



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

# Syntéza a studium fotofyzikálních a fotochemických vlastností ftalocyaninů a azaftalocyaninů

---

Disertační práce

Mgr. Lenka Váchová



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

Studijní program: Farmacie

Studijní obor: Farmaceutická chemie



*Hradec Králové, 2017*

---



„ Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně pod vedením svého školitele doc. PharmDr. Petra Zimčíka, Ph.D. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. “

V Hradci Králové

.....  
Mgr. Lenka Váchová



Na tomto místě bych ráda poděkovala všem, kteří mi pomohli dospět k výsledkům předkládaným v této práci. V první řadě svému školiteli doc. PharmDr. Petru Zimčikovi, Ph.D. za trpělivé vedení, cenné rady a za přístup, kterým dokázal nadchnout nejen mě, ale i ostatní studenty. Zároveň celému osazenstvu laboratoře 2234, jmenovitě doc. PharmDr. Veronice Novákové, Ph.D. hnací síle AzaPc group, PharmDr. Kamilu Kopeckému, Ph.D.; Mgr. Antonínu Cidlinovi a ostatním studentům za příjemnou a přátelskou atmosféru. Za cennou spolupráci a velmi přátelské prostředí vděčím doc. PharmDr. Miroslavu Miletínovi, Ph.D., doc. PharmDr. Radimovi Kučerovi, Ph.D. a všem členům katedry FChKL. Poděkování náleží i spolupracovníkům z výzkumné skupiny Prof. Neila McKeown z cardiffské univerzity, především C. Grazii Bezzu a Simonovi J. A. Pope, kteří mi poskytli užitečné rady a pomoc při mé zahraniční stáži.

Velmi bych chtěla poděkovat celé své rodině a všem mým blízkým za jejich nedocenitelnou pomoc během mých studií a tuto závěrečnou zprávu bych jim ráda věnovala. Jsem vděčná za jejich podporu a motivaci k další práci a finalizaci studia. Především pak příteli Lubošovi, který mi byl oporou k sepsání této disertační práce.

Za finanční podporu děkuji Grantové agentuře Univerzity Karlovy (projekty 68110/2010, 57810/2010 a 1182313/2013) a projektu Specifického vysokoškolského výzkumu SVV 260 401.



# Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát: Mgr. Lenka Váchová

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

Název disertační práce: Syntéza a studium fotofyzikálních a fotochemických vlastností ftalocyaninů a azaftalocyaninů

Ftalocyaniny (Pc) a jejich aza- analogy azaftalocyaniny (AzaPc) jsou planární makrocyclické komplexy odvozené od porfyrinů s výrazným absorpčním pásem v oblasti 620-800 nm. Vzhledem ke svým unikátním fotofyzikálním a fotochemickým vlastnostem, společně s vysokou variabilitou substituce makrocyccku představují významné činitele v moderním pojetí materiálů, průmyslu, elektrotechnice i medicíně. Uplatňují se jako fotosenzitivní látky ve fotodynamické terapii rakovinných i nezhoubných onemocnění, jako zřášeče fluorescence pro značení molekulárních sond v biologii nebo fotochemické transportéry makromolekul v buněčném prostředí. Účinek Pc a AzaPc je ovlivněn jejich strukturou, a to především povahou periferních substituentů, centrálního chelatovaného kovu a typem základního makrocyccku.

V první části disertační práce byl studován vliv intramolekulárního přenosu náboje (ICT) na série nesymetrických tetrapyrazinoporfyrinů a tribenzopyrazinoporfyrinů s odlišnými periferními substituenty nesoucí dva dialkylaminové substituenty jako donory pro ICT. Tento proces je zprostředkovaný volným elektronovým párem na periferním dusíku, který vystupuje jako donorem náboje, zatímco makrocyccké jádro je jeho akceptorem. Získané výsledky ukázaly, že účinnost ICT může být úzce propojená s charakterem makrocyccku a jeho periferními substituenty.

Druhá část práce se zabývala nalezením vhodného syntetického přístupu nových heteroatomem substituovaných derivátů tetra-3,4-pyridoporfyrinů (TPyDPz). Připravené TPyDPz byly studovány z hlediska svých spektrálních, fotofyzikálních a fotochemických parametrů a výsledky byly porovnány se strukturálně podobnými sloučeninami.

Závěrečná část se věnovala ve vodě rozpustným dendrimerům na bázi poly(amidoaminu) (PAMAM) z hlediska fotofyzikální aktivity. Byl popsán vliv přenosu elektronu v závislosti na generaci a pH zkoumaných dendrimerů.





# Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové  
Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Analysis

Candidate: Mgr. Lenka Váchová

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

Title of the doctoral thesis: Synthesis and study of photophysical and photochemical properties of phthalocyanines and azaphthalocyanines

Phthalocyanines (Pc) and their aza-analogs azaphthalocyanines (AzaPc) are planar macrocyclic complexes derived from porphyrins with a significant absorption band in the range 620-800 nm. Due to their unique photophysical and photochemical properties, together with the high variability of macrocycle substitution, they are important representatives in the modern concepts of materials, industry, electrotechnics and medicine. They are used as photosensitizers in photodynamic therapy of cancerous and non-malignant diseases, fluorescence quenchers for molecular probe labeling in biology or drug and gene delivery agents in cellular environment. The effect of Pc and AzaPc is influenced by their structure, mainly by the character of peripheral substituents, the central chelated metal and the type of the macrocycle.

In the first part of the thesis, the influence of intramolecular charge transfer (ICT) on the series of unsymmetrical tetrapyrizinoporphyrazines and tribenzopyrazinoporphyrazines with different peripheral substituents carrying two dialkylamine substituents as ICT donors was studied. This process is arranged by a free electron pair on peripheral nitrogen as a charge donor, while the macrocyclic core is its acceptor. The obtained results show that the efficiency of ICT can be closely related to the nature of the macrocycle and its peripheral substituents.

In the second part of this thesis, new heteroatom substituted derivatives of 3,4-tetrapyridoporphyrazines (TPyDPz) and their synthetic approach were described. The series of TPyDPz were studied due to their spectral, photophysical and photochemical parameters, and the results were compared with structurally similar compounds.

The final part deals with water soluble fluorescent poly(amidoamine)-based dendritic molecules. Their photophysical activity were studied in aqueous solution over a wide pH range.



# 1. Obsah

<b>1. OBSAH</b>	<b>5</b>
<b>2. SEZNAM ZKRATEK</b>	<b>9</b>
<b>3. PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY</b>	<b>11</b>
3.1. Porfyriny	11
3.2. Ftalocyaniny a azaftalocyaniny	12
3.3. Chemické vlastnosti a využití Pc a AzaPc	14
3.4. Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti Pc	20
3.4.1. Fluorescence	21
3.4.2. Nezářivé procesy („zhášení“ fluorescence)	22
3.4.2.1. Intramolekulární procesy zhášení fluorescence	22
3.4.2.2. Intermolekulární procesy zhášení fluorescence	23
3.4.2.3. ICT a PET	26
3.4.3. Mezisystémový přechod („intersystem crossing“)	30
3.4.4. Ostatní fotorelaxační procesy	31
3.5. Využití fotorelaxačních procesů v medicíně a biochemii	32
3.5.1. Fotodynamická terapie	33
3.5.2. Fotochemická internalizace	43
3.5.3. Zhášeče fluorescence pro použití na molekulárních sondách	44
3.6. Poly (amidoaminové) dendrimery	48
<b>4. CÍL PRÁCE</b>	<b>52</b>
<b>5. VÝSLEDKY A DISKUZE</b>	<b>53</b>
5.1. Vliv intramolekulárního přenosu náboje na fotofyzikální vlastnosti ftalocyaninových analogů	53
5.2. Heteroatom-substituované tetra(3,4-pyrido)-porfyriziny	60
5.3. Studium fluorescenčních vlastností dendritických molekul na bázi poly(amidoaminu)	71
<b>6. ZÁVĚR</b>	<b>76</b>
<b>7. METODICKÁ ČÁST</b>	<b>78</b>
7.1. Použité chemikálie a materiál	78
7.2. Použité přístroje	78
7.3. Použité metody	80

7.3.1.	Stanovení kvantového výtěžku fluorescence $\Phi_F$ a singletového kyslíku $\Phi_\Delta$	80
7.3.2.	HPLC separace	81
7.4.	Příprava prekurzorů	82
7.1.	Cyklizační metody přípravy symetrických ftalocyaninů a jejich aza-analogů	85
7.2.	Cyklizační metody přípravy nesymetrických ftalocyaninů a jejich aza-analogů	86
7.2.1.	Syntéza nesymetrických Pc – metoda nesymetrického prekurzoru	86
7.2.2.	Syntéza nesymetrických Pc – metoda dvou různých prekurzorů	89
<b>8.</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b>	<b>95</b>
8.1.	Příprava ftalocyaninových analogů s odlišnou periferní substitucí pro studium ICT [P2]	95
8.1.1.	Příprava prekurzorů 1-5– deriváty ftalonitrilu a dikyanopyrazinu	95
8.1.1.1.	Syntéza 4,5-bis- <i>terc</i> -butylsulfanyl-ftalonitrilu (2)	95
8.1.1.2.	Syntéza 4,5-di(2,6-diisopropylfenoxy)ftalonitrilu (3)	96
8.1.2.	Příprava nesymetrických Pc a TPyzPz 6-11 metodou statistické kondenzace	97
8.1.2.1.	Syntéza hořečnatých komplexů Pc a TPyzPz (6Mg-8Mg)	97
8.1.2.2.	Syntéza bezkovových komplexů Pc a TPyzPz (6H-8H)	99
8.1.2.3.	Syntéza zinečnatých komplexů Pc a TPyzPz (6Zn-8Zn)	102
8.2.	Příprava heteroatom- substituovaných tetra(3,4-pyrido)-porfyrasinů [P3]	104
8.2.1.	Příprava prekurzorů 12-16– deriváty tetra(3,4-pyrido)-porfyrasinů	104
8.2.1.1.	Syntéza 2-chlor-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (12)	105
8.2.1.2.	Syntéza 2-( <i>terc</i> -butylsulfanyl)-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (13)	105
8.2.1.3.	Syntéza 2-(2,6-diisopropylfenoxy)-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (14)	106
8.2.1.4.	Syntéza 2-(diethylamino)-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (15)	107
8.2.2.	Cyklotetramerizace prekurzorů (13-16) za vzniku tetra(3,4-pyrido)porfyrasinů (17-21)	107
8.2.2.1.	Syntéza hořečnatých komplexů TPydPz (17Mg a 18Mg)	108
8.2.2.2.	Syntéza bezkovových komplexů TPydPz (17H a 18H)	110
8.2.2.3.	Syntéza zinečnatých komplexů TPydPz (17Zn a 18Zn)	111
8.2.2.4.	Syntéza TPydPz (19)	113
<b>9.</b>	<b>SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY</b>	<b>117</b>
<b>10.</b>	<b>SEZNAM PUBLIKOVANÝCH VĚDECKÝCH PRACÍ</b>	<b>147</b>

<b>11. VÝSTUPY NA ODBORNÝCH KONFERENCÍCH</b>	<b>148</b>
<b>12. GRANTY</b>	<b>150</b>
<b>13. PŘÍLOHY</b>	<b>151</b>
13.1. P1	151
13.2. P2	161
13.3. P3	178
13.4. P4	218



## 2. Seznam zkratek

2HPc	ftalocyanin, v jehož centru jsou chelatovány dva atomy vodíku, tzv. „bezkovový Pc“	
A	akceptor	
ALA	kyselina aminolevulová (M-ALA a H-ALA jsou methyl- a hexyl-estery ALA)	
AMD	senilní makulární degenerace (Age-related macular degeneration)	
AzaPc	azaftalocyanin (Azaphthalocyanine), v této práci obecně vyjadřuje aza-analog Pc (TPyzPz a TPydPz)	
BBIQ	7 <i>H</i> -benz[ <i>d,e</i> ]benzimidazo[2,1- <i>a</i> ]isochinolin-7-on, základ studovaných PAMAM dendrimerů	strukturální
CSS	stav odděleného náboje (Charge separate state)	
CTC	komplex přenosu náboje (Charge transfer complex)	
D	donor	
DBU	1,8-diazabicyklo[5,4,0]undec-7-en	
DET	Dextrův přenos elektronu (Dexter electron transfer)	
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid	
DMSO	dimethylsulfoxid	
DPBF	1,3-difenylisobenzofuran (čidlo používané u nevodných roztoků na stanovení kvantového výtěžku singletového kyslíku)	
FRET	Försterův rezonanční přenos energie (Förster resonance energy Transfer)	
HOMO	nejvyšší obsazený molekulový orbital (Highest occupied molecular orbital)	
HpD	hematoporfyrinové deriváty	
ICT	intramolekulární přenos náboje (Intramolecular charge transfer)	
LUMO	nejnižší neobsazený molekulový orbital (Lowest unoccupied molecular orbital)	
MALDI	ionizace laserem za účasti matrice (Matrix assisted laser desorption ionization)	
NMR	nukleární magnetická rezonance	

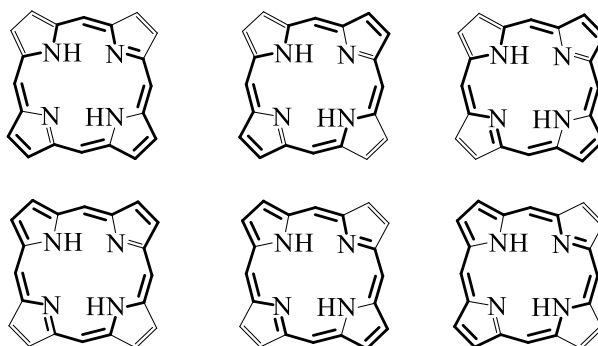


PAMAM	dendritické molekuly na bázi poly(amidoaminu)
Pc	ftalocyanin (Phthalocyanine)
PCI	fotchemická internalizace (Photochemical internalization)
PDT	fotodynamická terapie (Photodynamic therapy)
PET	světlem vyvolaný přenos elektronu (Photoinduced electron transfer)
PS	fotosenzitizér (Photosensitizer)
QTOF	hybridní analyzátor tvořený kvadrupólem a analyzátozem doby letu
ROS	reaktivní formy kyslíku (Reactive oxygen species)
SI	doplňující informace (Supporting information/ Electronic supporting information); uvedeny v přílohách k jednotlivým publikacím v <b>kap.</b> Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstvá chromatografie (Thin layer chromatography)
TOF	průletový analyzátor (Time of flight)
TPydPz	tetrapyridoporfyrazin
TPyzPz	tetrapyrazinoporfyrazin
UHPLC	ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie (Ultra high performance liquid chromatography)
ZnPc	ftalocyanin, do jehož centra je chelatován kationt $Zn^{2+}$

### 3. Přehled současného stavu řešené problematiky

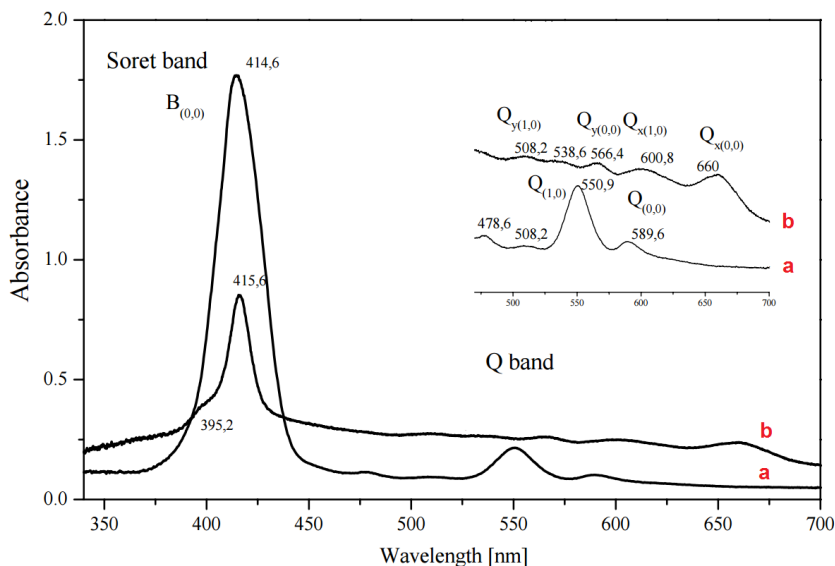
#### 3.1. Porfyriny

Porfyriny jsou přírodní aromatické makrocyclické útvary vzniklé spojením čtyř pyrrolových jader pomocí methinových můstků. Díky rozsáhlému systému konjugovanému dvojných vazeb (**Obr. 1**) se všechny porfyriny a sloučeniny od nich odvozené vyznačují barevností, která určila i samotný název porfyrinů – původně z řeckého slova *πορφύρα* znamenající purpurová<sup>1</sup>. Současný model porfyrinového cyklu byl navržen v roce 1912 Williamem Küsterem<sup>2</sup>. Jejich význam pro živé systémy je zásadní a život, jak ho známe, by na naší planetě bez nich nemohl existovat. Jsou zodpovědné za přenos a skladování kyslíku (hem<sup>3</sup>), přenos elektronů (cytochromy<sup>4</sup>), fotosyntézu (chlorofyl<sup>5,6</sup>), buněčnou signalizaci (hemoxygenáza<sup>7</sup>, biliverdinreduktáza<sup>8</sup>), antioxidační účinky (bilirubin<sup>9,10</sup>) a další katalytické, metabolické a bioenergetické procesy (vitamin B12<sup>11,12</sup>, koenzymy<sup>13</sup>). Porfyriny a sloučeniny z nich odvozené jsou předmětem mnoha studií pro své unikátní fotofyzikální, elektrochemické a redoxní vlastnosti.



**Obr. 1.** Delokalizovaný 18ti  $\pi$ -elektronový systém (tučně) určující aromatický charakter porfyrinů .

Porfyriny a jejich deriváty silně absorbují ve viditelné oblasti světla kolem vlnové délky 400 nm (s molárními extinkční koeficienty okolo  $10^5 \text{ mol}^{-1}$ ). Vyznačují se silným Soretovým pásem (B-pásem) nesoucím název po biochemikovi, který pás poprvé pozoroval v molekule hemoglobinu<sup>14</sup>. Rozpojením porfyrinového kruhu mizí i Soretův pás<sup>15</sup>. Ve vlnové délce 500-700 nm se nachází několik méně intenzivních absorpčních Q-pásů (**Obr. 2.**).

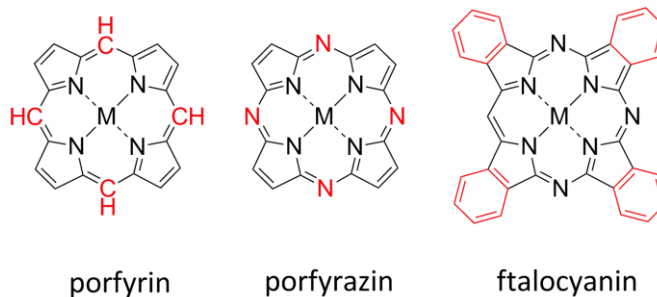


**Obr. 2.** Absorpční spektrum metaloporfyrinu (a) a bezkovového porfyrinu (b) v nujolu; vložený obrázek- detail absorpčního Q-pásu<sup>16</sup>.

### 3.2. Ftalocyaniny a azaftalocyaniny

Ftalocyaniny (Pc) jsou čistě syntetické planární makrocyclické komplexy odvozené od porfyrinů, přesněji řečeno tetraazaporfyrinů. Jsou tvořeny čtyřmi isoindolinovými jednotkami spojenými v polohách 1 a 3 azomethinovými můstky (**Obr. 3.**).

Bezkovový Pc (2HPc) byl poprvé připraven v roce 1907 jako vedlejší produkt během přípravy 2-kyanobenzamidu<sup>17</sup>. O dvacet let později byla popsána reakce 1,2-dibrombenzenu s kyanidem měďným v pyridinu, během níž vznikl měďnatý komplex ftalocyaninu ve 23%

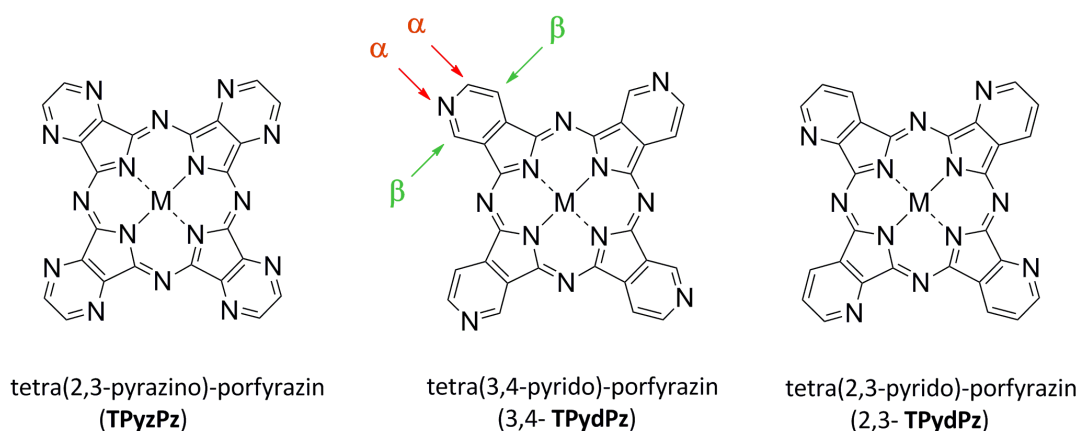


**Obr. 3.** Obecná struktura porfyrinových derivátů

výtěžku<sup>18</sup>. Připravený modrý komplex, který během reakce vznikl jako vedlejší produkt, byl vysoce stabilní vůči alkalickým solím, kyselině sírové a světlu. Objasněním struktury a způsobu syntézy se významně zabýval R. P. Linstead<sup>19</sup>, který také sloučeninu poprvé pojmenoval ftalocyanin<sup>20</sup> odvozením z řeckých slov *nafta-* (ropa) a *cyanin* (modrý). Experimentálními daty potvrdil přesnou strukturu Pc a vypracoval studii jejich přípravy z ftalonitrilu, který je

považován za nejlepší prekurzor pro syntézu Pc v laboratorních podmínkách dodnes<sup>21</sup>.

Azaftalocyaniny (AzaPc) jsou obecně nazývány aza- analogy ftalocyaninů, které mají nahrazeny methinové skupiny na přikondenzovaných benzenových jádrech ftalocyaninu izosterními atomy dusíku. Záměnou benzenu za pyrazin lze odvodit tetrapyrazinoporfyraziny (TPyzPz) a za pyridin tetrapyridoporfyraziny (TPydPz) s dusíkem ležícím v poloze  $\alpha$ - či  $\beta$ - (**Obr. 4.**). Ostatní šestičlenné dusíkaté heterocykly připraveny a studovány dosud nebyly<sup>22</sup>. Azaftalocyaniny mají podobné vlastnosti jako ftalocyaniny, i když pyrazinový resp. pyridinový dusík může ovlivnit jejich fotofyzikální a fotochemické parametry (viz publikace [**P2**]).



**Obr. 4.** Dusíkaté analogy ftalocyaninů. Vyznačeny pozice neperiferních ( $\alpha$ -) a periferních ( $\beta$ -) substitucí.

Díky přikondenzovaným benzenovým kruhům mají Pc a AzaPc na rozdíl od porfyrinů rozsáhlejší  $\pi$ -elektronový systém, který posunuje absorpční i emisní spektra do vyšších vlnových délek pokrývajících oblast viditelného až blízkého infračerveného spektra. Vykazují také lepší redoxní vlastnosti, chemickou a teplotní stabilitu. Větší možnost modifikace jejich struktury substituenty majícími vliv na elektronové vlastnosti molekuly významně rozšiřuje jejich využití<sup>23</sup>. V neposlední řadě je nespornou výhodou Pc derivátů oproti porfyrinům jejich snadnější příprava z dostupných a levných prekurzorů často pouze v několika málo krocích při dosažení vyšších výtěžků. Syntéza tak může být přenesena do průmyslové výroby, která umožňuje širší využití v aplikovaném výzkumu.

Tetrapyridoporfyraziny (TPydPz) představují deriváty Pc, ve kterých byly čtyři benzeny nahrazeny pyridinovým kruhem. Záměnou benzenu za pyridin obsahující elektron-akceptorovým dusík dochází ke stabilizaci HOMO orbitalu, a proto mají TPydPz vyšší stabilitu proti oxidantům než Pc. Další výraznou výhodou oproti TPyzPz a Pc je lehce kvarternizovatelný dusík pyridinu, který

snižuje agregaci molekul a zároveň zvyšuje rozpustnost ve vodě a biologickém prostředí. Dusíkaté atomy AzaPc derivátů silně ovlivňují jejich katalytickou aktivitu. Zatímco TPyzPz mají pouze jedno katalyticky aktivní místo závislé na povaze centrálního kovového kationtu, TPydPz sloučeniny mají katalyticky aktivní dvě místa s poměrně vysokou aktivitou. V jedné ze studií byla testována katalytická účinnost TPydPz po přidání do elektrolytu lithiových baterií. Nejúčinnější se ukázaly  $Mn^{2+}$  a  $Ni^{2+}$  TPydPz komplexy, které zvýšili energii baterií na 119 %, respektive 123 %<sup>24</sup>.

### 3.3. Chemické vlastnosti a využití Pc a AzaPc

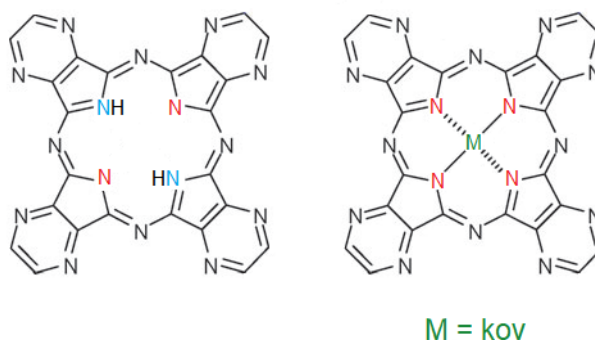
#### ❖ Centrální chelatovaný kation

Vysoká variabilita substituce makrocyklu ftalocyaninů a jejich derivátů je umožněna 16ti zpřístupněnými vodíky, z nichž se na každém přikondenzovaném benzenu nachází dvojice v periferní ( $\beta$ -) a neperiferní ( $\alpha$ -) pozici, které se svým chemicko-fyzikálním charakterem navzájem liší (**Obr. 4**). Čtverečná planární struktura dovoluje Pc chelatovat do svého centra více než 80 kovových i nekovových kationtů téměř z celé periodické soustavy<sup>25</sup>. Výběr centrálního kationtu silně ovlivňuje barevnost i celkové fyzikálně-chemické vlastnosti sloučeniny. Pc makrocyklus se obvykle vyskytuje jako dvoumocný anion ( $Pc^{2-}$ ), ale může být snadno oxidován či redukován do jiného oxidačního stavu. Koordinační vazby některých kationtů (např.  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ) mohou být tak silné, že je nelze vyjmout bez zničení celého jádra. Řada ze syntetických postupů využívá termodynamickou stabilitu vhodných metalokomplexů a pomocí kationtu kovu koordinačně váže vybrané prekurzory za vzniku makrocyklu (viz templátový efekt u cyklizačních reakcí). Některé z objemných kationtů kovů (např.  $Pb^{2+}$ ,  $Ti^{4+}$ ,  $Sn^{2+}$ ) se vzhledem ke své velikosti plně do dutiny makrocyklu nechelatují, zůstávají zachycené nad rovinou Pc cyklu a způsobují jeho částečné zakřivení<sup>21</sup>. Změnou geometrie molekuly dojde sice ke zlepšení rozpustnosti Pc v organických rozpouštědlech, ale na druhou stranu může tento asymetrický komplex v oxidačně-redukčních podmínkách snadněji podléhat demetalizaci, která může vést až k jeho rozkladu<sup>26</sup>. Nadbytek valenčních elektronů troj- a čtyř-vazných centrálních kovů (např. u  $Al^{3+}$ ,  $Ga^{3+}$ ,  $Si^{4+}$ ,  $Sn^{4+}$ ,  $Ge^{4+}$ ) umožňuje tvorbu axiální vazby s dalšími ligandy (např. -Cl nebo -OH)<sup>21</sup>. Tato axiální ligace v Pc komplexech zvyšuje rozpustnost a redukuje molekulární agregaci<sup>27</sup>. Rozdílné vlastnosti vykazují bezkovové Pc (2HPc), které se liší od kovových v několika aspektech:

✓ Kovem koordinovaný Pc komplex vykazuje určitý iontový charakter, protože negativní náboj ( $-2$ ) je plně delokalizován nad a pod Pc kruhem, což způsobuje rovnocennost čtyř atomů N ve vnitřním jádru. Naproti tomu 2HPc je kovalentní sloučenina se čtyřmi rozdílnými atomy N ve vnitřním jádru (**Obr. 5**).

✓ Tvar absorpčních a emisních spekter sloučeniny 2HPc je odlišný od tvaru ZnPc/MgPc kvůli rozdílné molekulární symetrii (2HPc je  $C_{2v}$  symetrický v porovnání se symetrií  $D_{4h}$  např. u ZnPc).

✓ 2HPc je slabá organická kyselina, a proto vykazuje odlišný solvatační účinek než kovové komplexy Pc. Specifický solvatační účinek 2HPc je určen povahou vodíkových vazeb, acido-bazickými vlastnostmi a agregačním účinkem. Bezkovové Pc jsou vysoce citlivé na vlastnosti prostředí, což silně ovlivňuje tvar a posun absorpčních a emisních spekter.<sup>28</sup>



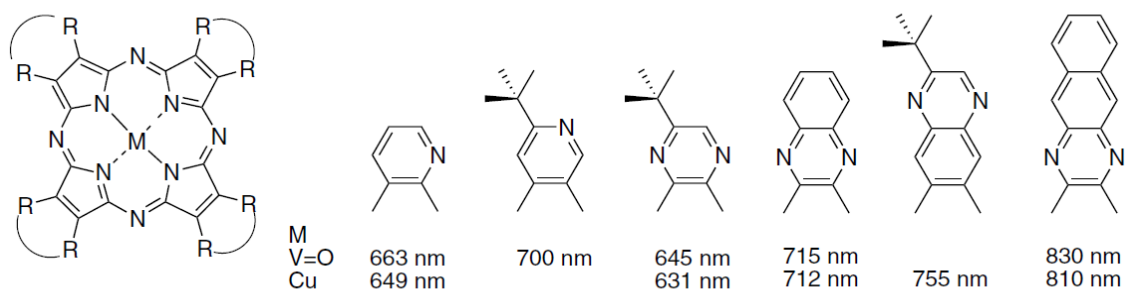
**Obr. 5.** Chemická struktura bezkovového a kovového Pc.

#### ❖ Rozpustnost

Nesubstituované Pc jsou prakticky nerozpustné ve vodě i v běžných organických rozpouštědlech<sup>29</sup>, výjimku tvoří pouze silné kyseliny. Špatná rozpustnost limituje přípravu a využití Pc v praxi a představuje jednu z hlavních nevýhod této skupiny látek. Je dána planární, rigidní, relativně objemnou (diametrálně více jak 1,5 nm), hydrofobní strukturou základního porfyrinového cyklu<sup>30</sup>. Zvýšení rozpustnosti lze dosáhnout zavedením anionických periferních substituentů (např. sulfonových<sup>31,27</sup>, karboxylových<sup>32,33</sup>) či kationických kvarterních substituentů (aminů<sup>34</sup>, aromatických dusíků u pyridinu<sup>35</sup> a chinolinu<sup>36</sup>). Další možností je kvarternizace dusíku přímo v makrocyklu tetrapyridoporfyrinu, substituce amfoterním iontem (zwitterionem)<sup>37</sup> nebo neionickými substituenty (polyethylenglykoly<sup>38</sup>, polyhydroxyly<sup>39</sup>, thiooly či aminy). Lipofilní nebo amfifilní Pc mohou být převedeny do vodného prostředí pomocí různých systémů, např. inkorporací do lipozómů a micel<sup>40</sup>, reverzibilním zapouzdřením<sup>41</sup> či vazbou na vhodný nosič (glykosidovou vazbou<sup>42,43</sup> či etherovou vazbou<sup>44</sup> na cukry, polylysinovými řetězci<sup>45</sup> atd.).

## ❖ Absorpční vlastnosti

Čistota a intenzita barvy ftalocyaninů je dána izolovaným a intenzivním absorpčním Q- pásem na konci červené oblasti viditelného světla (mezi 650 a 720 nm). Při této vlnové délce dosahují až dvojnásobně vyšší absorpce než porfyriny ( $\epsilon_{\max} \sim 200\,000\text{ cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$ ). U 2,3-TPydpz je Q- pás oproti TPyzPz hypsochromně posunut k nižším vlnovým délkám okolo 620-670 nm, zatímco 3,4-TPydpz vykazuje oproti 2,3- derivátům o 20-50 nm vyšší absorpční



**Obr. 6.** Poloha absorpčního Q-pásu u vybraných aza- analogů Pc. Upraveno ze zdroje<sup>22</sup>.

maximum Q- pásu (**Obr. 6**)<sup>46</sup>. U 3,4-TPydpz zástupců zkoumaných v publikaci [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.] byl díky vyšší efektivitě konjugace  $\pi$  systému pozorován absorpční Q- pás dokonce mezi 712-806 nm. Soretův (B-) pás je při porovnání s porfyriny méně dominantní a vyskytuje se u Pc i AzaPc v rozmezí 320 – 360 nm.

Poloha a tvar absorpčního Q- pásu nám dává cenné informace o struktuře a stavu molekuly i prostředí, v němž se nachází. Může být ovlivněna následujícími faktory:

- ✓ charakterem periferních substituentů

Substituenty vázané k makrocyklu v neperiferní ( $\alpha$ -) (**Obr. 4.**) mají vzhledem ke své vzdálenosti od konjugovaného systému větší možnost ovlivnit posun absorpčního pásu (např. u TPydpz) než substituenty v periferní ( $\beta$ -) poloze (TPydpz i TPyzPz). Elektron-akceptorové substituenty (halogeny, hydroxidy, karboxyly, sulfonyly) posouvají absorpci k vyšším vlnovým délkám do červené oblasti spektra. Elektron-donorové substituenty (alkoxyly, alkyly, aminy) absorpční posun ovlivňují pouze minimálně.

- ✓ charakterem centrálního kationu

Vliv na posun mají především koordinační a oxidační vlastnosti a velikost atomu kovu<sup>21</sup>. Kationty kovů s plně obsazenými orbitály ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Li}^+$ ) v porovnání s kovy s neobsazenými orbitály ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ) absorbují při vyšších vlnových délkách. U bezkovových derivátů často dochází k rozštěpení Q-pásu na  $Q_x$  a  $Q_y$  vlivem snížené symetrie (dva

isoindolinové centální dusíky váží atom vodíku a zbylé dva jsou ve formě iminu, **Obr. 5.**)<sup>47</sup>.

✓ charakterem makrocyklu

Symetrické makrocykly s centrálním kationtem kovu vykazují jeden ostrý Q-pás, zatímco nesymetrické mají Q-pás rozštěpený. Rozšířením konjugovaného systému dvojných vazeb lze výrazně zvýšit bathochromní posun až o 170 nm<sup>48</sup> (např. naftalocyaniny, antracocyaniny, chinoxalinoporfyraziny).

✓ charakter rozpouštědla a pH

#### ❖ Agregace

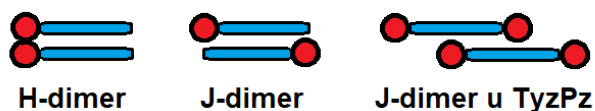
Díky své planární makrocyklické struktuře mají Pc a od nich odvozené sloučeniny vlivem silných  $\pi$ - $\pi$  interakcí tendenci k agregaci<sup>25,49</sup>. Proces může být způsoben specifickými interakcemi rozpouštědla s

molekulami Pc (např. tvorbou vodíkových můstků či kyslíkových vazeb, **Obr. 7.**) nebo mezi molekulami samotnými.

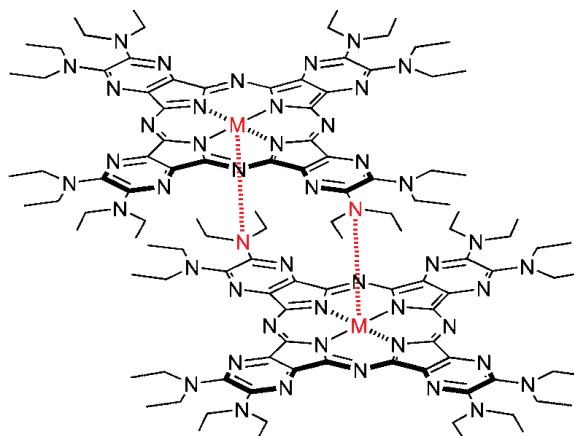


**Obr. 7.** Možné uspořádání dimerů Pc: molekuly spojené přes kyslíkovou vazbu (A) a přes vodíkový můstek (B)<sup>27</sup>.

Agregace v roztoku vede k nízké rozpustnosti, obtížnému čištění a charakterizaci a především k výraznému ovlivnění fotofyzikálních a fotochemických vlastností. Je způsobena přechodem energie nezářivými procesy, které znemožňují utváření tripletových stavů, což vede k snížení kvantového výtěžku singletového kyslíku  $\Phi_{\Delta}$  a fluorescence  $\Phi_F$ . Navíc aplikace do biologického prostředí vyžaduje monomerní uspořádání Pc, proto je nutné tvorbě agregátů efektivně zamezit<sup>50</sup>.



**Obr. 8.** Schématické znázornění H- a J- dimerů.



**Obr. 9.** Studovaný dimer TPzPz<sup>55</sup>.

Agregaci lze účinně snížit zavedením objemného substituentu na periferii makrocyklu. např. lipofilní *tert*-butylsulfanylovou skupinou nebo aryloxy-



skupinou. Další možností je zavedení substituentů nesoucí náboje, které zajistí monomerizaci makrocyclu vlivem elektrostatických (např. Coulombových) sil<sup>51</sup>.

Rozlišujeme agregáty typu H- (tzv. „head-to-head“), jejichž absorpční pás je u Pc posunut blíže k modrému spektru (kolem 630 nm<sup>52</sup>) a fluorescence je zeslabena. Zatímco u J- dimerů se molekuly orientují „head-to-tail“ a jejich absorpční spektrum je posunuto k červené oblasti (kolem 750 nm<sup>52</sup>) a fluorescence je naopak zvýšena (**Obr. 8.**). Nejběžnějším typem agregace popsáným u Pc je orientace H-, která vzniká interakcí mezi centrálními ionty nebo na periferních dusíkových atomech. Dimery vykazují nižší fotosenzitivitu<sup>53</sup> a délku života  $\tau$  excitovaných stavů molekuly, která je pravděpodobně způsobena rozptylem energie do nezářivých procesů<sup>54</sup>. V jedné z našich publikací<sup>55</sup> bylo poukázáno na zajímavý jev mezi molekulami TPyzPc, kde dochází k interakci mezi centrálním atomem kovu a periferním dusíkem, které mění uspořádání J-dimeru a „posunuje“ molekuly od sebe (**Obr. 9.**).

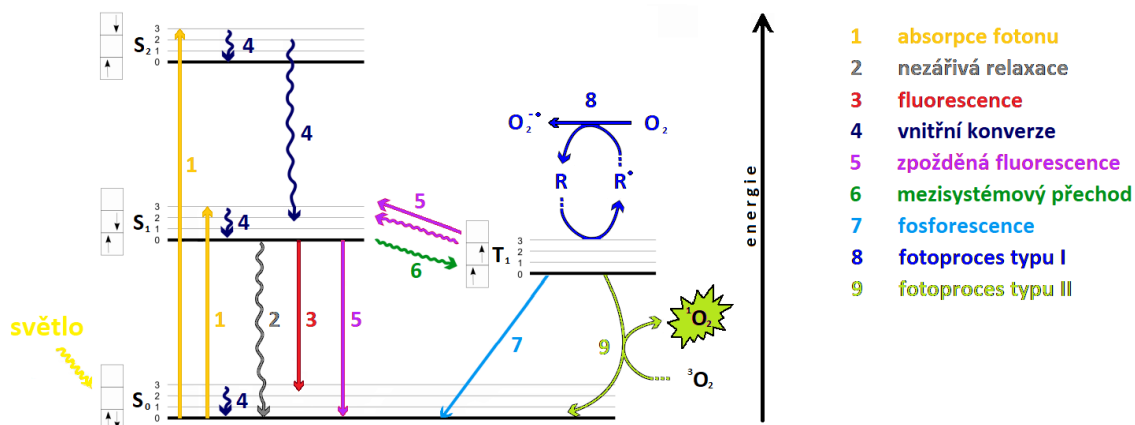
#### ❖ Aplikace a uplatnění Pc

Kovové, zejména měďnaté, komplexy Pc jsou připravovány v průmyslovém měřítku a jsou převážně používány jako barviva a pigmenty (až v 90 %) <sup>56</sup>. Roční celosvětová produkce ftalocyaninů přesahuje 80 000 t, z nichž jsou vyráběny tiskařské barvy (ze 40 %), nátěrové hmoty (30 %), barvy do plastů (20 %) a další<sup>57</sup>. V moderním pojetí materiálů jsou Pc významné hlavně kvůli svým unikátním vlastnostem. Díky tomu se rychle etablovali do širších odvětví vědeckého výzkumu a jsou používány v moderním průmyslu, elektrotechnice i v běžném životě. Lze je technologicky snadno převést do tenkých vrstev pomocí organické molekulární epitaxe ve vakuu<sup>58</sup> či metodou pulzní laserové depozice<sup>59</sup>. Své uplatnění nalézají v solárních článcích<sup>60</sup> a dalších fotovoltaických aplikacích<sup>61</sup>, organických vodičích a polovodičích<sup>62</sup> (jako LED displeje<sup>63</sup>, LCD displeje<sup>64</sup> či transistory<sup>65</sup>), v kapalných krystalech<sup>66</sup> a v optických datových nosičích<sup>67</sup>. Jsou významnými katalyzátory v redoxních reakcích<sup>68</sup>, elektrokatalyzátory<sup>69</sup> a senzory (v aplikaci jako biosenzory<sup>70</sup>, chemické<sup>71</sup> a také plynné<sup>72</sup> senzory). V současné době narůstá využití nových materiálů v nanotechnologických vědách. Mnoho prací popisuje uplatnění Pc v materiálech tvořících strukturu nanovláken<sup>73</sup>, nanomembrán<sup>74</sup>, nanočástic<sup>75</sup>, liposomů<sup>76</sup> a dendrimerů<sup>77</sup>. Do praxe jsou zaváděny fotoaktivní biocidní nanočástice na bázi ftalocyaninů na čištění a úpravu vody a vzduchu<sup>78</sup> či TPydPz deriváty odstraňující širokospektrální pesticid DDT užívaný ještě v 60. letech v zemědělství<sup>79</sup>. Významný pokrok lze sledovat v biologických a lékařských vědách (viz **kapitola 3.5.**). Kationické Pc (např. kvarternizované TPydPz) vytváří díky iontovému charakteru pevnou elektrostatickou interakci s mikrobiálními membránami a uplatňují se při antimikrobiální fotodynamické

inaktivaci proti bakteriím a kvasinkám<sup>80</sup>. TPydPz mají široké použití ve fotooxidačních<sup>81</sup> a elektrokonduktivních<sup>82</sup> procesech a díky své planární struktuře se mohou vmezeřit do dvoušroubovice DNA jako interkalační činidla<sup>83</sup>

### 3.4. Fotofyzikální a fotochemické vlastnosti Pc

Procesy, ke kterým dochází mezi absorpcí a emisí světla jsou znázorněny v modifikovaném Jablonského diagramu (**Obr. 10.**), který pomáhá pochopit přechody mezi excitovanými stavy molekuly. Excitační a relaxační procesy jsou zde vyznačeny šipkami, které mohou být jednak zářivé (znázorněny rovně) nebo nezářivé (znázorněny vlnovkou). Každý z energetických stavů má ještě tzv. vibrační energetické hladiny (označeny čísly 0, 1, 2...).



**Obr. 10. Modifikovaný Jablonského diagram.**

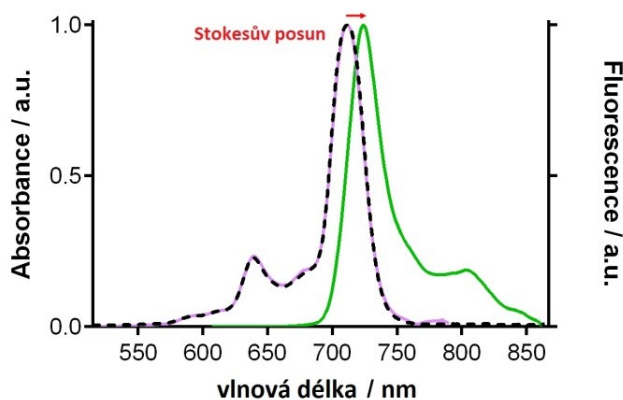
Energetické hladiny molekuly označeny jako:  $S_0$  základní stav,  $S_1$  první excitovaný stav,  $S_2$  druhý excitovaný stav,  $T_1$  tripletový stav.

Absorpcí kvanta světelné energie molekulou (řádově  $10^{-15}$  s) dojde k přechodu elektronu do energeticky vyššího orbitalu, aniž by se změnil jeho spin<sup>84</sup>. Molekula je ze základního stavu excitována na jednu z vyšších vibračních hladin  $S_1$  nebo  $S_2$ . Až na několik výjimek se molekula rychle vrací na nejnižší vibrační stav  $S_1$  prostřednictvím *vnitřní konverze* (**Obr. 10.** procesy č. 4). Získanou energii ztrácí většinou vlivem srážek s ostatními molekulami. Vnitřní konverze probíhá mezi excitovanými stavy  $S_1$  a  $S_2$  nebo mezi jednotlivými vibračními hladinami. Přechody jsou velmi rychlé, každý ze čtyř znázorněných procesů trvá přibližně  $10^{-12}$  s. Ze stavu  $S_1$  může molekula relaxovat do základního stavu fluorescencí, zpožděnou fluorescencí nebo nezářivými procesy.

Relaxace z excitovaného stavu  $S_1$  může probíhat všemi uvedenými zářivými i nezářivými procesy. Poměr přechodu určitým procesem vyjadřují tzv. kvantové výtěžky  $\Phi$ , které lze definovat jako počet relaxovaných kvant k počtu všech kvant absorbovaných.

### 3.4.1. Fluorescence

Fluorescence (**Obr. 10.** proces č. 3) je emise fotonu z elektronově excitovaných stavů fluorescenční látky (fluoroforu), kterou typicky představuje aromatická molekula. Elektron z excitovaného orbitalu v singletovém stavu je spárován opačným spinem s druhým elektronem ve stavu základním  $S_0$ . Následkem toho se i druhý elektron vrací do základního stavu a dochází k emisi fotonu. Průměrná doba života fluorescence  $\tau$  („fluorescence lifetime“), tedy doba mezi excitací fluoroforu a jeho návratem do základního stavu, se pohybuje kolem  $10^{-8}$  s. Jelikož probíhá vnitřní konverze daleko rychleji než fluorescence, vychází emise fotonu vždy z nejnižší vibrační hladiny stavu  $S_1$  (tzv. Kashovo pravidlo). Fluorescencí se pak molekula dostává do vyšších hladin základního stavu odkud je vnitřní konverzí za  $10^{-12}$  s relaxována až na nejnižší vibrační hladinu. Důsledkem toho je emisní spektrum fluoroforu široké a je zpravidla zrcadlovým obrazem spektra absorpčního (přechod z  $S_0$  na  $S_1$ )<sup>85</sup>. Podobnost spekter je způsobena tím, že se po excitaci jaderná geometrie podstatně nemění. Proto jsou energetické mezery mezi vibračními hladinami excitovaných stavů podobné těm ve stavu základním.



**Obr. 11.** Normalizované absorpční (černé čárkované), emisní (zelené) a excitační (fialové) spektrum hořečnatého komplexu TPdPz **17Mg** v THF.

Fluorescence se obvykle vyskytuje při nižších energiích nebo delších vlnových délkách než jeho původní absorpce. Tento jev byl poprvé pozorován G. G. Stokesem v roce 1852 na univerzitě v Cambridge<sup>86</sup> a byl po něm pojmenován jako tzv. Stokesův posun (**Obr. 11.**). Vyjadřuje rozdíl vlnových délek mezi absorpčním a emisním spektrem a je dána především ztrátou energie vnitřní konverzí mezi vibračními hladinami stavu  $S_1$ . Stokesův posun mohou ovlivnit především použité rozpouštědlo, reakce v excitovaných stavech, tvorba komplexů nebo přenos energie<sup>85</sup>.

