

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOFYZIKY A FYZIKÁLNÍ CHEMIE



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vliv objemnosti neperiferně vázaných substituentů ftalocyaninů
na jejich absorpční a fotofyzikální vlastnosti



Hradec Králové, 2015

Zuzana Paušimová

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

V Hradci Králové, 5.5.2015

.....

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí diplomové práce doc. PharmDr. Veronice Novákové Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, rady a čas, který mi věnovala. Mé poděkování patří také Mgr. Antonínu Cidlinovi za syntézu ostatních látek v sérii a změření kvantových výtěžků produkce singletového kyslíku. Za ochotu a příjemnou atmosféru při vypracovávání diplomové práce bych ráda poděkovala celému kolektivu laboratoře AzaPc. Diplomová práce byla finančně podporovaná projektem Specifického vysokoškolského výzkumu SVV 260 183.

Obsah

1 ABSTRAKT	6
2 ABSTRACT	7
3 SEZNAM ZKRATEK	8
4 CÍL PRÁCE	9
5 TEORETICKÁ ČÁST	11
5.1 Luminiscence	11
5.2 Jablonského diagram	12
5.2.1 Nezářivé přechody	13
5.2.2 Zářivé přechody	13
5.3 Zákon zrcadlové symetrie	14
5.4 Stokesův zákon	14
5.5 Fluorofory	15
5.5.1 Vnitřní fluorofory	15
5.5.2 Vnější fluorofory	16
5.6 Veličiny charakterizující fluorescenci	18
5.7 Využití fluorescence	19
6 METODICKÁ ČÁST	21
6.1 Chemická struktura ftalocyaninů	21
6.2 Cyklotetramerizace	21
6.2.1 Cyklotetramerizace s využitím templátového efektu kationtu kovu ...	24
6.2.2 Cyklotetramerizace s využitím alkoholátů alifatických alkoholů	27
7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
7.1 Použité chemikálie a přístroje	29
7.2 Schéma prováděných reakcí	30
7.3 Příprava 2,3-dikyan-1,4-fenylen bis(4-methylbenzensulfonátu) (1)	31
7.4 Příprava adamantan-1-thiolu (b)	32
7.5 Příprava 3,6-bis(fenylsulfanyl)ftalonitrilu (2a)	33
7.6 Příprava 3,6-bis(adamant-1-ylsulfanyl)ftalonitrilu (2b)	34
7.7 Příprava 3,6-bis(2,6-dimethylfenylsulfanyl)ftalonitrilu (2c)	35
7.8 Příprava hořečnatého komplexu (3a)	38
7.9 Příprava hořečnatého komplexu (3c)	39
7.10 Příprava bezkovového derivátu (4a)	40
7.11 Příprava bezkovového derivátu (4b)	41
7.12 Příprava bezkovového derivátu (4c)	42
7.13 Příprava zinečnatého komplexu (5a)	44

7.14 Příprava zinečnatého komplexu (5c)	45
7.15 Příprava vzorků na měření fotofyzikálních a absorpčních vlastností	46
7.16 Měření extenčních koeficientů	47
8 VÝSLEDKY A DISKUZE	48
9 ZÁVĚR	57
10 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	58

1 ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra **Katedra biofyziky a fyzikální chemie**

Student **Zuzana Paušimová**

Školitel **doc. PharmDr. Veronika Nováková Ph.D.**

Název diplomové práce **Vliv objemnosti neperiferně vázaných substituentů ftalocyaninů na jejich absorpční a fotofyzikální vlastnosti**

Ftalocyaniny jsou planární makrocyclické sloučeniny, které díky rozsáhlému systému konjugovaných dvojných vazeb absorbují světlo v oblasti nad 670 nm. Na pozici jejich absorpčního pásu má vliv především periferní substituce. Pro biologické aplikace je výhodná absorpce při delších vlnových délkách, jelikož při kratších vlnových délkách absorbují i endogenní chromofory. Bylo zjištěno, že požadovaný červený posun je mnohem výraznější u neperiferně substituovaných ftalocyaninů. Nicméně v poslední době se ukázalo, že přítomnost objemných neperiferně vázaných substituentů způsobuje posun absorpčního maxima zpět ke kratším vlnovým délkám.

Pro objasnění tohoto jevu byla připravena série ftalocyaninů s různě objemnými neperiferně vázanými (alkyl- nebo arylsulfanyl) substituenty. Nejprve byly pomocí nukleofilní substituce připraveny vhodné prekurzory, které následně poskytly ftalocyaniny cyklotetramerizační reakcí za použití alkoholátu jako iniciátoru reakce. U finálních zinečnatých komplexů ftalocyaninů byly dále zkoumány jejich absorpční a fotofyzikální vlastnosti pro vysvětlení nečekaného posunu v absorpčním spektru.

2 ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department **Department od Biophysics and Physical Chemistry**

Student **Zuzana Paušimová**

Supervisor **doc. PharmDr. Veronika Nováková Ph.D.**

Title of thesis **The Effect of Bulkiness of Non-peripheral Substituents of Phthalocyanines on their Absorption and Photophysical Properties**

Phthalocyanines are planar macrocyclic compounds which absorb the light over 670 nm due to their large system of conjugated double bonds. Peripheral substitution of phthalocyanines significantly affects the position of the main absorption band. Absorption at longer wavelengths is highly advantageous in any biological applications because such light does not interfere with endogenous chromophores. It was discovered that the desired red-shift of absorption band is much more pronounced at non-peripherally substituted phthalocyanines. However, it was recently found out that the presence of bulky non-peripheral substituent shifts significantly absorption maximum back to lower wavelengths.

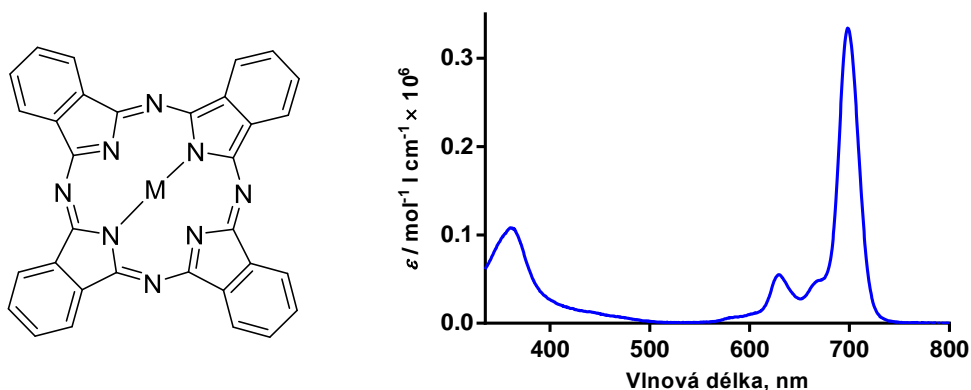
The aim of this study was to explain this phenomenon more in detail. For this purpose, a series of phthalocyanines bearing non-peripheral (alkyl- or arylsulphonyl) substituents of different bulkiness was prepared. Syntheses included nucleophilic substitution leading to appropriate precursors, followed by cyclotetramerization with alcoxide as the initiator of the reaction. The final zinc phthalocyanines were further studied from the absorption and photophysical point of view.

3 SEZNAM ZKRATEK

DAPI	4',6-diamidin-2-fenylindol
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DMSO	dimethylsulfoxid
FITC	fluorescein-5-isothiokyanát
IČ	infračervené spektrum
MS	hmotnostní spektrometrie (Mass spectrometry)
NMR	nukleární magnetická rezonance
Pc	ftalocyanin (phthalocyanine)
R _f	retenční faktor
r.t.	pokožová teplota (room temperature)
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstvá chromatografie (Thin layer chromatography)
TOL	toluen
TRITC	tetramethylrhodamin-5-isothiokyanát
T.t.	teplota tání

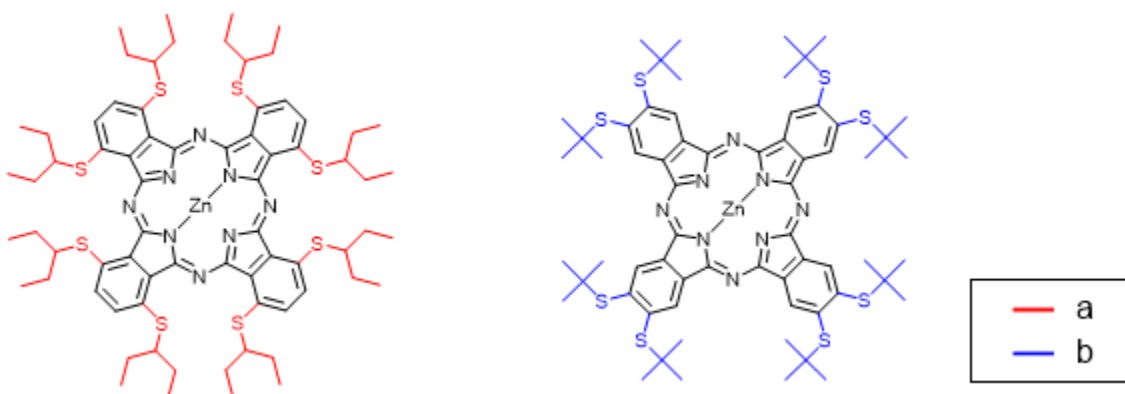
4 CÍL PRÁCE

Ftalocyaniny (Pc) jsou planární makrocyclické látky s rozsáhlým systémem konjugovaných dvojných vazeb, díky kterým se jejich hlavní absorpční pás nachází v oblasti nad 670 nm. (viz Obrázek č. 1) Svoje uplatnění nachází mezi barvivy, v LCD, laserových tiskárnách, solárních článcích nebo v oblasti fotodynamické protinádorové terapie. (1)



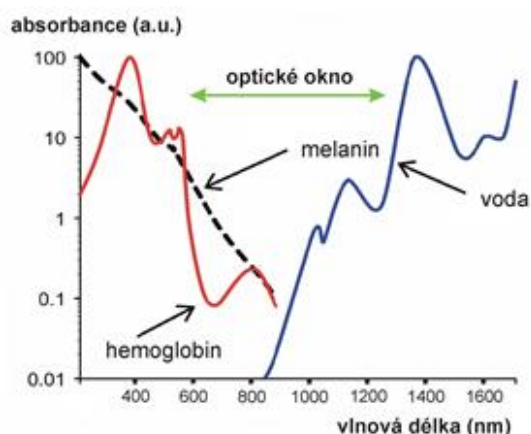
Obrázek č. 1: Základní skelet Pc makrocyclu a typický absorpční pás Pc

Již dříve bylo zjištěno, že substituce výrazně ovlivňuje vlastnosti Pc, zejména jejich posun v absorpčním spektru, dále pak fotofyzikální parametry jako kvantový výtěžek fluorescence a produkci singletového kyslíku. Pc můžeme substituovat buď v neperiferních (a) nebo periferních (b) polohách. (viz Obrázek č. 2) (2)



Obrázek č. 2: Příklad neperiferně (a) a periferně (b) substituovaného Pc

Pro využití v biologické oblasti je důležitý posun zejména k delším vlnovým délkám, kterého dosahujeme po substituci v neperiferních polohách. Tento posun je žádoucí, protože v oblasti vlnových délek pod 650 nm absorbují i endogenní chromofory a naopak nad 800 nm absorbuje voda. Mezi nimi je v rozmezí od 650 nm do přibližně 900 nm tzv. optické okno (viz Obrázek č. 3), které je důležité pro fotodynamickou terapii z toho důvodu, že fotosenzitizéry absorbující v této oblasti mají možnost absorbovat více světla a vykazovat tak větší fotodynamický účinek. (3)



Obrázek č. 3: Optické okno

Kvůli svému rozsáhlému systému konjugovaných dvojných vazeb Pc s oblibou tvoří agregáty, které obvykle ztrácejí výhodné fotofyzikální vlastnosti. Proto byla předchozí snaha vytvořit komplexy s objemnými neperiferními substituenty, které inhibují agregaci látek. Zklamáním ale bylo, když se zjistilo, že došlo k posunu ke kratším vlnovým délkám. (4)

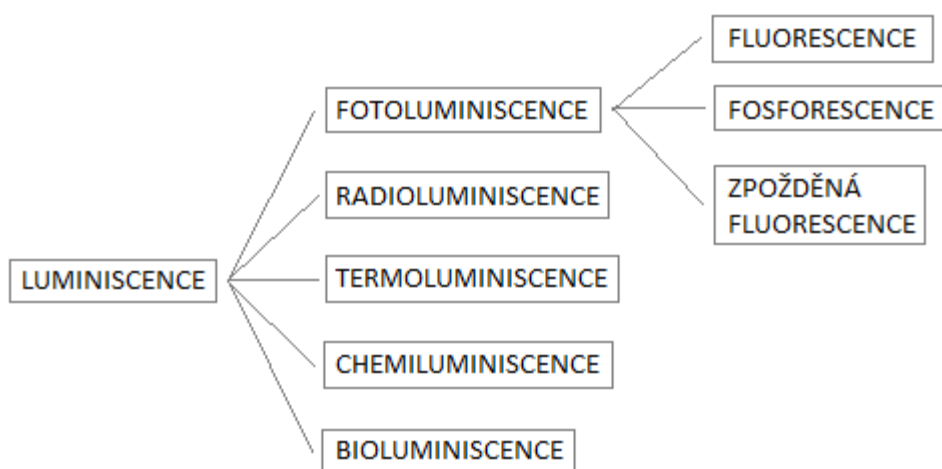
Cílem mojí diplomové práce proto bylo rozšířit předchozí sérii zinečnatých Pc s různě objemnými neperiferními substituenty a prozkoumat jejich absorpční a fotofyzikální vlastnosti. Ze získaných výsledků bude pak možné vyvodit vztahy mezi strukturou Pc a finálními vlastnostmi, především pak vliv na posun hlavního absorpčního pásu po zavedení objemného substituentu do neperiferních poloh. Závěry mé diplomové práce bude možno použít pro návrh struktur nových Pc určených pro fotodynamickou terapii. Součástí této diplomové práce bude i literární rešerše zabývající se fotoluminiscencí s konkrétním zaměřením na fluorescenci.

5 TEORETICKÁ ČÁST

5.1 Luminiscence

Fluorescence je řazena mezi luminiscenční záření, které je vyvoláno účinkem jiného dopadajícího záření nebo jiných částic. (5) Jedná se o emisi světla z nějaké látky a nastává z elektronových excitovaných stavů, kdy emitované světlo má delší vlnovou délku než světlo nutné k excitaci. (6) (7) Luminiscence se odlišuje od rovnovážného tepelného záření, a proto se též někdy nazývá studeným zářením. Základním odlišujícím znakem je délka dohasínání. (8)

Luminiscenci dělíme na fotoluminiscenci, radioluminiscenci, termoluminiscenci, chemiluminiscenci a dále například bioluminiscenci. (6) (9) Chemiluminiscence je podmíněna chemickou reakcí. Pokud je energie získaná biochemickými pochody, potom se jedná o bioluminiscenci. (5) Fotoluminiscenci rozumíme fluorescenci, fosforescenci a zpožděnou fluorescenci. (6) (viz Obrázek č. 4)



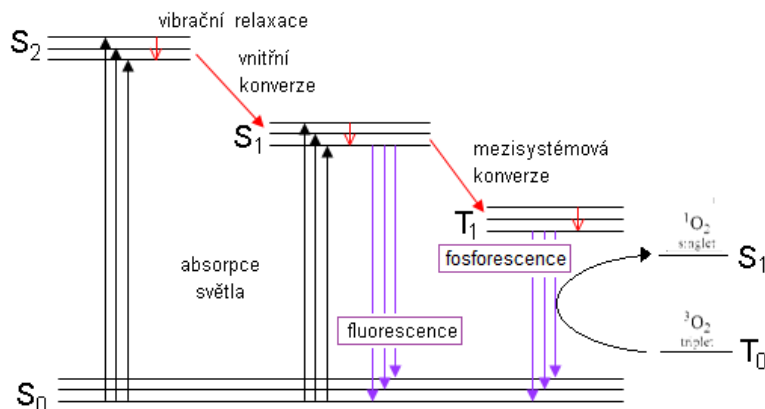
Obrázek č. 4: Dělení luminiscence

5.2 Jablonského diagram

Grafické znázornění dějů probíhajících po absorpci světla molekulou je zřetelné z Jablonského diagramu na Obrázku č. 5, který ukazuje, v jakých energetických stavech se molekula nachází a taktéž znázorňuje možné přechody mezi nimi. (6) Před absorpcí světelného kvanta se molekula nachází v základním energetickém stavu S_0 . Po absorpci záření dochází k excitaci a elektrony přechází ze základního singletového stavu S_0 do excitovaných singletových stavů S_1 , S_2 a vyšších, následně pak může přejít do tripletových stavů T_1 , T_2 ... (7) Z těchto excitovaných singletových a tripletových stavů se molekula rychle navrácí zpět do základního stavu. Přechod mezi těmito stavy je vyznačen na Obrázku č. 5 svislými šipkami pro naznačení okamžitého charakteru světelné absorpce. (10)

K relaxaci molekuly může obecně docházet buď zářivými přechody (na Obrázku č. 5 znázorněno fialově) nebo nezářivými přechody (na Obrázku č. 5 znázorněno červeně). (7)

Platí pravidlo, že čím více energie se vyzáří cestou produkce singletového kyslíku, tím méně se vyzáří formou fluorescence. Podle tzv. „pravidla těžkého atomu“ (v angl. heavy atom effect) platí, že zavedení atomu s vyšší molekulovou hmotností do sloučeniny upřednostní přechod molekuly do tripletového stavu a tím i zajistí vyšší produkci singletového kyslíku na úkor ostatních dějů vycházejících z excitovaných singletových stavů (např. fluorescence). (11) Příkladem mohou být práce studující tento efekt na strukturách Pc a jejich aza-analogů. (12) (13)



Obrázek č. 5: Modifikovaný Jablonského diagram (převzato a upraveno z (7))

5.2.1 Nezářivé přechody

Nezářivé přechody zahrnují vnitřní konverzi, což je přechod mezi dvěma stavy o téže multiplicitě (např. mezi S_2 a S_1) a dále mezisystémovou konverzi, tedy přechod mezi dvěma elektronovými stavy o rozdílné multiplicitě (např. mezi singletovým a tripletovým stavem). Posledním nezářivým přechodem je vibrační relaxace, která je mezimolekulovým pochodem, při kterém je nadbytek vibrační energie rozptýlován na okolní molekuly (tzn. jedná se o přechod mezi hladinami jednoho singletového nebo jednoho tripletového stavu). (8)

