules Group, National Institute for Materials Science, Tsukuba, Japan). Sloučenina **15Zn** má kvůli objemným periferním substituentům slabší interakce mezi jednotlivými molekulami, což jde vidět na spektru v čistém toluenu, které je téměř monomerní (Obr. 37d). Tím byla potvrzena možnost zamezení agregace AzaPcs zavedením objemných skupin (diisopropylfenyl) na periférii.

Tabulka 3 Přehled vypočítaných rovnovážných konstant.

	K_P [M^{-1}]	K_I [M^{-1}]	K_D [M^{-1}]
12Zn	$2,33 \times 10^{-3}$	$1,85 \times 10^2$	$1,82 \times 10^7$
13Zn	$1,98 \times 10^{-2}$	$3,74 \times 10^2$	$7,07 \times 10^6$
14Zn	$5,63 \times 10^{-3}$	$2,63 \times 10^2$	$1,22 \times 10^7$
15Zn	Nelze určit z důvodu nedostatečné tvorby J-dimerů.		

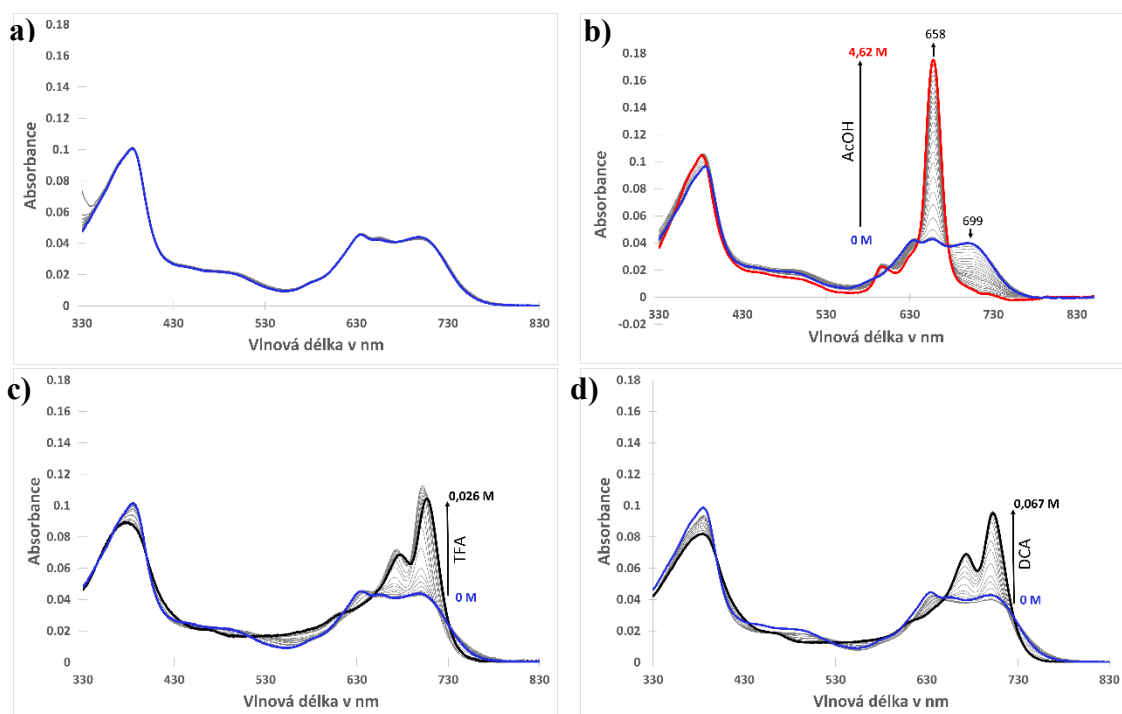
Jelikož sloučenina **12Zn** měla nejlepší předpoklady k tvorbě J-dimerů, a to i díky vhodným změnám v emisním spektru, tak u ní byly provedeny titrace více analyty, a to pyrazinem, 99% kyselinou octovou, směsí pyrazinu s kyselinou octovou, kyselinou trifluoroctovou (TFA, z angl. trifluoroacetic acid), kyselinou dichloroctovou, *N*-methylimidazolem, pyridinem a imidazolem. Při porovnání výsledků titrací koordinačními analyty (pyrazin, pyridin, imidazol, *N*-methylimidazol) bylo zjištěno,

že nejlépe se váže na centrální kationt AzaPc koordinační ligand *N*-methylimidazol (Obr. 40), který má tudíž nejvyšší K_1 .



