

UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA FARMACEUTICKÉ CHEMIE A KONTROLY  
LÉČIV



**DISERTAČNÍ PRÁCE**

(soubor publikovaných vědeckých prací doplněný komentářem)

Vliv strukturních aspektů na fotofyzikální vlastnosti ftalocyaninů



Mgr. Antonín Cidlina

Vedoucí disertační práce:  
Odborný konzultant

doc. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.  
doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.

Hradec Králové 2017

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

V Hradci Králové, 2017

.....

Mgr. Antonín Cidlina

Na tomto místě bych rád poděkoval zejména mému školiteli doc. Pharm.Dr. Petru Zimčíkovi, Ph.D. a mé školitelce specialistece doc. Pharm.Dr. Veronice Novákové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, za vytvoření přátelské atmosféry po celou dobu mého studia a v neposlední řadě za pomoc se sepsáním této disertační práce.

Dále bych chtěl poděkovat všem kolegům z Katedry farmaceutické chemie a kontroly léčiv a zejména pak kolegům naší pracovní skupiny a to jmenovitě PharmDr. Miroslavu Miletínovi, Ph.D., PharmDr. Kamilovi Kopeckému, Ph.D., Mgr. Lence Váchové, Mgr. Lukášovi Lochmanovi a Mgr. Honzovi Švecovi, Ph.D. za vytvořené příjemné pracovní prostředí. Velké díky patří i kolegům z Katedry anorganické a organické chemie za pomoc s řešením některých syntetických problémů. Dále děkuji všem přátelům a kamarádům z FaF UK V Hradci Králové za všechny strávené chvíle.

Děkuji i rodičům a bratru Davidovi za podporu ve studiu a také Adélce.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantů a programů:

- Grant GAUK 57810/B-CH/FaF UK 2010-2012
- Grant GA UK 1182313 /B-CH/FaF 2013-2015
- Grant GA UK 1916214 /C-C1/FaF 2014-2016
- Grant GAČR 13-27761S
- Projekt Pre-seed II CZ.1.05/3.1.00/14.0299.
- Grant SVV 260 401

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: **Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv**

Kandidát: **Mgr. Antonín Cidlina**

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

Konzultant: **doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.**

Název práce: **Vliv strukturních aspektů na fotofyzikální vlastnosti ftalocyaninů**

Ftalocyaniny (Pc) a jejich azaanalogy tetrapyrazinoporfyraziny (TPyzPz) jsou makrocyclické planární látky s 18 delokalizovanými  $\pi$ -elektrony. Právě kvůli tomuto rozsáhlému systému dvojných vazeb vynikají svými absorpčními, fotofyzikálními i elektrochemickými parametry, pro které jsou hojně využívány v různých aplikacích (např. fotodynamická terapie, katalyzátory, tekuté krystaly, solární články). Pro každou aplikaci je však zapotřebí jiných vlastností molekuly, které lze významně ovlivnit periferní substitucí a typem centrálního kationtu kovu.

První část disertační práce je vyvrcholením rozsáhlé systematické studie zkoumání vlivu strukturních faktorů na účinnost intramolekulárního přenosu náboje (ICT) u TPyzPz, který je zodpovědný za výrazné snížení fotofyzikálních parametrů a to kvantového výtěžku singletového kyslíku ( $\Phi_{\Delta}$ ) a fluorescence ( $\Phi_F$ ). Nejprve jsme se zaměřili na vliv periferních substituentů na efektivitu ICT. Byla připravena série látek s periferními substituenty s různými elektronovými efekty, které byly vybrány na základě hodnot Hammettovy konstanty  $\sigma_p$  pro konkrétní či strukturně blízké substituenty. Bylo pozorováno, že efektivita ICT významně roste s rostoucí elektronegativitou substituentu. Zároveň bylo zjištěno, že povaha substituentu významně ovlivňuje i acidobazické vlastnosti azomethinových atomů dusíku a že jejich protonizace vede k poklesu hodnot fotofyzikálních parametrů takřka k nule. Tohoto poznatku jsme využili v další studii, která popisuje vliv délky spojovacího konjugovaného řetězce mezi donorovou (*N,N*-dimethylamino skupina) a akceptorovou částí molekuly (makrocycklus). Závěrem této studie bylo, že účinnost ICT u TPyzPz klesá s rostoucí vzdáleností akceptoru od donoru. Také jsme zde navrhli pH senzory pro úzkou oblast pH s unikátním

mechanismem přepínání na základě dvou na sobě nezávislých zhášecích principů a to jak v organickém rozpouštědle (THF), tak i ve vodném prostředí po jejich zakotvení do lipozomů.

Druhá část disertační práce se zabývá strukturními vlivy na absorpční a fotofyzikální vlastnosti neperiferně substituovaných Pc. U látky substituované stericky objemnými *tert*-butylsulfanylovými substituenty byl pozorován výrazný hypsochromní posun Q-pásu v porovnání s méně objemnými neperiferně substituovanými Pc, což se vymyká dříve publikovaným faktům. Zároveň bylo zjištěno, že elektronový efekt substituentu výrazně ovlivňuje acidobazické vlastnosti azomethinových atomů dusíku. Proto byla v další studii připravena série látek s periferně i neperiferně vázanými substituenty a tyto látky jsme dále studovali. U této série Pc byl popsán vliv polohy a povahy substituentu na bazicitu azomethinových dusíků Pcs na základě stanovených  $\log K_1$ .

# ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department: **Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control**

Candidate: **Mgr. Antonín Cidlina**

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

Consultant: **doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.**

Title of the Thesis: **Influence of structural aspects on photophysical properties at phthalocyanines**

Phthalocyanines (Pc) and their aza-analogues tetrapyrazinoporphyrazines (TPyzPz) are macrocyclic compounds with 18 delocalized  $\pi$ -electrons. The large conjugated system of double bonds imparts them unique spectral, photophysical and electronic properties which can be tuned by peripheral substitution or/and central metal cation. They found their use in several areas such as photodynamic therapy, catalyst, liquid crystals and solar cells.

The first part of this doctoral thesis describes the influence of structural aspects on effectiveness of intramolecular charge transfer (ICT) at TPyzPz. ICT is responsible for considerable decrease of photophysical parameters of TPyzPz – quantum yields of singlet oxygen ( $\Phi_{\Delta}$ ) and fluorescence ( $\Phi_{\text{F}}$ ). At first, we focused on the effect of the electronic properties of peripheral substituents attached on macrocycle core on ICT efficiency in TPyzPz. The series of TPyzPz with various peripheral substituents was designed and prepared. Peripheral substituents were chosen with the respect to their electronic effect described by Hammett substituent constant  $\sigma_{\text{p}}$ . We have found out that the effectiveness of the ICT significantly depended on the electron-accepting properties of the core. Increase of ICT efficiency was directly proportional to electron-withdrawing character of the substituents. Simultaneously, it was disclosed that the basicity of azomethine nitrogen can be affected by character of the peripheral substitution. Significant suppression of photophysical properties was observed after protonization of azomethine. In the following study, we prepared series of TPyzPzs with *N,N*-dimethylamino group attached to the core via  $\pi$ -conjugated linker of different length. In this study, we described the influence of a distance between donor and acceptor for

ICT on its efficiency. Obviously, increasing length of linker between donor and acceptor moiety caused the suppression of ICT. Based on this, we designed pH indicators operating through unique OFF-ON-OFF principle based on combination of two different quenching principles. Sensing properties of novel indicators were studied in organic as well as in water medium after incorporation to liposomes.

Second part of my doctoral thesis is focused on the investigation of the structure relationship in non-peripherally substituted Pc. Non-peripherally substituted Pc with sterically hindered *tert*-butylsulfanyl substituents showed unexpected hypsochromic shift of Q-band in comparison with others Pcs in the studied series. Moreover, substantial effect of substituents nature on basicity of azomethine nitrogens was observed. Finally, the series of non-peripherally and peripherally substituted Pcs was prepared and studied from acido-basic point of view. The influence of position and type of substituent attached to macrocyclic core on azomethine basicity based on determined  $\log K_1$  was described.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Seznam zkratk</b> .....	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Cíl disertační práce</b> .....	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>Současný stav poznání</b> .....	<b>13</b>
3.1	Příprava prekurzorů.....	14
3.2	Cyklotetramerizace prekurzorů.....	17
3.3	Absorpční vlastnosti ftalocyaninů.....	19
3.4	Fotofyzikální vlastnosti.....	21
3.4.1	Mezistýmový přechod.....	23
3.4.2	Fluorescence.....	23
3.4.3	Přenos náboje PET a ICT.....	26
<b>4</b>	<b>Metodická část</b> .....	<b>30</b>
4.1	Měření kvantového výtěžku singletového kyslíku.....	30
4.2	Měření kvantového výtěžku fluorescence.....	31
<b>5</b>	<b>Výsledky a diskuze</b> .....	<b>32</b>
5.1	Studie strukturních vlivů na efektivitu přenosu ICT u TPyzPz.....	32
5.1.1	Vliv periferní substituce na účinnost přenosu ICT u TPyzPz [P1].	32
5.1.2	Vliv délky spojovacího řetězce mezi akceptorem a donorem elektronů na mohutnost ICT [P2].....	39
5.2	Příprava a hodnocení neperiferně substituovaných Pc.....	48
5.2.1	Hodnocení vlivu alkylsulfanyl a arylsulfanyl substituentů vázaných neperiferně na spektrální, fotofyzikální a acidobazické vlastnosti Pc [P3].....	49
5.2.2	Vliv polohy a povahy substituentu na bazické vlastnosti azomethinových atomů dusíku u Pc [P4].....	55
<b>6</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>Seznam publikovaných prací</b> .....	<b>65</b>
<b>8</b>	<b>Seznam použité literatury</b> .....	<b>69</b>
<b>9</b>	<b>Seznam příloh</b> .....	<b>80</b>



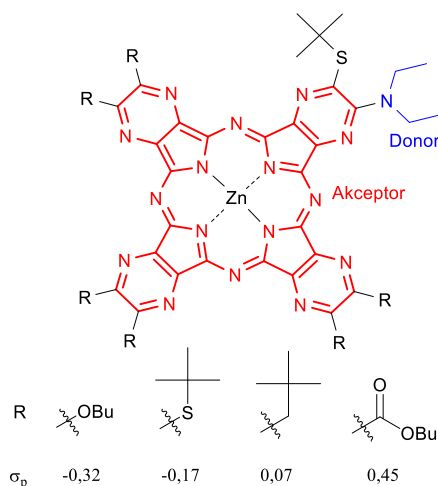
## 1 Seznam zkratek

Ac	anthrakocyaniny (anthracocyanine)
AzaPc	azaftalocyaniny (azaphthalocyanine)
CT komplex	„charge transfer“ komplex
CS	„charge separated state“
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DFT	density functional theory
DPBF	1,3-difenylisobenzofuran
HOMO	nejvyšší obsazený molekulový orbital (highest occupied molecular orbital)
IC	vnitřní konverze (internal conversion)
ICT	intramolekulární přenos náboje (intramolecular charge transfer)
LG	odstupující skupina (leaving group)
LUMO	nejnižší neobsazený molekulový orbital (lowest unoccupied molecular orbital)
NATA	<i>N</i> -acetyltryptofanamid
Nc	naftalocyaniny (naphthalocyanine)
Pc	ftalocyaniny (phthalocyanine)
PDT	fotodynamická terapie (photodynamic therapy)
PET	světlem vyvolaný přenos elektronu (photoinduced energy transfer)
RET	rezonanční přenos energie (resonance energy transfer)
TDDFT	time-dependent density functional theory

TFA	kyselina trifluoroctová (trifluoroacetic acid)
THF	tetrahydrofuran
TPyzPz	tetrapyrazinoporfyraziny (tetrapyrazinoporphyrazine)

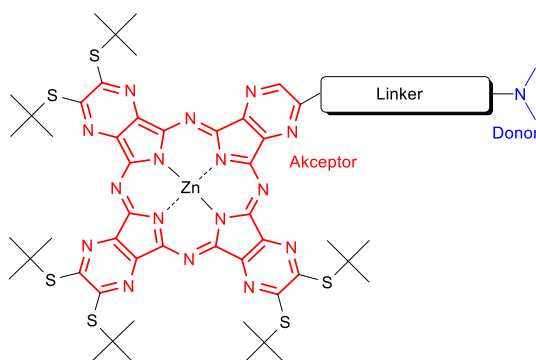
## 2 Cíl disertační práce

Ftalocyaniny (Pc) a jejich azaanalogy tetrapyrazinoporfyraziny (TPyzPz) mají kvůli svému makrocyklu zajímavé absorpční i fotofyzikální parametry, pro které jsou studovány v mnoha odvětvích. V předchozích letech byla v naší pracovní skupině pozorována situace, kdy po navázání (di)alkylamino skupiny na periferii makrocyklu TPyzPz docházelo k výraznému snížení, ba úplnému vymizení, jeho fotofyzikálních parametrů jako je kvantový výtěžek fluorescence a singletového kyslíku.<sup>1</sup> Dalšími studii bylo zjištěno, že důvodem tohoto jevu je intramolekulární přenos náboje (intramolecular charge transfer, ICT) a že jej lze sterickým bráněním, protonizací či koordinací periferní alkylamino skupiny blokovat, což vedlo k obnovení fotofyzikálních vlastností.<sup>2-4</sup> Zde se zrodila myšlenka nové aplikace pro TPyzPz, a to jejich využití jako fluorescenční senzory.



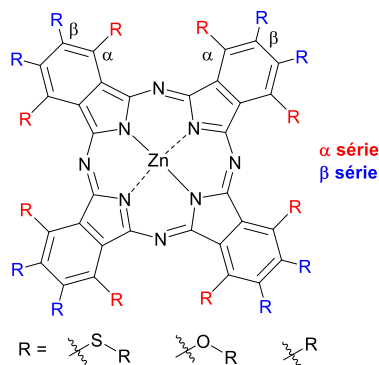
Obrázek 1. Obecná struktura studovaných látek s rozdílnou periferní substitucí.

V první části mé disertační práce jsem se proto zabýval studiem vlivu periferní substituce makrocyklu (Obrázek 1) a délky spojovacího řetězce mezi dialkylamino skupinou (donorem) a makrocyklem (akceptorem) na účinnost ICT u TPyzPz (Obrázek 2). Jednalo se o navázání na předchozí systematickou studii k objasnění strukturálních vlivů na ICT u TPyzPz. Nabyté poznatky pak byly zohledněny v návrhu nových pH senzorů na bázi TPyzPz s principem přepínání OFF-ON-OFF.



Obrázek 2. Obecná struktura studovaných látek s různou délkou spojovacího řetězce (linkeru) mezi donorem a akceptorem.

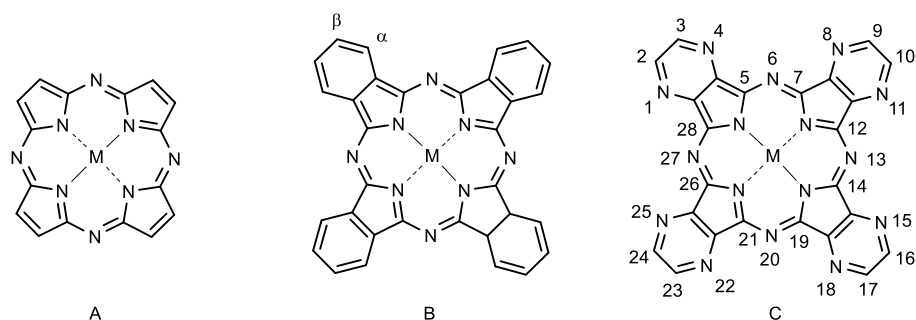
Periferní substituce makrocyklu je hlavním nástrojem k ovlivnění fotofyzikálních vlastností Pc a TPyzPz. V Pc makrocyklu lze ale mimo povahy substituentů měnit i jejich polohu. V dostupné literatuře bylo mnohokrát popsáno, že u neperiferně substituovaných Pc (polohy  $\alpha$ ; Obrázek 3) je pozorován posun maxima Q-pásu v absorpčním spektru k červené oblasti v porovnání s periferně substituovanými Pc, což je výraznou výhodou pro některé aplikace (např. ve fotodynamické terapii).<sup>5-8</sup> Bylo dále zjištěno, že neperiferně substituované oktaalkoxy Pc se vyznačují neobvykle bazickými azomethinovými dusíky.<sup>9</sup> V druhé části mé práce jsem se proto zaměřil na studium vlivu substituentů vázaných v neperiferních polohách ( $\alpha$ ) na absorpční a fotofyzikální vlastnosti Pc a také na jejich vliv na bazicitu azomethinových atomů dusíku.



Obrázek 3. Obecná struktura studovaných neperiferně ( $\alpha$ ) a periferně ( $\beta$ ) substituovaných ftalocyaninů.

### 3 Současný stav poznání

Pc jsou intenzivně zabarvené synteticky připravované planární makrocyklické látky. Nesubstituovaný Pc byl poprvé připraven v laboratoři Brauna a Tcherniaca v roce 1907 jako neznámý vedlejší produkt při syntéze *o*-kyanobenzamidu.<sup>10-11</sup> Detailní studie zaměřená na syntézu a charakterizaci Pc a jejich dusíkatých analogů azaftalocyaninů (AzaPc) byla vydána v roce 1933 Linsteadem. Zde také poprvé zazněl název ftalocyanin.<sup>12</sup> Jejich struktura je odvozená od přírodních porfyrinů. Čtyři pyrrolové jednotky spojené azomethinovými můstky s přikondenzovanými benzenovými cykly vytvářejí rozsáhlý konjugovaný systém dvojných vazeb s 18-ti delokalizovanými  $\pi$ -elektrony. Nesubstituovaný Pc je však kvůli své planární struktuře a vysoké lipofilitě prakticky nerozpustný ve všech běžných rozpouštědlech. Koordinace vhodného centrálního atomu do centra makrocyklu a substituce periferních (2, 3, 9, 10, 16, 17, 23 a 24;  $\beta$  – polohy) či neperiferních (1, 4, 8, 11, 15, 18, 22 a 25;  $\alpha$  – polohy) poloh makrocyklu (Obrázek 4) patří mezi dvě nejpoužívanější metody, kterými lze významně modifikovat absorpční, fyzikální, fotofyzikální i elektrochemické vlastnosti celé molekuly specificky pro konkrétní aplikaci. Právě kvůli těmto vlastnostem společně s vysokou stabilitou vůči teplotě mohou Pc najít širokou škálu využití. A to jako fotosenzitizéry pro fotodynamickou terapii,<sup>13-14</sup> fluorescenční sondy,<sup>15-16</sup> tekuté krystaly,<sup>17-18</sup> materiály pro nelineární optiku,<sup>19-20</sup> solární panely<sup>21</sup> a v neposlední řadě také jako katalyzátory.<sup>22-23</sup>



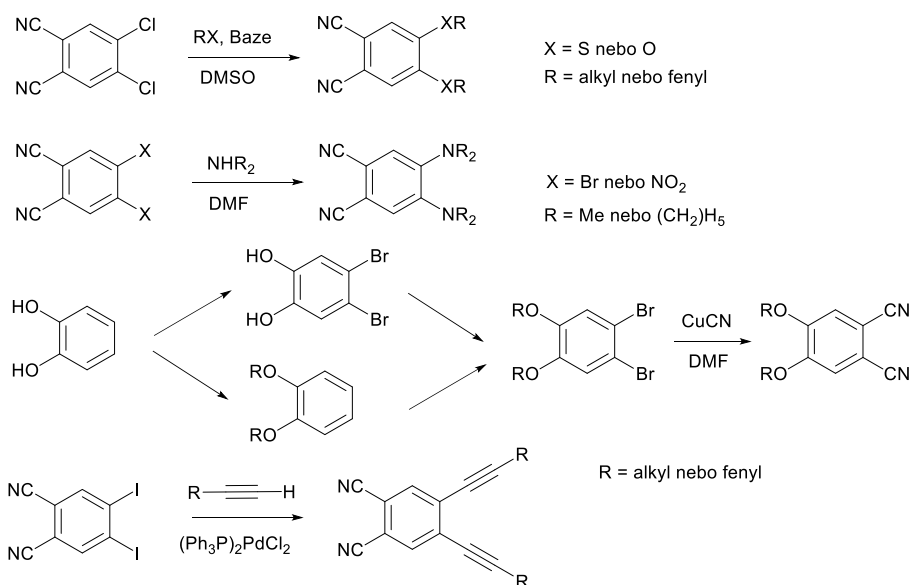
Obrázek 4. Struktura porfyrinu (A), ftalocyaninu (B) a tetrapyrzinoporfyrazinu (C). M = centrální kation kovu nebo 2H.

Izosterní záměnou benzenových jader za pyrazinové heterocykly vznikají tetrapyrzinoporfyraziny z široké rodiny AzaPc. Touto záměnou dochází k modulaci jejich vlastností, které budou popsány dále v jednotlivých kapitolách. Určitou nevýhodou této izosterní záměry může být pak mírně větší tendence k agregaci AzaPc, která může být vhodnou volbou periferních substituentů potlačena.<sup>11</sup>

### 3.1 Příprava prekurzorů

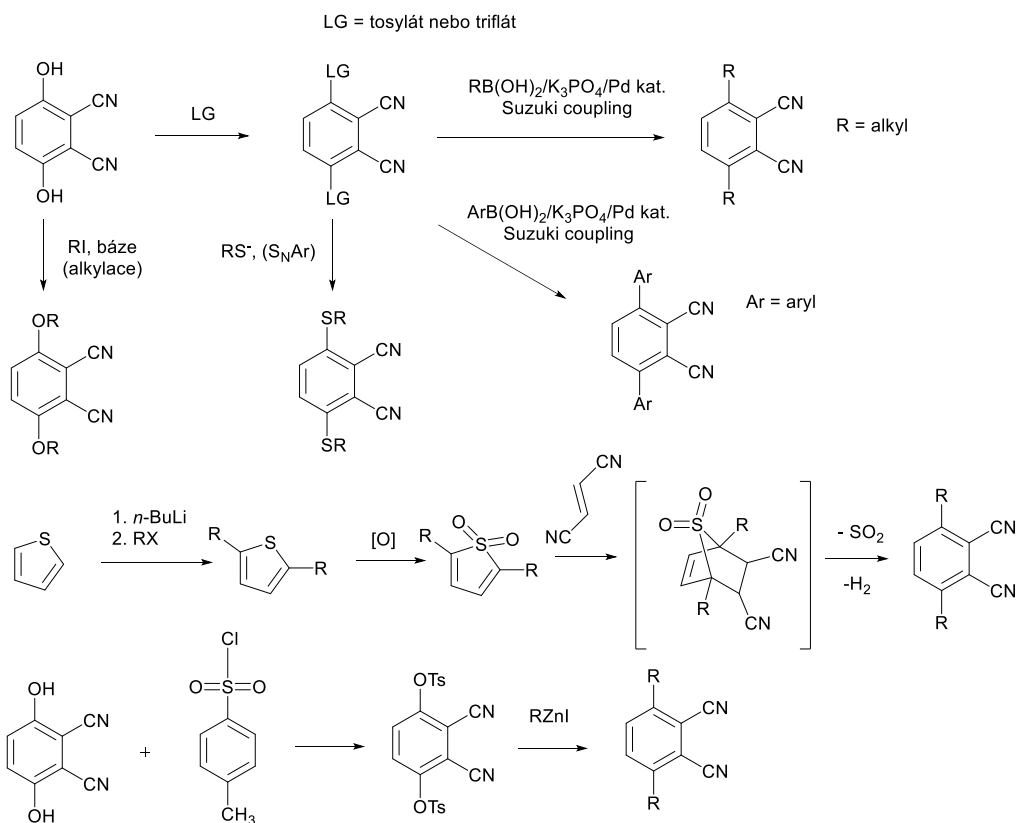
Příprava Pc a TPyzPz vychází z vhodně substituovaných výchozích látek, takzvaných prekurzorů. Zatímco syntéza makrocyklu (Pc / TPyzPz) je v obou případech shodná a probíhá za stejných podmínek, příprava výchozích látek pro jejich syntézu vyžaduje v některých případech postup odlišný. Prekurzory pro Pc tvoří velkou skupinu různě substituovaných derivátů kyseliny ftalové (např. anhydrid, ftalimid, 1,3-diiminoisoindol, *o*-kyanobenzamid),<sup>11</sup> přičemž nejčastěji používanými jsou různě substituované deriváty ftalonitrilu. Byl publikován nespočet různých syntetických postupů jak tyto vhodně substituované prekurzory připravit. Avšak nejčastěji používanou výchozí látkou se staly komerčně dostupné ftalonitrily substituované halogenem či nitroskupinou.

Připravit alkylsulfanyl- či arylsulfanyl 4,5-disubstituované prekurzory lze pomocí reakce 4,5-dichlorftalonitrilu s vhodným nukleofilem pomocí nukleofilní substituce.<sup>24</sup> Ta probíhá poměrně snadno ve vysokých výtěžcích v přítomnosti baze (nejčastěji K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) v aprotickém polárním rozpouštědle (dimethylsulfoxid (DMSO), dimethylformamid (DMF)). Alkoxy- a aryloxy- deriváty ftalonitrilů se připravují nejčastěji alkylační reakcí fenolické skupiny<sup>25</sup> a aromatickou nukleofilní substitucí.<sup>26</sup> Alkoholáty jsou však slabými nukleofily a nukleofilní substituce probíhá ve srovnání s thioláty v nižších výtěžcích, proto dochází často k alkylaci nesubstituovaných fenolů a nitrilové skupiny se do molekuly zavádí až později, např. Rosenmund-von Braunovou konverzí *o*-halogenů na nitrilové skupiny pomocí CuCN. Cross-couplingové reakce jsou dalšími postupy syntézy požadovaných prekurzorů využívající se pro tvorbu vazeb C-C (Obrázek 5).<sup>7, 27</sup> Příprava dialkylamino-4,5-disubstituovaných ftalonitrilů probíhá zpravidla v malých výtěžcích a pro jejich přípravu se často používají substituované ftalonitrily bromem nebo nitroskupinou.<sup>28</sup>



Obrázek 5. Příklady syntetických postupů pro 4,5-disubstituované deriváty ftalonitrilů.

Příprava arylheteroatom- či alkylheteroatom 3,6-disubstitovaných ftalonitrilů často vychází z 2,3-dikyanohydrochinonu, který je převeden reakcí s *p*-toluensulfonyl chloridem či anhydridem kyseliny trifluormethansulfonové na odpovídající tosylát respektive trifluormethansulfonát. Tyto skupiny jsou dobrými odstupujícími skupinami (leaving group, LG) a jsou vhodnými výchozími látkami pro nukleofilní substituci s odpovídajícím nukleofilem<sup>29-30</sup> nebo pro cross-couplingové reakce.<sup>30</sup> Tímto způsobem lze připravit alkylsulfanyl-, arylsulfanyl-, alkyl- anebo aryl- substituované ftalonitrily (Obrázek 6). Alkylace 2,3-dikyanohydrochinonu lze využít pro přípravu alkoxy derivátů. V případě alkylamino derivátů je nukleofilní substituce velice obtížná a 3,6-disubstituované deriváty ftalonitrilu dosud nebyly připraveny. Diels-Alderova reakce a cross-couplingové reakce lze s výhodou použít pro přípravu alkyl derivátů ftalonitrilů.<sup>31</sup>

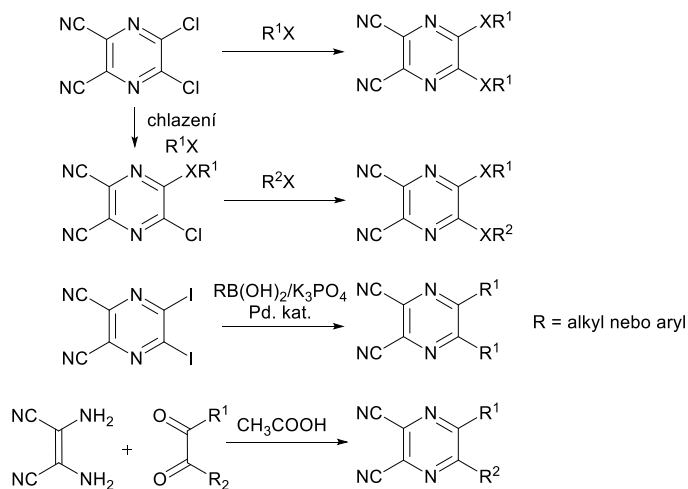


Obrázek 6. Příprava 3,6-disubstituovaných ftalonitrilů za použití různých reakčních mechanismů.