5.2.2 Zářivé přechody

Zářivé přechody se projevují jako fluorescence, fosforescence a zpožděná fluorescence. (14)

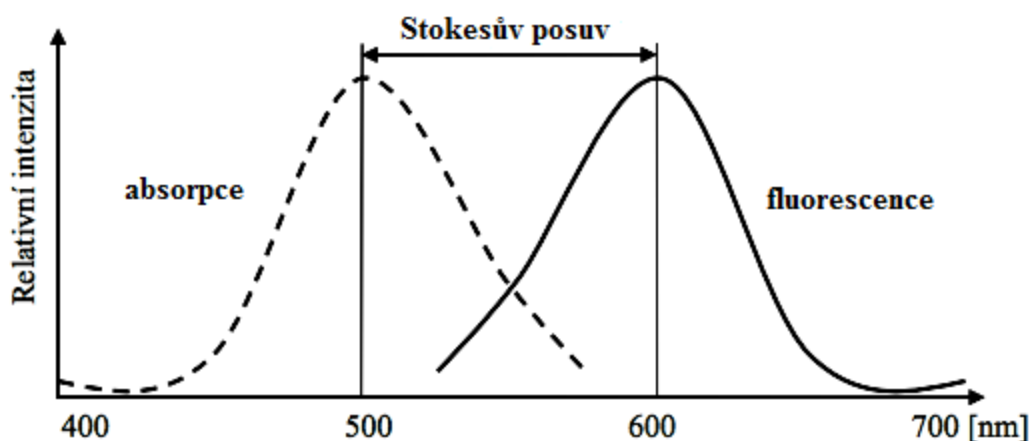
Fluorescenci pozorujeme, pokud nastane emise záření z excitovaného elektronového stavu jedním či více spontánními energetickými přechody. Platí, že emise fotonů nastává vždy z nejnižší hladiny excitovaného singletového stavu. Prakticky fluorescenci pozorujeme během excitace a po přechodu zpět na základní elektronovou hladinu téměř ihned mizí (doba dohasínání je řádově 10^{-8} s). (7) U fluorescence je záření emitováno atomem, jenž energii pohltí, je to tedy cyklický děj, kdy tentýž fluorofor může být opakovaně excitován a může tedy i opakovaně emitovat fluorescenční záření. Díky tomu mají fluorescenční techniky vysokou citlivost. (5)

Upřednostňuje-li se v procesech metastabilní hladina, potom se jedná o fosforescenci, která má delší dobu dohasínání než fluorescence ($\gg 10^{-8}$ s) a obvykle ji nelze pozorovat v roztocích při pokojové teplotě. (7) Nejčastěji se jedná o zářivý přechod z nejnižšího tripletového excitovaného stavu do základního singletového stavu. (8) V případě fosforescence je emitované záření vyzařované z jiného atomu, než který energii pohltí. (5)

Zpožděná fluorescence je zářivý přechod ze stejného singletového stavu (S_1) jako při fluorescenci, ale dochází k delší době dohasínání dané časem, po který je molekula v metastabilním tripletovém stavu. (7) Doba dohasínání zpožděné fluorescence je tedy řádově rovna době dohasínání fosforescence. (8)

5.3 Zákon zrcadlové symetrie

Absorpční a fluorescenční spektrum molekuly se liší podle tzv. **zákona zrcadlové symetrie**. Tento fakt je způsoben tím, že absorpce i emise z odpovídajících si vibračních hladin mají stejnou relativní pravděpodobnost. V obou procesech molekula získává stejný přírůstek vibrační energie a potom maxima v absorpčním a emisním pásu odpovídají nejpravděpodobnější hodnotě přírůstku vibrační energie. Tento rozdíl energií mezi maximy absorpčního a emisního spektra se nazývá Stokesův posuv. (viz Obrázek č. 6) (7) (8)



Obrázek č. 6: Stokesův posuv (převzato a upraveno z (15))

5.4 Stokesův zákon

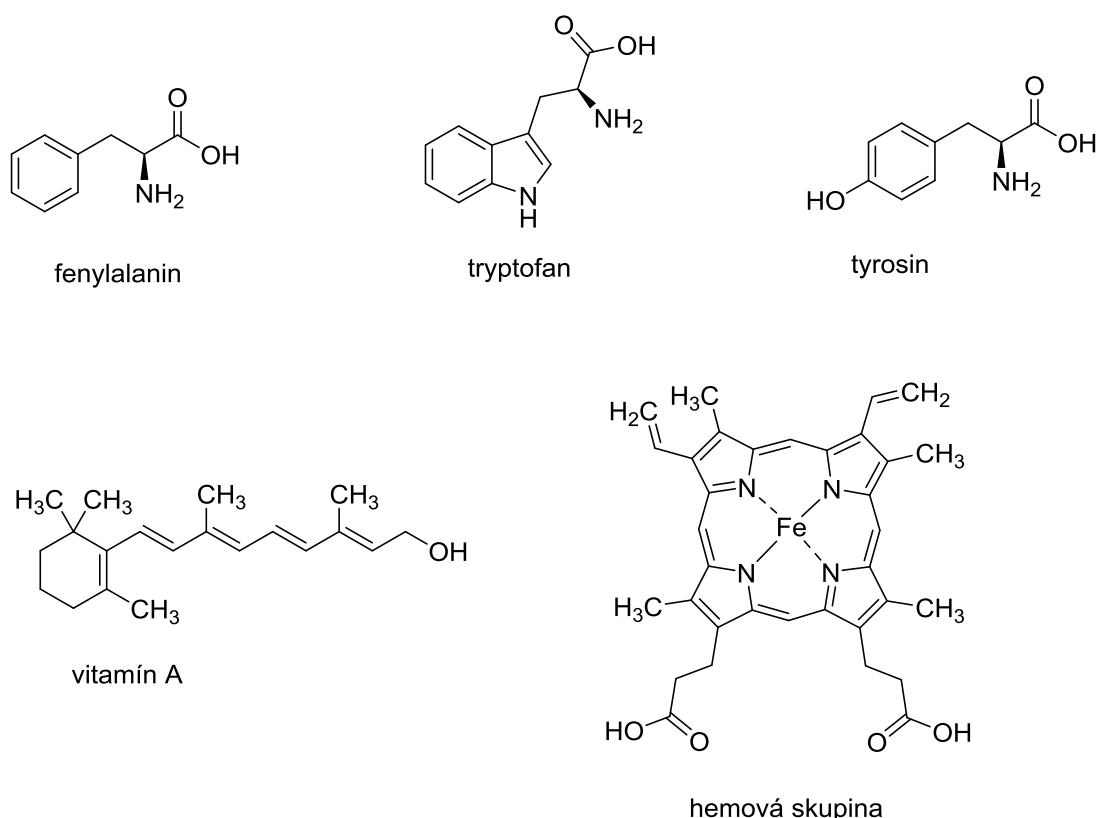
V roce 1852 byl formulován Stokesův zákon, který říká, že vlnová délka luminiscenční emise při fotoluminiscenci je buď větší nebo rovna vlnové délce excitujícího světla. Je to způsobeno částečnou ztrátou energie fotonů při přechodu z vyšších vibračních hladin excitovaného stavu na nejnižší hladinu tohoto S_1 stavu. Tento fakt je mimo jiné vyjádřením zákona o zachování energie při luminiscenci. (8) Výsledkem je pak viditelný posun mezi absorpčním a emisním maximem, jak je naznačeno na Obrázku č. 6.

5.5 Fluorofory

Intenzivní fluorescenci vykazují některé aromatické molekuly, které nazýváme fluorofory nebo fluorescenční barviva. (10) Tato organická barviva, pigmenty a fluoreskující molekuly jsou zpravidla komplexní polyatomické sloučeniny, které obsahují konjugované systémy dvojných vazeb a často i heteroatomy. (8) Fluorofory se dělí na vnitřní (vlastní, intrinsic) a vnější (nevlastní, extrinsic). (5)

5.5.1 Vnitřní fluorofory

Vnitřní fluorescence je dána přítomností vlastních fluoroforů v buňce. Patří sem proteiny (hlavně aromatické aminokyseliny – fenylalanin, tryptofan, tyrosin), dále vitamín A, cytochromy, peroxidáza, hemoglobin, myoglobin nebo chlorofyl. (viz Obrázek č. 7) (5)



Obrázek č. 7: Struktury vybraných vnitřních fluoroforů

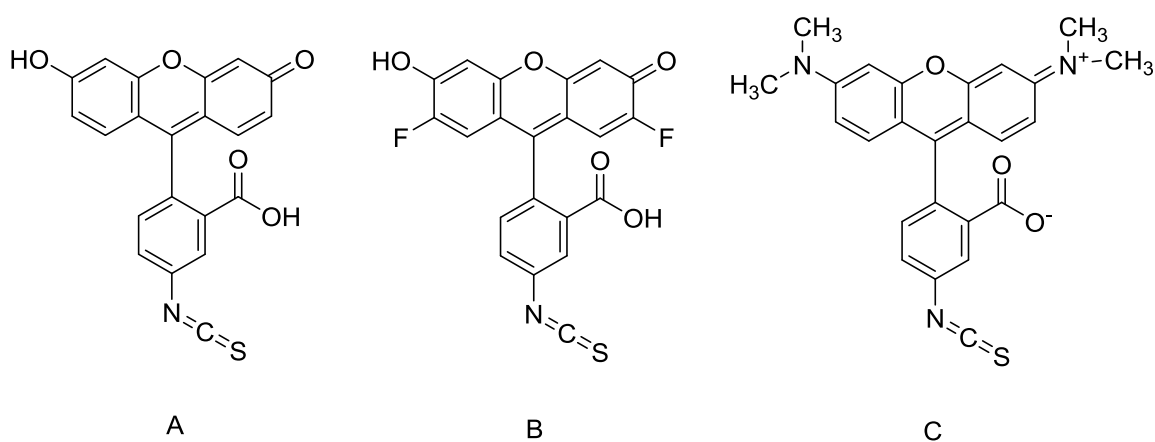
5.5.2 Vnější fluorofory

Vnější fluorofory jsou fluorofory nasynthetizované, případně se může jednat o chemicky modifikované vnitřní fluorofory. Na rozdíl od vnitřních, které se vyskytují v molekulách přirozeně, se přidávají ke vzorku, který sám o sobě nemá požadované spektrální vlastnosti. (10) Vnější fluorofory jsou používány častěji než vnitřní. Dají se dělit podle typu vazby na fluorescenční značky a fluorescenční barviva nebo podle kvantového výtěžku fluorescence. (5)

Fluorescenční značky se nejčastěji využívají k fluorescenčnímu značení proteinů, ke kterým se vážou kovalentní vazbou. Patří sem FITC (fluorescein-5-isothiokyanát) a TRITC (tetramethylrhodamin-5-isothiokyanát). (viz Obrázek č. 8) (16)

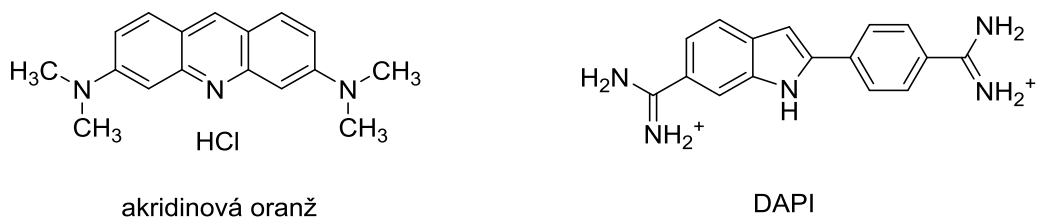
FITC je fluorofor s absorpčním maximem v oblasti kolem 495 nm. Sloučenina má několik nevýhod, například jeho citlivost je významně ovlivněna hodnotou pH a poměrně snadno také podléhá rozkladu světlem.

Pro odstranění těchto nežádoucích vlastností byly připraveny difluoroderiváty, které nepodléhají rozkladu vlivem světelného záření a taktéž mají nižší disociační konstantu pK_a , díky čemuž je snížena závislost citlivosti fluorescence na pH. Novější skupina fluorescenčních značek se nazývá BODIPY, protože značky obsahují atomy bóru. Fluorescenční značky z této skupiny obvykle nejsou závislé na polaritě prostředí ani na pH. (5)



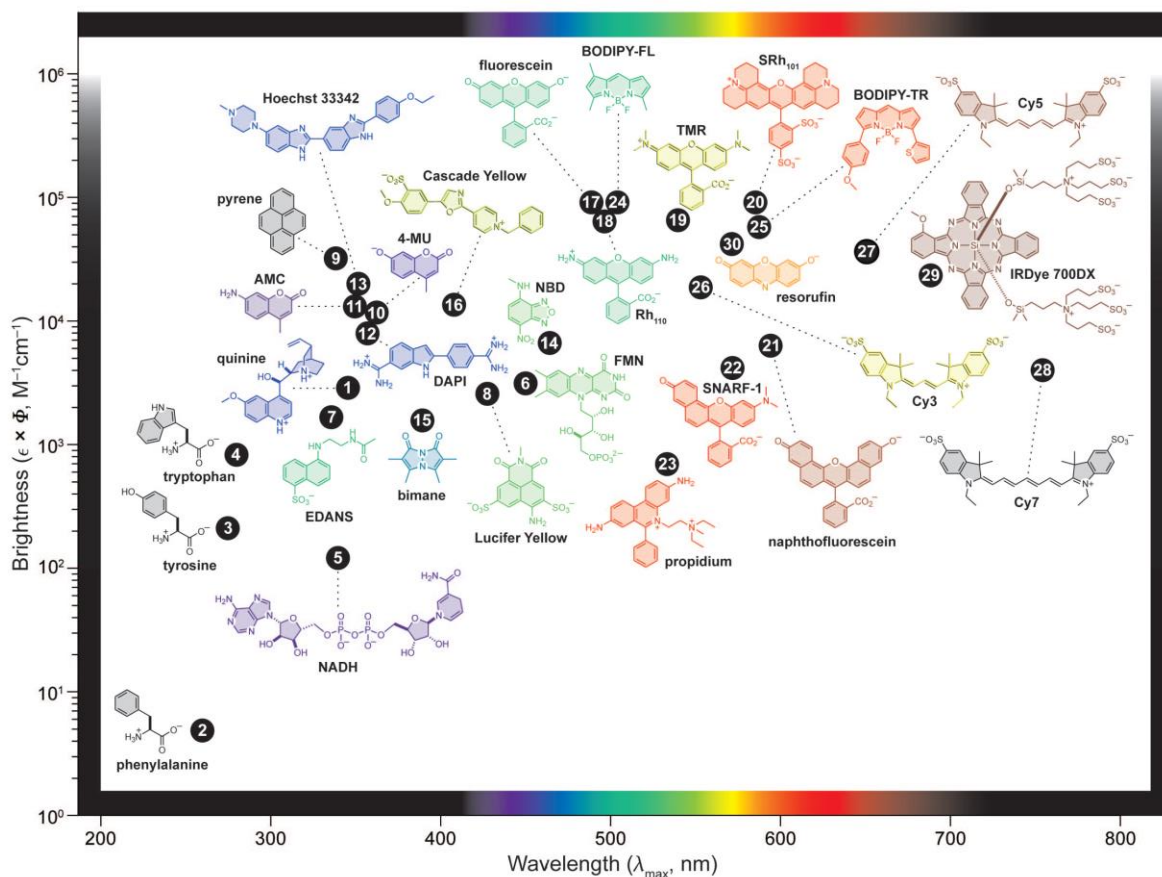
Obrázek č. 8: Struktury fluorescenčních značek. fluorescein-5-isothiokyanát (A) a jeho fluorovaný derivát (B), tetramethylrhodamin-5-isothiokyanát (C) (5)

Fluorescenční sondy jsou vnější fluorofory, které se ke zkoumané struktuře váží nekovalentní vazbou a po dané interakci mění svoje vlastnosti. (17) Využívají se při studiu změn konformace bílkovin, tloušťky membrán apod. K identifikaci a vizualizaci chromozomů se používá akridinová oranž, ethidium bromid, DAPI (4',6-diamidino-2-fenylindol) a další. (viz Obrázek č. 9) (5)



Obrázek č. 9: Struktury fluorescenčních sond (5)

Nejběžnější fluorofory s vyznačením jejich oblasti emise jsou přehledně shrnuty na Obrázku č 10. (18)



Obrázek č. 10: Nejběžnější fluorofory z hlediska jejich emisního maxima a svítivosti (18)

5.6 Veličiny charakterizující fluorescence

Základními veličinami pro charakterizaci fluorescence je kvantový výtěžek, intenzita, spektrální složení, polarizace a doba dohasínání. (7) (8)

Kvantový výtěžek (Φ) je poměr počtu vyzářených a absorbovaných světelných kvant za sekundu. (8) Je to poměr pozorované střední doby dohasínání fluorescence a vnitřní doby života vybuzeného stavu bez zhášecích mechanismů. (7)

Intenzita (J) je rovna počtu emitovaných fotonů procházejících v daném směru jednotkovou plochou za jednotku času a její rozměr je v $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (8) Intenzita je úměrná intenzitě absorpce násobené kvantovým výtěžkem. (7)

Spektrální složení lze vyjádřit spektrální hustotou fotonového toku na jednotkový interval vlnových délek či frekvencí.