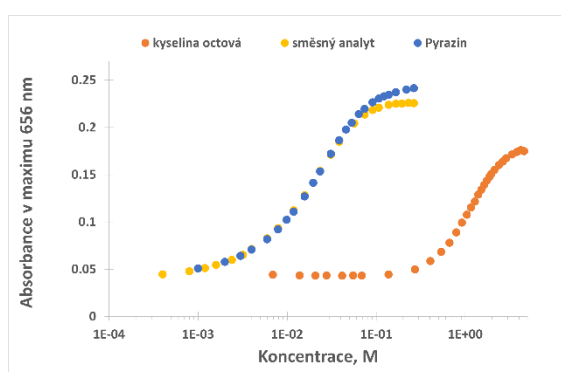
Obr. 40 a) porovnání A_{max} Q-pásu během titrací různými dusíkatými ligandy u sloučeniny **12Zn**. b) vypočítané hodnoty KP pro jednotlivé ligandy.

Zajímavé byly rovněž titrace AzaPc **12Zn** organickými kyselinami, kde byl předpoklad, že kyselina bude protonizovat bazický dusík na pyridylu a tím bránit v jeho vazbě na centrální kationt partnerské molekuly v J-dimeru. Bylo zjištěno, že kyselina benzoová do koncentrace 250 μ M (vyšší koncentrace nelze dosáhnout z důvodu její omezené rozpustnosti v toluenu) nedokáže protonizovat pyridyl a zabránit tvorbě J-dimerů (Obr. 41a). Titrace kyselinou octovou vedla k rozvolnění J-dimerů, a tudíž k protonizaci pyridylu (Obr. 41b). Nicméně do koncentrace 4,5 M nedošlo k plné monomerizaci, což naznačuje přítomnost malého absorpčního pásu okolo 690 nm. Kyseliny trifluoroctová a dichloroctová (Obr. 41c,d) nezpůsobovaly primárně protonizaci pouze dusíku pyridylu, ale současně docházelo k protonizaci azomethinového můstku makrocyclického skeletu, což se pozná dle nárůstu absorpčního pásu v oblasti okolo 700 nm [42]. Oba děje nebylo možné od sebe odlišit.



Obr. 41 Titrace $1 \mu\text{M}$ roztoku připravených AzaPcs v toluenu pomocí organických kyselin: **a)** kyselina benzoová, **b)** kyselina octová, **c)** kyselina trifluoroctová a **d)** kyselina dichloroctová.

Titrace AzaPc **12Zn** směsným roztokem pyrazinu s kyselinou octovou (oba analyty v koncentraci 1 M roztok) vedla ke zjištění, že zde má vliv pouze pyrazin, ale kyselina octová neovlivní rychlost rozvolnění J-dimeru (Obr. 42). Kyselina zde pouze nejspíše snižuje celkovou absorbanci na konci titrace.



Obr. 42 Titrace $1 \mu\text{M}$ AzaPc **12Zn** v toluenu pomocí směsného analytu (1 M pyrazin a 1 M AcOH).

7 Závěr

Má diplomová práce byla zaměřena na přípravu nesymetrických (Aza)Pcs s jedním pyridylem na periferii, který umožňoval tvorbu J-dimerů. První část této diplomové práce spočívala v syntéze jednotlivých prekurzorů. Tyto přípravy probíhaly relativně dobře, u některých sloučenin bylo zapotřebí upravit reakční podmínky. Následně byly nasyntetizovány nesymetrické zinečnaté (Aza)Pcs typu AAAB s pentan-3-ylsulfanylem, *tert*-butylsulfanylem, (2,6-diisopropylfenyl)sulfanylem jako periferními substituenty, u kterých byly studovány jejich fotofyzikální vlastnosti a schopnost tvořit agregáty, především J-dimery.