Pro přípravu TPyzPz se používají vhodně substituované pyrazin-2,3-dikarbonitrily z nichž je nejčastější komerčně dostupný 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitril. Snížená elektronová hustota na uhlících 5 a 6 způsobená záporným mezomerním efektem nitrilových skupin a záporným indukčním efektem dusíkových atomů pyrazinového cyklu je dělá velmi vhodnými výchozími látkami pro nukleofilní substituci.<sup>32</sup> Nukleofilní substitucí lze, jak je popsáno výše u prekurzorů pro Pc, připravit širokou škálu alkylheteroatom či arylheteroatom substituovaných pyrazin-2,3-dikarbonitrilů (alkyloxy-<sup>33</sup> aryloxy-<sup>34</sup> alkylsulfanyl,<sup>35</sup> arylsulfanyl-<sup>36</sup> alkylamino-<sup>37</sup>). Při použití ekvimolárního množství nukleofilu za současného chlazení reakční směsi lze připravit také monosubstituované prekurzory. Ty poté můžeme použít v reakci s jiným nukleofilem a tak připravit nesymetricky substituované prekurzory (Obrázek 7).<sup>4</sup> Další důležitou reakcí je kondenzace 2,3-diaminomaleonitrilu s vhodně substituovaným 1,2-diketonem v kyselém prostředí, která vede k přípravě prekurzorů se substituenty v polohách 5 a 6 vázanými C-C vazbou.<sup>38</sup> K tvorbě C-C vazby je možné opět využít cross-couplingových reakcí na halogen substituovaných pyrazin-2,3-dikarbonitrilech.<sup>39</sup> Tyto možnosti nabízejí prakticky neomezenou variabilitu periferních substituentů. Téma syntézy různých



substituovaných pyrazin-2,3-dikarbonitrilů bylo dopodrobna rozebráno v nedávno publikovaném přehledovém článku.<sup>40</sup>



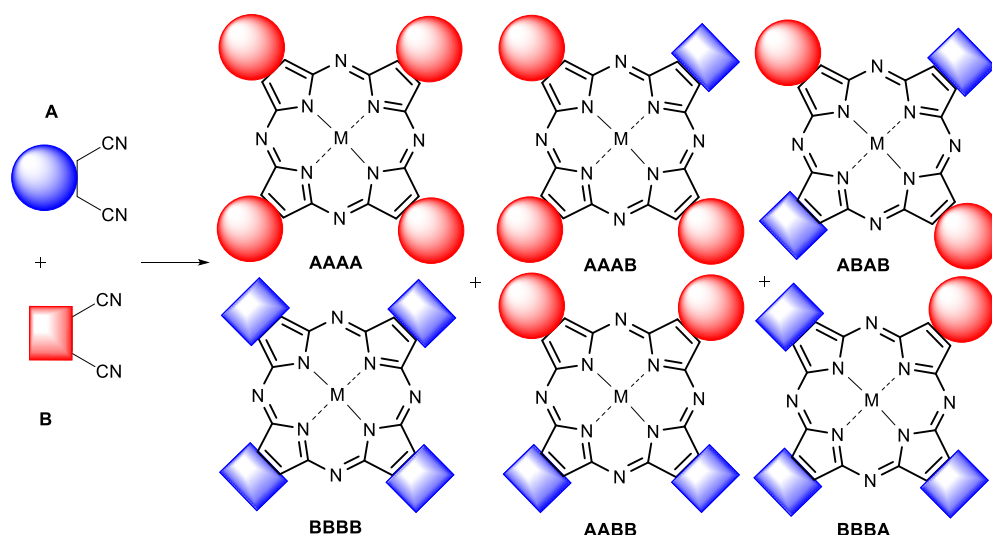
Obrázek 7. Nejčastější způsoby přípravy substituovaných pyrazin-2,3-dikarbonitrilů, kde X je S, N nebo O, R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> jsou alkyl nebo aryl.

### 3.2 Cyklotetramerizace prekurzorů

Cyklizační reakcí vhodně substituovaných prekurzorů lze připravit odpovídající Pc / TPyzPz. Existují v podstatě dvě základní možnosti, jak tyto molekuly připravit. Jednou z nich je takzvaná Linsteadova metoda, která je iniciována alifatickým alkohólem kovu.<sup>41</sup> Alkoholát se nejčastěji připravuje působením alkalického kovu nebo kovu alkalických zemin na příslušný alifatický alkohol v bezvodém prostředí. Často používanými jsou butanolát hořečnatý či lithný, který je jedním z nejreaktivnějších iniciátorů cyklotetramerizační reakce vůbec. Také lze příslušný alkoholát připravit i působením silné organické báze jako je například 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU).<sup>42</sup> V reakční směsi pak tento alkoholát atakuje elektrondeficitní uhlík nitrilové skupiny ftalonitrilu za vzniku intermediátu, který v dalším kroku reakce atakuje další molekulu ftalonitrilu. Tímto způsobem postupně dochází k postupnému uzavření makrocycly složeného ze čtyř molekul prekurzoru. Určitou nevýhodou této metody může být případ cyklotetramerizace alkyloxy- či aryloxy- substituovaných prekurzorů pro TPyzPzs s výrazně elektrondeficitními uhlíky 5 a 6, kde dochází k transterifikaci periferního substituentu za alkoxy skupiny z použitého iniciátoru.<sup>33</sup> V některých případech lze této vedlejší reakce použít dokonce cíleně k tvorbě nesymetricky substituovaných TPyzPz.<sup>43</sup>

Druhou používanou metodou cyklotetramerizace je metoda templátového efektu kationtu kovu. Zahříváním prekursoru společně se solí kovu v zpravidla bezvodém vysokovroucím rozpouštědle (DMF, chinolin, pyridin) dochází ke koordinaci čtyř jednotek prekursoru k příslušnému kationtu kovu. Prekuzory se tak za vysoké teploty přiblíží dostatečně k sobě a dojde tak k formaci makrocyklu.<sup>44</sup>

Do cyklotetramerizační reakce může vstupovat pouze jeden prekuzor poskytující symetricky substituovaný makrocykl. V případě, kdy do reakce vstupují prekuzory dva (prekuzor A a prekuzor B), dochází ke vzniku směsi šesti různě substituovaných makrocyklů (AAAA, AAAB, ABAB, AABB, ABBA a BBBB), tzv. kongenerů. Tento způsob přípravy nesymetrického Pc/TPyzPzs je nazýván statistickou kondenzací (Obrázek 8). Výtěžnost požadovaného kongeneru lze zvýšit vhodným poměrem výchozích látek a poté jej ze směsi chromatograficky oddělit.<sup>45-46</sup>



Obrázek 8. Statistická kondenzace prekursoru A a B, kde M je kation kovu nebo 2H.

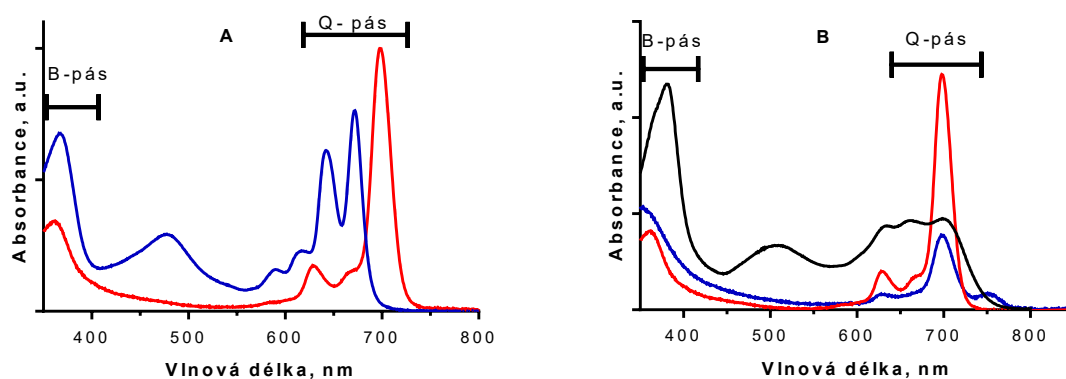
Podle zvolené soli kovu je připraven odpovídající kovový komplex makrocyklu. Racionální výběr centrálního kationtu kovu, včetně polohy a povahy periferních substituentů, je důležitým nástrojem k ovlivnění konečných vlastností makrocyklu (absorpční, fotofyzikální i elektrochemické), které budou probrány dále. Centrální kavita makrocyklu jak Pc tak TPyzPz je schopná vázat jeden nebo dva centrální atomy až 70-ti různých atomů kovu nebo dva atomy vodíku. Pokud jsou v centru makrocyklu vázány atomy vodíku je takový makrocyklus nazýván bezkovovým derivátem.<sup>11, 47</sup> Některé kationty kovu (Li, Mg) jsou v centru makrocyklu vázány slabě a lze je snadno vytěsnit působením kyseliny. Tento postup je často používán pro přípravu bezkovových

derivátů Pc, které lze dále využít pro přípravu požadovaného komplexu koordinací jiného kationtu. Pro výzkum vlastností Pc a TPyzPz se v naší výzkumné skupině osvědčily komplexy hořečnaté a zinečnaté, o kterých bude pojednávat i tato práce.

### 3.3 Absorpční vlastnosti ftalocyaninů

Pc a TPyzPz jsou pro svůj rozsáhlý konjugovaný systém dvojných vazeb významným chromoforem. V absorpčním spektru v ultrafialové oblasti je pro ně charakteristický vysokoenergetický B-pás (také známý jako Soretův pás) v oblasti 320 – 370 nm, který je u všech látek typu Pc a TPyzPz téměř neměnný. Ve viditelné oblasti spektra v rozmezí 630 – 800 nm je nízkoenergetický Q-pás typický pro každou studovanou látku.<sup>47-48</sup> Tento výrazný absorpční pás s vysokým molárním extinkčním koeficientem ( $\epsilon$ ) je připisován  $\pi - \pi^*$  interakci (HOMO/LUMO) a je také zodpovědný za charakteristickou modrozelenou barvu těchto látek.<sup>48</sup> U TPyzPz je Q-pás v porovnání s Pc posunut k modré oblasti přibližně o 50 nm.<sup>49-50</sup> Tento jev byl podpořen teoretickými výpočty, kde atomy dusíku v pyrazinových podjednotkách TPyzPz stabilizují molekulové orbitály HOMO více než LUMO.<sup>51</sup> Symetrické kovové komplexy Pc / TPyzPz mají ostrý Q-pás díky termodynamicky stabilní symetrické formě  $D_{4h}$ . Jakékoliv porušení této symetrie, ať už vlivem rozdílných substituentů vázaných na makrocyclopus nebo dvou atomů vodíku vázaných do kavity makrocyclopu u bezkovových derivátů (změna symetrie z  $D_{4h}$  na  $D_{2h}$ ),<sup>48</sup> vede k rozštěpení Q-pásu (Obrázek 9). U alkylamino- substituovaných TPyzPz se v rozmezí přibližně 430 – 500 nm objevuje typický absorpční pás pro  $n - \pi^*$  interakci volných elektronových párů atomů dusíku.<sup>4, 32</sup> Tvar a posun Q- pásu je výrazně závislý na centrálním atomu kovu, periferní substituci, velikosti konjugovaného systému a v menší míře také na použitém rozpouštědle.

Centrální atomy kovu, které nemají plně obsazené valenční orbitály ( $Fe^{II}$ ,  $Co^{II}$ ,  $Ru^{II}$ ) interagují s makrocyclopus. Výsledkem této interakce je posun Q-pásu k modré oblasti 630 – 650 nm. Pc s centrálními atomy kovu s plně obsazenými valenčními orbitály ( $Li^I$ ,  $Mg^{II}$ ,  $Zn^{II}$ ) mají Q-pás v oblasti okolo 670 nm.<sup>47</sup> Jsou známy Pc s centrálním kationtem  $Mn^{II}$ , kde maximum Q-pásu ( $\lambda_{max}$ ) dosahuje hodnot 808 - 828 nm.<sup>52</sup> Vliv na posun Q-pásu má koordinační stav centrálního kovu a také jeho oxidační stav.<sup>47, 53</sup>



Obrázek 9. A: absorpční spektrum monomerního kovového komplexu (červená) a bezkovového derivátu (modrá). B: Absorpční spektrum monomerního kovového komplexu (červená), protonizovaná forma kovového komplexu (modrá) a spektrum agregovaného kovového komplexu Pc (černá).

Změna typu a povahy periferní substituce je nejčastější a také nejúčinnější způsob ovlivnění vlastností Pc a TPyzPz. Periferní substituce makrocyklu vychází z pravidla z použitých prekurzorů. Substituenty vázané na makrocyklus lze rozdělit podle jejich donor-akceptorových vlastností na elektron donorové (alkoxy-, alkylamino-, alkylsulfanyl- nebo alkyl-) a elektron akceptorové (nitro-, karboxy-, sulfonyl-, fluor-). V případě Pc také záleží na poloze daných substituentů. Výrazného posunu  $\lambda_{\max}$  k červené oblasti je dosaženo u neperiferně ( $\alpha$ ) substituovaných Pc v porovnání s Pc s periferně ( $\beta$ ) vázanými substituenty.<sup>5</sup> U alkylsulfanyl neperiferně substituovaných kovových komplexů Pc je možné pozorovat Q-pás dokonce až v oblasti nad 800 nm.<sup>24, 47</sup> Volbou vhodného substituentu (prostorově objemný substituent<sup>6, 54</sup> nebo substituent nesoucí náboj<sup>55-56</sup>) může být také potlačena agregace Pc a TPyzPz do dimerů, trimerů a vyšších oligomerů, která je způsobena silnými  $\pi - \pi$  interakcemi mezi plochými molekulami makrocyklů.<sup>11</sup> Agregace je u Pc a TPyzPz všeobecně vnímána jako spíše negativní jev, kdy dochází k výrazným změnám v Q-páse absorpčního spektra (Obrázek 9) a výraznému potlačení fotofyzikálních parametrů (kvantový výtěžek singletového kyslíku a kvantový výtěžek fluorescence).

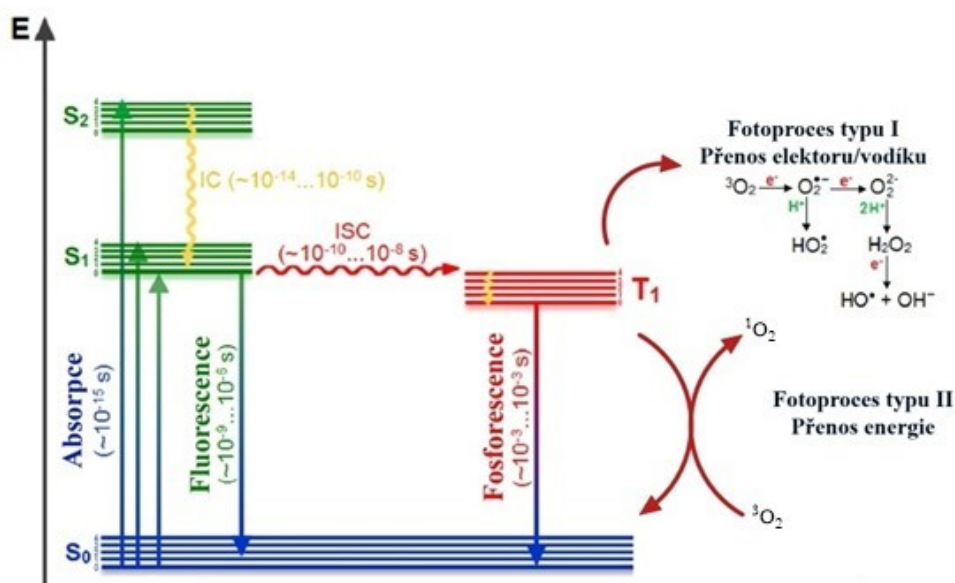
Rozšíření konjugovaného systému dvojných vazeb nabízí další možnost ovlivnění absorpčních vlastností. Anelací benzenových či naftalenových kruhů do periferních poloh Pc vznikají naftalocyaniny (Nc) resp. anthrakocyaniny (Ac), u kterých dochází k posunu Q-pásu k červené oblasti viditelného spektra do rozmezí 750 – 840 nm resp. 830 – 935 nm.<sup>50, 57</sup> Bylo pozorováno, že každá další anelace benzenového kruhu k makrocyklu Pc způsobí bathochromní posun o 20 – 30 nm. Víceméně stejné závislosti

byly pozorovány také u TPyzPz. Anelací benzenového kruhu do makrocyklu TPyzPz vznikají tetra[6,7]chinoxalinoporfyraziny s maximem Q-pásu v rozmezí 730 - 770 nm.<sup>58-59</sup> Podle dřívější studie má anelace benzenového kruhu do makrocyklu TPyzPz za následek bathochromní posun o 22 nm.<sup>60</sup>

Nejmenší vliv na posun  $\lambda_{\max}$  ve spektru má rozpouštědlo, ve kterém je látka rozpuštěna. Tento jev je popisován jako solvatochromní posun a je obvykle připisován specifickým interakcím mezi molekulami rozpouštěné látky a interakcemi mezi rozpouštěnou látkou a rozpouštědlem. Míra vlivu solvatochromního posunu je pak přímo závislá na síle těchto interakcí. Tyto interakce zahrnují tvorbu vodíkových vazeb, acidobazické interakce a tvorba takzvané charge transfer interakce.<sup>61</sup> Příkladem může být rozvolnění agregátů bezkovových derivátů Pc a TPyzPz v pyridinu, DMSO či DMF tvorbou proton transfer komplexu s  $D_{4h}$  symetrií.<sup>44, 62</sup> Dřívější studie zohledňuje také přímou závislost solvatochromního efektu na indexu lomu rozpouštědla.<sup>63</sup>

### 3.4 Fotofyzikální vlastnosti

Procesy, které v molekule nastanou mezi absorpcí kvanta energie a návratem molekuly do základního stavu, jsou často interpretovány pomocí Jablonského diagramu (Obrázek 10). Na diagramu jsou znázorněny singletové stavy  $S_0$ ,  $S_1$  a  $S_2$ , kde každý z nich může existovat v několika vibračních energetických hladinách (0, 1, 2, 3 a 4). Po absorpci světla o vhodné vlnové délce dochází k excitaci molekuly ze základního stavu  $S_0$  do vyšších vibračních hladin excitovaných stavů  $S_1$  nebo  $S_2$ . V tomto okamžiku, až na výjimky, dochází zpravidla k intenzivním interakcím mezi okolními částicemi, což má za následek relaxaci na nejnižší možnou vibrační hladinu excitovaného stavu  $S_1$ . Tento proces je nazýván vnitřní konverze (IC). Je relaxačním nezářivým dějem a trvá  $10^{-14} - 10^{-10}$  s.



Obrázek 10. Modifikovaný Jablonského diagram (převzato a upraveno z: DĄBROWSKI, J. M.; PUCELIK, B.; REGIEL-FUTYRA, A.; BRINDELL, M.; MAZURYK, O.; KYZIOŁ, A.; STOCHEL, G.; MACYK, W.; ARNAUT, L. G. Engineering of relevant photodynamic processes through structural modifications of metallotetrapyrrolic photosensitizers. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, 325, 67-101).

Ze stavu S<sub>1</sub> se molekula může dostat do základního singletového stavu S<sub>0</sub> několika způsoby:

Zářivé procesy:

- Fosforescence
- Fluorescence

Nezářivé procesy:

- Mezisystémový přechod
- Ztráta tepla
- Přenos elektronu (RET, ICT, PET)

Všechny zářivé i nezářivé relaxační procesy z excitovaného stavu S<sub>1</sub>, které jsou uvedeny výše, jsou k sobě kompetitivní. Vhodnou volbou strukturálních fragmentů či přítomností např. těžkého atomu lze konkrétní mechanismus zhášení upřednostnit na úkor jiných.

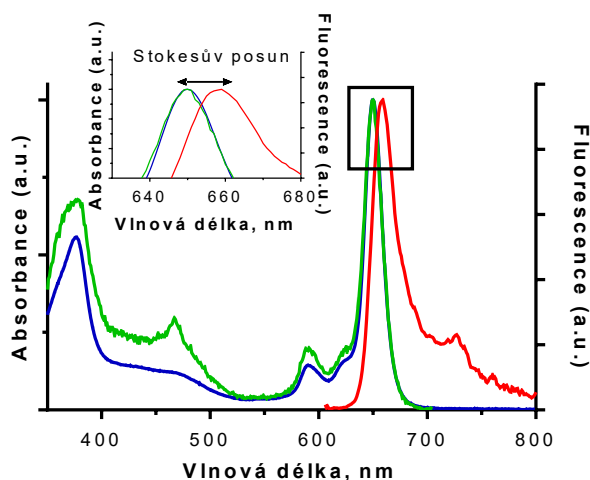
### 3.4.1 Mezisystémový přechod

Mezisystémový přechod je přechod z excitovaného singletového stavu  $S_1$ , do tripletového stavu  $T_1$ . Elektrony v singletovém stavu jak základním tak i excitovaném mají opačný spin (Pauliho vylučovací princip). Během mezisystémového přechodu dochází k inverzi jednoho z vnějších elektronů singletového stavu a tak má tripletový stav paralelní uspořádání spinů. Tento přechod proto patří mezi děje spinem zakázané a trvá o několik řádů pomaleji než fluorescence ( $10^{-3}$  -  $10^0$  s). Molekuly, které ve své struktuře obsahují atom bromu nebo jodu, mezisystémový přechod usnadňují. Tento jev je vysvětlen přítomností spin-orbitových interakcí a s rostoucí silou těchto interakcí (se stoupajícím atomovým číslem) roste i pravděpodobnost mezisystémového přechodu. Tento efekt jako první popsal McClure v roce 1949 a nazval ho efektem těžkého atomu (z anglického „heavy atom effect“).<sup>64</sup> Je tedy zřejmé, jak bylo naznačeno výše, že volbou vhodného centrálního atomu kovu (atomovou hmotností) v případě Pc nebo TPyzPz lze ovlivnit jejich finální fotofyzikální vlastnosti. Z excitovaného tripletového stavu se může molekula vrátit do stavu základního vyzářením fotonu ve formě fosforescence s dobou trvání v řádu milisekund až sekund. V porovnání s fluorescencí probíhá s nižší energií a tedy při delších vlnových délkách. Molekula v tripletovém stavu může také interagovat s jinými molekulami v tripletovém stavu, např. s molekulárním kyslíkem, ze kterého tak vzniká jeho reaktivní singletová forma (Obrázek 10). Tento singletový kyslík je pak hlavním cytotoxickým působkem, který je využíván ve fotodynamické terapii (PDT) za použití Pc a jejich analogů.<sup>14, 65-68</sup>

### 3.4.2 Fluorescence

Fluorescence je fyzikálně chemický děj, při kterém dochází k relaxaci molekuly z excitovaného stavu  $S_1$  na některou z vyšších energetických hladin základního stavu  $S_0$ . Tento proces, který trvá  $10^{-9}$  –  $10^{-6}$  s, je provázen vyzářením fotonu. Protože je výše zmíněný proces vnitřní konverze řádově rychlejší než fluorescence, molekula se před vyzářením fotonu nachází, až na výjimky, v nejnižší vibrační hladině excitovaného stavu  $S_1$  (Kashovo pravidlo). Po vyzářením fotonu se z vyšších vibračních hladin základního stavu  $S_0$  vrací zpět vnitřní konverzí do nejnižší vibrační hladiny stavu  $S_0$ .<sup>69</sup> Díky vnitřní konverzi dochází ke ztrátě vibrační energie. Emise fotonů tak probíhá s nižší energií a vyšší vlnovou délkou než absorpce fotonů. Tento rozdíl mezi maximy absorpčních a emisních spekter je nazývá Stokesův posun (Obrázek 11, detail v Obrázku). Zajímavým faktem je, že u většiny organických látek je emisní spektrum zrcadlovým

obrazem absorpčním spektru (Obrázek 11). Tento jev je vysvětlován stejným geometrickým uspořádáním atomových jader v základním i excitovaném stavu.<sup>69</sup>



Obrázek 11. Emisní (červená), excitační (zelená) a absorpční spektrum (modrá) kovového komplexu Pc.

Dvěma nejdůležitějšími charakteristikami fluorescence je kvantový výtěžek fluorescence ( $\Phi_F$ ) a doba života fluorescence ( $\tau_F$ ). Kvantový výtěžek fluorescence ( $\Phi_F$ ) je definován jako podíl počtu emitovaných fotonů ( $n_e$ ) k počtu absorbovaných fotonů ( $n_a$ ) (rovnice 1).

$$\phi_F = \frac{n_e}{n_a} \quad (1)$$

Dá se také určit z rychlostních konstant podílejících se procesů, jak znázorňuje rovnice (2).<sup>69</sup>

$$\phi_F = \frac{\Gamma}{\Gamma + k_{nr}} \quad (2)$$

kde  $\Gamma$  je rychlostní konstanta emise fluoroforu a  $k_{nr}$  je rychlostní konstanta všech nezářivých procesů. Hodnota kvantového výtěžku fluorescence je vždy menší než 1 kvůli Stokesovu posunu. Doba života fluorescence ( $\tau_F$ ) je definována jako průměrný čas, který molekula stráví v excitovaném stavu před emisí fotonu a je dána rovnicí 3.<sup>69</sup>

$$\tau_F = \frac{1}{\Gamma + k_{nr}} \quad (3)$$

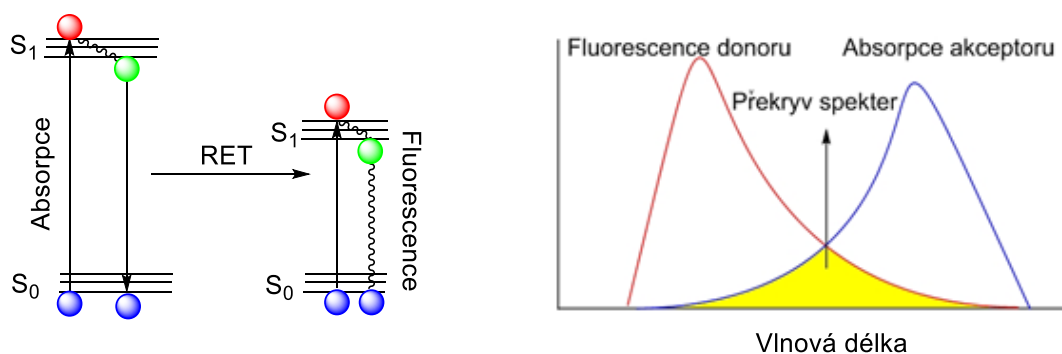
#### Zhášení fluorescence

Intenzitu fluorescence mohou snižovat různé molekulární interakce. Takový jev je nazýván zhášení fluorescence. Mezi tyto procesy lze zařadit reakce excitovaných stavů,



tvorbu komplexů základních stavů molekul (statické zhášení), přenos energie a kolizní zhášení neboli dynamické zhášení. Jak u statického i dynamického zhášení fluorescence je vyžadována interakce mezi fluoroforem a zhášečem. Pro statické zhášení je typické vytvoření komplexu mezi fluoroforem a zhášečem, který zůstává po absorpci světla v základním stavu  $S_0$ . U statického zhášení dochází tedy k chemické změně fluoroforu ještě před absorpcí světla, což má za následek změnu v absorpčním spektru. U kolizního typu dochází k tvorbě komplexu fluoroforu a zhášeče až během doby života excitovaného stavu molekuly a zpět do základního stavu  $S_0$  se vrací bez vyzáření fotonu a beze změny v absorpčním spektru studované látky.<sup>69</sup> Dalším způsobem snížení intenzity fluorescence je samozhášení, kdy dochází ke zhášení fluoroforu jím samotným. Tento jev se objevuje zejména při vysokých koncentracích fluoroforu ve zkoumaném vzorku.<sup>70</sup>

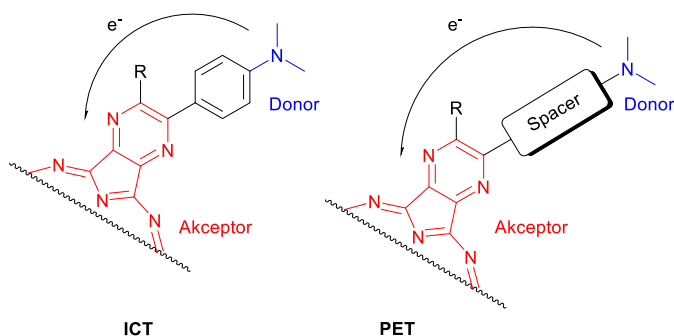
Dalším důležitým způsobem zhášení je přenos energie RET (z anglického Resonance energy transfer). K němu dochází vždy, když se emisní spektrum fluoroforu, nazývaného donor, překrývá s absorpčním spektrem jiné molekuly, zvané akceptor. RET snižuje intenzitu fluorescence donoru a přenáší energii na akceptor. Výsledkem je, že excitovaný elektron donoru se po interakci s akceptorem vrací do základního stavu a zároveň elektron akceptoru přechází do excitovaného stavu (Obrázek 12). Pokud je akceptor fluoroforem dochází k vyzáření fotonu, pokud není, z excitovaného stavu se na stav základní dostává jiným způsobem, např. vyzářením tepla. Mechanismus zhášení zůstává v obou případech stejný.<sup>69</sup> V literatuře se se můžeme setkat i s názvem fluorescenční (Försterův) rezonanční přenos energie (FRET). Přenosu energie se ale nezúčastní foton emitovaný donorem a ani nemusí být výsledkem emise fotonu absorbovaným akceptorem. Protože donor s akceptorem jsou spojeny interakcí dipól-dipól bez účasti fotonu, dává se přednost označení RET.<sup>69</sup>



Obrázek 12. Schématické znázornění principu RET. (převzato a upraveno z LAKOWICZ, J. R., *Principles of fluorescence spectroscopy*. 3. vyd.; Springer: New York, 2006. ISBN 978-0-387-46312-4).

### 3.4.3 Přenos náboje PET a ICT

Jiným způsobem zhášení singletového excitovaného stavu je světlem vyvolaný přenos náboje (PET, z anglického photo-induced electron transfer) a intramolekulární přenos náboje (ICT, z anglického intramolecular charge transfer).



Obrázek 13. Schématické znázornění přenosu elektronu mezi donorem a akceptorem pomocí PET nebo ICT u TPyzPz.