Polarizace udává směr kmitání elektrického vektoru elektromagnetické vlny emitovaných částic. Měřením polarizace fluorescence získáváme informace o molekulární orientaci, pohyblivosti a procesech, což je důležité zejména u studia fluidity membrán, proteolýzy, aktivity proteinkináz či u svalové kontrakce. (7)

Doba dohasínání je dána vnitřní dobou života excitovaného stavu, z něhož dochází k emisi, a která také úzce souvisí s pochody vedoucími k nezářivé deaktivaci tohoto stavu. (8) Doba života excitovaného stavu je dána průměrným časem, který sloučenina stráví v excitovaném stavu před návratem do počátečního stavu. (7)

Emisní spektrum je závislost intenzity fluorescence na vlnové délce při konstantní vlnové délce excitujícího záření. (7) Tvar emisního spektra stejně jako kvantový výtěžek fluorescence většinou nejeví závislost na vlnové délce excitujícího záření. (8)

Excitační spektrum je závislost intenzity fluorescence na vlnové délce při konstantní vlnové délce emitovaného záření. Excitační spektrum fluorescence zředěných roztoků je přesnou kopií jejich absorpčního spektra a lze tak spektrofluorimetry získat „absorpční spektrum“ fluoroforu při mnohem nižších koncentracích než při přímém měření absorpce na spektrofotometru. (7)

5.7 Využití fluorescence

Fluorescenční techniky využívají vlastností fluoroforů, tedy jejich schopnosti absorbovat světlo určité vlnové délky a emitovat záření větší vlnové délky. (17) Přístroje založené na měření fluorescence jsou fluorescenční skenery, průtokové cytometry, spektrofluorimetry a fluorescenční mikroskopy. (5)

Fluorescenční skenery umožňují měření fluorescence dvojrozměrných makroskopických struktur. (7)

Průtokové cytometry slouží k zjištění fluorescence velkého množství jednotlivých buněk a díky tomu je možné je identifikovat a separovat jejich subpopulaci. (7) Je to fluorescenčně optická metoda, při které je vzorek unášen proudem kapaliny. Průtokový cytometr se skládá z excitačního zdroje, měřící optické cely, detektorů, systému zrcadel a optických filtrů. Excitační zdroj může být laser požadované vlnové délky nebo rtuťová výbojka. (19)

Spektrofluorimetry mají zdroj excitačního záření v ultrafialové nebo ve viditelné oblasti spektra. Excitační záření prochází excitačním monochromátorem a dopadá na sledovaný vzorek, kterým je obvykle květa s roztokem nebo jamka mikrodestičky. Emitované fluorescenční záření projde emisním monochromátorem a poté je detekováno pomocí fotonásobiče. Excitační monochromátor je během měření emisních spekter fluorescence nastaven na pevnou vlnovou délku budícího záření, stejně tak emisní monochromátor má pevně danou hodnotu vlnové délky při měření excitačních spekter. (20) Kromě vlnové délky se nastavuje šířka štěrbin monochromátorů, které mají vliv na citlivost a spektrální rozlišení konkrétního měření. (7)

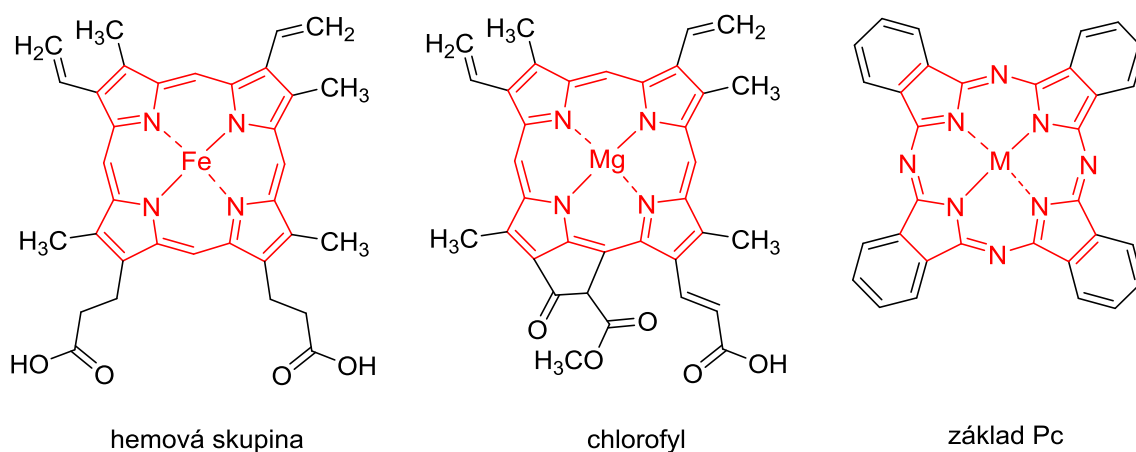
Fluorescenční mikroskopy slouží k pozorování fluorescence dvoj- nebo trojrozměrných mikroskopických struktur. (7) Tímto způsobem lze studovat tkáně a buňky, přičemž jednotlivé komponenty v buňce lze specificky označit fluoroforem (např. DAPI na DNA). Dalším využitím fluorescenční mikroskopie je imunofluorescence, kdy se použije vysoce citlivý fluorofor v kombinaci s protilátkou. (17)

Fluorescenční mikroskop je zvláštní typ optického mikroskopu, ve kterém je zaměněn světelný zdroj i detekce sledovaných objektů. Zdroj světla je nejčastěji vysokotlaká rtuťová výbojka, což je trubice z křemenného skla, uvnitř které je malé množství inertního plynu a rtuti. (14) Rtuťová výbojka emituje záření o vyhovující intenzitě v oblasti blízké UV oblasti. Záření má oproti viditelnému světlu kratší vlnovou délku, proto je možné pozorovat menší struktury, jako je buněčné jádro či chromozomy. Toho se využívá v cytogenetice při fluorescenčním barvení chromozomů nebo při molekulárně cytogenetickém vyšetření (*in situ* hybridizace). (5)

6 METODICKÁ ČÁST

6.1 Chemická struktura ftalocyaninů

Pc jsou planární makrocyclické látky s rozsáhlým systémem konjugovaných dvojných vazeb, které se svojí strukturou podobají porfyrinům, jako je hemoglobin, chlorofyl nebo vitamín B12. (viz Obrázek č. 11) Na rozdíl od porfyrinů se ale nevyskytují volně v přírodě. Pc mohou být považovány za tetrabenzotetraazaporfyriny, tetrabenzoporfyriziny nebo kondenzační produkty čtyř isoindolinových jednotek. (21)



Obrázek č. 11: Porovnání struktury hemoglobinu (22), chlorofylu (23) a Pc.

Pc se mohou vyskytovat jako bezkovové deriváty (PcH₂) nebo po koordinaci centrálního atomu kovu mohou vzniknout příslušné kovové komplexy (PcM). (2) Pro studium vlivu centrálního atomu na vlastnosti makrocyclické bylo dosud použito kolem 70 různých prvků. (21)

6.2 Cyklotetramerizace

Chemická reakce podmiňující vznik Pc makrocyclické ze čtyř prekurzorů se nazývá cyklotetramerizace. Existují dva způsoby tvorby těchto makrocyclických sloučenin, prvním mechanismem je tzv. templátový efekt kationtu kovu a druhý využívá ataku alkoholátů alifatických alkoholů na nitrilové skupiny. (24)

Kationt kovu využívající **templátového efektu** zůstává následně chelatován v centru makrocyclu. Prekurzory se seskupí kolem kationtu kovu, který slouží jako templát, a následným zahřátím na vyšší teplotu dojde k vytvoření Pc jádra. (24) (25) (viz Schéma č. 1) Tento mechanismus syntézy makrocyclu Pc poskytuje podle zkušeností naší výzkumné skupiny obvykle nižší výtěžky (především v případě nesymetrické cyklotetramerizace ze dvou různých prekurzorů) než druhá zmíněná metoda, přesto je někdy nutné ho využít. (24) (26) (27) Ve většině případů se reakce provádí v bezvodém prostředí pod inertní atmosférou.

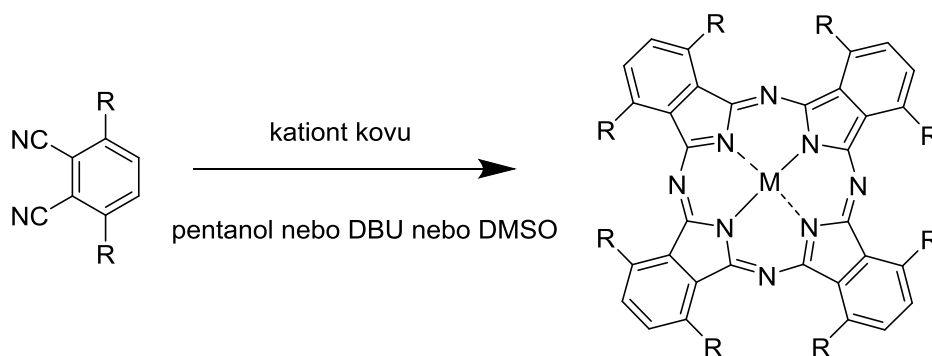


Schéma č. 1: Obecné schéma cyklotetramerizace s využitím templátového efektu

Druhý způsob přípravy využívá napadení **alkoholátů alifatických alkoholů** (příkladem může být butanol nebo pentanol) na elektrondeficitní uhlík nitrilové skupiny. (viz Schéma č. 2) Používají se kovové alkoholáty, nejčastěji hořečnaté a lithné, přičemž platí fakt, že hořečnatý alkoholát je slabší iniciátor reakce než lithný alkoholát. Výhodou hořečnatého alkoholátu je ale usnadnění průběhu reakce i díky částečnému templátovému efektu. (24)

Lithné alkoholáty díky své síle nelze používat u labilních periferních substituentů, které by tak mohly být nahrazeny alkoxy skupinou daného alkoholátu. Tato nežádoucí reakce však hrozí pouze u aza-analogů Pc, kde je tato reakce usnadněna přítomností elektronových efektů pyrazinového jádra. (24)

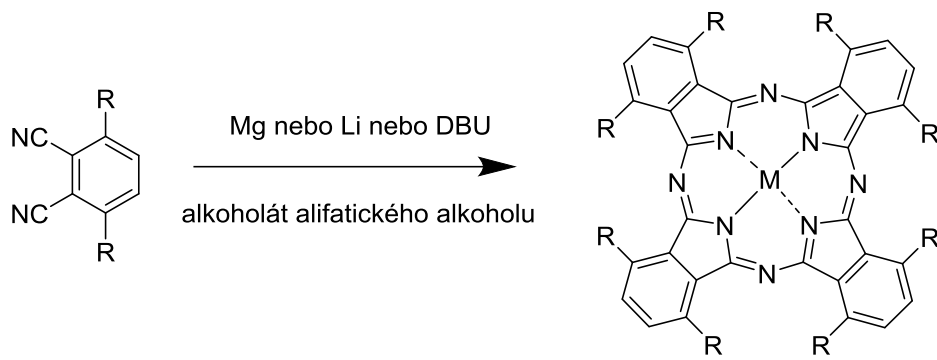


Schéma č. 2: Obecné schéma cyklotetramerizací s využitím alkoholátů alifatických alkoholů

6.2.1 Cyklotetramerizace s využitím templátového efektu kationtu kovu

V této kapitole se zaměřím na několik konkrétních případů přípravy jak neperiferně, tak periferně substituovaných Pc za využití templátové metody, současně s popisem metod, jak lze získat požadované prekurzory pro cyklotetramerizační reakci.

6.2.1.1 Cyklotetramerizace využívající $M(OAc)_2$

Příprava prekurzoru diazotací, cyklotetramerizace pomocí $Zn(OAc)_2$:

Prvním krokem je příprava prekurzoru diazotací. Z 4-nitroftalonitrilu se reakcí s železem ve formě prášku v prostředí koncentrované kyseliny chlorovodíkové v deionizované vodě získá 4-aminoftalonitril, do kterého se po kapkách přidá roztok dusitanu sodného za vzniku diazoniové soli, ze které se připraví příslušný azaftalonitril. Následuje samotná cyklotetramerizace ve vysokovroucím rozpouštědle n-pentanolu s přidavkem 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) pod inertní atmosférou dusíku. Přidáním dihydrátu octanu zinečnatého vzniká tmavě zbarvená suspenze ftalocyaninu s centrálním zinečnatým kationtem. (viz Schéma č. 3) (28)

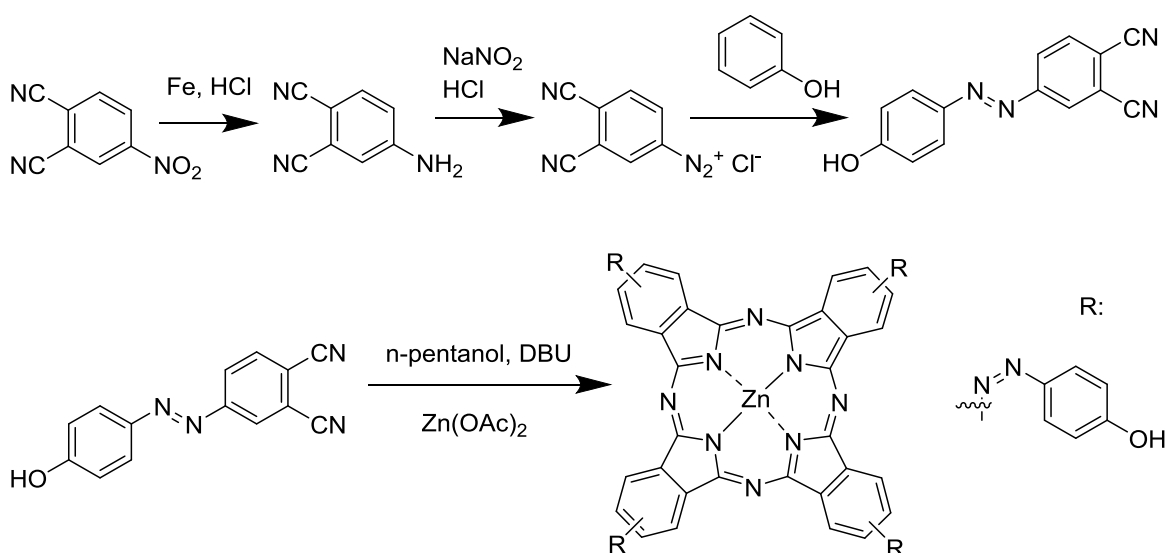


Schéma č. 3: Diazotace a následná cyklotetramerizací pomocí $Zn(OAc)_2$ (28)

Příprava Pc s alkylsulfanyl substituenty vázanými v neperiferních pozicích, kdy M=Cu, Pb či Zn:

Obdobně lze připravit Pc s centrálním měďnatým či olovnatým kationtem. Výchozí látka se může připravit reakcí 3,6-dihydroxyftalonitrilu s anhydridem kyseliny 3-fluormethansulfonové. Tímto krokem docílíme přípravy vhodného meziproductu s dobře odstupující skupinou. Tento meziproduct potom reakcí s hexanthiolem v prostředí DMSO poskytne pomocí nukleofilní substituce příslušný prekurzor, který po cyklotetramerizaci za stejných podmínek jako v přechozím případě poskytne požadovaný Pc s neperiferně vázanými alkylsulfanylovými substituenty. (viz Schéma č. 4) (29)

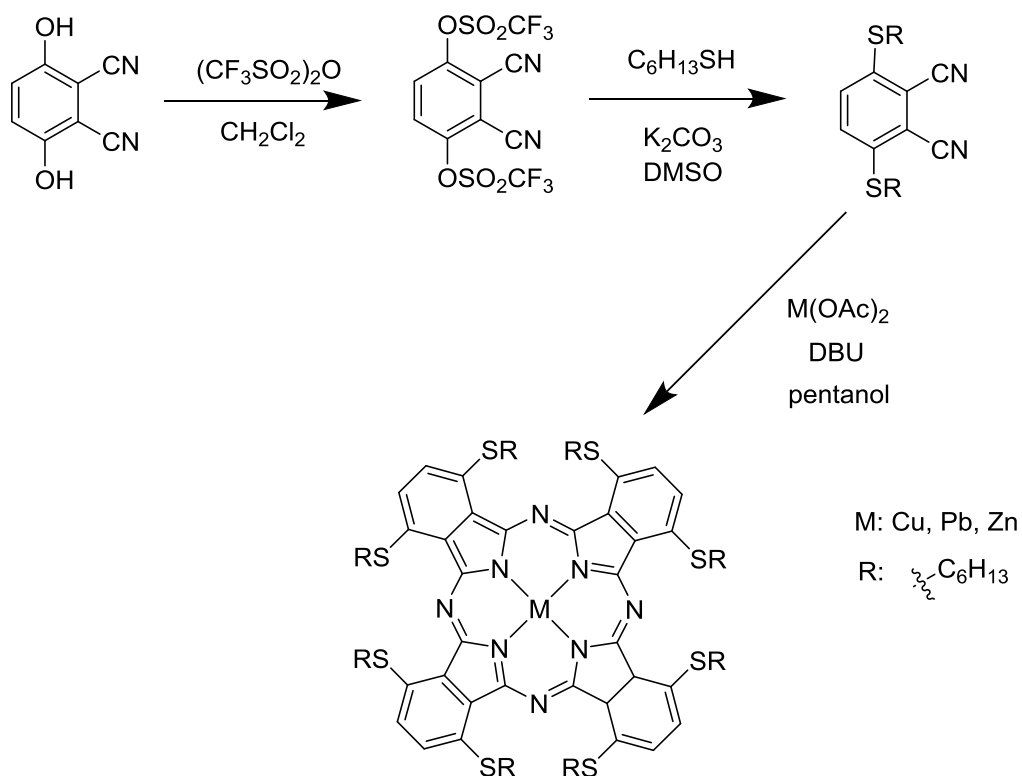


Schéma č. 4: Cyklotetramerizace pomocí $\text{M}(\text{OAc})_2$ s výchozí látkou 3,6-dihydroxyftalonitrilem (29)

6.2.1.2 Cyklotetramerizace využívající chloridu příslušného kovu

Použitím chloridů příslušných kovů, například InCl_3 (29), PdCl_2 (30), CuCl_2 (31) (32), ZnCl_2 (31) (32), nebo PbCl_2 (31) (32) lze dosáhnout koordinaci daného kationtu kovu do centra Pc. Požadovaný Pc získáme reakcí vhodného prekurzoru s příslušným chloridem rozpuštěným v pentanolu s přidavkem DBU pod inertní atmosférou dusíku. (viz Schéma č. 5) (29) (31) (32)