U všech sloučenin byly zjištěny fotofyzikální parametry proměřením jejich absorpčních a emisních spekter. Spektra byla proměřována vždy v nekoordinujícím rozpouštědle toluenu, ve kterém se měly sloučeniny chovat jako J-dimery a následně v koordinujících roztocích DMF a toluenu s 1% přídavkem pyridinu, ve kterých jsou sloučeniny monomerní. V toluenu byly kvantové výtěžky singletového kyslíku sloučenin **12Zn** a **14Zn** zvýšeny, zatímco kvantové výtěžky fluorescence poklesly. U sloučeniny **13Zn** nedošlo k rapidním změnám (pouze snížení fluorescence) a AzaPc **15Zn** J-dimery téměř netvořila z důvodu objemných periferních substituentů, proto došlo pouze k mírnému nárůstu produkce singletového kyslíku beze změn fluorescence.

Po studiích fotofyzikálních parametrů byly hodnoceny schopnosti tvorby J-dimerů. (Aza)Pcs rozpuštěné v toluenu byly postupně titrovány koordinačním analytem pyrazinem, který postupně sloučeninu monomerizoval. Vždy byla proměřena jak absorpční, tak emisní spektra. Z křivek nárůstu absorpce v absorpčním maximu v závislosti na koncentraci pyrazinu byly získány rovnovážné konstanty monomerizace pyrazinem. Jelikož sloučenina **15Zn** téměř netvořila J-dimery, nebylo možné u ní určit tuto konstantu. U sloučeniny **12Zn** bylo provedeno titrací více, a to různými koordinačními dusíkatými analyty, ale i různými organickými kyselinami. Nejlépe se na centrální kationt vázal ligand *N*-methylimidazol, který měl i nejvyšší asociační konstantu. Při titracích kyselinami dichlorooctovou a trifluorooctovou nedošlo k primární protonizaci dusíku pyridylu, ale azomethinového můstku makrocyklu, proto jejich absorpční spektra nemají typický Q-pás jako ostatní monomerní sloučeniny. Naopak kyselina octová protonizovala přednostně dusík pyridylu, čímž docházelo k rozvonění J-dimerů.

Výsledky zjištěné během této diplomové práce mohou v budoucnu pomoci výzkumné skupině prof. Zimčíka v návrhu periferních substituentů vhodných pro syntézu AzaPcs, které by tvořily J-dimery.

8 Seznam použité literatury

- [1] DE LA TORRE, Gema, Christian G. CLAESSENS a Tomás TORRES. Phthalocyanines: The Need for Selective Synthetic Approaches. *European Journal of Organic Chemistry*. 2000, **2000**(16), 2821–2830. ISSN 1434-193X.
- [2] ZIMCIK, Petr. Azaftalocyaniny – Od syntéz přes fotochemické a fotofyzikální vlastnosti k aplikacím. *Chemické listy* 106. 2012, 275–282.
- [3] DEROSA, Maria C a Robert J CRUTCHLEY. Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coordination Chemistry Reviews*. 2002, **233–234**, 351–371. ISSN 00108545.
- [4] DEMUTH, Jiri. *Studium azaftalocyaninů jako zhášeců fluorescence v oligodeoxynukleotidových sondách*. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. 2020
- [5] ZIMCIK, Petr, Veronika NOVAKOVA, Miroslav MILETIN a Kamil KOPECKY. Azaphthalocyanines Containing Pyrazine Rings with Focus on the Alkylheteroatom, Aryl and Heteroaryl Substitution and Properties Important in Photodynamic Therapy. *Macroheterocycles*. 2008, **1**(1), 21–29.
- [6] NOVAKOVA, Veronika, Petr ZIMCIK, Miroslav MILETIN, Lenka VACHOVA, Kamil KOPECKY, Kamil LANG, Pavel CHÁBERA a Tomáš POLÍVKA. Ultrafast intramolecular charge transfer in tetrapyrazinoporphyrazines controls the quantum yields of fluorescence and singlet oxygen. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2010, **12**(11), 2555. ISSN 1463-9076.
- [7] LANG, Kamil, Jiri MOSINGER a Dana Marie WAGNEROVA. Pokroky ve fotochemii singletového kyslíku. *Chemické Listy* 99. 2005, 211–221. ISSN 0009-2770.
- [8] MARRAS, Salvatore A. E. Interactive Fluorophore and Quencher Pairs for Labeling Fluorescent Nucleic Acid Hybridization Probes. *Molecular Biotechnology*. 2008, **38**(3), 247–255. ISSN 1073-6085.
- [9] AGOSTINIS, Patrizia, Kristian BERG, Keith A. CENGEL, Thomas H. FOSTER, Albert W. GIROTTI, Sandra O. GOLLNICK, Stephen M. HAHN, Michael R. HAMBLIN, Asta JUZENIENE, David KESSEL, Mladen KORBELIK, Johan MOAN, Pawel MROZ, Dominika NOWIS, Jacques PIETTE, Brian C. WILSON