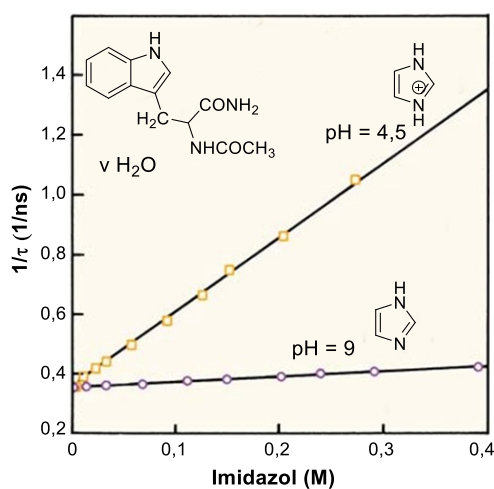
Při mechanismu zhášení PET dochází k tvorbě  $D^+A^-$  komplexu mezi elektron donorovým D a elektron akceptorovým centrem A, které nejsou v konjugaci. Tento tzv. „charge transfer (CT) komplex“ se může vrátit do základního stavu bez emise fotonu. V mechanismu PET může fluorofor vystupovat jako donor nebo jako akceptor elektronu. Směr přenosu náboje je dán redoxním potenciálem základního a excitovaného stavu. Nejčastějším případem nastává situace, kdy fluorofor vystupuje jako akceptor elektronu. Příkladem mohou být struktury s velkou elektronovou hustotou jako je *N,N*-dimethylanilin, který je donorem elektronů pro širokou škálu aromatických látek - akceptorů elektronů. Tento přenos je ještě více potencován v případě elektron deficitních aromatických systému (např. kyanonaftalenů).<sup>69</sup> Zhášení PET se objevuje také u přenosu elektronu z excitovaných fluoroforů na zhášeč. Jako příklad může sloužit přenos elektronu z excitovaných indolů na elektron deficitní imidazolinové nebo karbonylové zhášeče.<sup>71</sup>

Na rozdíl od PET, kdy k přenosu náboje dochází na určitou vzdálenost mezi akceptorem a donorem bez vzájemné konjugace, k přenosu ICT dochází v rámci jednoho aromatického systému nebo mezi dvěma strukturními systémy, které jsou ve vzájemné konjugaci. Obvykle bývá ICT pozorován u organických barviv obsahující ve své molekule jak elektron donorovou skupinu (nejčastěji dialkylamino skupina), tak elektron akceptorovou část molekuly (karbonyl, amid). Za těchto podmínek je molekula po excitaci polarizována a dochází tak k vytvoření

tzv. „charge separated state“ (CS) komplexu a ke zvýšení elektronové hustoty kolem akceptoru na úkor donoru.<sup>69-70</sup> Vhodnou volbou funkčních skupin akceptoru i donoru podle jejich redoxních potenciálů a vzájemnou vzdáleností mezi nimi, lze účinnost probíhajícího přenosu náboje pozitivně či negativně ovlivnit. Účinnost přenosu elektronu pomocí PET nebo ICT, a tedy i zhášení, lze na rozdíl od jiných typů zhášení popsaných výše, predikovat pomocí redoxních potenciálů fluoroforu a zhášeče dle základních principů elektrochemie. Studie přenosu elektronu obvykle probíhají v polárních rozpouštědlech (methanol, acetonitril, DMSO, DMF), ve kterých je přenos náboje podporován. Naopak je tomu v nepolárních rozpouštědlech, jako je například toluen.<sup>4, 72</sup>

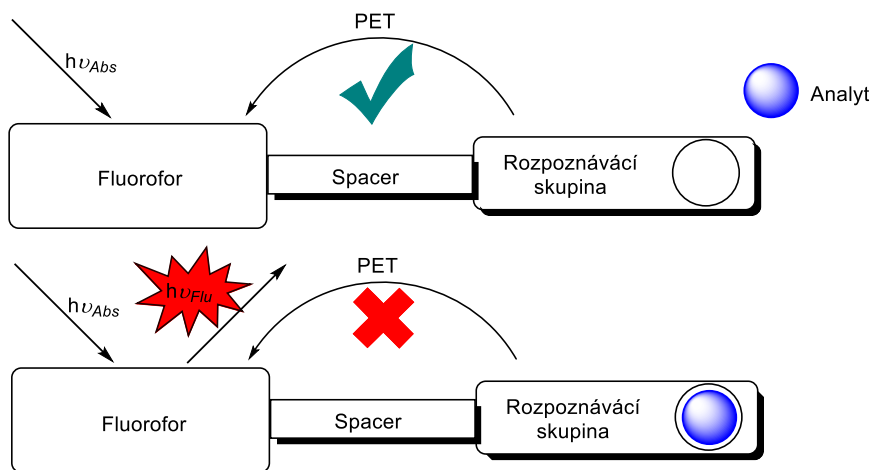
#### Využití PET a ICT

V posledních třech dekadách došlo k výraznému rozvoji fluorescenčních senzorů založených právě na principu PET nebo ICT.<sup>73</sup> Tyto mechanismy jsou široce využívány ke studiu makrobiomolekul (DNA, peptidů, lipoproteinů),<sup>74-75</sup> v biotechnologii<sup>76</sup> a detekci analytů.<sup>77</sup> Pro studium proteinů může být využívána fluorescence tryptofanu (komerčně používaný *n*-acetyltryptofanamid – NATA). V řetězci proteinu anantinu je přítomná aminokyselina histidin, která má ve svém postranním řetězci imidazol s hodnotou  $pK_a$  kolem 6,5. Ten může být protonizován či deprotonizován v závislosti na okolním pH a na náboji okolních aminokyselin. Při nízkých hodnotách pH dochází k výraznému snížení intenzity fluorescence (a doby života fluorescence), kvůli zhášení excitovaného indolového cyklu tryptofanu protonizovanou formou imidazolového cyklu histidinu<sup>75</sup> (Obrázek 14).



Obrázek 14. Zjednodušené schéma principu analýzy proteinu anantinu ve vodném roztoku, kde  $1/\tau$  je převrácená hodnota doby života NATA v přítomnosti proteinu obsahujícího imidazol (převzato a upraveno z LAKOWICZ, J. R., *Principles of fluorescence spectroscopy*. 3. vyd.; Springer: New York, 2006. ISBN 978-0-387-46312-4).

Velkou skupinou fluorescentních senzorů/přepínačů využívajících PET nebo ICT tvoří senzory pro kationty nebo anionty kovů.<sup>73, 78-81</sup> Obvykle je jejich struktura tvořena fluoroforem a tzv. rozpoznávací skupinou, která je schopná analyt vázat. Tyto dvě skupiny mohou být v přímém spojení nebo mezi ně může být vložený spojovací můstek většinou krátký alifatický spojovací řetězec (spacer).<sup>79</sup> Díky tomuto spaceru jsou fluorofor a rozpoznávací skupina separovány a jsou tak potlačeny interakce typu  $\pi - \pi^*$  a  $n - \pi^*$  v základním stavu  $S_0$ . Po rozpoznání analytu a excitaci molekuly dochází pouze ke změnám intenzity emisního spektra s minoritními nebo žádnými změnami v absorpčním spektru.<sup>82</sup> Tento typ uspořádání je původní studií de Silvy.<sup>83</sup> V práci se také zmiňuje o tzv. OFF / ON přepínači, který popisuje princip fungování takového senzoru. Ve stavu OFF není na rozpoznávací skupinu navázán žádný analyt a po excitaci dochází k PET / ICT a zhášení fluorescence fluoroforu – sensor je vypnutý. Zároveň ale musí splňovat podmínku, že energie excitovaného stavu musí být dostatečná pro k oxidaci rozpoznávací skupiny a redukci fluoroforu. Po navázání analytu do rozpoznávacího místa se zvýší její oxidační potenciál a sensor se dostává do stavu ON. Mechanismus PET / ICT je blokován a dochází tak k obnovení fluorescence fluoroforu – sensor je zapnutý<sup>79</sup> (Obrázek 15).



Obrázek 15. Schématické znázornění principu fungování fluorescenčních senzorů (převzato a upraveno z: DE SILVA, A. P.; GUNARATNE, H. Q. N.; GUNNLAUGSSON, T.; HUXLEY, A. J. M.; MCCOY, C. P.; RADEMACHER, J. T.; RICE, T. E. Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches. *Chem. Rev.* 1997, 97 (5), 1515-1566).

Pc a TPyzPz jsou právě díky elektrondeficitnímu charakteru makrocyklu pro tyto aplikace nadějným fluoroforem. Příkladem může být Pc jako sensor pro zinečnaté kationty.<sup>84</sup> Vzhledem k tomu, že makrocyklus TPyzPz obsahuje ve své struktuře atomy dusíku, jeho elektrondeficitní charakter je oproti makrocyklu Pc zesílen, a proto se zdá

být pro tyto aplikace daleko vhodnější. Dříve publikované práce ukázaly, že senzory s akceptorovou částí na bázi TPyzPz mohou být citlivými senzory pro ionty fluoridové,<sup>85</sup> některé alkalické kovy a kovy alkalických zemin,<sup>16, 86-87</sup> ale také senzory citlivé na pH prostředí.<sup>88-89</sup>

## 4 Metodická část

### 4.1 Měření kvantového výtěžku singletového kyslíku

Měření kvantového výtěžku singletového kyslíku ( $\Phi_{\Delta}$ ) Pc nebo TPyzPz bylo provedeno komparativní metodou měření rozkladu 1,3-difenyliisobenzofuranu (DPBF).<sup>49</sup> Obvykle bylo 2,5 ml roztoku DPBF v THF ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \times \text{dm}^{-3}$ ) převedeno do křemenné optické kyvety  $10 \times 10 \text{ mm}$  a následně byl roztok nasycen kyslíkem - po dobu jedné minuty byl roztok probubláván. Poté byl přidán připravený zásobní roztok zkoumané látky v THF (okolo 20  $\mu\text{l}$ ) tak, aby absorbance maxima Q-pásu zkoumané látky byla okolo 0,1. Celý tento proces byl prováděn za vyloučení světla. Poté byl roztok za stálého míchání ozařován světlem po definovaný čas (100 W, ozone-free XE DC short-arc lamp, Newport) přes vodní filtr (6 cm) a filtr OG530 cut-off filter (Newport). Uvedené filtry jsou při měření používány z důvodu zamezení rozkladu DPBF teplem a k odstranění světla s vlnovou délkou pod 532 nm. Pokles absorbance DPBF byl měřen při vlnové délce 414 nm. Kvantové výtěžky singletového kyslíku připravených látek byly vypočítány pomocí rovnice 4:

$$\Phi_{\Delta}^S = \Phi_{\Delta}^R \frac{k^S I_{aT}^R}{k^R I_{aT}^S} \quad (4)$$

kde  $k$  je směrnice závislosti  $\ln(A_0/A_t)$  na ozáření vzorku za čas  $t$ , kdy  $A_0$  a  $A_t$  jsou absorbance DPBF při vlnové délce 414 nm před a po ozáření měřeného vzorku v čase nula a v čase  $t$ . Indexy R označují referenční látku a S označují látku zkoumanou. Jako referenční látka byl použit nesubstituovaný zinečnatý ftalocyanin (ZnPc), u kterého je známa hodnota příslušného kvantového výtěžku ( $\Phi_{\Delta} = 0,53$  v THF<sup>90</sup>).  $I_{aT}$  je celkové množství světla absorbovaného zkoumanou resp. referenční látkou a bylo vypočteno jako suma intenzit absorbovaného světla  $I_a$  v rozmezí vlnových délek 532 nm až 900 nm (měřeno po 0,5 nm) pomocí Beerovy rovnice 5:

$$I_a = I_0 (1 - e^{-2,3A}) \quad (5)$$

kde  $I_0$  je transmitance filtru při dané vlnové délce a  $A$  je absorbance zkoumané látky při této vlnové délce. Všechny experimenty byly provedeny třikrát, aby se minimalizovala chyba a výsledný kvantový výtěžek zkoumané látky je průměrem těchto tří hodnot.

## 4.2 Měření kvantového výtěžku fluorescence

Měření kvantového výtěžku fluorescence ( $\Phi_F$ ) bylo provedeno komparativní metodou za použití nesubstituovaného ZnPc  $\Phi_{F(\text{THF})} = 0,32$  v THF<sup>91</sup> pomocí přístroje AMINCO Bowman Series 2 luminescence spectrometer. Jak referenční vzorek, tak vzorek zkoumané látky byl excitován při konkrétní vlnové délce (specifická pro každou publikovanou práci **P1** – **P4**). Absorbance při vlnové délce excitace byla pod hodnotou 0,015 a absorbance zkoumané látky v maximu Q-pásu pod 0,05, aby se zamezilo efektu vnitřního filtru. Hodnoty  $\Phi_F$  byly vypočítány dle rovnice 6.

$$\Phi_F^S = \Phi_F^R \frac{F^S}{F^R} \left( \frac{1-10^{-A^R}}{1-10^{-A^S}} \right) \left( \frac{n^S}{n^R} \right)^2 \quad (6)$$

kde  $F$  je integrovaná plocha pod emisním spektrem,  $A$  je absorbance při vlnové délce excitace a  $n$  je index lomu rozpouštědla. Indexy R označují referenční látku a S označují látku zkoumanou. Všechny experimenty byly provedeny třikrát, aby se minimalizovala chyba a výsledný kvantový výtěžek zkoumané látky je průměrem těchto tří hodnot.

Další typy měření jsou specifické pro každou práci a čtenář může detaily nalézt v publikovaných pracích, které jsou součástí této disertační práce jako přílohy **P1** – **P4**.

## 5 Výsledky a diskuze

Během svého doktorského studia na Katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv jsem se zabýval přípravou a hodnocením fotofyzikálních vlastností Pc a jejich azaanalogů TPyzPz. Tato práce je komentovanou disertační prací ke čtyřem publikovaným článkům, na kterých jsem uveden jako první autor. Pro snadnou orientaci v celé práci budou tyto publikace označeny jako přílohy **P1** – **P4**. Dále jsem spoluautorem jednoho patentu<sup>92</sup> a jedné práce, která vznikla z látek syntetizovaných a studovaných ještě během mé diplomové práce.<sup>93</sup> Protože se publikace **P1** – **P4** zabývají dvěma různými tématy, bude i tato práce členěna na dvě části. V první části budou komentovány dvě publikované práce **P1** a **P2**, které se zabývají studiem strukturálních vlivů na účinnost ICT u *N,N*-dialkylamino monosubstituovaných TPyzPz. Tématem části druhé budou další dvě publikace **P3** a **P4**, ve které bude popsána příprava neperiferně substituovaných Pc a studie jejich fotofyzikálních a acidobazických vlastností.

### 5.1 Studie strukturních vlivů na efektivitu přenosu ICT u TPyzPz

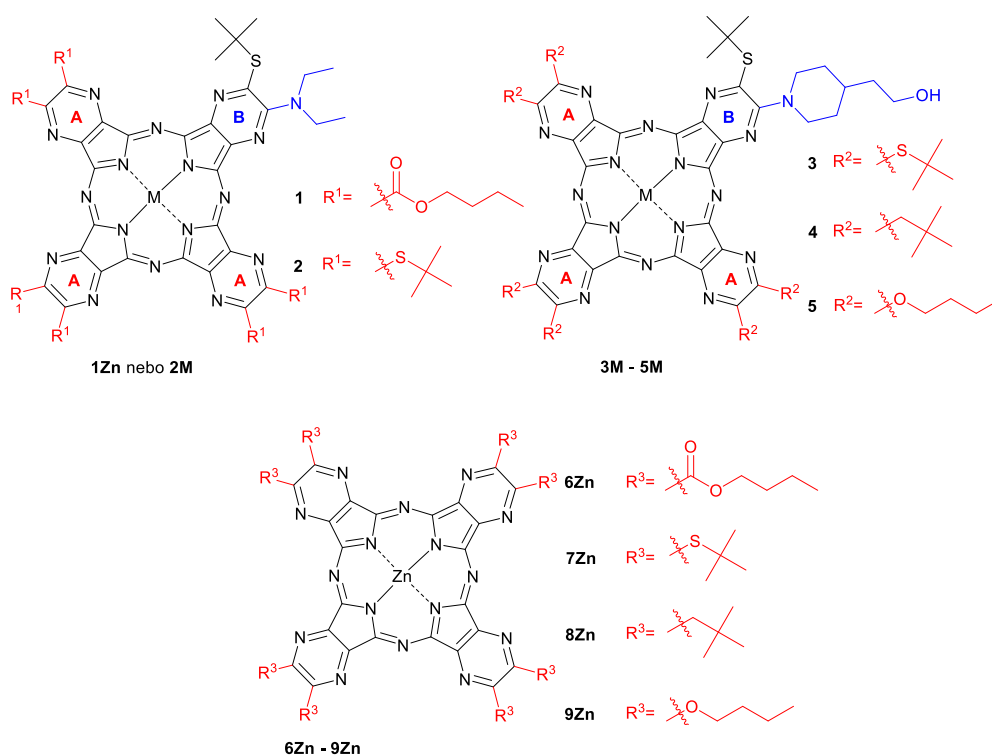
Jak bylo naznačeno v kapitole 3.4.3, u alkylamino substituovaných TPyzPz dochází vlivem přítomného ICT k výraznému potlačení fotofyzikálních parametrů studovaných látek – vymizení fluorescence a produkce singletového kyslíku (OFF stav). Blokováním ICT, ať už konkrétním analytem či pH prostředí, lze však tyto parametry opět obnovit (ON stav). Právě toto přepínání mezi ON a OFF stavem molekuly lze využít pro sensorické aplikace. Jelikož se jevem ICT u molekul typu TPyzPz nikdo před námi systematicky nezabýval, pro vývoj citlivého senzoru s výrazným přechodem mezi ON a OFF stavem bylo nezbytné najít a popsat strukturní zákonitosti, které mají na tento přenos náboje u TPyzPz významný vliv. V minulých letech bylo kolegy v laboratoři provedeno několik významných pozorování, na které právě tato práce navazuje. Předešlé práce sledovaly vliv povahy periferního substituentu v *ortho* poloze makrocyklu sousedícího se skupinou donorovou a význam elektron-donorových vlastností donorové skupiny,<sup>94</sup> počet donorových skupin obsažených v molekule,<sup>4</sup> srovnání Pc, Nc a TPyzPz a dalších azaanalogů.<sup>95</sup>

#### 5.1.1 Vliv periferní substituce na účinnost přenosu ICT u TPyzPz [P1]

Předešlá pozorování ukázala, že pro vysokou účinnost ICT u TPyzPz stačí v molekule obsažená pouze jedna donorová skupina se sousedící *terc*-butylsulfanylovou skupinou v *ortho* poloze makrocyklu.<sup>4</sup> Podle předpokladu, že dalším významným vlivem



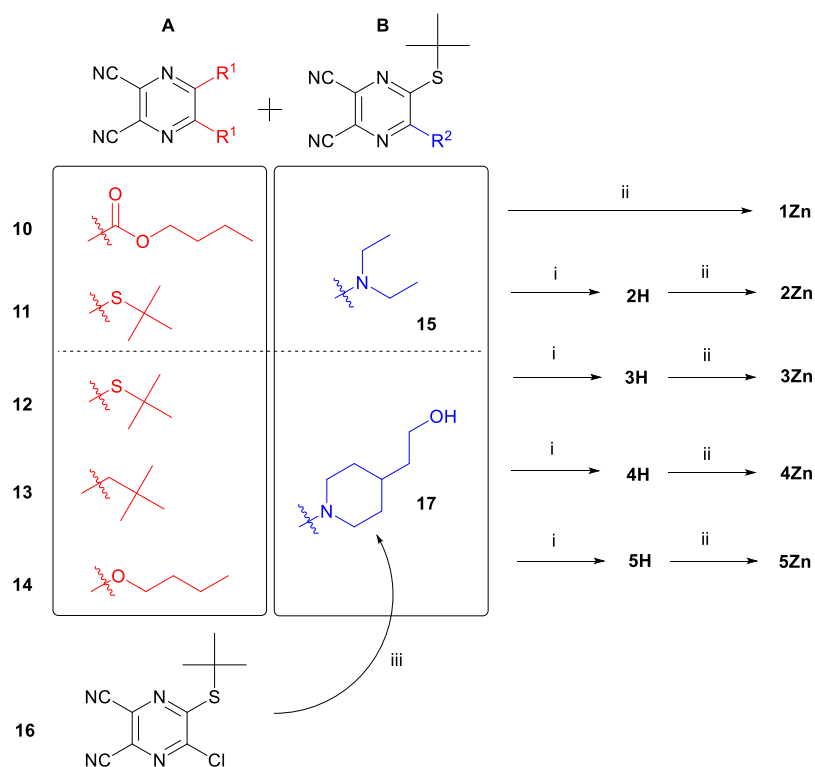
na účinnost přenosu ICT je elektron-deficitní charakter TPyzPz makrocyklu, byla navržena série látek **1Zn** – **5Zn** s různými periferními substituenty s odlišnými elektronovými efekty (Obrázek 16). Prvním krokem této práce byl právě racionální výběr periferních substituentů, které budou mít dostatečně rozdílné elektronové efekty, které pak budou v následném měření od sebe odlišitelné a zároveň budou schopny potlačit nežádoucí agregaci TPyzPz cyklů. Důležitým nástrojem pro jejich výběr se tak stala Hammettova substituentová konstanta  $\sigma_p$  konkrétních či strukturně podobných substituentů publikovaných v práci Hansche.<sup>96</sup>



Obrázek 16. Navržené struktury TPyzPz kde M je buď 2H nebo Zn.

Prekurzory pro přípravu látek **1M** – **5M** byly připraveny podle obecných postupů uvedených v teoretické části a to buď pomocí kondenzace příslušného diketonu s 2,3-diaminomaleonitrilem (DAMN) v kyselém prostředí nebo nukleofilní substitucí příslušného nukleofilu s 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilem. Kvůli velmi podobným hydrofobním vlastnostem prekurzorů A (**11-14**) a B (**15**) (Obrázek 17) a následně i vzniklých TPyzPz kongenerů po jejich cyklotetramerizaci jsme se rozhodli zvýšit hydrofilní charakter prekurzoru B (**17**) nesoucího donorovou skupinu zavedením hydroxyskupiny v podobě 4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-ylu u látek **3M** – **5M**. Naopak u TPyzPz **1Zn** bylo nutné zachovat hydrofobní vlastnosti prekurzoru s donorovou *N,N*-diethylamino skupinou. Tyto rozdíly hydrofobních vlastností prekurzorů částečně

pomohly v separaci pomocí sloupcové chromatografie požadovaného kongeneru AAAB s jednou donorovou skupinou. Zavedení hydroxyskupiny na donorovou skupinu by podle našich předpokladů nemělo zásadně ovlivnit fotofyzikální vlastnosti látek, protože je příliš vzdálená od makrocyklu a není s ním v konjugaci. Pro potvrzení byla ale připravena látka **2M** se stejnou periferní substitucí jako látka **3M** lišící se pouze v donorové části molekuly. Pro přípravu **2M** – **5M** se nám osvědčila dřívější zkušenost s přípravou nesymetrických TPyzPz Lindsteadovou metodou pomocí butanolátu hořečnatého jako iniciátoru reakce při použití prekurzorů A a B v poměru 3 : 1. Vzniklé hořečnaté komplexy kongenerů (AAAA, AAAB, ABAB, AABB, ABBB a BBBB) měly na silikagelu velmi blízké retenční faktory, proto jsme se rozhodli tuto směs nechat reagovat s *p*-toluensulfonovou kyselinou, kterou byly připraveny příslušné bezkovové deriváty. Ty bylo možné sloupcovou chromatografií od sebe oddělit a separovat požadovaný AAAB kongener. Zahříváním příslušného TPyzPz v pyridinu s Zn(OAc)<sub>2</sub> byly připraveny jejich zinečnaté komplexy, které mají výhodné fotofyzikální vlastnosti pro studium ICT. U látky **1M** tento postup selhal kvůli velmi nízké reaktivitě prekurzoru **10** nesoucího v polohách 5 a 6 butoxykarbonylové skupiny. Látka **1Zn** byla proto připravena pomocí templátového efektu kovu zahříváním prekurzorů **10** a **15** v bezvodém pyridinu v přítomnosti Zn(OAc)<sub>2</sub> (Obrázek 17). Kvůli nízké výtěžnosti reakce tímto postupem a velmi blízkým retenčním faktorům vzniklých kongenerů na silikagelu, byl požadovaný nesymetrický kongener **1Zn** získán po opakovaných sloupcových chromatografiích ve výtěžku pouze 0,9 %, což ale stačilo na další studium jeho vlastností. Pro porovnání fotofyzikálních parametrů byly připraveny symetrické TPyzPz **6Zn**, **7Zn**, **8Zn** a **9Zn**, které neobsahují donorovou skupinu a nemají tak své vlastnosti ovlivněny ICT (Obrázek 16).



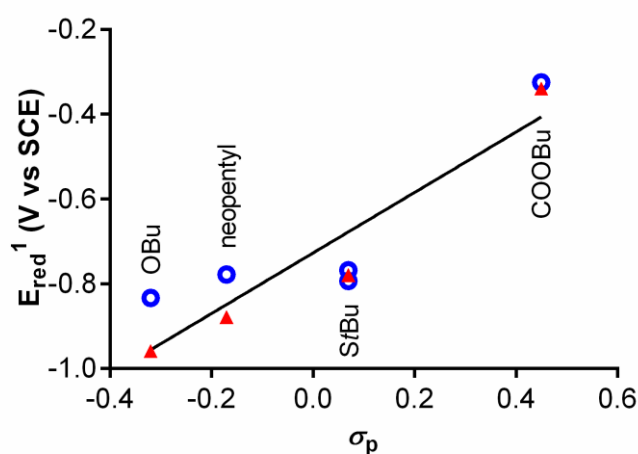
Obrázek 17. Syntetický postup pro přípravu **1Zn** – **5Zn** za podmínek: (i) a)  $Mg(BuO)_2$ , butanol, reflux, 7 h; b)  $TsOH$ , THF, rt, 1 h; (ii)  $Zn(OAc)_2$ , pyridin, reflux, 1 h; (iii) 2-(piperidin-4-yl)ethan-1-ol,  $K_2CO_3$ , DMSO, rt.

Protože tato práce je zaměřená zejména na ovlivnění elektrondeficitního charakteru TPyzPz jádra, jehož prostřednictvím ovlivňujeme účinnost přenosu náboje ICT, jsou jejich elektrochemické parametry resp. první půlvolnové redukční potenciály důležitou charakteristikou. Z naměřených hodnot je patrné, že hodnota prvního půlvolnového redukčního potenciálu ( $E_{red}^1$ ), která udává míru ochoty makrocyclického jádra přijmout elektron je přímo závislá na Hammettově substituentové konstantě  $\sigma_p$  periferního substituentu (Obrázek 18, Tabulka 1). Nejvíce elektrondeficitní charakter makrocyccklu byl pozorován u látky **1Zn** s butoxykarbonylovými skupinami s nejmohutnějším elektron-odtahujícím efektem. Naopak u molekuly **5Zn** s periferní substitucí butoxy skupinami s elektron-donorovým efektem byl měřením potvrzen nejmenší elektrondeficitní charakter makrocyclického jádra. Stejně závislosti jsme pozorovali i pro odpovídající symetrické molekuly. Naměřené hodnoty jsou uvedené v Tabulce 1. Za zmínku také stojí, že podle našich předpokladů zavedení hydroxylové skupiny do **3Zn** významně neovlivnilo elektrochemickou povahu v porovnání s látkou **2Zn**.

Tabulka 1. Elektrochemické vlastnosti připravených látek v THF<sup>[a]</sup>.

Látka	$\sigma_p$ <sup>[b]</sup>	$E_{ox}$ (V)	$E_{red}^1$ (V)	$E_{red}^2$ (V)
<b>1Zn</b> <sup>[c]</sup>	0,45 (COOEt)	1,50	-0,33	-0,69
<b>2Zn</b>	0,07 (SCHMe <sub>2</sub> )	1,03	-0,79	-1,21
<b>3Zn</b>	0,07 (SCHMe <sub>2</sub> )	1,02	-0,77	-1,19
<b>4Zn</b>	-0,17 (CH <sub>2</sub> CMe <sub>3</sub> )	1,09	-0,78	-1,18
<b>5Zn</b>	-0,32 (OBu)	0,67	-0,83	-1,28
<b>6Zn</b> <sup>[d]</sup>	0,45 (COOEt)	1,40	-0,34	-0,60
<b>7Zn</b>	0,07 (SCHMe <sub>2</sub> )	1,10	-0,78	-1,08
<b>8Zn</b>	-0,17 (CH <sub>2</sub> CMe <sub>3</sub> )	1,14	-0,88	-1,18
<b>9Zn</b>	-0,32 (OBu)	0,68	-0,96	-1,30

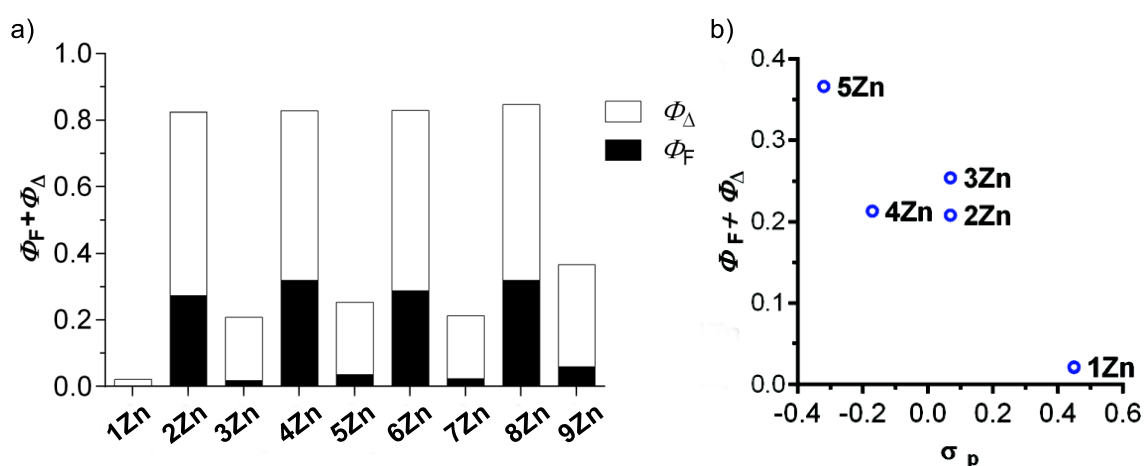
<sup>[a]</sup>Potenciály  $E_{red}^1$  a  $E_{ox}$  jsou vyjádřeny jako  $E_{1/2}$  (v V vs. SCE) s Fc/Fc<sup>+</sup> jako vnitřním standardem. <sup>[b]</sup>Hodnota Hammettovy substituentové konstanty  $\sigma_p$  pro strukturálně nejbližší substituent. <sup>[c]</sup> $E_{red}^3$  (V) = -1,48. <sup>[d]</sup> $E_{red}^3$  (V) = -1,29.