Jak je z textu patrné, fluorescenční spektrální data jsou obecně prezentována jako emisní spektra. Vyjadřují závislost intenzity fluorescence na vlnové délce (energii, vlnočtu nebo frekvenci) a závisí na chemické struktuře fluoroforu a rozpouštědla. Kromě emisních spekter lze zaznamenat i excitační spektra, která udávají závislost intenzity fluorescence na vlnové délce při konstantní vlnové délce emitovaného záření a jsou většinou totožná s absorpčním spektrem (**Obr. 11.**). Fluorescenci lze charakterizovat pomocí tří základních parametrů - emisním spektrem, kvantovým výtěžkem  $\Phi_F$ , který

udává počet emitovaných fotonů k celkovému počtu fotonů absorbovaných a dobou života excitovaného stavu  $\tau$ , tj. průměrným časem, který molekula stráví v excitovaném stavu před návratem do stavu základního.

Ftalocyaniny absorpcí záření přechází ze základního stavu  $S_0$  do prvního excitovaného stavu  $S_1$  (vyjadřuje Q-pás) nebo méně často až do druhého excitovaného stavu  $S_0 \rightarrow S_2$  (B-pás). Vnitřní konverze z  $S_2$  do  $S_1$  je rychlá, takže fluorescence je detekována pouze přechodem z prvního excitovaného stavu  $S_1$ .

### 3.4.2. Nezářivé procesy („zhášení“ fluorescence)

Doba života fluorescence  $\tau$  je z hlediska molekulárních dějů poměrně dlouhý proces, během něhož může vysoce energetický fluorofor procházet širokou škálou transformací, od redistribuce elektronů a geometrických změn až po reorganizaci okolními molekulami a chemickými reakcemi. V mnoha případech se energie získaná absorpcí fotonů ztrácí nežádoucími procesy (**Obr. 10.** proces č. 2), souhrnně nazývanými jako zhášení („quenching“) a vede k poklesu životnosti fluorescence  $\tau$ . Jednou z možných cest ztráty excitační energie jiným způsobem než ve formě fotonu představuje její převedení na teplo. Vzhledem k tomu, že zhášení je do určité míry nevyhnutelné, měřená délka života fluorescence bude vždy nižší než délka života přirozené fluorescence a bude se postupně blížit k nule. Procesy zhášení jsou svojí povahou složité a mohou být kategorizovány podle toho, jak se excitační energie rozptýlí z excitovaného stavu. Podle této klasifikace můžeme rozdělit zhášení podle toho, jakým způsobem je excitační energie pohlcena, na vnitřní (intramolekulární) a vnější (intermolekulární).

#### 3.4.2.1. Intramolekulární procesy zhášení fluorescence

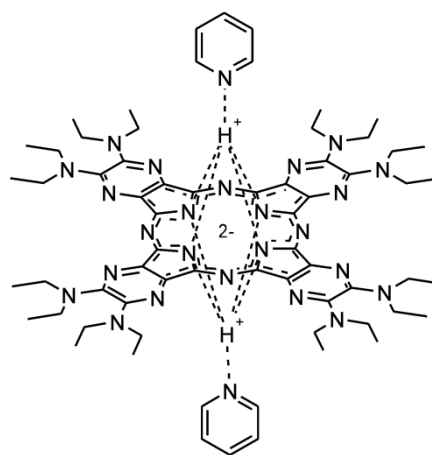
Excitační energie je relaxována molekulárními vibracemi či rotacemi v rámci jednoho systému.

##### ❖ Vnitřní rotace

V části molekuly podílející se na fluorescenci obsahující dvojně vazby může docházet při excitaci k rotaci kolem dvojně vazby, která má za následek změnu pevné dvojně vazby na systém pružnějších jednoduchých vazeb vedoucí k přetočení molekuly kolem C-C vazby s následnou *cis* / *trans* izomerací (tzv. fotoizomerace)<sup>87</sup>. Vyskytuje se v alkenech (karotenoidy, retinoidy, diazo-barviva, aj.) při vysoké rychlosti kolem  $10^{-12}$  s<sup>88</sup>, ovlivňuje ji teplota, viskozita a polarita prostředí, ale v procesech zhášení fluorescence není příliš významná.

## ❖ Excitovaný přenos elektronů a protonů

Délka životnosti fluorescence  $\tau$  může být ovlivněna také reverzibilními změnami distribuce elektronů, ke kterým dochází po excitaci. Tyto změny mají silnou strukturní souvislost a jsou méně náchylné k vlivům prostředí. Lze jich využít při výrobě vodivých polymerů, kovových senzorů, pH sond, zhášeců fluorescence („dark quencher“), fluoroforů pro fluorescenčním značení a dalších. Po excitaci se elektrony přesunují z donorové části (D) s přebytkem elektronů k elektron-deficitnímu akceptoru (A). K přenosu dochází v rámci jedné molekuly, pokud je donor v těsné blízkosti akceptoru (1-3 vazby). Efekt probíhá velmi rychle (méně než  $10^{-12}$  s)<sup>89</sup> a výsledný nefluorescenční produkt se nezářivým procesem vrací do základního stavu  $S_0$ . Jako dárci elektronů se uplatňují především aminy, jejichž síla zhášení klesá v pořadí terciární > sekundární > primární. Ze skupin, které elektrony odebírají, byl efekt potvrzen pouze u nitroskupiny<sup>90</sup>. Řada molekul s elektron-donorovými nebo akceptorovými skupinami ovlivňuje fluorescenci pouze částečně. Přenos protonu je závislý na prostředí<sup>91</sup> a může probíhat intra- i intermolekulárně (viz dále), přičemž intramolekulární přenos je rychlejší. Protony se po excitaci od molekuly neodtrhávají, ale pouze odchýlí a mohou tak tvořit např. s molekulou rozpouštědla tzv. „proton transfer komplex“. Tento jev byl pozorován u bezkovových derivátů TPyzPz v přítomnosti pyridinu (**Obr. 12.**) změnou absorpčního spektra, kde vznikl z původně rozštěpeného Q- pásu vlivem symetričnosti jeden ostrý pás<sup>92</sup>. Rozpouštědla charakteru slabých organických bází (např. aminy, DMSO, DMF, pyridin) podporují přenos protonu a ovlivňují celkové fotofyzikální a fotochemické vlastnosti.

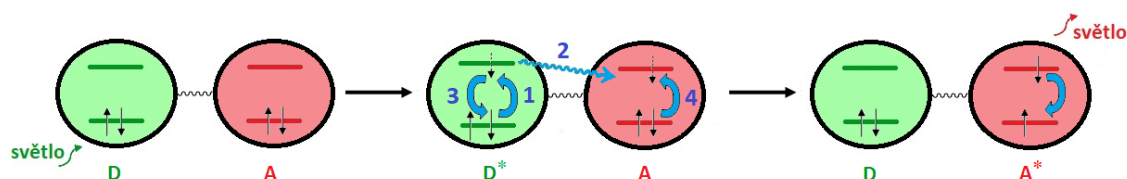


**Obr. 12.** Bezkovový derivát TPyzPz v „proton transfer komplexu“ s pyridinem.

### 3.4.2.2. Intermolekulární procesy zhášení fluorescence

Vnější procesy byly považovány v prvotních studiích nezářivých procesů za jediné možné relaxační cesty<sup>93</sup>. Při intermolekulárním zhášení přechází excitační energie z fluoroforu na okolní molekuly.

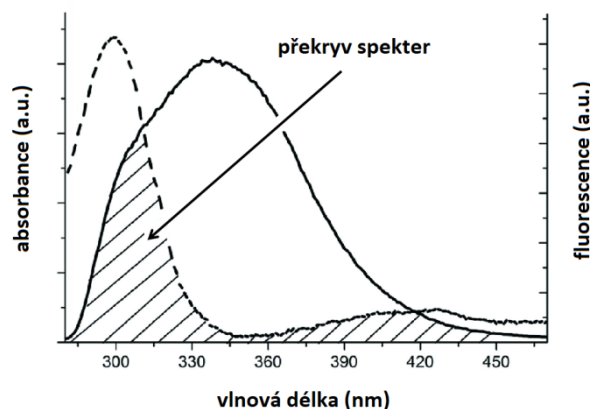
❖ Försterův rezonanční přenos energie (FRET)



**Obr. 13. Schéma přenosu energie FRET.** Po excitaci fotonem je elektron donoru přenesen do excitovaného stavu (1), po němž následuje přenos energie do excitovaného orbitalu akceptoru (2), současně se excitovaný elektron vrací zpět do základního stavu (3) a dochází k excitaci akceptoru (4). D- donor (dárce) energie; A- akceptor (příjemce) energie

Försterův rezonanční přenos energie či někdy označován jako fluorescenční rezonanční přenos energie (FRET) je pojmenovaný podle Theodora Förstera, který položil matematický základ tohoto procesu<sup>94</sup>. Přenos energie je uskutečněn rezonančními interakcemi mezi fluorescenčním barvivem a zhášečem na vzdálenost několikanásobně větší než meziatomovou bez přeměny energie na tepelnou a bez kinetické kolize mezi oběma molekulami (**Obr. 13.**).

Jako chromofory lze využít tradiční organická barviva, fluorescenční proteiny, lanthanoidy, fullereny, uhlíkové nanotrubičky<sup>95</sup> nebo malé semikonduktorové částice zvané kvantové tečky („quantum dots“, využívané u LCD monitorů)<sup>96</sup>. Dlouhou dobu bylo primárním cílem metod založených na FRET určení vzdálenosti mezi interagujícími molekulami, většinou proteiny, na základě sledování změn intenzity fluorescence donorové nebo akceptorové molekuly. Později, s vývojem fluorescenčních technik, se FRET stal důležitou metodou



**Obr. 14.** Překryv fluorescenčního spektra donoru (čárkovaně) a absorpčního spektra akceptoru (plně).

ke studiu struktur, interakcí a funkčních dějů mezi molekulami v buňkách a malých zvířatech<sup>97</sup>. FRET způsobuje zhašení fluorescence donoru, ale velká část energie je emitována přes akceptor. V tomto ohledu dokáže FRET, jednak energii přenést, tak i relaxovat. Aby se efekt projevil, je nutná přítomnost akceptoru s přístupnými orbitály a energií blízkou nebo nižší než je hodnota excitovaného stavu donoru. To znamená, že emisní spektra donoru se musí překrývat s absorpčními spektry akceptoru (**Obr. 14.**).

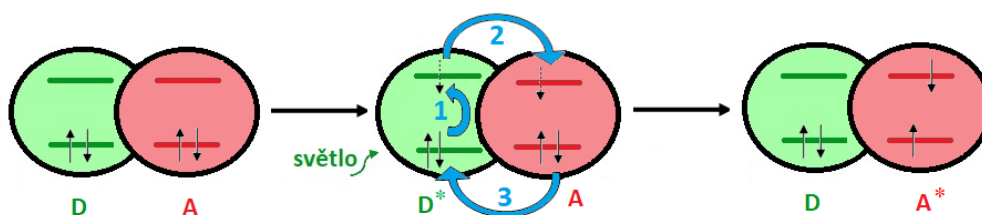
V jedné z hlavních aplikací FRET- zkoumání interakcí mezi proteiny- nemusí všechny donory reagovat s akceptory. Tento stav vede k dvěma skupinám donorů s odlišnou fluorescenční životností: jedna s životností donoru odpovídající  $\tau_d$  a druhá s kratší životností  $\tau_{da}$  způsobenou procesem zhášení. Přenos energie  $E_t$  lze matematicky vypočítat ze vztahu mezi životností fluorescence donoru (**Rov. 1.**).

$$E_t = 1 - \frac{\tau_{da}}{\tau_d}$$

**Rov. 1.** Výpočet energie přenosu  $E_t$ , kde  $\tau_{da}$  je doba života fluorescence donoru v přítomnosti akceptoru a  $\tau_d$  je doba života fluorescence donoru bez akceptoru.

Během FRET se  $\tau$  donoru energie snižuje kvůli přítomnosti nezářivých procesů a „photobleachingu“ (tzv. rozkladu světlem), ale  $\tau$  příjemce zůstává nezměněná. Toto tvrzení je platné pouze tehdy, když nedochází k přenosu reverzní energie, např. mezi dvěma identickými fluorofory (homoFRET), přičemž celková doba života se snižuje, jsou-li oba fluorofory blízko. FRET je přímo úměrný vzdálenosti donor-akceptor, kterou lze matematicky z naměřených hodnot vypočítat, a která musí být mezi 10 a 100 Å. V jedné z hlavních aplikací FRET - zkoumání interakcí mezi proteiny - nemusí všechny donory reagovat s akceptory. Tento stav vede k dvěma skupinám donorů s odlišnou fluorescenční dobou života: jedna s dobou života donoru odpovídající  $\tau_d$  a druhá s kratší dobou života  $\tau_{da}$  způsobenou procesem zhášení. V současné době existuje široká škála technik, které jsou založené na FRET a mohou být využity k spektroskopii, anizotropii<sup>98</sup>, polarizaci<sup>99</sup>. či k detekci v molekulárních sondách (viz. kapitola 3.5.3.).

❖ Dextrův přenos elektronu (DET)



**Obr. 15. Dextrův přenos elektronů.** V počáteční fázi se orbitály donoru a akceptoru překryjí. Po excitaci fotonem je elektron donoru přenesen do excitovaného stavu (1), následovaný přenosem elektronu do excitovaného orbitalu akceptoru (2) a zpětným přenosem excitovaného elektronu na donor (3).  
D- donor (dárce) energie; A- akceptor (příjemce) energie

Při vzdálenostech výrazně kratších než je poloměr u FRET se donor a akceptor překrývají a mohou si tak předávat excitované elektrony. Zavedením



této teorie Dexter objasnil děj vyskytující se mezi molekulami na kratší vzdálenosti, který neodpovídal teoretickým výpočtům FRET<sup>100</sup>. Po excitaci molekuly donoru D\* (**Obr. 15.**, děj 1) dochází k přenosu elektronu z jeho nejnižšího neobsazeného molekulového orbitalu (LUMO) na zhášeč (2), který předá svůj elektron z nejvyššího obsazeného molekulového orbitalu (HOMO) zpět donoru (3) a sám zůstává v excitovaném stavu.

Tyto procesy krátkého dosahu mají zásadní význam v řadě molekulárních elektronických zařízení a biologických systémech, jako je fotosyntéza a analýza DNA. Podobně jako u FRET je rychlost přenosu elektronů přímo úměrná spektrálnímu překryvu. Většina publikací popisujících mechanismus DET souvisí s řešením klasického problému excitovaných stavů, tedy k odlišení přenosu elektronů a energie<sup>101</sup>. Nedávno byly přezkoumány výpočetní algoritmy Dextrova přenosu elektronů, z kterých bylo zjištěno, že DET lze pozorovat pouze při vzdálenosti menší než 10-15 Å, která odpovídá překryvu orbitalů<sup>102</sup>. Ovšem několik systémů, obzvláště těch, které jsou založeny na DNA-organokovových interkalačních komplexech, výpočty ukázaly, že je možné pozorovat DET při vzdálenostech donor-akceptor až do 40 Å<sup>103</sup>.

#### ❖ Dynamické zhášení

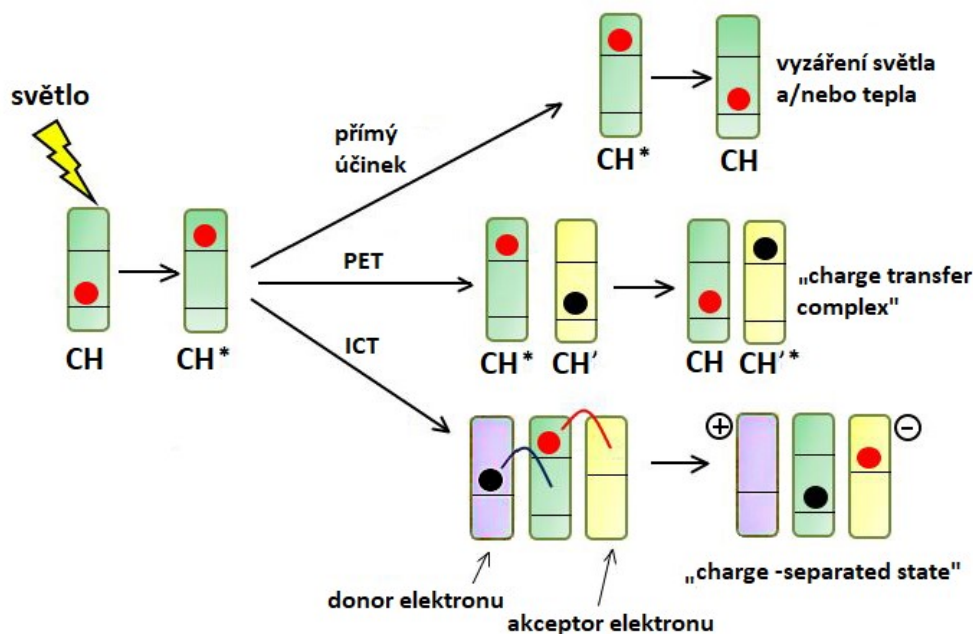
Jedná se o proces zhášení, ve kterém excitovaná fluorescenční molekula ztrácí svou energii nezářivou kolizí s jinými molekulami. Tyto molekuly snižují dobu života fluorescence  $\tau$  v důsledku srážky několika procesy. Může to být tvorbou metastabilních komplexů, přenosem rezonanční energie, přenosem elektronů a dalších. Díky vysoké citlivosti fluorescenčního děje má dynamické zhášení a sondy založené na jeho principu významnou úlohu při detekčních metodách různých analytů. Detekovány mohou být kationty (Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>), anionty (citráty, karboxyláty, fosfáty), neutrální molekuly (glukóza) nebo plyny (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NO)<sup>104</sup>.

#### **3.4.2.3. ICT a PET**

Jak bylo uvedeno v předešlém textu, zhášení excitovaných stavů molekuly a z toho vyplývající účinnost fluorescence může být ovlivněna mnoha vlivy. V literatuře byly publikovány mechanismy přenosu protonu z excitovaných stavů<sup>105</sup>, tvorba excimer / exciplex komplexu<sup>106</sup>, torze dvojně vazby, nízkoenergetické vazby n $\delta^*$ , vliv "těžkých" atomů<sup>85</sup> či mechanismus přenosu náboje mezi kovem a ligandem<sup>107</sup>. Detailněji budou popsány procesy intramolekulárního přenosu náboje (ICT) a fotoindukovaného přenosu elektronu (PET), které jsou zařazeny v samostatné podkapitole, protože se přenos náboje může odehrávat v rámci jedné molekuly, ale v případě PET může probíhat i mezi nimi<sup>108</sup>. Zhášení excitovaných stavů je zprostředkováno přenosem elektronu z donoru (D) na akceptor (A). Obecně mohou být donory a akceptory považovány svými specifickými konotacemi za nukleofil / elektrofil

zprostředkující tvorbu vazby nebo reduktant / oxidant zprostředkující přenos elektronů nebo bázi / kyselinu zprostředkující tvorbu aduktů. Tím lze ulehčit orientaci v klasifikaci různých bimolekulárních reakcí v rámci jediné donor-akceptorové dvojice a nabízí řadu výhod vedoucí ke kvantitativnímu určení reakčních rychlostí<sup>109</sup>.

Světlem vyvolaný přenos elektronu vede k vytvoření komplexu mezi kationtovým radikálem donoru a aniontovým radikálem akceptoru nazývaným „charge transfer complex“ (CTC)<sup>110</sup> viz **Obr. 16**. V intramolekulárním PET procesu D a A koexistují ve stejné molekule, zatímco v intermolekulárním PET se nacházejí na různých molekulách. Kinetika a termodynamika intermolekulárního PET procesu byla objasněna v pracích Marcuse<sup>111</sup>, Clossa<sup>112</sup> a Wellera<sup>113</sup> v 50. - 60. letech 20. století. V roce 1992 byla udělena Rudolfovi A. Marcusovi Nobelova cena za chemii za „jeho příspěvky k teorii reakcí přenosu elektronů v chemických systémech“. PET je ovlivněn elektrochemickými vlastnostmi a charakterem excitačních stavů akceptorových a donorových skupin. Stejně jako u jiných fotochemických procesů je intermolekulární a / nebo intramolekulární PET v přímé konkurenci s mnoha jinými zářivými a nezářivými deaktivacími procesy vycházejícími z excitačních stavů molekulárních systémů<sup>114</sup>.

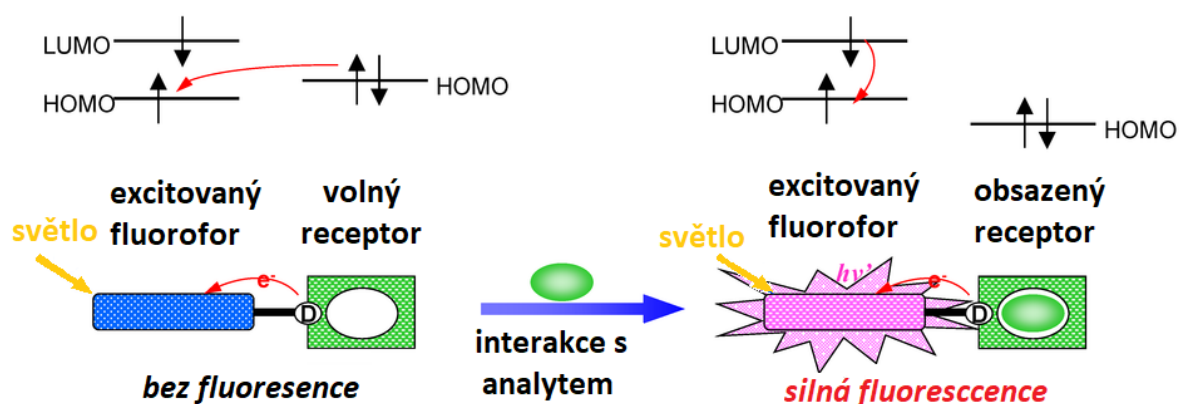


**Obr. 16.** Mechanismus zhašení excitovaných stavů na základě PET, ICT nebo přímým zářivým procesem. (CH = chromofor)

Celkově vede PET jednak k poklesu doby života fluorescence  $\tau$ , tak i kvantového výtěžku fluorescence  $\Phi_F$ . PET má zásadní význam v řadě chemických a biologických procesů, např. při zkoumání vlastností proteinů, DNA analýzách, v přirozené<sup>115</sup> nebo umělé<sup>116</sup> fotosyntéze, ve fotovoltaických<sup>117</sup> senzorech či v biotechnologii. Na principu PET jsou založeny fluorescenční spínače a senzory pro analyty<sup>118</sup>, jako jsou např. kationty kovů, anionty, O<sub>2</sub>, NO, reaktivní formy kyslíku (ROS) a další biologické sloučeniny<sup>119</sup> nebo pH<sup>118</sup>. Fluorofor je v tomto případě kovalentně připojen k receptoru přes můstek, tzv. „spacer“, který může být úplný (obvykle alkylová skupina se dvěma atomy) nebo dokonce chybí. Receptor s přebytkem elektronů, typicky obsahuje aminoskupinu, jejíž elektrony mohou vázat elektronefektivní analyty. Elektron je přenesen receptorem do nebo z excitovaného fluoroforu, který tak může představovat zároveň D i A elektronu v závislosti na hodnotě redoxního potenciálu<sup>120</sup>. Tímto způsobem je znemožněna výsledná emise fotonu. Vazbou analytu na volné elektronové páry receptoru dojde ke změně jeho redoxního potenciálu tak, že přenos elektronů již není energeticky výhodný a energie excitovaného stavu fluoroforu je emitována v podobě fotonů, což vede ke zvýšení fluorescence.

Charakteristickými rysy této metody jsou její kvantitativní povaha a předvídatelnost pozorovatelných parametrů, protože poměry intenzity emisí "ON / OFF" stavů mohou být snadno vypočteny. Efektivita fluorescence mění energii mezi základním a excitovaným stavem a vede k posunu absorpčních spekter fluoroforu<sup>121</sup>.

Aby byla jednoznačně prokázána existence PET a kvantifikována její rychlost, je nutné detekovat radikální ionty pomocí časově rozlišených spektroskopí. Separaci náboje nebo rekombinaci (zpětný přenos elektronů) lze provést např. pomocí laserových fotolýzních experimentů, které měří přechodovou absorpci radikálových aniontů a kationtů<sup>122,123</sup>. Jiné techniky jako



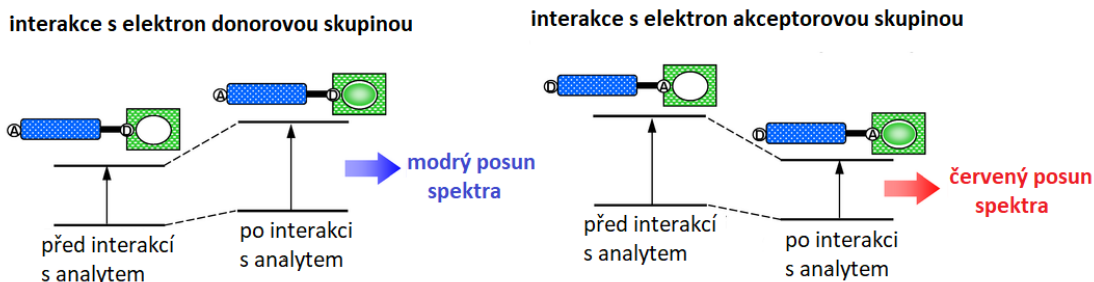
**Obr. 17.** Princip PET senzorů, který je výsledkem interakce vázaného vzorku s D nebo A elektrony včetně přechodů molekulárních orbitalů. Upraveno ze zdroje<sup>119</sup>.

jsou časově rozlišená Ramanova spektroskopie, spin elektronová rezonance nebo infračervená spektroskopie mohou také poskytnout informace týkající se rekombinace a separace náboje<sup>124</sup>. V literatuře se lze setkat s pracemi zabývajícími se intramolekulárními PET procesy, které nebyly dostatečně těmito metodami potvrzeny<sup>123,125</sup>. Zejména v oblasti fluorescenčních senzorů a spínačů je pozorované fluorescenční zhášení v mnoha případech automaticky připisováno PET procesu bez přesvědčivých experimentálních důkazů. Na **Obr. 17** jsou uvedeny hraniční molekulové orbitální diagramy pro PET a jeho energetické přechody.

Na rozdíl od PET principu, kde dochází k „přeskoku“ elektronu na určitou vzdálenost, jsou u intramolekulárního přenosu náboje (ICT) donor a akceptor ve vzájemné konjugaci přes  $\pi$ -elektronový systém<sup>126</sup>. Během excitace systému dochází k intramolekulárnímu přenosu náboje mezi donorem (často aminoskupinou) a akceptorem. Následná změna dipólového momentu vede ke zvýšení elektronové hustoty A na úkor D a vytvoření přechodového stavu odděleného náboje tzv. „charge separated state“ (CSS). To má za následek Stokesův posun spekter, který silně závisí na mikroprostředí fluoroforu. Energetická hladina, na které CTC a CSS leží, je nižší než stav  $S_1$ , neboť část energie excitovaného stavu je použita právě na tvorbu CTC a CSS<sup>85</sup>.

Účinnost přenosu elektronu může být ovlivněna polaritou rozpouštědla, vzdáleností a orientací mezi D a A, pH nebo teplotou. V kyselém prostředí je donorová aminoskupina protonizována a je pozorovaná silná, charakteristická fluorescence. Zvýšením pH dochází k deprotonizaci aminoskupiny, čímž je intenzita fluorescence snížena probíhajícím PET. Silně polární rozpouštědla (methanol, acetonitril, DMF, DMSO) jsou schopna stabilizovat nabitě komplexy CTC a CSS a výrazně tím podporují přenos elektronu, zatímco nepolární rozpouštědla jako toluen nebo benzen PET inhibují<sup>127</sup>. Rychlostní konstanta přenosu elektronu exponenciálně klesá s rostoucí vzdáleností mezi D a A. Přenos elektronu byl pozorován do vzdálenosti 20 Å<sup>128</sup>.

Když donor elektronů uvnitř fluoroforu senzoru interaguje s analytem, dochází k redukci konjugace, která vede k posunu do modré absorpční oblasti společně s poklesem extinkčního koeficientu. Na druhou stranu interaguje-li analyt s akceptorovou skupinou elektronů, zvyšuje její elektronovou hustotu, čímž posunuje absorpční spektrum A do červené oblasti a zvyšuje jeho extinkční koeficient. Fluorescenční spektra jsou v zásadě posunuta ve stejném směru jako spektra absorpční (**Obr. 18**).



**Obr. 18.** Princip ICT senzorů, který je výsledkem interakce vázaného vzorku s donorem nebo akceptorem elektronů. Upraveno ze zdroje<sup>119</sup>

Fluorescenční sondy využívají při svém účinku změny barvy systému a výsledné fluorescence<sup>129</sup>. Koncentraci analytu lze kvantifikovat použitím poměru intenzit fluorescenčních pásů při dvou různých vlnových délkách pro sondu bez analytu a s analytem. Taková samokalibrace s použitím dvou emisních pásem může eliminovat vliv koncentrace sondy, podmínek prostředí a instrumentální efektivity<sup>130</sup>. Tato metoda umožňuje přesnou a kvantitativní analýzu i ve složitých systémech biologických a průmyslových maticích a snižuje tak problémy s autofluorescencí, rozptylem světla nebo fotostabilitou při fluorescenčním snímání v mnoha biologických a průmyslových maticích<sup>131</sup>. Sloučení PET a ICT fotorelaxačních metod vedlo k tvorbě víceúrovňových fotorelaxačních systémů<sup>132</sup>. Molekuly schopné provádět různé funkce snímání současně a samostatně vypočítat kompozitní výsledek mají velký potenciál pro aplikace v reálném životě. V posledních letech je intenzivně zkoumáno využití senzorů při kódovacích a zobrazovacích metodách, jako inteligentní materiály, při distribuci a aktivaci léků nebo při diagnostické metody v medicíně<sup>133</sup>.

### 3.4.3. Mezisystémový přechod („intersystem crossing“)

Mechanismus mezisystémového přechodu je podobný přenosu náboje mezi orbitály<sup>134</sup> a vyskytuje se poměrně vzácně. Probíhá prostřednictvím spin-orbitalových interakcí ze singletového stavu do vibračních hladin  $T_1$ . Jedná se o tzv. spinově zakázaný děj (**Obr. 10.** proces č. 6), při kterém nespárované elektrony ze singletových stavů s opačným spinem přechodem změni spin jednoho z elektronů. Výsledný tripletový stav má tak v obsazených molekulových orbitalech nespárované elektrony se stejnou orientací spinu.

S protonovým číslem, resp. počtem elektronů v orbitalech, roste množství spin-orbitalových interakcí, a tím se zvyšuje i pravděpodobnost přechodu do tripletového stavu. U organických fluoroforů složených z lehkých atomů (C, N, O, H atd.) je míra přechodu do tripletového stavu v porovnání s fluorescenčním přechodem relativně nízká a pomalá (v řádu mikrosekund) a

zůstává konstantní i při strukturálních obměnách molekuly. Například u rhodaminů je rychlost přechodu  $S \rightarrow T$  ( $\sim 5,3 \times 10^{-6}$  s)<sup>135</sup> ve srovnání s rychlostí fluorescence ( $\sim 5,1 \times 10^{-10}$  s) nižší<sup>136</sup>. Z toho můžeme usoudit, že rhodaminy, i jejich substituované deriváty, budou jen obtížně přecházet do tripletových stavů a budou dosahovat silné fluorescence. Avšak je-li fluorofor substituován těžkými atomy, jako je Br nebo I, pravděpodobnost přechodu do  $T_1$  dramaticky stoupá a dosahuje rychlosti  $10^{-10}$  s. Jód-substituovaná molekula, jako je např. bengálská červeň, bude vykazovat silnou fosforescenci (přechod z  $T_1$  na  $S_0$ ) s životností fosforescence  $\sim 100 \mu\text{s}$ <sup>137</sup>, a tím i snížení doby života fluorescenční  $\tau$  z nanosekund na pikosekundy (89 ps)<sup>138</sup>. Efekt těžkého kovu stoupá podle protonového čísla v řadě např.  $\text{Mg} > \text{Ca} > \text{Zn} > \text{Cd} > \text{Hg}$ , kde hořčík má nejnižší a naopak rtuť nejvyšší pravděpodobnost přechodu ze singletového do tripletového stavu. Tohoto efektu se využívá u metaloftalocyaninů, kde lze volbou vhodného centrálního kationtu kovu upravit fotofyzikální a fotochemické vlastnosti žádoucím směrem. Hořečnaté komplexy zpravidla vykazují vyšší fluorescence, zatímco zinečnaté komplexy jsou výborní producenti singletového kyslíku<sup>139</sup>.

#### 3.4.4. Ostatní fotorelaxační procesy

Během poměrně dlouhé délky života tripletových stavů (až sekundy) může dojít k interakci s okolními molekulami, např. s kyslíkem, který se vyskytuje v základním tripletovém stavu  $T_0$  a může tak snadno přijmout energii excitované molekuly (**Obr. 10.**, proces 8 a 9). Vzniká tak vysoce reaktivní kyslík, tzv. singletový kyslík, který je základem cytotoxické léčby, fotodynamické terapie (viz **kap. 3.5.1.**).

Z tripletového stavu  $T_1$  se může molekula vrátit do svého základního stavu i fosforescencí (**Obr. 10.** Modifikovaný Jablonského diagram., proces č. 7). K uvolnění energie dochází pomalu (v řádu až desítek sekund), přičemž může být délka života fosforescence může být u tranzitních komplexů prodloužena zavedením ligandů s vázanými ionty těžkých kovů. Publikována byla například studie zkoumající syntézu a návrh luminiscenčních sond na bázi  $\text{Ru}^{2+}$  iontů<sup>140</sup>.

Posledním zde uváděným procesem, kterým může molekula ztrácet svou energii, představuje zpožděná fluorescence<sup>141</sup>. Na Jablonského diagramu **Obr. 10.** je u děje č. 5 patné, že může probíhat dvěma způsoby. Jedná se o tzv. E-*typ* zpožděné fluorescence (na diagramu označen rovnou šipkou), který nese označení po eosinu, kde byl poprvé pozorován<sup>142</sup>. Přechod z tripletové stavu  $T_1$  do excitovaného stavu  $S_1$  je doprovázen zahříváním systému, případně není-li rozdíl mezi hladinami  $T_1$  a  $S_1$  příliš vysoký, může docházet k statistické fluktuaci elektronů mezi hladinami. Druhým typem zpožděné fluorescence je P-*typ*

(poprvé byl pozorován u pyrenu)<sup>142</sup>, kde k excitaci dochází po kolizi dvou molekul v tripletovém stavu. Jedna molekula odevzdá nezářivě svoji energii druhé, která přejde do excitovaného  $S_1$  stavu. Rozdíly mezi  $S_1$  a  $T_1$  mohou být vyšší, než u typu E.

Další energetické přechody související s excitovanými stavy v molekule mohou být způsobeny přítomností paramagnetických kovů, spin-orbitalových interakcí, excitovaných dimerů či fotonovou reabsorpcí a jsou pro naši tematiku méně významné.

### **3.5. Využití fotorelaxačních procesů v medicíně a biochemii**

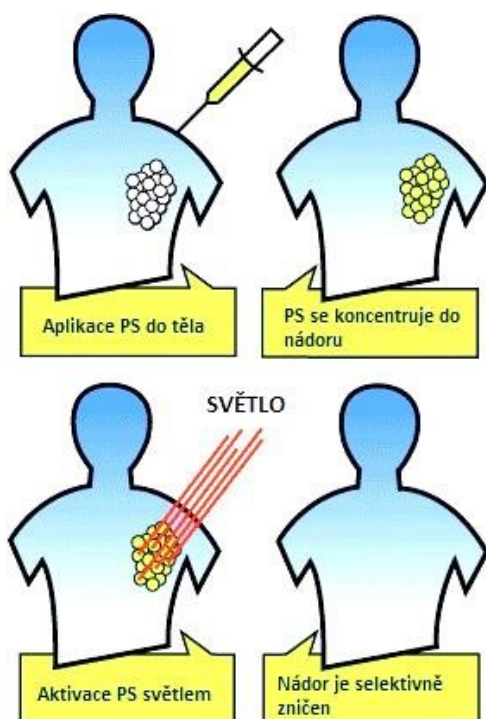
Světelná energie pomáhá v přírodě přeměně oxidu uhličitého a vody na sacharidy. Fotosyntéza je tak důkazem nejjednodušší a velmi efektivní modifikace světelné energie na energii chemickou. Terapeutický účinek světla byl již před tisíci lety využíván k léčbě především kožních onemocnění (novorozenecké žloutenky, psoriázy, ekzému, vitiliga, lichen planus, k léčbě nedostatku vitamínu D a dokonce i ke zmírnění příznaků Parkinsonovy nemoci)<sup>143</sup>. Poznatky z fototerapie daly základ moderním fotomedicínálním a fotobiochemickým metodám<sup>144</sup>, z nichž se zde zaměříme především na fotodynamickou terapii, fotochemickou internalizaci a zhášení fluorescence na molekulárních sondách.

### 3.5.1. Fotodynamická terapie

Fotodynamické terapie (PDT) byla poprvé popsána roku 1900, kdy student medicíny Oscar Raab při svých experimentech náhodně zjistil, že prvoci z rodu nálevníků umírají po inkubaci s akridinovým barvivem. Docházelo k tomu pouze ve dne, ale nikoli když byly ve tmě. Následně dokázal, že je pro pokus nezbytný kromě světla i kyslík ze vzduchu<sup>145</sup>. Tento světlem zprostředkovaný cytotoxický efekt byl označen termínem "fotodynamický účinek". Zanedlouho po těchto objevech byl jev využit při léčbě kožních projevů syfilis, tuberkulózy, psoriázy a rakoviny aplikací barviv přímo na ložisko s následným vystavením světlu<sup>146</sup>. Moderní éra PDT začala v 70. letech minulého století v USA díky snahám doktora Thomase Doughertyho. První fotosenzitizér (PS), který Dougherty a jeho spolupracovníci představili, byla ve vodě rozpustná směs porfyrinů, které nazval "hematoporfyrinovými deriváty" (HpD)<sup>147</sup>. Od té doby bylo v *in vitro* a *in vivo* studiích zkoumáno mnoho potenciálně účinných PS s výhodnějšími vlastnostmi, z nichž stovky jsou navrženy či aplikovány v klinické praxi pro léčbu rakoviny, infekcí a mnoha dalších onemocnění.

#### ❖ Princip fotodynamické reakce

Jak již bylo uvedeno, PDT při svém účinku využívá tři základních netoxických komponentů - světla, kyslíku a fotosenzitizéru. Po aplikaci PS do organismu je oblast nádoru ozářena světlem vhodné vlnové délky, které



Obr. 19. Léčebné schéma PDT.

excituje PS ze základního stavu  $S_0$  na vyšší energetickou hladinu  $S_1$  (Obr. 19.). Excitovaný fotosenzitizér se pak mezisystémovým přechodem dostává do tripletového  $T_1$  stavu, ze kterého může předat svou energii tkáňovému kyslíku  $^3O_2$ . Vzniklé reaktivní formy kyslíku (ROS), především singletový kyslík  $^1O_2$ , napadají okolní biomolekuly a způsobují jejich oxidaci, která vede k destrukci zasažených buněk. Cytotoxické ROS jsou zhruba tisíckrát reaktivnější než základní molekula kyslíku a ničí okolní rakovinné buňky, nežádoucí tkáň, krevní cévy a patogenní mikroorganismy.

PS musí být dostatečně stabilní v excitovaném stavu  $S_1$ , aby přešel mezisystémovým přechodem a



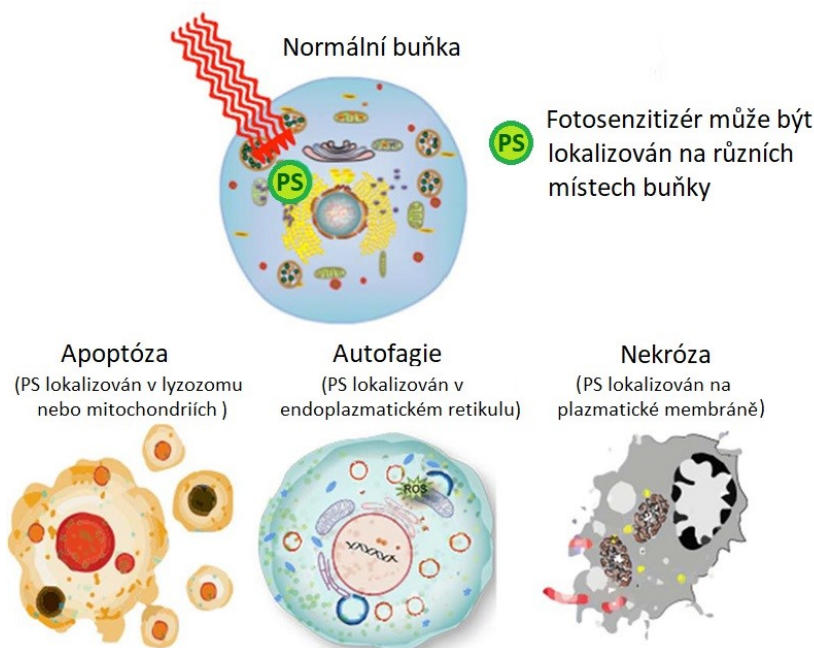
vydržel v déletrvajícím stavu tripletovém  $T_1$ . V této fázi mohou probíhat dva typy reakčních procesů přeměny molekulárního kyslíku a okolního substrátu. V prvním procesu (*fotoproces typu I*; **Obr. 10.** děj č. 8) dochází k odtržení vodíku nebo přenosu elektronů mezi excitovaným PS a sousední molekulou za vzniku iontových radikálů. Mezi redukující molekuly dodávající elektrony patří NADPH, guanin či aminokyseliny cystein, tryptofan a tyrosin. Důsledkem excitace vzniká dvojice radikálů<sup>148</sup>- aniont  $PS^{\bullet-}$  a kationt biomolekuly $^{\bullet+}$ . V aerobním prostředí může výsledný radikál reagovat s kyslíkem v základním stavu ( $^3O_2$ ) za vzniku reaktivních forem kyslíku, jako je superoxidový anion radikál ( $O_2^{\bullet-}$ ), peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ) nebo hydroxylový radikál ( $OH^{\bullet}$ ). ROS mohou působit jako ne vazebná oxidační či redukční činidla malých molekuly (např. siřičitanů, katecholaminů či určitých druhů cukrů)<sup>149</sup>, ale nikoli objemných molekul nukleových kyselin, lipidů a sacharidů<sup>150</sup>. Vysokou afinitou ROS inklinují k téměř všem biologicky relevantním radikálům, čímž uvolňují potenciálně toxické produkty poškozující buňky<sup>151</sup>. Mezi takové radikály patří oxid dusnatý ( $NO^{\bullet}$ ), fenoxylvé radikály např. tyrosylový radikál aminokyseliny<sup>152</sup> či guaninový neutrální radikál  $[G(-H)^{\bullet}]$ <sup>153</sup>.

Ve druhém procesu (*fotoproces typu II*) se energie z  $T_1$  přenese přímo na  $^3O_2$ , který je sám v tripletovém stavu, a excituje ho na kyslík singletový ( $^1O_2$ ), jak je znázorněno na **Obr. 10.**, děj č. 9. Přenos energie může nastat pouze tehdy, jsou-li PS i substrát v tripletovém stavu, čemuž vyhovuje pouze omezený počet molekul. Energie posune jeden ze dvou ne vazebných elektronů  $^3O_2$  na orbital s vyšší energetickou hladinou (mluvíme o excitaci elektronu) a zároveň převrací jeho spin, čímž přemění základní stav molekulárního kyslíku na kyslík singletový ( $^1O_2$ ). Singletový kyslík napadá nenasycené vazby mezi uhlíky, neutrální nukleofily (např. sulfidy, aminy) a anionty za vzniku peroxidů<sup>154</sup>. V biologickém prostředí je životnost  $^1O_2$  omezena jak fyzikálním tak chemickým zhášením. V důsledku fyzikálního zhášení je délka života  $^1O_2$  v čisté vodě pouze 4  $\mu s$ <sup>155</sup>, zatímco v buňkách je vzhledem k chemickému zhášení ještě kratší. I bez vlivu chemického zhášení nepřesahuje maximální akční rádius  $^1O_2$  150 nm<sup>156</sup>. Tato vzdálenost je mnohem menší než velikost průměrné savčí buňky a dokonce i buněčných organel. Krátká životnost  $^1O_2$  představuje klíčový faktor při lokalizaci účinku PDT.

Předpokládá se, že při PDT většina PS napomáhá současně vzniku singletového kyslíku i radikálům, avšak jejich relativní podíl na destrukci nádoru závisí na typu a koncentraci PS, na koncentraci kyslíku v nádoru a na vazbě fotosenzitizéru na substrát. Na rozdíl od přenosu elektronu (fotoproces typu I) má přenos energie za vzniku singletového kyslíku (fotoproces typu II) větší schopnost poškodit tkáň a je při fotodynamické terapii účinnější. Je to dáno jednak rychlostí, která je u fotoprocesu typu II ( $k \approx 1-3 \times 10^9 \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) oproti fotoprocesu typu I (tvorba  $O_2^{\bullet-}$   $k \leq 1 \times 10^7 \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) rychlejší<sup>157</sup>, a zároveň reaktivitou, která je vyšší u singletového kyslíku než superoxidového radikálu.

Navíc jsou biologické systémy enzymaticky chráněny před ROS, ale antioxidantní enzymy, které by  $^1O_2$  eliminovali, se pravděpodobně vzhledem k jejich krátké životnosti nevyvinuly.

❖ Fotodynamický účinek na cílové tkáně



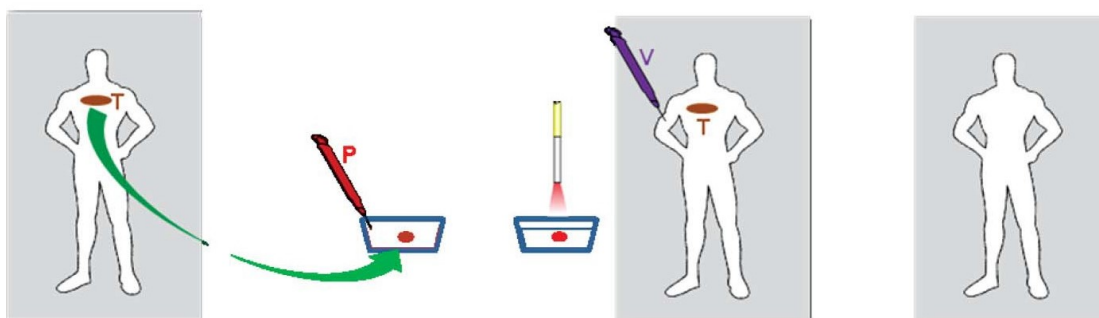
**Obr. 20.** Mechanismy buněčné smrti. Hlavní roli hraje typ cílové organely, kde PS působí, méně již vliv celková koncentrace PS či parametry záření.

Do organismu může být PS podáván intravenózně, intraperitoneálně nebo lokálně a je pak selektivně vycitáván nádorovými buňkami díky fyziologickým rozdílům rakovinné a zdravé tkáně<sup>158</sup>. Maximální koncentrace PS je dosaženo za 3 až 96 hodin v závislosti na typu nádoru a PS. Lokalizací fluorescence fotosenzitizéru můžeme následně diagnostikovat a detekovat místo nádoru. Degradace buněk může nastat několika způsoby, jedním z nich je poškození vaskulatury, další je přímá destrukce buněk apoptózou, nektrózou či autofagií<sup>159</sup> (**Obr. 20.**).

Akutní reakce buněk na stres vyvolaný ozářením PS vede ke změnám metabolismu vápníku a lipidů a k tvorbě cytokinů a stresových proteinů. Aktivují se enzymy, zejména proteinové kinázy, které exprimují transkripční faktory. Lokalizace PS úzce souvisí s buněčnou odpovědí a mechanismem destrukce buňky. Pokud PS působí v lyzozomu či mitochondriích indukuje nejčastěji apoptózu, tedy řízenou buněčnou smrt. Probíhá buď mitochondriální cestou s následným uvolněním cytochromu c do cytosolu, nebo cestami ovlivňující receptory ceramidu<sup>160</sup>. Buňka má schopnost recyklovat poškozené organely autofagií, při které jsou částice pohlceny strukturou s dvojitou membránou nazývanou autofagosom, který se spojí s lysosomy degradujícími jeho obsah<sup>161</sup>.

Přestože se vyskytly zprávy o poškození DNA způsobené PDT, není tento způsob buněčné smrti považován za významný.