- a Jakub GOLAB. Photodynamic therapy of cancer: An update. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2011, **61**(4), 250–281. ISSN 00079235.
- [10] KOSTKA, Miroslav, Petr ZIMCIK, Miroslav MILETIN, Petr KLEMERA, Kamil KOPECKY a Zbynek MUSIL. Comparison of aggregation properties and photodynamic activity of phthalocyanines and azaphthalocyanines. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2006, **178**(1), 16–25. ISSN 10106030.
- [11] NYOKONG, Tebello. Effects of substituents on the photochemical and photophysical properties of main group metal phthalocyanines. *Coordination Chemistry Reviews*. 2007, **251**(13–14), 1707–1722. ISSN 00108545.
- [12] TUHL, Ahmad, Saad MAKHSEED, Petr ZIMCIK, Nouria AL-AWADI, Veronika NOVAKOVA a Jacob SAMUEL. Heavy metal effects on physicochemical properties of non-aggregated azaphthalocyanine derivatives. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*. 2012, **16**(07n08), 817–825. ISSN 1088-4246.
- [13] KOLLAR, Jan, Miloslav MACHACEK, Marie HALASKOVA, Juraj LENCO, Radim KUCERA, Jiri DEMUTH, Monika ROHLICKOVA, Katerina HASONOVA, Miroslav MILETIN, Veronika NOVAKOVA a Petr ZIMCIK. Cationic Versus Anionic Phthalocyanines for Photodynamic Therapy: What a Difference the Charge Makes. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2020, **63**(14), 7616–7632. ISSN 0022-2623.
- [14] LAKOWICZ, Joseph R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy, Third Edition*. B.m.: Springer, 2006. ISBN 978-0387-31278-1.
- [15] MARRAS, Salvatore A. E. Interactive Fluorophore and Quencher Pairs for Labeling Fluorescent Nucleic Acid Hybridization Probes. *Molecular Biotechnology*. 2008, **38**(3), 247–255. ISSN 1073-6085.
- [16] EL-KHOULY, Mohamed E., Osamu ITO, Phillip M. SMITH a Francis D'SOUZA. Intermolecular and supramolecular photoinduced electron transfer processes of fullerene–porphyrin/phthalocyanine systems. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. 2004, **5**(1), 79–104. ISSN 13895567.