Obrázek 18. Korelace hodnot  $E_{red}^1$  studovaných látek s hodnotami Hammetovy substituentové konstanty periferního substituentu  $\sigma_p$ . Modré kruhy reprezentují látky **1Zn** – **5Zn** s donorovou skupinou a červené trojúhelníky symetrické **6Zn**, **7Zn**, **8Zn** a **9Zn** bez donorové skupiny.

Protože je přenos náboje kompetitivním dějem k fluorescenci a mezisystémovému přechodu, může být stanovení kvantového výtěžku singletového kyslíku ( $\Phi_\Delta$ ) a fluorescence ( $\Phi_F$ ) věrohodným ukazatelem mohutnosti probíhajícího ICT. Fluorescence i mezisystémový přechod molekuly do tripletového stavu jsou totiž dva hlavní zhasací mechanismy excitovaného singletového stavu. Samozřejmě za předpokladu, že nedochází k agregaci molekul, která v našich studiích díky objemným substituentům nebyla pozorována. Z dostupné literatury víme, že tripletový stav zinečnatých komplexů Pc a jejich analogů v organických rozpouštědlech nasycených kyslíkem je zhasen okolními molekulami kyslíku takřka se 100% efektivitou a proto naměřená hodnota  $\Phi_\Delta$  velmi úzce koreluje s kvantovým výtěžkem mezisystémovému přechodu.<sup>97-98</sup> Součet  $\Phi_\Delta$  a  $\Phi_F$  nám tak poskytuje spolehlivé informace o mohutnosti probíhajícího ICT.

Hodnoty  $\Phi_F$  u symetrických **6Zn**, **7Zn**, **8Zn** a **9Zn** dosahovaly přibližně stejné hodnoty 0,3, což je pro zinečnaté komplexy molekul tohoto typu obvyklé.<sup>99</sup> Naopak hodnoty  $\Phi_F$  u látek **1Zn** – **5Zn** byly o několik řádů nižší kvůli probíhajícímu ICT, přičemž nejnižší intenzita fluorescence byla pozorována pro látku **1Zn** ( $\Phi_F = 0,001$ ) a nejvyšší pro **5Zn** ( $\Phi_F = 0,06$ ), což potvrzuje korelaci s hodnotami Hammettových substituentových konstant  $\sigma_p$  periferních substituentů. Podobná závislost byla pozorována u  $\Phi_\Delta$ , kde se hodnoty pohybovaly od  $\Phi_\Delta = 0,02$  pro **1Zn** až po  $\Phi_\Delta = 0,31$  pro **5Zn** (Tabulka 2). Pro symetrické **6Zn**, **7Zn**, **8Zn** a **9Zn** byly naměřeny hodnoty přesahující 0,5, což jsou hodnoty, které jsou v literatuře pro tento typ molekul obvykle uváděny.<sup>100</sup>



Obrázek 19. a) součet  $\Phi_\Delta$  a  $\Phi_F$  pro látky **1Zn** – **9Zn**. Plný sloupec =  $\Phi_F$ , prázdný sloupec =  $\Phi_\Delta$ . b) závislost součtu  $\Phi_\Delta$  a  $\Phi_F$  pro látky **1Zn** – **5Zn** na Hammettově substituentové konstantě  $\sigma_p$  periferních substituentů.

I přes drobné variace mezi hodnotami  $\Phi_\Delta$  a  $\Phi_F$  způsobené vlivem periferních substituentů, jejich součet zůstával u symetrických látek prakticky konstantní (Obr. 19a). U látek obsahujících donorové centrum byl pozorován výrazný pokles v součtu těchto hodnot jako důsledek probíhajícího ICT. Intenzita ICT také velmi dobře korelovala s Hammettovými substituentovými konstantami  $\sigma_p$  (Obr. 19b).

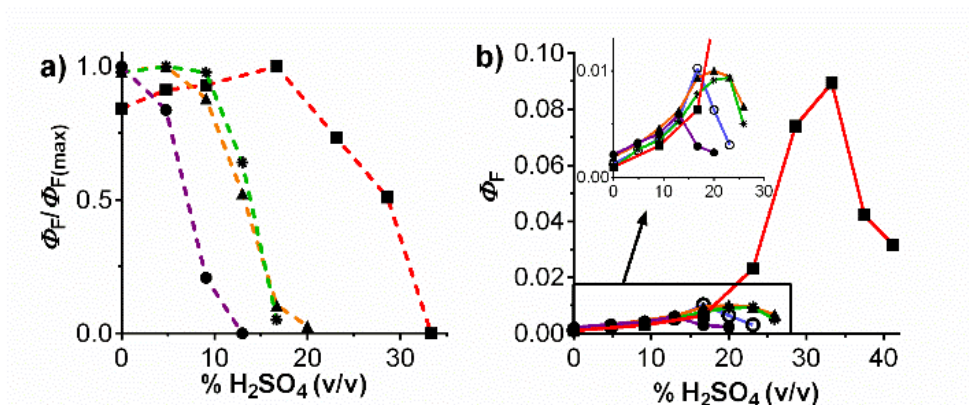
Tabulka 2. Fotofyzikální vlastnosti připravených látek **1Zn** – **9Zn** v THF a DMSO<sup>[a]</sup>.

Látka	$\sigma_p$	$\Phi_F^{[b]}$	$\Phi_A^{[b]}$	$\Phi_F + \Phi_A$	$\Phi_F$ (DMSO)	$\Phi_F^{(max)}$ (DMSO + H <sup>+</sup> ) <sup>[c]</sup>	zvýšení $\Phi_F$ (DMSO) <sup>[d]</sup>
<b>1Zn</b>	0,45 (COOEt)	0,001	0,02	0,02	0,001	0,089	89
<b>2Zn</b>	0,07 (SCHMe <sub>2</sub> )	0,02	0,19	0,21	0,001	0,01	10
<b>3Zn</b>	0,07 (SCHMe <sub>2</sub> )	0,04	0,22	0,25	0,002	0,01	5
<b>4Zn</b>	-0,17 (CH <sub>2</sub> CMe <sub>3</sub> )	0,02	0,19	0,21	0,001	0,01	10
<b>5Zn</b>	-0,32 (OBu)	0,06	0,31	0,37	0,002	0,006	3
<b>6Zn</b>	0,45 (COOEt)	0,27	0,55	0,82	0,17		
<b>7Zn</b>	0,07 (SCHMe <sub>2</sub> )	0,32	0,51	0,83	0,15		
<b>8Zn</b>	-0,17 (CH <sub>2</sub> CMe <sub>3</sub> )	0,29	0,54	0,83	0,22		
<b>9Zn</b>	-0,32 (OBu)	0,32	0,53	0,85	0,22		

<sup>a</sup>Kvantový výtěžek fluorescence ( $\Phi_F$ ), kvantový výtěžek singletového kyslíku ( $\Phi_A$ ). Data byla stanovena v THF pokud není vyznačeno jinak. <sup>b</sup>Hodnoty stanovené ze tří na sobě nezávislých měření s chybou  $\pm 15$  %. <sup>c</sup>Maximum hodnot  $\Phi_F$  při protonizaci látek pomocí H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. <sup>d</sup>Vypočítáno pomocí:  $\Phi_F^{(max)}/\Phi_F$  (v DMSO).

Jak bylo naznačeno výše, proces ICT může být protonizací donorového centra blokován, což vede k obnovení fotofyzikálních parametrů.<sup>4, 101</sup> Roztoky připravených molekul **1Zn** – **5Zn** a symetrických látek bez donorového centra **6Zn**, **7Zn**, **8Zn** a **9Zn** byly proto titrovány v DMSO roztokem kyseliny sírové a sledovali jsme nárůst fluorescence. Zde je třeba zmínit, že kromě terciálního aminu obsaženého v donorové části molekuly mohou být při vyšších koncentracích kyseliny sírové protonizovány i azomethinové atomy dusíku makrocyklu, což vede k poklesu fluorescence.<sup>4, 102</sup> Titrace byla nejdříve zkoumána na molekulách bez donorového centra, kde byl pokles  $\Phi_F$  pozorován ve všech případech. Množství H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve zkoumaném roztoku (vyjádřeno v % v/v), které stačilo pro protonizaci azomethinového atomu dusíku se pro jednotlivé látky lišilo v závislosti na bazicitě tohoto dusíku. Tato bazicita opět úzce souvisela s elektronovými vlastnostmi periferních substituentů. Nejvíce bazický charakter azomethinového dusíku byl pozorován u látky **9Zn** s butoxy skupinami a postupně klesala v řadě **9Zn** > **7Zn** ~ **8Zn** > **6Zn**. Titrace látek **1Zn** – **5Zn** měla charakteristický dvoufázový charakter (Obrázek 20). V první fázi dochází pouze k protonizaci donorového centra a blokování ICT, což mělo za následek zvýšení  $\Phi_F$ . Při vyšších koncentracích však docházelo k protonizaci i azomethinových atomů dusíku a snížení  $\Phi_F$ . Dosažení tohoto bodu korelovalo s předešlými titracemi molekul bez donorového centra. U **5Zn** s nejvíce bazickým makrocyklem došlo k poklesu  $\Phi_F$  přibližně při 13% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> v DMSO (v/v), přičemž před dosažením této koncentrace došlo k nárůstu  $\Phi_F$  na trojnásobek původních hodnot. Naopak u nejméně bazického makrocyklu **1Zn** docházelo ke snížení  $\Phi_F$  až při obsahu 33% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> v DMSO (v/v), což vedlo k téměř

úplnému blokování donorového centra a nárůstu fluorescence na devadesátinásobek původních hodnot (Obrázek 20).



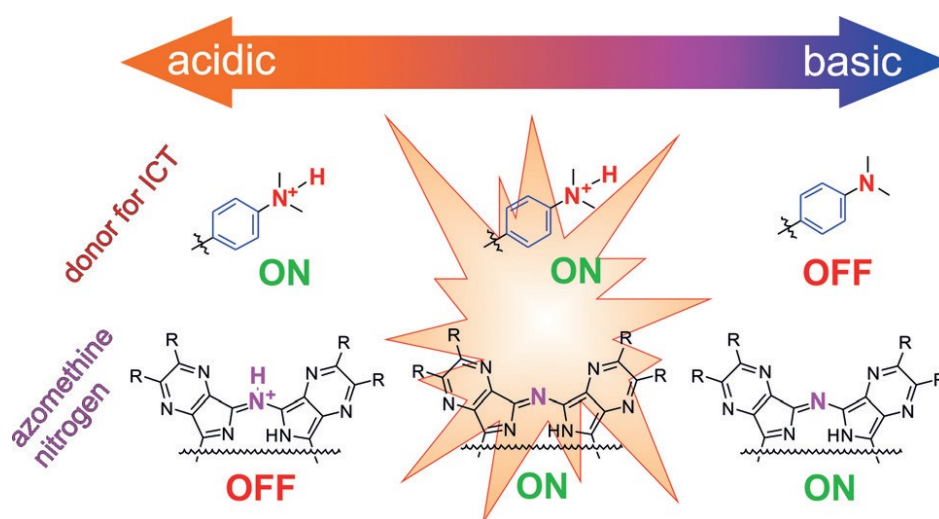
Obrázek 20. Změny normalizovaných hodnot  $\Phi_F$  studovaných látek (1  $\mu M$ ) v DMSO po přidání  $H_2SO_4$ . a) **6Zn** (čtverec, červená přerušovaná čára), **7Zn** (trojúhelník, oranžová přerušovaná čára), **8Zn** (hvězda, zelená přerušovaná čára), **9Zn** (tečka, fialová přerušovaná čára). b) **1Zn** (čtverec, červená čára), **2Zn** (kroužek, modrá čára), **3Zn** (trojúhelník, oranžová čára), **4Zn** (hvězda, zelená čára), **5Zn** (tečka, fialová čára).

Výsledky získané z elektrochemických a fotofyzikálních měření jednoznačně potvrdily, že na mohutnost probíhajícího ICT u TPyzPz má významný vliv elektron deficitní charakter makrocyklu (tj. akceptoru elektronů při ICT), který můžeme výrazně ovlivnit periferními substituenty. Mohutnost ICT se dá zároveň poměrně dobře predikovat za použití Hammettových substituentových konstant  $\sigma_p$ . Současně bylo pozorováno, že elektronové vlastnosti periferních substituentů výrazně ovlivňují i bazicitu azomethinových atomů dusíku a jejich protonizace vede ke snižování fluorescence.

### 5.1.2 Vliv délky spojovacího řetězce mezi akceptorem a donorem elektronů na mohutnost ICT [P2]

Posledním článkem systematické studie strukturních vlivů u TPyzPz na mohutnost přenosu ICT se stala studie vlivu délky spojovacího řetězce mezi donorem a akceptorem elektronů, který představuje právě TPyzPz makrocyklus. Současně jsme se rozhodli využít poznatku z předešlé studie, že protonizace na straně azomethinových atomů dusíku vede k výraznému snížení fluorescence a naopak blokování donoru protonizací k potlačení ICT a obnově fluorescence (Obrázek 21). Tyto k sobě kompetitivní efekty protonizace na dvou různých stranách TPyzPz jsme využili k vývoji specifických pH senzorů pro určité rozmezí hodnot pH fungujících na principu OFF-ON-OFF přepínání. Do dnešní doby byly publikovány pouze dva příklady

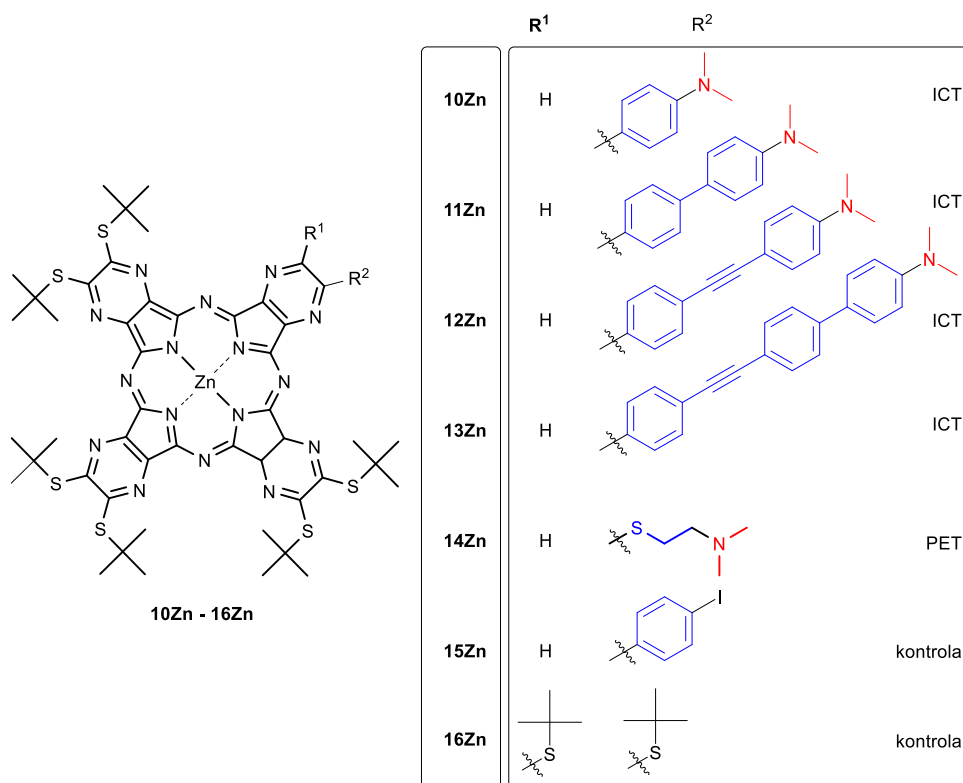
indikátorů pH, které emitují v červené oblasti spektra a pracují na principu OFF-ON-OFF. První z nich, publikovaný Topalem, je založený na principu protonizace a deprotonizace imidazolového cyklu, který je součástí Pc cyklu, ale vyznačuje se fluorescenčním ON stavem ve velmi širokém rozmezí pH (4,0 – 15,0) v DMSO.<sup>103</sup> Druhý z indikátorů s rozpoznávací skupinou na bázi fenolu byl vyvinut v naší laboratoři a je vhodný pouze pro silně bazické prostředí a využívá také jiný mechanismus zhášení.<sup>89</sup>



Obrázek 21. Princip vyvinutých pH indikátorů pracujících na principu OFF-ON-OFF (převzato z CIDLINA, A.; MILETIN, M.; FATHI-RASEKH, M.; NEMYKIN, V.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. OFF-ON-OFF Red-Emitting Fluorescent Indicators for a Narrow pH Window. *Chem. – Eur. J.*, **2017**, 23, 8, 1795-1804).

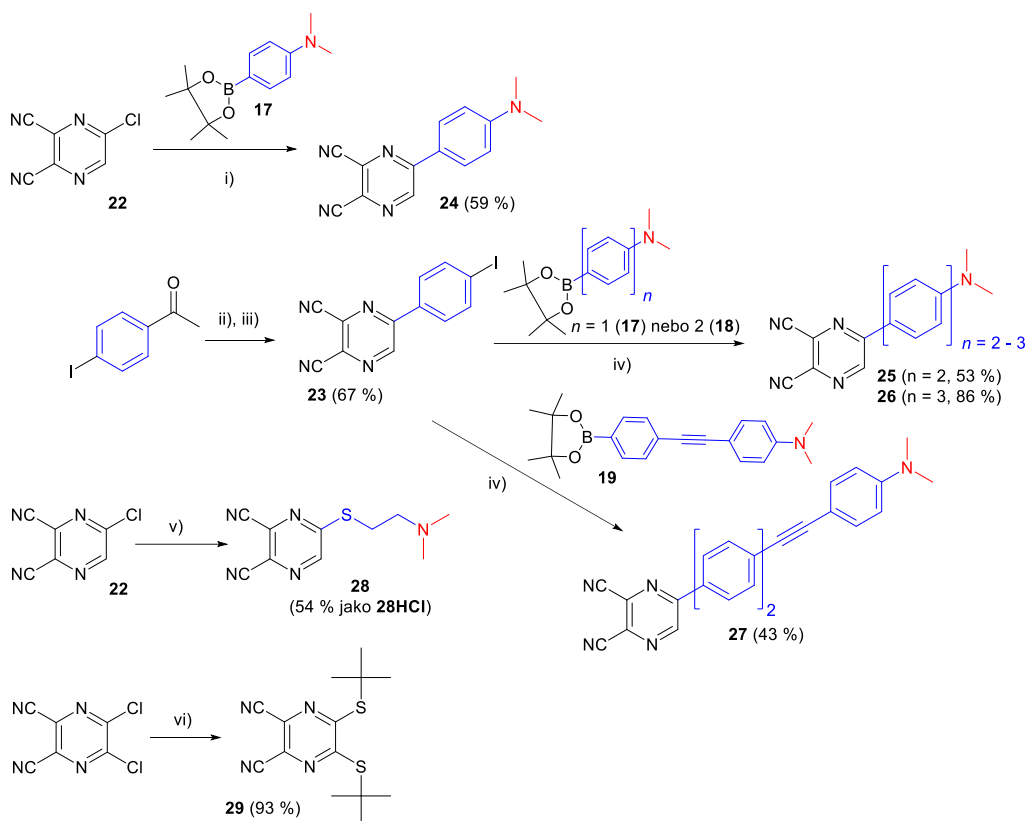
V této práci byla navržena série látek TPyzPz **10Zn** – **13Zn** s různě dlouhým konjugovaným řetězcem, který je spojovacím článkem mezi makrocyklem (akceptorem elektronů) a *N,N*-dimethylamino skupinou (donorem elektronů). Látka **14Zn** s *N,N*-dimethylaminoethylsulfanylovou skupinou byla zahrnuta do hodnocení pro porovnání procesů ICT a PET. Látky **15Zn** a **16Zn**, které ve své molekule neobsahují donorovou skupinu, byly připraveny a zařazeny do studie jako kontrolní látky bez možnosti zhášení excitovaných stavů přenosem ICT (Obrázek 22). Periferní *tert*-butylsulfanylové skupiny byly vybrány z důvodu efektivního potlačení tvorby H-agregátů v rozpouštědlech a pro dobré elektronové efekty. Ty sice nejsou dle studie diskutované v předchozí kapitole zcela ideální pro zajištění nejlepšího elektrondeficitního charakteru makrocyklu, ale vhodnější butoxykarbonylové substituenty byly velmi komplikované z hlediska syntetického a separačního a také výtěžky požadovaných kongenerů byly velmi malé. Chelátovaný centrální zinečnatý kationt zajistil optimální fotofyzikální parametry zkoumaných látek a byl stabilní i v kyselém prostředí.<sup>49</sup>





Obrázek 22. Navržené struktury látek **10Zn** – **16Zn**.

V této práci bylo využito několik typů syntetických postupů k získání požadovaných prekurzorů (Obrázek 23). Prekurzory **28** a **29** a byly připraveny jednoduchou nukleofilní substitucí příslušného derivátu pyrazin-2,3-dikarbonitrilu s příslušným thiolátem obecným postupem zmíněným v Teoretickém úvodu v kapitole Příprava prekurzorů. Halogen substituované prekurzory **22** a **23** se staly společně s deriváty kyseliny boronové **17** – **19** výchozími látkami pro palladiem katalyzovanou Suzuki - Miyaura couplingovou reakci, čímž vznikly prekurzory **24** – **27**. Prekurzor **22** byl připraven kondenzací příslušného  $\alpha$ -diketonu a DAMN v kyselém prostředí kyseliny octové podle dříve publikovaného postupu.<sup>104</sup> Podobným způsobem vznikl prekurzor **23** po předchozí parciální oxidaci 4-jodacetofenonu pomocí oxidu seleničitého na odpovídající  $\alpha$ -diketon. Pinakol boronáty **17** – **19** byly připraveny podle dříve publikovaných postupů.<sup>105-106</sup>



Obrázek 23. Syntetické postupy pro přípravu výchozích prekurzorů. Podmínky reakce: i)  $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$  (0.05 ekv.),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (2 ekv.),  $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$  (4:1) (v/v), 7 h, 80 °C, Ar atm.. ii)  $\text{SeO}_2$ , dioxan/ $\text{H}_2\text{O}$  (2:1) (v/v), reflux, 12 h. iii) DAMN,  $\text{AcOH}$ , 3 h, reflux. iv)  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (0.05 ekv.),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (2 ekv.),  $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$  (4:1) (v/v), 7 h, 80 °C. v) hydrochlorid 2-(dimethylamino)ethanethiolu,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , DMSO, 30 min, rt. vi) 2-methylpropan-2-thiol,  $\text{NaOH}$ , THF, 15 min, rt.

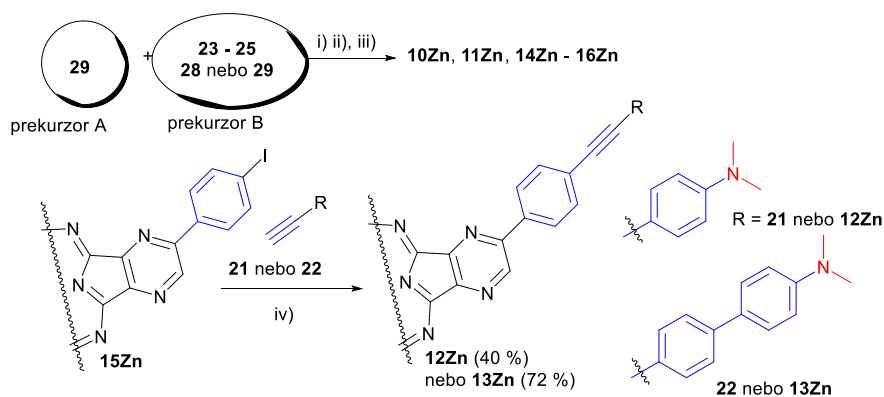
Podmínky cross-couplingové Suzuki-Miyaura reakce pro přípravu prekurzorů **24** – **27** jsou sumarizovány v Tabulce 3. Reakce látky **22** a pinacol boronátu **17** probíhala pouze za použití palladiového katalyzátoru s dvojjazvným ligandem ( $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ ) a to při výtěžku 59 %. Při použití katalyzátoru s jednovazným ligandem ( $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ ) reakce neprobíhala. Podobné pozorování již dříve popsal McKillop při reakci 2-chlorpyrimidinu a příslušného derivátu kyseliny boronové.<sup>107</sup> Na druhou stranu při použití katalyzátoru  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  byla výtěžnost reakcí při syntéze látek **24** – **27** ve všech případech vyšší v porovnání s reakcemi, kde byl použit  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ .

Tabulka 3. Podmínky Suzuki-Miyaura cross-couplingové reakce.<sup>a</sup>

Výchozí l.	Produkt	Katalyzátor	Výtěžek
22	24	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0 %
22	24	Pd(dppf)Cl <sub>2</sub>	59 %
23	25	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	53 %
23	25	Pd(dppf)Cl <sub>2</sub>	25 %
23	26	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	86 %
23	26	Pd(dppf)Cl <sub>2</sub>	79 %
23	27	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	43 %
23	27	Pd(dppf)Cl <sub>2</sub>	35 %

<sup>a</sup>Reakční podmínky: 22 nebo 23 (1 ekv.), příslušný derivát pinakol boronátu 24 – 27 (1,3 ekv.), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 ekv.), Pd katalyzátor (5 mol%), 80 °C, THF/H<sub>2</sub>O (4:1) (v/v), 7 h, argonová atmosféra.

Cyklotetramerizace prekurzorů probíhala za podmínek popsanych výše v předchozí části, tzn. statistickou kondenzací dvou různých prekurzorů A a B v poměru 3 : 1 za použití butanolátu hořečnatého jako iniciátoru reakce (Linsteadova metoda). Tento postup selhal v případě cyklotetramerizace prekurzorů 26 a 27 kvůli jejich extrémně nízké rozpustnosti ve všech dostupných rozpouštědlech. Proto byla připravena látka 15Zn, která se stala výchozí látkou pro přípravu látek 12Zn a 13Zn postcyklotetramerizační modifikací Sonogashira couplingem. Pro tento typ couplingové reakce bylo potřeba připravit odlišné couplingové partnery a to látky 21<sup>105</sup> a 22<sup>108</sup> s terminálním acetylenem podle dříve publikovaných postupů. Sonogashira coupling za našich podmínek probíhal poměrně snadno a došlo k úplnému vymizení výchozích látek (sledováno pomocí tenkovrstvé chromatografie TLC). Vzhledem k jejich snížené rozpustnosti došlo ke snížení výtěžku reakce po opakovaných sloupcových chromatografiích. Sonogashira coupling jako postcyklotetramerizační modifikace není pro TPyzPz v literatuře často popisován kromě reakcí publikované Faustem.<sup>109</sup>



Obrázek 24. Schématické znázornění přípravy cílových molekul 10Zn – 16Zn různými syntetickými přístupy. Podmínky reakce: i) Mg(BuO)<sub>2</sub>, butanol, reflux, 8 h. ii) TsOH, THF, rt, 1 h. iii) Zn(OAc)<sub>2</sub>, pyridin, reflux, 1 h. iv) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,03 ekv.), CuI (0,03 ekv.), PPh<sub>3</sub> (0,02 ekv.), triethylamin (4 ekv.), 48 h, rt, bezvod. THF, Ar atm.