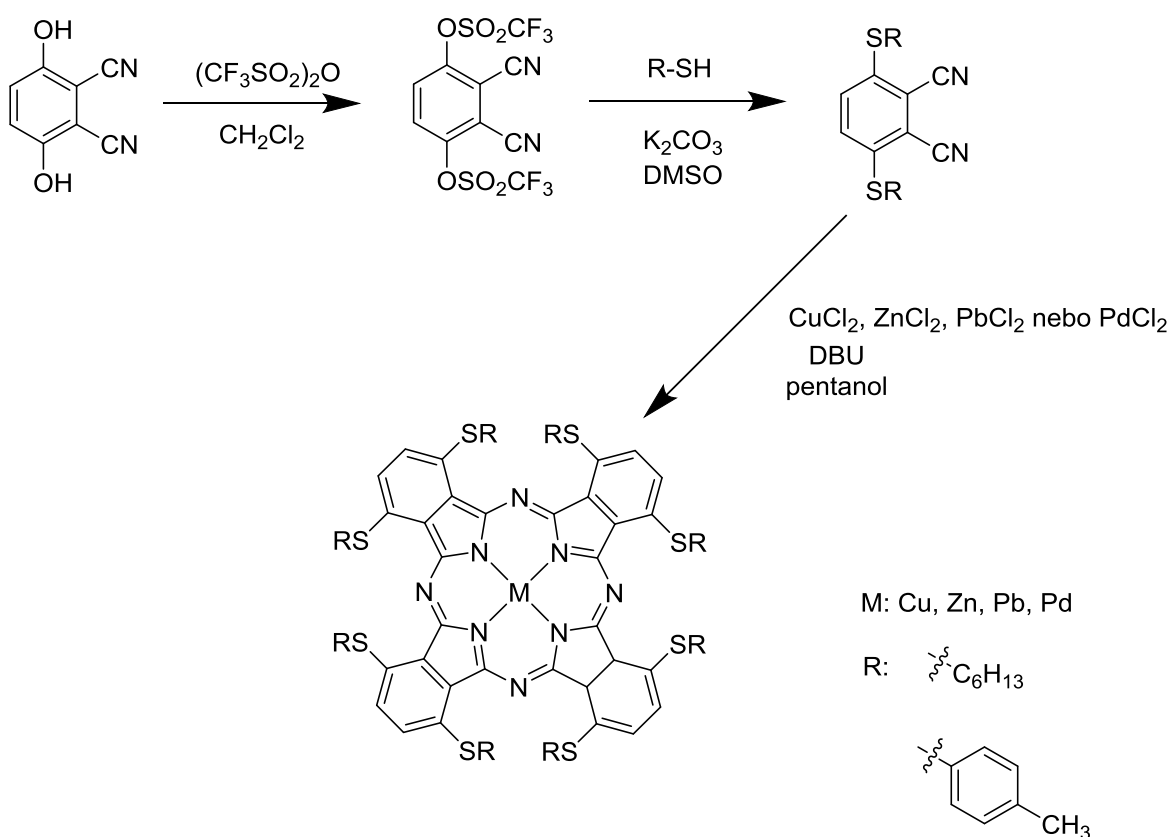


Schéma č. 5: Cyklotetramerizace využívající chlorid měďnatý (31) (32), chlorid zinečnatý (31) (32) nebo olovnatý (31) (32)

6.2.2 Cyklotetramerizace s využitím alkoholátů alifatických alkoholů

6.2.2.1 Cyklotetramerizace pomocí butanolátu hořečnatého

Nejprve se zahřívají piliny hořčíku při teplotě varu rozpouštědla spolu s krystalkem jódu v bezvodém butanolu. Jód zajistí odstranění oxidů z povrchu hořčíku a aktivuje tak hořčík pro tvorbu butanolátu hořečnatého. Poté se přidá příslušný prekurzor a reakce dále probíhá při stejné teplotě. V tomto případě uvedeném na Schématu č. 6 byla reakce ukončena po 21 hod. (33)

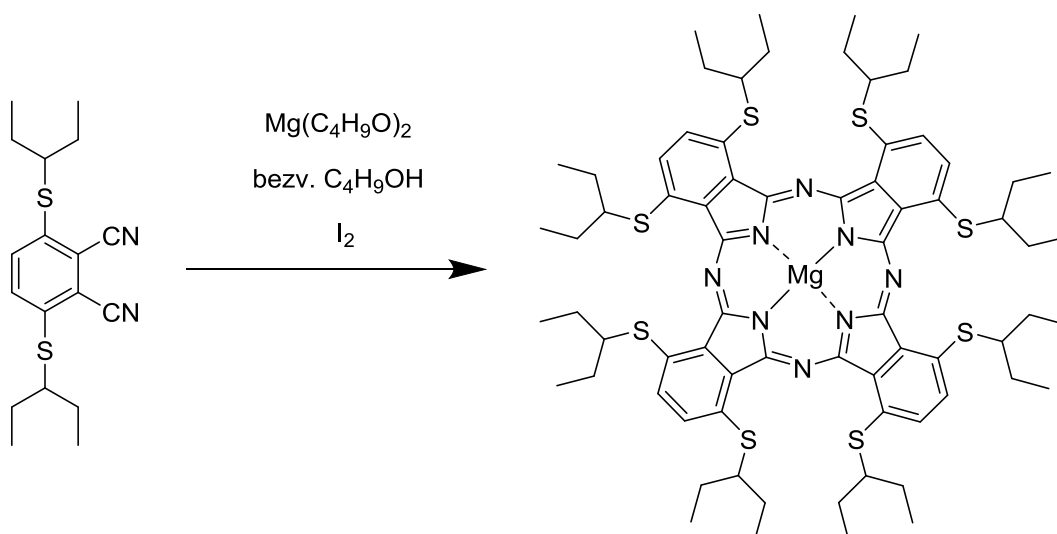


Schéma č. 6: Příklad cyklotetramerizace pomocí butanolátu hořečnatého (33)

6.2.2.2 Cyklotetramerizace pomocí butanolátu lithného

Bezkovový derivát získáme rozpuštěním příslušného prekurzoru v alkoholu (butanolu), zahřátím k varu a následným přidáním kovového lithia, ze kterého se okamžitě tvoří butanolát lithný. (viz Schéma č. 7) (34)

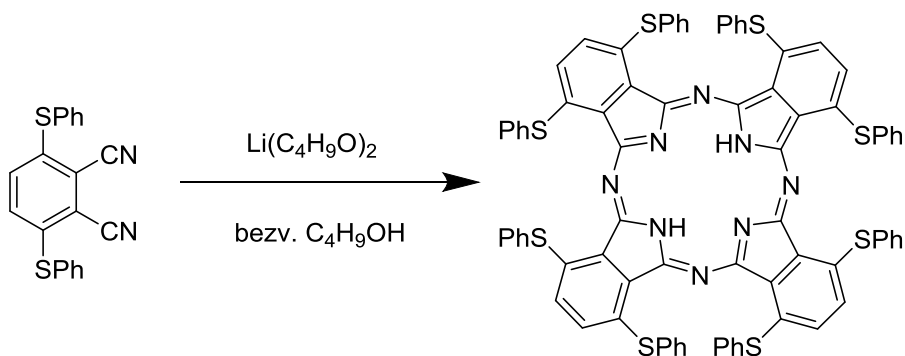


Schéma č. 7: Cyklotetramerizace pomocí butanolátu lithného při 120 °C (34)

Obdobným způsobem byly připraveny z příslušných ftalonitrilů neperiferně substituované Pc nesoucí různě objemné n-hexylsulfanylové a *terc*-butylsulfanylové skupiny. (35)

6.2.2.3 Cyklotetramerizace pomocí oktanolátu lithného

Dalším zajímavým příkladem z literatury, jak lze získat bezkovový derivát je použití lithia a oktanolu. (viz Schéma č. 8) (36)

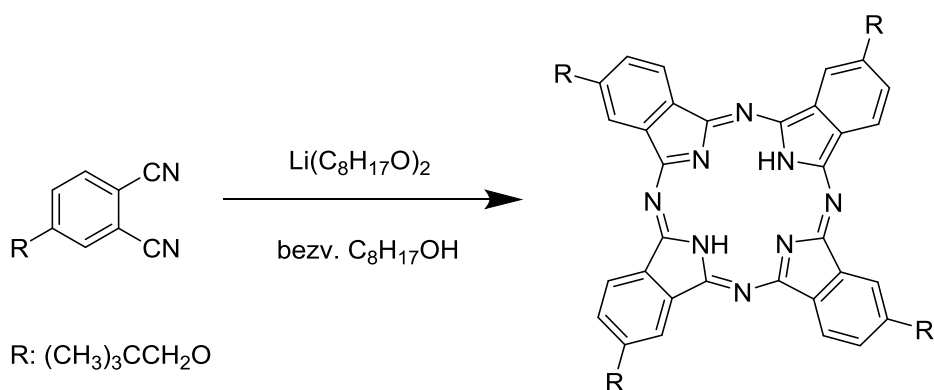


Schéma č. 8: Cyklotetramerizace pomocí oktanolátu lithného při pokojové teplotě (36)

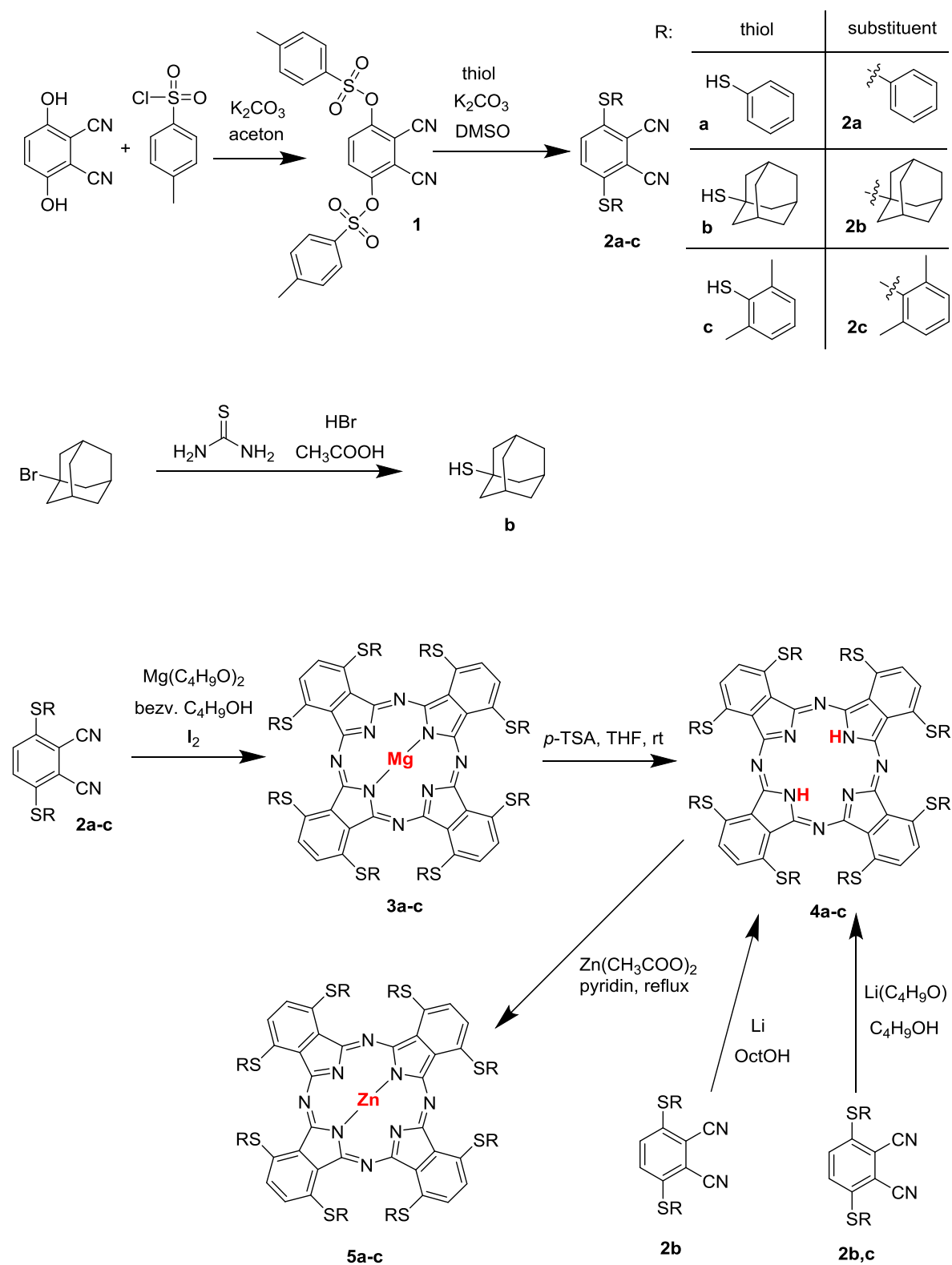
7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

7.1 Použité chemikálie a přístroje

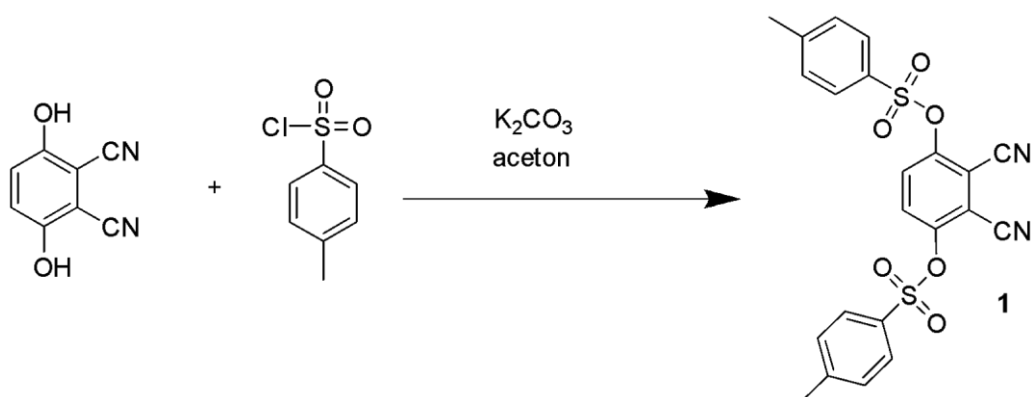
Výchozí látky a rozpouštědla pro reakce byly zakoupeny od firem Lach-Ner, Penta, BDL, Sigma-Aldrich nebo Acros a byly použity bez dalšího čištění do reakcí.

Průběh reakcí a čistota výsledných produktů byly sledovány pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC) na deskách Merck Kieselgel 60 F254, detekce UV lampou probíhaly při vlnové délce 254 nm nebo 366 nm. Čištění produktů bylo prováděno pomocí sloupcové chromatografie na stacionární fázi Merck Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm). Použité mobilní fáze, jsou popsány u jednotlivých reakcí níže. Teploty tání byly měřeny pomocí digitálního přístroje ELECTROTHERMAL IA9200. Infračervená spektra byla měřena IČ spektrofotometrem Nicolet 6700 v ATR módu na Katedře anorganické a organické chemie. ¹H NMR a ¹³C NMR spektra byla měřena na přístroji Varian Mercury Vx BB 300 nebo VNMR S500 na Katedře anorganické a organické chemie. Spektra UV/Vis byla měřena pomocí přístroje Shimadzu UV-2401PC spectrophotometer na Katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv. Hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF) byla provedena na přístroji 4800 MALDI TOF/TOF mass spectrometer (AB Sciex, Framingham, MA, USA) s využitím *trans*-2-[3-(4-terc-butylfenyl)-2-metyl-2-propenyliden]malononitrilu jako matrice. Přístroj byl kalibrován externě pětibodovou kalibrační metodou pomocí Peptide Calibration Mix1 (LaserBioLabs, Sophia-Antipolis, France).

7.2 Schéma prováděných reakcí



7.3 Příprava 2,3-dikyan-1,4-fenylen bis(4-methylbenzen-sulfonátu) (1)

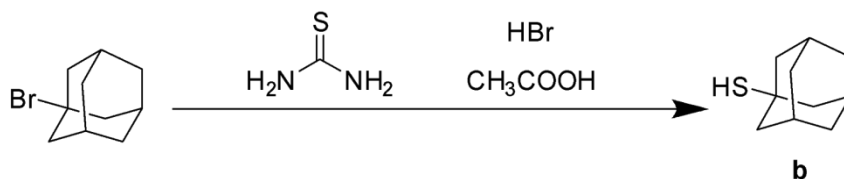


3,6-dihydroxyftalonitril (5 g, 0,031 mol) byl rozpuštěn v acetonu (50 ml) a poté byl přidán nejmenno rozetřený bezvodý uhlíčan draselný (16,6 g, 0,120 mol) a *p*-toluensulfonylchlorid (12,35 g, 0,065 mol). Směs byla zahřívána při 65 °C po dobu 2,5 hodin pod zpětným chladičem. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC s mobilní fází chloroform (CHCl₃) (R_f = 0,66 produktu).

Poté byla směs nakapána do destilované vody (500 ml) a míchána při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Došlo k vysrážení produktu, který byl přefiltrován a promyt vodou a lehce methanolem – frakce 1. Matečný roztok odpařen do sucha za sníženého tlaku a následně byl překrystalizován z acetonu – frakce 2. Frakce 2 byla přečištěna sloupcovou chromatografií, jako mobilní fáze byl použit CHCl₃. Produktem byla bílá pevná látka 2,3-dikyan-1,4-fenylen bis(4-methylbenzen-sulfonát) (1), která byla spojena s frakcí 1.

Výtěžek: 9,4 g (64 %). **T.t.:** 178,7 - 180,3 °C; **Molekulová hmotnost:** 468,50. **¹H NMR** (300 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): δ = 2,49 (s, 6H; CH₃), 7,41 (d, *J* = 9Hz, 4H; TosH), 7,79 (s, 2 H; ArH) a 7,82 (d, *J* = 9Hz, 4H; TosH); **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): δ = 21,9; 110,5; 112,0; 128,8; 129,4; 130,4; 130,6; 147,4 a 149,0; **IČ (ATR):** ν = 2240(CN), 1594, 1464, 1378, 1236, 1191, 1176, 1159, 1088, 1018, 937, 851cm⁻¹.

7.4 Příprava adamantan-1-thiolu (b)

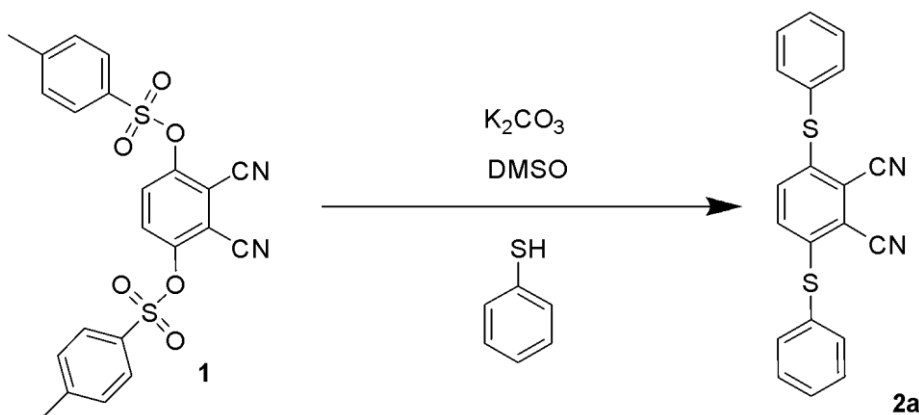


Metoda byla převzata z dříve publikovaného zdroje (37).