- [17] LOCHMAN, Lukas. *Studium rozpoznávacích částí senzorických azaftalocyaninů*. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. 2017
- [18] NOVAKOVA, Veronika, Maria Pia DONZELLO, Claudio ERCOLANI, Petr ZIMCIK a Pavel A. STUZHIN. Tetrapyrazinoporphyrazines and their metal derivatives. Part II: Electronic structure, electrochemical, spectral, photophysical and other application related properties. *Coordination Chemistry Reviews*. 2018, **361**, 1–73. ISSN 00108545.
- [19] ZIMCIK, Petr, Miroslav MILETIN, Jan PONEC, Miroslav KOSTKA a Zdenek FIEDLER. Synthesis and studies on photodynamic activity of new water-soluble azaphthalocyanines. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2003, **155**(1–3), 127–131. ISSN 10106030.
- [20] WÖHRLE, Dieter, Günter SCHNURPFEIL, Sergey G. MAKAROV, Alexander KAZARIN a Olga N. SUVOROVA. Practical Applications of Phthalocyanines – from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices. *Macroheterocycles*. 2012, **5**(3), 191–202. ISSN 19989539.
- [21] MILETIN, Miroslav, Petr ZIMCIK a Veronika NOVAKOVA. Photodynamic properties of aza-analogues of phthalocyanines. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2018, **17**(11), 1749–1766. ISSN 1474-905X.
- [22] NOVAKOVA, Veronika, Lukáš LOCHMAN, Ivana ZAJÍCOVÁ, Kamil KOPECKY, Miroslav MILETIN, Kamil LANG, Kaplan KIRAKCI a Petr ZIMCIK. Azaphthalocyanines: Red Fluorescent Probes for Cations. *Chemistry - A European Journal*. 2013, **19**(16), 5025–5028. ISSN 09476539.
- [23] KANTOR, Michal. *Syntéza a hodnotenie zhášačov fluorescencie zo skupiny azaftalocyaninů*. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. 2020
- [24] KOPECKY, Kamil, Veronika NOVAKOVA, Miroslav MILETIN, Lucie PLISTILOVA, Pavel BERKA a Petr ZIMCIK. Synthesis and Properties of Azaphthalocyanines with 1,2,3,4-Tetrahydropyrazino[2,3-b]pyrazine Moiety. *Macroheterocycles*. 2011, 171–176. ISSN 1998-9539.

- [25] NOVAKOVA, Veronika, Petr ZIMCIK, Kamil KOPECKY, Miroslav MILETIN, Jiri KUNES a Kamil LANGL. Self-Assembled Azaphthalocyanine Dimers with Higher Fluorescence and Singlet Oxygen Quantum Yields than the Corresponding Monomers. *European Journal of Organic Chemistry*. 2008, **2008**(19), 3260–3263. ISSN 1434193X.
- [26] DEMUTH, Jiri, Radim KUCERA, Kamil KOPECKY, Zuzana HAVLÍNOVÁ, Antonín LIBRA, Veronika NOVAKOVA, Miroslav MILETIN a Petr ZIMCIK. 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. *Chemistry - A European Journal*. 2018, **24**(38), 9658–9666. ISSN 09476539.
- [27] GADDE, Suresh, Elizabeth K. BATCHELOR, Joshua P. WEISS, Yonghua LING a Angel E. KAIFER. Control of H- and J-Aggregate Formation via Host–Guest Complexation using Cucurbituril Hosts. *Journal of the American Chemical Society*. 2008, **130**(50), 17114–17119. ISSN 0002-7863.
- [28] HRABALEK, Alexandr. *Laboratorní cvičení z organické chemie pro farmaceuty*. B.m.: Karolinum, 2016. ISBN 978-80-246-3417-3.
- [29] SAMPLE, Harry C. a Mathias O. SENGE. Nucleophilic Aromatic Substitution ($S_N Ar$) and Related Reactions of Porphyrinoids: Mechanistic and Regiochemical Aspects. *European Journal of Organic Chemistry*. 2021, **2021**(1), 7–42. ISSN 1434-193X.
- [30] VACHOVA, Lenka, Miloslav MACHACEK, Radim KUČERA, Jiri DEMUTH, Pavel CERMAK, Kamil KOPECKY, Miroslav MILETIN, Adela JEDLICKOVA, Tomas SIMUNEK, Veronika NOVAKOVA a Petr ZIMCIK. Heteroatom-substituted tetra(3,4-pyrido)porphyrazines: a stride toward near-infrared-absorbing macrocycles. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2015, **13**(20), 5608–5612. ISSN 1477-0520.
- [31] KOPECKY, Kamil, Petr ZIMCIK, Veronika NOVAKOVA, Miroslav MILETIN, Zbynek MUSIL a Jana STRIBNA. The synthesis and characterization of metal-free, unsymmetrical azaphthalocyanines with hydroxy groups and their complex