Stejně jako v předešlé práci **P1** byly připravené látky zkoumány z hlediska elektrochemických a fotofyzikálních vlastností. Pro látky **10Zn – 14Zn**, které obsahují ve své struktuře donorovou skupinu, byly charakteristické dvě redukční vlny  $E^1_{\text{red}}$  a  $E^2_{\text{red}}$  při velmi podobných hodnotách ( $\sim -0,55$  V a  $\sim -0,70$  V vs. SCE). Tyto hodnoty byly také velmi blízké pro kontrolní látku **15Zn** ( $-0,51$  a  $-0,66$  V vs. SCE), ale odlišné pro symetrickou **16Zn** ( $-0,69$  V vs. SCE, což odpovídá již dříve publikovaným datům).<sup>50</sup> Získaná data naznačují, že délka konjugovaného periferního řetězce významně neovlivňuje elektron-akceptorové vlastnosti makrocyclického systému TPyzPz. Pro látky **10Zn – 14Zn**, byly typické dvě ireverzibilní oxidace  $E^1_{\text{ox}}$  a  $E^2_{\text{ox}}$ . Hodnota  $E^2_{\text{ox}}$  ( $1,31 - 1,38$  V vs. SCE) odpovídá oxidaci makrocycly, protože podobné hodnoty byly naměřeny i pro látky **15Zn** a **16Zn** bez donorového centra ( $1,32$  a  $1,33$  V vs. SCE). Oxidační vlna donorové skupiny  $E^1_{\text{ox}}$  byla viditelná u látek **10Zn – 14Zn** v rozmezí od  $0,89$  do  $1,01$  V vs. SCE (Tabulka 4). Naměřené hodnoty odpovídají DFT výpočtům, které studoval prof. Nemykin z Univerzity of Minnesota (nyní již University of Manitoba), se kterým naše skupina dlouhodobě spolupracuje. Pro tento projekt prof. Nemykin studoval i teoretické výpočty TDDFT a spektroechemické vlastnosti připravených látek a jsou podrobně popsány v příloze **P2**.

Tabulka 4. Absorpční, fotofyzikální a elektrochemická data pro látky **10Zn – 16Zn**.<sup>a</sup>

Látka	$\lambda_{\text{max}}$	$\lambda_{\text{em}}$	$\Phi_{\Delta}$	$\Phi_{\text{F}}$	$\Phi_{\Delta} + \Phi_{\text{F}}$	$E^1_{\text{ox}}$ (V)	$E^2_{\text{ox}}$ (V)	$E^1_{\text{red}}$ (V)	$E^2_{\text{red}}$ (V)
<b>10Zn</b>	656	663	0,029	0,006	0,035	1,01	1,35	-0,56	-0,73
<b>11Zn</b>	652	660	0,037	0,016	0,053	0,92	1,31	-0,54	-0,72
<b>12Zn</b>	651	659	0,038	0,019	0,057	1,00	1,38	-0,58	-0,76
<b>13Zn</b>	650	658	0,079	0,041	0,12	0,89	1,33	-0,54	-0,66
<b>14Zn</b>	647	653	0,32	0,19	0,51	1,19	1,31	-0,55	-0,69
<b>15Zn</b>	649	655	0,62	0,31	0,92	1,32	-	-0,51	-0,66
<b>16Zn</b>	650	656	0,56	0,34	0,89	1,33	-	-0,69	-

<sup>a</sup>Absorpční maximum Q-pásu ( $\lambda_{\text{max}}$ ), emisní maximum fluorescence ( $\lambda_{\text{em}}$ ), kvantový výtěžek fluorescence ( $\Phi_{\text{F}}$ ), kvantový výtěžek singletového kyslíku ( $\Phi_{\Delta}$ ), půlvlnové redukční potenciály ( $E_{\text{red}}$ ), půlvlnové oxidační potenciály ( $E_{\text{ox}}$ ). Hodnoty stanovené ze tří na sobě nezávislých měřeních s chybou  $\pm 15\%$ . Potenciály  $E_{\text{red}}$  a  $E_{\text{ox}}$  jsou vyjádřeny jako  $E_{1/2}$  (V vs. SCE) s Fc/Fc<sup>+</sup> jako vnitřním standardem.

Jak bylo popsáno výše, pro hodnocení účinnosti ICT či PET využíváme součtu hodnot  $\Phi_{\Delta}$  a  $\Phi_{\text{F}}$ , které jsou kompetitivními relaxačními cestami zhášení excitovaného stavu TPyzPz. Pro látky obsahující donorovou *N,N*-dimethylamino skupinu na periférii makrocycly **10Zn – 13Zn** byly typické velmi nízké hodnoty, což naznačuje velmi vysokou účinnost ICT ( $\Phi_{\Delta} + \Phi_{\text{F}} = 0,035 - 0,12$ , Tabulka 4). Hodnoty součtu  $\Phi_{\Delta}$  a  $\Phi_{\text{F}}$  pro zkoumané látky rostou v řadě **13Zn**  $\ll$  **12Zn**  $\sim$  **11Zn**  $<$  **10Zn**, který potvrzuje rostoucí účinnost ICT se zkracující se vzdáleností donoru od akceptoru. U látky **14Zn**,

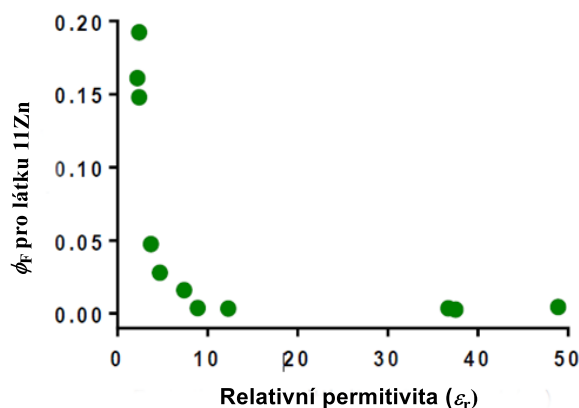
u které není donorová skupina v konjugaci s akceptorem, byla naměřena hodnota součtu  $\Phi_{\Delta} + \Phi_{\text{F}} = 0,51$ . Toto tak potvrzuje menší účinnost zhášení excitovaných stavů mechanismem PET ve srovnání s ICT. Hodnoty  $\Phi_{\Delta} + \Phi_{\text{F}}$  pro kontrolní látky **15Zn** a **16Zn** se blížily hodnotě 1 a nebyly tedy zatíženy vedlejšími zhášecími mechanismy.

Tabulka 5. Kvantové výtěžky fluorescence ( $\Phi_{\text{F}}$ ) and emisní maximum fluorescence ( $\lambda_{\text{em}}$ ) látky **11Zn** v rozpouštědlech s různou polaritou.<sup>a</sup>

Rozpouštědlo	$\epsilon_{\text{r}}$	$\lambda_{\text{em}}$ (nm)	$\Phi_{\text{F}}$ [c]
DMSO	48,9	662	0,004
MeCN	37,5	659	0,003
DMF	36,7	662	0,004
Pyridin	12,3	663	0,003
DCM	8,9	661	0,004
THF	7,4	657	0,016
Chloroform	4,7	674	0,028
Diethyl ether	3,7	655	0,048
Toluen/1% <sup>b </sup>	~ 2,4	664	0,15
Benzen	2,2	662	0,19
Benzen/1% <sup>b </sup>	~ 2,2	669	0,16

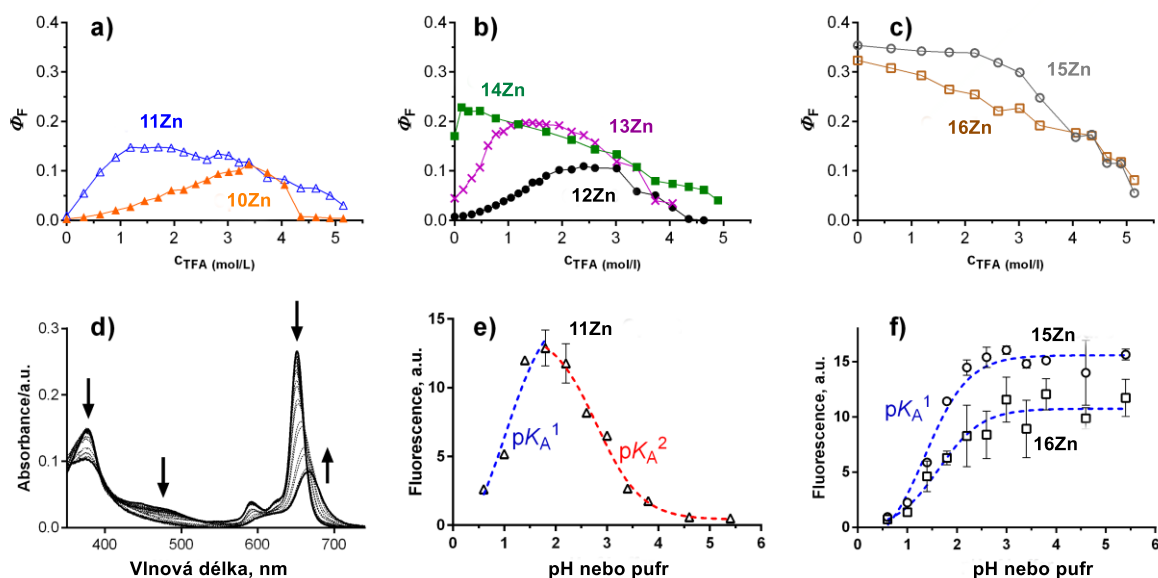
<sup>a</sup>Polarita rozpouštědla je vyjádřena jako relativní permitivita ( $\epsilon_{\text{r}}$ ), acetonitril (MeCN), dichlormethan (DCM), dimethylformamid (DMF). <sup>b</sup>Rozpouštědlo s přísadkou pyridinu 1% (v/v), <sup>c</sup>Hodnoty stanovené ze tří na sobě nezávislých měření s chybou  $\pm 15\%$ .

V teoretickém úvodu bylo naznačeno, že přenos náboje je usnadněn v polárních rozpouštědlech stabilizací tzv. „charge-separated state“. Tento fakt byl potvrzen u látky **11Zn**, u které jsme změřili  $\Phi_{\text{F}}$  v různých rozpouštědlech s rozdílnou relativní permitivitou  $\epsilon_{\text{r}}$  od 48,9 (pro DMSO) až po 2,2 (pro benzen) – Obrázek 25, Tabulka 5. Protože v benzenu a toluenu bylo detekováno velmi malé množství nežádoucích agregátů měřené látky, byl do těchto vzorků přidán pyridin v 1% (v/v), který agregaci účinně potlačuje a přitom v tomto množství prakticky neovlivňuje polaritu prostředí.



Obrázek 25. Závislost  $\Phi_{\text{F}}$  látky **11Zn** na polaritě rozpouštědla vyjádřená jako relativní permitivita  $\epsilon_{\text{r}}$ .

V předešlé studii **P1** jsme sledovali protonizaci azomethinových atomů dusíku makrocyklu, která vedla k drastickému snížení hodnot  $\Phi_F$ . Mechanismus zhášení touto cestou nebyl doposud plně popsán, ale Beeby ve své práci navrhl, že dochází ke zhášení cestou vnitřní konverze.<sup>110</sup> A tak jsme se rozhodli tento odlišný mechanismus zhášení excitovaných vztahů společně se zhášením pomocí ICT využít k vývoji specifických pH senzorů pro určitou oblast pH na principu OFF-ON-OFF přepínání. Ty, na rozdíl od publikovaných pH senzorů na principu OFF-ON, uplatňují kombinaci obou na sobě nezávislých zhášecích mechanismů. Studie připravených pH senzitivních senzorů **10Zn** – **14Zn** včetně kontrolních látek **15Zn** a **16Zn** byly provedeny nejprve v roztoku THF po přidávání TFA a poté i ve vodě v pufrch o konkrétním pH po ukotvení lipofilních TPyzPz senzorů do lipozomů.



Obrázek 26.. Hodnocení pH senzitivních vlastností připravených látek: a-c) změny  $\Phi_F$  u látek **10Zn-16Zn** v THF po přidání TFA; d) změny v absorpčním spektru látky **11Zn** po přidání TFA ( $c_{TFA} = 0-5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \times \text{dm}^{-3}$ ); e-f) změny intenzity fluorescence látek **11Zn**, **15Zn** a **16Zn** po jejich inkorporaci do liposomů v pufrch o různých hodnotách pH ( $\lambda_{exc} = 375 \text{ nm}$ ). Výsledky jsou průměrem ze tří na sobě nezávislých experimentů.

Přidávání definovaných objemů TFA k roztokům testovaných látek **10Zn** – **14Zn** v THF vedlo k protonizaci nejbazičtější části molekuly a to donorové *N,N*-dimethylaminoskupiny. Protonizace periferního aminu po přidání TFA vedla k blokování přenosu ICT a výraznému zvýšení intenzity fluorescence bez ovlivnění absorpčních spekter testovaných látek (nárůst  $\Phi_F$  v Obr. 26a, b). Množství přidané kyseliny TFA, které stačilo pro uvedení senzoru do stavu ON, se v sérii testovaných látek lišilo, a to v řadě od **14Zn** >> **13Zn** > **12Zn** ~ **11Zn** > **10Zn** v souladu s bazicitou

donorového centra. Na základě získaných dat byly stanoveny asociační konstanty  $K^{\text{don}}$  donorových skupin s TFA v THF (Tabulka 6). Nárůsty fluorescence u látek **10Zn** – **13Zn** ze stavu OFF do stavu ON, které jsou důležitou charakteristikou efektivity senzoru, nabývaly hodnot od  $4,9\times$  do  $18,3\times$  v rozmezí  $0 - 2,5 \times 10^{-5} \text{ mol}\times\text{dm}^{-3}$  TFA v roztoku. Tyto rozdíly jsou dané jednak rozdíly v bazických vlastnostech donorové skupiny, ale také zejména rozdílnou účinností ICT v testované sérii připravených látek, jak je popsáno výše. U látky **15Zn**, která nese alifatickou amino skupinu došlo k nárůstu fluorescence pouze  $1,2\times$  díky k tomu, že její OFF stav nebyl účinně zhášen. K tomuto nárůstu došlo prakticky okamžitě po přidání TFA do testovaného roztoku, což je dáno vyšší bazicitou alifatického aminu oproti aromatickému. Nízká účinnost PET proto dělá tento jev méně vhodným pro další zkoumání v oblasti pH senzorů.

I když po přidání TFA ke zkoumaným sensorům **10Zn** – **13Zn** docházelo k výrazným nárůstům  $\Phi_F$  až k hodnotám 0,11 – 0,20, nedošlo k úplnému obnovení fluorescence na úroveň kontrolních látek **15Zn** a **16Zn**. Důvodem je současná protonizace azomethinových dusíku, pro kterou je charakteristická, kromě snížení intenzity fluorescence (viz také obr. 26c pro kontrolní látky **15Zn** a **16Zn**), tvorba nového absorpčního pásu posunutého k červené oblasti a snižování absorbance Q-pásu (Obr. 26d). Na základě průběhu titrační křivky byly následně stanoveny asociační konstanty  $K^{\text{az}}$  azomethinových dusíků s TFA v THF, které nabývaly v celé sérii **10Zn** - **16Zn** velmi podobných hodnot (Tabulka 6).

Tabulka 6. Porovnání získaných hodnot asociačních konstant a  $\Phi_F$  u připravených látek **10Zn** – **16Zn**.<sup>a</sup>

TPyzPz.	$\Phi_F$	$\Phi_F^{\text{max}}$	$\Phi_F^{\text{max}}/\Phi_F$	$K^{\text{Az}}$ [ $\text{M}^{-1}$ ]	$K^{\text{Don}}$ [ $\text{M}^{-1}$ ]	$\text{p}K_{\text{A}}^{\text{Az}}$	$\text{p}K_{\text{A}}^{\text{Don}}$
	THF	THF	THF	THF	THF	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O
<b>10Zn</b>	0,006	0,11	18,3	0,26	0,55	- <sup>[b]</sup>	2,29
<b>11Zn</b>	0,016	0,18	11,2	0,26	0,90	1,02	2,89
<b>12Zn</b>	0,019	0,11	5,8	0,28	0,81	- <sup>[b]</sup>	3,18
<b>13Zn</b>	0,041	0,20	4,9	0,31	1,09	1,11	2,57
<b>14Zn</b>	0,19	0,23	-	0,28 <sup>[c]</sup>	- <sup>[b]</sup>	1,61	4,76
<b>15Zn</b>	0,31	0,31	-	0,26		1,37	
<b>16Zn</b>	0,34	0,34	-	0,32		1,63	

<sup>a</sup>Don = hodnoty stanovené pro protonizaci periferní donorové skupiny; Az = hodnoty stanovené pro protonizaci azomethinových atomů dusíku; <sup>b</sup>hodnoty nebylo možné stanovit; <sup>c</sup>stanoveny z poklesu maxima Q pásu v absorpčním spektru.  $\Phi_F$  je kvantový výtěžek fluorescence v THF,  $\Phi_F^{\text{max}}$  je hodnota udávající maximální dosaženou hodnotu  $\Phi_F$  po přidání kyseliny TFA. Podíl  $\Phi_F^{\text{max}}/\Phi_F$  vyjadřuje nárůst  $\Phi_F$  ze stavu OFF do stavu ON.

Výše uvedené experimenty prokázaly, že asociační konstanty  $K^{\text{don}}$  a  $K^{\text{az}}$  jsou řádově stejné a že lze připravené látky potenciálně využít k indikaci specifického množství kyseliny v THF. Abychom mohli potvrdit tento jev i ve vodném prostředí,

byly lipofilní vzorky **10Zn** – **16Zn** ukotveny do lipozomů, jednoduchého modelu biologických membrán,<sup>111</sup> který je dle dříve publikované práce také vhodným transportním systémem pro symetrickou **16Zn** bez náznaků agregace.<sup>88</sup> Intenzita fluorescence zkoumaných látek byla následně studována v pufrách o pH v rozmezí od 0,6 do 5,4. Pro nejvíce bazickou **14Zn** bylo rozmezí rozšířeno až do pH 7,8. Sledování závislosti intenzity fluorescence na hodnotě pH u sensorů **10Zn** – **14Zn** prokázalo podobný dvoufázový charakter jako u experimentů v THF. Nárůst intenzity fluorescence, který pokračuje fází plató, byl pozorován pouze u látek kontrolních **15Zn** a **16Zn** nad pH 3. Ze získaných dat byly vypočteny hodnoty disociačních konstant pro azomethinové atomy dusíku  $pK_a^{az}$  a donorové části  $pK_a^{don}$ . Jedná se o vůbec první stanovení disociačních konstant azomethinových dusíků u TPyzPz a u všech látek připravené série se pohybuje okolo hodnoty 1,5. Hodnoty  $pK_a^{don}$  nabývají hodnot 2,29 – 4,76 a sledují trend **10Zn** < **11Zn** ~ **12Zn** ~ **13Zn** << **14Zn** popisovaný výše. Z výsledků experimentů lze usoudit, že připravené látky **10Zn** – **13Zn** jsou vhodnými senzory pro sledování poměrně úzkého rozmezí hodnot pH s mohutnými nárůsty intenzity fluorescence, které v případě látek **10Zn** a **11Zn** dosahovali až dvacetinásobek původních hodnot ve stavu OFF.

Tato práce se stala zatím posledním článkem v rozsáhlé studii vlivů strukturálních faktorů na přenos ICT u TPyzPz. Bylo zjištěno, že efektivita přenosu ICT u připravených látek klesá s rostoucí vzdáleností donorového centra od akceptoru. Dále bylo pozorováno, že protonizace azomethinových atomů dusíku vede k výraznému snížení intenzity fluorescence jiným mechanismem, než je tomu u ICT. Tento jev jsme využili k navržení nových pH senzitivních sensorů pro velmi úzké rozmezí hodnot pH pracující na kombinaci dvou na sobě zcela nezávislých principů zhášení fluorescence.

## 5.2 Příprava a hodnocení neperiferně substituovaných Pc

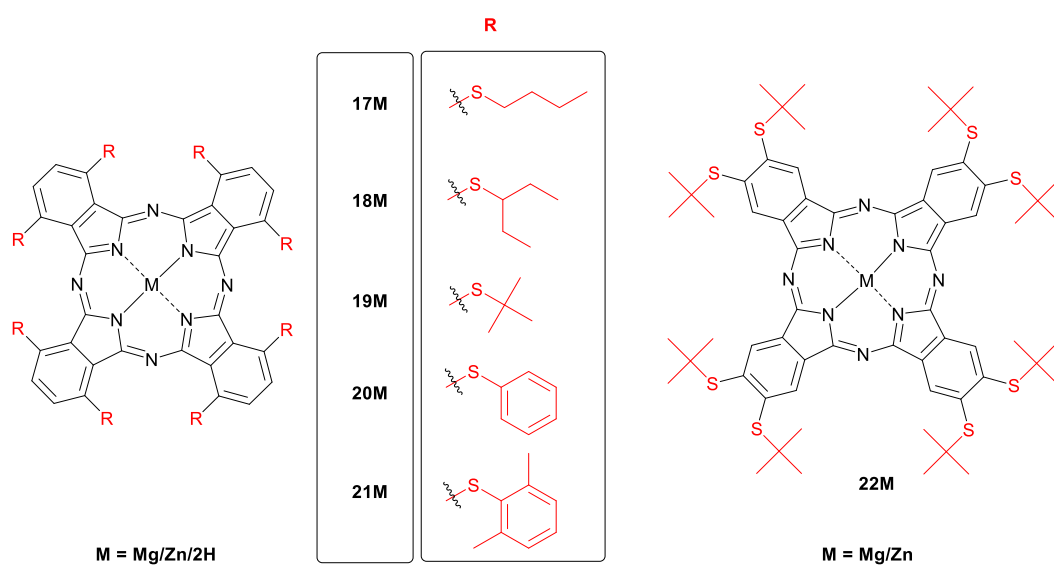
V druhé části disertační práce jsem se zaměřil na studium neperiferně ( $\beta$ ) substituovaných Pc (Obrázek 4). Jak bylo naznačeno v teoretickém úvodu, poloha nízkoenergetického absorpčního pásu ve spektru studovaných látek je závislá na chemické struktuře makrocyclického jádra Pc. Jedním z neúčinnějších nástrojů pro úpravu absorpčního spektra je právě poloha a povaha periferních substituentů.



### 5.2.1 Hodnocení vlivu alkylsulfanyl a arylsulfanyl substituentů vázaných neperiferně na spektrální, fotofyzikální a acidobazické vlastnosti Pc [P3]

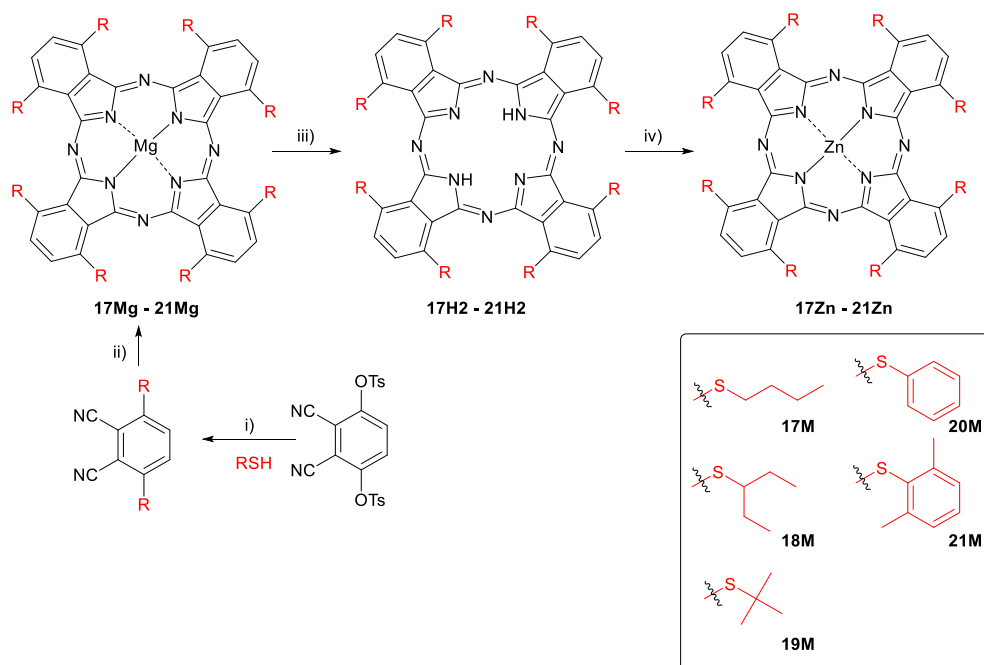
Absorpční vlastnosti alkylheteroatom a arylheteroatom neperiferně substituovaných Pc jsou v literatuře poměrně podrobně popsány.<sup>5-6, 112</sup> Publikované studie popisují výrazný bathochromní posun Q-pásu Pc, které mají neperiferně vázané substituenty a to až o 70 nm v porovnání s odpovídajícími periferně substituovanými Pc. Tento posun je ještě umocněn, pokud jsou substituenty na makrocyklus vázané přes heteroatom (O, S, N)<sup>47</sup> či pokud díky objemnosti substituentu dochází k lehké distorzi makrocyklu.<sup>6</sup> Protože světlo nižších vlnových délek je výrazně pohlcováno endogenními chromofory jako je např. hemoglobin, melanin, myoglobin,<sup>113</sup> posun absorpčního maxima k červené oblasti u studovaných látek je výhodný zejména pro aplikaci v PDT.

V rámci inhibice agregace jsme chtěli původně do neperiferních poloh zavést také *tert*-butylsulfanylový zbytek a využít tak současně objemnost substituentu a posun do červené části spektra k vývoji nových Pc. Připravený Pc **19Mg** (Obrázek 27) se však výše zmíněným pravidlům vymykal a Q-pás byl v absorpčním spektru posunut neočekávaně k modré oblasti (hypsochromní posun). Proto jsme se rozhodli připravit sérii látek s různou objemností alkylsulfanyl a arylsulfanyl neperiferně substituovaných Pc **17M - 21M** a tento jev detailněji zkoumat včetně jejich fotofyzikálních a acidobazických parametrů.



Obrázek 27. Navržené struktury neperiferně substituovaných Pc **17M - 21M** a kontrolní látky **22M**.

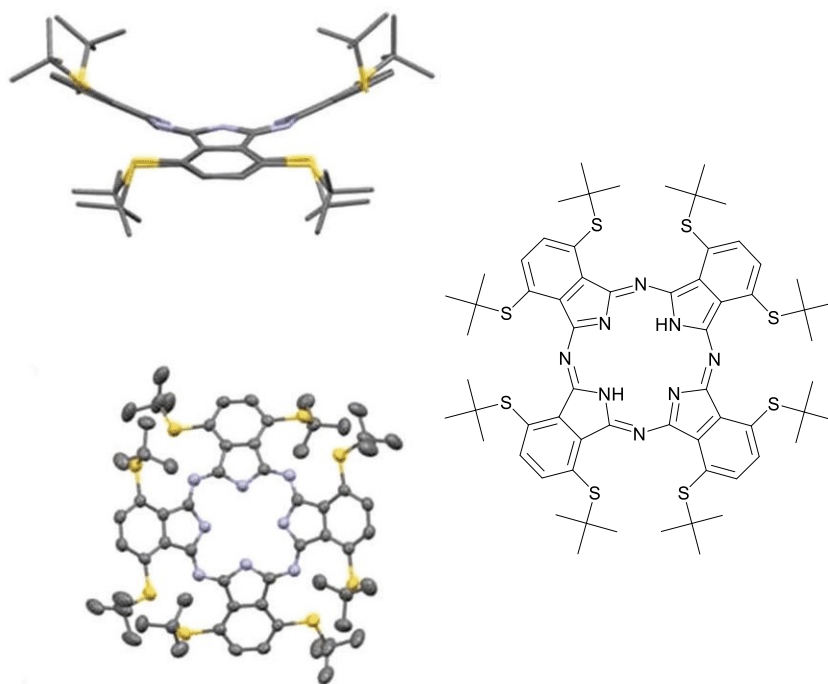
Výchozí látkou pro syntézu prekurzorů se stal 2,3-dikyano-1,4-fenylen bis(4-methylbensulfonát), který je vhodnou látkou pro nukleofilní substituce. Všechny prekurzory pro navržené Pc byly připraveny podle již dříve publikovaných prací v aprotickém rozpouštědle DMSO za přítomnosti base  $K_2CO_3$  a příslušného thiolátu ve výtěžcích 34 – 66 %.<sup>5, 24, 29, 49, 112, 114-115</sup> V případě přípravy prekurzorů nesoucích butylsulfanylové resp. 2,6-dimethylfenylsulfanylové substituenty se nám úpravou reakčních podmínek podařilo zvýšit výtěžnost reakce v porovnání s publikovanými postupy. Syntéza příslušných hořečnatých komplexů Pc **17Mg** – **21Mg** probíhala Linsteadovou metodou v přítomnosti butanolátu hořečnatého jako iniciátoru reakce. Bezkovové deriváty **17H**, **18H**, **20H** a **21H** byly připraveny z příslušných hořečnatých derivátů působením TsOH. Následnou reakcí bezkovových derivátů s  $Zn(OAc)_2$  v pyridinu jsme získali příslušné zinečnaté komplexy **17Zn**, **18Zn**, **20Zn** a **21Zn**. Látku **19H** nebylo možné touto cestou připravit, protože kyselé prostředí TsOH způsobilo rychlý rozklad makrocyklu. Nízká stabilita je pravděpodobně způsobena výraznou distorzí makrocyklu (Obrázek 29).<sup>116</sup> Látky **19H** a **19Zn** se nepodařilo připravit v dostatečném množství ani ostatními metodami cyklotetramerizace, které jsou popsány v teoretické části Cyklotetramerizace prekurzorů.



Obrázek 28. Syntetický postup pro přípravu látek **17M** – **22M**: i)  $K_2CO_3$ , DMSO, rt, 16 h. ii)  $Mg(OBu)_2$ , butanol,  $I_2$ , reflux, 24 h. iii) TsOH, THF, rt, 30 min. iv)  $Zn(OAc)_2$ , pyridin, 60 min.