Směs 1-bromadamantanu (2 g, 0,009 mol), thiomocoviny (1,4 g, 0,018 mol), 48 % kyseliny bromovodíkové (4,6 ml) a kyseliny octové (9,2 ml) byla zahřívána pod zpětným chladičem 3 hodiny při 140 °C. Vznikla bílá suspenze, která se za tepla rozpustila. Po ochlazení došlo k vysrážení produktu, který byl přefiltrován a promyt destilovanou vodou a následně překrytalizován z ethanolu. Produktem byla bílá krystalická látka adamantan-1-thiol (**b**).

Výtěžek: 1,04 g (67 %). **Molekulová hmotnost:** 168,30. **T.t.:** 224,0-224,8 °C. **$^1\text{H NMR}$** (300 MHz, CD_3OD , 25 °C, TMS): $\delta = 1,75\text{-}1,80$ (m, 6H; CH_2); 2,07-2,12 (m, 6H; CH_2) a 2,12-2,17 (br m, 3H; CH); **$^{13}\text{C NMR}$** (75 MHz, CD_3OD , 25 °C, TMS): $\delta = 31,85$; 36,62; 44,86 a 55,23 ppm; **IČ (ATR):** $\nu = 3154, 3023, 2929, 2853, 1655, 1424, 1296, 1082, 1031, 977, 958, 815$ a 729 cm^{-1} .

7.5 Příprava 3,6-bis(fenylsulfanyl)ftalonitrilu (2a)

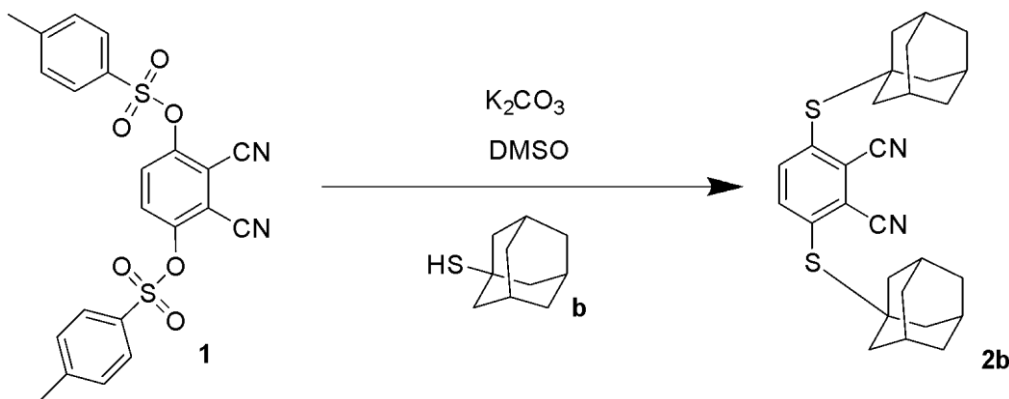


Metoda byla převzata z dříve publikovaného zdroje (34).

Thiofenol (59 mg, 0,534 mmol) byl rozpuštěn v DMSO (10 ml) a následně byl přidán bezvodý uhlíčan draselný (147 mg, 1,068 mmol). Reakce probíhala v ultrazvukové lázni při pokojové teplotě. Postupně byla přidávána látka **1** (100 mg, 0,214 mmol) během 1 hodiny. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC s mobilní fází toluen (TOL)/ $CHCl_3$ v poměru 1:1 ($R_f = 0,48$ produktu). Reakce zežloutla po prvním přidání látky **1**. Směs byla míchána 48 hodin při pokojové teplotě. Poté byla směs smíchána s destilovanou vodou (20 ml) a třikrát vytřepána s $CHCl_3$ (3 x 20 ml). Aby se lépe oddělila organická a vodná fáze, byl přidán brine, tj. nasycený vodný roztok NaCl. Organické vrstvy byly spojeny a vysušeny bezvodým síranem sodným. Směs byla přefiltrována přes skládaný filtr a odpařena do sucha na rotační vakuové odparce. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií, jako mobilní fáze byla použita směs TOL/ $CHCl_3$ v poměru 5:1. Produktem byla žlutá olejovitá látka 3,6-bis(fenylsulfanyl)ftalonitril (**2a**), která postupně zatuhla na pevnou látku.

Výtěžek: 40 mg (54 %). **Molekulová hmotnost:** 344,45. **T.t.:** 102,8-105,5 °C. **1H NMR** (300 MHz, $CDCl_3$, 25 °C, TMS): $\delta = 6,96$ (s, 2H; ar. H); 7,40-7,45 (m, 6H; ar. H) a 7,46-7,51 (m, 4H; ar. H); **^{13}C NMR** (75 MHz, $CDCl_3$, 25 °C, TMS): $\delta = 113,60$; 115,10; 129,63; 129,98; 130,18; 132,19; 134,53 a 142,78 ppm; **IČ (ATR):** $\nu = 3055, 2916, 2852, 2225$ (CN), 1616, 1533, 1474, 1440, 1334, 1279, 1189, 1165, 1139, 1085, 1024, 1002, 920 a 846 cm^{-1} .

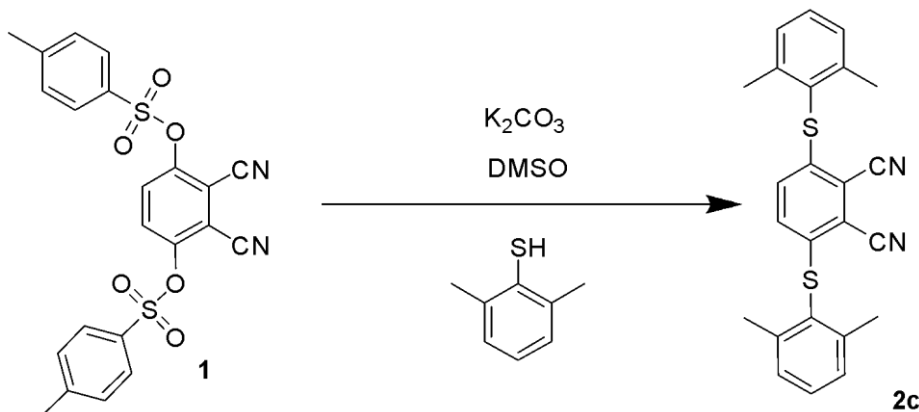
7.6 Příprava 3,6-bis(adamant-1-ylsulfanyl)ftalonitrilu (2b)



Adamantan-1-thiol (**b**) (5 g, 0,030 mol) byl rozpuštěn v DMSO (30 ml) a poté byl přidán bezvodý uhlíčan draselný (8,2 g, 0,059 mol). Reakce probíhala v ultrazvukové lázni. Postupně byla přidávána látka **1** (2,78 g, 0,006 mol) během 1 hodiny. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC, jako mobilní fáze byla použita směs TOL/CHCl₃ v poměru 1:1 ($R_f = 0,51$ produktu). Reakce zežloutla už po prvním přidání látky **1**. Směs byla míchána při pokojové teplotě 12 hodin. Po uplynutí reakční doby byl roztok smíchán s destilovanou vodou (100 ml) a čtyřikrát vytřepán s CHCl₃ (4 x 100 ml). Pro lepší oddělení fází byl přidán brine. Chloroformové fáze byly spojeny a poté byly vysušeny bezvodým síranem sodným. Následně byla směs přefiltrována přes skládaný filtr a odpařena do sucha na rotační vakuové odparce. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií, mobilní fází byl nejprve TOL a poté pro urychlení směs TOL/CHCl₃ v poměru 1:1. Produktem byla světle žlutá pevná látka 3,6-bis(adamant-1-ylsulfanyl)ftalonitril (**2b**), která byla překrytalizována z ethanolu s aktivním uhlím za vzniku bílé třpytivé pevné látky.

Výtěžek: 2,76 g (96 %). **Molekulová hmotnost:** 460,70. **T.t.:** 157,4-158,1 °C. **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): $\delta = 1,65$ (dd, $J_1 = 12\text{Hz}$, $J_2 = 31\text{Hz}$, 12H; CH₂); 1,91 (s, 12H; CH₂); 2,08 (br s, 6H; CH) a 7,76 (s, 2H; ArH); **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): $\delta = 30,13$; 35,81; 43,73; 53,12; 115,00; 125,27; 137,73 a 141,16 ppm; **IČ (ATR):** $\nu = 3401$, 3296, 3201, 2912, 2851, 2290 (CN), 1928, 1616, 1506, 1455, 1334, 1295, 1278, 1181, 1139, 1119, 1103, 1085, 1034 a 846 cm⁻¹.

7.7 Příprava 3,6-bis(2,6-dimethylfenylsulfanyl)ftalonitrilu (2c)



Metoda A:

2,6-dimethylbenzenthiool (480 mg, 3,473 mmol) byl rozpuštěn v DMSO (40 ml) a poté byl přidán bezvodý uhličitan draselný (958,4 mg, 6,945 mmol). Reakce probíhala v ultrazvukové lázni. Postupně byla přidávána látka **1** (325 mg, 0,694 mmol) během 1 hodiny. Reakce zežloutla už při prvním přidání sloučeniny **1**. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC s mobilní fází TOL/CHCl₃ v poměru 5:1 (R_f = 0,421 produktu). Směs byla míchána další 3 hodiny při pokojové teplotě v ultrazvukové lázni. Po ukončení reakční doby byla směs smíchána s destilovanou vodou (100 ml) a třikrát vytřepána s CHCl₃ (3 x 100 ml). Pro lepší oddělení organické a vodné fáze byl přidán brine. Organické vrstvy byly spojeny a vysušeny bezvodým síranem sodným. Poté byla směs přefiltrována přes skládaný filtr a odpařena do sucha na rotační vakuové odparce. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií za použití mobilní fáze TOL/CHCl₃ v poměru 5:1. Produktem byla žlutá olejovitá látka 3,6-bis(2,6-dimethylfenylsulfanyl) (**2c**).

Výtěžek: 49 mg (18 %). NMR data se shodovala s daty získanými z jiných postupů přípravy téže látky (viz níže).

Metoda B:

2,6-dimethylbenzenthiool (100 mg, 0,723 mmol) byl rozpuštěn v DMSO (5 ml) a následně byl přidán bezvodý uhličitan draselný (199,7 mg, 1,447 mmol). Reakce probíhala v ultrazvukové lázni v digestoři. Po částech byla přidávána látka **1** (67,7 mg, 0,145 mmol) během cca 1 hodiny. Směs zežloutla

už při prvním přidání sloučeniny **1**.

Reakce byla následně zahřívána při teplotě 140 °C po dobu 14 hodin. Po ukončení doby nutné pro reakci byla přidána destilovaná voda (25 ml) a směs byla třikrát vytřepána s CHCl₃ (3 x 25 ml). Organické vrstvy byly dány dohromady a byly vysušeny bezvodým síranem sodným. Směs byla přefiltrována přes skládaný filtr a odpařena do sucha na rotační vakuové odparce. Poté byl produkt přečištěn sloupcovou chromatografií za použití mobilní fáze TOL/CHCl₃ v poměru 5:1. Produktem byla tmavě hnědá látka 3,6-bis(2,6-dimethylfenyl-sulfanyl)ftalonitril (**2c**).

Výtěžek: 8 mg (14 %)

Metoda C:

2,6-dimethylbenzenthiole (118,2 mg, 0,855 mmol) byl rozpuštěn v bezvodém DMSO (10 ml) pod argonovou atmosférou. Následně byl přidán bezvodý uhličitan draselný (235,9 mg, 1,709 mmol). Reakce probíhala v striktně bezvodých podmínkách v digestoři. Látka **1** (100mg, 0,214 mmol) byla přidána najednou a reakce následně probíhala při pokojové teplotě po dobu 5 hod. Zpracování reakce probíhalo shodně jako u předchozích postupů.

Výtěžek: 63 mg (74 %).

Metoda D:

2,6-dimethylbenzenthiole (118,2 mg, 0,855 mmol) byl rozpuštěn v THF (10 ml) a následně byl přidán fluorid cesný (259,7 mg, 1,710 mmol). Reakce probíhala ve striktně bezvodém prostředí v digestoři. Látka **1** (100mg, 0,214 mmol) byla přidána najednou a reakce následně probíhala při pokojové teplotě po dobu 5 hod. Zpracování reakce probíhalo shodně jako u předchozích postupů.

Výtěžek: 6 mg (7 %)

Metoda E:

2,6-dimethylbenzenthiole (118,2 mg, 0,855 mmol) byl rozpuštěn v THF (10 ml) a následně byl přidán bezvodý uhličitan draselný (235,9 mg, 1,709 mmol). Reakce probíhala v -12 °C. Sloučenina **1** (100mg, 0,214 mmol)

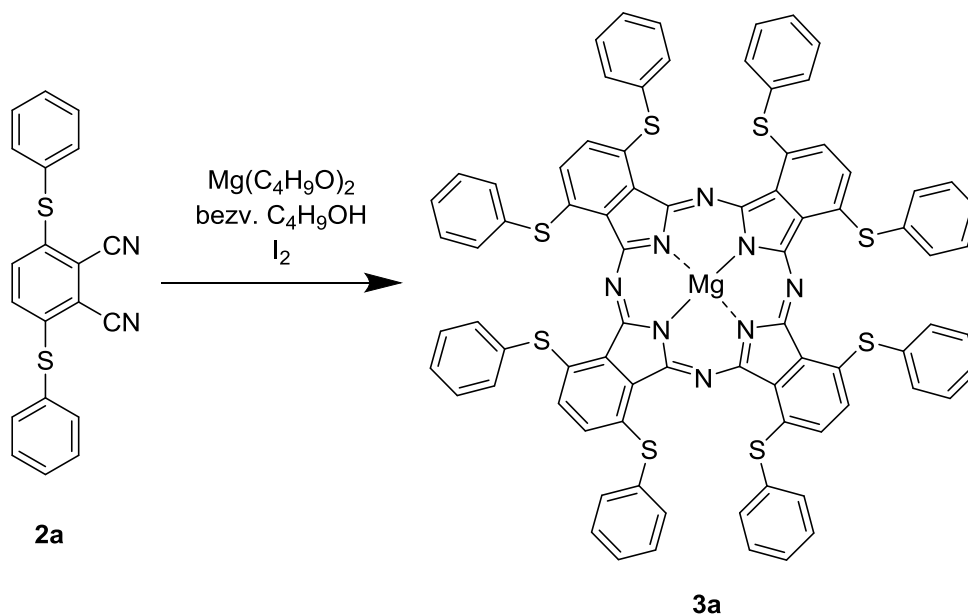
byla přidána najednou a reakce následně probíhala při pokojové teplotě po dobu 5 hod. Zpracování reakce probíhalo shodně jako u předchozích postupů.

Výtěžek: 3 mg (4 %)

Data pro 2c:

Molekulová hmotnost: 400,56. **¹H NMR** (300 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS):
δ = 2,36 (s, 13H; CH₃), 6,41 (s, 2H; ArH), 7,16-7,19 (m, 4 H; ArH)
a 7,23-7,27 ppm (m, 2 H; ArH); **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS):
δ = 21,66; 113,68; 119,07; 127,12; 128,88; 129,04; 130,67; 141,68
a 144,02 ppm; **IČ (ATR):** ν = 3059, 2925, 2853, 2224 (CN), 1936, 1678, 1582,
1494, 1463, 1433, 1378, 1288, 1250, 1206, 1141, 1082, 969, 847, 832 a 777
cm⁻¹.

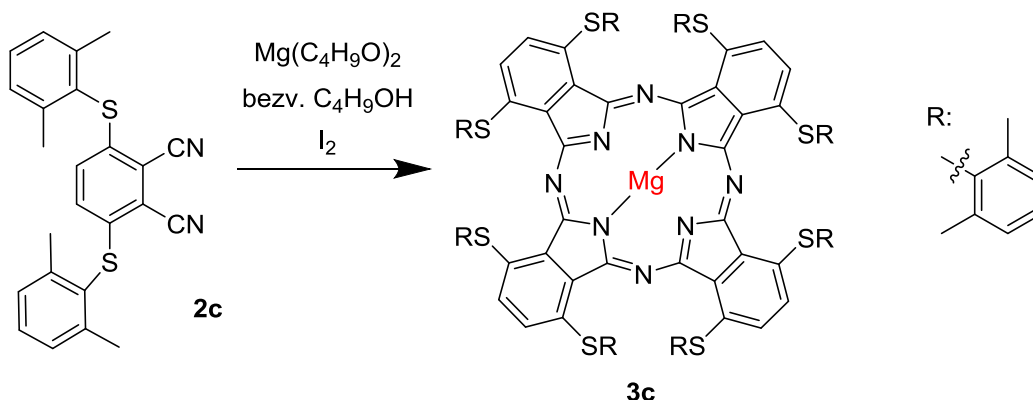
7.8 Příprava hořečnatého komplexu (3a)



K hořčíku (0,247 g, 10,163 mmol) byl přidán bezvodý butanol (5 ml) a malý krystalek jódu. Směs byla zahřívána při teplotě varu rozpouštědla (118°C) po dobu 3 hodin. Aparatura byla opatřena sušicí rourkou. Poté byl přidán prekurzor **2a** (500 mg, 1,452 mmol) a směs byla zahřívána po dobu dalších 14 hodin. Po ochlazení bylo přidáno 50 ml směsi destilovaná voda/methanol/kyselina octová v poměru 10:5:1. Vzniklá suspenze byla přefiltrována přes skládaný filtr a produkt byl promyt destilovanou vodou a methanolem. Produkt byl rozpuštěním v CHCl_3 převeden do baňky, odpařen na rotační vakuové odparce a čištěn sloupcovou chromatografií. Jako mobilní fáze byla nejprve použita směs TOL/THF 60:1, poté TOL/THF 30:1. (R_f produktu v soustavě TOL/THF 30:1 = 0,46).