Kromě přímých fototoxických účinků na cílové tkáně může PDT stimulovat různé imunitní buňky a zánětlivé buněčné mediátory. V důsledku imunspecifické odpovědi na PDT dochází k produkci různých cytokinů, jako jsou interleukiny, tumor nekrotizující faktor- $\alpha$  či matrixová metaloproteináza<sup>162</sup>. Schopnost indukovat protinádorovou imunitu vedla k hledání vakcín proti rakovině generované PDT. Tyto vakcíny lze použít buď profylakticky nebo dokonce jako terapeutikum. Výhodou je, že se pacient vyhne přímé léčbě fotosenzibilizátorem i působení světla (Obr. 21.) Studie zkoumající možnosti takových vakcín mají slibné výsledky<sup>163</sup>.



**Obr. 21. Princip nádorové léčby pomocí vakcíny generované PDT.** Pacientovi se odebere materiál z operativně resekované nádorové tkáně, do té je aplikován PS *ex vivo* a vzniklá frakce ozářena. Vakcinovaný materiál je injektován buď přímo do pacienta, z kterého byla nádorová tkáň odebrána (autologní vakcína), nebo do jiného pacienta (alogenní vakcína).  
T = nádor; P = fotosenzitizér; V = očkovací látka

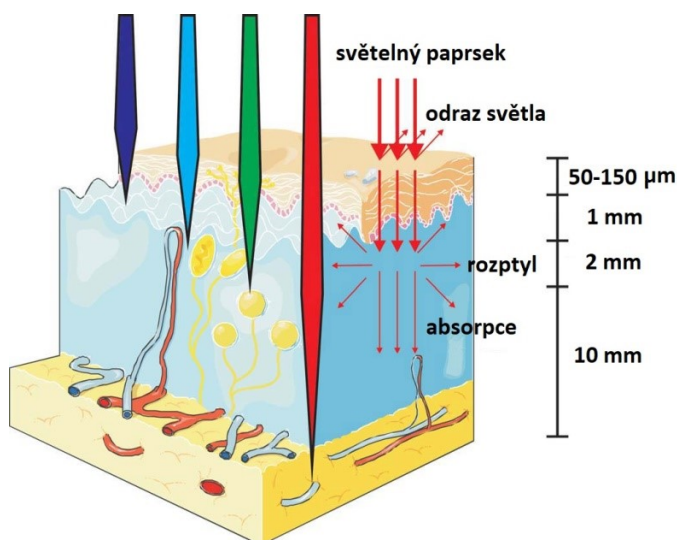
Široce zkoumaným tématem je vznik lékové rezistence při chronické léčbě rakoviny, její příčiny a schopnost ji ovlivnit. V této souvislosti můžeme odkrýt zajímavý jev, kdy rezistence indukovaná jednou léčbou může být potlačena léčbou jinou<sup>164</sup>. Preklinické i klinické studie naznačují, že mechanismy poškození nádorových buněk a mikroprostředí způsobené PDT by mohly být využity k překonání rezistence vůči rakovině, či dokonce k resenzibilizaci rezistentních buněk k standardním terapiím<sup>165</sup>. S rozvojem nanotechnologií je možné, aby byla aktivace světlem využita nejen k poškození a senzibilizaci nádorů, ale také k řízenému uvolnění léku inhibující mechanismus vzniku rezistence nebo k proliferaci buněk<sup>166</sup> (samostatně v kap. Fotochemická internalizace).

#### ❖ Světlo

Terapeutická účinnost PDT závisí na vlastnostech světla použitého k aktivaci PS. Při povrchové aplikaci musí světlo proniknout kůží a tkání tak, aby dosáhlo cílového místa a bylo schopno aktivovat PS *in situ*. V intraluminálním

nebo intersticiálním uspořádání je důležitým hlediskem umístění více zdrojů světla.

Penetrace světla do tkáně je komplexní proces, který závisí na optických vlastnostech tkáně při vlnové délce použitého světla. Existuje značná heterogenita mezi tkáněmi a dokonce i v tkáních, přičemž řada molekul může rozptýlit světlo a jeho absorpci ovlivnit (Obr. 22.). U kratších vlnových délek může být účinnost omezena vzhledem k absorpci



Obr. 22. Průnik světla tkáněmi.

endogenními chromofory, jako je hemoglobin, melanin,

myoglobin, zatímco při delších vlnových délkách může absorbovat světlo voda. To omezuje rozsah vlnových délek optimální pro průnik do tkáně mezi 600 nm a 1300 nm. Světlo s vlnovou délkou delší než 850 nm však neposkytuje dostatečnou energii potřebnou k aktivaci PS do jeho tripletového stavu a k vytvoření singletového kyslíku. Jako optimální "terapeutické okno" pro většinu aplikací PDT se uvádí rozmezí v červené oblasti spektra mezi 620 - 850 nm<sup>167</sup>. Ukázalo se, že pro dodání světla jsou stejně účinné jak lasery, tak i žárovky [89]. Lasery jsou široce využívány v klinické PDT, protože jsou silné, mohou být spojeny s optickými vlákny, které mohou osvětlit hlouběji lokalizované nádory za využití difuzních hrotů<sup>168</sup>. Četné studie se snaží optimalizovat zdroje světla novými přístupy. Je například popsáno a do praxe zavedeno použití světelných diod (LED)<sup>169</sup> či denního světla<sup>170</sup>. Důležitý je rovněž optimální režim dávkování světla. Vysoká rychlost dávkování světla může příliš rychle snížit hladiny kyslíku v nádorové tkáni, což účinnost PDT omezuje<sup>171</sup>.

#### ❖ Fotosenzitizér

Převážná část PS, které jsou v současné době používány pro PDT, jsou cyklické, tetrapyrrolové deriváty podobné struktuře hemu: porfyriny a jejich analogy (chloriny, bakteriochloriny, ftalocyaniny a další). Nicméně je omezená část syntetických a přírodních ne-porfyrinových chromogenů, které vykazují taktéž dostatečnou fotodynamickou aktivitu. Uvedení zástupci jsou shrnuty níže v **Tab. 1** spolu s fotofyzikálními parametry a jejich využitím.

První generace PS je odvozená od látek přirozeně se vyskytujících v přírodě, jejichž strukturální základ tvoří porfyrinové jádro. Jejím jediným zástupcem jsou *deriváty hematoporphyrinu* (HpD), které v roce 1960 představil Lipson<sup>172</sup>. Byly připraveny acetylací hematoporphyrinu s následnou neutralizací a alkalickou hydrolýzou. Jedná se o složitou směs monomerů, dimerů i oligomerů hematoporphyrinu spojených esterovou a éterovou vazbou. Po vyčištění na porfimer sodný byl tento přípravek později registrován pod komerčním názvem Photofrin®. Ačkoli je Photofrin® jedním z nejvíce používaných PS na celém světě, má mnoho nevýhod<sup>173</sup>. Je to především jeho vysoká retence v kůži způsobující fotosenzitivitu pacienta na denní světlo, která může trvat týdny až měsíce po aplikaci. Dále také nejednotné složení, slabá absorpce a nízká excitační vlnová délka, která limituje použití zejména u objemných nádorů, kde je průnik světla problematický<sup>174</sup>.

U PS druhé generace se rozšiřuje konjugovaný systém dvojných vazeb a výrazně vylepšují fotofyzikální vlastnosti. V současné době jsou nejčastěji používanými PS v dermatologii *kyselina 5-aminolevulová* (ALA) a její deriváty. ALA je endogenní látka, která je výchozí sloučeninou biosyntézy hemu u všech savců a je produkována enzymem *ALA syntetázou* z glycinu a sukcinyl-CoA. V organismu funguje jako proléčivo, ze kterého se biosyntézou tvoří účinný PS protoporphyrin IX, poslední intermediát přeměny na hem, kterému chybí pouze centrální atom železa. Inkorporace kovu do molekuly hemu je katalyzována *ferrochelatázou*, jejíž kapacita je v mitochondriích limitována, což vede k nahromadění protoporphyrinu IX v buňce v závislosti na dostupnosti ALA<sup>175</sup>. Výhodou ALA je, že jako proléčivo nezpůsobuje fotodynamickou toxicitu a vykazuje relativně krátkou a nízkou fotosenzitivitu. Zároveň je zvýšena její selektivní koncentrace v tumorózní tkáni, protože je v rychle se množících rakovinných buňkách omezena dostupnost železnatých iontů, a tím zpomalena přeměna na neúčinný hem<sup>176</sup>.

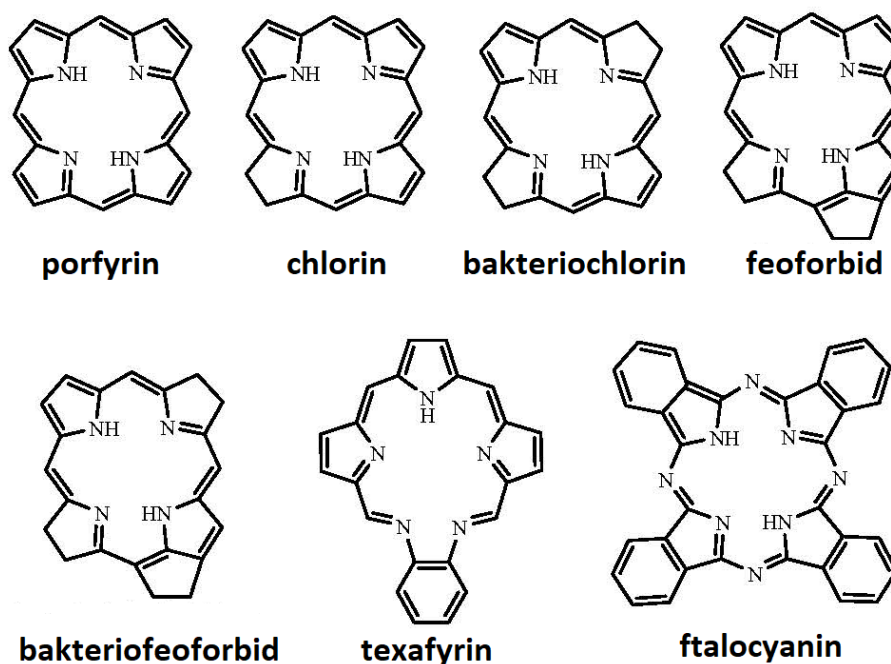
Za hlavní nevýhodu ALA v PDT lze označit silnou hydrofilitu, která značně omezuje penetraci zvláště skrz stratum corneum a buněčné membrány. Užívá se proto jen při povrchových léčbách. Jako nejvhodnější obměna pro zvýšení lipofility a penetrace při zachování aktivity se ukázala esterifikace volné karboxylové skupiny<sup>177</sup>. Byla připravena řada esterů ALA, z nichž do klinické praxe byly prozatím uvedeny pouze methyl- (M-ALA) a hexyl- (H-ALA) ester kyseliny aminolevulové. Estery lze podat systémově, dochází ke vzrůstu buněčného influxu a selektivity vylučování v rakovinné tkáni a jsou 50-100krát účinnější než ALA<sup>178</sup>.

Do další skupiny PS patří *chloriny*, které mají na rozdíl od porfyrinů o jednu konjugovanou vazbu v jednom pyrrolovém kruhu méně. Tato strukturální změna vede k bathochromnímu posunu v absorpčním pásmu (640 až 700 nm) a zvýšení  $\epsilon_{\max}$  ( $\sim 40\,000\text{ cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$ ). Klinicky významnými jsou

verteporfin<sup>179</sup>, talaporfin<sup>180</sup>, temoporfin<sup>181</sup>, rostoporfin<sup>182</sup> a radachlorin<sup>183</sup>. Nejnižší kožní fotosenzitivitu vykazují první dva uvedení zástupci.

*Bakteriochloriny* jsou aktivovány blízkým infračerveným světlem (700 - 800 nm) a jsou zvláště účinné proti pigmentovaným nádorům, např. malignímu melanomu<sup>184</sup>. Nedávno vstoupil v Portugalsku do klinických studií fluorovaný sulfonamidový bakteriochlorin F<sub>2</sub>BMet<sup>185</sup>. Další bakteriochloriny jsou ve fázi testování jako potenciální PS při nádorové<sup>186</sup> a antimikrobní<sup>187</sup> terapii.

*Bakteriofeoforbidy* jsou strukturou podobné bakteriochlorinům a mají o 4 vodíky více na dvou pyrrolových cyklech než porfyriny. Dosahují absorpčního maxima při 740-800 nm a  $\epsilon_{\max}$  ( $\sim 50\,000\text{ cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$ ). Padoporfin<sup>188</sup> a jeho novější ve vodě rozpustný derivát<sup>189</sup> jsou odvozeny od bakteriochlorofylu a, který je izolován z bakterií. Má nízkou akumulaci v kůži a rychlé vylučování z těla<sup>190</sup>.



**Obr. 23.** Základní struktury fotosenzitizérů druhé generace.

*Feoforbidy* mají o 2 vodíky méně na jednom pyrrolu oproti porfyrinům a strukturou vychází z chlorofylu. 2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinyl pyrofeoforbid a (komerční název Photochlor<sup>®</sup>) je semisyntetický PS připravený z přirozeně se vyskytujícího porfyrinoidu<sup>191</sup>. Photochlor<sup>®</sup> se může po jedné infuzi v plazmě vyskytovat i několik měsíců<sup>192</sup>. Navzdory tak pomalé exkreci je kožní fotosenzitivita jen minimální<sup>193</sup>. Photochlor<sup>®</sup> prochází v Roswell Park Cancer Institute různými stádii klinických studií.

*Texafiriny* jsou porfyrinové analogy s přikondenzovaným benzenovým kruhem. Nejvýznamnějším zástupcem je Lu-Tex, který je hodnocen v mnoha klinických studiích a v oboru fotoangioplastiky je zkoumán jeho účinek na onemocnění periferních a koronárních cév<sup>194</sup>.

*Ftalocyaniny* byly jedny z prvních sloučenin testované jako potenciální PS. Detailně jsou popsány v úvodu této kapitoly (3.2.). Pro fotodynamický účinek je nezbytná chelatace Pc kovovým iontem, která umožní mezisystémový přechod mezi energetickými hladinami molekuly<sup>195</sup> a ovlivní délku trvání tripletového stavu. Absorpční pás se pohybuje na konci červené oblasti viditelného světla kolem 650-720 nm a dosahuje silné absorpce  $\epsilon_{\max}$  až 200 000  $\text{cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$ , která je řádově vyšší než u ostatních obdobných látek. Ftalocyaniny vstupují do buněk endocytózou, jsou lokalizovány v lysozomech a poté se kumulují v mikrozomech a mitochondriích. Relativně špatnou rozpustnost Pc ve vodě lze zvýšit substitucí na periferii, inkorporací do lipozómů nebo micel či vazbou na vhodný nosič (cukry, polylysinové řetězce atd.). Jednu z možností, jak zvýšit rozpustnost ve vodě, představuje sulfonace, při níž vzniká poměrně obtížně separovatelná směs sulfonových produktů. Tetrasulfonovaný hlinitý Pc ( $\text{AlPcS}_4$ ) registrován v Rusku pod obchodním názvem Photosens<sup>®</sup> je navzdory kožní fototoxicitě používán na léčbu karcinomů žaludku, kůže a dalších<sup>196</sup>. Z ostatních Pc, které jsou ve fázi testování, bych ráda zmínila křemičitý komplex ftalocyaninu ( $\text{Pc}_4$ ), lysozomální nesubstituovaný  $\text{ZnPc}$ <sup>197</sup> a kationtový Pc, který je v *in vivo* studiích zkoumán na antimikrobní aplikaci při vředech spojených s diabetickou nohou<sup>198</sup>.

Ostatní *ne-porfyrinové PS* představují různorodou skupinu vycházející převážně ze struktury přírodních barviv, které jsou hodnoceny v různých fázích klinických studií, ale dosud nebyly do praxe uvedeny.

Mezi nejvýznamnější patří hypericin, antrachinonový derivát extrahovaný z třezalky tečkované, který dokáže produkovat ROS a absorbuje při 590 nm s  $\epsilon_{\max} \sim 44\,000\ \text{cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$ . Provedené klinické studie k léčbě karcinomů, ale nepřinesly uspokojivé výsledky<sup>199</sup>. Ze skupiny fenothiazinů můžeme uvést methylenovou a toluidinovou modř<sup>200</sup>. Prvně zmíněná modř absorbuje při 666 nm s  $\epsilon_{\max} \sim 44\,000\ \text{cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$  a cíleně se zaměřuje na melanomové buňky<sup>201</sup>. Společně jsou sledovány pro léčbu chronické parodontitidy. Dalším přírodním barvivem s fotodynamickým účinkem je bengálská červeň. Jedná se o ve vodě rozpustný derivát xanthenu, který absorbuje při 549 nm s  $\epsilon_{\max} \sim 100\,000\ \text{cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$  a experimentálně se používá při léčbě karcinomu prsu a melanomu<sup>202</sup>. Posledním vybraným *ne-porfyrinový PS* je kurkumin, barvivo izolované z oddenku kurkumy<sup>203</sup>. Kurkumin absorbuje při 420 nm a má  $\epsilon_{\max} \sim 55\,000\ \text{cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$  a byl použit v pilotní studii jako dezinfekční prostředek při chirurgickém zákroku v oblasti úst<sup>204</sup>.

Některá literatura uvádí ještě třetí generaci, do které řadí PS konjugované s jinými biomolekulami, protilátkami, receptorovými ligandy či nanočásticemi<sup>205</sup>, které pomáhají zlepšit cílenější distribuci do nádorové tkáně<sup>206</sup>. Zapouzdřené nanočástice PS vykazují lepší lokalizaci do nádoru a sníženou fotosenzitivitu pokožky.

Fotosenzitizér	Strukturální základ	Q-pás [nm] / $\epsilon_{\max}$ $\times 10^3$ [cm <sup>-1</sup> dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> ]	Terapeutické využití (T, datum uvedení do praxe) Klinická studie (K)
Photofrin®	porfyrin	630 / 3	T- rakovina močového měchýře (1993), jícnu (1995), plic (1998), hlavy, krku, mozku, kůže, žaludku, prsu a děložního hrdla <sup>207</sup> , kolorektální karcinom <sup>208</sup> , Barretův jícen (2003) <sup>209</sup>
ALA	porfyrin	632 / 5	T- aktinoidní keratóza(1999) <sup>210</sup> , Bowenova choroba, basaliom, detekce rakoviny močového měchýře, kůže a plic <sup>211</sup>
M-ALA	porfyrin	-	T- aktinoidní keratóza(2004) K- akne vulgaris
H-ALA	porfyrin	-	T- detekce rakoviny močového měchýře (2010) K- cervikální intraepiteliální neoplazie, genitální lichen planus
verteporfin	chlorin	689 / 34	T- senilní makulární degenerace (1999) K- nemelanomová rakovina kůže <sup>212</sup>
talaporfin	chlorin	664 / 40	T- rakovina plic (2003) <sup>209,213</sup> K- rakovina mozku <sup>214</sup>
temoporfin	chlorin	652 / 35	T- rakovina hlavy, krku, plic, prostaty a slinivky břišní <sup>215</sup>
rostaporfin	chlorin	664 / 30	K- adenokarcinom prsu, Kaposiho sarkom, ADM <sup>216</sup>
F <sub>2</sub> BMet	bakteriochlorin	750 / 140	K- adenokarcinom tlustého střeva <sup>185</sup> , rakovina hlavy a krku
padoporfin	bakteriofeoforbid	763 / 88	K- rakovina prostaty <sup>217</sup>
Photochlor®	feoforbid	665 / 47	K- rakovina plic <sup>218</sup> , jícnu, kůže, dutiny ústní, hlavy a krku, léčba dysplázie a Barrettova jícnu
Lu-Tex	texafirin	732 / 42	K- rakovina prostaty <sup>219</sup> , děložního čípku a prsu, léčba maligního melanomu, ADM
AlPcS <sub>4</sub>	ftalocyanin	676 / 200	T- rakovina žaludku, kůže, rtů, úst a prsu (2001)
Pc <sub>4</sub>	ftalocyanin	675 / 200	K- aktinoidní keratóza, Bowenova choroba, rakovina kůže <sup>220</sup> , mykóza, imunopresivum

**Tab. 1.** Fotosenzitizéry schválené pro léčbu PDT nebo zkoumané v klinických studiích souvisejících s PDT<sup>221- 223</sup>.



## ❖ Fotodynamický efekt na úrovni buněk a tkání

Rozpustnost PS hraje důležitou roli při distribuci a cílené lokalizaci uvnitř nádorových buněk. Hydrofobní sloučeniny se vážou na nízkodenzitní lipoproteinový (LDL) receptor, zatímco hydrofilní molekuly se vážou na albumin a globuliny<sup>224</sup>. Akumulace PS v buněčných organelách závisí také na jeho náboji. Kationtové sloučeniny (např. iminové soli) se shromažďují v mitochondriích a aniontové sloučeniny (např. sulfonované a karboxylované kyseliny) se nacházejí v lysozomech<sup>225</sup>. Optimální je vyvážený poměr mezi hydrofilními vlastnostmi, které jsou důležité pro biologickou dostupnost PS, a lipofilními vlastnostmi, které umožňují difúzi léčiva přes lipidové bariéry a lokalizaci v nitrobuněčném prostoru<sup>226</sup>.

Obecně lze říci, že normální tkáně jsou schopny za určitou dobu eliminovat PS, zatímco nádorová tkáň kvůli neexistenci lymfatické drenáže toto nedokáže. To vede ke kumulaci PS v tumorózní tkáni, což v kombinaci s lokalizovaným ozářením v místě nádoru dává PDT určitou selektivitu. Faktory, které ovlivňují preferenční akumulaci PS v neoplastické tkáni, jsou složité a existuje několik teorií objasňujících jejich mechanismus<sup>227</sup>. Populární teorie, která platí pro všechny PS, je založena na morfologických rozdílech mezi zdravými a nádorovými tkáněmi. Kvůli rychlému a nekontrolovanému růstu nádorových buněk mají pevné tumory abnormální, neorganizovanou vaskularitu s defektní vnitřní výstelkou. Následkem toho dochází k narušení endotelu a extravazaci makromolekul do extravaskulárního prostoru<sup>228</sup>. Jiné teorie se kloní k poznatkům, že dochází ke zvýšené expresi určitých receptorů na nádorových buňkách, snížení intratumorálního pH nebo imunitní systém reaguje vytvořením makrofágů asociovaných s tumory (TAM), které fagocytují molekuly PS<sup>229</sup>. Tyto teorie nejsou zatím plně objasněny a jsou ovlivněny charakterem PS (hydrofobní vs. hydrofilní), typem nádoru, dávkováním PS a dalšími faktory<sup>230</sup>.

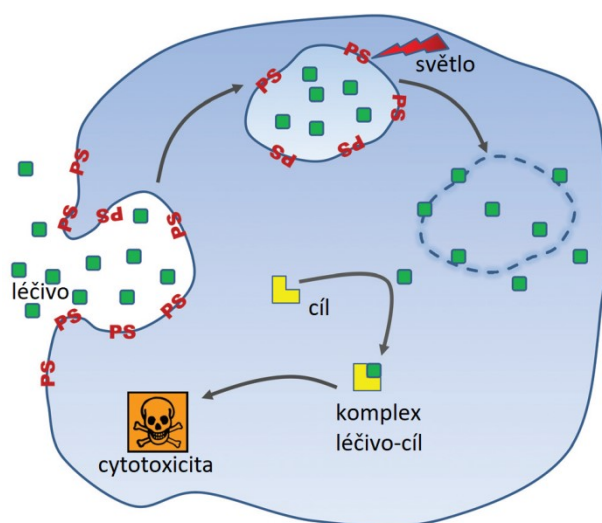
Shrneme-li všechny uvedené požadavky na vlastnosti ideálního PS, můžeme sestavit profil léčiva, které by mělo splňovat následující kritéria:

- ✓ chemicky čistá látka známého složení, stabilní, dostatečně ve vodě rozpustná
- ✓ snadná příprava z dostupných prekurzorů
- ✓ silná absorpce v červené oblasti viditelného světla s vysokým extinkčním koeficientem  $\epsilon_{\max} \sim 50\,000\text{--}100\,000\text{ cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$
- ✓ vysoký kvantový výtěžek singletového kyslíku ( $\Phi_{\Delta}$ )
- ✓ účinná akumulace v nádorové tkáni a nízká toxicita PS i jeho metabolitů ve tmě a okolní zdravé tkáni
- ✓ snadná aplikace do těla a rychlá eliminace po ukončení léčby
- ✓ dostatečná fluorescence pro vizuální kontrolu nádoru a nízký „photobleaching“ (tzn. rozklad PS světlem) pro zachování účinnosti terapie

Fotodynamická terapie je vedle chemoterapie, radioterapie a imunoterapie jednou z možností léčby nádorového onemocnění. Oproti konvenčním terapeutickým metodám má vzhledem ke své vysoké selektivě minimální vedlejší účinky. Byl popsán princip fotodynamického účinku, který je díky třem netoxickým aktivujícím složkám šetrný ke zdravé tkáni a zároveň má PS schopnost kumulovat v nádorové tkáni. Výhodou je zachování minimální fluorescence PS, která pomáhá vizualizaci nádorové tkáně a jejímu chirurgickému odstranění. Mezi hlavní nevýhody patří zvýšené riziko fotosenzitivity kůže a očí. Po ukončení léčby by měli pacienti omezit expozici slunečnímu záření na více než třicet dní v závislosti na zvoleném PS. PDT je omezena na užití pouze u lokalizovaných, pevných nádorů, neboť je při metastázách velice obtížné najít všechna neoplastická ložiska, která musejí být ozářena. Problematické mohou být i větší a hlubší nádory, kde světlo nemůže proniknout skrz celou nádorovou tkáň a je nutné záření v cyklech opakovat.

### 3.5.2. Fotochemická internalizace

Fotochemická internalizace (PCI) je technologie založená na stejných principech jako PDT (PS, světlo a kyslík) a se stejnými účinky na nádorovou tkáň - přímou cytotoxicitou<sup>231</sup>, vaskulárním odumřením<sup>232</sup> a možnou aktivací imunitního systému<sup>233</sup>. Průkopníky této metody byli Berg a jeho kolegové, kteří objevili ještě čtvrtý, nový efekt PCI - fotochemické uvolnění obsahu endocytických vezikul do cytosolu<sup>234</sup>. Velké makromolekuly jako jsou proteiny (protilátky, růstové faktory), peptidy, mRNA na očkování proti rakovině, nukleotidy na genovou modifikaci, stejně jako velké molekuly léčiv, jako jsou polymery a nanočástice mají značně omezen vstup přes plazmatickou membránu. Makromolekuly a PS jsou společně pohlceny endocytózou a uloženy do endocytických vezikulách (endozomů). PS se začleňuje do membrány endozomu, po ozáření světlem se aktivuje a vytváří singletový kyslík stejným mechanismem jako u PDT. Tím dochází k oxidaci membrány, jejímu prasknutí a uvolnění makromolekuly v aktivní formě do cytosolu buňky (**Obr. 24.**). Bez ozáření světlem může být po určité době terapeutická částice



**Obr. 24.** Princip fotodynamické internalizace.

rozložena v lysozomech.

Typický PS vhodný pro PCI má amfifilní povahu. Hydrofilní část brání přestupu PS přes plazmatickou membránu, aby mohl být PS společně s terapeutikem aktivně transportován endocytózou či pinocytózou do intracelulárního prostoru. Zároveň je nezbytná hydrofobní povaha sloučeniny, která PS naopak pomáhá dostatečně proniknout do membrány endozomu, aby došlo k efektivní produkci singletového kyslíku. Mezi nejvýznamnější amfifilní PS patří disulfonovaný hlinitý Pc (AlPcS<sub>2a</sub>) a disulfonovaný tetrafenylporfyrin (TPPS<sub>2a</sub>). Vysoce hydrofilní PS, jako je např. AlPcS<sub>4</sub>, nedokáže účinně narušit plazmatickou membránu a je do buňky přenesen pomocí pinocytózy, která není oproti endocytóze v transportu tak účinná<sup>235</sup>. Klinicky užívané fotosenzitizéry pro PDT jsou při srovnání s PS pro PCI obecně více lipofilní<sup>236</sup>. Bylo prokázáno, že PCI může vyvolat nekrózu i u hlubších nádorů<sup>237,238</sup> a má v porovnání s PDT při použití stejných PS větší vaskulární účinek<sup>238,239</sup>. Výsledky studií potvrzují zvýšení biologické aktivity u molekul, které obtížně prostupují přes plazmatickou membránu. Konkrétně se jedná o imunotoxiny, plazmidy, adenoviry, různé oligonukleotidy, dendrimerová chemoterapeutika<sup>240</sup>, nekonjugovaná chemoterapeutika jako bleomycin a doxorubicin<sup>235,239</sup>

### 3.5.3. Zhášecí fluorescence pro použití na molekulárních sondách

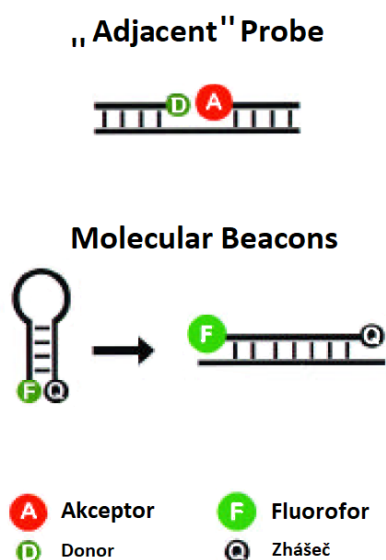
Zatímco PS používané v PDT vykazují samy vysokou fluorescenci a produkci cytotoxického singletového kyslíku, jiné Pc deriváty naopak dosahují v obou případech hodnot téměř nulových a jsou dokonce schopny fluorescenci zhaset<sup>241</sup>. K vlastnímu zhasení fluorescence dochází na základě nezářivých procesů, především Försterova rezonančního přenosu energie (FRET), dále Dextrova přenosu elektronu (DET), dynamického zhasení, tvorbou komplexu v základním stavu (statické zhasení) či jejich kombinací. Statické zhasení se na molekulárních sondách uplatňuje, je-li fluorofor a zhášec v přímém kontaktu a využívá se sporadicky. Produkce singletového kyslíku je na rozdíl od látek aplikovaných v PDT nežádoucí, neboť kyslík v singletovém stavu ničí oligonukleotidové sondy. Pokud není fluorofor nevratně zničen v excitovaném stavu (tzv. „photobleaching“), potom tentýž fluorofor může být opakovaně excitován a emitovat fluorescenční záření. To dává základ vysoké citlivosti fluorescenčních technik.

Sonda se obvykle skládá ze tří částí - donoru fluorescence (fluoroforu), akceptoru fluorescence (zhášecí neboli „quencheru“ nebo druhého fluoroforu) a sekvence DNA komplementární k sekvenci analyzovaného vzorku. Délka sekvence většinou nepřesahuje 50 nukleotidů, což sondě umožňuje rychle se navázat na komplementární nukleotidy cílové molekuly a rovněž přesněji

detekovat bodové mutace zkoumané sekvenci nukleové kyseliny<sup>85</sup>. Sonda má na opačných koncích navázaný fluorofor, který samotný na počátku energii absorbuje a ve formě záření emituje, a zhášec, který je následně schopen toto záření tlumit. Nárůst fluorescenční aktivity je způsoben snížením vlivu zhášeče na fluorofor důsledkem relativního zvětšení vzdálenosti mezi oběma molekulami.

Molekulární sondy využívají přenosu energie mezi hladinami a uplatňují se při fluorescenčním značení k monitorování DNA a RNA reakcí<sup>242</sup>, real-time PCR<sup>243</sup>, při procesech štěpení, hybridizace<sup>244</sup>, k detekci mutací a mnoha dalších biochemických aplikacích<sup>245</sup>. Sonda je jednořetězcový nebo dvouřetězcový fragment nukleové kyseliny, který se na základě komplementarity bází navazuje k příslušným, tzv. komplementárním úsekům cílové DNA či RNA. Po navázání k dané sekvenci je sonda díky značení vizualizována, což poskytne informaci o přítomnosti či nepřítomnosti sekvence ve vzorku nebo také informaci o kvantitě testované sekvence.

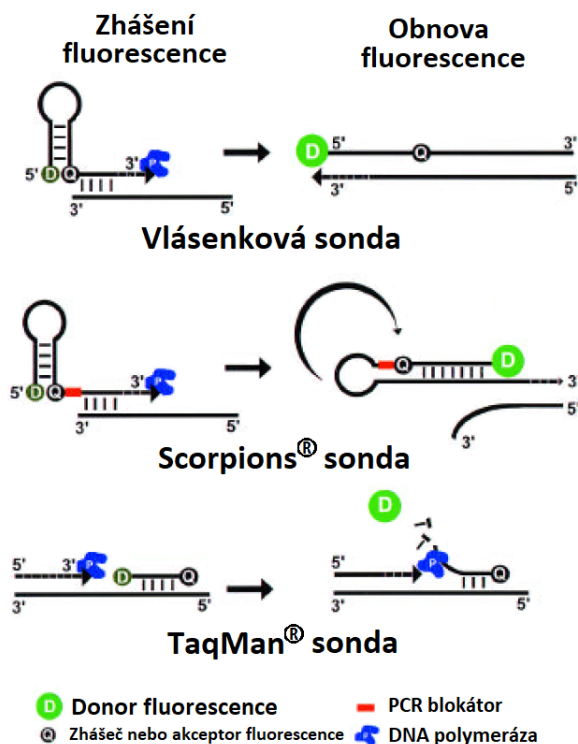
Fluorofor a zhášec mohou být navázány každý na samostatném oligonukleotidu (**Obr. 25.**; tzv. „Adjacent probe“ či navzájem kompetitivní řetězce) nebo současně na jednom oligonukleotidovém řetězci, tzv. duálně značené sondy (**Obr. 26.**; vlásenkové sondy „Light Up probe“, TaqMan®, Molecular Beacons, Scorpions® sondy).



**Obr. 25. Zjednodušené schéma FRET sond pro detekci hybridizace.** „Adjacent probe“-fluorescence akceptoru se zvýší, když dvě sondy hybridizují s cílovou sekvencí. Molecular Beacons-po hybridizaci sond se oddálí fluorofor od zhášeče a dojde k obnově fluorescence.

Volba vhodného zhášeče (Tab. 2.) závisí na typu fluorescenčního barviva. Především je nutné, aby se emisní spektrum fluoroforu překrývalo s absorpčním spektrem zhášeče. V současné době jsou v praxi používány dvě skupiny (generace) zhášečů. První, starší a již téměř nevyužívaná skupina má řadu nevýhodných vlastností. Jednak látky vykazují vlastní fluorescenci, která snižuje citlivost detekčních metod, např. tetramethylrhodaminy (TAMRA<sup>®</sup>) nebo absorbují záření pouze při nízkých vlnových délkách, což značně omezuje jejich použití (DABCYL, DAB<sup>®</sup>).

Druhou a novější skupinu tvoří tzv. „dark quencher“<sup>246</sup>. Jsou to látky s nulovou fluorescencí a širokým rozsahem absorpce pokrývajícím téměř celou škálu používaných fluorescenčních barviv. Některé starší zástupci jsou omezeny pouze na pokrytí fluoroforů emitujících světlo při nižších vlnových délkách.



**Obr. 26. Zjednodušené schéma FRET sond pro sledování PCR.** Vlášenková sonda „Light Up“- nárůst fluorescence po oddálení D a Q na nově syntetizovaném řetězci DNA. Scorpions<sup>®</sup> sonda-tvořená kromě Q a D ještě blokujícím primerem, který „ohne“ vlákno, čímž se Q a D oddálí a fluorescence vzroste. TaqMan<sup>®</sup> sondy- jsou v průběhu PCR zničeny TaqDNA polymerázou, oddělením D a Q fluorescence vzroste.

Zhášeč	Strukturální základ	Absorpce $\lambda_{\max}$ [nm]	Oblast zhášení [nm]	$\epsilon_{\max} \times 10^3$ [cm <sup>-1</sup> dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> ]
DAB®	fenyldiazenylanilin	453	400-550	32
Eclipse	fenyldiazenylanilin	522	390-625	53
BHQ®-1	difenyldiazen	543	480-580	34
BHQ®-2	difenyldiazen	544	520-650	91
BHQ®-3	difenyldiazen	672	620-730	43
BBQ® 650	difenyldiazen	650	550-750	41
QSY-21	rhodamin	660	590-720	89

**Tab. 2. Tabulka komerčně užívaných zhášečů fluorescence.** Použito z online zdrojů: Eurofins Genomic<sup>247</sup> a ATDBio<sup>248</sup>.

Strukturálně se jedná o deriváty azobenzenů a analogy fluoresceinu. Mezi komerčně nejvíce užívané quencherly se řadí především difenyldiazenové deriváty se souhrnným označením Black Hole Quenchers® (BHQ®-2<sup>249</sup>, BHQ®-3<sup>250</sup>) a BlackBerry® (BBQ-650)<sup>251</sup>. Dosahují absorpčních maxim v rozmezí 478-672 nm, ale quencherly absorbující při vyšších vlnových délkách (např. BHQ®-3) mají nižší chemickou stabilitu při podmínkách syntézy v DNA/RNA syntetizéru. Omezené použití v důsledku snížené stability má i další užívaný zhášeč QSY®-21<sup>252</sup>. Jedná se derivát rhodaminu s vysokým extinkčním koeficientem a nízkým „photobleachingem“, u kterého je N,N'-diaryl- substitucí potlačena fluorescence.

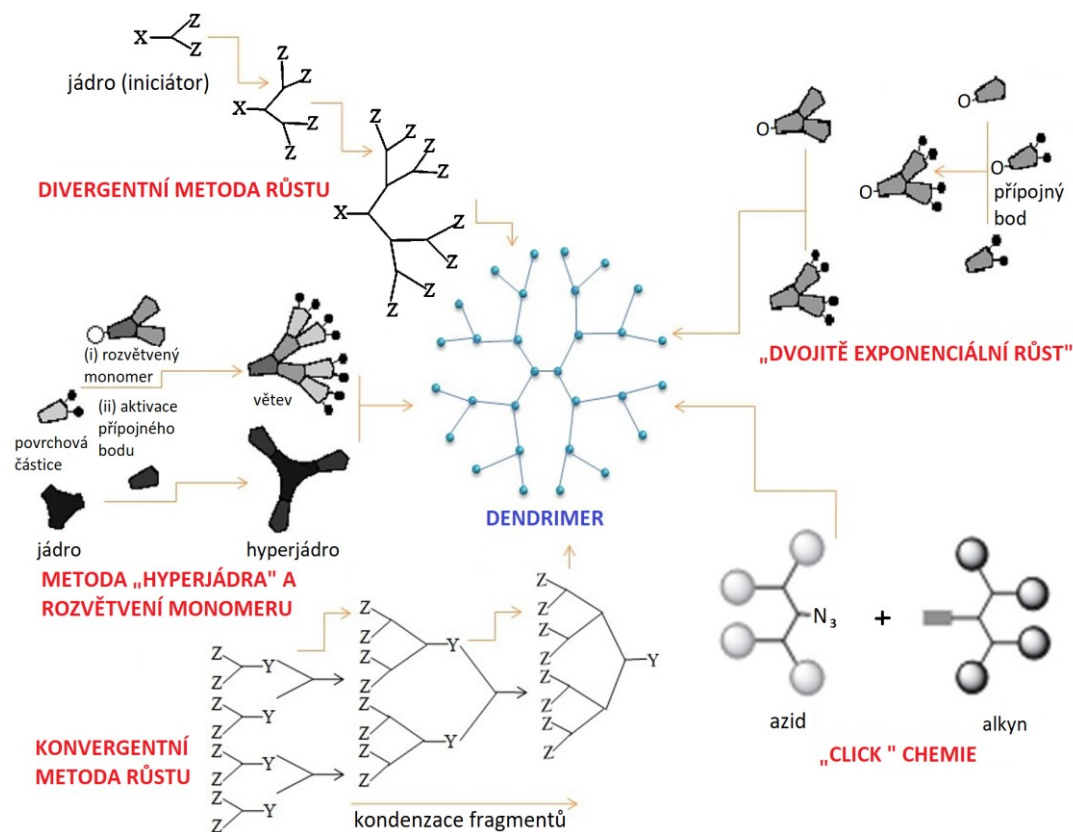
Barvivo	Strukturální základ	Absorpce $\lambda_{\max}$ [nm]	Emise $\lambda_{\max}$ [nm]	$\epsilon_{\max} \times 10^3$ [cm <sup>-1</sup> dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> ]
FAM®	fluorescein	494	518	68
TET®	fluorescein	521	536	99
HEX®	fluorescein	535	556	98
JOE®	fluorescein	520	548	75
TAMRA®	rhodamin	555	580	65
ROX®	rhodamin	575	602	82
Alexa Fluor® 488	rhodamin	492	517	65
Alexa Fluor® 750	rhodamin	753	775	240
Texas Red®	rhodamin	595	615	80
Bodipy® 630/650	diazaindacen	625	640	101
Cy3®	indocyanin	550	564	136
Cy5®	indocyanin	648	668	250
Cy5.5®	indocyanin	685	706	209
Tye® 665	-	645	665	294
WellRED D4	cyanin	650	670	203
Dy 750	-	747	776	270

**Tab. 3. Tabulka komerčně užívaných fluorescenčních barviv.** Poslední tři zástupci vzhledem k patentové ochraně nemají uvedenou přesnou strukturu. Použito z online zdrojů: Integrated DNA Technologies<sup>253</sup>, Eurofins Genomic<sup>254</sup> a ATDBio<sup>255</sup>.

Nejčastěji používaná fluorescenční barviva jsou shrnuta v **Tab. 3.** společně s jejich fotofyzikálními parametry.

### 3.6. Poly (amidoaminové) dendrimery

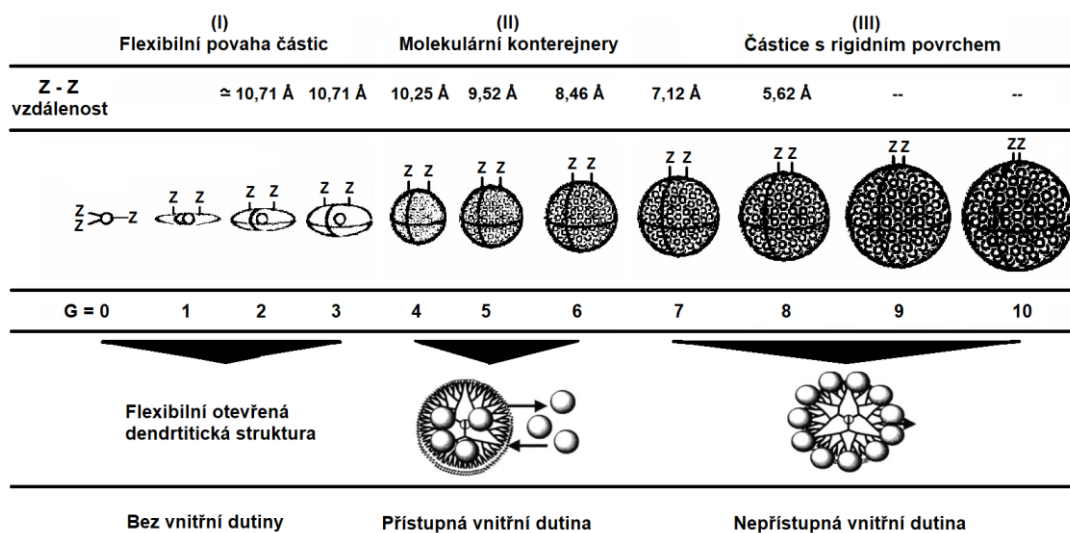
Dendrimery jsou symetrické, vysoce rozvětvené polymery s kompaktním sférickým uspořádáním (průměr v rozmezí 1,1 nm pro první generaci PAMAM až 9 nm pro osmou generaci PAMAM dendrimerů)<sup>256</sup>. Obvykle se syntetizují z centrálního polyfunkčního jádra opakovaným přidáním monomerů. Jádro je charakterizováno řadou funkčních skupin. Přidání monomerů ke každé funkční skupině vede k další generaci dendrimerů a k expresi koncových skupin pro další reakci<sup>257</sup>. Velikost dendrimeru se zvyšuje s rostoucím počtem generací. Ve fázi, kdy dosáhne své maximální velikosti, je těsně zabalen a vypadá jako míč. Pro syntézu dendrimerů se používají různorodé metody<sup>258</sup>. Popsány byly klasické postupy přípravy tzv. rozbíhavá (divergentní) a sbíhavá (konvergentní) metoda. Kromě toho se používají i další přístupy jako je růst „hyperjádra“, rozvětvení monomerů, dvojité exponenciální růst nebo pomocí „lego“ či „click“ chemie<sup>259</sup> (**Obr. 27.**)



**Obr. 27.** Metody syntézy dendrimerů. Upraveno ze zdroje<sup>259</sup>.

Dendrimery naftalimidu na bázi poly(amidoaminu) (PAMAM) představují první kompletní dendrimerní skupinu, která byla připravena, charakterizována a komercializována. Na základě rozsáhlých vědeckých výzkumů jsou uznávány jako jedinečná nová třída syntetických nanostruktur<sup>260</sup>.

Dendrimery obsahují vnitřní jádro obklopené soustřednými vrstvami tzv. generacemi dendrimery (G1-G10; **Obr. 28.**). Jedná se o vysoce monodisperzní systém, jehož hydrofilní povrch a hydrofobní jádro umožňuje transport ve vodě špatně rozpustných léčiv. Dendrimery jsou strukturně blízké organizaci supramolekulárních micel, ale na rozdíl od nich nemají nabitý vnitřní prostor. Mohou tedy vykazovat podobné vlastnosti jako micely a stabilizovat látky uvnitř neutrálního prostředí s využitím nevazebných interakcí.



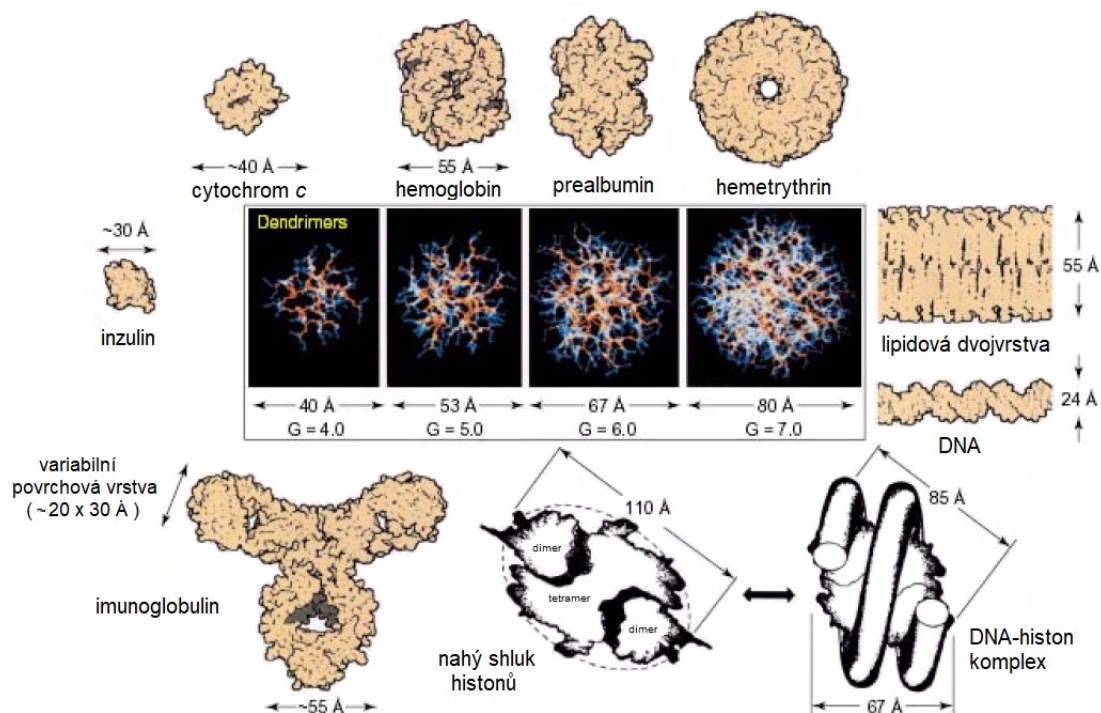
**Obr. 28.** Relativní velikosti a povrchové hustoty PAMAM dendrimerů. Nejvhodnější velikostní rozmezí nanočástic s přístupnou centrální dutinou představují dendrimery 4. až 6. generace. Upraveno ze zdroje<sup>260</sup>.