Absorpční spektra připravených látek **17M** – **21M** byla měřena v THF (Obrázek 30). Absorpční spektra kovových komplexů měla ostrý tvar, což naznačuje přítomnost

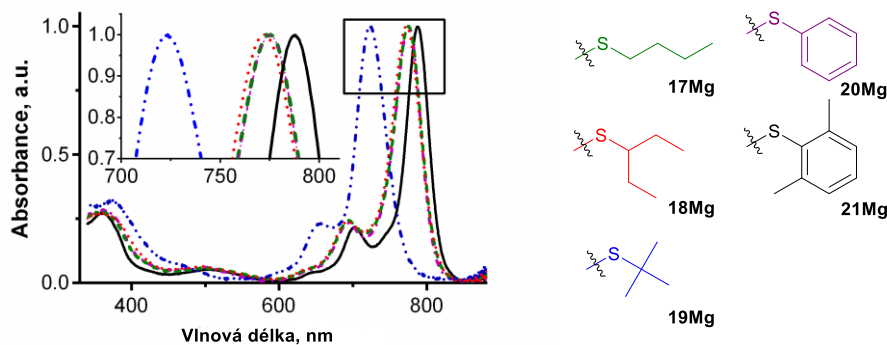
pouze monomerní formy. Typický B-pás byl pro **17Mg** – **21Mg** v rozmezí 340 nm – 430 nm a Q-pás v 724 nm – 793 nm. Všechna absorpční spektra (kromě **19Mg**) projevila, v porovnání s kontrolní látkou **22Mg** (Obrázek 30) zřetelný bathochromní posun o přibližně 70 nm. Pozice Q-pásu byla u alkylsulfanyl i arylsulfanyl substituovaných hořečnatých komplexů byla přibližně stejná, což naznačuje omezený vliv benzenového jádra periferního substituentu na elektronové vlastnosti makrocyklu. Nejvyšší posun Q-pásu měla látka **21Mg** a to o 13 nm s porovnání s **20Mg**. Tento posun může být způsoben větší objemností substituentu, který způsobí částečnou distorzi makrocyklu, kde je bathochromní posun popisován, nebo vlivem kladného indukčního efektu vázaných methylových skupin v polohách 2 a 6. Podobné závislosti byly pozorovány i u odpovídajících zinečnatých komplexů. Bezkovové deriváty měly navzdory porušené symetrii ostrý průběh spektra, což je pro látky absorbující v blízkosti 800 nm typické.<sup>5</sup>



Obrázek 29. Krystalografická studie bezkovového derivátu **19H** (převzato a upraveno z: ZORLU, Y.; KUMRU, U.; ISCI, U.; 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 (30), 6580-6583.)

Neočekávaný hypsochromní posun byl zřetelný u látky **19Mg** (o 52 nm v porovnání s **17Mg**), což je pravděpodobně způsobeno velkou distorzi makrocyklického jádra, jak bylo popsáno u odpovídajícího **19H**.<sup>116</sup> Ten byl připraven a publikován nezávisle kolektivem prof. Dumoulin během vzniku naší publikace **P3**. Dumoulin a kol. popsali u tohoto Pc podobný hypsochromní posun, což podložili krystalografickou

analýzou (Obrázek 29) i teoretickými výpočty.<sup>116</sup> Na základě teoretických výpočtů a krystalografické studie v práci Dumoulin navrhuje, že extrémní distorze vede k omezené konjugaci benzenových jader makrocyklu s centrálními pyrrolovými cykly.



Obrázek 30. Normalizovaná absorpční spektra látky **17Mg** (zelená přerušovaná čára), **18Mg** (červená tečkovaná čára), **19Mg** (modrá přerušovaná čára), **20Mg** (fialová přerušovaná čára) and **21Mg** (černá čára) v THF; detail v obrázku je zvětšená oblast Q-pásu.

Kvantové výtěžky  $\Phi_{\Delta}$  a  $\Phi_F$  látek **17Mg** – **22Mg** byly měřené v THF (Tabulka 7) pro jejich dobrou rozpustnost, stabilitu a přítomnost pouze monomerní formy v roztoku. Přítomnost monomerní formy byla potvrzena dokonalým překryvem absorpčních a excitačních spekter. Periferní substituce významně v připravené sérii látek neovlivnila jejich fotofyzikální parametry. Očekávaný vliv na výsledky měření měla pouze změna centrálního kationtu, která odpovídala efektu těžkého atomu.<sup>64</sup> Protože přítomnost těžkého atomu v molekule zvyšuje pravděpodobnost zhášení excitovaného singletového stavu molekuly skrze mezisystémový přechod, byly u **17Mg** – **21Mg** naměřeny hodnoty  $\Phi_F$  v rozmezí 0,10 – 0,17 a pro **17Zn**, **18Zn**, **20Zn** a **21Zn** hodnoty 0,053 – 0,080. Naopak u látek **17Mg** – **21Mg** byly hodnoty  $\Phi_{\Delta}$  menší (0,47 – 0,51) než pro jejich odpovídající zinečnaté analogy **17Zn** – **21Zn** (0,74 – 0,76). Zajímavým poznatkem je, že výrazná distorze makrocyklu u **19Mg** významně neovlivnila fotofyzikální parametry a výsledky měření korespondují s hodnotami pro ostatní látky v sérii. Jak bylo popsáno výše, u bezkovových derivátů probíhá zhášení excitovaného stavu alternativními cestami (doposud ne zcela objasněnými) a hodnoty  $\Phi_{\Delta}$  a  $\Phi_F$  jsou tak výrazně nižší než pro odpovídající kovové komplexy.

Tabulka 7. Fotofyzikální a spektrální data pro látky **17M** – **22M** v THF.

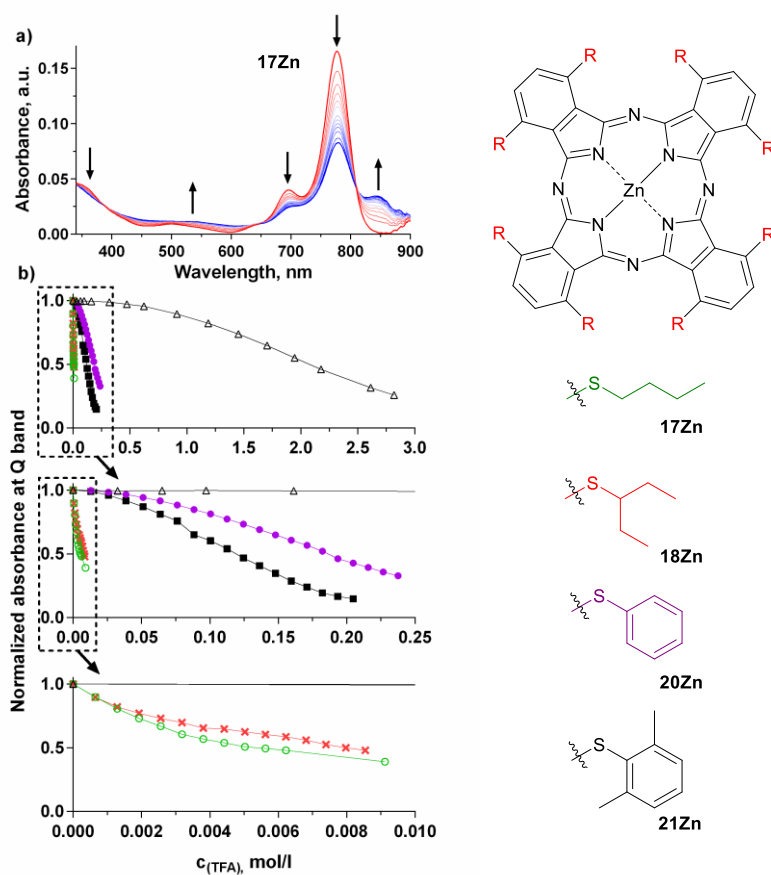
Látka.	Substituce	M	$\lambda_{\max}(\text{nm})$	$\lambda_{\text{em}}(\text{nm})$	$\Delta\lambda(\text{cm}^{-1})$	$\Phi_{\text{F}}^{[\text{b}]}$	$\Phi_{\Delta}^{[\text{b}]}$	$K(\text{M}^{-1})$
<b>17M</b>	-SBu	Mg	776	801	402	0,13	0,49	
		2H	805	840	517	0,048	0,052	
		Zn	779	806	430	0,069	0,75	513
<b>18M</b>	-S(pentan-3-yl)	Mg	774	802	451	0,10	0,51	
		2H	802	840	564	0,032	0,096	
		Zn	777	804	432	0,053	0,76	493
<b>19M</b>	-S <i>t</i> Bu	Mg	724	758	620	0,10	0,47	
<b>20M</b>	-SPh	Mg	775	799	388	0,17	0,47	
		2H	802	834	478	0,061	0,064	
		Zn	779	804	399	0,080	0,74	6,11
<b>21M</b>	-S(2,3-Me <sub>2</sub> )Ph	Mg	788	805	268	0,12	0,48	
		2H	817	845	406	0,064	0,049	
		Zn	793	812	295	0,076	0,74	9,34
<b>22M</b> <sup>91</sup>	-S <i>t</i> Bu	Mg	699	709	202	0,23	0,23	
		Zn	697	707	203	0,16	0,68	0,53

<sup>[a]</sup> Absorpční maximum Q-pásu ( $\lambda_{\max}$ ), Emisní maximum ( $\lambda_{\text{em}}$ ), Stokesův posun ( $\Delta\lambda$ ), kvantový výtěžek singletového kyslíku ( $\Phi_{\Delta}$ ), kvantový výtěžek fluorescence ( $\Phi_{\text{F}}$ ), asociační konstanta reakce s TFA v THF ( $K$ ), <sup>[b]</sup>průměr ze tří nezávislých měření. Chyba  $\pm 15$ .

Protože jsme se při syntézách cílových látek i při jejich skladování potýkali s poměrně rychlým rozkladem způsobeným světlem tzv. photobleaching, provedli jsme u hořčnatých komplexů fotostabilitní studie. U všech látek **17Mg** – **21Mg** jsme pozorovali po ozáření, za podmínek specifikovaných v publikované práci, pokles absorbance v Q-pásu. U látky **17Mg** jsme pozorovali také hypsochromní posun o 10 nm, který by mohl být způsobený oxidací thioetherů na alkylsulfinylové či alkylsulfonylové skupiny. Tento poznatek odpovídá faktu, že alkylsulfonyl substituované Pc vykazují ve srovnání s alkylsulfanyl substituovanými Pc signifikantní hypsochromní posun absorpčního spektra.<sup>117</sup> Fotostabilita připravených látek klesá s rostoucími sterickými nároky periferních substituentů přičemž u látek **20Mg** a **21Mg** došlo k téměř úplnému rozkladu po méně než 15 minutovém ozáření (zdroj světla EMOS, 400W).

V práci **P1** bylo zjištěno, že bazicitu azomethinových atomů dusíku významně ovlivňuje povaha periferního substituentu. V této studii jsme chtěli zjistit vliv sterické objemnosti periferního substituentu na bazicitu těchto dusíků u Pc. Do studie byly zařazeny látky **17Zn**, **18Zn**, **20Zn** a **21Zn**, protože, jak již bylo zmíněno, hořčnaté komplexy jsou v kyselém prostředí nestabilní a vedou ke vzniku bezkovových derivátů. Postupné přidávání TFA do roztoku zkoumaných látek v THF vedlo ke snižování intenzity Q-pásu za současné tvorby nového pásu bathochromně posunutého až k 900 nm,

který odpovídá protonizované formě Pc. V době vzniku této práce jsme byli omezeni pracovním rozsahem spektrofotometru, proto nebylo možné sledovat změny v absorpčních spektrech nad 900 nm. Množství isosbestických bodů v absorpčním spektru však potvrdilo, že změny v absorpčních spektrech odpovídají přechodu neprotonizované formy do monoprotionizované a že měření není ovlivněno rozkladem měřeného Pc. Přidání tetrabutylamonium-hydroxidu do roztoku protonizované formy Pc vedlo vždy k obnovení původního Q-pásu, což potvrdilo plnou reverzibilitu procesu. Při titracích **17Zn**, **18Zn**, **20Zn** a **21Zn** jsme sledovali závislost změny absorbance Q-pásu na množství přidané kyseliny TFA do roztoku zkoumané látky a ze získaných dat byly vypočteny asociační konstanty  $K$ . Na základě hodnot  $K$  a průběhu titrací bylo zjištěno, že basicita azomethinových atomů dusíku se v celé sérii výrazně liší.



Obrázek 31. (a) Změny v absorpčním spektru **18Zn** v THF ( $1 \mu\text{M}$ ) po přidání TFA. Absorpční spektra jsou korigována na zředění. (b) Pokles absorbance maxima Q-pásu látky **17Zn** (zelená plná čára, kruh), **18Zn** (červená plná čára, křížek), **20Zn** (fialová plná čára, tečka), **21Zn** (černá čára, čtverec) a **22Zn** (černá přerušovaná čára, trojúhelník) v THF ( $1 \mu\text{M}$ ) po postupném přidávání TFA. Absorbance Q-pásu je vždy normalizována k původnímu roztoku vzorku bez TFA.

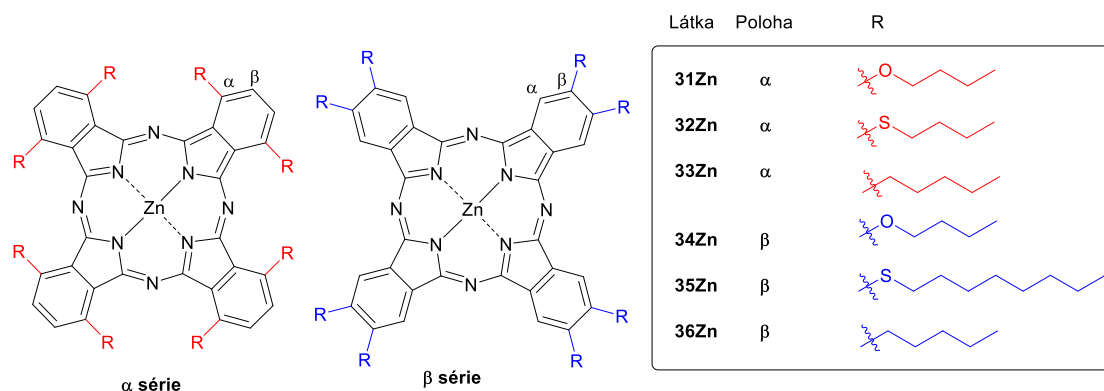
Nejvíce bazický charakter těchto dusíků byl pozorován u **17Zn** a **18Zn** substituovaných alifatickými substituenty s hodnotou  $K \sim 500 \text{ M}^{-1}$ . U arylsulfanyl substituovaných Pc **20Zn** a **21Zn** byla hodnota  $K$  stanovena na  $\sim 10 \text{ M}^{-1}$ , což je stále výrazně vyšší bazicita než u azomethinových dusíků u periferně substituované kontroly **22Zn** ( $K = 0,53 \text{ M}^{-1}$ ) (Obrázek 31).

V literatuře byl tento jev popsán u neperiferně alkoxy-substituovaných Pc, kde je zvýšená bazicita azomethinových dusíků zdůvodněna stabilizací protonizované formy vodíkovou vazbou mezi atomem kyslíku a azomethinového dusíku.<sup>118</sup> Přestože tvorbu vodíkových vazeb u alkyl či arylsulfanyl substituovaných Pc očekávat nemůžeme, v předchozí publikované práci bylo krystalografickou studií dokázáno, že vzdálenost atomů síry dvou sousedících isoindolových jednotek u tohoto typu Pc odpovídá přibližně dvounásobné hodnotě van der Waalsova poloměru atomu síry.<sup>112</sup> Z toho vyplývá, že i vzdálenost protonu na azomethinovém dusíku a atomu síry spadá do dosahu těchto slabých interakcí. To může být jeden z důvodů, proč by van der Waalsovy interakce mohly stabilizovat protonizovanou formu Pc (více viz níže, kapitola 5.2.2). Dalším důvodem rozdílné bazicity v řadě **17Zn**, **18Zn**, **20Zn** a **21Zn** může být rozdílná distorze makrocycly v závislosti na objemnosti substituentu. Tento jev byl poměrně nedávno popsán u neperiferně fenylsubstituovaných Pc.<sup>118</sup> Přesný důvod tak výrazných rozdílů v bazicitě azomethinových dusíků studované série látek **17Zn**, **18Zn**, **20Zn** a **21Zn** však vyžaduje hlubší zkoumání.

### 5.2.2 Vliv polohy a povahy substituentu na bazické vlastnosti azomethinových atomů dusíku u Pc [P4]

Protože v minulé práci **P3** jsme pozorovali velmi zajímavé rozdíly v bazicitě azomethinových atomů dusíků v sérii neperiferně substituovaných alkylsulfanyl a arylsulfanyl Pc, rozhodli jsme se tyto vlastnosti dále studovat. V této práci jsme se zaměřili na porovnání bazicity a fotofyzikálních vlastností Pc s alifatickými substituenty vázanými přes atom O, S nebo C v polohách  $\alpha$  i  $\beta$  (Obrázek 32). Navzdory obrovskému množství publikovaných prací týkající se Pc, jen pár z nich se věnuje možnosti protonizace azomethinových dusíků u Pc, proto jsme se rozhodli tuto oblast rozšířit a popsat vztahy „struktura  $\times$  účinek“. Jako periferní substituent jsme zvolili čtyřčlenný alifatický řetězec vázaný přes atom O, S nebo C v polohách  $\alpha$  i  $\beta$  Pc

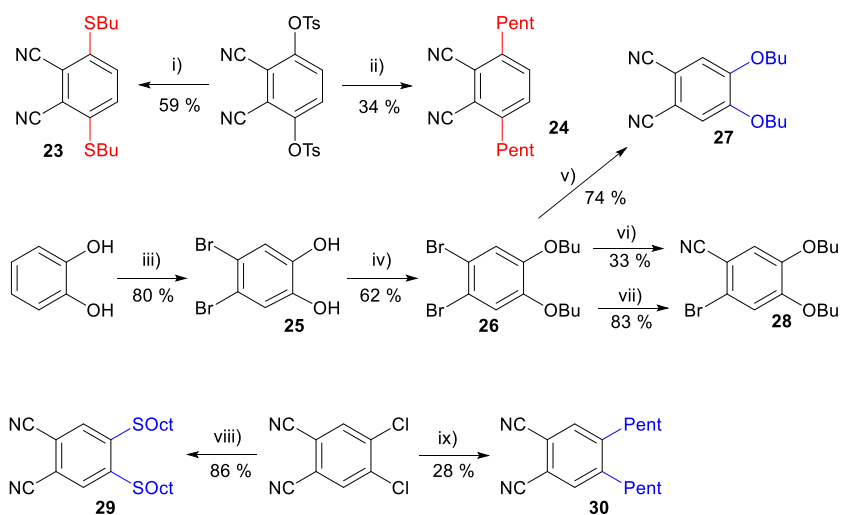
makrocyklu s výjimkou oktylsulfanylových substituentů v polohách  $\beta$ , abychom zde zabránili nežádoucí agregaci.



Obrázek 32. Struktury navržených periferně a neperiferně substituovaných Pc 31Zn – 36Zn.

Prekurzory byly připraveny metodami popsány v Teoretické části Příprava prekurzorů. Při přípravě 3,6-disubstitovaných prekurzorů **23** a **24** byl výchozí látkou 2,3-dikyano-1,4-fenylen bis(4-methylbenzensulfonát), který reagoval s příslušným nukleofilem v přítomnosti  $K_2CO_3$  za tvorby požadovaného prekurzoru. Výchozí látkou pro syntézu 4,5-disubstitovaných ftalonitrilů **29** a **30** byl komerčně dostupný 4,5--dichlorftalonitril. Prekurzor **28** nebylo možné touto cestou připravit ani po úpravě reakčních podmínek. Při přípravě **28** se tedy vycházelo z pyrokatecholu, který bromací poskytl 4,5-dibrombenzen-1,2-diol **25**. Alkylací látky **25** jsme získali 1,2-dibrom-4,5-dibutoxybenzen **26**. Výměna atomů bromu za nitrilové skupiny byla provedena reakcí  $ZnCN$ ,  $Pd(dba)_3$  a polymethylhydrosiloxanu v  $N,N$ -dimethylacetamidu při výtěžku 74 % (Obrázek 33). Při změně katalyzátoru za  $Pd(PPh_3)_4$  docházelo k výměně pouze jednoho z atomů bromu za vzniku 2-brom-4,5-dibutoxybenzonitrilu **27**. Z téhož důvodu nebylo možné použít Rosenmund-von Braunovu reakci, při které jsme pozorovali převážně přímo vznik odpovídajícího kovového komplexu CuPc.





Obrázek 33. Syntéza prekurzorů (i)  $K_2CO_3$ , thiol, DMSO, rt, 16 h (ref. [13]); (ii)  $[NiCl_2(PPh_3)_2]$ ,  $PPh_3$ ,  $LiCl$ ,  $C_5H_{11}ZnBr$ , 16 h; (iii)  $Br_2$ , kys. octová, 6 h, rt; (iv) 1-brombutan,  $K_2CO_3$ , DMF, 80 °C, 6 h; (v)  $Zn(CN)_2$ , DMAC,  $Pd(dba)_3$ , PMHS, DPPF, 120 °C, 2 h; (vi)  $Zn(CN)_2$ ,  $Pd(PPh_3)_4$ , DMF, 110 °C, 5 h; (vii)  $Cu(CN)_2$ , DMF, 120 °C, 10 h; (viii)  $K_2CO_3$ , DMSO, 85 °C, 12 h<sup>119</sup> (ix)  $[NiCl_2(PPh_3)_2]$ ,  $PPh_3$ ,  $LiCl$ ,  $C_5H_{11}ZnBr$ , 16 h.

Příprava alkylsubstitovaných prekurzorů **24** a **30** vycházela z 2,3-dikyano-1,4-fenylen bis(4-methylbenzensulfonátu) nebo 4,5-dichlorftalonitrilu. Tyto meziprodukty Negishiho cross-couplingovou reakcí katalyzovanou  $NiCl_2(PPh_3)_2$  poskytl s pentylyzink bromidem požadované prekurzory **24** a **30**.

Syntéza požadovaných bezkovových derivátů **32H** – **36H** byla provedena Linsteadovou metodou za použití butanolátu lithného jako iniciátoru reakce a z nich byly připraveny reakcí s  $Zn(OAc)_2$  v pyridinu příslušné zinečnaté komplexy **32Zn** – **36Zn**. Látka **31H** je komerčně dostupná a byla použita pro přípravu **32Zn**.

Absorpční spektra připravených zinečnatých komplexů Pc **31Zn** – **36Zn** byla změřena jak v chloroformu tak i v THF. Všechny látky měly ostré Q-pásky v rozmezí 670 - 790 nm, které potvrdily přítomnost pouze monomerní formy. Látka **32Zn** měla oproti ostatním široký Q-pás, což je u látek tohoto typu typické.<sup>112, 120</sup> Dalším potvrzením výskytu pouze monomerní formy v roztoku Pc bylo, že excitační spektra látky **32Zn** v chloroformu i THF perfektně odpovídala příslušným spektrům absorpčním. U látky **31Zn** byl v absorpčním spektru pozorován jak v chloroformu, tak v THF s menší intenzitou nový absorpční pás bathochromně posunutý od Q-pásky. Tento absorpční pás vzniklý protonizací velmi bazických azomethinových dusíků byl však v dříve publikované studii chybně interpretován a byl přisouzen agregaci.<sup>121</sup> Přidáním stopy báze do roztoku měřené látky došlo k přechodu protonizované formy do neprotonizované a zániku tohoto pásu v absorpčním spektru. Tento fakt byl potvrzen i NMR studií

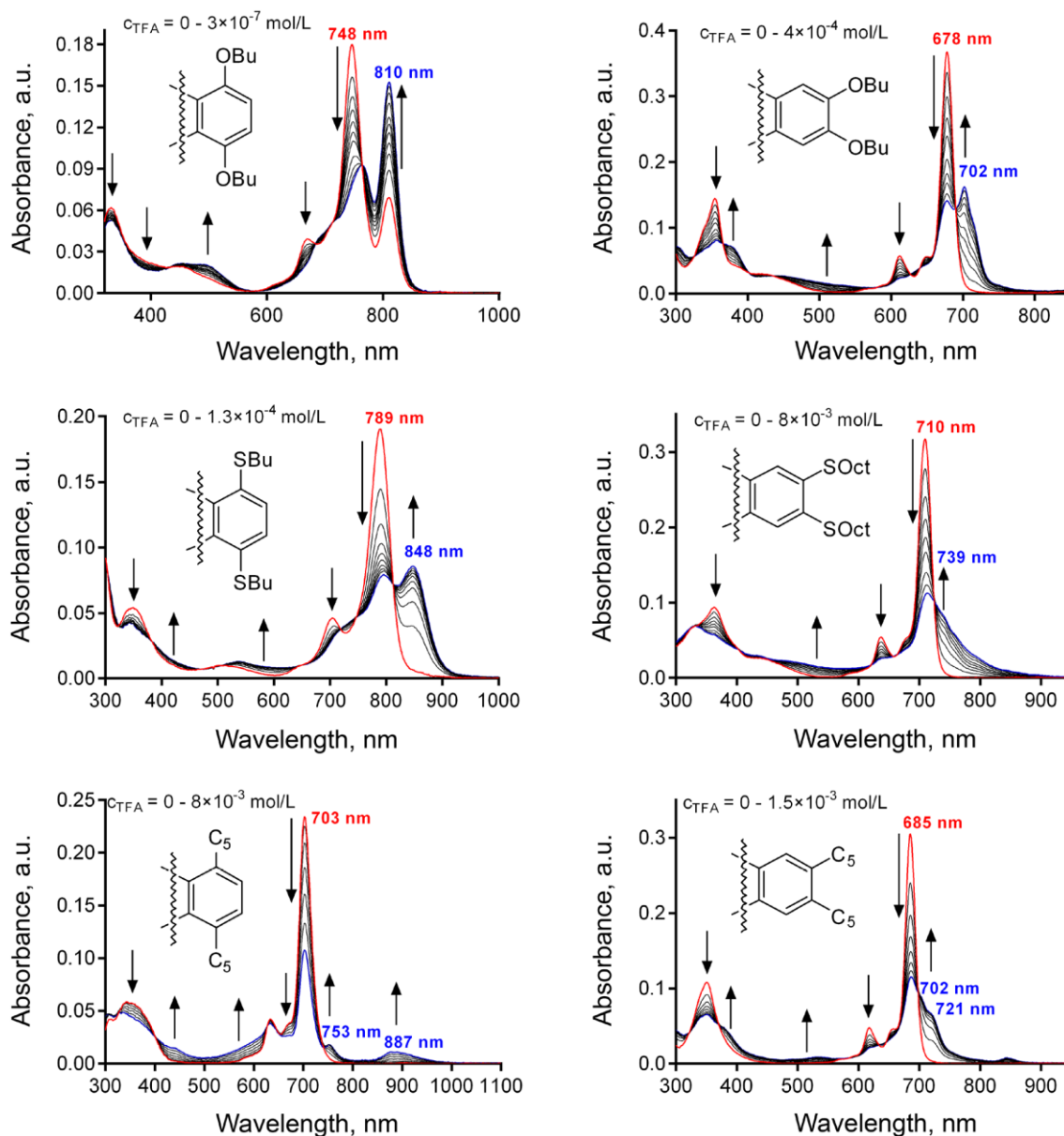
popsanou dále. Absorpční maxima Q-pásu Pc se v připravené sérii látek výrazně liší a jsou ovlivněna polohou a povahou periferního substituentu. Neperiferně substituované Pc měly Q-pás bathochromně posunutý o ~70 nm v porovnání s odpovídajícími periferně substituovanými Pc v pořadí **33Zn** < **31Zn** < **32Zn**. U periferně substituovaných Pc jsme pozorovali bathochromní posun v řadě **34Zn** < **36Zn** < **35Zn** (Tabulka 8).

Tabulka 8. Spektrální a acidobazická data připravených **31Zn** - **36Zn** v chloroformu. <sup>[a]</sup>

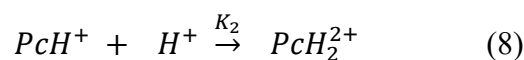
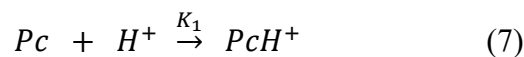
Látka.	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	Hammettova konstanta ( $\sigma_p$ ) <sup>[c]</sup>	$\log K_1, \log K_2 / M^{-1}$ <sup>[d]</sup>	
	( $\epsilon/\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )	( $\epsilon/\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) <sup>[b]</sup>		Metoda A	Metoda B
<b>31Zn</b>	747 <sup>[e]</sup> (180 000)	734 (194 000)	-0,32 (OBu)	> 7; 3,2	- <sup>[f]</sup> , 3,5
<b>32Zn</b>	789 (191 000)	779 (146 000)	0,07 (SCHMe <sub>2</sub> )	4,8	4,7
<b>33Zn</b>	703 (234 000)	700 (218 000)	-0,16 (Bu)	2,6; 1,9	- <sup>[f]</sup>
<b>34Zn</b>	678 (367 000)	672 (346 000)	-0,32 (OBu)	4,2	4,0
<b>35Zn</b>	710 (317 000)	704 (362 000)	0,07 (SCHMe <sub>2</sub> )	2,6	2,6
<b>36Zn</b>	685 (306 000)	679 (380 000)	-0,16 (Bu)	3,2	3,3

[a] Absorpční maximum Q-pásu, ( $\lambda_{\max}$ ), asociační konstanty reakce TFA a příslušné látky v chloroformu ( $\log K_1, \log K_2$ ). [b] v THF. [c] Hammettovy konstanty  $\sigma_p$  pro strukturálně nejbližší substituenty.<sup>96</sup> [d] Metoda A: hodnota vypočtena na základě závislosti poklesu absorbance Q-pásu na  $\log(c_{\text{TFA}})$  (vypočteno pomocí programu GraphPrism), Metoda B: hodnota vypočtena pomocí Hillovy rovnice. [e] Poloha Q-pásu byla ovlivněna protonizací, přidávek báze způsobil posunutí maxima k 734 nm.[f] analýza touto metodou nebyla možná.