Výtěžek: 308 mg (61 %). **Molekulová hmotnost:** 1402,11. **$^1\text{H NMR}$** (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridine-}d_5$ (3:1), 25 °C, TMS): δ = 6,88-7,98 (br m, 48 H; ArH); **$^{13}\text{C NMR}$** (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridine-}d_5$ (3:1), 25 °C, TMS): δ = nebyly detekovány žádné signály vlivem špatné rozpustnosti a silné agregaci vzorku. **IČ (ATR):** ν = 3056, 2538, 1884, 1582, 1557, 1475, 1461, 1439, 1320, 1287, 1213, 1177, 1107, 1088, 1068, 918 a 815 cm^{-1} . **MS (MALDI):** m/z: 1400,06 $[\text{M}]^+$. **UV/Vis (THF):** λ_{max} (ϵ) = 775 (223 670), 695 (51 600), 634sh, 495 (13 190) a 361 nm (63 370 $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

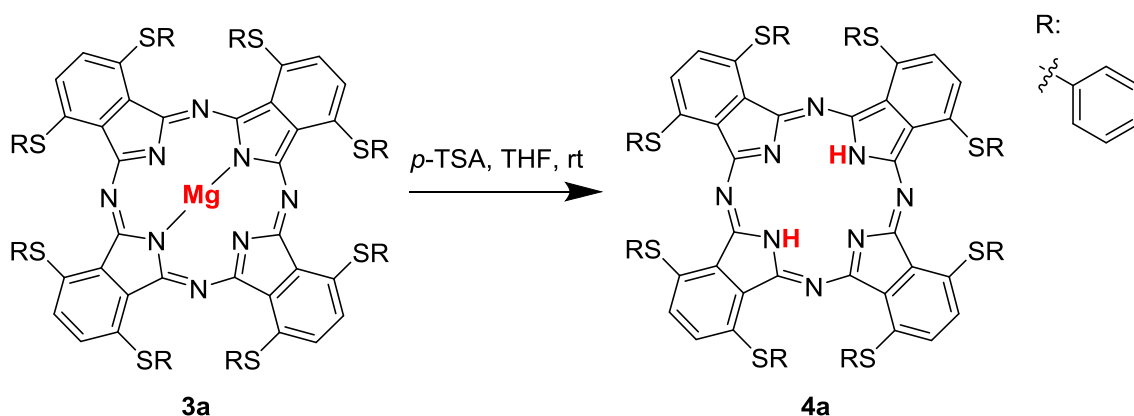
7.9 Příprava hořečnatého komplexu (3c)



K hořčíku (12,7 mg, 0,523 mmol) byl přidán bezvodý butanol a malý krystalek jódu. Směs byla zahřívána při teplotě varu rozpouštědla 118 °C po dobu 3 hodin. Reakční aparatura byla opatřena sušící rourkou. Po vytvoření butanolátu hořečnatého byl přidán prekurzor **2c** (30 mg, 0,075 mmol) a směs byla nadále zahřívána po dobu 5 hodin. Po ochlazení bylo přidáno 20 ml směsi destilovaná voda/methanol/kyselina octová v poměru 10:5:1. Vzniklá suspenze byla přefiltrována přes skládaný filtr a promyta destilovanou vodou. Produkt byl rozpuštěním v CHCl_3 převeden do baňky, odpařen na rotační vakuové odparce a přečištěn pomocí sloupcové chromatografie za použití mobilní fáze TOL/THF v poměru 50:1.

Výtěžek: 15 mg (50 %). **Molekulová hmotnost:** 1626,54. **^1H NMR** (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridine-}d_5$ (3:1), 25 °C, TMS): δ = 2,64 (s, 48 H; CH_3), 6,88 (br s, 8 H; ArH) a 7,27-7,37 ppm (m, 24 H; ArH); **^{13}C NMR** (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridine-}d_5$ (3:1), 25 °C, TMS): δ = 22,21; 124,42; 128,82; 129,42; 131,37, 144,54 ppm; **IČ (ATR):** ν = 3054, 2952, 1561, 1459, 1377, 1321, 1285, 1212, 1166, 1136, 1107, 1053, 988, 916, 885 a 814 cm^{-1} ; **MS (MALDI):** m/z: 1624,29 $[\text{M}]^+$. **UV/Vis (THF):** λ_{max} (ϵ)= 788 (237 620), 702 (51 940), 643sh, 501 (12 850) a 359 nm (64 870 $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

7.10 Příprava bezkovového derivátu (4a)

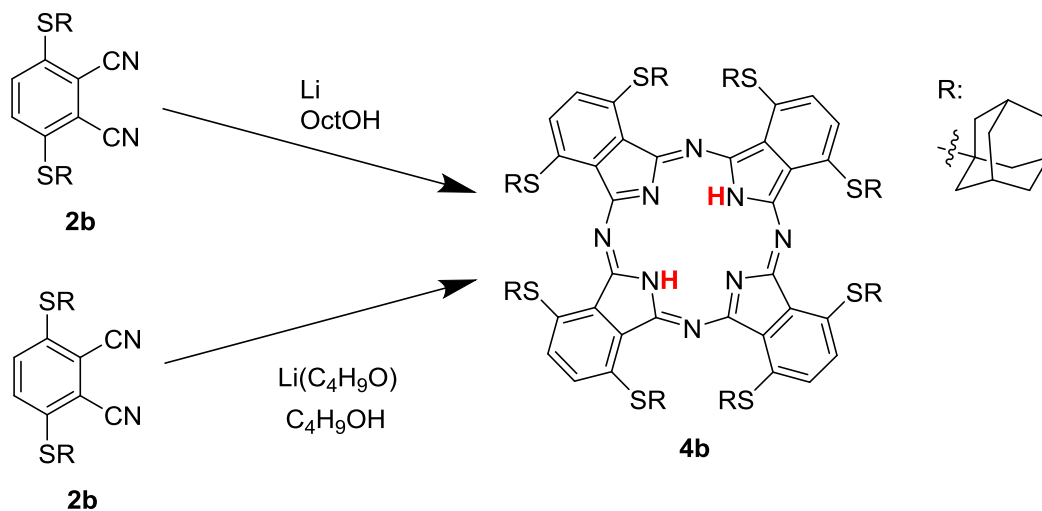


K látce **3a** (60 mg, 0,043 mmol) byla přidána kyselina *p*-toluensulfonová (57 mg, 0,300 mmol) a THF (5 ml). Směs byla míchána při pokojové teplotě 1 hodinu.

Po uplynutí reakční doby byla přidána destilovaná voda a reakční směs byla přefiltrována přes skládaný filtr, který byl následně promyt destilovanou vodou. Produkt byl rozpuštěn v CHCl_3 a následně byl odpařen do sucha na rotační vakuové odparce. Produkt byl následně přečištěn sloupcovou chromatografií za použití mobilní fáze TOL/THF v poměru 50:1, produkt byl ale zadržen na koloně a proto byla mobilní fáze zaměněna za CHCl_3 /THF v poměru 50:1 ($R_f = 0,46$ produktu při použití mobilní fáze TOL).

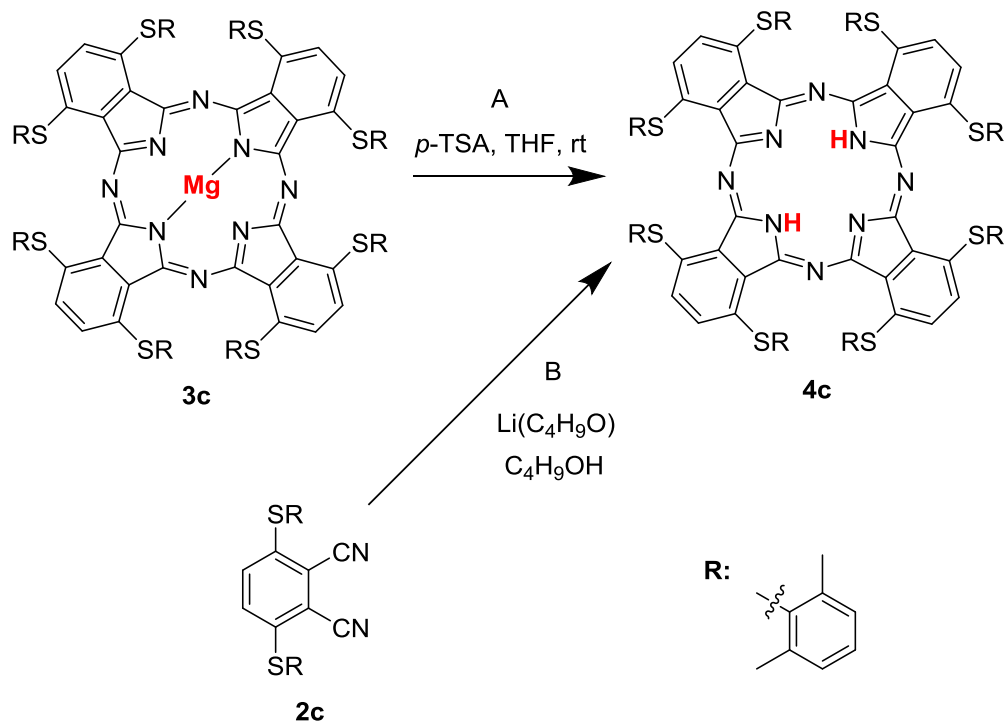
Výtěžek: 31 mg (70 %). **Molekulová hmotnost:** 1379,82. **$^1\text{H NMR}$** (300 MHz, CDCl_3 /pyridine- d_5 (3:1), 25 °C, TMS): $\delta = 7.31\text{-}7.22$ (m, 8 H; ArH), 7.41-8.03 ppm (m, 40 H; ArH); **$^{13}\text{C NMR}$** (75 MHz, CDCl_3 , 25 °C, TMS): $\delta =$ nebyly detekovány žádné signály vlivem špatné rozpustnosti a silné agregaci vzorku; **IČ (ATR):** $\nu = 3298, 3048, 2957, 2922, 2851, 1730, 1569, 1562, 1494, 1473, 1466, 1363, 1314, 1289, 1207, 1184, 1153, 1138, 1082, 1031, 1023, 967, 908, 868, 817$ a 809 cm^{-1} ; **MS (MALDI):** $m/z: 1378,07$ $[\text{M}]^+$. **UV/Vis (THF):** $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 802$ (74 390), 715 (20 100), 598 (3 170) a 357 nm (28 170 $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$); UV/Vis (pyridin): $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 790$ (74 000), 499 (6 190), 512 (6 470) a 366sh nm ($\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

7.11 Příprava bezkovového derivátu (4b)



Sloučenina **2b** (50 mg, 0,109 mmol) byla rozpuštěna v bezvodém butanolu a následně bylo přidáno kovové lithium (5 mg, 0,714 mmol). Směs byla zahřívána při teplotě varu rozpouštědla 118 °C po dobu 3 hodin. Aparatura byla opatřena sušící rourkou. Náznak vzniku makrocyklu byl pozorován podle absorpčního spektra (viz Kapitola Diskuze), ale vzniklo pravděpodobně jen velmi malé množství produktu **4b**, které ani nelze izolovat.

7.12 Příprava bezkovového derivátu (4c)



Metoda A:

K látce **3c** (136,4 mg, 0,084 mmol) byla přidána kyselina *p*-toluensulfonová (111,7 mg, 0,587 mmol) a THF (15 ml). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny. Po proběhnutí reakce byla směs zahuštěna na rotační vakuové odparce. Poté byla přidána destilovaná voda a směs byla přefiltrována přes skládaný filtr a promyta destilovanou vodou. Produkt **4c** byl vysušen a poté byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie za použití mobilní fáze TOL/hexan v poměru 1:1.

Výtěžek: 60 mg (45 %)

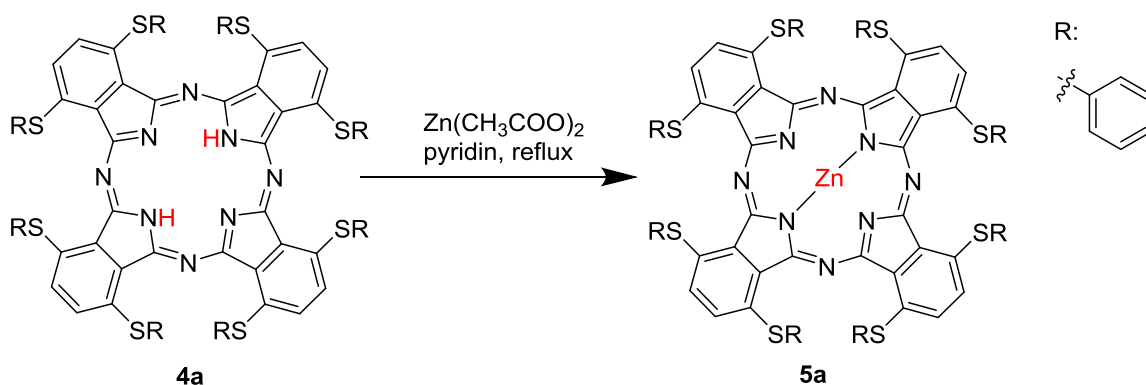
Metoda B:

Ke sloučenině **2c** (70 mg, 0,175 mmol) byl přidán bezvodý butanol (7 ml) a lithium (8,6 mg, 1,229 mmol). Směs byla zahřívána při teplotě varu rozpouštědla po dobu 3 hodin. Reakční aparatura byla opatřena sušící rourkou. Po uplynutí reakční doby byla přidána směs destilovaná voda/methanol/kyselina octová v poměru 10:5:1. Vzniklá suspenze byla přefiltrována a promyta destilovanou vodou. Filtrační papír byl ponechán po dobu 30 minut v sušárně. Produkt byl přečištěn pomocí sloupcové

chromatografie za použití mobilní fáze TOL/hexan v poměru 1:1.

Výtěžek: 25,6 mg (37 %). **Molekulová hmotnost:** 1604,25. **¹H NMR** (300 MHz, CDCl₃/pyridine-*d*₅ (3:1), 25 °C, TMS): δ = 2,94 (s, 48 H; CH₃), 7,23 (s, 8 H; ArH) a 7,59-7,68 ppm (m, 24 H; ArH); **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃/pyridine-*d*₅ (3:1), 25 °C, TMS): δ = 22,06; 125,25; 125,42; 128,33; 128,85; 129,12; 129,61; 130,67, 133,47 a 144,46 ppm; **IČ (ATR):** ν = 3304, 2918, 1570, 1460, 1377, 1315, 1286, 1227, 1207, 1153, 1140, 1054, 1028, 903, 870, 814, 771 a 758 cm⁻¹. **MS (MALDI):** m/z: 1602,35 [M]⁺. **UV/Vis (THF):** λ_{max} (ε)= 818 (195 210), 726 (47 580), 659sh, 536 (12 380) a 358 nm (58 460 mol⁻¹cm⁻¹l).

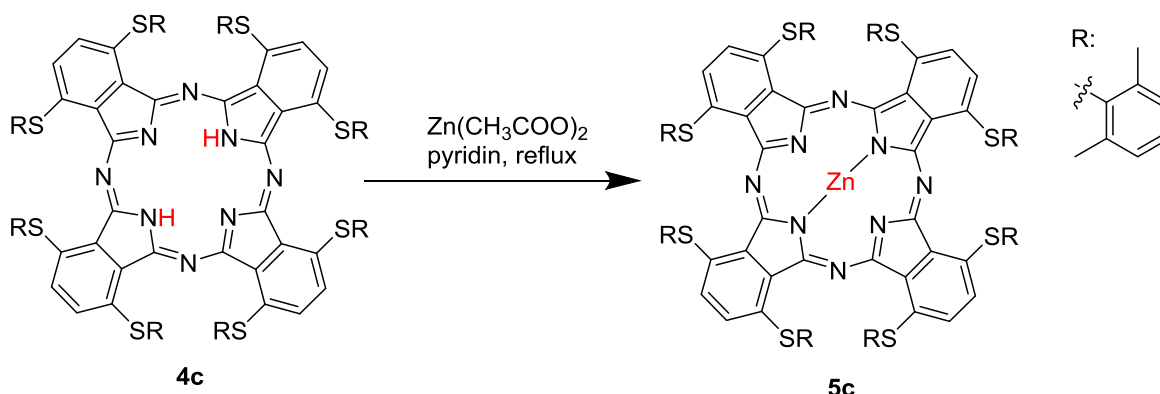
7.13 Příprava zinečnatého komplexu (5a)



K látce **4a** (22 mg, 0,016 mmol) byl přidán octan zinečnatý (20,4 mg, 0,112 mmol) a pyridin (15 ml). Směs byla zahřívána při teplotě varu rozpouštědla při 150 °C po dobu 1 hodiny. Po ukončení doby nutné pro reakci byla směs odpařena na rotační vakuové odparce. Poté byla přidána destilovaná voda (20 ml) za vzniku suspenze, která byla přefiltrována přes skládaný filtr za následného promytí směsí voda/methanol. Filtr byl na 30 minut uložen do sušárny. Poté se produkt **5a** rozpustil v CHCl₃, který byl odpařen na rotační vakuové odparce. Směs byla přečištěna sloupcovou chromatografií s mobilní fází TOL/THF v poměru 30:1. (*R_f* = 0,35 produktu při použití mobilní fáze TOL/THF v poměru 40:1). Po přečištění sloupcovou chromatografií byl produkt překapán do methanolu a směs byla zchlazena na -20 °C. Sraženina byla poté přefiltrována přes skládaný filtr a promyta hexanem.

Výtěžek: 25 mg (98 %). **Molekulová hmotnost:** 1443,18. **¹H NMR** (300 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): δ = 7.25-7.31 (m, 8 H; ArH), 7.41 – 7.52 (m, 24 H; ArH) a 7.83-7.98 ppm (m, 16 H; ArH); **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): δ = 127,17; 129,04; 129,93; 133,04; 134,02; 134,12 a 153.66 ppm; **IČ (ATR):** ν = 3054, 2781, 1881, 1559, 1474, 1463, 1438, 1318, 1287, 1218, 1139, 1114, 1087, 1025, 920 a 886 cm⁻¹. **MS (MALDI):** m/z: 1440,00 [M]⁺. **UV/Vis (THF):** λ_{max} (ε) = 779 (186 300), 695 (46 080), 638sh, 497 (12 540) a 350 nm (58 550 mol⁻¹cm⁻¹l).