Výhodou dendrimerů je, že mohou být syntetizovány a navrženy pro specifické aplikace. Jsou tak ideálními systémy pro cílené podání léků a můžeme je přirovnat k vysoce organizovaným biomolekulám typu DNA nebo proteinů. Jejich architektonické uspořádání si zachovává požadované vlastnosti a schopnosti biologického prostředí, jako jsou: velikost, tvar, topologii, flexibilitu či povrchové vlastnosti makromolekul<sup>261</sup> (**Obr. 29.**). Ve vodě rozpustné fluorescenční dendritické molekuly nalézají uplatnění v biologických aplikacích včetně vizualizace a diagnostického zobrazování<sup>262</sup>.

Divergentní syntéza PAMAM dendrimerů probíhá střídáním Michaelovy adice methyl-akrylátu na příslušný diamín a následnou aminolýzou takto vzniklých esterů lze získat dendrimery až do G10 generace (**Schéma 1.**). Každou další generací dendrimery narůstá molekulová hmotnost, velikost a počet funkčních skupin na povrchu dendrimery. U této divergentní syntézy umožňují větvičí segmenty zdvojení popř. ztrojení funkčních skupin na povrchu vznikající generace. Počet funkčních skupin pak narůstá příslušnou geometrickou řadou v závislosti na generaci. Takto lze velmi záhy dosáhnout



dendrimerů čítajících stovky funkčních skupin na povrchu dendrimery. Komerčně dostupné PAMAM dendrimery generace G7,5 poskytují 1024 povrchových karboxylových funkcí. Při zvyšující se molekulové hmotnosti dendrimerů narůstá i jejich vnitřní viskozita, která dosahuje maxima ve čtvrté generaci a poté začíná klesat. Vyšší generace dendrimerů tvoří nanočástice složené z rozvětvených makromolekul s přesně definovanou strukturou, které vykazují hemolytické účinky.



**Obr. 29.** Porovnání série PAMAM dendrimerů ( $\text{NH}_3$  jádro, generace (G) 4-7) s různými bílkovinami, lipidovou membránou a DNA, které ukazují podobné rozměry a tvar PAMAM dendrimerů s důležitými proteiny a biologickými strukturami. Upraveno ze zdroje<sup>261</sup>.

Vzhledem k silné fluorescenci a dobré fotostabilitě se používají deriváty 1,8-naftalimidu jako fluorescenční markery v biologii<sup>263</sup>, diody emitující světlo<sup>264</sup>, senzory pro fotoindukovaný přenosu elektronů<sup>265</sup>, fluorescenční detekční sensory<sup>266</sup> a foto-chemoterapeutické inhibitory<sup>267</sup>. A v neposlední řadě byla testována řada derivátů 1,8-naftalimidu a 7H-benz[d,e]benzimidazo[2,1-a]isochinolin-7-onu (BBIQ) kvůli svým fluorescenčním vlastnostem pro použití jako fluorofory<sup>308,305,268</sup>.

PAMAM dendrimery představují první připravené dendrimery vyšší generace a jednu z nejvíce prostudovaných skupin dendrimerů<sup>269</sup>. Jsou považovány za jedny z nejlepších možných nosičů léků díky své vysoké biologické kompatibilitě. PAMAM dendrimery jsou vysoce hydrofilní, mohou napodobovat globulární proteiny<sup>269</sup>, jsou snadno transportovány přes epiteliální bariéru střeva<sup>270,271</sup> inhibují vazbu mezi proteiny<sup>272</sup> a mohou být synteticky

modifikovány tak, aby obsahovaly fluorescenční jednotky v jejich jádře nebo na periferii.

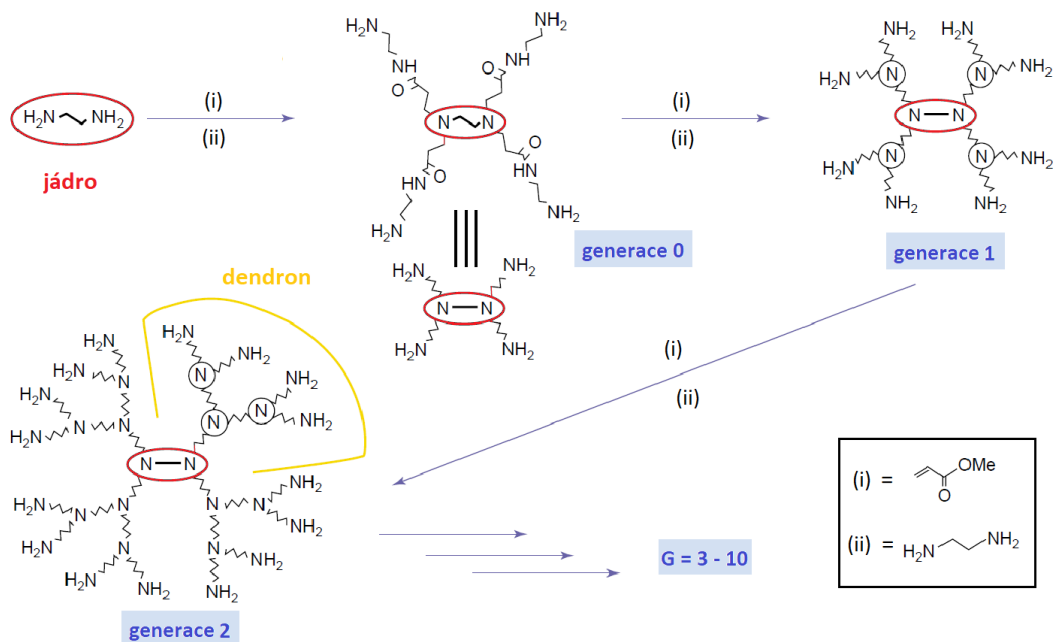


Schéma 1. Příprava PAMAM dendrimerů

## 4. Cíl práce

V našem předešlém výzkumu zaměřeném na vztahy mezi strukturou a fotofyzikálními vlastnostmi bylo zjištěno, že u derivátů TPyzPz již přítomností dvou periferně vázaných diethylaminových skupin klesá fluorescence a produkce singletového kyslíku k nulovým hodnotám. Kvantové výtěžky obou zmíněných veličin nebyly zatím u podobně substituovaných zástupců Pc změřeny a potvrzeny. Cílem práce bylo připravit nesymetrické tetrapyrazinoporfyraziny a tribenzopyrazinoporfyraziny s odlišnými periferními substituenty nesoucí volnou karboxylovou skupinu, která může být snadno navázána na pevnou fázi oligonukleotidových sond pro aplikaci jako zhášedce fluorescence. Porovnat jejich fotofyzikální a fotochemické parametry se strukturálně podobnými TPyzPz nebo Pc a zároveň zhodnotit účinek diethylaminových skupin na intramolekulární přenos náboje a jeho ovlivnění kvantových výtěžků fluorescence a singletového kyslíku.

V další části jsem se zaměřila na nový strukturální typ aza-analogů Pc-tetrapyridoporfyraziny, které nebyly dosud v naší skupině studovány. Navíc, dosud nebyla publikována ve vědecké literatuře žádná práce popisující deriváty TPydPz substituované přímo na pyridinovém kruhu složitějšími alkyly nebo přes heteroatom. Cílem tak bylo vyvinout metodu syntézy heteroatom-substituovaných TPydPz, která by mohla být aplikovatelná pro pokračující výzkum těchto sloučenin. U připravených látek stanovit jejich fotofyzikální vlastnosti a porovnat s dosud publikovanými výsledky.

Posledním cílem bylo nalézt vhodný postup a metodu stanovení fluorescenční aktivity ve vodě rozpustných dendritických molekul na bázi poly(amidoaminu). Popsat její účinek na generaci dendritické struktury a ovlivnění intramolekulárním zhášením prostřednictvím PET při širokém rozmezí pH hodnot.

## 5. Výsledky a diskuze

V rámci této práce byly studovány vybrané skupiny látek z pohledu jejich syntézy a fotofyzikálních vlastností. Tato kapitola je rozdělena na dvě hlavní témata. Majoritní část se zabývá makrocyclickými komplexy ze skupiny azaftalocyaninů, na nichž jsem pracovala již v rámci své diplomové práce, pokračovala během studia doktorského a je detailně studována v naší výzkumné skupině. Jsou zde komentovány postupy syntetických prací nesymetrických pyrazinoporfyrinů a tetrapyrinoporfyrinů a hodnoceny vztahy mezi jejich strukturou a účinkem z hlediska spektrálních a fotofyzikálních parametrů. Druhá část se zabývá fluorescenčními látkami ze skupiny poly(amidoaminových) dendrimerů, které jsem během své zahraniční stáže ve výzkumné skupině profesora Neila McKeown na cardiffské univerzitě zkoumala z pohledu jejich fluorescenční aktivity.

Pro přehlednost v následujícím textu jsou publikace týkající se studované tematiky označeny a citovány jako [P1] - [P4] Jedná se o recenzované články v impaktovaných časopisech, u nichž jsem uvedena jako první autor nebo spoluautor, a jejich kopie jsou uvedeny v příloze v kapitole Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.. Kromě zmíněných prací jsem spoluautorem ještě další publikace<sup>273</sup>, která je zde citována společně s ostatními odkazy na původní literaturu. Práce [P1] vychází ze syntetických výsledků mé diplomové práce a je zde zmíněna pro uvedení dalších částí v kapitole 4.1. do souvislostí. Práce [P1] není podkladem pro mou disertační práci.

### 5.1. Vliv intramolekulárního přenosu náboje na fotofyzikální vlastnosti ftalocyaninových analogů

Jak bylo popsáno v teoretickém úvodu, významný vliv na fotofyzikální a fotochemické vlastnosti Pc, v studované problematice především na fluorescenci a produkci singletového kyslíku, má zejména povaha centrálního chelatovaného kovu a periferních substituentů. Z pohledu chemické modifikace představují nejjednodušší způsob ovlivnění účinnosti elektronových přechodů Pc a jim příbuzných struktur. V rámci naší výzkumné skupiny byly publikovány práce, které srovnávají vliv periferního heteroatomu (přes který se váží substituenty) na výše zmíněné vlastnosti<sup>273</sup>. Studována byla široká skupina sloučenin především derivátů alkylsulfanyl-, alkyl/aryloxy- nebo alkylamino- Pc a TPyzPz<sup>274</sup>. Poslední jmenovaná skupina vykazovala, na rozdíl od ostatních, prakticky nulové kvantové výtěžky fluorescence a singletového kyslíku, což tyto

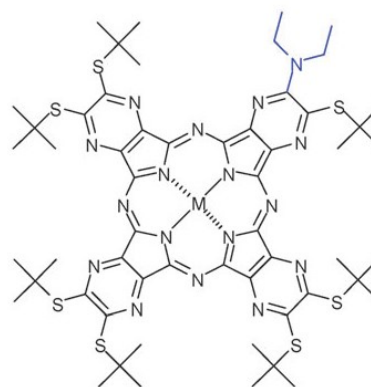
látky vylučuje pro uplatnění v PDT. Využit lze jejich opačný účinek, neboť aminy představují výborné zhášedce singletových a tripletových excitovaných stavů a díky vysoké citlivosti a univerzálnosti na široké spektrum fluoroforů jsou alkylaminoderiváty TPyzPz zkoumány jako zhášedce fluorescence pro aplikaci na molekulárních sondách (viz **kap. 3.5.3.**). Práce na této tématice byla naší skupinou popsána v několika publikacích<sup>275,241</sup> a je součástí uděleného patentu<sup>276</sup>.

Na počátku stála práce na vybrané skupině tetrapyrazinoporfyrazinů, kterou jsem studovala již v rámci své diplomové práce<sup>277</sup> a byla podkladem publikaci **[P1]**, kde jsem uvedena jako spoluautor.

Přenos náboje byl poprvé v naší pracovní skupině pozorován při studiu agregačních vlastností u látek nesoucích na periferní části makrocyklu TPyzPz funkční diethylaminoethylsulfanylovou skupinu<sup>278</sup>. Bylo zjištěno, že kvantové výtěžky fluorescence a singletového kyslíku se s rostoucím počtem aminoskupin snižovaly. Efekt byl přisuzován fotoindukovanému přenosu elektronů (PET), který způsobuje zhášení excitovaných stavů. V případě této studované skupiny látek vystupoval jako donor volný elektronový pár periferního dusíku a jako akceptor TPyzPz jádro.

V případě, že by diethylaminoskupina byla přímo napojena na TPyzPz cyklus, docházelo by k ICT, který je obecně účinnější ve zhášení excitovaných stavů. Pro potvrzení procesu ICT a studium účinnosti zhášení excitovaných stavů v závislosti na počtu donorových skupin byla připravena série TPyzPz nesoucích na periférii 0, 1, 2, 4, 6 nebo 8 donorových *N,N*-diethylaminových skupin (viz publikace **[P1]**). Z naměřených kvantových výtěžků  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  bylo zjištěno, že již jedno donorové centrum pro ICT (sloučenina uvedena na **Obr. 30.**) je zodpovědné za výrazný pokles fluorescence a produkce singletového kyslíku ( $\Phi_F=0,0025$  a  $\Phi_\Delta=0,13$ ; oproti sloučenině bez donorových center nepodporující ICT:  $\Phi_F=0,31$  a  $\Phi_\Delta=0,66$  či TPyzPz se dvěma donorovými centry:  $\Phi_F=0,0011$  a  $\Phi_\Delta=0,01$ , měřeno v pyridinu).

Dále byla účinnost ICT zkoumána v rozpouštědlech o různé polaritě<sup>279</sup>, kde bylo ověřeno, že polární rozpouštědla usnadňují ICT, zatímco nepolární naopak. U sloučenin bez donorových skupin, nedošlo vlivem rozpouštědla s vyšší polaritou k ovlivnění kvantových výtěžků  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$ , což potvrdilo předpoklad, že u těchto

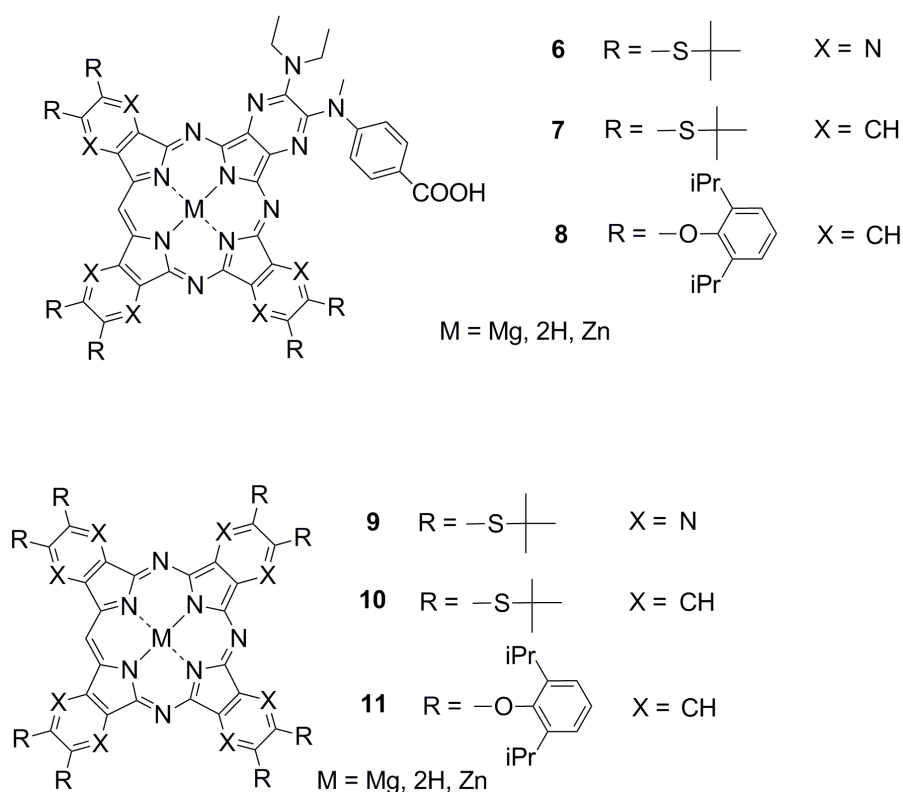


M = 2H, Mg, Zn

**Obr. 30.** Struktura vybraného TPyzPz z **[P1]**

TPyzPz ICT neprobíhá. Protonizace *N,N*-diethylaminových skupin sloučeniny uvedené na **Obr. 30**. prováděné titrací kyselinou sírovou vedla k výraznému nárůstu fluorescence (až na 15ti násobek původní hodnoty). Volný elektronový pár dusíku byl protonizací zablokován, což zamezilo ICT a umožnilo přechodu molekuly do základního stavu  $S_0$ . Přenos elektronů v procesu ICT u studované skupiny látek byl také potvrzen pomocí cyklické voltametrie při časově rozlišených fluorescenčních měřeních a experimenty umožňující sledovat oxido-redukční stavy molekul.

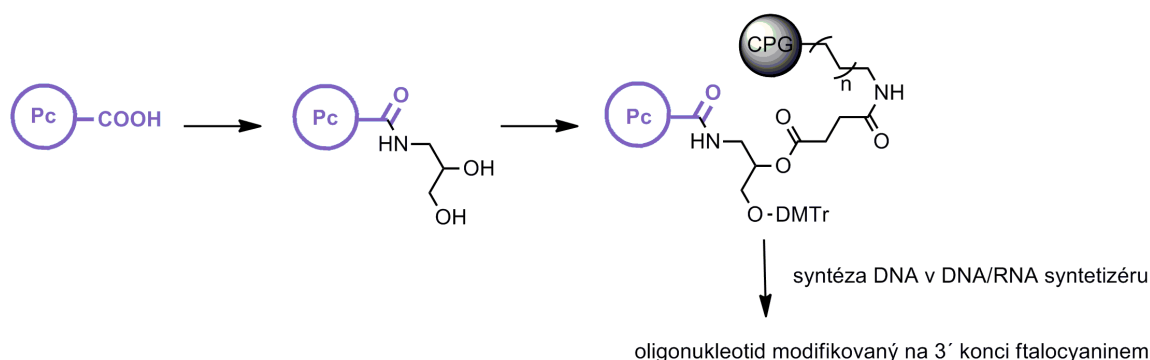
V práci **P1** bylo potvrzeno zhášení excitovaných stavů u vybrané skupiny TPyzPz. Předpokládali jsme, že ICT bude probíhat podobným mechanismem i u látek strukturně bližších Pc. Bylo potřeba odhalit, jakou bude mít účinnost a zda lze připravit vhodné zástupce pro aplikaci na molekulární sondy. Byla navržena série nesymetrických tetrapyrazinoporfyrazinů a tribenzopyrazinoporfyrazinů nesoucí dva dialkylaminové substituenty jako donory pro ICT a šest objemných alkylsulfanylových nebo aryloxy substituentů zajišťující dostatečnou inhibici agregace rovinného makrocyklu TPyzPz či Pc v roztoku<sup>280</sup> (**Schéma 2**).



**Schéma 2.** Struktury sloučenin **6 – 11** studované v [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.].

Jedna z dialkylaminových skupin byla modifikována jako funkční derivát karboxylové kyseliny, jejíž volná karboxylová skupina může být snadno

navázána na pevnou fázi při syntéze oligonukleotidových sond<sup>275</sup> (**Schéma 3**). Přítomnost jedné karboxylové skupiny umožňuje kontrolovat modifikaci a zamezuje tvorbě více oligonukleotidových řetězců na jedné molekule TPyzPz. V rámci této práce byly připraveny hořečnaté, bezkovové a zinečnaté makrocykly tvořené čtyřmi pyrazinovými kruhy (látka **6**) a porfyrizinové deriváty, které byly fúzovány třemi benzenovými a jedním pyrazinovým kruhem (**7** a **8**). Sloučeniny **6** a **7** obsahovaly stejné substituenty a lišily se pouze v makrocyclickém jádru. Tato série umožnila srovnání mezi typy makrocyklů bez



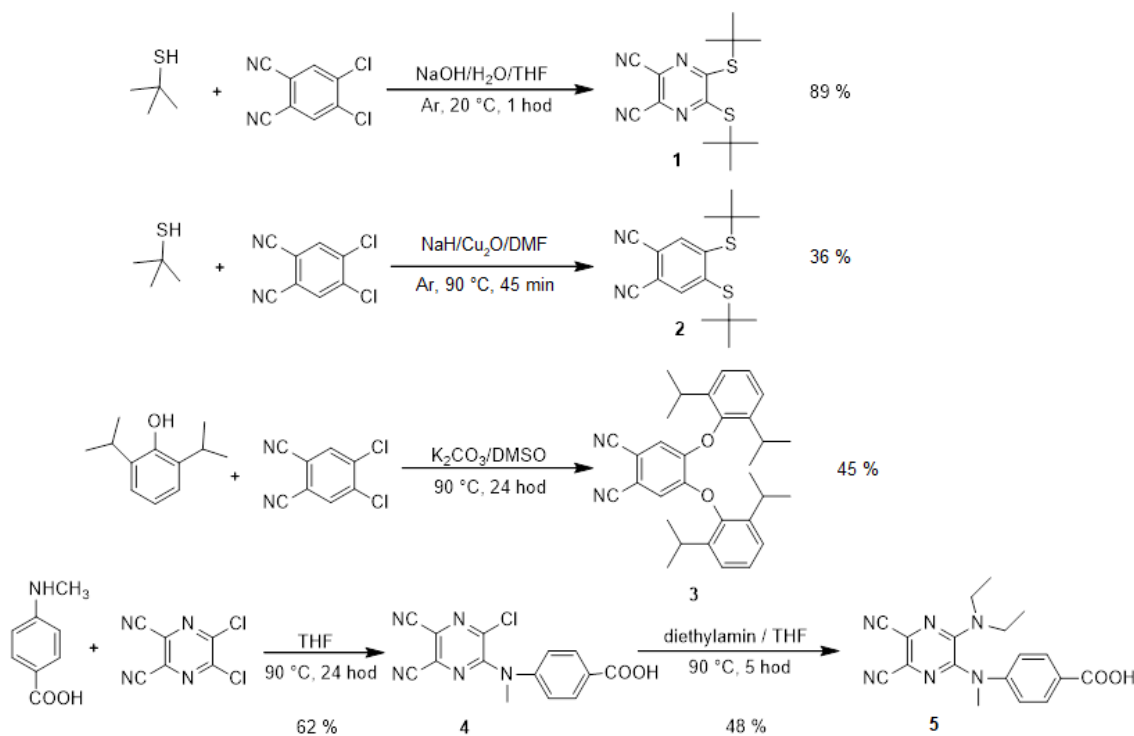
**Schéma 3. Modifikace ftalocyaninu na pevnou fázi.** Karboxylová skupina ftalocyaninu je převedena na amid nesoucí primární a sekundární hydroxylovou skupinu. Primární hydroxylová skupina je blokována dimethoxytrylem (DMTr), který je v kyselém prostředí labilní, a po jeho odštěpení probíhá na volné hydroxylové skupině syntéza oligonukleotidu. Sekundární hydroxylová skupina je esterifikována sukcinanhydridem, esterová vazba je labilní v deprotečním roztoku a umožňuje odštěpení finálního produktu z pevné fáze tvořené dlouhým alifatickým alkylovým řetězcem s kontrolovanou velikostí pórů (CPG).

vlivu periferní substituce (sloučeniny **6** a **7**) a mezi periferními substituenty bez vlivu makrocyclického kruhu (**7** a **8**). Symetrické sloučeniny (**8-10**) bez donorového centra byly použity jako negativní kontroly, které nepodporují ICT.

Příprava prekurzorů vycházela z 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (u látek **1** a **4**) a 4,5-dichlorftalonitrilu (**2** a **3**) za podmínek uvedených na **Schéma 4**. Nukleofilní substitucí byly chlory nahrazeny postranními řetězci navázanými přes atomy -O-, -S nebo -N. Při syntéze látky **2** byla reakce prováděna pod argonovou atmosférou v bezvodém prostředí, což zvýšilo výtěžek na 36% (dle literatury 25%<sup>281</sup>). Zároveň byl produkt důkladněji přečištěn (extrakcí do ethylacetátu, použitím vhodnějšího eluentu při sloupcové chromatografii), a tím se zvýšila čistota produktu (teplota tání 157,7-158,1 °C, dle literatury 150-152 °C<sup>281</sup>). Syntéza látky **3** nesoucí objemné aryloxy- substituenty byla modifikována z přípravy podobné sloučeniny<sup>348</sup>. Nejprve byl po potvrzení NMR analýzou získán pouze monosubstituovaný produkt. Úpravou reakčních podmínek (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> přidáván postupně v intervalu 5 minut, prodloužení reakční doby) byl připraven produkt **3** ve 45% výtěžku.

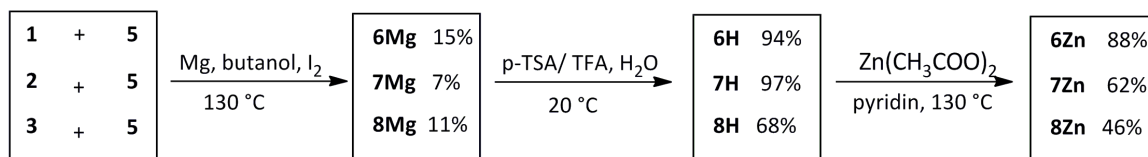
Syntéza finálních Pc a TPyzPz byla provedena metodou smíšené cyklotetramerizace (tzv. statistickou kondenzací). Jedná se o nejjednodušší

postup přípravy a izolace nesymetrických Pc a TPyzPz typu AAAB, při které byl získán **5Mg** - **7Mg** v přiměřených výtěžcích 7 až 15 % (**Schéma 5.**). Pro zvýšení množství kongeneru AAAB ve statistické směsi, byl poměr výchozích látek 3: 1 (A: B) a prekurzor A byl kvůli nižší reaktivitě sloučeniny **5** přidán ve třech částech.



**Schéma 4.** Příprava prekurzorů **1 – 5.**

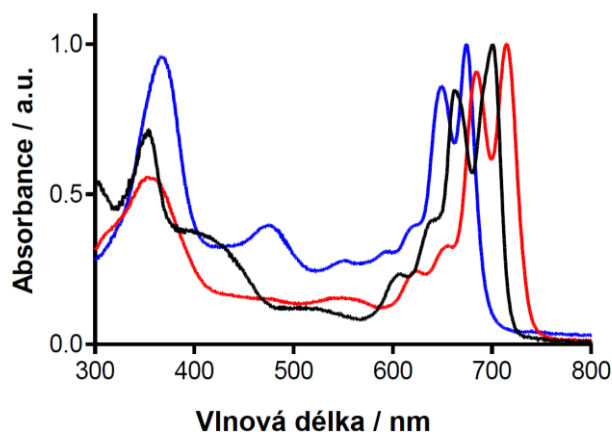
Při práci se sloučeninami **7**, a ještě výrazněji u látky **8**, bylo nutné věnovat zvýšenou pozornost expozici světlu. Tyto látky se na světle rychle rozkládají, proto byly během reakcí i čištění chráněny hliníkovou fólií. Horší rozpustnost bezkovového derivátu **8H** znesnadňovala čištění a vedla k nižšímu výtěžku (68 %) oproti ostatním připravovaným bezkovovým komplexům. Postupy přípravy a analytická data nových sloučenin jsou uvedeny v samostatné kapitole **8**.



**Schéma 5.** Příprava finálních makrocyclů **6 – 8.**



Absorpční spektra vykazovala přítomnost vysokoenergetického B-pásu v oblasti 350-390 nm a nízkoenergetického Q-pásu při 650-695 nm s jasně označenými vibračními pásy. Obecně platí, že nesymetrické makrocykly s různými isoindolovými jednotkami jsou



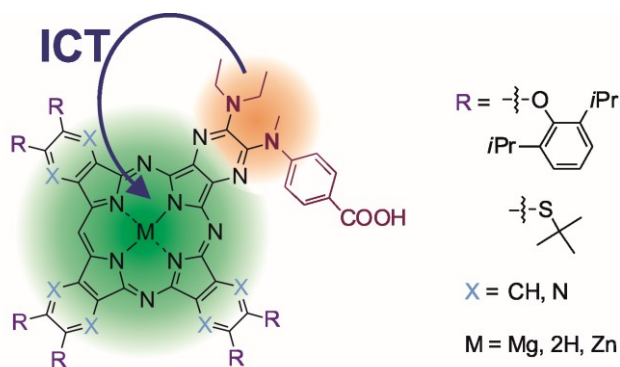
Obr. 31. Normalizovaná absorpční spektra **6H** (modré), **7H** (červené) a **8H** (černé) v THF.

charakterizovány rozštěpeným Q-pásem (zřetelné např. u sloučeniny

**8**). U bezkovových derivátů **6H** - **8H** je navíc symetrie snížena přítomností centrálních vodíků, která vede k rozdělení Q- pásu na  $Q_x$ - a  $Q_y$ - (**Obr. 31**). Náhrazením tří pyrazinových kruhů v makrocyklu TPyzPz za benzenové dochází k posunu absorpce do vyšších vlnových délek téměř o 35 nm (srovnáme-li sloučeniny **6** a **7**), zatímco změna centrálního kovu vede k rozdílu v posunu pouze minimálním. Pozorován byl vliv periferních substituentů na absorpci, který dokazuje bathochromní posun alkylsulfanylového derivátu **7** oproti aryloxy- derivátu **8** přibližně o 10 nm.

Potvrzení účinnosti ICT (**Obr. 32**.) vycházelo z jednoduchého předpokladu, že pokud v molekule dochází k přenosu náboje, jsou excitované stavy účinně zhašeny a naměřené kvantové výtěžky  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  by měly být nízké. Naopak pokud se v molekule donorové centrum nenachází, energie z excitovaných stavů může být použita na fluorescenci či produkci singletového kyslíku. Z tohoto hlediska byla připravena skupina kontrolních látek **9-11**, která dosahuje vysokých hodnot kvantových výtěžků, aby byla dostatečně prověřena účinnost ICT.

Kvantové výtěžky fluorescence a singletového kyslíku byly měřeny pouze u kovových komplexů. Bezkovové Pc jsou obecně charakterizovány nízkou fluorescencí a kvantovým výtěžkem singletového kyslíku<sup>273</sup>. To může být způsobeno rozdílnou molekulární symetrií<sup>28</sup> nebo zvýšeným vibračním a rotačním



Obr. 32. Princip ICT na studované skupině látek

pohybem, které vedou k deaktivaci excitovaných stavů odlišnou fotorelaxační cestou, a proto nejsou tyto deriváty vhodné pro srovnání účinnosti ICT. Údaje získané pro sloučeniny **6-8** a odpovídající symetrické deriváty bez donorového centra (**9-11**) jsou uvedeny v **Tab. 4**. Jak jsme z předešlých studií předpokládali, TPyzPz sloučeniny **6Mg** a **6Zn** dosahují velmi nízkých hodnot  $\Phi_F < 0,01$ , což dokazuje účinnost ICT. Hodnoty jsou téměř o dva řády nižší než u odpovídajících sloučenin bez donorových center (**9Mg** a **9Zn**). To potvrdilo předchozí pozorování [**P1**], že u takto substituovaných TPyzPz představuje ICT vysoce účinnou relaxační cestu excitovaných stavů. Hodnoty  $\Phi_F$  sloučenin, které jsou strukturálně bližší k Pc (**7** a **8**), byly mnohem vyšší než u TPyzPz **6**, ačkoli vycházely stále několikrát nižší než u odpovídajících derivátů bez donorového centra. Zavedení donorového centra vedlo pouze k mírnému snížení  $\Phi_F$ , což naznačuje, že ICT je u tohoto typu sloučenin mnohem méně účinným deaktivacním procesem. Výsledky jsou v souladu s pozorováním ICT u jiných Pc, kde byl po zavedení jednoho až čtyř donorových center zaznamenán pouze mírný pokles těchto fotofyzikálních hodnot<sup>282</sup>.

Sloučenina	Donorové centrum <sup>a</sup>	Q-pás $\lambda_{\max}$ [nm]	$\lambda_{em}$ [nm]	Stokesův posun [cm <sup>-1</sup> ]	$\Phi_F^b$	$\Phi_{\Delta}^b$	$\Phi_{F(N)} / \Phi_{F(D)}^c$	$\Phi_{\Delta(N)} / \Phi_{\Delta(D)}^c$
<b>6Mg</b>	D	655	660	116	0,0087	0,013	61	22
<b>6Zn</b>	D	654	662	185	0,0045	0,030	78	19
<b>7Mg</b>	D	690	698	166	0,062	0,043	3,7	5,4
<b>7Zn</b>	D	689	696	146	0,071	0,1	2,3	6,6
<b>8Mg</b>	D	680	684	86	0,35	0,23	1,5	1,1
<b>8Zn</b>	D	678	682	87	0,15	0,37	1,9	1,7
<b>9Mg<sup>d</sup></b>	N	651	658	163	0,53	0,30	-	-
<b>9Zn<sup>d</sup></b>	N	649	656	164	0,35	0,55	-	-
<b>10Mg<sup>d</sup></b>	N	699	709	202	0,23	0,23	-	-
<b>10Zn<sup>d</sup></b>	N	697	707	203	0,16	0,68	-	-
<b>11Mg<sup>d</sup></b>	N	677	681	87	0,52	0,26	-	-
<b>11Zn<sup>d</sup></b>	N	675	680	109	0,29	0,61	-	-

**Tab. 4. Fotofyzikální a fotochemická data pro studované látky 6-11 v THF.**

<sup>a</sup> D= sloučenina nese donorové centrum, N=sloučenina nemá donorové centrum

<sup>b</sup> tři nezávislá měření, odhadovaná chyba  $\pm 15\%$

<sup>c</sup> poměr  $\Phi$  sloučeniny bez donorového centra (N) ku  $\Phi$  odpovídající sloučeniny s donorovým centrem (D), příslušné dvojice: **6** a **9**, **7** a **10**, **8** a **11**

<sup>d</sup> data z referenc<sup>273</sup>

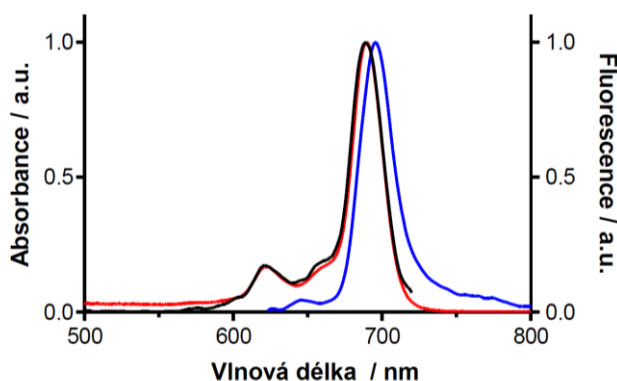
Kvantové výtěžky singletového kyslíku  $\Phi_{\Delta}$  naznačují podobné závislosti, které byly pozorovány při fluorescenci. Největší pokles produkce singletového kyslíku po začlenění dvou donorových center do molekuly byl pozorován u TPyzPz **6**, následován komplexem **7** a pouze minimální vliv ICT byl zjištěn u derivátu **8**. Získané výsledky ukázaly, že vysoká účinnost ICT může být úzce propojená s charakterem makrocyclo. Sloučeniny strukturálně bližší k Pc se zdají být pro tento deaktivacní proces méně vhodné (srovnáme-li **6** a **7**). Také

periferní substituenty, které nejsou zapojeny do ICT, mohou hrát důležitou roli (srovnáme-li **7** a **8**).

Ftalocyaninové komplexy často utvářejí v roztocích dimery nebo vyšší agregáty elektronovými interakcemi mezi makrocyclickými jádry. Získaná fotofyzikální a fotochemická data by mohla případná agregace zkreslit. U všech studovaných látek byla potvrzena přítomnost pouze monomerů překryvem excitačního a absorpčního spektra (**Obr. 33.**, ostatní látky viz SI u přílohy [**P2**]).

Vysvětlení všech pozorovaných výsledků může souviset se silnými elektron-deficitními vlastnostmi makrocyclického TPyzPz ve srovnání s Pc<sup>283</sup>. V případě námi pozorovaného deaktivčního procesu je makrocyclický komplex akceptorem, zatímco periferní aminový substituent prostřednictvím svého volného elektronového páru představuje donor elektronů.

Čím větší je nedostatek elektronů na makrocyclickém jádru, tím více lze předpokládat jejich přechod prostřednictvím ICT. To může vysvětlit rozdíly mezi sloučeninami **6** a **7**. Navíc silně elektron-donorové periferní substituenty (např. 2,6-diisopropylfenoxy- skupiny ve sloučenině **8**) mohou dále snižovat elektron-akceptorové vlastnosti makrocyclického jádra a v důsledku toho i účinnost ICT. Fotofyzikální a fotochemické parametry takových sloučenin proto zůstávají podobné příslušným analogům bez donorového centra.



**Obr. 33.** Absorpční (červené), emisní (modré) a excitační (černé) spektra látky **7Zn** v THF.  $\lambda_{exc} = 612 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 730 \text{ nm}$ .

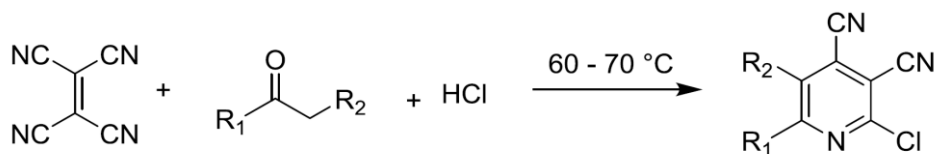
## 5.2. Heteroatom-substituované tetra(3,4-pyrido)-porfyriziny

Hlavní preferenční oblast naší výzkumné skupiny se zaměřovala na deriváty ftalocyaninů a azaftalocyaninů ze skupiny tetrapyrizinoporfyrizinů (TPyzPz). Dosud neprobádanou oblast v tomto směru představují další z aza-analogů Pc- tetrapyridinoporfyriziny (TPydPz), vzniklé izosterní záměnou benzenů u molekuly Pc za pyridinové heterocykly. Rozlišujeme dva typy TPydPz podle polohy pyridinového dusíku v makrocyclickém jádru: tetra(2,3-

pyrido)porfyriziny (2,3-TPydPz) a tetra(3,4-pyrido)porfyriziny (3,4-TPydPz), uvedeny na **Obr. 4**. Prvně zmiňované deriváty vzhledem ke svému absorpčnímu maximu vyskytujícímu se kolem 620-670 nm nevyhovují našim požadavkům, a proto byl zvolen jako makrocyclický základ struktura 3,4-TPydPz derivátu, u kterého zůstávají výhodné absorpční vlastnosti mateřské Pc struktury zachovány<sup>284,285</sup>. Zároveň 3,4-TPydPz podléhají snadněji kvarternizaci než 2,3-TPydPz<sup>286</sup>, proto je snadnější příprava ve vodě rozpustného kationtu 3,4-TPydPz<sup>287</sup>.

Překvapivě, ačkoliv byly TPydPz mezi prvními analogy Pc popsány Linsteadem a jeho kolegy<sup>288</sup> roce 1937, jejich strukturní modifikace zůstaly až doposud omezeny pouze na výměnu centrálních kationtů, axiální substituce<sup>289</sup> či kvarternizaci pyridinového dusíku<sup>290</sup>. Publikováno bylo jen velmi málo prací popisujících deriváty TPydPz substituované přímo na pyridinovém kruhu jedním alkylem<sup>22</sup>, zatímco složitější substituce nebo substituce přes heteroatom nebyly dosud zveřejněny vůbec. Jak již bylo naznačeno výše, jsou-li heteroatomy (např. O, S a N) připojeny přímo k jádru, výrazně ovlivňují spektrální i fotofyzikální vlastnosti makrocycklů Pc typu<sup>273</sup>. Rozdíl je ještě výraznější, jedná-li se o substituenty v neperiferní  $\alpha$ -pozici<sup>22,291</sup>. Naším cílem byl vývoj prvních TPydPz substituovaných v  $\alpha$ - poloze objemnými substituenty vázanými přes heteroatom, zjištění jejich vlastností a potenciálu pro použití při fotodynamické terapii. Substituenty v této práci byly zvoleny nejen pro studium vlivů různých spojovacích heteroatomů (O, S, N), ale také aby zabránily svou objemností případné agregaci TPydPz v roztoku<sup>273</sup>.

Syntéza pyridinového prekursoru **12** vycházela ze tříložkové *in situ* reakce tetrakynoethylenu s ketonem v přítomnosti katalytického množství kyseliny chlorovodíkové<sup>292</sup>. Jako keton byla zvolena sloučenina obsahující vodík na  $\alpha$ -uhlíku, tedy ethylmethylketon, aceton nebo acetofenon (**Schéma 6**).

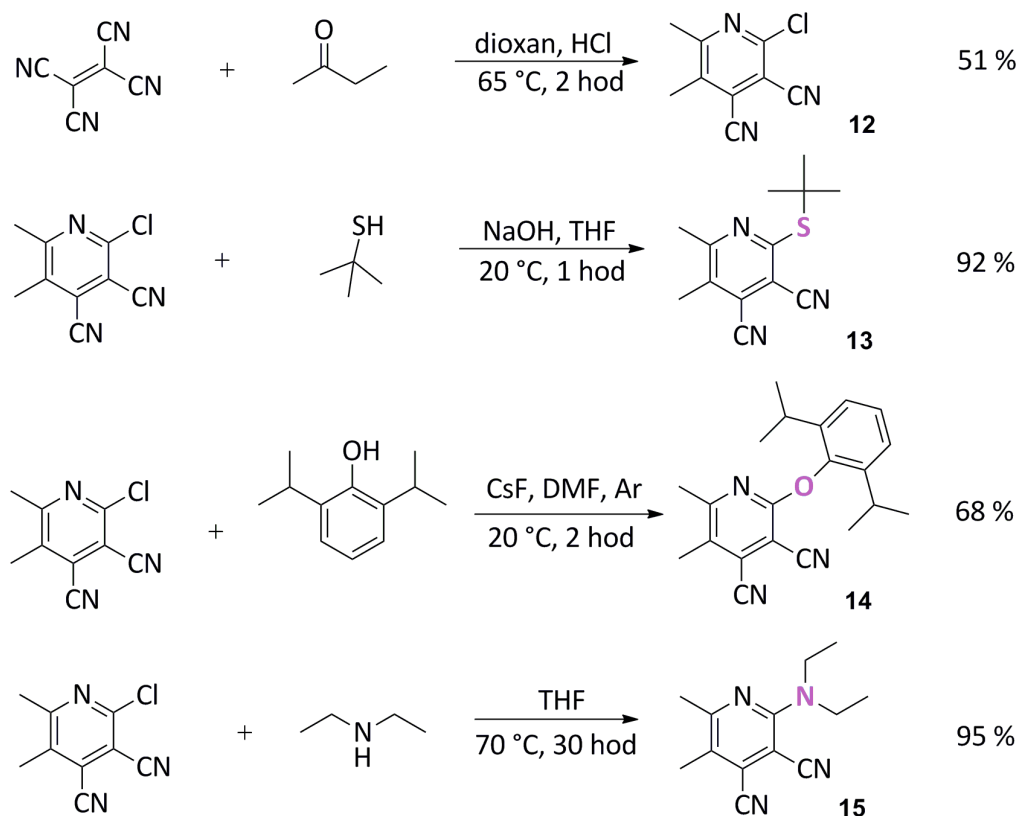


**Schéma 6.** Příprava substituovaných 2-chloropyridin-3,4-dikarbonitrilů.  
a)  $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$  (51 %), látka **12**; b)  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ; c)  $R_1 = \text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R_2 = \text{H}$ .

Reakce probíhaly v prostředí 1,4-dioxanu při teplotě 60-70 °C po dobu 2 hodin, přičemž požadovaný produkt byl získán pouze z prvně uvedeného ketonu. Při přípravě substituovaného 2-chloropyridin-3,4-dikarbonitrilu z acetonu a acetofenonu bylo při monitorování průběhu reakce na TLC zjištěno, že výchozí látky ani požadovaný produkt se již v reakci nenachází. Postup přípravy byl opakován za zvýšené teploty na 130 °C, za laboratorní teploty po dobu 24

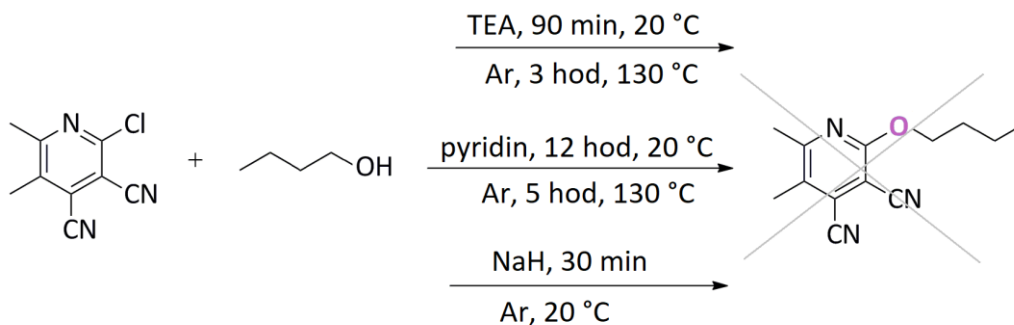
hodin nebo v případě acetonu byla syntéza prováděna pouze s tetrakynoethylenem rozpuštěným v acetonu. Výsledek reakcí po ověření pomocí TLC a NMR analýzy byl u všech negativní. Podařilo se tak připravit pouze 2-chlor-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitril (**12**) ve výtěžku 51 %.

Prekurzory **13-15** byly poměrně snadno syntetizovány nukleofilní substitucí s thiolátem, fenolátem nebo aminem se sloučeninou **12** ve vysokých výtěžcích (**Schéma 7.**). Uhlík v poloze C<sub>2</sub> je vlivem kyanoskupin, sousedního pyridinového dusíku a atomu chloru silně elektron-deficitní, a proto také dobře přístupný nukleofilu. Prekurzor **12** byl jednoduše převeden na *tert*-butylsulfanylový derivát **13** reakcí s 2-methylpropan-2-thiolem v THF za přítomnosti vodného NaOH s výtěžkem 92 % (mohou být použity i jiné báze, například K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Aryloxy-derivát **14** byl syntetizován za použití fluoridu cesného v bezvodém DMF. Odlišné pokusy využívající jiných zásad (NaOH, triethylamin, pyridin, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) nevedly k získání požadovanému produktu **14**. Nižší výtěžek této sloučeniny (68 %) oproti látkám **13** a **15** je způsoben větším vlivem sterického bránění 2,6-diisopropylfenolu. Sloučenina **15** byla připravena téměř kvantitativně reakcí **12** s přebytkem diethylaminu (výtěžek 95 %).



**Schéma 7.** Příprava prekurzorů **12-15**.

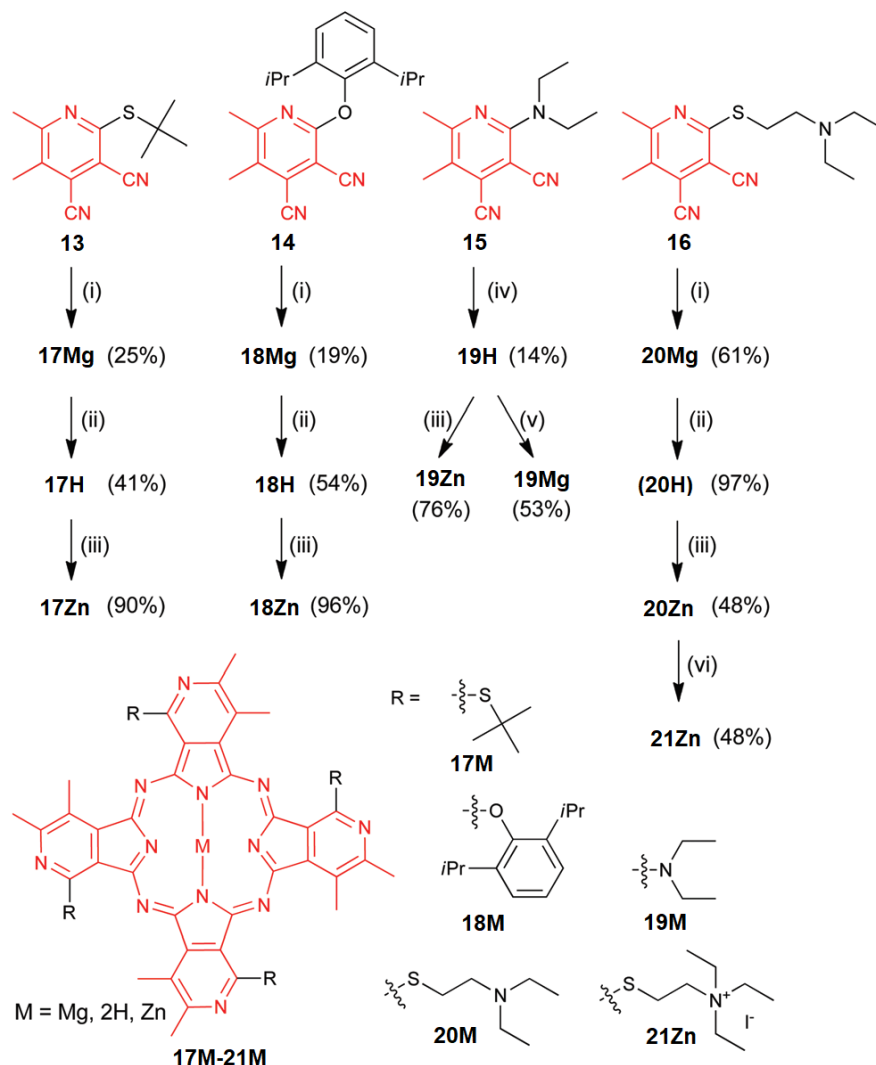
Pokusy o přípravu alkyloxy- derivátu reakcí **12** s nadbytkem butanolu v triethylaminu<sup>293</sup>, v pyridinu ani za použití hydridu sodného nevedly k získu požadovaného produktu (**Schéma 8.**). Provedenou NMR analýzou bylo zjištěno, že ve všech případech reakční směs tvořila pouze nezreagovaná výchozí látka **12**.