Bazicitu azomethinových dusíků **31Zn** – **36Zn** byla popsána v chloroformu, kde jsme sledovali změny v absorpčních spektrech po postupném přidávání TFA. Stejně jako v práci **P3** jsme po přidání TFA zaznamenali pokles absorbance Q-pásu a současně vznik nového absorpčního pásu bathochromně posunutého od Q-pásu, který odpovídá monoprotonizované formě parentního Pc<sup>62, 122</sup> (rovnice 7). Množství isosbestických bodů ve sledovaných spektrech potvrdilo přechod jedné formy do druhé. Titrace pokračovala až do fáze plató, kde již nenastávali ve spektru žádné změny (Obrázek 34). U látek **31Zn**, **33Zn** a **34Zn** jsme po dalším přidávání pozorovali vznik diprotonizované formy, která se projevila vznikem dalšího absorpčního pásu posunutého ještě více k červené oblasti za vzniku nových isosbestických bodů (rovnice 8).

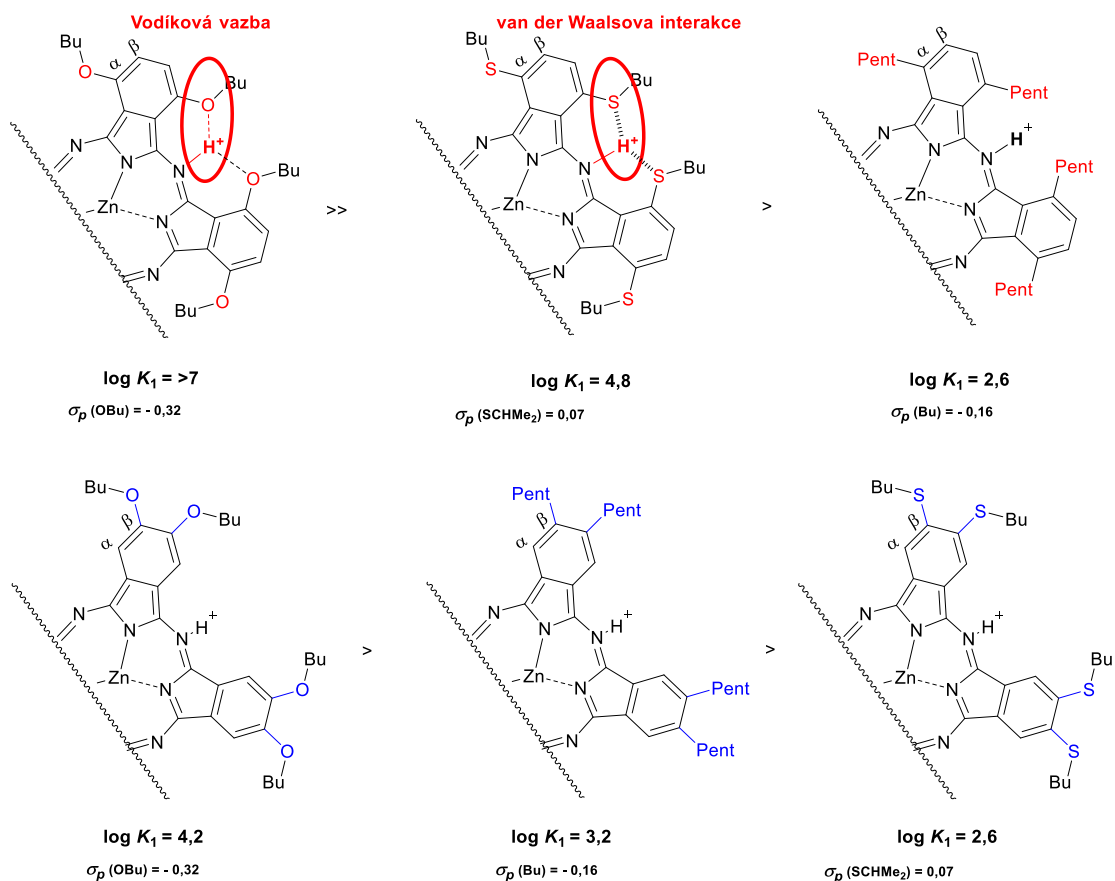


Obrázek 34. Změny v absorpčních spektrech studovaných látek **31Zn** – **36Zn** po postupném přidávání TFA do roztoku chloroformu ( $1 \mu\text{M}$ ).



Získaná data z experimentů byla analyzována a na jejich základě byly stanoveny rovnovážné konstanty  $\log K_1$  dvěma různými způsoby, které jsou dále popsány jako Metoda A a Metoda B (pro podrobnosti viz publikace **P4**). U látek **31Zn** a **33Zn** byly stanoveny i hodnoty  $\log K_2$ , které odpovídají přechodu na diprotonizovanou formu Pc. Hodnoty  $\log K_1$  získané Metodou A byly vypočtené programem GraphPrism nelineární regrese závislosti poklesu absorbance Q-pásu na  $\log(c_{TFA})$ . Metoda B využívá Hillovu

rovnici.<sup>123</sup> Hodnoty vypočtené oběma metodami byly srovnatelné a zvýšili jsme tak platnost získaných dat. Spotřeba kyseliny TFA pro přechod neprotonizované formy do formy monoprotionizované a tedy i basicita připravených **31Zn** – **36Zn** se v celé sérii významně lišila a to v řadě **31Zn** >> **32Zn** > **34Zn** > **36Zn** > **35Zn** ~ **33Zn**, kde  $\log K_1$  nabývaly hodnot od  $> 7 \text{ M}^{-1}$  do  $2,6 \text{ M}^{-1}$ . U periferně substituovaných Pc **34Zn** – **36Zn** byly hodnoty  $\log K_1$  poměrně blízké ( $4,2$ ;  $2,6$  a  $3,2 \text{ M}^{-1}$ ) a dobře korelovaly s elektronovými efekty periferních substituentů vyjádřenými Hammettovými konstantami  $\sigma_p$  (Tabulka 8). V případě neperiferně substituovaných Pc **31Zn** – **33Zn** byly rozdíly v bazicitě velmi výrazné a hodnoty  $\log K_1$  se  $\sigma_p$  nekorelovaly. Nejméně bazickou látkou celé série byla látka **33Zn**, která byla ještě méně bazická než odpovídající periferně substituovaný **36Zn**. Nejvíce bazická látka série byla **31Zn** s  $\log K_1 > 7 \text{ M}^{-1}$ , u které jsme monoprotionizovanou formu registrovali již v čistém chloroformu nebo THF (Obrázek 34) a pro získání její neprotonizované formy bylo nutné do roztoku přidat stopy NaOH nebo jiné baze. Její mohutná bazicita může být vysvětlena tvorbou vodíkové vazby mezi azomethinovým dusíkem a atomem kyslíku, která protonizovanou formu silně stabilizuje (Obrázek 35).<sup>9</sup> U **32Zn** není tvorba vodíkových vazeb možná, ale zvýšená bazicita této látky s  $\log K_1 = 4,8 \text{ M}^{-1}$  je pravděpodobně způsobena přítomností van der Waalsových interakcí mezi atomem síry a protonu na azomethinovém dusíku. Tyto intramolekulární interakce nejsou možné u **33Zn** a také u periferně substituovaných **34Zn** - **36Zn**, kde hodnoty  $\log K_1$  korelují se  $\sigma_p$  periferních substituentů (Obrázek 35). V případě studování bazicity neperiferně substituovaných Pc je tedy třeba vzít do úvahy i intramolekulární interakce, které zásadním způsobem ovlivní jejich acidobazické vlastnosti.



Obrázek 35. Připravené periferní a neperiferní Pc s různými periferními substituenty seřazené podle bazicity s hodnotami Hammetových konstant  $\sigma_p$  pro konkrétní či strukturně blízké substituenty.

Honda v dříve publikované práci pozoroval v  $^1\text{H}$  NMR spektru protonizovanou formu azomethinového dusíku  $\text{NH}^+$  u látky **31Zn** s posunem k 14,7 ppm.<sup>9</sup>  $^1\text{H}$  NMR spektra námi připravené série látek **31Zn** – **36Zn** byla naměřena v chloroformu po přidání TFA. Kvůli ztrátě symetrie molekuly měly alifatické signály po protonizaci vždy komplexní charakter. Po přidání TFA do roztoku měřené látky docházelo u aromatických signálů k posunu k vyšším hodnotám ppm (například z 7,56 ppm na 7,80 ppm u **31Zn** a 7,82 ppm k 8,45 ppm u **34Zn**). Signál azomethinového  $\text{NH}^+$  byl pozorovatelný pouze u nízkých přídavek TFA do roztoku. Při vyšších koncentracích TFA došlo k vymizení signálu  $\text{NH}^+$  a nárůstu signálu pro TFA u 9,2 – 9,8 ppm. V čistém chloroformu byl signál protonizovaného  $\text{NH}^+$  pozorovatelný u **31Zn** při 14,81 ppm (plně ve shodě s Hondou<sup>9</sup>), což opět potvrdilo její velmi bazický charakter a naopak vyloučilo její agregaci. Signály protonizovaných  $\text{NH}$  v sérii připravených látek nabývaly hodnot 14,81; 16,32; 12,16; 15,21 a 15,03 ppm pro **31Zn**, **32Zn**, **34Zn**, **35Zn** a **36Zn**. Signál  $\text{NH}^+$  pro **33Zn** nebyl detekován. Posuny signálu pro  $\text{NH}^+$  u periferně substituovaných **34Zn** – **36Zn** korespondují s elektronovými efekty periferních substituentů. U neperiferně

substituovaných molekul byly zjištěny vyšší hodnoty ppm tohoto signálu než u odpovídajících periferně substituovaných látek. Tento jev může být důkazem, že u **31Zn** skutečně dochází k tvorbě vodíkové vazby a naopak u odpovídajícího **34Zn** nikoliv. Přes tyto fakta nemůže být výrazný posun signálu pro  $\text{NH}^+$  jednoznačným důkazem tvorby vodíkové vazby nebo jiných slabých interakcí, protože stejně jako tyto interakce mají elektronové efekty periferních substituentů na posun významný vliv.

## 6 Závěr

Tato disertační práce se zabývá přípravou a studiem Pc a TPyzPz. V Teoretické části je popsán Současný stav poznání, který shrnuje nejčastější syntetické postupy, které vedou k přípravě prekurzorů a syntézy Pc nebo TPyzPz. Následuje popis absorpčních a fotofyzikálních vlastností těchto látek. Další kapitola pak popisuje cesty zhášení excitovaných stavů po absorpci světla a možnosti jejich využití.

Kapitola Výsledky a diskuze je rozdělena do dvou částí a je komentovaným souborem ke čtyřem publikovaným pracím, na kterých jsem uveden jako první autor. První část je navazující prací k rozsáhlé systematické studii, která se zabývá vztahem strukturních aspektů a možností ovlivnění efektivity zhášení excitovaného stavu molekuly cestou ICT u TPyzPz. V této práci bylo zjištěno, že účinnost zhášení excitovaných stavů cestou ICT je významně ovlivněna elektronovými efekty periferních substituentů. Ty mohou kromě efektivity ICT zásadně ovlivnit také acidobazické vlastnosti makrocyklu [P1]. V další publikované práci jsme se zabývali vlivem délky spojovacího řetězce mezi donorem a akceptorem elektronů na účinnost zhášení pomocí ICT u TPyzPz. Zde bylo pozorováno, že největší efektivity zhášení pomocí ICT je dosaženo u látky s nejkratším spojovacím řetězcem a s rostoucí délkou tohoto řetězce účinnost zhášení klesá. Závěrem této studie bylo nejen vyvrcholení hledání vztahů „struktura × účinek“, ale také to, že protonizace azomethinových atomů dusíku vede k drastickému potlačení fotofyzikálních parametrů. Tento poznatek jsme dále zohlednili v přípravě unikátních senzorů pro velmi úzkou oblast pH na základě OFF-ON-OFF přepínání, které využívají kombinaci dvou na sobě zcela nezávislých principů zhášení fluorescence [P2].

Druhá část mé práce se pak zabývá přípravou a hodnocením absorpčních a fotofyzikálních parametrů neperiferně substituovaných Pc, které mají v absorpčním spektru v porovnání s odpovídajícími periferně substituovanými Pc bathochromně posunutý Q-pás. Kvůli výrazné distorzi makrocyklu u látky s neperiferně vázanými *tert*-butylsulfanylovými substituenty jsme však pozorovali posun hypsochromní. V této studii bylo také pozorováno, že bazicita azomethinových atomů dusíku je významně ovlivněna polohou a povahou periferních substituentů [P3]. Proto byla připravena série sobě odpovídajících periferně i neperiferně substituovaných Pc, na kterých jsme acidobazické vlastnosti Pc dále zkoumali na základě stanovení  $\log K_1$  azomethinových atomů dusíku. Bylo zjištěno, že acidobazické vlastnosti neperiferně substituovaných Pc

jsou kromě elektronových efektů periferních substituentů významně ovlivněny také intramolekulárními interakcemi [P4].



## 7 Seznam publikovaných prací

### PŘEHLED PRACÍ ZAHRNUTÝCH V DISERTAČNÍ PRÁCI

**P1** CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; ZIMCIK, P. Peripheral substitution as a tool for tuning electron-accepting properties of phthalocyanine analogs in intramolecular charge transfer. *Dalton Trans.* **2015**, 44 (15), 6961-6971. IF<sub>2016</sub> = 4,029.

Podíl autora: Příprava cílových molekul, jejich izolace a charakterizace, fotofyzikální měření a měření acidobazických vlastností, elektrochemické měření, analýza dat. Hlavní autor textu.

**P2** CIDLINA, A.; MILETIN, M.; FATHI-RASEKH, M.; NEMYKIN, V.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. OFF-ON-OFF Red-Emitting Fluorescent Indicators for a Narrow pH Window. *Chem. – Eur. J.*, **2017**, 23, 8, 1795-1804. IF<sub>2016</sub> = 5.317.

Podíl autora: Příprava cílových molekul, jejich izolace a charakterizace, fotofyzikální měření, elektrochemické měření, ukotvení látek do lipozomů, analýza dat, studium acidobazických vlastností. Podíl na přípravě textu.

Publikace byla vybrána editorem časopisu pro grafiku na přebalu (Front cover) doplněnou o text pojednávající o autorech, průběhu práce a vizích do budoucna (Cover profile). Práce byla editorem označena jako článek zvláštního významu v rychle se rozvíjející oblasti výzkumu (tzv. „Hot paper“).

**P3** CIDLINA, A.; PAUSIMOVA, Z.; MILETIN, M.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. The effect of substituents at alkylsulfanyl/arylsulfanyl non-peripherally substituted phthalocyanines: spectral and photophysical properties, basicity and photostability. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2015**, 19, 1095–1106. IF<sub>2016</sub> = 1,043.

Podíl autora: Syntéza některých látek, jejich izolace a charakterizace, studium fotofyzikálních parametrů, acidobazických vlastností cílových látek, fotostabilitní zkoušky. Hlavní autor textu.

**P4** CIDLINA, A.; SVEC, J.; LUDVOVA, L.; KUNEŠ, J.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. Predominant effect of connecting atom and position of substituents on azomethine nitrogens' basicity in phthalocyanines. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2016**, 20, 1122-1133. IF<sub>2016</sub> = 1,043.

Podíl autora: Studium acidobazických vlastností cílových látek, Podíl na přípravě textu.

#### DALŠÍ PRÁCE:

MACHACEK, M.; **CIDLINA, A.**; NOVAKOVA, V.; SVEC, J.; RUDOLF, E.; MILETIN, M.; KUCERA, R.; SIMUNEK, T.; ZIMCIK, P. Far-Red-Absorbing Cationic Phthalocyanine Photosensitizers: Synthesis and Evaluation of the Photodynamic Anticancer Activity and the Mode of Cell Death Induction, *J. Med. Chem.*, **2015**; 58 (4), 1736–1749. IF<sub>2016</sub> = 6,259.

Data publikovaná v této práci byla součástí mé diplomové práce a nejsou zahrnuta v práci disertační. Článek byl časopisem *J. Med. Chem.* označen jako „Highly Cited Article of 2015“.

MILETÍN, M.; KOPECKÝ, K.; NOVÁKOVÁ, V.; ZIMČÍK, P.; **CIDLINA, A.**; ŠVEC, J. Použití derivátů pyrazinu a jejich isosterů jako sloučenin vážících se do malého žlábků DNA. CZ Patent 305332, **2015**.

#### PŘEDNÁŠKY

**CIDLINA, A.**; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P. Synthesis of cationic phthalocyanines. 2<sup>nd</sup> Postgraduate Conference FaF UK, Hradec Králové, Czech Republic, 31.1. – 1.2. 2012.

**CIDLINA, A.**; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P. Synthesis of non-peripheral substituted phthalocyanines with alkylsulfanyl groups. 3<sup>rd</sup> Postgraduate and 1<sup>st</sup> Postdoctoral Conference FaF UK, Hradec Králové, Czech Republic, 29. – 30.1. 2013.

**CIDLINA, A.**; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P. Influence of electronic effects of peripheral substituents on intramolecular charge transfer in azaphthalocyanines. 4<sup>th</sup> Postgraduate and 2<sup>nd</sup> Postdoctoral Conference FaF UK, Hradec Králové, Czech Republic, 28. – 29.1. 2014.

**CIDLINA, A.**; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P. Coupling approach to pyrazine-2,3-dicarbonitriles with  $\pi$ -extended linkers between donor (*N,N*-dimethylamino) and acceptor moieties. 5<sup>th</sup> Postgraduate and 3<sup>rd</sup> Postdoctoral Conference FaF UK, Hradec Králové, Czech Republic, 3. – 4.2. 2015.

## PLAKÁTOVÁ SDĚLENÍ

**CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.** Synthesis of cationic phthalocyanines. 7<sup>th</sup> International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines - ICPP 7, Jeju, South Korea, 1. – 6.7. 2012.

**CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.** Water-soluble phthalocyanines for photodynamic therapy. 4<sup>th</sup> EuCheMS Chemistry Congress, Prague, Czech Republic, 26. – 30.8. 2012

**CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.** Syntéza ve vodě rozpustných ftalocyaninů pro fotodynamickou terapii. 41. konferencia Syntéza a analýza léčiv, Bratislava, Slovenská republika, 10 – 12.9. 2012.

**CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.** Syntéza neperiferně substituovaných ftalocyaninů alkylsulfanylovými jednotkami. 42. Syntéza a analýza léčiv, Velké Karlovice, Česká republika. 2. – 5.9. 2013

**CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.** Synthesis of non-peripherally substituted phthalocyanines with alkylsulfanyl groups. 15<sup>th</sup> Brazilian Meeting on Organic Synthesis – 15<sup>th</sup> BMOS, Campos do Jordão, Brazil, 10. – 13.11. 2013.

**CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.** Influence of peripheral substituents on intramolecular charge transfer in azaphthalocyanines. 8<sup>th</sup> International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines - ICPP-8, Istanbul, Turkey, 22. – 27.6. 2014.

**CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.** Influence of electronic effects of peripheral substituents on intramolecular charge transfer in azaphthalocyanines. 4<sup>th</sup> International Conference on Molecular Sensors and Molecular Logic Gates 2014, Shanghai, China, 9. – 12.11. 2014.

**CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.** Coupling approaches to unsymmetrical phthalocyanine analogues with  $\pi$ -extended linkers between donor (*N,N*-dimethylamino) and acceptor moieties. 19<sup>th</sup> European Symposium of Organic Chemistry in 2015, Lisbon, Portugal, 12. – 16.7. 2015.

## GRANTY

- Grantová agentura Univerzity Karlovy  
Číslo projektu: GAUK 57810/B-CH/FaF UK 2010-2012  
Hlavní řešitel: Mgr. Antonín Cidlina (rok 2012)  
Název projektu: Konjugáty ftalocyaninů a azaftalocyaninů pro fotodynamickou terapii připravené pomocí "click" chemie
- Grantová agentura Univerzity Karlovy  
Číslo projektu: GA UK 1182313 /B-CH/FaF 2013-2015  
Hlavní řešitel: Mgr. Antonín Cidlina  
Název projektu: Studium vlivu strukturních faktorů na účinnost intramolekulárního přenosu náboje u azaftalocyaninů
- Grantová agentura Univerzity Karlovy  
Číslo projektu: GA UK 1916214 /C-C1/FaF 2014-2016  
Hlavní řešitel: Mgr. Miloslav Macháček, Ph.D.  
Spoluřešitel: Mgr. Antonín Cidlina  
Název projektu: Studium nových ftalocyaninových a azaftalocyaninových fotosenzitizérů pro fotodynamickou léčbu nádorových onemocnění na buněčné a molekulární úrovni.
- Grantová Agentura České Republiky  
Číslo projektu: 13-27761S  
Hlavní řešitel: Doc. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.  
Spoluřešitel: Mgr. Antonín Cidlina  
Název projektu: Vývoj nových fotosenzitizérů pro fotodynamickou terapii a výzkum jejich mechanismu působení na buněčné úrovni.
- Projekt Pre-seed II CZ.1.05/3.1.00/14.0299

## 8 Seznam použité literatury

1. NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.; KOPECKY, K.; MILETIN, M.; KUNEŠ, J.; LANG, K. Self-assembled azaphthalocyanine dimers with higher fluorescence and singlet oxygen quantum yields than the corresponding monomers. *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, *19*, 3260-3263.
2. KOPECKY, K.; NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; KUCERA, R.; ZIMCIK, P. Solid-phase synthesis of azaphthalocyanine-oligonucleotide conjugates and their evaluation as new dark quenchers of fluorescence. *Bioconjugate chem.*, **2010**, *21* (10), 1872-1879.
3. KOPECKY, K.; NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; KUCERA, R.; ZIMCIK, P. Synthesis of new azaphthalocyanine dark quencher and evaluation of its quenching efficiency with different fluorophores. *Tetrahedron*, **2011**, *67* (33), 5956-5963.
4. NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.; MILETIN, M.; VACHOVA, L.; KOPECKY, K.; LANG, K.; CHÁBERA, P.; POLÍVKA, T. Ultrafast intramolecular charge transfer in tetrapyrazinoporphyrazines controls the quantum yields of fluorescence and singlet oxygen. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2010**, *12*, 2555-2563.
5. KOBAYASHI, N.; FURUYAMA, T.; SATOH, K. Rationally designed phthalocyanines having their main absorption band beyond 1000 nm. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133* (49), 19642-19645.
6. CHAMBRIER, I.; J. COOK, M.; T. WOOD, P., Conformationally stressed phthalocyanines: the non-planarity of the 1,4,8,11,15,18,22,25-octaisopentyl derivative. *Chem. Commun.*, **2000**, *21*, 2133-2134.
7. MCKEOWN, N. B.; CHAMBRIER, I.; COOK, M. J. Synthesis and characterization of some 1,4,8,11,15,18,22,25-octa-alkyl-22,25-bis(carboxypropyl)phthalocyanines and 1,4,8,11,15,18-hexa-alkyl-22,25-bis(carboxypropyl)phthalocyanines. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1990**, *4*, 1169-1177.
8. COOK, M. J.; CHAMBRIER, I.; CRACKNELL, S. J.; MAYES, D. A.; RUSSELL, D. A. Octa-alkyl zinc phthalocyanines: potential photosensitizers for use in the photodynamic therapy of cancer. *Photochem. photobiol.*, **1995**, *62* (3), 542-545.
9. HONDA, T.; KOJIMA, T.; FUKUZUMI, S. Control of electron-transfer reduction by protonation of zinc octabutoxyphthalocyanine assisted by intramolecular hydrogen bonding. *Chem. Commun.*, **2011**, *47* (28), 7986-7988.
10. BRAUN, A.; TCHERNIAC, J. Über die produkte der einwirkung von acetanhydrid auf phthalamid. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1907**, *40* (2), 2709-2714.
11. KADISH, K. M.; SMITH, K. M.; GUILARD, R. *Handbook of Porphyrin Science*. World Scientific Publishing, Singapore, 2010; Vol. 1-10. ISBN 978-981-4307-18-5.

12. LINSTEAD, R. P. *Br. Assoc. Adv. Sci. Rep.* **1933**, 465.
13. NYOKONG, T.; ANTUNES, E. Photochemical and photophysical properties of metallophthalocyanines. In: *Handbook of Porphyrin Science*, 3<sup>rd</sup> Ed., World Scientific Publishing: Singapore, 2010; Vol. 7, pp 247-358. ISBN 978-981-4307-18-5.
14. LUKYANETS, E. A. Phthalocyanines as photosensitizers in the photodynamic therapy of cancer. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **1999**, 3 (6-7), 424-432.
15. NESTEROVA, I. V.; ERDEM, S. S.; PAKHOMOV, S.; HAMMER, R. P.; SOPER, S. A. Phthalocyanine dimerization-based molecular beacons using near-ir fluorescence. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131 (7), 2432.
16. NOVAKOVA, V.; LOCHMAN, L.; ZAJÍCOVÁ, I.; KOPECKY, K.; MILETIN, M.; LANG, K.; KIRAKCI, K.; ZIMCIK, P. Azaphthalocyanines: red fluorescent probes for cations. *Chem. – Eur. J.*, **2013**, 19 (16), 5025-5028.
17. OHTA, K.; AZUMANE, S.; KAWAHARA, W.; KOBAYASHI, N.; YAMAMOTO, I. Discotic liquid crystals of transition metal complexes. Part 26: Supramolecular structures of long-chain-substituted octaphenyltetrapyrrozinoporphyrazine derivatives. *J. Mater. Chem.*, **1999**, 9 (10), 2313-2320.
18. TAUCHI, L.; NAKAGAKI, T.; SHIMIZU, M.; ITOH, E.; YASUTAKE, M.; OHTA, K. Discotic liquid crystals of transition metal complexes 49: establishment of helical structure of fullerene moieties in columnar mesophase of phthalocyanine-fullerene dyads. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2013**, 17 (11), 1080-1093.
19. DE LA TORRE, G.; VAZQUEZ, P.; AGULLO-LOPEZ, F.; TORRES, T. Phthalocyanines and related compounds: organic targets for nonlinear optical applications. *J. Mater. Chem.*, **1998**, 8 (8), 1671-1683.
20. SASTRE, A.; DELREY, B.; TORRES, T. Synthesis of novel unsymmetrically substituted push-pull phthalocyanines. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61 (24), 8591-8597.
21. MARTINEZ-DIAZ, M. V.; DE LA TORRE, G.; TORRES, T. Lighting porphyrins and phthalocyanines for molecular photovoltaics. *Chem. Commun.*, **2010**, 46 (38), 7090-7108.
22. WOHRLE, D.; SUVOROVA, O.; GERDES, R.; BARTELS, O.; LAPOK, L.; BAZIAKINA, N.; MAKAROV, S.; SLODEK, A. Efficient oxidations and photooxidations with molecular oxygen using metal phthalocyanines as catalysts and photocatalysts. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2004**, 8 (8), 1020-1041.
23. VLASOVA, E. A.; HESSENAUER-ILICHEVA, N.; SALNIKOV, D. S.; KUDRIK, E. V.; MAKAROV, S. V.; VAN ELDIK, R. Kinetics and mechanism of the Co(II)-assisted oxidation of l-ascorbic acid by dioxygen and nitrite in aqueous solution. *Dalton Trans.*, **2009**, 47, 10541-10549.