7.14 Příprava zinečnatého komplexu (5c)



K látce (**4c**) (59,4 mg, 0 037 mmol) byl přidán octan zinečnatý (47,4 mg, 0,259 mmol) a pyridin (10 ml). Reakční směs byla zahřívána při teplotě varu rozpouštědla 150 °C po dobu 1 hodiny. Po uplynutí reakčního času byla směs zahuštěna na rotační vakuové odparce. Poté byla přidána destilovaná voda a vzniklá suspenze byla přefiltrována přes skládaný filtr, který byl promyt vodou a methanolem. Filtrační papír byl dán do sušárny na 45 minut. Následně se produkt **5c** rozpuštěním v CHCl_3 převedl do baňky a po odpaření na rotační vakuové odparce byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie za použití mobilní fáze TOL/THF v poměru 50:1.

Výtěžek: 48,2 mg (78 %). **Molekulová hmotnost:** 1667,61. **^1H NMR** (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridine-}d_5$ (3:1), 25 °C, TMS): δ = 2,63 (s, 48 H; CH_3), 6,90 (s, 8 H; ArH) a 7,26-7,37 ppm (m, 24 H; ArH); **^{13}C NMR** (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridine-}d_5$ (3:1), 25 °C, TMS): δ = 22,22; 124,63; 128,86; 129,52; 131,10; 132,57; 134,37; 144,57 a 153,95 ppm; **IČ (ATR):** ν = 3052, 2955, 2920, 2853, 1731, 1558, 1458, 1376, 1319, 1284, 1212, 1137, 1112, 1053, 914, 816 a 769 cm^{-1} . **MS (MALDI):** m/z: 1664,22 $[\text{M}]^+$. **UV/Vis (THF):** λ_{max} (ϵ)= 793 (226 500), 706 (51 720), 648sh, 511 (12 930) a 353 nm (59 370 $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

7.15 Příprava vzorků na měření fotofyzikálních a absorpčních vlastností

Pro fotofyzikální měření byly vždy vzorky nejprve přečištěny pomocí preparativní TLC. Vzorek se vždy nejprve rozpustil v CHCl_3 , následovalo nanesení na TLC a vyvinutí v dané mobilní fázi (viz Tabulka č. 1). Požadovaná frakce odpovídající čisté sloučenině se z destičky seškrábala a směs se vyextrahovala do CHCl_3 a přefiltrovala. Poté byl CHCl_3 odpařen do sucha na vakuové rotační odparce.

Pc	mobilní fáze pro TLC	retenční faktory
3a	TOL/THF 40:1	0,16
4a	TOL	0,46
5a	TOL/THF 40:1	0,35
3c	TOL/THF 40:1	0,37
4c	TOL/hexan 1:1	0,38
5c	TOL	0,30

Tabulka č.1: Mobilní fáze použité pro preparativní TLC s příslušnými retenčními faktory

7.16 Měření extenčních koeficientů

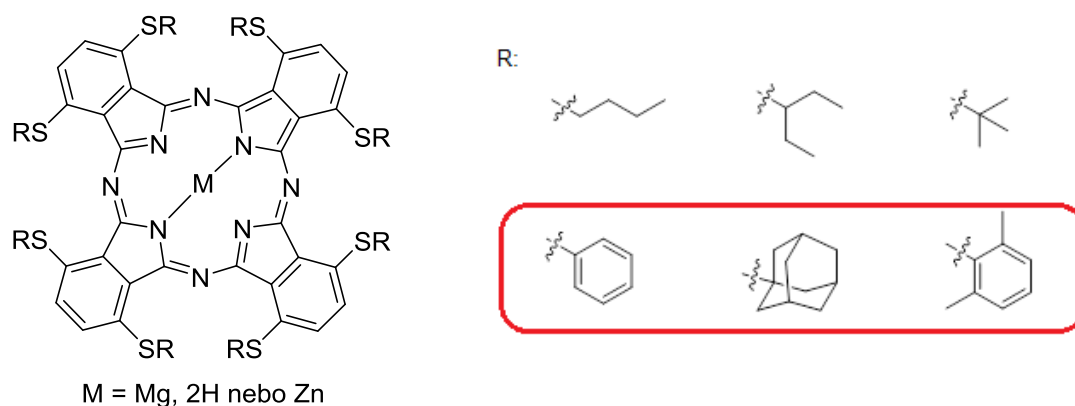
Prvním krokem pro zjištění hodnoty extenčních koeficientů bylo navážení vzorků (s přesností na tisícinny mg). Následně byly připraveny roztoky v THF o přesné koncentraci, konkrétně 100 μM (výpočet objemu rozpouštědla pro konkrétní sloučeniny viz Tabulka č. 2). Poté bylo do květy napipetováno 2,475 ml THF a proměřila se baseline čistého rozpouštědla. Následně bylo přidáno 25 μl zásobního 100 μM roztoku daného Pc a bylo změřeno absorpční spektrum (tzn. absorpční spektra byla měřena pro roztoky o koncentraci 1 μM).

Pc	navážka vzorku (mg)	objem THF (ml)
3a	0,479	3,42
4a	0,943	6,83
5a	0,457	3,17
3c	0,630	3,87
4c	0,567	3,53
5c	0,719	4,31

Tabulka č. 2.: Příprava 100 μM roztoků

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem mé diplomové práce bylo rozšířit sérii Pc s různě objemnými alkyl- a arylsulfanyl- neperiferními substituenty (viz Obrázek č. 12) a prozkoumat jejich absorpční a fotofyzikální vlastnosti. Naším cílem bylo připravit hořečnaté, bezkovové a zinečnaté komplexy zamýšlených Pc, aby bylo možno následně studovat nejen vliv substituentů, ale i vliv centrálního kationtu na finální spektrální a fotofyzikální vlastnosti.



Obrázek č. 12: Série Pc s různě objemnými neperiferními substituenty, v rámci této diplomové práce byly připraveny sloučeniny se substituenty v červeném rámečku

Prvním krokem nezbytným pro syntézu neperiferně substituovaných ftalocyaninů bylo připravit si jednotlivé prekurzory, tj. 3,6-disubstituované ftalonitrily. Nejprve byl připraven reaktivní meziprodukt **1** s dobře odstupujícími skupinami, který nukleofilní substitucí s příslušným thiolátem poskytl požadovaný prekurzor **2a-c**. Pro charakteristický zápach thiolů bylo nutné tyto reakce provádět v digestoři. Při přípravě prekurzorů se dalo pozorovat žluté zbarvení reakční směsi téměř okamžitě po prvním přidání látky **1**. V případě prekurzoru **2a** se výtěžky pohybovaly kolem 50 %. U syntézy prekurzoru **2b** bylo nutné si nejprve připravit příslušný thiol reakcí odpovídajícího bromidu s thiomocovinou, jelikož není komerčně dostupný. Získání daného prekurzoru potom probíhalo téměř kvantitativně. Problém ale nastal u syntézy prekurzoru **3c**, kdy výtěžky při prvním pokusu o jeho přípravu byly poměrně nízké (18 %). Proto následovala optimalizace přípravy **3c**.

Úvodní snahou bylo měnit teplotu reakce, nejprve směrem k vyšším a později i směrem k nižším hodnotám. V obou případech ale došlo k dalšímu snížení výtěžku. Při první obměně byla stejná reakční směs zahřívána při 140 °C po dobu 14 hodin, namísto předpokládané žluté barvy se ale objevila barva tmavě hnědá, téměř černá. Požadovaný produkt sice byl po proběhnutí reakce přítomen, výtěžnost byla ale ještě menší než po použití klasické metody.

Definitivní zavrnutí vyšších teplot podpořil výsledek reakce zahřívání po dobu 3 hodin při 140 °C v mikrovlnném reaktoru, jelikož požadovaný produkt pravděpodobně vůbec nevznikl a došlo pouze k rozkladu výchozích látek. Následovala obměna rozpouštědel a bazí, ale ani tak se vyšší výtěžek nedostavil. Ve všech případech ale vznikla intenzivní skvrna na TLC, která odpovídala disulfidu a zároveň se dalo pozorovat štěpení výchozí látky na 3,6-dihydroxyftalonitril (viz Schéma č. 9). V případě syntézy prekurzoru **2c** je thiolová skupina stéricky bráněná methylovými skupinami, a proto vznikají tyto vedlejší produkty a snižují tak finální výsledek. Pro zamezení průběhu těchto vedlejších reakcí byla snaha o striktně bezvodé prostředí během reakce. Tímto způsobem se podařilo získat požadovaný produkt ve výtěžku 74 %. Různé podmínky při optimalizaci přípravy **2c** uvádí Tabulka č. 3.

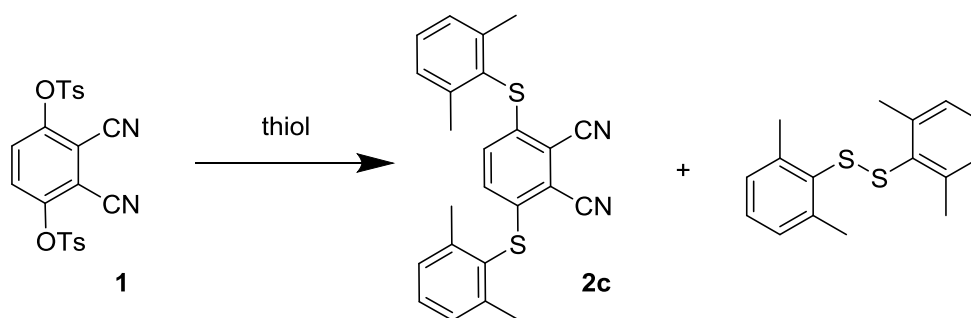


Schéma č. 9: Vznik vedlejšího produktu disulfidu

	baze	rozpuštědlo	reakční čas	teplota, podmínky	výtěžek
I.	K ₂ CO ₃	DMSO	60 hod	r.t., ultrazvuk	18 %
II.	K ₂ CO ₃	DMSO	14 hod	140 °C, ultrazvuk	14 %
III.	K ₂ CO ₃	DMSO	3 hod	140 °C, mikrovlnná iradiace	0 %
IV.	K ₂ CO ₃	DMSO	3 hod	r.t.	10 %
V.	K ₂ CO ₃	DMSO	14 hod	r.t., striktně bezvodé prostředí.	74 %
VI.	K ₂ CO ₃	THF	14 hod	r.t.	0 %
VII.	NaOH	THF	14 hod	r.t.	0 %
VIII.	CsF	THF	14 hod	r.t., striktně bezvodé prostředí	7 %
IX.	K ₂ CO ₃	THF	14 hod	r.t., striktně bezvodé prostředí	0 %
X.	K ₂ CO ₃	THF	14 hod	-12 °C	4 %
XI.	K ₂ CO ₃	DMSO	14 hod	r.t.	8 %
XII.	NaOH	DMSO/H ₂ O	14 hod	r.t.	0 %

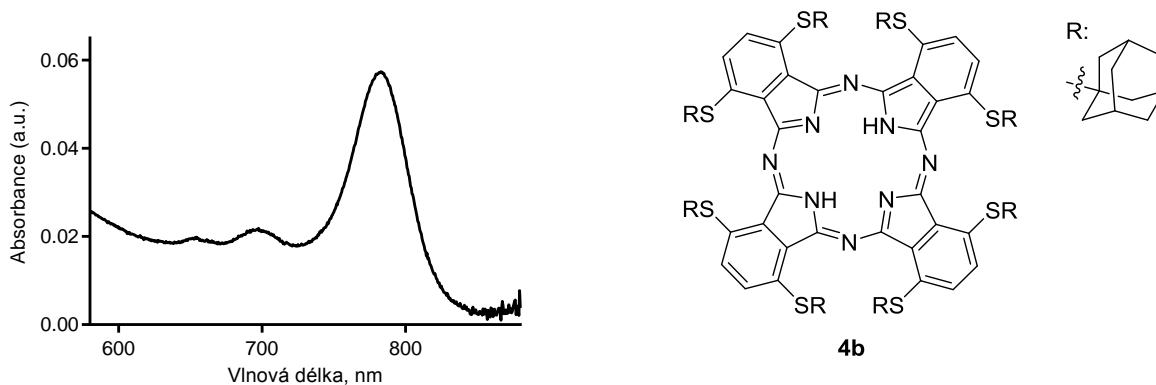
Tabulka č. 3: Shrnutí obměn bazí a rozpouštědel s příslušnými výtěžky při přípravě sloučeniny **2c**

Následovala příprava Pc z prekursorů cyklotetramerizací. Během řešení mé diplomové práce byly použity oba typy cyklotetramerizace zmíněné v metodické části diplomové práce (viz Kapitola 6.2), tedy jak metoda využívající templátového efektu kationtu kovu, tak zacyklení pomocí alkoholátů alifatických alkoholů. Pro získání hořečnatého komplexu Pc byla použita metoda cyklotetramerizace za iniciace butanolátem hořečnatým. Po odstranění hořečnatého kationtu z centra v kyselém prostředí vznikl bezkovový derivát a ten následnou reakcí s octanem zinečnatým, využívající templátového efektu kationtu kovu, poskytl příslušný zinečnatý komplex. Bezkovový derivát lze získat i přímou cestou z prekursorů a to v prostředí butanolátu lithného. Vzniklé lithné kationty jsou v centru vázány jen velmi slabě a už nalitím destilované vody do reakční směsi dojde k jejich odstranění a vzniku bezkovového derivátu.

V případě přípravy hořečnatých komplexů pomocí butanolátu hořečnatého se výtěžky pohybovaly kolem 50 %. U bezkovových derivátů byly výtěžky kolem 40 %, ať už přímou cestou přes butanolát lithný nebo dvoukrokovou přípravou, nejprve se zavedením hořčíku a následným odkovením v kyselém prostředí, přičemž obě metody mají podobný výtěžek, ale přes hořečnatý komplex byla reakce o něco výhodnější. Příprava zinečnatého komplexu už poté probíhala téměř kvantitativně, výtěžky se pohybovaly kolem 95 %.

U komplexů se substituenty **a** a **c** se touto klasickou metodou podařilo požadované produkty bez větších problémů připravit. Problém ale nastal u komplexů se substituentem **b**, kdy se za užití stejné metody nedosáhlo očekávaných výsledků. Pravděpodobně tomu tak je kvůli velké objemnosti substituentů, kvůli kterým dochází ke sterickeému bránění. Klasickou metodu jsme několikrát opakovaly, naší snahou bylo roztok více zakoncentrovat a reakci provést v naprosto bezvodém prostředí, produkt nám ale přesto nevznikl.

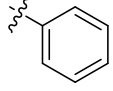
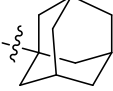
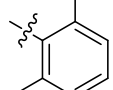
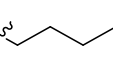
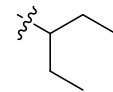
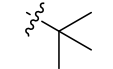
Proto následovala výměna butanolu za oktanol, aby se dala zvýšit teplota reakce, ale ani vyšší teplota výtěžky nezlepšila, spíše byl pozorovatelný rozklad prekursoru kvůli příliš vysoké teplotě. Proto byl znovu použit butanolát, tentokrát ale butanolát lithný, jelikož je silnější iniciátor reakce než butanolát hořečnatý. Touto metodou nám vzniklo jen zanedbatelné množství produktu, které ale má absorpční spektrum typické pro tuto skupinu. (viz Obrázek č. 13)



Obrázek č. 13: Absorpční spektrum makrocyklu **4b**

Bezkovový derivát **4a** byl připraven z hořečnatého komplexu **3a** a stejných podmínek, jako v ostatních případech, tedy odstraněním centrálního kationtu kovu pomocí kyseliny *p*-toluensulfonové v THF. Během čištění produktu pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází TOL/THF v poměru 50:1 došlo k zadržení produktu na koloně pravděpodobně díky horší rozpustnosti produktu, proto byla mobilní fáze zaměněna za směs CHCl₃/THF v poměru 50:1.

Po přípravě vzorků a zjištění jejich extenčních koeficientů (viz Kapitola 7.15 a 7.16) byla měřena absorpční maxima, kvantový výtěžek fluorescence a kvantový výtěžek produkce singletového kyslíku. Zjištěné hodnoty uvádí Tabulka č. 4.

R:	ABSORPČNÍ MAXIMUM (nm)			KVANTOVÝ VÝTĚŽEK FLUORESCENCE			KVANTOVÝ VÝTĚŽEK PRODUKCE SINGLETOVÉHO KYSLÍKU		
	Mg	Zn	2H	Mg	Zn	2H	Mg	Zn	2H
a 	775	779	802	0,17	0,080	0,061	0,47	0,74	0,064
b 			783						
c 	788	793	818	0,12	0,076	0,064	0,48	0,74	0,049
*d 	775	781	805	0,13	0,069	0,048	0,49	0,75	0,052
*e 	774	777	802	0,10	0,053		0,51	0,76	0,096
*f 	724		785	0,10			0,47		

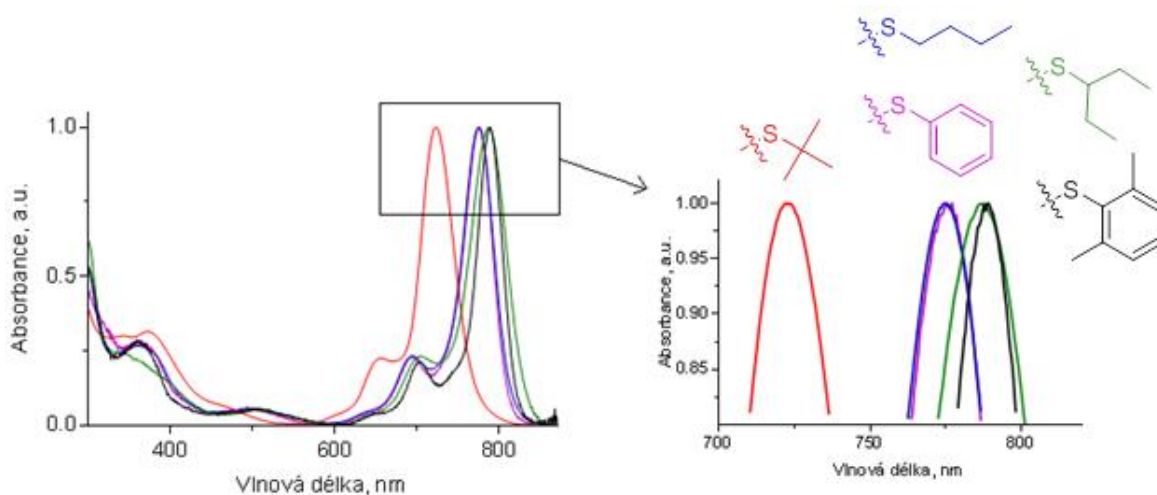
Tabulka č. 4: Absorpční maxima, kvantové výtěžky fluorescence a produkce singletového kyslíku. *Látky se substituenty **d**, **e** a **f** byly připravené již dříve v rámci této série kolegy v AzaPc laboratoři.