**Schéma 8.** Neúspěšné reakce na přípravu butoxy derivátu.

Syntéza TPydPz vycházela z příslušných pyridin-3,4-dikarbonitrilů. Testovány byly různé metody cyklotetramerizace zahříváním prekurzorů se solí kovů v chinolinu pod inertní atmosférou, s octanem zinečnatým v DMF, pyridinu nebo chinolinu nebo v tavenině s chloridem bis(chinolináto)zinečnatým, avšak žádná z nich neposkytla požadovaný produkt. Úspěšné vytvoření makrocyclického kruhu TPydPz bylo pozorováno pouze při použití alkoholátu jako iniciátoru reakce, tedy za původních podmínek popsanych Linsteadem<sup>288</sup> (**Schéma 9.**). Látka **16** ve schématu 9 a od ní odvozené TPydPz byly připraveny jinými kolegy v laboratoři.

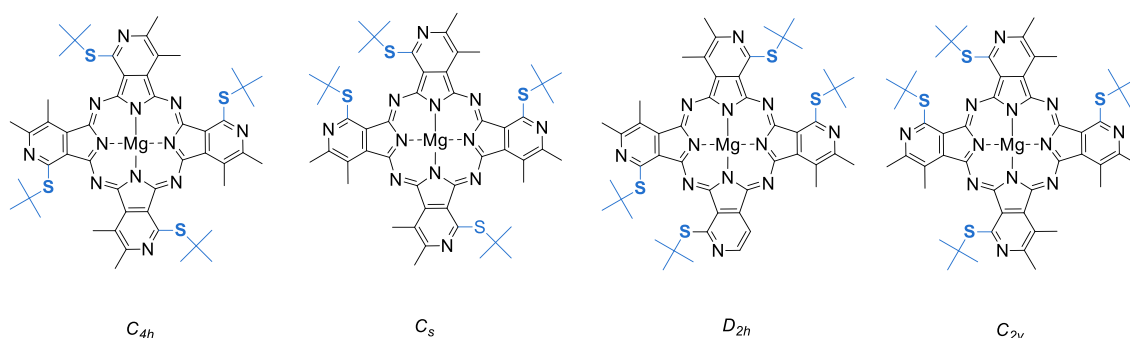
Pro cyklotetramerizaci **13** a **14** byl použit mírnější iniciátor butanolát hořečnatý, abychom vyloučily možné výměnné reakce s periferními substituenty v aryloxylových a alkylsulfanylových derivátech, které byly popsány u některých aza-analogů Pc syntetizovaných s použitím iniciátoru butanolátu lithného<sup>294</sup>. U sloučeniny **15** nebyl po reakci s butanolátem hořečnatým detekován žádný produkt, protože silně elektron-donorový diethylaminový substituent bránil průběhu cyklotetramerizace. Reakce byla provedena za použití butanolátu lithného jako iniciátoru, z které byl získán bezkovový derivát **19H**. Kovové hořečnaté **19Mg** a zinečnaté **19Zn** komplexy byly následně připraveny za použití odpovídajícího bezvodého octanu v pyridinu. Hořečnaté komplexy **17Mg** resp. **18Mg** byly poskytnuty do reakce se silnou organickou kyselinou za vzniku bezkovových TPydPz **17H** resp. **18H**, které byly převedeny na finální zinečnaté komplexy reakcí s octanem zinečnatým v pyridinu.



**Schéma 9.** Příprava látek **13 – 21**.

reakční podmínky: (i) Mg, bezvod. BuOH, 130 °C. (ii) TsOH, CHCl<sub>3</sub> nebo THF/MeOH, 20 °C. (iii) Zn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>, pyridin, 130 °C. (iv) Li, bezvod. BuOH, 130 °C. (v) Mg(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>, pyridin, 130 °C. (vi) CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>I, NMP, 20 °C.

V důsledku nesymetrických struktur výchozích dikarbonitrilů by se mohl potenciálně každý z tetra(3,4-pyrido)-porfyrasinů **17-19** vyskytovat jako čtyři polohové izomery (**Obr. 34.**). Zastoupení izomerů je teoreticky předpokládáno v poměru: 12,5 % izomerů  $D_{2h}$  a  $C_{4h}$ , 25 %  $C_{2v}$  a 50 %  $C_s$  izomeru z celkového množství všech polohových izomerů<sup>295</sup>. Pro izolaci izomerů **13Mg** a **14Mg** byly nejprve sloupcovou chromatografií odděleny frakce podle  $R_f$  hodnot. Následně byla každá z frakcí (50 mg) pomocí preparativní TLC chromatografie nanášena na 30 hliníkových desek pro každou ze sloučenin. Požadované izomery byly z desek seškrábány, přečištěny a analyzovány pomocí UV-vis spektrofotometrie, <sup>1</sup>H NMR analýzy a fluorescenčních spekter.



**Obr. 34.** Možné polohové izomery **18Mg**.

Ačkoli se podle TLC desek zdáli alespoň některé izomery izolované (**Obr. 36.**), ze získaných dat se kvůli překrývajícím spektrům jednoznačně nepodařilo jednotlivé izomery charakterizovat. Za použití HPLC bylo detekováno několik izomerů (**Tab. 5.**), ale pouze izomery derivátu **18Mg** byly identifikovány na základě jejich absorpčních spekter. Na HPLC chromatogramu byly detekovány u látky **18Mg** čtyři píky označené A ( $C_{2v}$ ), B ( $D_{2h}$ ), C ( $C_{4h}$ ) a D ( $C_s$ ) s distribucí 1%, 1,5%, 30,5% a 67%.

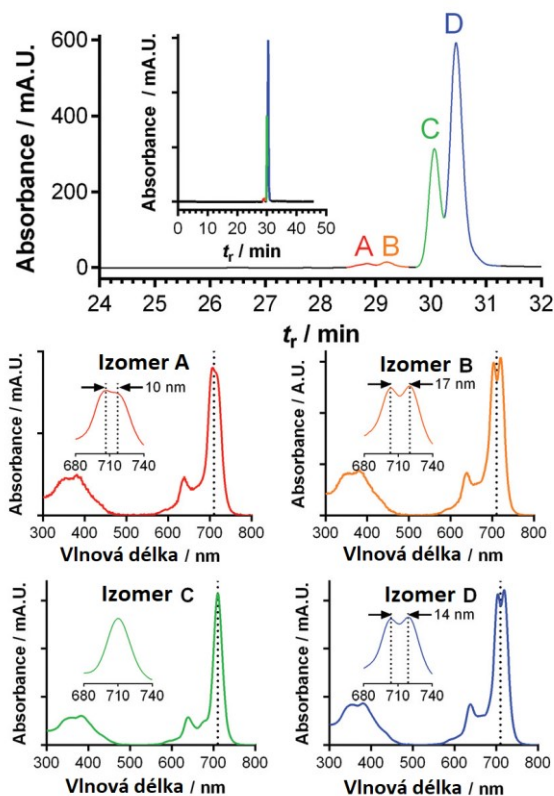
Sloučenina	Izomer A	Izomer B	Izomer C	Izomer D
<b>17Mg</b>	21,9 (61,5 %)	22,77 (38,5 %)	-	-
<b>18Mg</b>	28,8 (1 %) $C_{2v}$	29,2 (1,5 %) $D_{2h}$	30,0 (30,5 %) $C_{4h}$	30,5 (67 %) $C_s$
<b>19H</b>	26,5 (16 %)	28,5 (71 %)	29,0 (13%)	-

**Tab. 5.** Retenční časy ( $t_R$ , min) a procentuální zastoupení TPdPz izomerů.

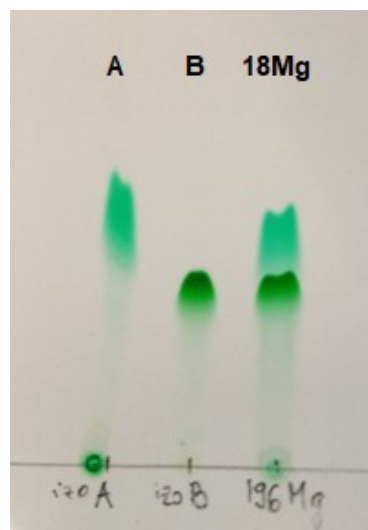
Píky byly přiřazeny různým izomerům na základě štěpení absorpčního Q-pásu, které se podstatně liší u izomerů s odlišnou symetrií doložené nedávno zveřejněnými teoretickými výpočty<sup>296</sup>. Zjevné odchylky od teoretického zastoupení izomerů lze vysvětlit významnou sterickou překážkou objemných 2,6-diisopropylfenoxy substituentů v **18Mg** (**Obr. 35.**). Pozorovali jsme téměř 2,5krát vyšší zastoupení nejméně stericky bráněného  $C_{4h}$  izomeru, zatímco nejvíce stericky bráněný izomer  $D_{2h}$  byl zastoupen pouze v 1,5%. Vedle sterického omezení mohou mít vliv na zastoupení izomerů ještě elektronové efekty, které by vysvětlovaly výrazný rozdíl v množství podobně stericky bráněných  $C_s$  a  $C_{2v}$  izomerů podobně jako bylo uvedeno v jedné z našich prací<sup>297</sup>. Vzhledem k nesymetrickému složení výchozích sloučenin **13** - **15** nemají jejich dvě kyano- skupiny stejnou elektronovou hustotu a při cyklotetramerizaci nejsou napadány nukleofilním butoxidovým aniontem rovnoměrně<sup>298</sup>. <sup>1</sup>H NMR spektra sloučeniny **18Mg** (obr. S14 SI **kap.** Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.. **[Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.]**) potvrdila



převládající zastoupení  $C_s$  izomeru ve směsi dokládající vznikem čtyř signálů zhruba stejné intenzity pro obě methylové skupiny na pyridinovém kruhu. U  $C_s$  izomeru jako jediného z polohových izomerů lze očekávat čtyři signály z každého metylu.

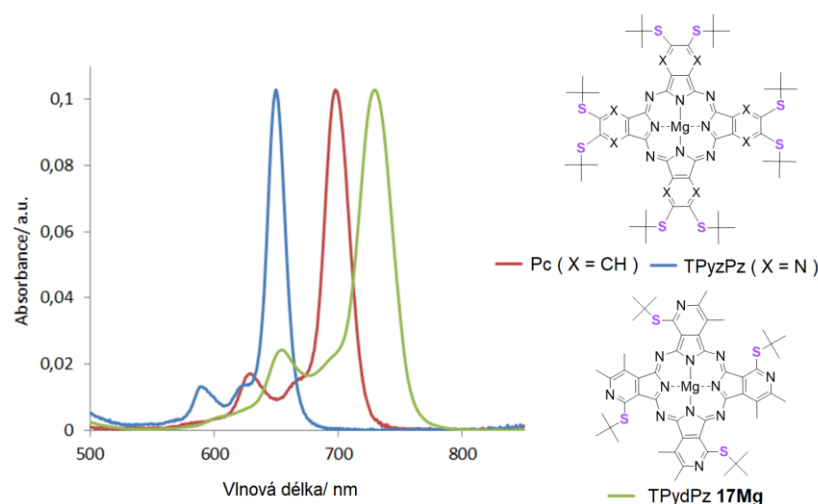


**Obr. 35.** HPLC chromatogram ( $\lambda = 710$  nm) polohových izomerů **18Mg** s vloženým celkový chromatogramem a absorpční spektra získaná z HPLC analýzy v maximech píků izomerů A–D. Detail Q-pásů je vložen ke každému izomeru.



**Obr. 36.** TLC deska s oddělenými frakcemi izomerů **18Mg**, zleva izomer A s nejvyšším  $R_f$ , izomer B a směs všech polohových izomerů (eluent toluen/chloroform/THF 10:1:0.5).

Experimentálně bylo popsáno, že u derivátů 3,4-TPydPz lze očekávat posun Q- pásu do vyšších vlnových délek oproti 2,3-TPydPz zástupcům<sup>299</sup>. Zároveň bylo potvrzeno, že Pc s periferními  $\beta$ -substituenty nacházejícími se na uhlících více vzdálených od Pc jádra se obecně objevují při nižších vlnových délkách, zatímco u makrocyclů, které mají periferní substituenty na uhlících blíže k jádru Pc ( $\alpha$ - pozice) je posunut Q-pás k červené oblasti spektra<sup>300</sup>. Tyto teoretické poznatky dávaly námi studované sérii látek vysoký potenciál pro své absorpční vlastnosti. Z výsledků bylo potvrzeno, že při porovnání makrocyclů Pc a AzaPc s podobnou periferní substitucí vykazují TPydPz nejvyšší posun absorpčních spekter do červené oblasti viditelného světla (**Obr. 37.**).



**Obr. 37.** Normalizovaná absorpčních spektra Pc a AzaPc v THF.

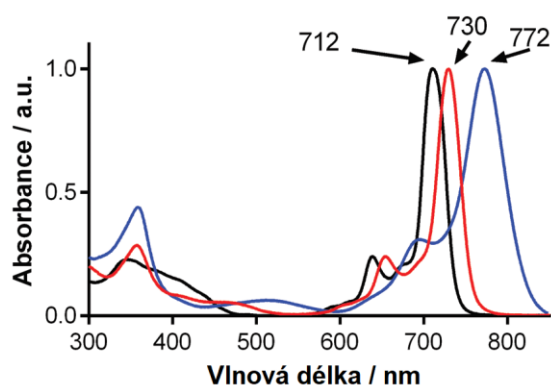
Vysokoenergetický absorpční B- pás byl u zkoumaných TPydPz derivátů pozorován v rozmezí 315-390 nm a nízkoenergetický Q- pás od 710 do 806 nm (**Tab. 6.**). Tvary absorpčních spekter TPydPz **17 - 19** jako směsi regioizomerů byly podobné ftalocyaninům i jejich aza- analogům TPyzPz.

Sloučenina	X	Q-pás $\lambda_{\max}$ [nm]	$\epsilon_{\max}$ [ $\text{cm}^{-1}\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$ ]	$\lambda_F$ [nm]	$\Delta\lambda$ [ $\text{cm}^{-1}$ ]	$\Phi_F^a$	$\Phi_\Delta^a$
<b>17Mg</b>	S	728	225 000	739	204	0,38	0,36
<b>17H<sup>b</sup></b>	S	743	-	771	489	0,11	0,1
<b>17Zn</b>	S	730	150 000	742	222	0,14	0,69
<b>18Mg</b>	O	712	193 000	721	175	0,46	0,29
<b>18H</b>	O	741	89 000	748	126	0,26	0,14
<b>18Zn</b>	O	712	126 000	724	233	0,23	0,58
<b>19Mg</b>	N	771	95 000	802	501	0,10 <sup>c</sup>	0,18
<b>19H</b>	N	806	86 000	825	286	0,02 <sup>c</sup>	0,01
<b>19Zn</b>	N	772	94 000	802	485	0,06 <sup>c</sup>	0,41
<b>21Zn<sup>d</sup></b>	S	722	207 500	735	245	0,10	0,61

**Tab. 6.** Fotofyzikální data studovaných TPydPz v THF. Uvedeny jsou spojovací heteroatom (X), absorpční maximum Q- pásu ( $\lambda_{\max}$ ), extinkční koeficient ( $\epsilon_{\max}$ ), emisní maximum ( $\lambda_F$ ), Stokesův posun ( $\Delta\lambda$ ), kvantový výtěžek fluorescence ( $\Phi_F$ ) a kvantový výtěžek singletového kyslíku ( $\Phi_\Delta$ ).

<sup>a</sup> určen za použití ZnPc jako referenční látky ( $\Phi_F$  (THF) = 0,32,  $\Phi_\Delta$  (THF) = 0,53,  $\Phi_\Delta$  (DMF) = 0,56), tři nezávislá měření, odhadovaná chyba  $\pm 15\%$ ; <sup>b</sup> snížená rozpustnost, částečně agregováno; <sup>c</sup> odhadovaná chyba  $\pm 50\%$ ; <sup>d</sup> měřeno v DMF.

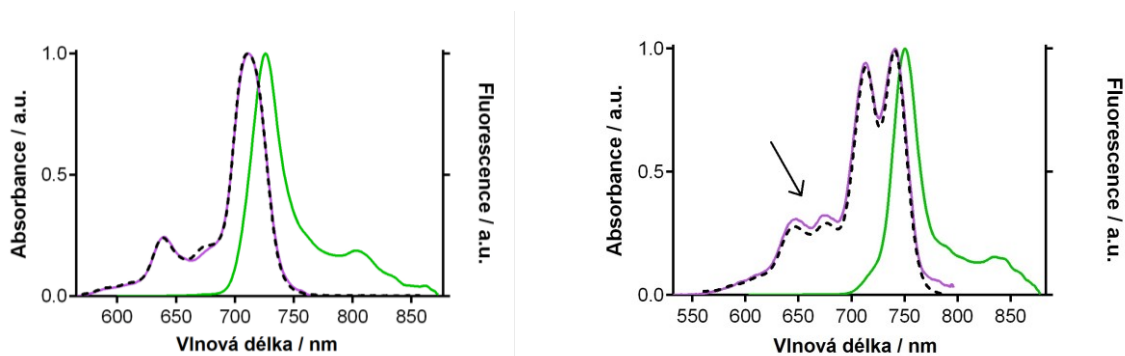
Polohy maximálních hodnot Q-pásu absorpčních spekter ( $\lambda_{\max}$ ) byly značně ovlivněny povahou heteroatomu. Srovnáme-li  $\lambda_{\max}$  s nesubstituovaným zinečnatým komplexem tetra(3,4-pyrido)porfyrzinu, který absorbuje při 676 nm (stanoveno v pyridinu)<sup>301</sup>, vyvolává přítomnost aryloxylového substituentu významný posun Q- pásu do červené oblasti o 36 nm ( $\lambda_{\max}$  **18Zn** = 712 nm). Ještě větší bathochromní posuny byly pozorovány u komplexů substituovaných alkylsulfanylovými skupinami ( $\lambda_{\max}$  **17Zn** = 730 nm) a dialkylaminovými substituenty ( $\lambda_{\max}$  **19Zn** = 772 nm). Nejvyšších absorpčních maxim dosahoval bezkovový TPYdPz komplex s dialkylaminovými substituenty ( $\lambda_{\max}$  **19H** = 806 nm), který je svými hodnotami srovnatelný s bezkovovým TPYdPz nesoucím neperiferní chalkogenové substituenty absorbujícím v blízké červené oblasti popsáným v literatuře<sup>291</sup>. Aminové substituenty indukují posun do červené oblasti zřejmě silněji než chalkogenové, což dokládá skutečnost, že čtyři dialkylaminové substituenty v **19H** zaručují stejný posun Q- pásu jako osm chalkogenových substituentů v literatuře. TPYdPz s aminovými neperiferními substituenty představují vhodnou alternativu k odpovídajícím Pc, které jsou kvůli náročné syntéze obtížně dostupné. V literatuře bylo dosud popsáno pouze několik vhodných příprav Pc s neperiferními aminovými substituenty<sup>22,302,303</sup>. Naproti tomu zkoumané TPYdPz amino- deriváty i jejich prekurzory mohou být snadno připraveny ve vysokých výtěžcích a vykazují výhodné spektrální vlastnosti.



**Obr. 38.** Normalizovaná absorpční spektra **17Zn** (červeně), **18Zn** (černě) and **19Zn** (modře) v THF.

Fluorescenční emisní spektra TPYdPz pozorovaná v této studii byla typická pro Pc a jejich analogy s malými Stokesovými posuny (obr. S35 SI kap. Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.. [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.], **Obr. 39.**, **Tab. 6.**). Excitační spektra odpovídala absorpčním spektrům, což poukazovalo na absenci agregace během měření (kromě **17H**- **Obr. 39.** vpravo). Součet  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$ , dvou nejdůležitějších fotorelaxačních cest excitovaného stavu, byl pro všechny bezkovové TPYdPz malý, bez ohledu na typ substituentu. Stejně výsledky byly pozorovány i pro bezkovové Pc a TPYZPz, které byly přičítány jiným relaxačním cestám, a dosud nebyly plně objasněny<sup>273</sup>. U dialkylaminosloučeniny **19** byl vzhledem k přítomnosti donorového centra deaktivovány excitované stavy intramolekulárním přenosem náboje (**[P2]**). Hodnoty  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  pro kovové komplexy aminoderivátu TPYdPz (**19Zn**, **19Mg**)

byly nižší než hodnoty odpovídajících alkylsulfanylových a aryloxy- derivátů TPdPz, což u sloučeniny **19** naznačuje na vliv ICT na fotofyzikální vlastnosti. Nicméně účinnost ICT byla poněkud omezená ve srovnání s (di)alkylamino-TPyzPz, u nichž je ICT hlavní fotorelaxační cestou ([Chyba! Nenalezen zdroj

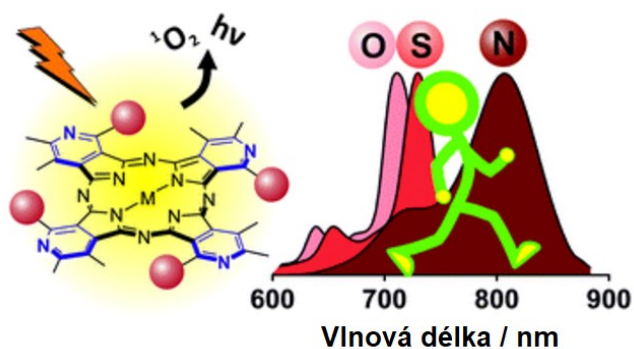


**Obr. 39.** Normalizované absorpční (černé čárkované), emisní (zelené) a excitační (fialové) spektrum kovových komplexů TPdPz **17Zn** vlevo a **17H** vpravo v THF.

odkazů.]

Kovové komplexy aryloxy- a alkylsulfanyl- TPdPz měly hodnoty  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  až 0,80, což naznačuje, že ostatní relaxační procesy již nebyly významné. Sloučeniny se lišily pouze v poměru fluorescence k produkci singletového kyslíku. Byla pozorována silná fluorescence u aryloxy- derivátu a hořečnatých komplexů, zatímco alkylsulfanylové deriváty a komplexy zinku vykazovaly vysokou produkci singletového kyslíku. To lze přičítat jednak působení chelataného těžkého kovu nebo také vlivu periferních substituentů<sup>304</sup>.

Na základě fotofyzikálních dat byly vyhodnoceny jako nejslibnější sloučeniny pro PDT zinečnaté komplexy alkylsulfanyl- TPdPz. Mají nejvyšší produkci singletového kyslíku, nejdůležitějšího cytotoxického kyslíkového radikálu v PDT, a vykazují



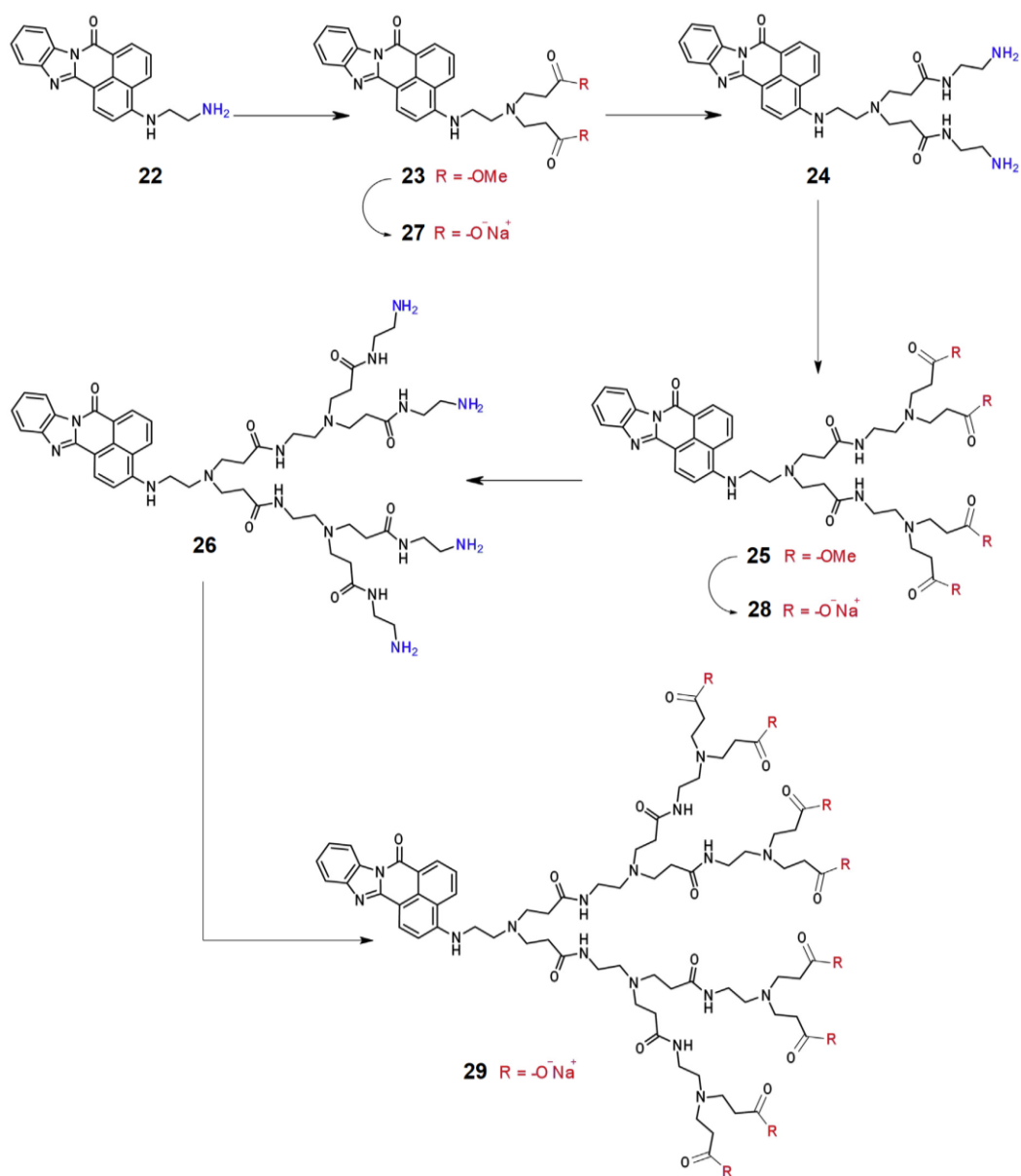
**Obr. 40.** Studované TPdPz **17-19** a jejich normalizovaná absorpční spektra.

významný červený posun v maximu Q- pásu na hodnotu  $\lambda_{max} \sim 730$  nm. Kolegy z laboratoře byla proto navržena a připravena ve vodě rozpustná sloučenina **21Zn** s podobnými fotofyzikálními hodnotami jako modelová sloučenina **17Zn**. Fotodynamická aktivita sloučeniny **21Zn** byla následně vyhodnocena s použitím

buněčné linie lidského karcinomu děložního čípku HeLa, která demonstrovala potenciál TPdPz v PDT. Pro získání hlubšího pohledu na mechanismus působení byla studována subcelulární lokalizace **<sup>21</sup>Zn** v lysozomech pomocí fluorescenční mikroskopie (viz **kap.** Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.. [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.]).

### 5.3. Studium fluorescenčních vlastností dendritických molekul na bázi poly(amidoaminu)

V rámci této studie byly zkoumány ve vodě rozpustné deriváty naftalimidu na bázi poly(amidoaminu) (PAMAM) z hlediska fotofyzikální aktivity. Tyto dendritické molekuly vychází ze strukturálního základu 7H-benz[*d,e*]benzimidazo[2,1-*a*]isochinolin-7-onu (BBIQ) a vykazují silnou fluorescenci ze svých excitovaných stavů. Byla navržena a připravena nová skupina PAMAM dendrimerů na bázi BBIQ. Divergentní syntéza byla provedena střídáním Michaelovy adice methyl-akrylátu na příslušný diamin a následnou aminolýzou za vzniku esteru (**Schéma 10.**).



**Schéma 10.** Studovaná skupina PAMAM dendrimerů 22-29.

Cílem této práce bylo studium fotofyzikálních vlastností nových PAMAM dendritických molekul, které obsahují jednu fluoroforovou jednotku v jádře dendrimeru. PAMAM dendrony s karboxylovou skupinou byly vybrány pro zvýšení rozpustnosti ve vodě a pro lepší biokompatibilitu<sup>305,306</sup>. Karboxylátové PAMAM dendrimery aniontového charakteru mají větší potenciál jako nosiče léčiv, protože jsou oproti kationtovým dendrimerům netoxické<sup>270,307</sup>, zároveň si zachovávají vysokou rozpustnost ve vodě, jsou účinné při mezibuněčném transportu a při perorální aplikaci<sup>307</sup>.

Fluorescenční značení vyžaduje vysoké detekční limity a citlivost, společně s přiměřenou excitací a emisí<sup>308</sup>. Vlastní zhášení excitovaných stavů tzv. „self-quenching“ představuje značné omezení ve vodném prostředí způsobené agregací hydrofobního fluoroforu. Proto je výhodné použít objemné, ve vodě rozpustné dendritické struktury, které brání agregaci. Fluorofor může být začleněn do molekuly na pozici periferní skupiny, větve dendrimeru (dendron) nebo do jádra. Přičemž platí, že umístění fluorescenční jednotky významně ovlivňuje výsledné fotofyzikální vlastnosti molekuly. Zavedení fluoroforů na periferii dendrimerů je obtížné vzhledem k problémům souvisejícím se stechiometrickou kontrolou syntézy<sup>309</sup>. Těmto nevýhodám se lze vyvarovat zavedením fluoroforu do jádra dendrimeru nebo na přípojný bod dendritické molekuly. Zavedení jednoho substituentu na dendron také umožňuje, aby aromatický fluorofor mohl volně reagovat s biologickými systémy (např. se může vázat na DNA).

Z fotofyzikálních měření byly pro sloučeniny **22** až **29** stanoveny absorpční a emisní  $\lambda_{\max}$  spolu s délkou života fluorescenčního stavu  $\tau$  (uvedeny v **Tab. 7.**).

Sloučenina	Číslo generace	Absorpce <sup>a</sup> $\lambda_{\max}$ [nm]	$\epsilon_{\max}$ [cm <sup>-1</sup> dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> ]	Emise <sup>b</sup> $\lambda_{\max}$ [nm]	$\tau^c$ [ns]
<b>22</b>	0	445	3,5 x 10 <sup>4</sup>	504	6,2
<b>23</b>	0,5	458	5,8 x 10 <sup>4</sup>	508	3,0
<b>24</b>	1	457	4,1 x 10 <sup>4</sup>	507	1,3
<b>25</b>	1,5	445	5,7 x 10 <sup>4</sup>	511	0,7; 2,7 (77%) <sup>d</sup>
<b>26</b>	2	450	2,3 x 10 <sup>4</sup>	509	1,1; 3,8 (58%) <sup>d</sup>
<b>27</b>	0,5	446	4,3 x 10 <sup>4</sup>	500	2,0;5,3 (83%) <sup>d</sup>
<b>28</b>	1,5	455	4,3 x 10 <sup>4</sup>	506	1,4; 5,2 (73%) <sup>d</sup>
<b>29</b>	2,5	457	3,2 x 10 <sup>4</sup>	507	1,3; 4,8 (72%) <sup>d</sup>

**Tab. 7. UV/vis a fluorescenční data studovaných látek 22-29.**

<sup>a</sup> měřeno v methanolu

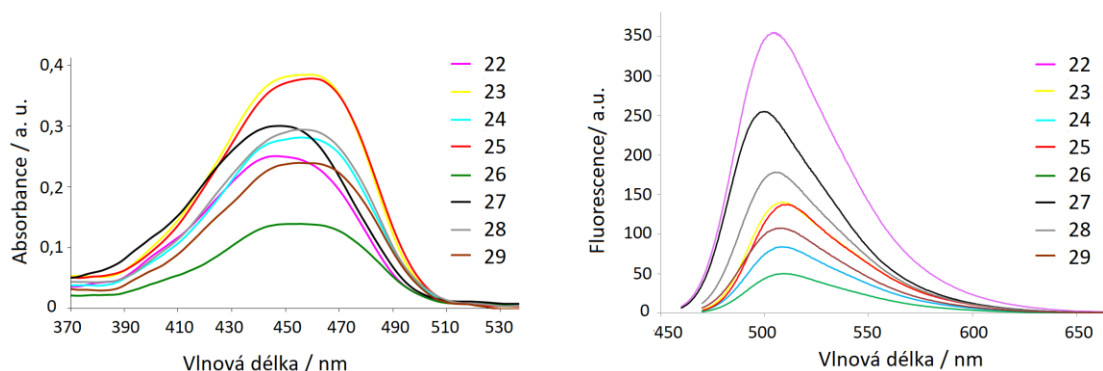
<sup>b</sup> excitatační vlnová délka 455 nm (MeOH).

<sup>c</sup> excitatační vlnová délka 459 nm (MeOH)

<sup>d</sup> délka života fluorescence  $\tau$ , relativní zastoupení složky s delší životností fluorescence je uvedeno v závorce.

Intenzita emisí byla u všech studovaných látek ovlivněna dendritickým substituentem v poloze C-3 na fluoroforu. Délka života fluorescence byla krátká (<10 ns) a odpovídala hodnotám charakteristickým pro podobné sloučeniny. U dendrimerů vyšší generace nebyl rozpad po celou dobu života fluorescence exponenciální, proto bylo v těchto případech vhodnější zaznamenat  $\tau$  jako bi-exponenciální funkci (relativní zastoupení je uvedeno v **Tab. 7.**). Zjištění dvou hodnot rozpadu naznačuje, že pro tyto vyšší generace dendrimerů existují dva odlišné excitované stavy. Spolu s pozorovaným poklesem intenzity fluorescence (**22 >> 23~24 > 25 > 26 > 29**) je tento efekt pravděpodobně způsoben zhášením excitovaných stavů fotoindukovaným přenosem elektronů (PET). Přítomné terciárními aminy na PAMAM dendronech vystupují jako donory elektronů a zprostředkovávají PET<sup>310</sup>.

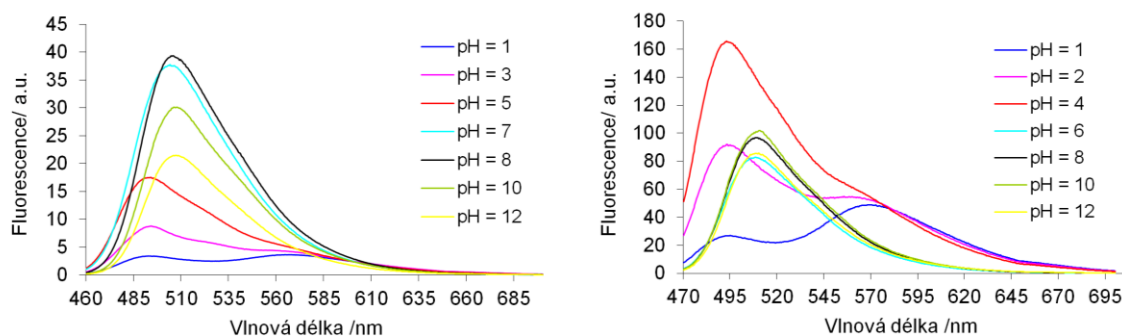
Bylo zjištěno, že intenzita fluorescence klesá u karboxylátových solích **27 > 28 > 29** s rozšiřujícím se dendritickým větvením, což bylo v souladu s publikovanými údaji<sup>311</sup>. V měřeném koncentračním rozmezí  $0,83 - 5,75 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  se intenzita fluorescence zvyšovala téměř lineárně s koncentrací vodných roztoků **27 - 29**, což dokládá, že nedocházelo k vlastnímu zhášení excitovaných stavů tzv. „self-quenching“ v důsledku agregace (**Obr. 41.**).



**Obr. 41.** UV/vis absorpční (vlevo) a fluorescenční spektrum (vpravo) sloučenin **22-29** v methanolu ( $c = 6,88 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{exc}} = 459 \text{ nm}$ )

Absorpční UV/vis spektra sloučenin **22, 24 a 27** ukázaly podobnou závislost na pH s bathochromním posunem hlavního absorpčního pásu při pH pod 5 způsobené protonací chromoforu. Závislost fluorescenčních spekter sloučenin **22, 24 a 27** na pH byla zkoumána v rozmezí pH 1-13. U dendrimeru z nulté generace **22** se intenzita emisí snížila při velmi nízkém pH za vzniku dvou maxim při 490 a 560 nm (**Obr. 42.** vlevo). Zvýšení pH na 7-8 vedlo k nárůstu fluorescence s jedním maximálním píkem při 510 nm se snižující se tendencí intenzity při růstu bazicity. Délka životnosti emisí při těchto hodnotách pH byla relativně neměnná, kdy se všechny  $\tau$  nacházely v rozmezí 5,1 - 6,2 ns (**Tab. 8.**).





**Obr. 42.** Emisní spektra sloučenin **22** (vlevo) a **24** (vpravo) měřena v rozmezí pH 1-12 v methanolu při koncentraci  $c = 6,88 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  a  $\lambda_{\text{exc}} = 455 \text{ nm}$ .

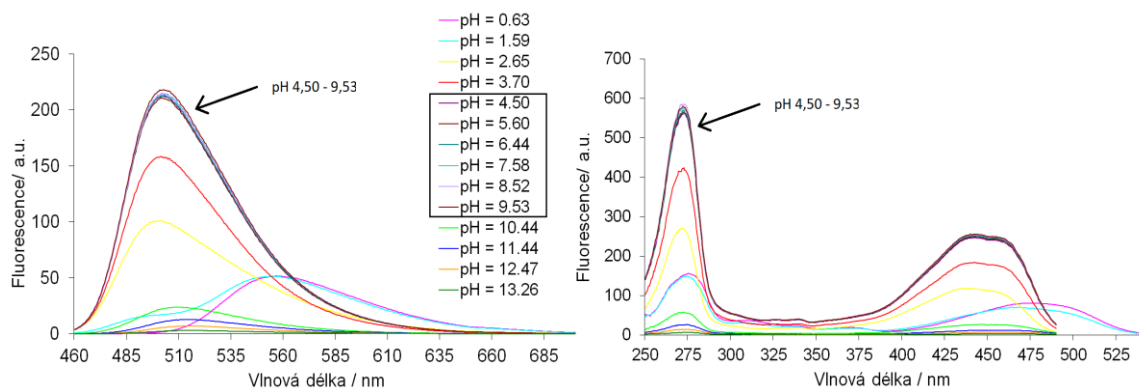
Naproti tomu dendrimer 1. generace **24** odhalil dva emisní píky při pH 1-4 s maximální emisní intenzitou při pH 4 a jeden emisní pík při pH 6-12 (**Obr. 42.**, pravé spektrum). Doba života emisí při pH 1-4 dosahovala vyšších hodnot (5,2 - 5,6 ns) a potvrzovala předpoklad redukce zhášení vlivem potlačení PET. Při  $\text{pH} > 6$  byly sledovány bi-exponenciální délky životnosti fluorescence s velmi krátkými ( $< 0,5 \text{ ns}$ ) a krátkými ( $< 3 \text{ ns}$ ) časovými hodnotami (**Tab. 8.**), což naznačuje, že při těchto pH je zhášení excitovaných stavů zvýšeno a závisí na konformačních vlastnostech molekuly.

Sloučenina <b>22</b>		Sloučenina <b>24</b>		Sloučenina <b>27</b>	
pH	$\tau$ [ns]	pH	$\tau$ [ns]	pH	$\tau$ [ns]
1	5,29	1	5,17	1	4,68
3	5,39	2	5,39	2	4,74
5	5,68	4	5,60	3	5,11
7	6,24	6	1,03; 3,27 (69 %)	4	6,32
8	6,20	8	0,45; 2,36 (80 %)	5	6,24
10	5,15	10	0,20; 2,21 (82 %)	6	6,35
12	3,50	12	0,38; 1,96 (82 %)	8	6,30
				9	6,24
				10	6,31
				11	0,27; 5,09 (60%)

**Tab. 8.** Délka životnosti fluorescence  $\tau$  sloučenin **22**, **24** a **27** při acidobazickém měření v roztoku methanolu, relativní zastoupení složky s delší životností fluorescence je uvedeno v závorce. ( $c = 6,88 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{exc}} = 459 \text{ nm}$ )

Sodná sůl dendrimeru **27** (znázorněno na **Obr. 43.**) dosahuje maximální intenzity fluorescence okolo  $\text{pH} = 6-8$  při hodnotě 500 nm. Při velmi nízkém pH ( $< 2$ ) je emise posunuta do červené oblasti viditelného světla na 560 nm a s přechodem do neutrálních hodnot pH její intenzita narůstá. Naopak při velmi

vysokém pH > 10,5 byl pozorován výrazný pokles fluorescence, který byl způsoben nedostatečnou protonací aminových skupin v dendritickém substituentu a obnovením procesu PET.



**Obr. 43.** Emisní (obrázek vlevo) a excitační (vpravo) spektra sodné soli sloučeniny **27** při pH 0,63 – 13,26 měřené v methanolu při  $\lambda_{\text{exc}}$  448 nm;  $\lambda_{\text{em}}$  501nm;  $c = 6.88 \times 10^{-6}$  mol l<sup>-1</sup>.

Připravená řada dendritických molekul, která kombinuje vysoce fluorescenční BBIQ jednotku s malými periferními PAMAM skupinami, vykazovala viditelnou fluorescence u všech vzorků včetně vodných roztoků. Intenzita fluorescence a její délka života byly citlivé na povahu a generaci dendritické struktury a byly ovlivněny intramolekulárním zhášením prostřednictvím PET vycházejícím ze sekundárních a terciárních aminových skupin. Výsledky doby života fluorescence  $\tau$  naznačují, že mechanismus PET bude pravděpodobně ovlivněn konformací molekuly. Celkové fotofyzikální chování studované skupiny látek bylo přibližně shodné s analogickými systémy 1,8-naftalimidu. Odlišná byla fluorescence při nízkých pH, která byla významně posunuta k vyšším vlnovým délkám okolo 550 nm<sup>306</sup>.

## 6. Závěr

V rámci této disertační práce byla připravena a z hlediska fotofyzikálních a fotochemických vlastností popsána skupina derivátů ftalocyaninových barviv. V první části jsem se zabývala vlivem intramolekulárního přenosu náboje (ICT) na heteroatom substituované nesymetrické tetrapyrazinoporfyraziny a tribenzopyrazinoporfyraziny nesoucí dva dialkylaminové substituenty jako donory pro ICT. Byl navržen optimální syntetický postup pro studovanou skupinu látek s odlišnými periferními substituenty nesoucími volnou karboxylovou skupinu, která může být snadno navázána na pevnou fázi oligonukleotidových sond. Syntéza prekurzorů vycházela z nukleofilní substituce 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu a 4,5-dichlorftalonitrilu. Cyklotetramerizace finálních Pc a TPyzPz byla provedena metodou statistické kondenzace s následným oddělením požadovaného kongeneru AAAB za pomoci sloupcové chromatografie. U finálních sloučenin byly porovnány absorpční, fotofyzikální a fotochemické parametry se strukturálně podobnými TPyzPz a Pc bez donorových skupin. Bylo potvrzeno, že vlivem dvou diethylaminových skupin podporujících ICT klesají kvantové výtěžky fluorescence  $\Phi_F$  a produkce singletového kyslíku  $\Phi_\Delta$ . Nejvýraznější snížení  $\Phi$  bylo dosaženo u AzaPc derivátu, zatímco sloučeniny strukturálně bližší k Pc se zdají být pro tento deaktivací proces méně vhodné. Pokud se v molekule donorové centrum nenacházelo, energie z excitovaných stavů byla použita na fluorescenci či produkci singletového kyslíku. Při porovnání vlivu periferních heteroatom substituentů, které nebyly do ICT přímo zapojeny, bylo zjištěno že, silně elektron-donorové periferní substituenty (např. 2,6-diisopropylfenoxy-skupina) mohou dále snižovat elektron-akceptorové vlastnosti makrocyclického jádra, a tím i účinnost ICT. Fotofyzikální a fotochemické parametry takových sloučenin proto zůstávají podobné příslušným analogům bez donorového centra.

V druhé části práce byl studován nový strukturální typ aza- analogů Pc-tetra(3,4-pyrido)porfyraziny, které nebyly dosud v naší skupině studovány. Jedná se o relativně málo popsanou kategorii Pc z pohledu syntetického i fotofyzikálního. Byla navržena vhodná metoda syntézy heteroatom-substituovaných TPydPz, která by mohla být aplikovatelná pro pokračující výzkum těchto sloučenin. V důsledku nesymetrických struktur výchozích pyridin-3,4-dikarbonitrilů byly získány TPydPz jako směs čtyř polohových izomerů. Za použití HPLC metody byly u derivátu s nejobjemnějšími periferními substituenty identifikovány izomery na základě jejich absorpčních spekter. Poměr zastoupení jednotlivých polohových izomerů byl oproti teoretické předpovědi odlišný. Pozorovali jsme téměř 2,5krát vyšší zastoupení nejméně stericky bráněného  $C_{4h}$  izomeru, zatímco nejvíce stericky bráněný izomer  $D_{2h}$  byl zastoupen pouze v 1,5%. To bylo pravděpodobně způsobeno v důsledku

nesymetrického složení výchozích sloučenin, jejichž dvě kyano- skupiny nemají stejnou elektronovou hustotu a při cyklotetramerizaci nejsou napadány nukleofilním butoxidovým aniontem rovnoměrně. Kovové komplexy aryloxy- a alkylsulfanyl- TPydPz dosahovaly vysokých hodnot  $\Phi_F$  a  $\Phi_\Delta$  až 0,80, což naznačuje, že téměř všechny fotorelaxační procesy byly uskutečněny požadovanými cestami. Byla pozorována silná fluorescence u aryloxy- derivátu a hořečnatých komplexů, zatímco alkylsulfanylové deriváty a komplexy zinku vykazovaly vysokou produkci singletového kyslíku. To lze přičítat jednak působení chelatovaného těžkého kovu nebo vlivu periferních substituentů. Na základě fotofyzikálních dat byly vyhodnoceny jako nejslibnější sloučeniny pro PDT zinečnaté komplexy alkylsulfanyl- TPydPz, které dosahovaly nejvyšší produkce singletového kyslíku, nejdůležitějšího cytotoxického kyslíkového radikálu v PDT. Zároveň vykazují významný červený posun Q- pásu na hodnotu  $\lambda_{\max} \sim 730$  nm, který rozšiřuje použití takového fotosenzitizéru i na hlubší nádory. Pyridinový dusík může být v budoucnu snadno kvarternizován za vzniku ve vodě rozpustných sloučenin vhodných pro biologické aplikace.

V poslední části byla popsána vhodná metoda stanovení fluorescenční aktivity ve vodě rozpustných dendritických molekul na bázi poly(amidoaminu) (PAMAM) s 1,8-naftalimidovou fluorescenční jednotkou v jádře dendrimera. Výsledná fluorescence byla ovlivněna procesem fotoindukovaného přenosu elektronů (PET) vycházejícího z volného elektronového páru sekundárních aminů, které vystupují jako donory elektronů. S každou další dendritickou generací roste i počet sekundárních aminů, vliv PET se zvyšuje, což vede k poklesu doby života fluorescence  $\tau$ , tak i intenzity fluorescence. Dále byly fotofyzikální vlastnosti studovány ve vodném roztoku v širokém rozmezí pH. Doba života emisí při pH 1-4 dosahovala vyšších hodnot a potvrzovala předpoklad redukce zhášení vlivem potlačení PET. Při pH > 6 byly sledovány bi-exponenciální doby života fluorescence s krátkými časovými hodnotami, které naznačují, že při těchto pH bylo zhášení excitovaných stavů zvýšeno a závisí na konformačních vlastnostech molekuly. U ve vodě rozpustné sodné soli dendrimera byla pozorována maximální intenzita fluorescence okolo pH = 6-8, zatímco při výrazném snížení pH byla emise posunuta do červené oblasti viditelného světla a naopak při velmi vysokém pH byla pozorován její pokles v důsledku nedostatečné protonace aminových skupin a obnovení procesu PET.