24. KOBAYASHI, N.; OGATA, H.; NONAKA, N.; LUK'YANETS, E. A. Effect of peripheral substitution on the electronic absorption and fluorescence spectra of metal-free and zinc phthalocyanines. *Chem. – Eur. J.*, **2003**, *9* (20), 5123-5134.
25. WOHRLE, D.; SCHMIDT, V. Octabutoxyphthalocyanine, a new electron donor. *Dalton Trans.*, **1988**, *2*, 549-551.
26. COSIMELLI, B.; RONCUCCI, G.; DEI, D.; FANTETTI, L.; FERRONI, F.; RICCI, M.; SPINELLI, D. Synthesis and antimycotic activity of new unsymmetrical substituted zinc phthalocyanines. *Tetrahedron* **2003**, *59* (50), 10025-10030.
27. NEMYKIN, V. N.; LUKYANETS, E. A. Synthesis of substituted phthalocyanines. *Arkivoc* **2010**, 136-208.
28. ABRAMOV, I. G.; SMIRNOV, A. V.; ABRAMOVA, M. B.; IVANOVSKII, S. A.; BELYSHEVA, M. S. Synthesis of N,N'-alkylated tetrahydroquinoxalines by the reaction of 4-bromo-5-nitrophthalonitrile with secondary diamines. *Chem. Heterocycl. Compd.*, **2002**, *38* (5), 576-580.
29. KUMRU, U.; DUMOULIN, F.; JEANNEAU, E.; YUKSEL, F.; CABEZAS, Y.; ZORLU, Y.; AHSEN, V. 4,5-, 3,6-, and 3,4,5,6-tert-Butylsulfanylphthalonitriles: synthesis and comparative structural and spectroscopic analyses. *Struct. Chem.*, **2012**, *23* (1), 175-183.
30. HEENEY, M. J.; AL-RAQA, S. A.; AUGER, A.; BURNHAM, P. M.; CAMMIDGE, A. N.; CHAMBRIER, I.; COOK, M. J. Routes to some 3,6-disubstituted phthalonitriles and examples of phthalocyanines derived therefrom: An overview. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2013**, *17*, 649-664.
31. MAYA, E. M.; VÁZQUEZ, P.; TORRES, T. Synthesis of alkynyl-linked phthalocyanine dyads: push-pull homo- and heterodimetallic bisphthalocyaninato complexes. *Chem. – Eur. J.*, **1999**, *5* (7), 2004-2013.
32. ZIMCIK, P.; MILETIN, M.; KOSTKA, M.; SCHWARZ, J.; MUSIL, Z.; KOPECKY, K. Synthesis and comparison of photodynamic activity of alkylheteroatom substituted azaphthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol., A.*, **2004**, *163* (1-2), 21-28.
33. MØRKVED, E. H.; OSSLETTEN, H.; KJØSEN, H. Preparation of octa(alkoxy) azaphthalocyanines. *Acta Chem. Scand.*, **1999**, *53* (12), 1117-1121.
34. MAKHSEED, S.; IBRAHIM, F.; BEZZU, C. G.; MCKEOWN, N. B., The synthesis of metal-free octaazaphthalocyanine derivatives containing bulky phenoxy substituents to prevent self-association. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48* (41), 7358-7361.
35. ZIMCIK, P.; MILETIN, M.; NOVAKOVA, V.; KOPECKY, K.; NEJEDLA, M.; STARA, V.; SEDLACKOVA, K. Effective monofunctional azaphthalocyanine photosensitizers for photodynamic therapy. *Aust. J. Chem.*, **2009**, *62* (5), 425-433.

36. NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; FILANDROVÁ, T.; LENČO, J.; RŮŽIČKA, A.; ZIMCIK, P. Role of steric hindrance in the newman-kwart rearrangement and in the synthesis and photophysical properties of arylsulfanyl tetrapyrazinoporphyrazines. *J. Org. Chem.*, **2014**, *79* (5), 2082-2093.
37. KOPECKY, K.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; MUSIL, Z.; STRIBNA, J. The synthesis and characterization of metal-free, unsymmetrical azaphthalocyanines with hydroxy groups and their complex formation with pyridine. *Dyes Pigm.*, **2008**, *78* (3), 231-238.
38. FAUST, R. The modular approach to acetylenic phthalocyanines and phthalocyanine analogues. *Eur. J. Org. Chem.*, **2001**, *15*, 2797-2803.
39. ALI, H.; VAN LIER, J. E. An easy route for the synthesis of pyrazine-2,3-dicarbonitrile 5,6-bis-substituted derivatives using a palladium catalyst. *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53* (36), 4824-4827.
40. DONZELLO, M. P.; ERCOLANI, C.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.; STUZHIN, P. A. Tetrapyrazinoporphyrazines and their metal derivatives. Part I: Synthesis and basic structural information. *Coord. Chem. Rev.*, **2016**, *309*, 107-179.
41. LINSTEAD, R. P.; NOBLE, E. G.; WRIGHT, J. M. Phthalocyanines. IX. Derivatives of thiophene, thionaphthene, pyridine and pyrazine, and a note on the nomenclature. *J. Chem. Soc.*, **1937**, 911-921.
42. HARUHIKO, T.; SHOJIRO, S.; SHOJIRO, O.; SHINSAKU, S. Synthesis of phthalocyanines from phthalonitrile with organic strong bases. *Chem. Lett.*, **1980**, *9* (10), 1277-1280.
43. NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; KOPECKY, K.; FRANZOVÁ, Š.; ZIMCIK, P. Synthesis of unsymmetrical alkyloxy/aryloxy-azaphthalocyanines based on a transesterification reaction. *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 5879-5886.
44. STUZHIN, P. A.; KHELEVINA, O. G. Azaporphyrins: Structure of the reaction centre and reactions of complex formation. *Coord. Chem. Rev.*, **1996**, *147*, 41-86.
45. ELVIDGE, J. A.; LINSTEAD, R. P., Conjugated macrocycles. Part XXVII. The formation of tetrazaporphins from imidines. Tribenzotetrazaporphin. *J. Chem. Soc.*, **1955**, 3536-3544.
46. NEMYKIN, V. N.; DUDKIN, S. V.; DUMOULIN, F.; HIREL, C.; GÜREK, A. G.; AHSEN, V. Synthetic approaches to asymmetric phthalocyanines and their analogues. *Arkivoc.* **2014**, *1*, 142-204.
47. CLAESSENS, C. G.; HAHN, U.; TORRES, T. Phthalocyanines: from outstanding electronic properties to emerging applications. *Chem. Rec.*, **2008**, *8* (2), 75-97.
48. Takamitsu Fukuda, N. K. Handbook of Porphyrin Science. In *Electronic Absorption Spectra-Phthalocyanines*, Ed. World Scientific Publishing: Singapore, 2010; Vol. 9, p 650. ISBN 978-981-4307-18-5.



49. KOSTKA, M.; ZIMCIK, P.; MILETIN, M.; KLEMERA, P.; KOPECKY, K.; MUSIL, Z. Comparison of aggregation properties and photodynamic activity of phthalocyanines and azaphthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol., A.*, **2006**, *178* (1), 16-25.
50. NOVAKOVA, V.; REIMEROVA, P.; SVEC, J.; SUCHAN, D.; MILETIN, M.; RHODA, H. M.; NEMYKIN, V. N.; ZIMCIK, P. Systematic investigation of phthalocyanines, naphthalocyanines, and their aza-analogues. Effect of the isosteric aza-replacement in the core. *Dalton Trans.*, **2015**, *44* (29), 13220-13233.
51. LEE, A.; KIM, D.; CHOI, S. H.; PARK, J. W.; JAUNG, J. Y.; JUNG, D. H., Theoretical study on phthalocyanine, pyrazinoporphyrazine and their complexation with Mg<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> *Mol. Simul.*, **2010**, *36* (3), 192-198.
52. LEZNOFF, C. C.; BLACK, L. S.; HIEBERT, A.; CAUSEY, P. W.; CHRISTENDAT, D.; LEVER, A. B. P. Red manganese phthalocyanines from highly hindered hexadecaalkoxyphthalocyanines. *Inorg. Chim. Acta*, **2006**, *359* (9), 2690-2699.
53. NYOKONG, T. Electronic spectral and electrochemical behavior of near infrared absorbing metallophthalocyanines. In: *Functional Phthalocyanine Molecular Materials*, Jiang, J., Ed. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2010; pp 45-87. ISBN 978-3-642-04752-7.
54. BREWIS, M.; CLARKSON, G. J.; HUMBERSTONE, P.; MAKHSEED, S.; MCKEOWN, N. B. The synthesis of some phthalocyanines and naphthalocyanines derived from sterically hindered phenols. *Chem. - Eur. J.*, **1998**, *4* (9), 1633-1640.
55. ZIMCIK, P.; MILETIN, M.; MUSIL, Z.; KOPECKY, K.; KUBZA, L.; BRAULT, D., Cationic azaphthalocyanines bearing aliphatic tertiary amino substituents-Synthesis, singlet oxygen production and spectroscopic studies. *J. Photochem. Photobiol., A.*, **2006**, *183* (1-2), 59-69.
56. MAKHSEED, S.; MACHACEK, M.; ALFADLY, W.; TUHL, A.; VINODH, M.; SIMUNEK, T.; NOVAKOVA, V.; KUBAT, P.; RUDOLF, E.; ZIMCIK, P. Water-soluble non-aggregating zinc phthalocyanine and in vitro studies for photodynamic therapy. *Chem. Commun.*, **2013**, *49* (95), 11149-11151.
57. KOBAYASHI, N.; NAKAJIMA, S.-I.; OGATA, H.; FUKUDA, T. Synthesis, spectroscopy, and electrochemistry of tetra-tert-butylated tetraazaporphyrins, phthalocyanines, naphthalocyanines, and anthracocyanines, together with molecular orbital calculations. *Chem. - Eur. J.*, **2004**, *10* (24), 6294-6312.
58. NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.; MILETIN, M.; KOPECKY, K.; MUSIL, Z. Tetra[6,7]quinoxalinoporphyrazines: the effect of an additional benzene ring on photophysical and photochemical properties. *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, *2010* (4), 732-739.
59. DONZELLO, M. P.; DE MORI, G.; VIOLA, E.; ERCOLANI, C.; RICCIARDI, G.; ROSA, A. Tetra-2,3-pyrazinoporphyrazines with externally appended pyridine

- rings. 15. effects of the pyridyl substituents and fused exocyclic rings on the uv–visible spectroscopic properties of mg(ii)–porphyrazines: a combined experimental and dft/tddft study. *Inorg. Chem.*, **2014**, *53* (15), 8009-8019.
60. MUSIL, Z.; ZIMCIK, P.; MILETIN, M.; KOPECKY, K.; LENCO, J. Synthesis, separation and UV/Vis spectroscopy of pyrazino-quinoxalino-porphyrazine macrocycles. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *27*, 4535-4542.
  61. HOMOCIANU, M.; AIRINEI, A.; DOROHAI, D. O. Solvent Effects on the Electronic Absorption and Fluorescence Spectra. *J. Adv. Res. Phys.*, **2011**, *2* (1), 11105.
  62. PETRIK, P.; ZIMCIK, P.; KOPECKY, K.; MUSIL, Z.; MILETIN, M.; LOUKOTOVA, V. Protonation and deprotonation of nitrogens in tetrapyrazinoporphyrazine macrocycles. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2007**, *11*, 487-495.
  63. OGUNSIPE, A.; MAREE, D.; NYOKONG, T. Solvent effects on the photochemical and fluorescence properties of zinc phthalocyanine derivatives. *J. Mol. Struct.*, **2003**, *650* (1-3), 131-140.
  64. MCCLURE, D. S. Triplet-singlet transitions in organic molecules - lifetime measurements of the triplet state. *J. Chem. Phys.*, **1949**, *17* (10), 905-913.
  65. YANO, S.; HIROHARA, S.; OBATA, M.; HAGIYA, Y.; OGURA, S.-I.; IKEDA, A.; KATAOKA, H.; TANAKA, M.; JOH, T. Current states and future views in photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol., C.*, **2011**, *12* (1), 46-67.
  66. DOUGHERTY, T. J.; KAUFMAN, J. E.; GOLDFARB, A.; WEISHAUP, K. R.; BOYLE, D.; MITTLEMAN, A. photoradiation therapy for treatment of malignant-tumors. *Cancer Res.*, **1978**, *38* (8), 2628-2635.
  67. WOHRLE, D.; SHOPOVA, M.; MULLER, S.; MILEV, A. D.; MANTAREVA, V. N.; KRASTEVA, K. K. Liposome-delivered Zn(II)-2,3-naphthalocyanines as potential sensitizers for PDT: synthesis, photochemical, pharmacokinetic and phototherapeutic studies. *J. Photochem. Photobiol., C.*, **1993**, *21* (2-3), 155-165.
  68. BONNETT, R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.*, **1995**, *24* (1), 19-33.
  69. LAKOWICZ, J. R., *Principles of fluorescence spectroscopy*. 3. vyd.; Springer: New York, 2006. ISBN 978-0-387-46312-4
  70. DEMCHENKO, A. P. *Introduction to fluorescence sensing*, SpringerLink, Springer, New York 2009, ISBN 978-1-4020-9002-8.
  71. MARME, N.; KNEMEYER, J. P.; SAUER, M.; WOLFRUM, J. Inter- and intramolecular fluorescence quenching of organic dyes by tryptophan. *Bioconjugate chem.*, **2003**, *14* (6), 1133-9.

72. FAJARI, L.; FORS, P.; LANG, K.; NONELL, S.; TRULL, F. R., Intramolecular and intermolecular photoinduced electron transfer in isomeric mesoporphyrin nitrobenzyl esters: Structure and solvent effects. *J. Photochem. Photobiol., A*, **1996**, *93* (2-3), 119-128.
73. CALLAN, J. F.; DE SILVA, A. P.; MAGRI, D. C. Luminescent sensors and switches in the early 21st century. *Tetrahedron*, **2005**, *61* (36), 8551-8588.
74. DOOSE, S.; NEUWEILER, H.; SAUER, M. Fluorescence quenching by photoinduced electron transfer: a reporter for conformational dynamics of macromolecules. *Chem. Phys. Chem.*, **2009**, *10* (9-10), 1389-1398.
75. VOS, R.; ENGELBORGHES, Y. A fluorescence study of tryptophan-histidine interactions in the peptide anantin and in solution. *Photochem. photobiol.*, **1994**, *60* (1), 24-32.
76. COOPER, J. P.; HAGERMAN, P. J. Analysis of fluorescence energy transfer in duplex and branched DNA molecules. *Biochem.*, **1990**, *29* (39), 9261-9268.
77. DE SILVA, A. P.; SANDANAYAKE, K. R. A. S. Fluorescent PET (photo-induced electron transfer) sensors for alkali metal ions with improved selectivity against protons and with predictable binding constants. *Chem. Commun.*, **1989**, *16*, 1183-1185.
78. DALY, B.; LING, J.; DE SILVA, A. P. Current developments in fluorescent PET (photoinduced electron transfer) sensors and switches. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44* (13), 4203-4211.
79. DE SILVA, A. P.; GUNARATNE, H. Q. N.; GUNNLAUGSSON, T.; HUXLEY, A. J. M.; MCCOY, C. P.; RADEMACHER, J. T.; RICE, T. E. Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches. *Chem. Rev.*, **1997**, *97* (5), 1515-1566.
80. GUNNLAUGSSON, T.; ALI, H. D.; GLYNN, M.; KRUGER, P. E.; HUSSEY, G. M.; PFEFFER, F. M.; DOS SANTOS, C. M.; TIERNEY, J. Fluorescent photoinduced electron transfer (PET) sensors for anions; from design to potential application. *J. Fluoresc.*, **2005**, *15* (3), 287-99.
81. GUNNLAUGSSON, T.; BICHELL, B.; NOLAN, C. Fluorescent PET chemosensors for lithium. *Tetrahedron*, **2004**, *60* (27), 5799-5806.
82. DUKE, R. M.; VEALE, E. B.; PFEFFER, F. M.; KRUGER, P. E.; GUNNLAUGSSON, T. Colorimetric and fluorescent anion sensors: an overview of recent developments in the use of 1,8-naphthalimide-based chemosensors. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39* (10), 3936-3953.
83. DE SILVA, A. P.; DE SILVA, S. A. Fluorescent signalling crown ethers; 'switching on' of fluorescence by alkali metal ion recognition and binding in situ. *Chem. Commun.*, **1986**, *23*, 1709-1710.

84. HE, H.; LIU, J.-Y.; NG, D. K. P. A phthalocyanine-based fluorescent sensor for Zn<sup>2+</sup> ion. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2013**, *17*, 99-103.
85. HILL, J. P.; SUBBAIYAN, N. K.; D'SOUZA, F.; XIE, Y. S.; SAHU, S.; SANCHEZ-BALLESTER, N. M.; RICHARDS, G. J.; MORI, T.; ARIGA, K. Antioxidant-substituted tetrapyrazinoporphyrazine as a fluorescent sensor for basic anions. *Chem. Commun.*, **2012**, *48* (33), 3951-3953.
86. LOCHMAN, L.; SVEC, J.; ROH, J.; NOVAKOVA, V. The role of the size of azacrown recognition moiety in azaphthalocyanine fluorescence sensors for alkali and alkaline earth metal cations. *Dyes Pigm.*, **2015**, *121*, 178-187.
87. LOCHMAN, L.; SVEC, J.; ROH, J.; KIRAKCI, K.; LANG, K.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. Metal-Cation Recognition in Water by a Tetrapyrazinoporphyrazine-Based Tweezer Receptor. *Chem. - Eur. J.*, **2016**, *22* (7), 2417-2426.
88. NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; KOPECKY, K.; ZIMCIK, P. Red-emitting dyes with photophysical and photochemical properties controlled by ph. *Chem. - Eur. J.*, **2011**, *17* (50), 14273-14282.
89. NOVAKOVA, V.; LÁSKOVÁ, M.; VAVŘIČKOVÁ, H.; ZIMCIK, P. Phenol-substituted tetrapyrazinoporphyrazines: ph-dependent fluorescence in basic media. *Chem. - Eur. J.*, **2015**, *21* (41), 14382-14392.
90. KAESTNER, L.; CESSON, M.; KASSAB, K.; CHRISTENSEN, T.; EDMINSON, P. D.; COOK, M. J.; CHAMBRIER, I.; JORI, G. Zinc octa-n-alkyl phthalocyanines in photodynamic therapy: photophysical properties, accumulation and apoptosis in cell cultures, studies in erythrocytes and topical application to Balb/c mice skin. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2003**, *2* (6), 660-667.
91. ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V.; KOPECKY, K.; MILETIN, M.; USLU KOBAK, R. Z.; SVANDRLIKOVA, E.; VÁCHOVÁ, L.; LANG, K. Magnesium azaphthalocyanines: an emerging family of excellent red-emitting fluorophores. *Inorg. Chem.*, **2012**, *51* (7), 4215-4223.
92. MILETÍN, M.; KOPECKÝ, K.; NOVÁKOVÁ, V.; ZIMČÍK, P.; CIDLINA, A.; ŠVEC, J. Použití derivátů pyrazinu a jejich isosterů jako sloučenin vážících se do malého žlábků DNA. CZ Patent 305332, **2015**
93. MACHACEK, M.; CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; SVEC, J.; RUDOF, E.; MILETIN, M.; KUCERA, R.; SIMUNEK, T.; ZIMCIK, P. Far-red-absorbing cationic phthalocyanine photosensitizers: synthesis and evaluation of the photodynamic anticancer activity and the mode of cell death induction. *J. Med. Chem.*, **2015**, *58* (4), 1736-1749.
94. NOVAKOVA, V.; HLADIK, P.; FILANDROVA, T.; ZAJICOVA, I.; KREPSOVA, V.; MILETIN, M.; LENCO, J.; ZIMCIK, P. Structural factors influencing the intramolecular charge transfer and photoinduced electron transfer

- in tetrapyrazinoporphyrazines. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2014**, *16* (11), 5440-5446.
95. VACHOVA, L.; NOVAKOVA, V.; KOPECKY, K.; MILETINA, M.; ZIMCIK, P. Effect of intramolecular charge transfer on fluorescence and singlet oxygen production of phthalocyanine analogues. *Dalton Trans.*, **2012**, *41* (38), 11651-11656.
  96. HANSCH, C.; LEO, A.; TAFT, R. W. A survey of Hammett substituent constants and resonance and field parameters. *Chem. Rev.*, **1991**, *91* (2), 165-195.
  97. REDMOND, R. W.; GAMLIN, J. N. A compilation of singlet oxygen yields from biologically relevant molecules. *Photochem. Photobiol.*, **1999**, *70* (4), 391-475.
  98. CHEN, J.-Y.; OGUNSIPE, A.; NYOKONG, T. Photophysical and photochemical studies of zinc(II) phthalocyanine derivatives—effects of substituents and solvents. *New J. Chem.* **2004**, *28*, 822-827.
  99. MITZEL, F.; FITZGERALD, S.; BEEBY, A.; FAUST, R. The synthesis of arylalkyne-substituted tetrapyrazinoporphyrazines and an evaluation of their potential as photosensitisers for photodynamic therapy. *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, (5), 1136-1142.
  100. NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.; MILETIN, M.; VUJTECH, P.; FRANZOVA, S. The synthesis, photochemical and photophysical properties of zinc aryloxy- and alkyloxy azaphthalocyanines. *Dyes Pigm.*, **2010**, *87* (2), 173-179.
  101. URANO, Y.; ASANUMA, D.; HAMA, Y.; KOYAMA, Y.; BARRETT, T.; KAMIYA, M.; NAGANO, T.; WATANABE, T.; HASEGAWA, A.; CHOYKE, P. L.; KOBAYASHI, H. Selective molecular imaging of viable cancer cells with pH-activatable fluorescence probes. *Nat. Med.*, **2009**, *15* (1), 104-9.
  102. BEEBY, A.; FITZGERALD, S.; STANLEY, C. F. A photophysical study of protonated (tetra-tert-butylphthalocyaninato)zinc. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2001**, *10*, 1978-1982.
  103. TOPAL, S. Z.; ONAL, E.; GUREK, A. G.; HIREL, C. pH-induced "off-on-off" type molecular switch behaviors of zinc and free tetraimidazophthalocyanines. *Dalton Trans.*, **2013**, *42* (32), 11528-11536.
  104. NAKAMURA, A.; ATAKA, T.; SEGAWA, H.; TAKEUCHI, Y.; TAKEMATSU, T. Studies on herbicidal 2,3-dicyanopyrazines .2. structure-activity-relationships of herbicidal 5-ethylamino-2,3-dicyanopyrazine and 5-propylamino-2,3-dicyanopyrazine. *Agric. Biol. Chem.*, **1983**, *47* (7), 1561-1567.
  105. KULHÁNEK, J.; BUREŠ, F.; LUDWIG, M. Convenient methods for preparing  $\pi$ -conjugated linkers as building blocks for modular chemistry. *Beilstein J. Org. Chem.*, **2009**, *5*, 11.

106. BUREŠ, F.; ČERMÁKOVÁ, H.; KULHÁNEK, J.; LUDWIG, M.; KUZNIK, W.; KITYK, I. V.; MIKYSEK, T.; RŮŽIČKA, A. Structure–property relationships and nonlinear optical effects in donor-substituted dicyanopyrazine-derived push–pull chromophores with enlarged and varied  $\pi$ -linkers. *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 3, 529-538.
107. ALI, N. M.; MCKILLOP, A.; MITCHELL, M. B.; REBELO, R. A.; WALLBANK, P. J. Palladium-catalysed cross-coupling reactions of arylboronic acids with  $\pi$ -deficient heteroaryl chlorides. *Tetrahedron*, **1992**, 48 (37), 8117-8126.
108. SHING WONG, M.; NICOUD, J.-F. Synthesis and computational studies of hyperpolarizable zig-zag chromophores. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35 (33), 6113-6116.
109. ENGELHARDT, V.; KUHRI, S.; FLEISCHHAUER, J.; GARCIA-IGLESIAS, M.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, D.; BOTTARI, G.; TORRES, T.; GULDI, D. M.; FAUST, R. Light-harvesting with panchromatically absorbing BODIPY-porphyrazine conjugates to power electron transfer in supramolecular donor-acceptor ensembles. *Chem. Sci.*, **2013**, 4 (10), 3888-3893.
110. BEEBY, A.; FITZGERALD, S.; STANLEY, C. F. A photophysical study of protonated (tetra-tert-butylphthalocyaninato)zinc. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2001**, 10, 1978-1982.
111. NEW, R. R. C., *Liposomes: a practical approach*. Oxford University Press: New York, 1990. ISBN 10-0199630771
112. FURUYAMA, T.; SATOH, K.; KUSHIYA, T.; KOBAYASHI, N. Design, synthesis, and properties of phthalocyanine complexes with main-group elements showing main absorption and fluorescence beyond 1000 nm. *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, 136 (2), 765-776.
113. AGOSTINIS, P.; BERG, K.; CENGEL, K. A.; FOSTER, T. H.; GIROTTI, A. W.; GOLLNICK, S. O.; HAHN, S. M.; HAMBLIN, M. R.; JUZENIENE, A.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; MROZ, P.; NOWIS, D.; PIETTE, J.; WILSON, B. C.; GOLAB, J. Photodynamic therapy of cancer: An update. *CA. Ca-Cancer J. Clin.*, **2011**, 61 (4), 250-281.
114. SUCHANEK, J.; LANG, K.; NOVAKOVA, V.; ZIMCIK, P.; ZELINGER, Z.; KUBAT, P. Photophysical properties of CdSe quantum dot self-assemblies with zinc phthalocyanines and azaphthalocyanines. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2013**, 12 (5), 743-750.
115. MBAMBISA, G.; TAU, P.; ANTUNES, E.; NYOKONG, T. Synthesis and electrochemical properties of purple manganese(III) and red titanium(IV) phthalocyanine complexes octa-substituted at non-peripheral positions with pentylthio groups. *Polyhedron*, **2007**, 26 (18), 5355-5364.
116. ZORLU, Y.; KUMRU, U.; ISCI, U.; DIVRIK, B.; JEANNEAU, E.; ALBRIEUX, F.; DEDE, Y.; AHSAN, 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 (30), 6580-6583.
117. ZHANG, Y.; MA, P.; ZHU, P. H.; ZHANG, X. Y.; GAO, Y. N.; QI, D. D.; BIAN, Y. Z.; KOBAYASHI, N.; JIANG, J. Z. 2,3,9,10,16,17,23,24-Octakis(hexylsulfonyl)phthalocyanines with good n-type semiconducting properties. Synthesis, spectroscopic, and electrochemical characteristics. *J. Mater. Chem.*, **2011**, 21 (18), 6515-6524.
118. FUKUZUMI, S.; HONDA, T.; KOJIMA, T. Structures and photoinduced electron transfer of protonated complexes of porphyrins and metallophthalocyanines. *Coord. Chem. Rev.*, **2012**, 256 (21-22), 2488-2502.
119. MAYUKH, M.; SEMA, C. M.; ROBERTS, J. M.; MCGRATH, D. V. Solvent-free synthesis of soluble, near-ir absorbing titanyl phthalocyanine derivatives. *J. Org. Chem.*, **2010**, 75 (22), 7893-7896.
120. TOPAL, S. Z.; ISCI, U.; KUMRU, U.; ATILLA, D.; GUREK, A. G.; HIREL, C.; DURMUS, M.; TOMMASINO, J.-B.; LUNEAU, D.; BERBER, S.; DUMOULIN, F.; AHSEN, V. Modulation of the electronic and spectroscopic properties of Zn(ii) phthalocyanines by their substitution pattern. *Dalton Trans.*, **2014**, 43 (18), 6897-6908.
121. RIHTER, B. D.; KENNEY, M. E.; FORD, W. E.; RODGERS, M. A. J. Synthesis and photoproperties of diamagnetic octabutoxyphthalocyanines with deep red optical absorbance. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112 (22), 8064-8070.
122. LIU JIAN-BO, Z. Y., ZHAO FU-QUN, ZHANG FU-SHI, TANG YING-WU, SONG XIN-QI, ZHOU FU-TIAN. Effects of Protonation and Deprotonation on Phthalocyanine's Spectra. *Acta Phys. -Chim. Sin.* **1996**, 12 (03), 202-207.
123. ELLIS, P. E.; LINARD, J. E.; SZYMANSKI, T.; JONES, R. D.; BUDGE, J. R.; BASOLO, F. Axial ligation constants of iron(II) and cobalt(II) "capped" porphyrins. *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102 (6), 1889-1896.

## 9 Seznam příloh

- P1** CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; ZIMCIK, P. Peripheral substitution as a tool for tuning electron-accepting properties of phthalocyanine analogs in intramolecular charge transfer. *Dalton Trans.* **2015**, 44 (15), 6961-6971. IF<sub>2016</sub> = 4,029.
- P2** CIDLINA, A.; MILETIN, M.; FATHI-RASEKH, M.; NEMYKIN, V.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. OFF-ON-OFF Red-Emitting Fluorescent Indicators for a Narrow pH Window. *Chem. – Eur. J.*, **2017**, 23, 8, 1795-1804. IF<sub>2016</sub> = 5,317.
- P3** CIDLINA, A.; PAUSIMOVA, Z.; MILETIN, M.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. The effect of substituents at alkylsulfanyl/arylsulfanyl non-peripherally substituted phthalocyanines: spectral and photophysical properties, basicity and photostability. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2015**, 19, 1095–1106. IF<sub>2016</sub> = 1,043.
- P4** CIDLINA, A.; SVEC, J.; LUDVOVA, L.; KUNEŠ, J.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. Predominant effect of connecting atom and position of substituents on azomethine nitrogens' basicity in phthalocyanines. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2016**, 20, 1122-1133. IF<sub>2016</sub> = 1,043.



## PŘÍLOHA P1

CIDLINA, A.; NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; ZIMCIK, P. Peripheral substitution as a tool for tuning electron-accepting properties of phthalocyanine analogs in intramolecular charge transfer. *Dalton Trans.* **2015**, 44 (15), 6961-6971. IF<sub>2016</sub> = 4,029.

## **PŘÍLOHA P2**

CIDLINA, A.; MILETIN, M.; FATHI-RASEKH, M.; NEMYKIN, V.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. OFF-ON-OFF Red-Emitting Fluorescent Indicators for a Narrow pH Window. *Chem. – Eur. J.*, **2017**, 23, 8, 1795-1804. IF<sub>2016</sub> = 5.317.

### **PŘÍLOHA P3**

CIDLINA, A.; PAUSIMOVA, Z.; MILETIN, M.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V.  
The effect of substituents at alkylsulfanyl/arylsulfanyl non-peripherally substituted phthalocyanines: spectral and photophysical properties, basicity and photostability. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2015**, *19*, 1095–1106. IF<sub>2016</sub> = 1,043.

#### **PŘÍLOHA P4**

CIDLINA, A.; SVEC, J.; LUDVOVA, L.; KUNEŠ, J.; ZIMCIK, P.; NOVAKOVA, V. Predominant effect of connecting atom and position of substituents on azomethine nitrogens' basicity in phthalocyanines. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2016**, *20*, 1122-1133. IF<sub>2016</sub> = 1,043.