Výsledky kvantových výtěžků jsou v souladu s tzv. **efektem těžkého atomu**, což je pravidlo, které říká, že pokud molekula obsahuje atom s velkou molekulovou hmotností, tím spíše se průběh relaxace excitovaného stavu zvrátí v cestu přes singletový kyslík.

V našem případě je tento efekt jednoznačně patrný při porovnání odpovídajících hořečnatých a zinečnatých derivátů mezi sebou. Naše výsledky ukazují, že hořečnaté komplexy mají dvojnásobně vyšší kvantový výtěžek fluorescence (rozmezí 0,10-0,17) než komplexy zinečnaté (hodnoty v rozmezí 0,053-0,080). Naopak zinečnaté deriváty vykazují vysoké kvantové výtěžky singletového kyslíku v rozmezí 0,74-0,76, což jsou hodnoty poměrně vysoké.

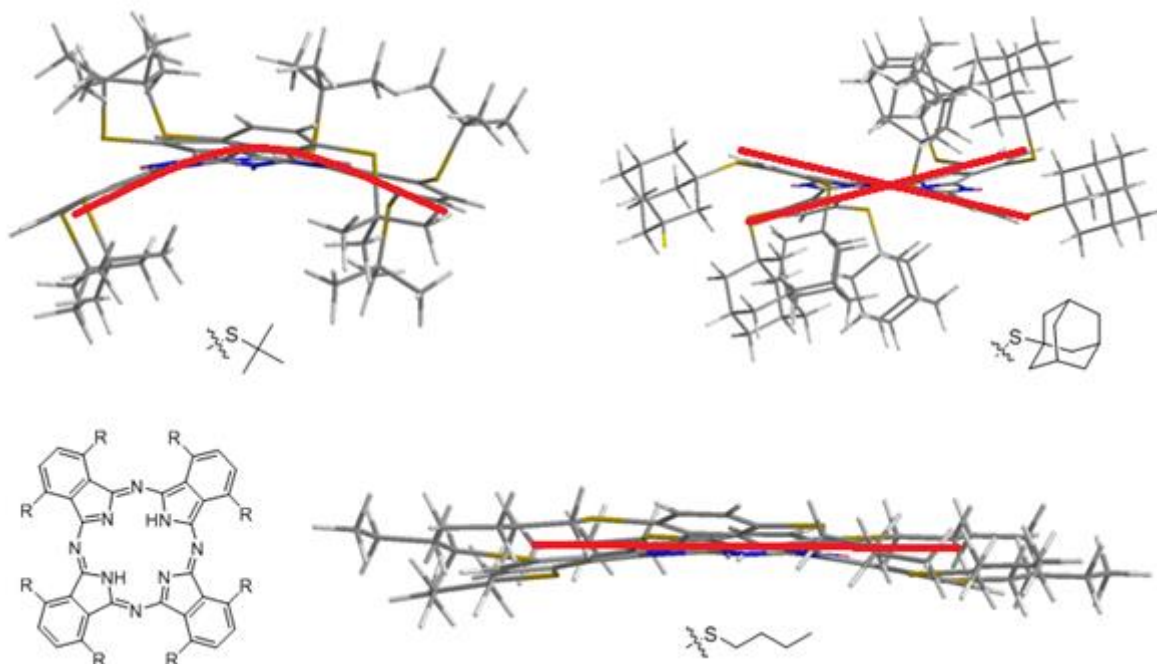
U hořečnatých makrocyclů lze pozorovat, že aryl-substituované deriváty mají o něco vyšší kvantový výtěžek fluorescence než alkylsulfanylsubstituované deriváty.

Výsledky měření absorpčních spekter ukazují, že zástupci hořečnatých komplexů absorbují v oblasti kolem 780 nm, pouze nejobjemnější *tert*-butylsulfanylový derivát **f** kolem 724 nm, což je výrazný posun ke kratším vlnovým délkám o 60 nm. Podobný posun lze pozorovat i u bezkovových derivátů, všechny mají hlavní absorpční maximum v oblasti kolem 800 nm a menší posun ke kratším vlnovým délkám spatřujeme u *tert*-butylsulfanylového derivátu Pc **f** a **4b** (viz Obrázek č. 14).



Obr. č. 14: Posun absorpčních spekter – k nejvýraznějšímu posunu ke kratším vlnovým délkám dochází u červeně znázorněného *tert*-butylsulfanylového derivátu Pc

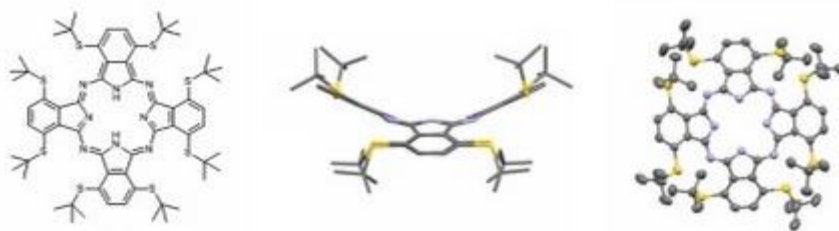
Důvodem, proč mají látky v sérii různé spektrální vlastnosti by mohlo být, že u objemnějších substituentů dochází k vytočení substituentu nad a pod rovinu makrocyclu. Z tohoto důvodu se nemusí zapojit do konjugovaného systému molekuly a absorpce se posune ke kratším vlnovým délkám. Jiným vysvětlením by mohlo být, že díky objemnosti substituentů dochází pravděpodobně k narušení planarity makrocyclů. Butylsulfanylový Pc **d** je téměř planární, zavedením objemnějšího *tert*-butylsulfanylu **f** vzniká sedlové uspořádání Pc. Při zavedení ještě objemnějšího substituentu **b** je makrocyclus ještě více deformován. (viz Obrázek č. 15)



Obrázek č. 15: Vliv objemnosti substituentu na planaritu makrocyklu

Na podobné téma byl krátce před dokončením této diplomové práce publikován článek, který popisuje přípravu bezkovových derivátů a jehož autoři se snažili najít vztahy mezi objemností substituentu a spektrálními vlastnostmi. Tato práce porovnává pouze dva typy substituentů, a to *n*-hexyl a *tert*-butyl (**f**), proto její závěry nemusí být jednoznačné. (35)

Rentgenografická studie obsažená ve zmiňovaném článku ukazuje výraznou distorzi Pc s *tert*-butylsulfanylovými neperiferními substituenty. (viz Obrázek č. 16) Zároveň autoři zjistili, že distorze makrocyklu v prostoru zhoršuje zapojení benzenových jader do jeho konjugace, což vede k posunu absorpčního spektra o 55 nm směrem ke kratším vlnovým délkám. (35)



Obrázek č. 16: Narušení planarity u Pc s *tert*-butylsulfanovým substituentem **f** a jeho krystal (35)

Sérii Pc s třemi typy objemných neperiferně vázaných substituentů připravenou kolegy v AzaPc laboratoři tato práce rozšiřuje o další tři typy substituentů (zahrnující kromě alkylsulfanylových skupin i arylsulfanylové) Pc, proto by mohla přinést podrobnější a názornější data pro popsání vlastností těchto sloučenin.

9 ZÁVĚR

V rámci mé diplomové práce byly připraveny tyto meziprodukty a prekurzory pro Pc:

- adamantan-1-thiol (**b**)
- 2,3-dikyan-1,4-fenylen bis(4-methylbenzensulfonát) (**1**)
- 3,6-bis(fenylsulfanyl)ftalonitril (**2a**)
- 3,6-bis(adamant-1-ylsulfanyl)ftalonitril (**2b**)
- 3,6-bis(2,6-dimethylfenylsulfanyl)ftalonitril (**2c**)

Cyklotetramerizací prekurzorů byly připraveny a izolovány:

- hořečnatý Pc **3a** a **3c**
- bezkovový Pc **4a**, **4b** a **4c**
- zinečnatý Pc **5a** a **5c**

Připravené Pc byly charakterizované těmito analýzami: NMR, IR a MS.

Finální makrocyclické látky byly studovány z hlediska fotofyzikálních vlastností, byly u nich stanoveny kvantové výtěžky fluorescence a singletového kyslíku a absorpční maxima s příslušnými extinkčními koeficienty.

Z výsledků je patrné, že hořečnaté deriváty vykazují kvantové výtěžky fluorescence 0,10-0,17 a kvantové výtěžky produkce singletového kyslíku 0,47-0,51, zatímco zinečnaté mají nízkou fluorescenci (0,053-0,080), za to poměrně vysoké kvantové výtěžky produkce singletového kyslíku (0,74-0,76). Bezkovové deriváty mají řádově kvantové výtěžky poměrně nízké ve srovnání s odpovídajícími komplexy kovů. Poloha absorpčních maxim je výrazně ovlivněna objemností periferního substituentu, nicméně jednoznačné vysvětlení tohoto jevu zatím nebylo nalezeno.

10 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. WÖHRLE D., SCHNURPFEIL G., MAKAROV S. G., KAZARIN A., SUVOROVA O. N. Practical Applications of Phthalocyanines. *Macroheterocycles.*, **2012**, vol. 5, no. 3, p. 191-202. ISSN: 1998-9539.
2. CLAESSENS C. G., HAHN U., TORRES T. Phthalocyanines: From outstanding electronic properties to emerging applications. *Chem. rec.*, **2008**, vol. 2, no. 8, p. 75-97. ISSN: 1527-8999.
3. CASTANO A. P., DEMIDOVÁ T. N., HAMBLIN M. R. Mechanism in photodynamic therapy: Part one - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2004**, vol. 4, no. 1, p. 279-293. ISSN: 1572-1000.
4. CHAMBRIER I., COOK J. M., WOOD T. P. Conformationally stressed phthalocyanines: the non-planarity of the 1,4,8,11,15,18,22,25-octaisopentyl derivative. *Chem. commun.*, **2000**, vol. 21, s. 2133-2134.
5. KOČÁREK E., PÁNEK M., NOVOTNÁ D. *Klinická cytogenetika I.: Úvod do klinické cytogenetiky: vyšetřovací metody v klinické cytogenetice*. 1. vydání; Praha: Karolinum, **2006**, s. 22-26. ISBN 80-246-1069-8.
6. VALEUR B., BERBERAN-SANTOS M. N. *Molecular fluorescence: Principles and Applications*. 4th ed.; Wiley-VCH: Weinheim, **2013**, s. 1-15. ISBN 978-3-527-32846-8.
7. FIŠAR Z. *Fluorescenční spektroskopie v neurověděch: Principy fluorescenční spektroskopie*. [online]. [cit.2015-02-03]. Dostupné z: <http://psych.lf1.cuni.cz/fluorescence/Default.htm>. ISSN: 1803-6619.
8. PROSSER V. *Experimentální metody biofyziky*. 1. vyd; Praha: Academia, **1989**, s. 384-392.
9. ŠIMSA D., SKOPAL J. Chemická luminiscence luminolu a jeho syntéza ze snadno dostupných chemikálií. *Chem. Listy.*, **2008**, roč. 102, s. 1017-1019.
10. LAKOWICZ J. R., *Principles of fluorescence spectroscopy*. 3rd ed.; Springer: New York, **2006**, p. 1-6. ISBN: 03-873-1278-1.
11. McClure D. S. *J. Chem. Phys.*, **1949**, vol. 17, p. 905-913.
12. TUHL A., MAKHSEED S., ZIMCIK P., AL-AWADI N., NOVAKOVA V., SAMUEL J. Heavy metal effects on physicochemical properties of non-aggregated azaphthalocyanine derivatives. *J. Porphyrins Phthalocyanines.*, **2012**, vol. 7-8, no. 16, s. 817-825. ISSN: 1088-4246.

13. SVEC J., ZIMCIK P., NOVAKOVA L., RAKITIN O. A., AMELICHEV S. A., STUZHIN P. A., NOVAKOVA V. 1,2,5-Chalcogenadiazole-Annulated Tripyrazinoporphyrazines: Synthesis, Spectral Characteristics and Influence of the Heavy Atom Effect on Their Photophysical Properties. *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, vol. 3, p. 596-604.
14. KLOUDA P. *Moderní analytické metody*. 2. upr. a dopl. vyd., **2003**, s. 82-83. ISBN: 80-863-6907-2.
15. PAVLÍK D. *Meření spektrálních charakteristik fluorescenčních napětově-citlivých barviv*. Brno, **2009**. Bakalářská práce. VUT v Brně, FEKT. Vedoucí práce PROVAZNÍK I.
16. MURAMOTO K., KAMIYA H., KAWAUCHI H. a MEGURO H. High performance liquid chromatography of fluorescein isothiocyanate isomers and intermediate products. *Anal. Sci.*, **1985**, vol. 5, no. 1, s. 447-450. ISSN: 0910-6340.
17. BRYCHTOVÁ S., HLOBILKOVÁ A. *Histopatologický atlas*. 1. vyd. Praha: Grada, **2008**, 112 s. ISBN 978-80-247-6723-9.
18. LAVIS L. D., RAINES R. T. Bright ideas for chemical biology. *ACS Chem. Biol.*, **2008**, vol. 3, no. 3, p. 142-155. ISSN: 1554-8929.
19. NOVÁK J., BASAŘOVÁ G., FIALA J., DOSTÁLEK P. Průtoková cytometrie ve výzkumu kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a její aplikace v praxi. *Chem. Listy*, **2008**, 102, str. 183-187.
20. ROPP R., *Luminescence and the Solid State*. **2004**, p. 332. ISBN: 978-0-444-51661-9.
21. ALTENBACH H. J., *Methods of organic chemistry: Additional and supplementary volumes to the 4th edition: Heterenes IV.*, **1998**, vol. E 9d, p. 717-719. ISBN: 3-83-101614-0.
22. MCKEE T., MCKEE J. R., *Biochemistry: The molecular basis of life*. 5th; New York, Oxford : Oxford University Press, **2014**, p. 163. ISBN: 978-0-19-931670-0.
23. GARRETT R. H., GRISHAM CH. M., *Biochemistry*. 5th; BrooksCole, **2013**, p. 687. ISBN: 1-133-10629-3.
24. ZIMCIK P., Azaftalocyaniny – od syntéz přes fotochemické a fotofyzikální vlastnosti k aplikacím. *Chem. Listy*, **2012**, sv. 106, str. 275-282.
25. MAKHSEED S., IBRAHIM F. SAMUEL J., HELLIWELL M., WARREN J. E., BEZZU C. G., MCKEOWN N. B., *Chem. Eur. J.*, **2008**, vol. 14. ISSN: 0947-6539.
26. ZIMCIK P., MILETIN M., MUSIL Z., KOPECKY K., KUBZA L., BRAULT D., Cationic azaphthalocyanines bearing aliphatic tertiary amino substituents – Synthesis, singlet oxygen

production and spectroscopic studies. *J. Photochem. Photobiol*, **2006**, vol. 183, no. 1-2, p. 59-69. ISSN: 1010-6030.

27. MØRKVED E. H., AFSETH N. K., KJØSEN H. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2006**, vol. 10, p. 1301-1308. ISBN: 1088-4246.

28. MINGLIANG H., XUEJUN Z., XIAOXIA Z., CHAOQIANG L., BAIQING Z., QIAOLING L. Azo-coupled zinc phthalocyanines. *Polyhedron*, **2015**, vol. 85, p. 864-873. ISSN: 0277-5387.

29. BURNHAM P. M., COOK M. J., LEE A. G., GERRARD L. A., HEENEY M. J., HUGHES D. L. Structural characterisation of a red phthalocyanine. *Chem. Commun.*, **2003**, vol. 16, p. 2064-2065.

30. OGUNBAYO T. B., NYOKONG T. Phototransformation of 4-nitrophenol using Pd phthalocyanines supported on single walled carbon nanotubes. *J. Mol. Catal. A: Chem*, **2011**, 337, p. 68-76. ISSN: 1381-1169.

31. SAKAMOTO K., OHNO-OKUMURA E., KATO T., SOGA H. Synthesis of near-infrared absorbed metal phthalocyanine with S-aryl groups at non-peripheral positions. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2010**, vol. 14, no. 47, p. 47-54. ISSN: 1088-4246.

32. SAKAMOTO K., FURUYA N., SOGA H., YOSHINO S. Cyclic voltammetry of non-peripheral thioaryl substituted phthalocyanines. *Dyes Pigm.*, **2013**, 96, p. 430-434. ISSN: 0143-7208.

33. NOVÁKOVÁ V., ZIMČÍK P., SUCHÁNEK J., LANG K., ZELINGER Z., KUBÁT P. Photophysical properties of CdSe Quantum Dot Self-Assemblies with Zinc Phthalocyanines and Azaphthalocyanines. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2013**, 12, p. 743-750. ISSN: 1474-905X.

34. KOBAYASHI N., FURUYAMA T., SATOH K. Rationally designed phthalocyanines having their main absorption band beyond 1000 nm. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, p. 19642-19645. ISSN: 0002-7863.

35. ZORLU Y., KUMRU U., ISCI Ü., DIVRIK B., JEANNEAU E., ALBRIEUX F., DEDE Y., AHSEN V., DUMOULIN F. 1,4,8,11,15,18,22,25-Alkylsulfanyl phthalocyanines: effect of macrocycle distortion on spectroscopic and packing properties. *Chem. Commun.*, **2015**, 51, p. 6580-6583.

36. LEZNOFF C. C., D'ASCANIO A., YILDIZ Z. Phthalocyanine formation using metals in primary alcohols at room temperature. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2000**, vol. 4, no. 1. ISSN: 1088-4246.

37. MHULLARA K. K., AUER L. Carbon-Sulfur Cleavage of 1-Adamantyl Sulfides. *J. Org. Chem.*, **1971**, vol. 36, no. 20, p. 3038.