Skupina ftalocyaninových sloučenin nabízí široké možnosti modifikace struktury a ovlivnění fotofyzikálních a fotochemických vlastností pro specifické metody použití<sup>312</sup>. V rámci naší výzkumné skupiny pokračují práce na nových strukturálních typech TPydPz a dalších sloučeninách vycházejících z porfyrinového makrocyklu.

## 7. Metodická část

Tato kapitola popisuje metodické postupy, přístroje a chemikálie použité pro syntézu, ověření struktury a čištění produktů a meziproductů. Zvláště jsou uvedeny metody a materiál, které byly využity při studii fotofyzikálních vlastností PAMAM dendrimerů na cardiffské univerzitě. V další části jsou popsány obecné přípravy prekurzorů společně s cyklotetramerizačními postupy využívanými pro syntézu Pc, TPyzPz a TPzdPz.

### 7.1. Použité chemikálie a materiál

Všechny výchozí suroviny použité k syntéze byly v kvalitě výrobce (zakoupené u firem Acros, Sigma-Aldrich, Merck nebo TCI Europe) a nebyly dále čištěny. Zinečnatý komplex ftalocyaninu ZnPc použitý jako referenční standard při fotofyzikálních měření byl zakoupen u firmy Sigma-Aldrich. Bezvodá rozpouštědla THF a dioxan byla připravena sušením nad sodíkem, butanol byl sušen hořčíkem a oddestilován v čas potřeby. Bezvodý pyridin byl vysušen stáním nad hydroxidem draselným a destilací. Bezvodý triethylamin byl zakoupen od firmy Sigma-Aldrich a bezvodý dimethylformamid u firmy Acros. Prekurzor 4,5-dichlorftalonitril byl pořízen u firmy TCI Europe.

Průběh reakcí, čistota produktů a meziproductů byla kontrolována tenkovrstvou chromatografií (TLC) na hliníkových deskách Silikagel Merck 60 F<sub>254</sub> (Merck, Darmstadt, Německo). Detekce byla prováděna UV světlem vlnové délky 254 nm a 366 nm. Vyvíjecí soustavy jsou uvedeny u jednotlivých reakcí. Sloupcová chromatografie byla prováděna na silikagelu Merck Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm).

Všechna použitá rozpouštědla pro fotofyzikální měření v publikaci [P4] byly v kvalitě výrobce (zakoupeny od společnosti Sigma-Aldrich nebo Acros Organics / Fisher Scientific ) a nebyly dále čištěny.

### 7.2. Použité přístroje

Teplota tání byla měřena na digitálním přístroji ELECTROTHERMAL IA9200 Series (Electrothermal Engineering, Southend-on-Sea, Essex, Velká Británie) a nebyla korigována. <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra byla měřena na přístroji VARIAN MERCURY Vx BB 300 nebo VNMR S500 na katedře anorganické a organické chemie FaF UK v Hradci Králové. Chemické posuny jsou udávány

k signálu vnitřního standardu  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ . Infračervená spektra byla měřena v peletách KBr na přístroji IR-Spectrometer NICOLET 6700 za použití reflektanční techniky ATR-Ge. UV-Vis spektra ve viditelné oblasti byla změřena na přístroji Shimadzu UV-2401PC a UV-2600 (Shimadzu Europa, GmbH, Duisburg, Německo). Elementární analýza byla provedena na automatickém mikroanalyzátoru EA1110CE (Fisons Instruments, Milano, Itálie). Hmotnostní spektra MALDI-TOF byla měřena v pozitivním reflektrotonovém módu za použití matrice *trans*-2-[3-(4-*tert*-butylfenyl)-2-methyl-2-propenylyden]-dinitrilu kyseliny malonové na hmotnostním spektrometru VOYAGER-DE STR (Applied Biosystems, Framingham, Massachusetts, USA). Přístroj byl kalibrován za použití externího pětibodového kalibračního standardu Peptide Calibration Mix1 (LaserBio Labs, Sophia-Antipolis, Francie). Fluorescenční spektra byla měřena na přístroji AMINCO-Bowman Series 2 luminescence spectrometer (SLM-Aminco, Urbana, Illinois, USA). Vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie (HR MS) byla u publikace [P3] měřena na spektrometru SYNAPT G2Si (Waters, Manchester, Velká Británie) v kombinaci s analyzátozem Q-TOF a s využitím UHPLC detekce ACQUITY UPLC I-class (Waters, Millford, USA). Vzorokly byly analyzovány pomocí UHPLC systému na koloně ACQUITY UHPLC BEH300 C4 (50 x 2,1 mm, velikost částic 1,7  $\mu\text{m}$ ) při podmínkách izokratické separace s mobilní fází acetonitrilu a 10 mM roztoku mravenčanu amonného jako pufru o pH 3 (v poměru 90:10, v/v) při průtoku 0,4 ml/min. Ionizace byla provedena elektrosprejem v pozitivním módu. Hmotnostní spektra byla zaznamenána v rozmezí  $m/z$  200 – 2000, vztažená k přesné hmotě kalibračního roztoku [Glu<sup>1</sup>]-fibrinopeptidu B  $m/z$  785,835 [(M+2H<sup>+</sup>)/2] a kalibrována jodidem sodným.

Fluorescenční data pro publikaci [P4] byla získána na spektrometru JobinYvone- Horiba Fluorolog (Edison, New Jersey, USA) vybaveného pikosekundovým fotodetekčním modulem JY TBX. Emisní spektra nebyla korigována a excitační spektra byla korigována přístrojem. Pulsním zdrojem byla nano-LED dioda konfigurovaná pro výstup 372 nm pracující na frekvenci 1 MHz. Doza života fluorescence byla získána pomocí modulu pro sčítání fotonů JobinYvone- Horiba FluoroHub (Edison, New Jersey, USA) a naměřená data byla zpracována dekonvolací pomocí softwaru dekonvoluce DAS6. UV/ vis /NIR absorpční spektra byla zaznamenávána na spektrofotometru JASCO V-570 (Hachioji, Tokyo, Japonsko).

## 7.3. Použité metody

### 7.3.1. Stanovení kvantového výtěžku fluorescence $\Phi_F$ a singletového kyslíku $\Phi_\Delta$

Fluorescenční kvantové výtěžky ( $\Phi_F$ ) byly stanoveny srovnávací metodou<sup>85</sup> za použití ZnPc jako standardu ( $\Phi_F = 0,20$  v pyridinu<sup>313</sup> pro [P1];  $\Phi_F = 0,30$  v chlornaftalenu<sup>314</sup> pro [P2] a  $\Phi_F = 0,32$  v THF<sup>273</sup> pro [P3]). Všechny vzorky použité pro stanovení kvantových výtěžků byly před měřením přečištěny pomocí preparativní TLC na deskách s oxidem křemičitým (s výjimkou **21Zn**), aby byla zajištěna jejich vysoká čistota. Použité eluenty jsou uvedeny pro každou sloučeninu v experimentální části. Odpovídající části destiček byly odříznuty, vzorek byl extrahován THF z oxidu křemičitého, zfiltrován a rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku. Fluorescenční kvantové výtěžky  $\Phi_F$  byly stanoveny v pyridinu pro [P1] nebo v THF pro [P2] a [P3] vyjma sloučeniny **21Zn** (DMF). Standard i vzorek byly excitovány při příslušných vlnových délkách: 608 nm [P1]; při 612 nm u [P2] nebo při 360 nm [P3]. Absorbance při excitační vlnové délce a při maximální hodnotě Q- pásu byla vždy udržována pod 0,05, aby se omezil efekt vnitřního filtru. Během experimentů nebyly pozorovány žádné změny v tvaru nebo intenzitě absorpčních pásů testovaných barviv. U všech emisních spekter u publikace [P3] byla opravena data pro odezvu přístroje.

Fluorescenční kvantové výtěžky byly vypočteny podle následující rovnice:

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

**Rov. 2.** Výpočet kvantového výtěžku fluorescence, kde  $F$  představuje integrovanou oblast pod emisním spektrem,  $A$  absorpenci při excitační vlnové délce,  $n$  index lomu rozpouštědla a označení  $R$  a  $S$  odpovídají referenci (standardu) a vzorku.

Všechny experimenty byly prováděny třikrát a uvedená data představují průměr těchto tří experimentů. Odhadovaná chyba byla 15%, u sloučeniny **19Mg**, **19Zn** a **19H**  $\pm 50\%$  kvůli detekčnímu limitu přístroje. Excitační spektra byla měřena při hodnotách pozorované fluorescence: 675-740 nm u Pc a AzaPc v [P2] nebo 710-800 nm u TPdPz z [P3].

Kvantové výtěžky singletového kyslíku ( $\Phi_\Delta$ ) byly stanoveny v pyridinu a toluenu u [P1] resp. v THF u [P2] a [P3] (kromě **21Zn** v DMF) podle dříve publikovaného postupu<sup>315</sup> na základě rozkladu 1,3-difenyliisobenzofuranu (DPBF). Jako referenční hodnoty byly použity kvantové výtěžky ZnPc (u [P1]  $\Phi_\Delta = 0,61$  v pyridinu<sup>313</sup>,  $\Phi_\Delta = 0,56$  v toluenu<sup>313</sup>; u [P2] a [P3]  $\Phi_\Delta = 0,53$  v THF<sup>316</sup>,

resp.  $\Phi_{\Delta} = 0,56$  v DMF<sup>317</sup>). Všechny vzorky byly připraveny podle následujícího postupu: 2,5 ml zásobního roztoku DPBF v příslušném rozpouštědle ( $5 \times 10^{-5}$  mol l<sup>-1</sup>) bylo přeneseno do křemičité optické kyvety o rozměrech 10 mm x 10 mm, která byla sycena kyslíkem po dobu 1 minuty. Zásobní roztok testované sloučeniny v odpovídajícím rozpouštědle (obvykle 20-30  $\mu$ l) byl přidán, aby se dosáhla absorpce konečného roztoku v maximu Q-pásu přibližně 0,1. Roztok byl míchán a ozařován za použití xenonové lampy (100 W, bezozonová lampa, Newport). Dopadající světlo bylo přefiltrováno přes vodní filtr (6 cm) a oddělovací filtr OG530 (Newport), aby se odstranilo teplo a světlo pod 523 nm (u [P3]) nebo oranžový filtr HOYA G pro odstranění tepla a světla pod 506 nm. Snížení hodnot DPBF v roztoku po ozáření (maximálně 15 %) bylo sledováno při vlnové délce 414 nm. Kvantový výtěžek singletového kyslíku ( $\Phi_{\Delta}$ ) byl vypočten ze vztahu:

$$\Phi_{\Delta}^S = \Phi_{\Delta}^R \frac{k^S I_{aT}^R}{k^R I_{aT}^S}$$

**Rov. 3.** Výpočet kvantového výtěžku singletového kyslíku, kde  $k$  představuje sklon závislosti  $\ln(A_0 / A_t)$  na čase ozáření  $t$ , přičemž  $A_0$  a  $A_t$  jsou absorpce DPBF při 414 nm před ozářením a po čase ozáření  $t$ .  $I_{aT}$  je celkové množství světla absorbované barvivem a označení  $R$  a  $S$  odpovídají referenci (standardu) a vzorku.

$I_{aT}$  se vypočítá jako součet intenzit absorbovaného světla  $I_a$  při vlnových délkách od 506 nm (resp. 523 nm) do 800 nm (po 0,5 nm krocích). Světlo pod 506 nm je zcela odfiltrováno pomocí filtru HOYA G (v případě filtru OG530 je odfiltrováno světlo pod 523 nm) a světlo nad 800 nm není barvivo absorbováno.  $I_a$  se při dané vlnové délce vypočítá podle Lambert-Beerova zákona:

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

**Rov. 4.** Výpočet intenzity absorbovaného světla pomocí Lambert-Beerova zákona, kde  $I_0$  vyjadřuje propustnost filtru při dané vlnové délce a  $A$  absorpenci barviva při této vlnové délce.

Všechny experimenty byly provedeny třikrát a data u jednotlivých výsledků představují průměr těchto tří pokusů (odhadovaná chyba:  $\pm 15$  %). Během experimentu nebyly pozorovány žádné změny absorpčních spekter testovaných látek, což naznačuje, že nedošlo k fotorozkladu nebo agregaci (kromě sloučeniny **17H**).

### 7.3.2. HPLC separace

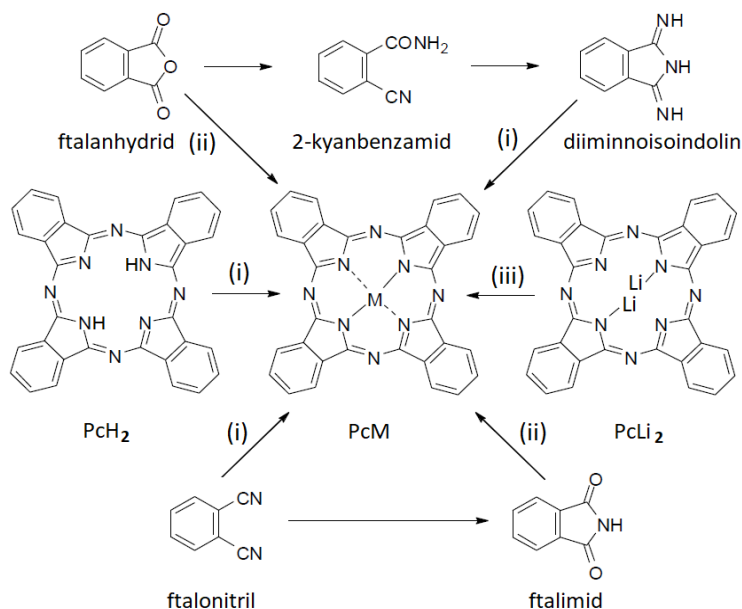
Analýza vzorků TPydPz v [P3] byla provedena metodou HPLC-DAD. Oddělení izomerů bylo provedeno na koloně Hypersil BDS C18 (100 x 4,6 mm, velikost částic 2,4  $\mu$ m) za použití mobilní fáze obsahující acetonitril, THF a



vodu. Mobilní fáze A byla voda a mobilní fáze B obsahovala acetonitril/THF (1: 1, v/v), oba s přidavkem 0,025 % triethylaminu. Gradientní metoda (s výjimkou **18Mg**) byla nastavena následovně: 0-20 min 60→90% B; 20-40 min 90% B; 40-40,5 min 90→60% B. Kolona byla poté ekvilibrována po dobu 5 minut za výchozích podmínek (60% B). Pro dosažení lepšího oddělení **18Mg** izomerů byla konečná koncentrace mobilní fáze B při gradientovém programu snížena na 83%. Teplota kolony byla udržována na 40 °C a rychlost průtoku byla nastavena na 1,0 ml/min. Chromatogramy byly zaznamenány DAD detektorem s vlnovou délkou odpovídající maximální absorpenci pro každou sloučeninu: **17Mg**, **17Zn** 730 nm; **18Mg**, **18Zn** 710 nm; **18H** 715 nm; **19Mg** 770 nm; **19Zn** 775 nm; **19H** 800 nm. Sloučenina **6H** nebyla pro HPLC analýzu dostatečně rozpustná.

Kvantitativní analýza HPLC (tj. procentuální rozložení izomerů ve směsi) byla provedena pouze pro **17Mg**, **18Mg** a **19H**, tedy sloučeniny, které byly připraveny přímo z cyklotetramerizační reakce a nikoli po vložení či odstranění centrálního kovu. U následně připravených izomerů by mohlo být jejich množství sníženo během dalších reakčních kroků či čištění, a tím by mohly být výsledky zkresleny. Nicméně retenční časy ( $t_R$ ) izomerů vyjadřující kvalitativní charakter izomerů jsou uvedeny v experimentální části u každého komplexu kromě **17H**, jehož velmi nízká rozpustnost neumožnila HPLC analýzu.

#### 7.4. Příprava prekurzorů

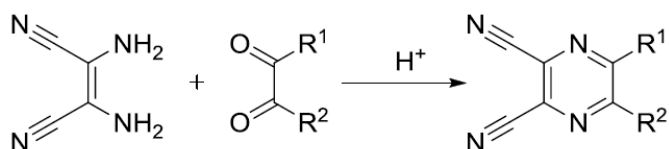


**Schéma 11.** Přehled prekurzorů pro přípravu kovového Pc včetně reakčních podmínek (M=kov). (i) zahříváno ve výševroucím rozpouštědle (např. chinolin, DMF) se solí kovu, (ii) zahříváno ve výševroucím rozpouštědle se solí kovu a močovinou, (iii) zahříváno v ethanolu se solí kovu.

Nejčastější prekurzory pro přípravu Pc představují substituované deriváty kyseliny ftalové, například ftalonitril, ftalanhydrid, ftalimid, 2-kyano-1-karboxamid, diiminoisindolin a další (**Schéma 11.**). U AzaPc prekurzorů je benzenové jádro vyměněno za izosterní pyrazin nebo pyridin.

Z komerčně dostupných prekurzorů 4,5-dichlorftalonitrilu, 3- nebo 4-nitroftalonitrilu lze nukleofilní substitucí v aprotickém polárním rozpouštědle (DMF, DMSO, dioxan, acetonitril, a další) za přítomnosti přebytku báze ( $K_2CO_3$ , NaH) připravit alkyloxy-, aryloxy-, alkylsulfanyl- nebo arylsulfanyl- substituované ftalonitrily<sup>318</sup>. Alkyloxy- a aryloxy- deriváty lze získat i alkyací fenolických hydroxylových skupin<sup>319</sup> nebo Diels- Alderovou cykloadiční reakcí<sup>320</sup>. Syntéza alkylamino- derivátů vychází převážně z nukleofilní substituce nitro- nebo brom-substituovaných ftalonitrilů s příslušnými alkylaminoderiváty<sup>303</sup>.

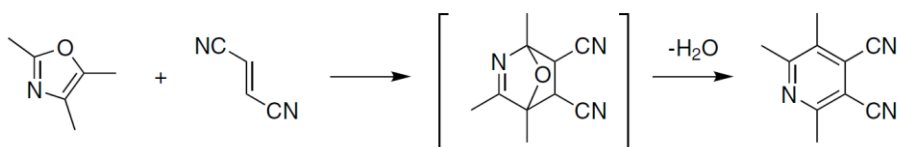
Díky přítomnosti dusíků na pyrazinovém cyklu, které přitahují vazebné elektrony, jsou pyrazinové analogy oproti benzenovým reaktivnější. Zároveň vlivem nitrilových skupin odebírajících ze systému elektrony snižují elektronovou hustotu na uhlících 5 a 6, které tak mohou být snadno napadány nukleofily za vzniku 5,6-disubstituovaných pyrazindikarbonitrilů. Prekurzory s periferním substituentem vázaným přes heteroatom (O, S, N) lze připravit reakcí 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu s nukleofilním činidlem za přítomnosti báze ve vysokých výtěžcích<sup>321</sup>. Nejběžnější metody pro přípravu alkyl- nebo aryl- substituovaných pyrazin-2,3-dikarbonitrilů zahrnují kondenzační reakci komerčně dostupného 2,3-diaminomaleodinitrilu s příslušnou vicinální  $\alpha$ -dikarbonylovou sloučeninou v kyselině octové nebo ve směsi kyseliny octové a ethanolu (**Schéma 12.**)<sup>288,322</sup>.



**Schéma 12.** Obecný postup přípravy 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu. ( $R^1$ ,  $R^2$  = alkyl nebo aryl)

#### ❖ Příprava pyridindikarbonitrilů

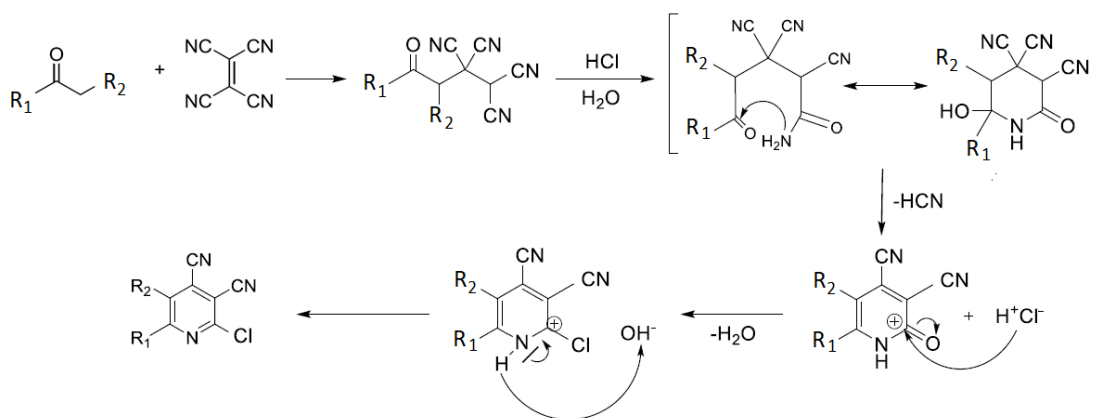
Většina prekurzorů pro TPydPz byla připravena způsobem, který byl již dříve použit pro přípravu substituovaných ftalonitrilů (**Schéma 11.**), tj. reakcí nesubstituované nebo alkylsubstituované pyridin-2,3- nebo pyridin-3,4-dikarboxylové kyseliny na odpovídající anhydridy, imidy, diamidy nebo dinitrily<sup>323,324</sup>.



**Schéma 13.** Syntéza 2,5,6-trimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu.

Zajímavou reakční cestou pro přípravu 5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu a 2,5,6-trimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu, která byla objevena v roce 1970, je Diels-Alderova reakce mezi substituovanými oxazoly a fumaronitrilem, která vede k tvorbě bicyklického meziproductu<sup>22</sup>. Tento bicyklický intermediát lze snadno aromatizovat odstraněním molekuly vody za vzniku 5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu a 2,5,6-trimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (**Schéma 13.**).

Lipinem a jeho kolegy byla popsána příprava substituovaných 2-chlorpyridin-3,4-dikarbonitrilů kondenzační *in situ* reakcí tetrakynoethylenů s alifatickým ketonem v přítomnosti kyseliny chlorovodíkové<sup>349</sup>. Jako keton lze použít sloučeninu obsahující vodík na  $\alpha$ -uhlíku. V původní Lipinově práci byly použity ethylmethylketon, pent-2-on, acetofenon a 2-acetylthiofen, z kterých byly připraveny odpovídající 2-chlorpyridin-3,4-dikarbonitrily s odlišnou substitucí v polohách 5 a 6. Obdobné reakce byly navrženy stejnou výzkumnou skupinou za použití kyseliny bromovodíkové a jiných ketonů.

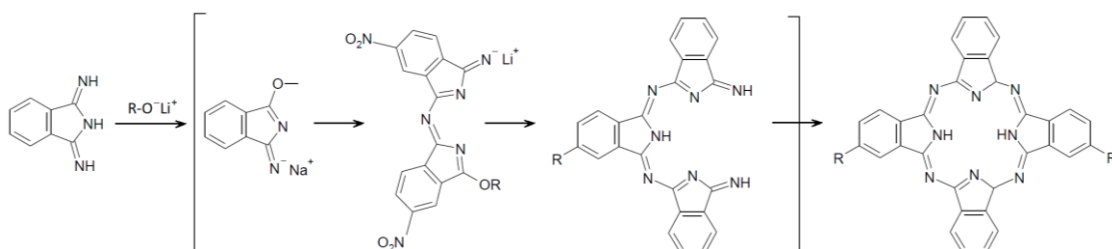


**Schéma 14.** Mechanismus syntézy 2-chlor-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu z ethylmethylketonu. ( $R_1, R_2 =$  radikál)

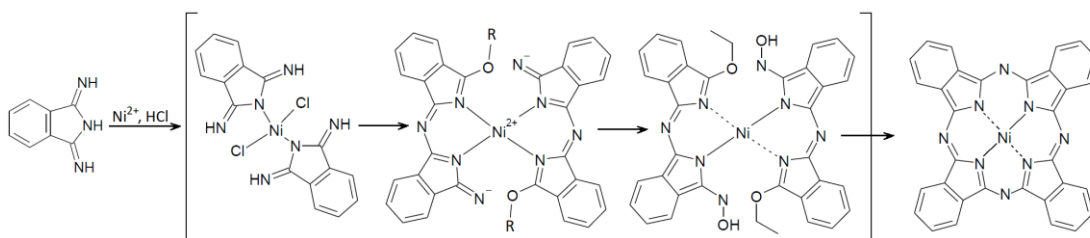
## 7.1. Cyklizační metody přípravy symetrických ftalocyaninů a jejich aza-analogů

Při reakci jediného prekursoru vzniká symetrický makrocyklus Pc nebo AzaPc. Vzhledem k tomu, že jsou si tyto sloučeniny blízké příbuzné, tak také jejich syntéza vychází z obdobných reakcí<sup>295</sup>. Výchozími látkami pro tetramerizaci jsou ve většině případů různě substituované deriváty ftalonitrilu (vzniká Pc), pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (TPyzPz), pyridin-2,3-dikarbonitrilu (2,3-TPydPz) nebo pyridin-3,4-dikarbonitrilu (3,4-TPydPz). Na připraveném makrocyclickém komplexu lze poté provádět obměny jednak záměnou centrálních kationtů kovů nebo modifikací na periférii.

Podle mechanismu můžeme přípravu symetrických Pc rozdělit na dvě skupiny: cyklizace bez nebo s přítomností centrálního atomu kovu. Pc bez chelataného centrálního atomu (bezkovové, H<sub>2</sub>Pc) se nejčastěji připravují tetramerizací vlivem silných bází. Jako báze se používají lithné nebo hořečnaté alkoholáty<sup>325</sup> nebo je alkoholát vytvořen za pomoci 1,8-diazabicyklo[5,4,0]undec-7-enu (DBU)<sup>326</sup>. Tyto alkoholáty napadají nitrilové skupiny reaktantů a dochází k jejich polymeraci. Vzniká tak buď bezkovový Pc (při použití DBU) nebo komplex s velmi slabě chelataným atomem lithia, které se uvolňuje již ve velmi slabě kyselém prostředí vody (**Schéma 16.**).



**Schéma 16.** Intermediáty cyklizační reakce diiminoisoindolinu bez použití templátu.



**Schéma 15.** Intermediáty cyklizační reakce diiminoisoindolinu s použitím templátu Ni<sup>2+</sup>.

Při cyklizačních postupech s atomem kovu se využívá tzv. templátového efektu centrálního kovu. Mechanismus této cyklizace je založen na koordinaci prekursoru kolem centrálního atomu (např. Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>). Výchozí látky

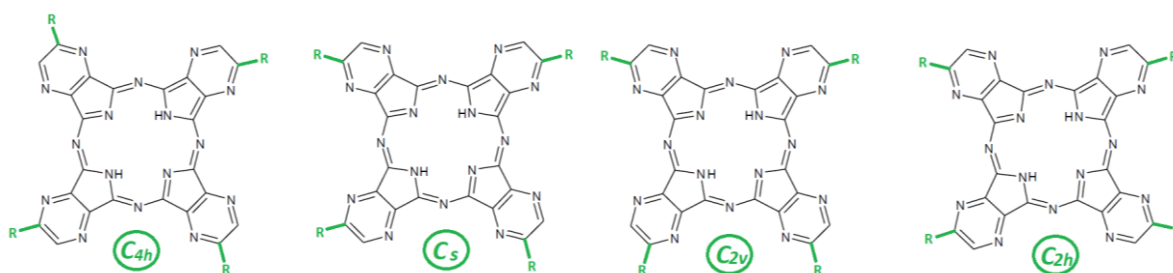
se koordinačně váží za teploty varu výševroucího rozpouštědla (DMF, 2-dimethylaminoethanol nebo chinolin) se solí kovu nebo v tavenině (např. s chloridem bis(chinolináto)zinečnatým) a utvoří makrocyklus (**Schéma 15.**)<sup>327</sup>.

## 7.2. Cyklizační metody přípravy nesymetrických ftalocyaninů a jejich aza-analogů

Zatímco při symetrických syntézách reaguje pouze jedna výchozí látka, u asymetrických metod vstupují do reakce minimálně dva odlišné prekurzory nebo jeden nesymetricky substituovaný prekurzor bez roviny zrcadlové souměrnosti k aromatickému kruhu (např. monosubstituovaný ftalonitril nebo pyridin; viz publikace [P3]). Obecně mají asymetrické Pc oproti symetrickým derivátům řadu výhodnějších fyzikálních a chemických vlastností např. vyšší rozpustnost, bathochromní posun absorpčního Q-pásu nebo možnost specificky vázat molekulu Pc na daný nosič.

### 7.2.1. Syntéza nesymetrických Pc – metoda nesymetrického prekurzoru

Geometrickou kombinací čtyř shodných nesymetrických jednotek ve struktuře ftalocyaninů vznikají čtyři konstituční (polohové) izomery se symetriemi  $C_s$ ,  $D_{2h}$ ,  $C_{2v}$  a  $C_{4h}$  (**Obr. 44.**). Statistická směs těchto čtyř izomerů by teoreticky obsahovala 12,5 %  $D_{2h}$  izomeru, 12,5 %  $C_{4h}$  izomeru, 25 %  $C_{2v}$  a 50 %  $C_s$  izomeru.



**Obr. 44.** Možné polohové izomery vzniklé cyklizací nesymetrického prekurzoru (R je libovolný postranní řetězec).

Pro selektivní přípravu pouze jednoho ze čtyř izomerů mohou být použity následující metody syntézy:

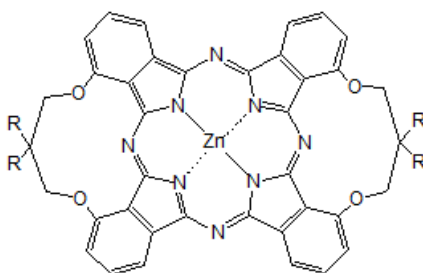
#### ❖ Statistický přístup („statistical approach“)

Úpravou reakčních podmínek, volbou vhodného centrálního kationtu kovu či pozic substituentů na výchozích látkách lze směřovat syntézu pouze k jednomu ze čtyř možných izomerů (obzvláště  $C_{4h}$ ). Toho lze dosáhnout např.

přidáním alkoholátu lithného jako katalyzátoru, použitím kovového nosiče ( $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ) nebo změnou reakční teploty<sup>298</sup>.

#### ❖ Přímý přístup („directed approach“)

Metoda spočívá ve spojení dvou ftalonitrilových jednotek příslušným můstkem, tzv. „spacerem“. Tímto způsobem lze získat především  $D_{2h}$  izomery. Na následujícím **Obr. 45.** je uveden příklad struktury izomeru se symetrií  $D_{2h}$  tvořeného dimerem složeným z dvou ftalonitrilů spojených 2,2-disubstituovaným propan-1,3-diolovým můstkem v pozici C3<sup>328</sup>.



**Obr. 45.** Dimer složený z dvou  $D_{2h}$  ftalonitrilů spojených můstkem.

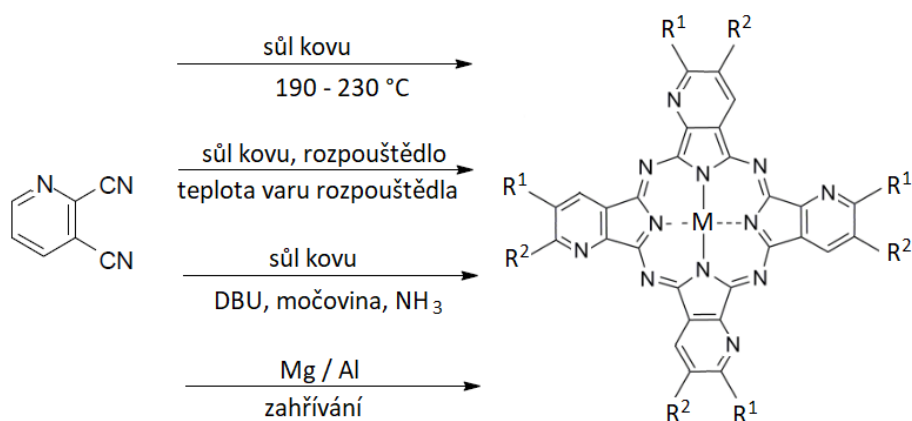
#### ❖ Příprava TPYdPz

Obecně při přípravě tetrapyrrodo-porfyrazinů vzniká směs polohových izomerů se stejnou molekulární hmotností, ale odlišnými chemickými, spektrálními, fotofyzikálními a fotochemickými vlastnostmi (příkladem TPYdPz na **Obr. 34.**). První nesubstituované TPYdPz byly syntetizovány Linsteadem a jeho spolupracovníky v roce 1937 za použití standardní kondenzace 3,4-dikyanopyridinu v prostředí alkoholátu kovu<sup>288</sup>. Další studium a příprava nesubstituovaných a alkyl- substituovaných derivátů 2,3- a 3,4-pyridindikarbonitrilu následovala až počátkem 70. let 20. století<sup>323</sup>. Doposud bylo popsáno několik syntetických metod přípravy TPYdPz vycházející z derivátů pyridin-2,3- nebo pyridin-3,4- dikarboxylové kyseliny. Ačkoli vzhledem k jednodušším postupům čištění jsou preferovány jako prekurzory TPYdPz dikyanopyridiny<sup>329</sup>.

Nejběžnější metodu přípravy bezkovových TPYdPz představuje odkovení hořečnatých nebo lithiových komplexů koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou nebo sírovou<sup>288</sup>. Wöhrle a jeho kolegové popsali syntetický postup přípravy bezkovového TPYdPz reakcí dikyanopyridinu v *N,N*-dimethylaminoethanolu s amoniakem<sup>330</sup>.

Většina z metod přípravy kovových komplexů TPYdPz vychází z pyridin-2,3-dikarbonitrilu nebo pyridin-3,4-dikarbonitrilu jako výchozí látky. Ačkoli byly publikovány i práce zahrnující jiné funkční deriváty pyridindikarboxylové

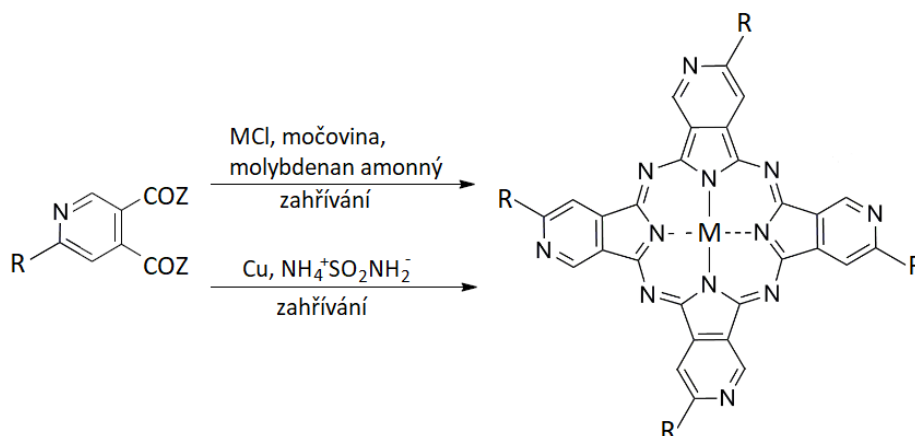
kyseliny, představují oproti výše zmíněným dikarbonitrilům pouze okrajovou část. Při reakci 2,3-dikyanopyridinu s kovovými solemi (bezvodé chloridy nebo octany) bez přítomnosti rozpouštědla při teplotě 190 - 230 °C lze připravit nesubstituované TPdPz. Zatímco substituované a kondenzované heterocyklické dinitrily vyžadují při reakci s kovovými solemi přítomnost výševroucího rozpouštědla (např. trichlorbenzenu, chinolinu, DMF nebo pyridinu)<sup>348</sup>. Přehled metod syntézy 2,3-TPdPz včetně reakčních podmínek je znázorněn na **Schéma 17**. Obdobně mohou být tyto postupy použity k přípravě 3,4-TPdPz, ovšem ne všechny byly dosud popsány.



**Schéma 17.** Metody přípravy 2,3-TPdPz. (M = kation kovu; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> = radikál)

Použitím pyridindikarboxylové kyseliny nebo pyridindiamidu v přítomnosti amoniových bází jako např. močovina, amoniové soli nebo DBU vznikají odpovídající 2,3-TPdPz nebo 3,4-TPdPz<sup>331</sup>, které mají oproti sloučeninám připraveným z dinitrilů horší čistotu a nižší výtěžky (**Schéma 18**). Takto mohou být připraveny sloučeniny, které nelze získat jiným výše popsaným způsobem<sup>332</sup>.

Zahříváním 5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu a VCl<sub>3</sub> v chinolinu po dobu 8 hodin při 150 až 165 °C byl připraven vanadylový komplex tetrakis(5,6-dimethyl-3,4-pyridin)porfyrazinu v 52% výtěžku. Je zajímavé, že podobná reakce s více stericky bráněným 2,5,6-trimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilem k tvorbě odpovídajícího porfyrazinu nevedla.<sup>22</sup>



**Schéma 18.** Metody přípravy publikovaných 3,4-TPydpPz. (M = Cu, VO, nebo Co; R = H, *tert*-butyl; Z = OH nebo NH<sub>2</sub>)

Přítomnost pyridinového atomu dusíku umožňuje tvorbu ve vodě rozpustné kationické formy makrocyclu kvarternizací pomocí dimethylsulfátu<sup>330,333</sup> nebo alkylobromidu<sup>329</sup>.

V literatuře nalezneme odkazy zabývající se přípravou různě asymetrických benzopyridoporfyrazinů kondenzací anhydridu kyseliny pyridinkarboxylové a anhydridu kyseliny ftalové<sup>334</sup>. Ve všech případech byly izolovány TPydpPz jako směs polohových izomerů. Vůbec poprvé byly v roce 2001 odděleny a popsány Sakamotoem a jeho kolegy polohové isomery u zinečnatých komplexů dibenzodipyridoporfyrazinu<sup>335</sup>.

### 7.2.2. Syntéza nesymetrických Pc – metoda dvou různých prekurzorů

Syntéza, do níž vstupují jako prekurzory dva odlišně substituované prekurzory (označované A a B), vede na základě zvolené metody a prekurzorů ke vzniku ftalocyaninů strukturního typu A<sub>3</sub>B nebo A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>, ale i dalších možných kombinací<sup>277</sup>. Syntéza nesymetrických Pc metodou dvou různých prekurzorů může probíhat podle následujících přístupů:

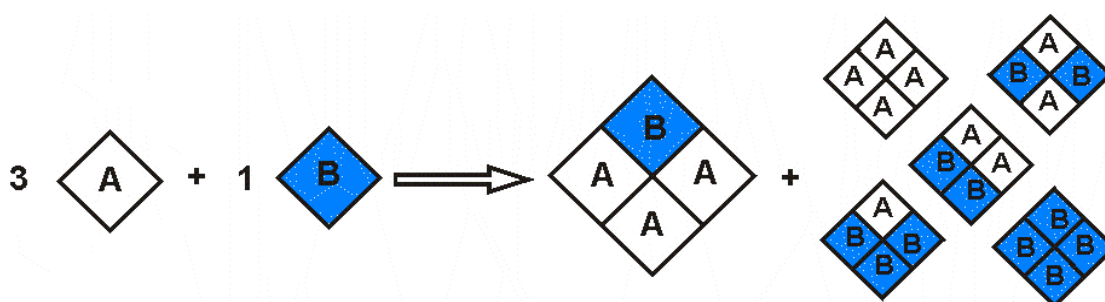
#### ❖ Statistická kondenzace („statistical condensation“)

Cyklotetramerizací dvou výchozích látek A a B lze připravit statistickou směs kongenerů s různě nakombinovanými podjednotkami znázorněné na **Obr. 46**. (AAAA, AAAB, ABAB, AABB, BBBB). Během reakce vzniká řada vedlejších produktů z ostatních kongenerů, které se následně z reakční směsi odstraní separačními, nejčastěji chromatografickými metodami. Statistická kondenzace se obecně užívá pro přípravu A<sub>3</sub>B ftalocyaninů, jejichž syntéza probíhá jinými metodami obtížněji a v nižších výtěžcích<sup>336</sup>. Uplatňuje se



především při přípravě makrocyclů, jejichž podjednotky A nesou donorové skupiny a podjednotky B elektron-akceptorové skupiny, či naopak<sup>337</sup>.

Problém velkého počtu vedlejších produktů, a z toho vyplývajících nižších výtěžků, může být potlačen použitím vhodného stechiometrického poměru prekurzorů či vazbou objemných substituentů na jeden z prekurzorů. Statistickým výpočtem lze zjistit, že reakce dvou různých ftalylderivátů stejné reaktivity v poměru 3:1 poskytne směs produktů v následujícím procentuálním zastoupení: AAAA (33 %), A<sub>3</sub>B (44 %) a další kondenzační produkty (23 %). V praxi se při běžném molárním poměru 3:1 pohybují výtěžky požadované sloučeniny A<sub>3</sub>B pouze v rozmezí 10 - 20 %. Upřednostňuje se použití ftalonitrilů s různým stupněm rozpustnosti nebo jinou lipofilitou, která usnadňuje oddělení nesymetrických Pc díky odlišným chromatografickým vlastnostem.



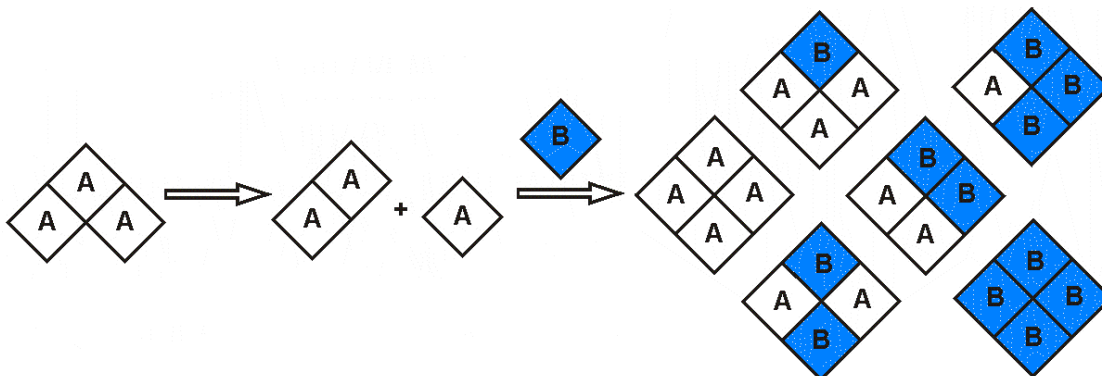
Obr. 46. Metoda statistické kondenzace.

Vazba objemných rigidních substituentů např. *tert*-butylových skupin, substituovaných aromátů nebo uhlovodíkových řetězců v poloze 3 a 6 na jednom z prekurzorů (obvykle na tom v nadbytku) usnadňuje izolaci B<sub>3</sub>A produktu. V důsledku sterického bránění se jednak zvyšuje rozpustnost a snižuje agregace makrocyclů a zároveň spolu nemohou dvě objemné podjednotky A sousedit ani být v jedné rovině, což podporuje tvorbu převážně sloučeniny typu BBBB, BBBA a ABAB.

#### ❖ Subftalocyaninová metoda („subphthalocyanine approach“)

Tato selektivní syntéza nesymetricky substituovaných Pc typu A<sub>3</sub>B byla publikována v roce 1990 Kobayashim a dalšími chemiky<sup>338</sup>. Uvnitř subftalocyaninového kruhu dochází ke geometrickému pnutí, které má v přítomnosti jednotky diiminoisoindolinu nebo sukcinimidu za následek snadné rozštěpí vazeb, čímž dochází k rozšíření kruhu a utvoření Pc. Tato reakce je na rozdíl od předchozí metody vysoce selektivní a umožnila přípravu Pc, které byly dříve nedosažitelné<sup>339</sup>. I přesto, že se jedná o selektivní metodu, vznikají

během syntézy vedlejší produkty, protože může dojít k částečné nebo úplné fragmentaci kruhu subftalocyaninu a následné statistické kondenzaci jednotlivých fragmentů poskytující směs všech šesti možných kongenerů (podle schéma na **Obr. 47.**).

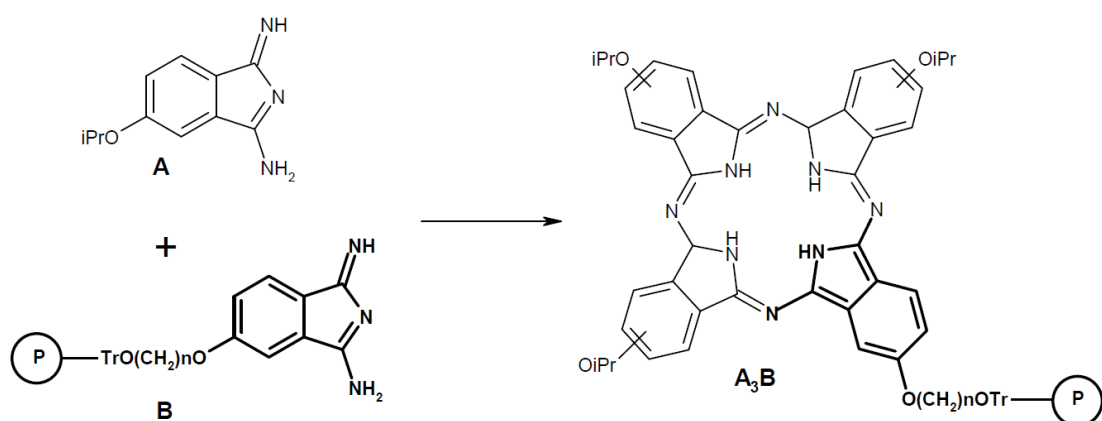


**Obr. 47.** Fragmentace subftalocyaninu během syntézy s následnou statistickou kondenzací.

❖ Metoda s využitím pevné fáze („polymeric support method“)

V roce 1982 publikoval Leznoff práci, v níž představil jednofázovou syntézu  $A_3B$  Pc s využitím polymeru<sup>340</sup>. Vhodně substituovaný ftalonitril (B) navázaný na nerozpustný polymerní nosič podrobil reakci s odlišně substituovaným volným ftalonitrilem (A), čímž získal  $A_3B$  ftalocyanin navázaný na pevné fázi (**Schéma 19.**).

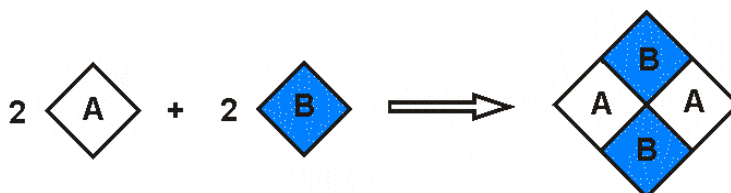
Reakcí vzniklé vedlejší produkty AAAA ftalocyaniny mohou být jednoduše ze směsi odstraněny promytím pevné fáze ve vhodném rozpouštědle. Na závěr jsou  $A_3B$  Pc odštěpeny z polymerní fáze za vzniku finálního produktu.



**Schéma 19.** Syntéza Pc s využitím pevné fáze (Tr = trityl, P = pevná fáze).

❖ Syntéza příčně substituovaných ABAB Pc („cross condensation“)

Příprava příčně substituovaných ABAB derivátů je poměrně náročná, protože kongenery ABAB a AABB jsou vzhledem k podobné rozpustnosti často eluovány ve stejné frakci a dají se tak ze statistické směsi od sebe velmi obtížně izolovat. Přesto byly v posledních desetiletích nalezeny specifické metody přípravy pouze jednoho ze dvou polohových izomerů.



Obr. 48. Příprava ABAB Pc metodou „cross condensation“.

V roce 1990 patentoval Young a jeho kolegové<sup>341</sup> metodu selektivní syntézy  $D_{2h}$  symetrických derivátů, z níž vycházela i příprava ABAB makrocyclů tzv. „cross couplingem“<sup>342</sup>. Jako prekurzory použili ekvivalentní množství 1,3-diiminoisindolinu (A) a 1,3,3-trichlorisindoleninu (B) (Schéma 20.). Při mírných reakčních podmínkách v přítomnosti báze a redukčního činidla se výtěžek pohyboval poměrně vysoko (kolem 50 %).