- formation with pyridine. *Dyes and Pigments*. 2008, **78**(3), 231–238. ISSN 01437208.
- [32] LI, Buhong, Lisheng LIN, Huiyun LIN a Brian C. WILSON. Photosensitized singlet oxygen generation and detection: Recent advances and future perspectives in cancer photodynamic therapy. *Journal of Biophotonics*. 2016, **9**(11–12), 1314–1325. ISSN 1864063X.
- [33] MAKHSEED, Saad, Ahmad TUHL, Jacob SAMUEL, Petr ZIMCIK, Nouria AL-AWADI a Veronika NOVAKOVA. New highly soluble phenoxy-substituted phthalocyanine and azaphthalocyanine derivatives: Synthesis, photochemical and photophysical studies and atypical aggregation behavior. *Dyes and Pigments*. 2012, **95**(2), 351–357. ISSN 01437208.
- [34] LIU, Ting, Xiyu ZHANG, Honglin ZHANG, Hua ZHAO, Zhiguo ZHANG a Ye TIAN. Method for monitoring singlet oxygen quantum yield in real time by time resolved spectroscopy measurement. *Optics Express*. 2020, **28**(18), 25757. ISSN 1094-4087.
- [35] NAWARA, Krzysztof a Jacek WALUK. Improved Method of Fluorescence Quantum Yield Determination. *Analytical Chemistry*. 2017, **89**(17), 8650–8655. ISSN 0003-2700.
- [36] NOVAKOVA, Veronika, Petr HLADIK, Tereza FILANDROVA, Ivana ZAJICOVA, Veronika KREPSOVA, Miroslav MILETIN, Juraj LENCO a Petr ZIMCIK. Structural factors influencing the intramolecular charge transfer and photoinduced electron transfer in tetrapyrazinoporphyrazines. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2014, **16**(11), 5440. ISSN 1463-9076.
- [37] NOVAKOVA, Veronika, Petr ZIMCIK, Miroslav MILETIN, Petr VUJTECH a Sarka FRANZOVA. The synthesis, photochemical and photophysical properties of zinc aryloxy- and alkyloxy azaphthalocyanines. *Dyes and Pigments*. 2010, **87**(2), 173–179. ISSN 01437208.
- [38] NOVAKOVA, Veronika, Miroslav MILETIN, Tereza FILANDROVA, Juraj LENCO, Ales RUZICKA a Petr ZIMCIK. Role of Steric Hindrance in the Newman-Kwart Rearrangement and in the Synthesis and Photophysical Properties

- of Arylsulfanyl Tetrapyrazinoporphyrazines. *The Journal of Organic Chemistry*. 2014, **79**(5), 2082–2093. ISSN 0022-3263.
- [39] WILLEMSSEN, Jorgen S., Rik P. MEGENS, Gerard ROELFES, Jan C. M. VAN HEST a Floris P. J. T. RUTJES. A One-Pot Oxidation/Enantioselective Oxa-Michael Cascade. *European Journal of Organic Chemistry*. 2014, **2014**(14), 2892–2898. ISSN 1434193X.
- [40] LIU, Cong, Rongji DAI, Guowei YAO a Yulin DENG. Synthesis of 2-aryl-(4 or 5)-aryl-1H-imidazoles and 2-hydroxy-3,6-diarylpyrazines via a cascade process. *Arkivoc*. 2014, **2014**(4), 146–163. ISSN 1551-7012.
- [41] MØRKVED, Eva H., Hege OSSLETTEN, Helge KJØSEN a Olav BJØRLO. Syntheses of Octa(2-heteroaryl) Azaphthalocyanines. *Journal für praktische Chemie*. 2000, **342**(1), 83–86. ISSN 1436-9966.
- [42] KOLAROVA, Michaela, Anita MULAKU, Miroslav MILETIN, Veronika NOVAKOVA a Petr ZIMCIK. Magnesium Phthalocyanines and Tetrapyrazinoporphyrazines: The Influence of a Solvent and a Delivery System on a Dissociation of Central Metal in Acidic Media. *Pharmaceuticals*. 2022, **15**(4), 409. ISSN 1424-8247.