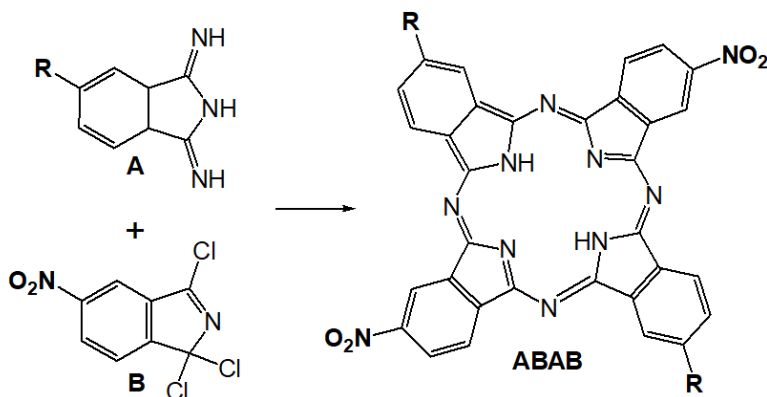
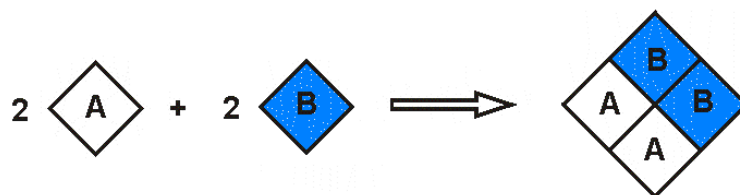


Schéma 20. Příprava ABAB Pc popsaná Youngem a kol. (R = radikál)

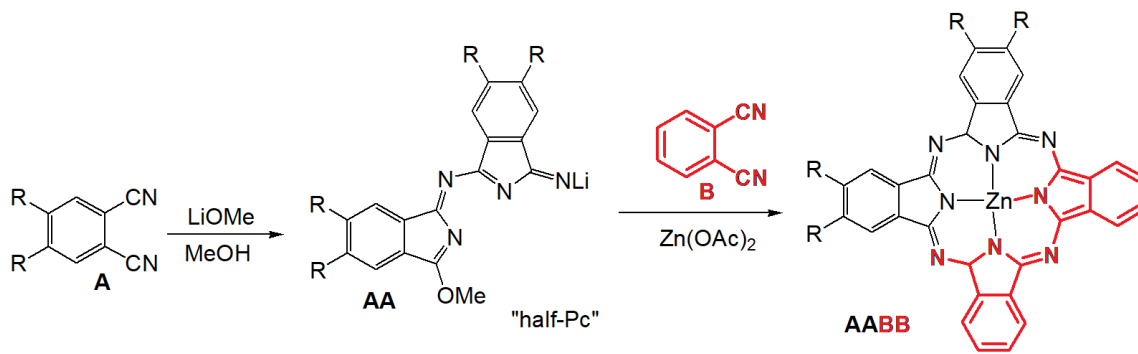
❖ Syntéza souměrně substituovaných AABB Pc („adjacent Pc“)



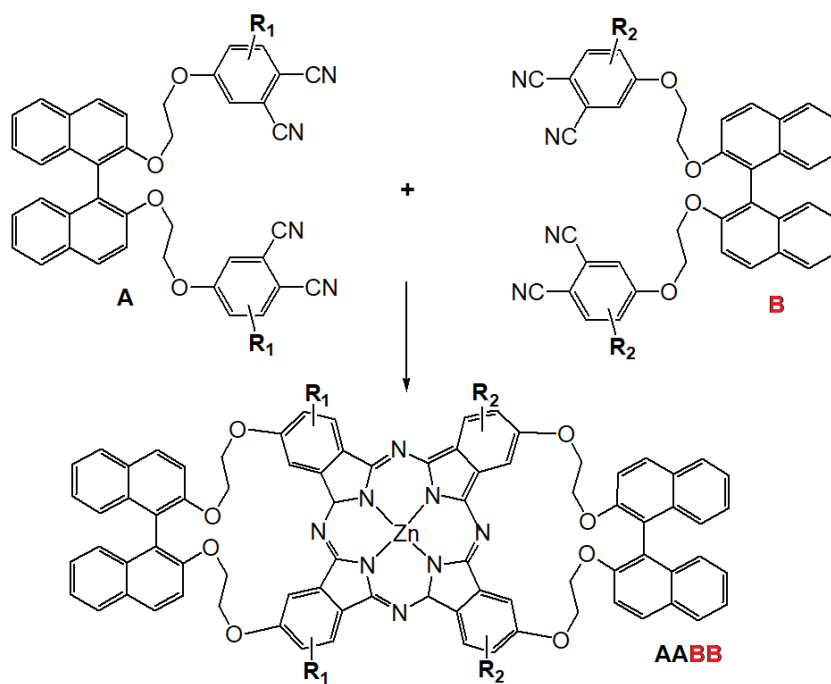
Obr. 49. Metoda přípravy „adjacent Pc“.

Příprava Pc typu AABB byla popsána Leznoffem a jeho spolupracovníky<sup>343</sup> za použití meziprojektu tzv. polovičního ftalocyaninu (AA) (angl. „half-Pc“), který byl podroben reakci s odlišně substituovaným ftalonitrilem (B) za velmi mírných podmínek (**Schéma 21.**). Příprava stabilního a izolovatelného meziprojektu vyžaduje použití ftalonitrilů se substituenty silně odtahující elektrony. Reakcí takto substituovaného ftalonitrilu byl získán AABB produkt ve výsledném výtěžku okolo 20 %.

Dalším způsob přípravy izomeru AABB zavedl Kobayashi<sup>344</sup>. Podobně jako u syntézy „directed approach“ použil 2 jednotky spojené „spacerem“. Vycházel z prekursoru bis(ftalonitrilu) (A) spojeného přes řetězec (např. 2,2'-dihydroxy-1,1'-binaftyl). Po přidání odlišně substituovaného ftalonitrilu (B) docházelo vlivem velkého pnutí v molekulách reaktantů k tvorbě energeticky výhodnějšího Pc typu AABB ve výtěžku kolem 20–25 % (**Schéma 22.**).



**Schéma 21.** Příprava AABBPc z half-Pc intermediátu publikovaná Leznoffem a kol. R = radikál



**Schéma 22.** Příprava AABBPc podle práce Kobayashiho.

## 8. Experimentální část

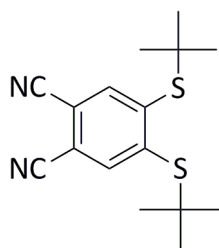
Popisuje postupy syntetických prací, analytická data a charakterizace jednotlivých sloučenin. U látek, které byly již publikovány v odborné literatuře, vycházela příprava z popsaných postupů a v textu jsou uvedeny pouze s odkazem na příslušný zdroj. Prezentovány jsou případné obměny v postupech vedoucí k zvýšení výtěžku či zjištěná nová data.

### 8.1. Příprava ftalocyaninových analogů s odlišnou periferní substitucí pro studium ICT [P2]

#### 8.1.1. Příprava prekurzorů 1-5– deriváty ftalonitrilu a dikyanopyrazinu

Sloučeniny 5,6-bis-*tert*-butylsulfanyl-pyrazin-2,3-dikarbonitril (**1**)<sup>281</sup>, 4-[(3-chlor-5,6-dikyanopyrazin-2-yl)methylamino]benzoová kyselina (**4**)<sup>345</sup> a 4-[(5,6-dikyano-3-diethylaminopyrazin-2-yl)methylamino]benzoová kyselina (**5**)<sup>345</sup> byly připraveny podle literatury a všechna analytická data odpovídala uváděným hodnotám.

##### 8.1.1.1. Syntéza 4,5-bis-*tert*-butylsulfanyl-ftalonitrilu (**2**)

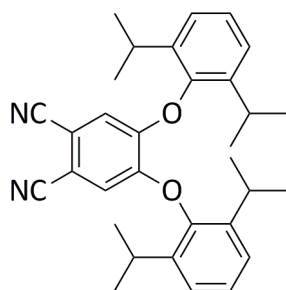


Podmínky syntézy byly upraveny z dříve popsané metody<sup>281,346</sup>.

Do tříhrdlé baňky byla vpravena 60% (v/v) disperze hydridu sodného (0,42 g; 17,5 mmol), homogenizována ultrazvukem a opakovaně sycena argonem. Disperze byla několikrát promyta benzínem, který byl odsát pipetou. Vysušený NaH byl dispergován v 50 ml bezvodého DMF a za stálého míchání bylo do ledovou lázní chlazené směsi přes septum po kapkách přidáno 1,034 ml 2-methylpropan-2-thiolu (9,2 mmol). Po ukončení vývoje plynu (H<sub>2</sub>) bylo do směsi přisypáno 1,253 g Cu<sub>2</sub>O (8,8 mmol) a 1,046 g 4,5-dichlorbenzen-1,2-dinitrilu (5,3 mmol). Reakční směs byla za stálého míchání ohřívána 30 minut

na glycerolové lázni při 90°C pod atmosférou argonu. Dalších 30 minut byla reakční směs za stálého míchání pozvolna chlazena, aby nakonec mohla být nalita do ledové vody. Vzniklá růžová směs byla chlazena 10 hodin při teplotě 8° C a následně přefiltrována k oddělení Cu<sub>2</sub>O a produktu. Zbytek na filtračním papíře, všechny použité filtrační papíry i filtrát byly opakovaně vytřepány do chloroformu (4x30 ml). Spojené organické výtřepky byly vysušeny bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rozpouštědlo odpařeno. Obdržený surový produkt byl chromatograficky přečištěn na silikagelu za použití mobilní fáze chloroform/toluen 2:1. Po odpaření žádaných frakcí byla získána nažloutlá krystalická látka, která byla za použití aktivního uhlí překrytalizována z horkého methanolu. Výtěžek 582 mg (36%) bílé krystalické látky. T.t. 157,7-158,1 °C (dle literatury 150-152 °C)<sup>281</sup>. NMR spektra vykazují stejné charakteristiky, jaké jsou popsány v literatuře<sup>281</sup> pro stejnou sloučeninu připravenou za použití odlišného přístupu při výtěžku 25%.

#### 8.1.1.2. Syntéza 4,5-di(2,6-diisopropylfenoxy)ftalonitrilu (3)



Podmínky syntézy byly upraveny z dříve popsané metody<sup>347,348</sup>.

K roztoku 2,6-diisopropylfenolu (1,07 g; 6 mmol) v 20 ml bezvodého dimethylsulfoxidu (DMSO) byl vpraven 4,5-dichlorftalonitril (197 mg; 1 mmol) a po pětiminutových intervalech byl do směsi přidáván nejmenno rozetřený K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (8x 276,4 mg; 2 mmol). Reakční směs byla zahřívána na olejové lázni při teplotě 90 °C pod vzdušným chladičem po dobu 24 hodin. Po ukončení reakce byla směs ochlazená na vzduchu a několikrát vytřepána do soustavy voda/ethylacetát. Organická část byla odpařena a chromatograficky přečištěna na koloně za použití mobilní fáze toluen/benzín 2:1. Výsledný produkt byl za použití aktivního uhlí překrytalizován z horkého methanolu. Výtěžek 216 mg (45%) bílé krystalické látky. T.t. 181,8-183,3 °C. NMR spektra vykazují stejné charakteristiky, jaké jsou popsány v literatuře<sup>347</sup>.

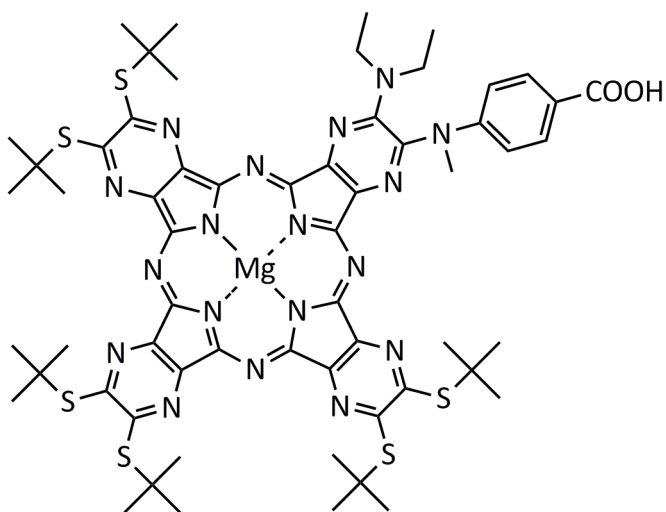
### 8.1.2. Příprava nesymetrických Pc a TPyzPz 6-11 metodou statistické kondenzace

Symetrické ftalocyaniny (**10-11**) a azaftalocyanin (**9**) byly připraveny v naší laboratoři podle níže uvedených obecných postupů pro deriváty (**6-8**) cyklizací jednoho prekurzorů a jsou součástí publikované práce<sup>273</sup>.

#### 8.1.2.1. Syntéza hořečnatých komplexů Pc a TPyzPz (**6Mg-8Mg**)

Obecný postup pro syntézu (**6Mg-8Mg**) vycházel z reakce hořčíku (28 ekv.) s malým krystalem jodu, která byla zahřívána při teplotě 130 °C pod zpětným chladičem v prostředí bezvodého butanolu po dobu 3 hodin. Po uplynutí této doby byla do směsi vpravena sloučenina (**5**) v jednoekvimolárním množství. Druhý prekurzor (**1**, **2** nebo **3**, 3 ekv.) byl přidán ve třech stejných částech po 30 minutách a zahříván dalších 20 hodin. Směs byla na vzduchu ochlazená a po odpaření rozpouštědla za sníženého tlaku byla míchána s 50% roztokem kyseliny octové (v/v) za laboratorní teploty 30 minut. Vzniklá tmavá pevná směs byla zfiltrována, promyta 50% kyselinou octovou (v/v) a vodou a vysušena na vzduchu. Směs kongenerů byla oddělena sloupcovou chromatografií na silikagelu (eluenty jsou uvedeny níže) za vzniku hořečnatých komplexů **6Mg** až **8Mg** ve formě zelených pevných látek.

#### ❖ Hořečnatý komplex TPyzPz (**6Mg**)

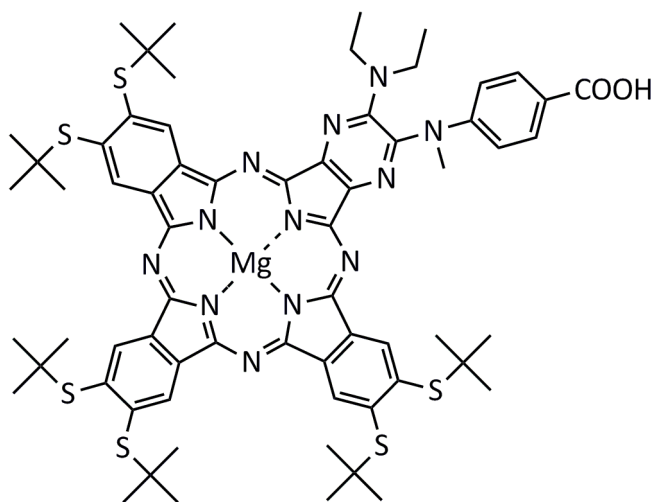


Výchozí látky : (**1**) (460 mg; 1,5 mmol) a (**5**) (175 mg; 0,5 mmol), eluent: chloroform/aceton/methanol (40:2:1), výtěžek: 96 mg (15%).  $\lambda_{\max}$  THF, 1  $\mu\text{M}$ /nm ( $\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 655 (189 500); 595 (30 700); 382 (119 900).  $^1\text{H NMR}$



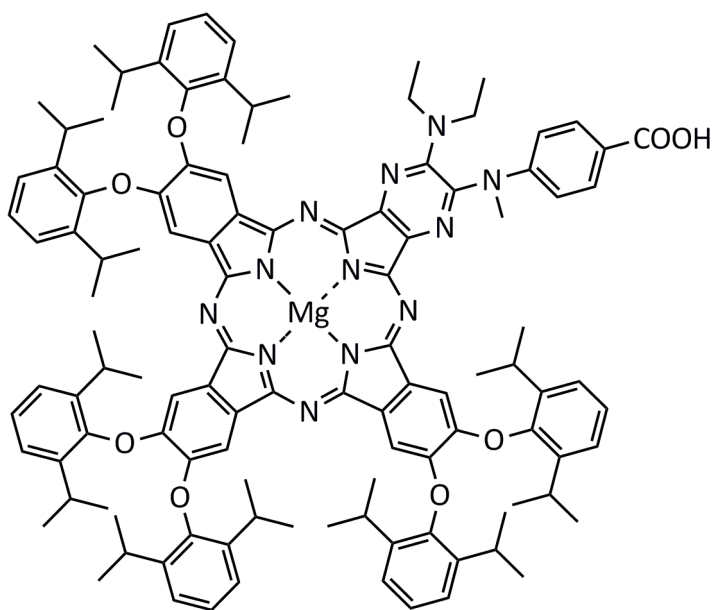
(300 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$  = 8,51 (d,  $J$  = 8,2 Hz, 2H, ArH); 7,24 (d,  $J$  = 8,2 Hz, 2H, ArH); 3,99 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3,85–3,74 (m, 4H, N-CH<sub>2</sub>); 2,31–2,16 (m, 45H, CH<sub>3</sub>); 2,12 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,30–1,20 (m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$  = 158,13; 145,47; 131,22; 117,88; 51,31; 51,27; 51,21; 51,17; 44,42; 38,45; 30,76; 13,40 ppm; některé aromatické signály nebyly detekovány.  $m/z$  (MALDI TOF) 1292,40 [M]<sup>+</sup>; 1315,38 [M + Na]<sup>+</sup>; 1331,36 [M + K]<sup>+</sup>.

❖ Hořečnatý komplex Pc (7Mg)



Výchozí látky : **(2)** (730 mg; 2,4 mmol) a **(5)** (280 mg; 0,8 mmol), eluent: chloroform/aceton/methanol (20:1:1), výtěžek: 75 mg (7%).  $\lambda_{max}$  THF, 1  $\mu$ M/ nm ( $\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$ ): 690 (229 800); 623 (38 800); 373 (86 900). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$  = 10,21 (s, 1H, ArH-Pc); 10,19–10,15 (m, 4H, ArH-Pc); 10,14 (s, 1H, ArH-Pc); 8,45 (d,  $J$  = 8,2 Hz; 2H, ArH-fenylamino); 7,21–7,17 (m, 2H, ArH-fenylamino); 3,91 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3,79 (q,  $J$  = 7,1 Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>); 1,64 (s, 18H, CH<sub>3</sub>); 1,63–1,60 (m, 18H, CH<sub>3</sub>); 1,58 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,50 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,15 (t,  $J$  = 7,1 Hz, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$  = 168,99; 155,25; 155,17; 154,96; 154,68; 154,42; 153,81; 152,84; 151,01; 146,85; 146,39; 142,85; 142,21; 142,13; 141,80; 141,70; 141,39; 139,08; 138,98; 138,95; 138,80; 132,84; 132,18; 131,60; 131,50; 131,44; 131,36; 131,16; 124,75; 117,20; 48,78; 48,73; 48,69; 48,63; 44,03; 39,03; 31,39; 13,28 ppm; některé aromatické signály nebyly detekovány.  $m/z$  (MALDI TOF) 1286,39 [M]<sup>+</sup>; 1309,38 [M + Na]<sup>+</sup>; 1325,35 [M + K]<sup>+</sup>.

❖ Hořečnatý komplex Pc (**8Mg**)

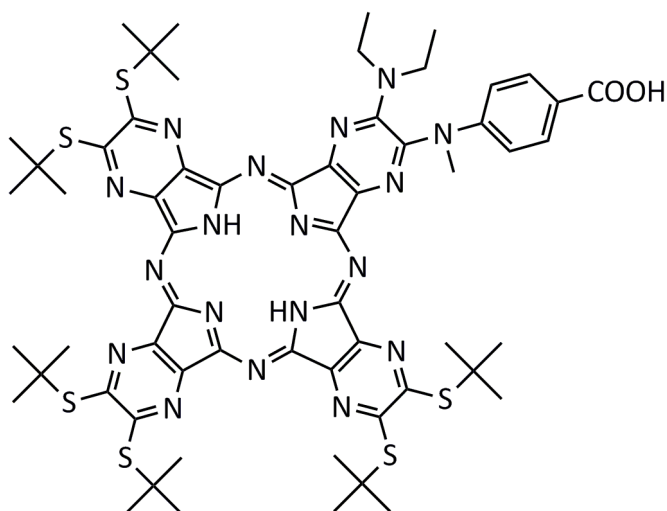


Výchozí látky : (**3**) (1440 mg; 3 mmol) a (**5**) (350 mg; 1 mmol), eluent: chloroform/aceton/methanol (20:1:1), výtěžek: 200 mg (11%).  $\lambda_{\max}$  THF, 1  $\mu\text{M}$ /nm ( $\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 680 (148 300); 608 (24 600); 363 (80 950).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ = 9,05 (s, 1H, ArH-Pc); 8,98 (s, 1H, ArH-Pc); 8,75–8,65 (m, 4H, ArH-Pc); 8,47 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H, ArH-fenylamino); 7,97–7,85 (m, 4H, ArH-fenoxy); 7,77–7,40 (m, 14H, ArH-fenoxy); 7,08 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H, ArH-fenylamino); 3,90–3,41 (m, 19H, CH, N-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>3</sub>), 1,58–1,00 (m, 78H, CH<sub>3</sub>) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$ = 169,15; 155,26; 155,15; 155,00; 154,70; 153,20; 152,01; 151,26; 151,23; 151,19; 151,13; 142,25; 142,10; 141,81; 140,86; 134,24; 134,17; 133,76; 133,70; 133,66; 133,57; 131,22; 127,43; 127,30; 125,73; 125,58; 116,88; 108,15; 108,10; 107,89; 44,24; 37,89; 28,00; 24,31; 22,81; 13,27 ppm; některé aromatické signály nebyly detekovány.  $m/z$  (MALDI TOF) 1814,81 [ $\text{M}$ ]<sup>+</sup>; 1837,80 [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>; 1853,77 [ $\text{M} + \text{K}$ ]<sup>+</sup>.

### 8.1.2.2. Syntéza bezkovových komplexů Pc a TPyzPz (**6H-8H**)

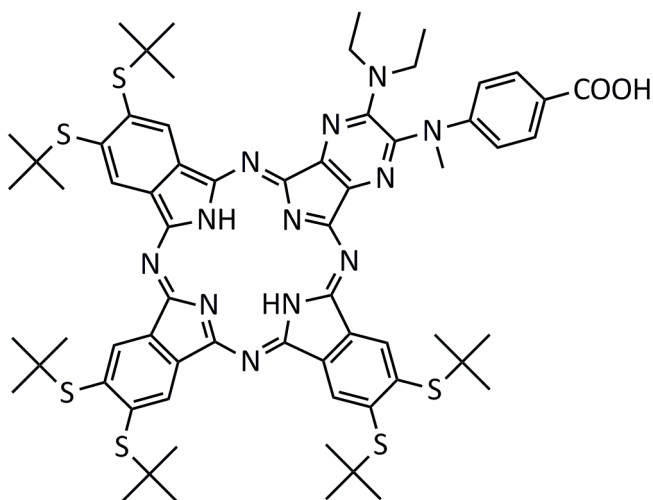
Obecný postup pro syntézu (**6H-8H**) vycházel z hořečnatého komplexu (**6Mg**, **7Mg**, resp. **8Mg**, 1 ekv.), který byl rozpuštěn v chloroformu a míchán při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny s kyselinou (kyselinou trifluoroctovou v chloroformu pro **7Mg** a **6Mg**, resp. kyselinou *p*-toluensulfonovou v THF pro **8Mg**, 15 ekv.). Následně bylo rozpouštědlo odpařeno za sníženého tlaku, surový produkt byl promyt vodou a přečištěn sloupcovou chromatografií (eluenty jsou uvedeny níže). Byly získány výsledné produkty **6H-8H** ve formě tmavě zelené pevné látky.

❖ Bezkovový komplex TPyzPz (6H)



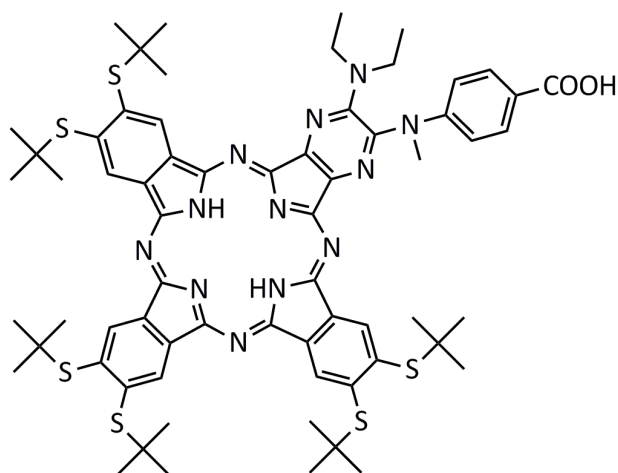
Výchozí látka : (**6Mg**) (60 mg; 0,05 mmol), eluent: toluen/chloroform/pyridin (80:10:1), výtěžek: 56 mg (94%).  $\lambda_{\text{max}}$  THF, 1  $\mu\text{M}$ / nm ( $\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 674 (106 300); 648 (90 900), 618sh, 593 (31 000), 551 (27 800), 474 (40 800); 366 (101 700).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ = 12,60 (s, 2H, NH); 8,62 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 2H, ArH); 7,54 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 2H, ArH); 4,27 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3,99 (q,  $J$  = 7,2 Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>); 2,30 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 2,26 (s, 18H, CH<sub>3</sub>); 2,23 (s, 27H, CH<sub>3</sub>); 1,45–1,36 (m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$ = 168,92; 159,64; 159,56; 159,39; 159,14; 158,48; 158,44; 152,75; 147,61; 145,07; 144,83; 131,25; 126,23; 119,24; 51,93; 51,91; 51,43; 51,38; 51,30; 44,69; 39,18; 30,82; 30,72; 13,56 ppm; některé aromatické signály nebyly detekovány.  $m/z$  (MALDI TOF) 1270,42 [ $\text{M}$ ]<sup>+</sup>, 1293,41 [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>, 1309,38 [ $\text{M} + \text{K}$ ]<sup>+</sup>.

❖ Bezkovový komplex Pc (7H)



Výchozí látka : **(7Mg)** (42 mg; 0,033 mmol), eluent: chloroform/aceton/methanol (20:1:1), výtěžek: 40 mg (97%).  $\lambda_{\max}$  THF, 1  $\mu\text{M}$ /nm ( $\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 715 (143 800); 684 (130 500); 655 (46 000); 624 (33 900); 549 (21 000); 352 (79 700).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ = 10,00 (s, 1H, ArH-Pc); 9,98 (s, 1H, ArH-Pc); 9,91 (s, 1H, ArH-Pc); 9,90 (s, 1H, ArH-Pc); 9,88 (s, 1H, ArH-Pc); 9,81 (s, 1H, ArH-Pc); 8,61 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 2H, ArH-fenylamino); 7,49 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 2H, ArH-fenylamino); 4,04 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3,89–3,78 (m, 4H, N-CH<sub>2</sub>); 1,76 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,75 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,74 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,72 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,66 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,59 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,21–1,14 (m, 3H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); -0,65 (s, 2H, NH) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$ = 168,90; 153,35; 144,14; 143,82; 143,47; 143,04; 142,12; 131,39; 119,04; 49,13; 49,06; 48,99; 48,90; 48,78; 48,66; 43,84; 39,74; 31,48; 31,47; 31,43; 31,42; 13,13 ppm; některé aromatické signály nebyly detekovány.  $m/z$  (MALDI TOF) 1264,40 [M]<sup>+</sup>.

❖ Bezkovový komplex Pc (**8H**)



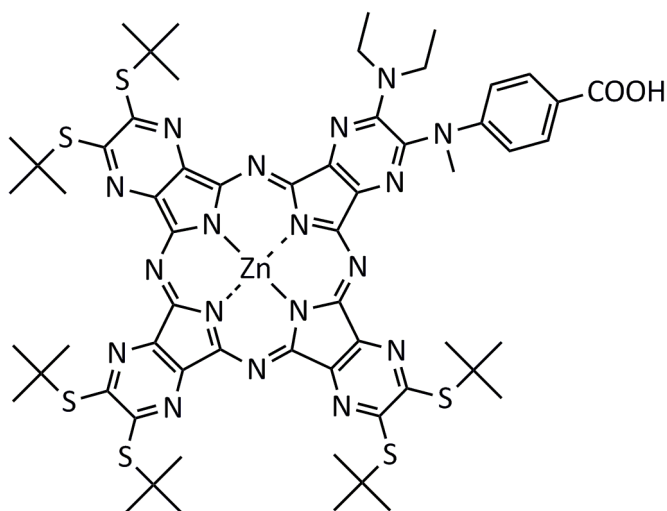
Výchozí látka : **(8Mg)** (154 mg; 0,084 mmol), eluent: chloroform/aceton/methanol (80:2:1), výtěžek: 103 mg (68%).  $\lambda_{\max}$  THF, 1  $\mu\text{M}$ /nm ( $\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 700 (59 800); 662 (50 600); 637 (24 600); 606 (13 700); 506 (7200); 353 (42 700).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ = 9,01 (s, 1H, ArH-Pc); 8,94 (s, 1H, ArH-Pc); 8,68–8,63 (m, 4H, ArH-Pc); 8,52 (d,  $J$  = 8,8 Hz, 2H, ArH-fenylamino); 7,94 (t,  $J$  = 7,8 Hz, 4H, ArH-fenoxy); 7,75 (d,  $J$  = 7,8 Hz, 8H, ArH-fenoxy); 7,70–7,52 (m, 6H, ArH-fenoxy); 7,21–7,15 (m, 2H, ArH-fenylamino); 3,91–3,67 (m, 10H, CH); 3,66–3,56 (m, 7H, N-CH<sub>2</sub>, N-CH<sub>3</sub>); 3,45–3,30 (m, 2H, CH); 1,58–1,20 (m, 72H, CHCH<sub>3</sub>); 1,20–1,11 (m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); -0,71 (s, 2H, NH) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$ = 169,06; 152,53; 152,09; 152,04; 151,92; 151,84; 149,23; 142,17; 142,07; 142,04; 142,00;

141,77; 141,32; 134,80; 132,37; 131,73; 131,23; 127,62; 127,51; 127,34; 125,86; 125,83; 125,73; 125,43; 125,13; 117,72; 108,13; 107,93; 44,26; 38,20; 28,03; 27,82; 27,78; 24,31; 23,04; 13,19 ppm; některé aromatické signály nebyly detekovány.  $m/z$  (MALDI TOF) 1792,76  $[M]^+$ ; 1815,72  $[M + Na]^+$ ; 1831,70  $[M + K]^+$ .

### 8.1.2.3. Syntéza zinečnatých komplexů Pc a TPyzPz (6Zn-8Zn)

Bezvodové deriváty (**6H**, **7H**, resp. **8H**, 1 ekv.) byly rozpuštěny v pyridinu s bezvodým octanem zinečnatým (15-20 ekv.). Směs byla vložena do předehřáté olejové lázně na 130 °C a míchána při této teplotě po dobu 2,5 hodiny. Následně bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku a zbytek po odpaření v podobě tmavé pevné látky byl důkladně promyt vodou. Nakonec byl produkt přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (eluenty jsou uvedeny níže), požadované frakce byly spojeny a odpařeny za sníženého tlaku za vzniku zelené pevné látky (**6Zn-8Zn**).

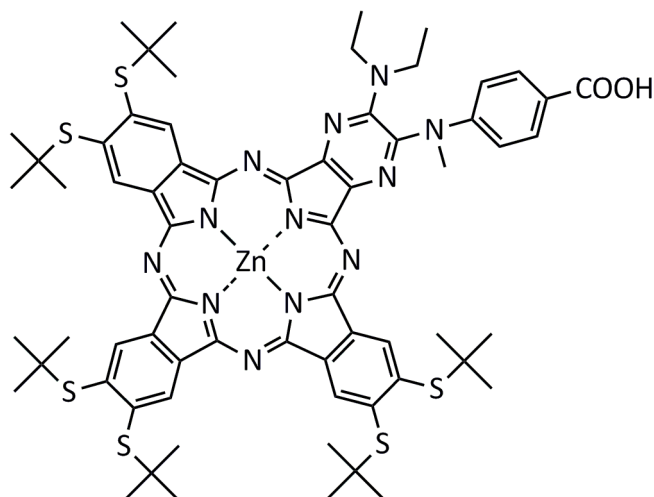
#### ❖ Zinečnatý komplex TPyzPz (**6Zn**)



Výchozí látka : (**6H**) (40,0 mg; 0,03 mmol), eluent: chloroform /aceton/methanol (40:2:1), výtěžek: 37 mg (88%).  $\lambda_{max}$  THF, 1  $\mu M$ / nm ( $\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$ ): 654 (177 100); 594 (29 500); 377 (108 500).  $^1H$  NMR (300 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$ = 8,53 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 2H, ArH); 7,29 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 2H, ArH); 4,03 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3,84 (q,  $J$  = 7,1 Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>); 2,29–2,22 (m, 45H, CH<sub>3</sub>); 2,14 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,34–1,21 (m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm.  $^{13}C$  NMR (75 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$ = 168,89; 159,20; 158,90; 158,44; 158,40; 158,16; 158,05; 153,01; 152,41; 152,22; 151,91; 151,35; 151,11; 150,99; 150,72; 150,70; 147,03; 146,25;

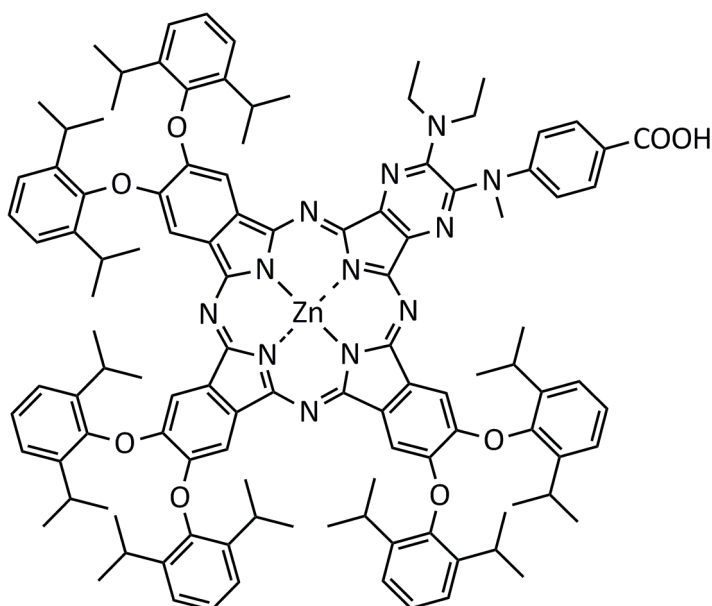
145,34; 145,12; 145,00; 144,77; 144,75; 144,69; 141,58; 131,25; 125,22; 118,02; 51,35; 51,28; 44,51; 38,50; 30,74; 29,98; 13,40 ppm.  $m/z$  (MALDI TOF) 1332,33  $[M]^+$ ; 1355,32  $[M + Na]^+$ ; 1371,29  $[M + K]^+$ .

❖ Zinečnatý komplex Pc (**7Zn**)



Výchozí látka : (**7H**) (31,3 mg; 0,025 mmol), eluent: chloroform /aceton/methanol (20:1:1), výtěžek: 21 mg (62%).  $\lambda_{\max}$  THF, 1  $\mu\text{M}$ / nm ( $\epsilon/\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ): 689 (267 800); 622 (45 300); 365 (97 100).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ = 10,21 (s, 1H, ArH-Pc); 10,17 (s, 2H, ArH-Pc); 10,16 (s, 2H, ArH-Pc); 10,14 (s, 1H, ArH-Pc); 8,47 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 2H, ArH-fenylamino); 7,22 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 2H, ArH-fenylamino); 3,94 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3,81 (q,  $J$  = 7,1 Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>); 1,66 (s, 18H, CH<sub>3</sub>); 1,64 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,63 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,60 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,51 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,21–1,14 (m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$ = 168,95; 155,41; 155,31; 155,13; 154,81; 154,59; 153,97; 152,94; 151,26; 146,64; 146,41; 143,13; 142,41; 142,33; 142,31; 141,90; 141,52; 141,35; 138,49; 138,38; 138,33; 138,19; 132,64; 131,90; 131,36; 130,82; 117,40; 48,85; 48,83; 48,78; 48,74; 48,67; 44,06; 39,09; 31,38; 31,35; 13,26 ppm; některé aromatické signály nebyly detekovány.  $m/z$  (MALDI TOF) 1326,28  $[M]^+$ ; 1349,25  $[M + Na]^+$ .

❖ Zinečnatý komplex Pc (**8Zn**)



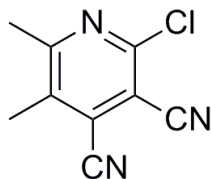
Výchozí látka : (**8H**) (88,2 mg; 0,05 mmol), eluent: chloroform /aceton/methanol (20:1:1), výtěžek: 42 mg (46%).  $\lambda_{\max}$  THF, 1  $\mu\text{M}$ / nm ( $\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 678 (301 900); 607 (34 200); 359 (96 100).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$  = 9,04 (s, 1H, ArH-Pc); 8,97 (s, 1H, ArH-Pc); 8,74–8,64 (m, 4H, ArH-Pc); 8,49 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 2H, ArH-fenylamino); 7,95–7,88 (m, 4H, ArH-fenoxy); 7,77–7,46 (m, 14H, ArH-fenoxy); 7,10 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 2H, ArH-fenylamino); 3,85–3,66 (m, 12H, CH); 3,62 (q,  $J$  = 7,0 Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>); 3,55 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 1,57–1,06 (m, 78H, CH<sub>3</sub>) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, pyridin- $d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$  = 169,15; 155,15; 155,03; 154,90; 154,58; 153,89; 153,16; 152,07; 151,39; 151,36; 151,33; 151,29; 151,24; 149,35; 148,88; 145,82; 145,63; 142,26; 142,15; 142,12; 142,11; 141,82; 140,53; 135,99; 133,85; 133,77; 133,33; 133,29; 133,23; 133,15; 131,22; 127,50; 127,45; 127,34; 127,28; 125,77; 125,74; 125,66; 125,60; 124,38; 117,03; 108,28; 108,05; 108,00; 107,76; 44,31; 37,92; 28,02; 24,62; 22,90; 13,29 ppm; některé aromatické signály nebyly detekovány.  $m/z$  (MALDI TOF) 1854,63 [ $\text{M}$ ]<sup>+</sup>; 1877,61 [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>; 1893,59 [ $\text{M} + \text{K}$ ]<sup>+</sup>.

## 8.2. Příprava heteroatom- substituovaných tetra(3,4-pyrido)-porfyrinů [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.]

### 8.2.1. Příprava prekurzorů 12-16– deriváty tetra(3,4-pyrido)-porfyrinů

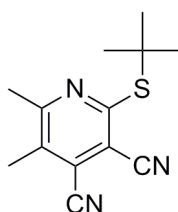
Prekurzor (**16**) byl připraven reakcí (**12**) s diethylaminoethanhiol hydrochloridem v naší laboratoři. Postup syntézy a analytická data všech sloučenin jsou uvedeny v příloze „Supporting Information“(SI) k publikaci [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.] **kap.** Chyba! Nenalezen zdroj odkazů..

#### 8.2.1.1. Syntéza 2-chlor-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (**12**)



K roztoku butan-2-onu (675 mg; 9,36 mmol) v 1,4-dioxanu (20 ml) byl přidán tetrakynoethylen (1 g, 7,8 mmol). Do směsi byla pomalu přikapávána koncentrovaná kyselina chlorovodíková (8 ml) a reakce byla zahřívána na 65 °C po dobu 2 hodin. Unikající vysoce toxický HCN byl jímán do pojistné láhve s alkalickým roztokem FeSO<sub>4</sub>. Po ukončení reakce byla směs zředěna vodou (150 ml), sraženina byla oddělena a kapalný zbytek byl třikrát extrahován ethylacetátem. Organická vrstva byla sušena bezvodým Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rozpouštědlo bylo za sníženého tlaku odpařeno. Sloučené surové produkty (sraženina a organická vrstva z extrakce) byly čištěny sloupcovou chromatografií na silikagelu s mobilní fází toluen/acetón 20: 1 (alternativně může být jako eluent použit chloroform) a rekrystalizovány z propan-2-olu za vzniku bílých jehel. (763 mg, 51 %). R<sub>f</sub> (toluen/acetón 20:1) = 0,49; R<sub>f</sub> (benzín/ethylacetát 5:1) = 0,18; R<sub>f</sub> (chloroform) = 0,56. T. t. 75,7-76,6 °C; IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 2236 (CN); 1562; 1540; 1387; 1275; 992; 889 a 806; elementární analýza pro C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>N<sub>3</sub>Cl nalezeno (%): C 56,4; H 3,3; N 21,7; požadováno (%): C 56,4; H 3,2; N 21,9. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>= 2,56 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 2,66 (3H, s, CH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>= 17,3; 23,7; 109,2; 112,4; 112,7; 125,9; 134,3; 150,1; 164,4 ppm. Analytická data odpovídají publikovaným hodnotám pro tuto sloučeninu<sup>349</sup>.

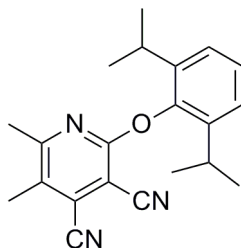
#### 8.2.1.2. Syntéza 2-(*tert*-butylsulfanyl)-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (**13**)





Roztok 1,77 ml (15,7 mmol) 2-methylpropan-2-thiolu v tetrahydrofuranu (30 ml) byl míchán při laboratorní teplotě s 9,12 ml vodného roztoku NaOH (1,0 mol / dm<sup>3</sup>) po dobu 30 min. Poté byl po kapkách přidáván roztok (**12**) (600 mg; 3,13 mmol) v 15 ml tetrahydrofuranu. Reakční směs byla míchána dalších 30 minut, poté bylo rozpouštědlo za sníženého tlaku odpařeno a zbytek byl několikrát promyt vodou. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu s mobilní fází toluen/aceton 20:1. Byl získán produkt (**13**) ve formě bílé pevné látky (707 mg, 92%). R<sub>f</sub> (toluen/aceton 20:1) = 0,70. T.t. 130,1-130,8 °C; IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 2966; 2929; 2222 (CN); 1552; 1457; 1390; 1362; 1263; 1232; 1163; 1007; 884 a 806; elementární analýza pro C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>S nalezeno (%): C 63,6; H 6,1; N 16,9; požadováno (%): C 63,6; H 6,2; N 17,1. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>= 1,62 (9H, s, tBu); 2,47 (3H, s, CH<sub>3</sub>); 2,62 (3H, s, CH<sub>3</sub>) ppm. <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>= 17,0; 23,8; 30,3; 50,4; 106,9; 113,4; 113,5; 124,4; 129,5; 161,9; 162,1 ppm.

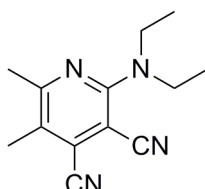
### 8.2.1.3. Synthéza 2-(2,6-diisopropylfenoxy)-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (**14**)



Fluorid cesný (2,38 g, 15,7 mmol) byl vysušen při 300 °C ve vakuu. Po ochlazení na laboratorní teplotu byl vpraven do baňky nasycené argonem a přes septum bylo přidáno 1,12 g (6,26 mmol) 2,6-diisopropylfenolu ve 20 ml bezvodého DMF. Sloučenina **12** (1,00 g, 5,2 mmol) byla rozpuštěna v bezvodém DMF (20 ml) pod atmosférou argonu a byla nakapána přes septum k suspenzi fluoridu cesného s 2,6-diisopropylfenolem v DMF. Roztok okamžitě změnil barvu na fialovou a reakční směs byla míchána další 2 hodiny při laboratorní teplotě. Poté byla do směsi nalita voda (200 ml), fialová sraženina byla oddělena filtrací a důkladně promyta vodou. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu s benzínem/ethylacetátem 5:1 jako eluentem a překrystalován z benzínu. Výtěžek 1,19 g (68%) lesklých bílých krystalů. R<sub>f</sub> (benzín/ethylacetát 5:1) = 0,44. T. 152,7-153,8 °C; IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 2968; 2869; 2232 (CN); 1568; 1408; 1332; 1244; 1169; 1120 a 765; elementární analýza pro C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O nalezeno (%): C 75,8; H 7,4; N 12,7;

požadováno (%): C 75,7; H 7,0; N 12,6.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}} = 1,15$  (12H, br s,  $\text{CHCH}_3$ ); 2,38 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ); 2,47 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ); 2,82 (2H, sep,  $J = 6,9$  Hz, CH); 7,18 (1H, d,  $J = 1,9$  Hz, ArH); 7,24-7,31 (2H, m, ArH) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}} = 16,8$ ; 22,7; 23,4; 23,7; 27,6; 94,8; 112,6; 113,5; 124,1; 126,3; 126,7; 128,6; 140,8; 146,8; 161,7; 163,1 ppm.

#### 8.2.1.4. Syntéza 2-(diethylamino)-5,6-dimethylpyridin-3,4-dikarbonitrilu (15)



Do roztoku sloučeniny (12) (850 mg, 4,4 mmol) v tetrahydrofuranu (30 ml) byl po kapkách přidáván diethylamin (2,3 g, 31 mmol) a směs byla zahřívána k varu ( $70^\circ\text{C}$ ) pod zpětným chladičem po dobu 30 hodin. Na konci reakce byla směs ochlazena a vysrážený diethylamin-hydrochlorid byl odfiltrován. Roztok byl odpařen za sníženého tlaku a přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu chloroformem. Čisté frakce byly spojeny, rozpouštědlo za sníženého tlaku odpařeno a nakonec byl produkt překrytalizován z methanolu za vzniku (15) (962 mg, 95%) ve formě žlutých pevných jehel.  $R_f$  (benzín/ethylacetát 5:1) = 0,42. T. t.  $66,2$ - $67,0^\circ\text{C}$ ; IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2988; 2941; 2201 (CN); 1565; 1541; 1497; 1471; 1457; 1434; 1376; 1358; 1260; 1171; 810; 758 a 689.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}} = 1,25$  (6H, t,  $J = 7,0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 2,35 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ); 2,43 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ); 3,69 (4H, q,  $J = 7,0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}} = 13,4$ ; 16,3; 23,9; 44,2; 86,5; 114,8; 117,0; 122,3; 126,6; 155,5; 162,2 ppm.

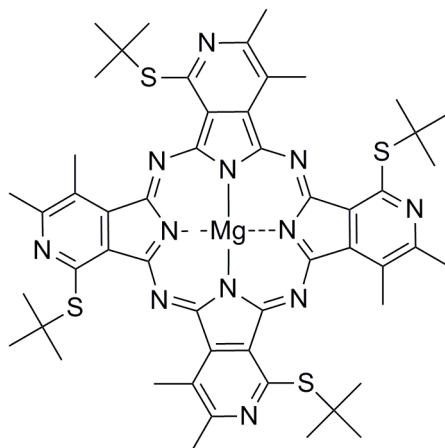
#### 8.2.2. Cyklotetramerizace prekurzorů (13-16) za vzniku tetra(3,4-pyrido)porfyrizinů (17-21)

TPydPz (20) s [2-(diethylamino)ethyl]sulfanylovým periferním substituentem byl připraven v naší laboratoři cyklotetramerizací prekrzoru (16) podle obecného postupu uvedeného u látek (17) a (18). Jeho následnou reakcí s ethylačním činidlem ethyljodidem v *N*-methylpyrrolidinonu byla získána ve vodě rozpustná kvartérní ammoniová sůl (21). Postup syntézy a analytická data všech sloučenin jsou uvedeny v příloze „Supporting Information“ (SI) k publikaci [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.] kap. Chyba! Nenalezen zdroj odkazů..

### 8.2.2.1. Syntéza hořečnatých komplexů TPydPz (17Mg a 18Mg)

Obecný postup přípravy vycházel z reakce hořčíku (7 ekv.) s malým krystalem jodu, která byla zahřívána při teplotě 130 °C pod zpětným chladičem po dobu 2,5 hodiny v prostředí v bezvodém butanolu. Poté byl přidán prekurzor **13** nebo **14** (1 ekv.) a zahříván dalších 20 hodin. Reakční směs byla nechána na vzduchu vychladnout, rozpouštědlo bylo za sníženého tlaku odpařeno a směs byla míchána s roztokem kyseliny octové (50% v/v) po dobu 30 minut při laboratorní teplotě. Tmavá pevná látka byla zfiltrována, promyta roztokem kyseliny octové (50% v/v) a vodou a vysušena na vzduchu. Reakční směs byla přečištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (eluenty jsou uvedeny níže) za vzniku hořečnatých komplexů **17Mg** a **18Mg** ve formě zelených pevných látek.

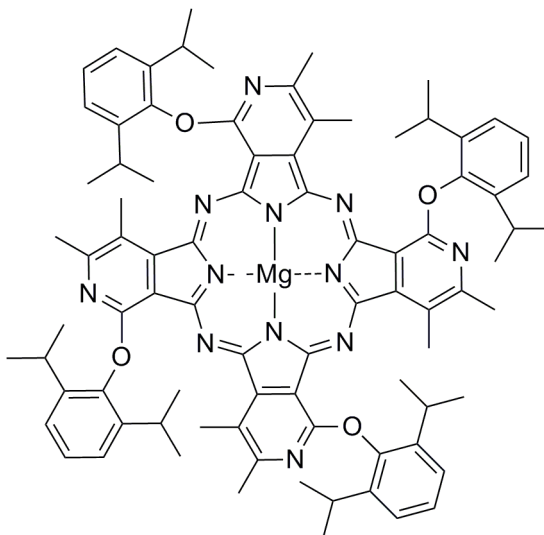
#### ❖ Hořečnatý komplex TPydPz (17Mg)



Výchozí látka : (**13**) (500 mg; 2,0 mmol), eluent: toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5, výtěžek: 125 mg (25%) zelené pevné látky.  $R_f$  (toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5) = 0,48; HPLC ( $t_R$ , min): 21,9 (61,5 %); 22,77 (38,5 %);  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$ ): 728 (225 200), 653 (49 700), 465 (12 200), 365 (61 300). IR (ATR,  $cm^{-1}$ ): 2957; 2913; 1547; 1264; 1182; 1106; 1018; 982; 913; 791 a 760;  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_H=2,09-2,25$  (36H, několik s,  $tBu$ ); 2,98-3,19 (12H, několik s,  $CH_3$ ); 3,58-4,20 (12H, několik s,  $CH_3$ ) ppm;  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_C = 156,82$ ; 156,76; 156,15; 155,95; 154,70; 154,63; 154,59; 154,53; 154,14; 153,97; 153,76; 153,71; 153,63; 153,33; 153,11; 152,88; 152,60; 151,98; 151,62; 143,80; 143,76; 143,66; 143,41; 142,76; 128,72; 128,65; 128,24; 128,18; 127,89; 124,15; 124,07; 48,65; 47,88; 47,81; 31,56; 31,06; 31,03; 23,26; 23,20; 23,04; 17,05; 16,86; 16,72; 16,08; 15,92 ppm; MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 1004,4  $[M]^+$ , 948,3  $[M-C_4H_8]^+$ , 892,3  $[M-2 \times C_4H_8]^+$ ; HRMS  $m/z$ :

nalezeno:  $[M+H]^+$  1005,3864; pro  $C_{52}H_{61}MgN_{12}S_4$  požadováno  $[M+H]^+$  1005,3875.

❖ Hořčnatý komplex TPydPz (18Mg)

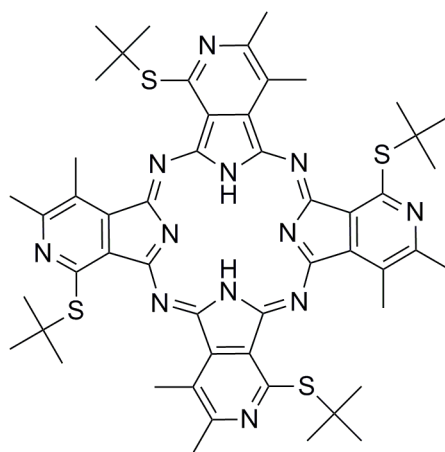


Výchozí látka : (**14**) (1 g; 3,0 mmol), eluent: toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0.2, výtěžek: 195 mg (19%) tmavě zelené pevné látky.  $R_f$  (toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5) = 0,48; HPLC ( $t_R$ , min): 28,8 (1 %); 29,2 (1,5 %); 30,0 (30,5 %); 30,5 (67 %);  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$ ): 712 (192 500); 639 (43 700); 389 (41 700); 346 (38 100). IR (ATR,  $cm^{-1}$ ): 2965; 2930; 2868; 1734; 1596; 1417; 1322; 1263; 1170; 1096; 1061; 1003; 930; 796 a 766.  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$  = 0,90-1,62 (m,  $CHCH_3$ ); 2,31-2,44 (m); 2,70 (s,  $CH_3$ ); 2,76 (s,  $CH_3$ ); 2,82 (s,  $CH_3$ ); 2,87 (s,  $CH_3$ ); 3,27-3,47 (m, CH); 3,60-3,79 (m, CH); 3,82 (s,  $CH_3$ ); 3,84 (s,  $CH_3$ ); 3,87 (s,  $CH_3$ ); 3,89 (s,  $CH_3$ ); 7,22-7,40 (m, ArH); 7,45-7,57 (m, ArH) ppm počet protonů nelze určit kvůli směsi izomerů (podrobnosti viz SI kap. Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.. [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.]).  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$  = 158,50; 158,41; 157,78; 157,54; 157,29; 156,32; 154,48; 153,33; 151,83; 146,88; 146,72; 146,58; 142,11; 142,05; 141,69; 141,64; 125,83; 125,50; 124,09; 123,80; 117,66; 117,28; 29,91; 27,79; 27,71; 24,30; 23,46; 23,35; 23,23; 22,89; 22,73; 15,77; 15,71; 14,19; 14,14 ppm. MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 1356,6  $[M]^+$ ; HRMS  $m/z$ : nalezeno:  $[M+H]^+$  1357,7270; pro  $C_{84}H_{93}MgN_{12}O_4$  požadováno  $[M+H]^+$  1357,7290. Navzdory složitosti spekter je převládající přítomnost  $C_s$  izomerů ve směsi doložena vznikem čtyř signálů zhruba stejné intenzity (kromě jiných menších signálů) pro obě methylové skupiny na pyridinovém kruhu.

### 8.2.2.2. Syntéza bezkovových komplexů TPdPz (17H a 18H)

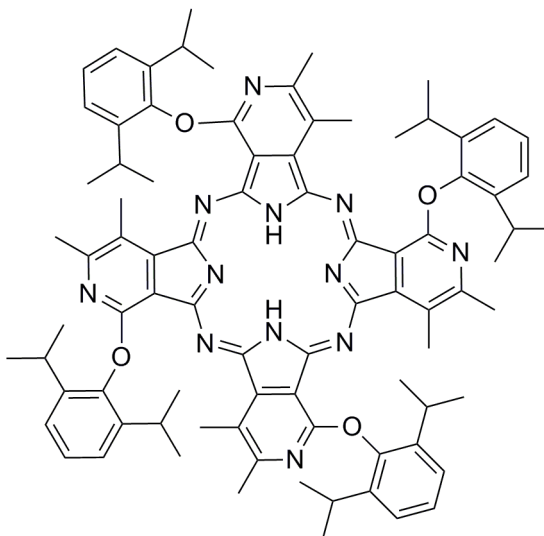
Obecný postup syntézy vycházel z příslušných hořečnatých tetra(3,4-pyrido)porfyrinů (**17Mg**, resp. **18Mg**; 1 ekv.), které byly rozpuštěny v chloroformu a míchány při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny s kyselinou *p*-toluensulfonovou (10 ekv.). Potom bylo rozpouštědlo odpařeno, surový produkt byl promyt vodou a přečištěn sloupcovou chromatografií s benzínem/ethylacetátem 20:1 jako mobilní fází, čímž byla získána tmavě zelená pevná látka (**17H**) nebo (**18H**).

#### ❖ Bezkovový komplex TPdPz (**17H**)



Výchozí látka : (**17Mg**) (100 mg; 0,1 mmol), výtěžek: 39 mg (41%);  $R_f$  (benzín/ethylacetát 20:1) = 0,55; HPLC nebyla provedena kvůli nízké rozpustnosti;  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon$  nemohlo být správně určeno kvůli nízké rozpustnosti): 743; 695; 331. IR (ATR,  $cm^{-1}$ ): 3296 (NH); 2922; 2853; 1739; 1575; 1457; 1262; 1171; 1030; 973 a 761.  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$  = 1,77 (9H, s, *t*Bu); 1,93-2,32 (27H, several s, *t*Bu); 2,52-4,11 (24H, několik s,  $CH_3$ ) ppm.  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$  = nebyly detekovány žádné signály. MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 982,3  $[M]^+$ .

❖ Bezkovový komplex TPydPz (18H)



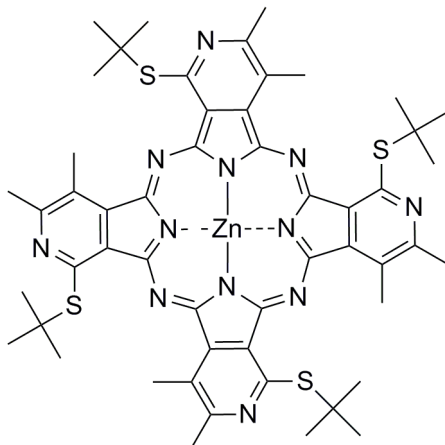
Výchozí látka : (**18Mg**) (41 mg; 0,03 mmol), výtěžek: 22 mg (54%);  $R_f$  (benzín/ethylacetát 20:1) = 0,38; HPLC ( $t_R$ , min): 26,9; 28,0;  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$ ): 741 (88 700); 714 (82 600); 674 (27 300); 646 (26 000); 325 (32 500). IR (ATR,  $cm^{-1}$ ): 3257 (NH); 2960; 2925; 2855; 1734; 1594; 1438; 1311; 1270; 1165; 1097. 1080; 991; 913 a 766.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$  = 1,82-1,55 (m,  $CHCH_3$ ); 1,62-1,79 (m); 2,00-2,44 (m); 2,66 (s,  $CH_3$ ); 2,73 (s,  $CH_3$ ); 2,78 (s,  $CH_3$ ); 2,84 (s,  $CH_3$ ); 3,24-3,38 (m, CH); 3,57-3,72 (m, CH); 3,76 (s,  $CH_3$ ); 3,78 (s,  $CH_3$ ); 3,81 (s,  $CH_3$ ); 7,20- 7,32 (m, ArH); 7,42-7,52 (m, ArH) ppm, počet protonů nelze přiřadit kvůli komplexní směsi izomerů, (podrobnosti viz SI **kap.** Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.. **[Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.]**).  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$  = 159,72; 159,49; 158,97; 158,23; 158,03; 157,77; 157,50; 157,34; 148,84; 142,04; 141,95; 141,62; 126,08; 125,55; 124,18; 124,00; 122,39; 122,27; 115,52; 115,10; 37,58; 33,90; 32,94; 32,11; 30,36; 29,90; 29,56; 27,86; 27,83; 27,72; 24,30; 23,42; 23,27; 23,17; 22,99; 22,89; 15,73; 14,40; 14,33; 14,23 ppm. MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 1334,6  $[M]^+$ ; HRMS  $m/z$ : nalezeno:  $[M+H]^+$  1335,7566; pro  $C_{84}H_{95}N_{12}O_4$  požadováno  $[M+H]^+$  1335,7599.

### 8.2.2.3. Syntéza zinečnatých komplexů TPydPz (17Zn a 18Zn)

Obecný postup přípravy vycházel z bezkovových TPydPz (**17H**, resp. **18H**; 1 ekv.), které byly rozpuštěny v pyridinu (2 ml) a byl k nim přidán bezvodý octan zinečnatý (7 ekv.). Směs byla zahřívána při 130 °C po dobu 2,5 hodin. Následně byl pyridin z reakční směsi odpařen za sníženého tlaku a produkt byl

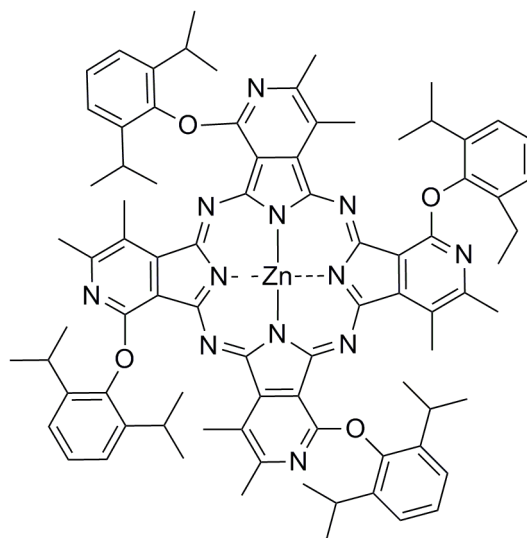
důkladně promyt vodou, čímž byly získány surové TPYdPz (**17Zn**) nebo (**18Zn**), které byly přečištěny sloupcovou chromatografií na silikagelu (eluenty viz níže).

❖ Zinečnatý komplex TPYdPz (**17Zn**)



Výchozí látka : (**17H**) (20 mg; 0,02 mmol), eluent: toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5; výtěžek: 19 mg (90%) zelené pevné látky;  $R_f$  (toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5) = 0,58; HPLC ( $t_R$ , min): 24,6; 25,5;  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$ ): 730 (154 200); 653 (37 400); 461 (9 800); 359 (45 000). IR (ATR,  $cm^{-1}$ ): 2914; 2853; 1544; 1472; 1456; 1265; 1185; 1104; 1007; 984 a 752.  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$  = 1,99-2,35 (36H, několik s, tBu); 2,85-4,28 (24H, několik s,  $CH_3$ ) ppm.  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$  = 156,73; 156,67; 156,20; 155,78; 154,59; 154,25; 153,71; 153,64; 153,55; 153,42; 153,05; 151,93; 151,13; 151,08; 150,95; 143,08; 142,54; 141,42; 128,87; 128,35; 128,31; 127,68; 126,81; 125,25; 48,90; 48,79; 48,01; 47,97; 47,82; 32,09; 31,69; 31,65; 31,14; 31,06; 23,65; 23,41; 23,37; 23,10; 22,95; 22,87; 17,49; 16,98; 16,76; 16,45; 16,13 ppm. MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 1044,2  $[M]^+$ ; 988,9  $[M-C_4H_8]^+$ ; HRMS  $m/z$ : nalezeno:  $[M+H]^+$  1045,3306; pro  $C_{52}H_{61}N_{12}S_4Zn$  požadováno  $[M+H]^+$  1045,3316.

❖ Zinečnatý komplex TPydPz (**18Zn**)



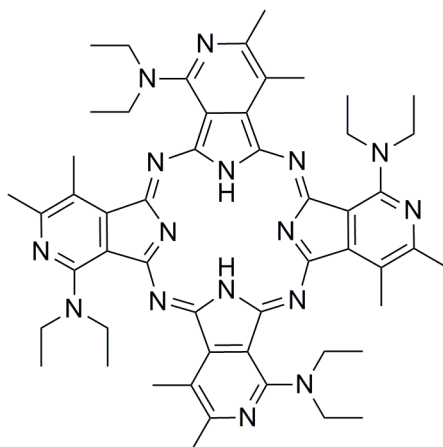
Výchozí látka : (**18H**) (19,5 mg; 0,015 mmol), eluent: toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,2; výtěžek: 19,6 mg (96%) zelené pevné látky;  $R_f$  (toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5) = 0,69; HPLC ( $t_R$ , min): 22,0; 22,2;  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$ ): 712 (125 900); 639 (31 800); 314 (88 000). IR (ATR,  $cm^{-1}$ ): 2960; 2924; 2854; 1593; 1577; 1438; 1314; 1272; 1170; 1128; 1096; 1002; 928 a 767.  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$  = 0,83-1,64 (m,  $CHCH_3$ ); 2,00-2,26 (m); 2,72-2,50 (m); 2,67 (s,  $CH_3$ ); 2,74 (s,  $CH_3$ ); 2,79 (s,  $CH_3$ ); 2,85 (s,  $CH_3$ ); 3,27-3,45 (m, CH); 3,58-3,78 (m, CH); 3,77-3,99 (m,  $CH_3$ ); 7,20-7,37 (m, ArH); 7,40-7,57 (m, ArH) ppm; počet protonů nelze přiřadit kvůli komplexní směsi izomerů, (podrobnosti viz SI **kap.** Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.. [Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.]).  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$  = 158,25; 157,83; 157,70; 157,58; 157,49; 157,39; 157,20; 157,02; 156,33; 156,27; 156,18; 155,42; 154,80; 154,65; 154,12; 154,01; 153,78; 153,38; 152,71; 151,35; 146,53; 146,24; 142,02; 141,70; 131,07; 125,83; 125,30; 124,03; 122,08; 117,53; 117,45; 117,25; 38,87; 34,10; 32,07; 29,86; 29,51; 27,72; 24,25; 23,52; 23,41; 23,34; 23,07; 22,84; 22,70; 15,71; 14,30; 14,19; 14,10 ppm. MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 1396,5  $[M]^+$ ; HRMS  $m/z$ : nalezeno:  $[M+H]^+$  1397,6729; pro  $C_{84}H_{93}N_{12}O_4Zn$  požadováno  $[M+H]^+$  1397,6734.

#### 8.2.2.4. Syntéza TPydPz (**19**)

Příprava tohoto derivátu byla prováděna cyklotetramerizací výchozího prekurzoru (**15**) přes lithium za vzniku bezkovového komplexu (**19H**), z kterého byl následně připraven hořečnatý (**19Mg**) a zinečnatý komplex TPydPz (**19Zn**).

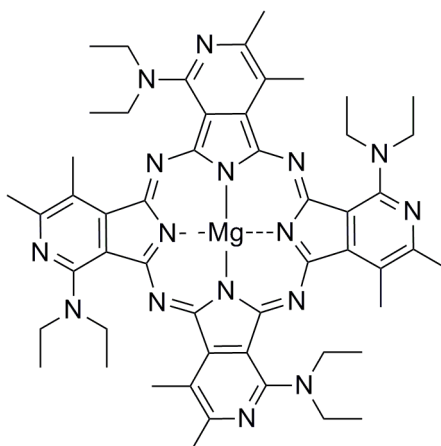


❖ Bezkovový komplex TPydPz (19H)



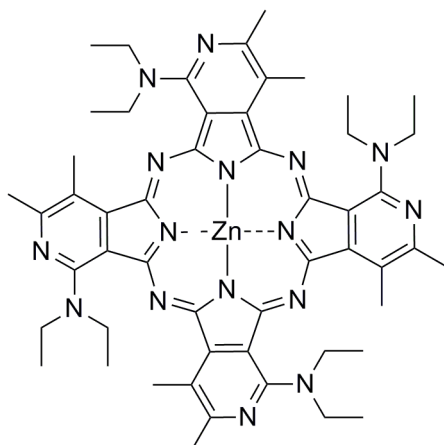
Sloučenina (**15**) (700 mg; 3,1 mmol) byla zahřívána při 130 °C v čerstvě predestilovaném suchém butanolu (10 ml), do kterého bylo následně přidáno lithium (149 mg; 21,5 mmol). Směs byla zahřívána na 130 °C po dobu 15 hodin. Po uplynutí této doby byl roztok odpařen do sucha a suspendován ve vodném roztoku kyseliny octové (50% v/v, 50 ml). Precipitát byl zfiltrován a důkladně promyt zředěnou kyselinou octovou a vodou. Produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu s mobilní fází toluen/chloroform/tetrahydrofuran 5:1:1. Výtěžek 97 mg (14%) fialové pevné látky;  $R_f$  (toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5) = 0,57; HPLC ( $t_R$ , min): 26,5 (16 %), 28,5 (71 %); 29,0 (13 %);  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 806 (85 700); 718sh; 537 (9 600); 339 (38 500). IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3292 (NH); 2968; 2931; 2867; 1560; 1442; 1424; 1254; 1237; 1180; 1060; 1037; 986; 909 a 760.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$ )  $\delta_{\text{H}}$  = 1,06-1,49 (24H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 3,00 (12H, br s,  $\text{CH}_3$ ); 3,66 (5H, br s,  $\text{CH}_3$ ); 3,78 (7H, br s,  $\text{CH}_3$ ); 4,24-4,52 (16H, m,  $\text{CH}_2$ , překryté signálem zbytkového  $\text{H}_2\text{O}$ ) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$ )  $\delta_{\text{C}}$  = 158,58; 158,43; 157,64; 157,53; 156,03; 155,07; 154,28; 154,02; 46,36; 45,38; 23,48; 14,25; 13,50; 13,10 ppm. MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 914,5  $[\text{M}]^+$ ; HRMS  $m/z$ : nalezeno:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  915,5716; pro  $\text{C}_{52}\text{H}_{67}\text{N}_{16}$  požadováno  $[\text{M}+\text{H}]^+$  915,5735.

❖ Hořečnatý komplex TPydPz (19Mg)



Bezvodý 8H (30 mg, 0,033 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (5 ml) a byl přidán přebytek bezvodého octanu hořečnatého (33 mg, 0,23 mmol). Reakční směs se 24 hodin zahřívá k teplotě varu. Po uplynutí této doby byl pyridin odstraněn za sníženého tlaku a tmavá pevná látka byla důkladně promyta vodou. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií s mobilní fází toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,2. Výtěžek 16 mg (53%) fialovo-hnědé pevné látky.  $R_f$  (toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5) = 0,29; HPLC ( $t_R$ , min): 18,4; 18,6; 18,8;  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$ ): 771 (94 800); 690 (32 900); 505 (10 400); 367 (48 200). IR (ATR,  $cm^{-1}$ ): 2973; 2933; 2869; 1559; 1444; 1253; 1173; 1083; 1060; 992; 934 a 764.  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_H$  = 1,10-1,68 (24H, m,  $CH_2CH_3$ ); 2,86-3,27 (12H, m,  $CH_3$ ); 3,56-3,97 (12H, m,  $CH_3$ ); 4,13-4,70 (16H, m,  $CH_2$ ) ppm.  $^{13}C$  NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ /pyridin- $d_5$ )  $\delta_C$  = 47,79; 45,62; 23,20; 13,18 ppm, některé aromatické signály nebyly detekovány. MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 936,4  $[M]^+$ ; 908,4  $[M-C_2H_4]^+$ ; HRMS  $m/z$ : nalezeno:  $[M+H]^+$  937,5400; pro  $C_{52}H_{65}MgN_{16}$  požadováno  $[M+H]^+$  937,5429.

❖ Zinečnatý komplex TPydPz (**19Zn**)



Bezkovový (**19H**) (30 mg; 0,033 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (5 ml), přidán bezvodý octan zinečnatý (42 mg; 0,23 mmol) a reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem při teplotě lázně 130 °C po dobu 4 hodin. Po ukončení reakce byl pyridin ze směsi odstraněn za sníženého tlaku a tmavá pevná látka byla důkladně promyta vodou. Surový produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu s mobilní fází toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5. Výtěžek 24 mg (76%) fialové pevné látky.  $R_f$  (toluen/chloroform/tetrahydrofuran 10:1:0,5) = 0,41; HPLC ( $t_R$ , min): 17,7; 18; 20; 21;  $\lambda_{max}$  THF/ nm ( $\epsilon/dm^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 772 (94 000), 697 (29 400), 504 (54 000), 359 (37 400). IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2967; 2930; 2867; 1559; 1480; 1442; 1253; 1172; 1124; 1087; 1061; 991; 937 a 755.  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$ )  $\delta_H$  = 1,33 (24H, br s,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 3,01 (12H, br s,  $\text{CH}_3$ ); 3,78 (5H, br s,  $\text{CH}_3$ ); 3,87 (7H, br s,  $\text{CH}_3$ ); 4,22-4,66 (16H, m,  $\text{CH}_2$ ) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$ )  $\delta_C$  = 156,50; 155,19; 153,98; 46,62; 45,28; 23,35; 15,63; 14,37; 13,47; 12,85 ppm. MS (MALDI-TOF)  $m/z$ : 976,4  $[\text{M}]^+$ , HRMS  $m/z$ : nalezeno:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  977,4854; pro  $\text{C}_{52}\text{H}_{64}\text{N}_{16}\text{Zn}$  požadováno  $[\text{M}+\text{H}]^+$  977,4870.

## 9. Seznam citované literatury

- 1 Auwärter W., ěcija D., Klappenberger F., Barth J. V.: Porphyrins at interfaces. *Nat. Chem.*, **2015**, 7(2), 105-120.
- 2 Kuster W. Z.: Beiträge zur Kenntnis des Bilirubins und Hämins. *Physiol. Chem.*, **1912**, 82, 463-483.
- 3 Keilin D.: On cytochrome, a respiratory pigment, common to animals, yeast, and higher plants. *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, **1925**, 98, 312-339.
- 4 Lemberg R., Barrett J.: *Cytochromes*. 1. vydání. Academic Press Inc., Londýn, New York, **1973**. ISBN 978-0124431508.
- 5 Robinson R.: Richard Willstätter 1872-1942. *Biogr. Mem. Fellows R. Soc.*, **1953**, 8, 609-634.
- 6 Stokes G. G.: On the application of the optical properties of bodies to the detection and discrimination of organic substances. *J. Chem. Soc.*, **1864**, 17, 304-318.
- 7 Ryter S. W., Alam J., Choi A. M. K.: Heme oxygenase-1/ Carbon monoxide: From basic science to therapeutic application. *Physiol. Rev.*, **2006**, 86, 583-650.
- 8 Maines M. D.: New insights into biliverdin reductase functions: linking heme metabolism to cell signaling. *Physiology*, **2005**, 20, 382-389.
- 9 Stocker R., Yamamoto Y., McDonagh A. F., Glazer A. N., Ames B. N.: Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, **1987**, 235, 1043-1046.
- 10 Lemberg R., Legge J. W.: *Hematin compounds and bile pigments- Their constitution, metabolism and function*. 1. vydání. Interscience Publishers, New York, **1949**. ISBN: 978-1341903243.
- 11 Bonnett R., Cannon J. R., Johnson A. W., Sutherland I. O., Todd A. R., Smith E. L.: Structure of vitamin B12 : The structure of vitamin B12 and its hexacarboxylic acid degradation product. *Nature*, **1955**, 176, 328-330.
- 12 Kräutler B.: *Cobalt: B12 Enzymes and Coenzymes*, kapitola v knize *Encyclopedia of inorganic and bioinorganic chemistry*. John Wiley & Sons, Chichester, 1–26, **2013**. ISBN: 978-1119951438.
- 13 Todd L. N., Zimmer M.: Moderating influence of proteins on nonplanar tetrapyrrole deformations: coenzyme F430 in methyl-coenzyme-M reductase. *Inorg. Chem.*, **2002**, 41, 25, 6831–6837.
- 14 Soret J. L.: Recherches sur l'absorption des rayons ultra-violetes par diverses substances. *J. Phys. Theor. Appl.*, **1879**, 8, 1, 145-158.
- 15 Weiss C. Jr.: The Pi electron structure and absorption spectra of chlorophylls in solution. *J. Mol. Spectrosc.*, **1972**, 44, 37-80
- 16 Wiglusz R., Legendziewicz J., Graczyk A., Radzki S., Gawryszewska P., Sokolnicki J.: Spectroscopic properties of porphyrins and effect of lanthanide ions on their luminescence efficiency. *J. Alloys Comp.*, **2004**, 380, 396-404.
- 17 Braun, A., Tcherniac, J.: Über die Produkte der Einwirkung von Acetanhydrid auf Phthalamid. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1907**, 40, 2709-2714.

- 18 de Diesbach H., von der Weid E.: Quelques sels complexes des o-dinitriles avec le cuivre et la pyridine. *Helv. Chim. Acta*, **1927**, 10, 886-888.
- 19 a) Linstead R. P.: Phthalocyanines. Part I. A new type of synthetic colouring matters. *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1016-1017.
- b) Byrne G. T., Linstead R. P., Lowe A. R.: Phthalocyanines. Part II. The preparation of phthalocyanine and some metallic derivatives from o-cyanobenzamide and phthalimide. *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1017-1022.
- c) Linstead R. P., Lowe A. R.: Phthalocyanines. Part III. Preliminary experiments on the preparation of phthalocyanines from phthalonitrile. *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1022-1027.
- d) Dent C. E., Linstead R. P.: Phthalocyanines. Part IV. Copper phthalocyanines. *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1027-1031.
- e) Linstead R. P., Lowe A. R.: Phthalocyanines. Part V. The molecular weight of magnesium phthalocyanine. *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1031-1033.
- f) Dent C. E., Linstead R. P., Lowe R.: Phthalocyanines. Part VI. The structure of the phthalocyanines. *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1033-1039.
- g) Barret P. A., Dent C. E., Linstead R. P.: Phthalocyanines. Part VII. Phthalocyanine as a co-ordinating group. A general investigation of the metallic derivatives. *J. Chem. Soc.*, **1936**, 1719-1736.
- h) Anderson, J. S., Bradbrook, E. F., Cook, A. H., Linstead, R. P.: Phthalocyanines and associated compounds. Part XIII. Absorption spectra. *J. Chem. Soc.*, **1938**, 1151-1156.
- i) Barret P. A., Frye D. A., Linstead R. P.: Phthalocyanines and associated compounds. Part XIV. Further investigations of metallic derivatives. *J. Chem. Soc.*, **1938**, 1157-1163.
- j) Linstead, R. P.: Phthalocyanine und verwandte Verbindungen. *Ber. Dtsch. Chem. Ges. A*, **1939**, 72, 6, 93-103.
- 20 Linstead, R. P.: The phthalocyanines : A new class of synthetic colours. *Br. Assoc. Adv. Sci. Rep.*, **1933**, 465-466.
- 21 McKeown N. B. : *Phthalocyanine materials: Synthesis, structure and function*, z cyklu *Chemistry of solid state materials* – Svazek 6, 6. vydání, Cambridge University Press, Cambridge, **1998**. ISBN 978-0521496230.
- 22 Luk'yanets E. A., Nemykin V. N.: The key role of peripheral substituents in the chemistry of phthalocyanines and their analogs. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2010**, 14, 1-40.
- 23 a) Stillman M. J., Nyokong T.: 3. kapitola v knize *Phthalocyanines—Properties and applications*. Vol. 1, editoři: Leznoff C. C., Lever A. B. P., VCH Publishing, New York, **1989**. ISBN: 978-0471187202.
- b) Stillman M. J.: 5. kapitola v knize *Phthalocyanines—Properties and applications*. Vol. 2, editoři: Leznoff C. C., Lever A. B. P., VCH Publishing, New York, **1992**. ISBN: 978-0471188285
- 24 Xu Z., Zhang G., Cao Z., Zhao J., Li H.: Effect of N atoms in the backbone of metal phthalocyanine derivatives on their catalytic activity to lithium battery. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2010**, 318, 101-105.

- 25 Dini D., Hanack M.: *Physical properties of phthalocyanine-based materials*, 107. kapitola v knize *The porphyrin handbook: Phthalocyanines: Properties and materials*. Vol. 17, editoři: Kadish K., Guillard R., Smith K. M., Elsevier, San Diego, 1-31, **2012**. ISBN: 978-0080923918.
- 26 Günsel A., Yaraşır M. N., Kandaz M., Koca A.: Synthesis, H- or J-type aggregations, electrochemistry and in situ spectroelectrochemistry of metal ion sensing lead(II) phthalocyanines. *Polyhedron*, **2010**, 29, 3394-3404.
- 27 Palewska K., Sworakowski J., Lipiński J.: Molecular aggregation in soluble phthalocyanines – Chemical interactions vs.  $\pi$ -stacking. *Opt. Mater.*, **2012**, 34, 1717-1724.
- 28 Wang T., Zhang X. F., Lu X.: Metal-free phthalocyanine aggregation and binding with amines: Specific and general solvent effects on absorption and fluorescence properties. *J. Mol. Struct.*, **2015**, 1084, 319–325.
- 29 Dumoulin F., Durmuş, M., Ahsen V., Nyokong T.: Synthetic pathways to water-soluble phthalocyanines and close analogs. *Coord. Chem. Rev.*, **2010**, 254, 2792–2847.
- 30 Kondo K., Akita M., Yoshizawa M.: Solubility switching of metallophthalocyanines and their Larger derivatives upon encapsulation. *Chem. Eur. J.*, **2016**, 22, 1937 –1940.
- 31 Hartle M. D., Sommer S. K., Dietrich S. R., Pluth M. D.: Chemically reversible reactions of hydrogen sulfide with metal phthalocyanines. *Inorg. Chem.*, **2014**, 53, 7800–7802.
- 32 Wang X., Zhang Y., Sun X., Bian Y., Ma C., Jiang J.: 2,3,9,10,16,17,24,25-octakis(octylloxycarbonyl)phthalocyanines. Synthesis, spectroscopic, and electrochemical characteristics. *Inorg. Chem.*, **2007**, 46, 7136-7141.
- 33 Zimcik P., Miletin M., Ponec J., Kostka M., Fiedler Z.: Synthesis and studies on photodynamic activity of new water-soluble azaphthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2003**, 155, 127-131.
- 34 a) Strassert C. A., Dixelio L. E., Awruch J.: Reduction of an amido zinc(II) phthalocyanine by diborane. *Synthesis*, **2006**, 5, 799-802.  
 b) de Oliveira K. T., de Assis F. F., Ribeiro A. O., Neri C. R., Fernandes A. U., Baptista M. S., Lopes N. P., Serra O. A., Iamamoto Y.: Synthesis of phthalocyanines– ALA conjugates: Water-soluble compounds with low aggregation. *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 7962-7965.
- 35 a) Sharman W. M., van Lier J. E.: A new procedure for the synthesis of water-soluble tricationic and -anionic phthalocyanines. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, **2005**, 9, 651-658.  
 b) Li H., Jensen T. J., Fronczek F. R., Vicente M. G.: Syntheses and properties of a series of cationic water-soluble phthalocyanines. *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 502-511.
- 36 Z. Bıyıklıoğlu Z., Durmuş, M., Kantekin H.: Synthesis, photophysical and photo-chemical properties of quinoline substituted zinc (II) phthalocyanines and their quaternized derivatives. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2010**, 211, 32–41
- 37 a) Bergami C., Donzello M. P., Monacelli F., Ercolani C., Kadish K. M.: Tetra-2,3-pyrazinoporphyrazines with externally appended pyridine rings. 4. UV-visible spectral and electrochemical evidence of the remarkable electron-deficient properties of the new tetrakis-2,3-[5,6-di{2-(N-methyl)pyridiniumyl}pyrazino]porphyrazinatometal octacations, [(2-Mepy)8TPyzPzM]8+ (M = MgII(H2O), CoII, CuII, ZnII). *Inorg. Chem.*, **2005**, 26, 44, 9862-9873.

- b) Çamur M., Ahsen V., Durmuş, M.: The first comparison of photophysical and photochemical properties of non-ionic, ionic and zwitterionic gallium (III) and indium (III) phthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2011**, 219, 2-3, 217-227.
- 38 a) Tuncel S., Dumoulin F., Gailer J., Sooriyaarachchi M., Atilla D., Durmuş M., Bouchu D., Savoie H., Boyle R. W., Ahsen V.: A set of highly water-soluble tetraethyleneglycol-substituted Zn(II) phthalocyanines: synthesis, photochemical and photophysical properties, binding to plasma proteins and *in vitro* phototoxicity. *Dalton Trans.*, **2011**, 40, 4067-4079.
- b) Lamch L., Kulbacka J., Pietkiewicz J., Rossowska J., Dubińska-Magiera M., Choromańska A., Wilk K. A.: Preparation and characterization of new zinc(II) phthalocyanine — Containing poly(L-lactide)-b-poly(ethylene glycol) copolymer micelles for photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **2016**, 160, 185-197
- 39 Li H., Nguyen N., Fronczek F.R., Vicente M.G.H.: Syntheses and properties of octa-, tetra- and di-hydroxy-substituted phthalocyanines. *Tetrahedron*, **2009**, 65, 3357-3363.
- 40 a) Torchilin V. P.: Micellar Nanocarriers: Pharmaceutical perspectives. *Pharm. Res.*, **2007**, 24, 1, 1-16.
- b) Mehraban N., Freeman H. S.: Developments in PDT sensitizers for increased selectivity and singlet oxygen production. *Materials*, **2015**, 8, 4421-4456.
- 41 Kondo K., Akita M., Yoshizawa M.: Solubility switching of metallophthalocyanines and their larger derivatives upon encapsulation. *Chem. Eur. J.*, **2016**, 22, 1937–1940.
- 42 Novakova V., Kobak R. Z. U., Kučera R, Kopecký K., Miletin M., Krepsova V., Ivincova J., Zimcik P.: The effect of number of carbohydrate moieties on the azaphthalocyanine properties. *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 10596-10604.
- 43 Iqbal Z., Masilela N., Nyokong T., Lyubimtsev A., Hanack M., Ziegler T.: Spectral, photophysical and photochemical properties of tetra- and octaglycosylated zinc phthalocyanines. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2012**, 11, 679-686.
- 44 Maillard P., Guerquin-Kern J.-L., Momenteau M.: Glycoconjugated tetrapyrrolic macrocycles. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 9125-9127.
- 45 Nombona N., Antunes E., Chidawanyika W., Kleyi P., Tshentu Z., Nyokong T.: Synthesis, photophysics and photochemistry of phthalocyanine-epsilon-polylysine conjugates in the presence of metal nanoparticles against *Staphylococcus aureus*. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2012**, 233, 24–33.
- 46 Rio Y., Rodriguez-Morgade M. S., Torres T.: Modulating the electronic properties of porphyrinoids: a voyage from the violet to the infrared regions of the electromagnetic spectrum. *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, 6, 1877–1894.
- 47 Claessens C. G., Hahn U., Torres T.: Phthalocyanines: From outstanding electronic properties to emerging applications. *Chem. Rec.*, **2008**, 8, 2, 75-97.
- 48 Kobayashi N., Nakajima S., Ogata H., Fukunda T.: Synthesis, spectroscopy, and electrochemistry of tetra-*tert*-butylated tetraazaporphyrins, phthalocyanines, naphthalocyanines, and anthracocyanines, together with molecular orbital calculations. *Chem. Eur. J.*, **2004**, 6294-6312.
- 49 Palewska K., Sworakowski J., Lipiński J.: Molecular aggregation in soluble phthalocyanines – Chemical interactions vs.  $\pi$ -stacking. *Optic. Mat.*, **2012**, 34, 1717–1724.

- 50 Suchetti C. A., Durantini E. N.: Monomerization and photodynamic activity of Zn(II) tetraalkyltetrapyrroline derivatives in AOT reverse micelles. *Dyes Pigm.*, **2007**, 74, 630-635.
- 51 Akpe V., Brismar H., Nyokong T., Osadebe P.O.: Photophysical and photochemical parameters of octakis(benzylthiophthalocyaninato) zinc, aluminium and tin: red shift index concept in solvent effect on the ground state absorption of zinc phthalocyanine derivatives. *J. Mol. Struct.*, **2010**, 984, 1–14.
- 52 T. Kobayashi: *J-Aggregates*. Vol. 2, World Scientific, Singapore, **1996**. ISBN: 978-9814365741.
- 53 Dhama D., Phillips D.: Comparison of the photophysics of an aggregating and non-aggregating aluminium phthalocyanine system incorporated into unilamellar vesicles. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **1996**, 100, 77-84.
- 54 Darwent J.R., Douglas P., Harriman A., Potter G., Richoux M.C.: Metal phthalocyanines and porphyrins as photosensitizers for reduction of water to hydrogen. *Coord. Chem. Rev.*, **1982**, 44, 83-126.
- 55 Novakova V., Zimcik P., Kopecky K., Miletin M., Kunes J., Lang K.: Self-assembled azaphthalocyanine dimers with higher fluorescence and singlet oxygen quantum yields than the corresponding monomers. *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 3260–3263.
- 56 Moser F. H., Thomas A. L.: *The phthalocyanines. Manufacture and applications*. Vol. 2, CRC Press: Boca Raton, **1983**. ISBN: 978-0849356780.
- 57 Erk P., Hengelsberg H.: *Phthalocyanine dyes and pigments*, 119. kapitola v knize The porphyrin handbook: Applications of phthalocyanines. Vol. 19, editoři: Kadish K., Guillard R., Smith K. M., Elsevier, San Diego, 105-150, **2012**. ISBN: 978-0123957931.
- 58 M.J.Cook, I.Chambrier: *Phthalocyanine thin films: Deposition and structural studies*, 108. kapitola v knize The porphyrin handbook: Phthalocyanines: Properties and materials. Vol. 17, editoři: Kadish K., Guillard R., Smith K. M., Elsevier, San Diego, 37-128, **2012**. ISBN: 978-0080923918.
- 59 Novotny M., Sebera J., Bensalah-Ledoux A., Guy S., Bulir J., Fitl P., Vlcek J., Zakutna D., Maresova E., Hubik P., Kratochvilova I., Vrnata M., Lancok J.: The growth of zinc phthalocyanine thin films by pulsed laser deposition. *J. Mater. Res.*, **2016**, 31, 1, 163-172.
- 60 a) Singh V. K., Kanaparthi R. K., Giribabu L.: Emerging molecular design strategies of unsymmetrical phthalocyanines for dye-sensitized solar cell applications. *RSC Adv.*, **2014**, 4, 6970–6984.
- b) Gust D., Moore T. A., Moore A. L.: Solar fuels via artificial photosynthesis. *Acc. Chem. Res.*, **2009**, 42, 1890–1898.
- c) Ikeuchi T., Nomoto H., Masaki N., Griffith M. J., Mori S. Kimura M.: Molecular engineering of zinc phthalocyanine sensitizers for efficient dye-sensitized solar cells. *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 1941-1943
- d) Ragoussi M.-E., Yum J.-H. , Chandiran A. K., Ince M., de la Torre G., Grätzel M., Nazeeruddin M. K., Torres T.: Sterically hindered phthalocyanines for dye-sensitized solar cells: Influence of the distance between the aromatic core and the anchoring group. *Chem. Phys. Chem.* **2014**, 15, 1033–1036.



- e) Koepe R., Sariciftci N. S., Troshin P. A., Lyubovskaya R. N.: Complexation of pyrrolidinofullerenes and zinc-phthalocyanine in a bilayer organic solar cell structure. *Appl. Phys. Lett.*, **2005**, 87, 244102.
- f) Wöhrle D., Schnurpfeil G., Makarov S. G., Kazarin A. Suvorova O. N.: Practical applications of phthalocyanines – from dyes and pigments to materials for optical, electronic and photoelectronic devices. *Makroheterocycles*, **2012**, 5, 191-202.
- 61 a) Loi M. A., Neugebauer H., Denk P., Brabec C.J., Sariciftci N.S., Gouloumis A., Vázquez P., Torres T.: Long-lived photoinduced charge separation for solar cell applications in phthalocyanine-fulleropyrrolidine dyad thin films. *J. Mater. Chem.*, **2003**, 13, 700-704.
- b) Hains A.W., Liang Z.Q, Woodhouse M.A., Gregg B.A.: Molecular semiconductors in organic photovoltaic cells. *Chem. Rev.*, **2010**, 110, 6689–6735.
- 62 Inabe T., Ishikawa M., Asari T., Hasegawa H., Fujita A., Matsumura N., Naito T., Matsuda M., Tajima H.: Phthalocyanine conductors: New trend for crystal and functionality design. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **2006**, 455, 87-92.
- 63 Blochwitz J., Pfeiffer M., Fritz T., Leo K.: Low voltage organic light emitting diodes featuring doped phthalocyanine as hole transport material. *Appl. Phys. Lett.*, **1998**, 73, 729–731.
- 64 a) Tschierske C.: Development of structural complexity by liquid-crystal self-assembly. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2013**, 52, 8828–8878.
- b) Lee W., Yuk S. B., Choi J., Jung D. H., Choi S.-H., Park J., Kim J. P.: Synthesis and characterization of solubility enhanced metal-free phthalocyanines for liquid crystal display black matrix of low dielectric constant. *Dyes Pigm.*, **2012**, 92, 3, 942–948
- 65 Dimitrakopoulos C. D., Malenfant P. R. L.: Organic thin film transistors for large area electronics. *Adv. Mater.*, **2002**, 14, 99–117.
- 66 a) Sergeev S., Pisula W., Geerts Y. H.: Discotic liquid crystals: A new generation of organic semiconductors. *Chem. Soc. Rev.*, **2007**, 36, 1902–1929.
- b) Ohta K., Shibuya T., Ando M.: Flying-seed-like liquid crystals. *J. Mater. Chem.*, **2006**, 16, 36, 3635–3639.
- c) Elemans, J. A. A. W., van Hameren R., Nolte R. J. M., Rowan A. E.: Molecular materials by self-assembly of orphyrins, phthalocyanines, and perylenes. *Adv. Mater.*, **2006**, 18, 10, 1521-1266.
- d) Martínez-Díaz M. V., de la Torre G. Torres T.: Lighting porphyrins and phthalocyanines for molecular photovoltaics. *Chem. Commun.*, **2010**, 46, 7090-7108.
- 67 Seoudi R., El-Bahy G. S., El Sayed Z. J.: FTIR, TGA and DC electrical conductivity studies of phthalocyanine and its complexes. *J. Mol. Struct.*, **2005**, 753, 119–126.
- 68 a) Sorokin A. B.: Phthalocyanine metal complexes in catalysis. *Chem. Rev.*, **2013**, 113, 8152–8191.
- b) Chao C.- G., Bergbreiter D. E.: Highly organic phase soluble polyisobutylene-bound cobalt phthalocyanines as recyclable catalysts for nitroarene reduction. *Catal. Commun.*, **2016**, 77, 89-93.
- 69 Nyokong T., Vilakazi S.: Phthalocyanines and related complexes as electrocatalysts for the detection of nitric oxide. *Talanta*, **2003**, 61, 27-35.

- 70 a) Fernandes E. G. R., Vieira N. C. S., de Queiroz A. A. A, Guimaraes F. E. G., Zucolotto V.: Immobilization of poly(propylene imine) dendrimer/nickel phthalocyanine as nanostructured multilayer films to be used as gate membranes for SEGFET pH sensors. *J. Phys. Chem. C*, **2010**, 114, 14, 6478–6483.
- b) Rodriguez-Méndez M. L., Gay M., de Saja J. A.: New insights into sensors based on radical bisphthalocyanines. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, **2009**, 13, 1159-1165.
- 71 a) Bouvet M., Gaudillat P., Suisse J.-M.: Phthalocyanine-based hybrid materials for chemosensing. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, **2013**, 17, 913-919.
- b) Venkatramaiah N., Rocha D. M. G. C., Srikanth P., Paz F. A. A., Tomé J. P. C.: Synthesis and photophysical characterization of dimethylamine-derived Zn(II)phthalocyanines: exploring their potential as selective chemosensors for trinitrophenol. *J. Mater. Chem. C*, **2015**, 3, 1056-1067.
- 72 a) Huang W., Besar K., LeCover R., Rule A. M., Breyse P. N., Katz H. E.: Highly sensitive NH<sub>3</sub> detection based on organic field-effect transistors with tris(pentafluorophenyl)borane as receptor. *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 36, 14650–14653.
- 73 a) de la Torre G., Claessens C. G. Torres T.: Phthalocyanines: old dyes, new materials. Putting color in nanotechnology. *Chem. Commun.*, **2007**, 20, 2000-2015.
- b) Bottari G., de la Torre G., Torres T.: Phthalocyanine-nanocarbon ensembles: From discrete molecular and supramolecular systems to hybrid nanomaterials. *Acc. Chem. Res.*, **2015**, 48, 4, 900-910.
- 74 Bufon B. C. C., Vervacke C., Thurmer D. J., Fronk M., Salvan G., Lindner S., Knupfer M., Zahn D. R. T., Schmidt O. G.: Determination of the charge transport mechanisms in ultrathin copper phthalocyanine vertical heterojunctions. *J. Phys. Chem. C*, **2014**, 118, 14, 7272–7279.
- 75 Lucky S. S., Soo K. C., Zhang Y.: Nanoparticles in Photodynamic Therapy. *Chem. Rev.*, **2015**, 115, 4, 1990-2042.
- 76 Garcia A. M., Alarcon E., Munoz M., Scaiano J. C., Edwards A. M., Lissi E.: Photophysical behaviour and photodynamic activity of zinc phthalocyanines associated to liposomes. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2011**, 10, 4, 507-514.
- 77 Taratula O., Schumann C., Naleway M. A., Pang A. J., Chon K. J., Taratula O.: A multifunctional theranostic platform based on phthalocyanine-loaded dendrimer for image-guided drug delivery and photodynamic therapy. *Mol. Pharmaceutics*, **2013**, 10, 10, 3946–3958.
- 78 Daughton C. G., Ternes T. A.: Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ. Health Perspect.*, **1999**, 107, 6, 907-938.
- 79 a) Ukrainczyk L., Chibwe M., Pinnavaia T. J., Boyd S. A.: Reductive Dechlorination of Carbon Tetrachloride In Water Catalyzed by Mineral-Supported Biomimetic Cobalt Macrocycles. *Environ. Sci. Technol.*, **1995**, 29, 2, 439–445.
- b) Shao J. G., Richards K., Rawlins D., Han B. C., Hansen C. A.: Synthesis, electrochemistry, spectroelectrochemistry and catalytic properties in DDT reductive dechlorination in of iron(II) phthalocyanine, 2,3- and 3,4-tetrapyrrolineporphyrin complexes. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, **2013**, 17, 4, 317-330.

- 80 a) Caminos D. A., Spesia M. B., Durantini E. N.: Photodynamic inactivation of *Escherichia coli* by novel meso-substituted porphyrins by 4-(3-N,N,N-trimethylammoniumpropoxy) phenyl and 4-(trifluoromethyl)phenyl groups. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2006**, 5, 56-65.
- b) Cormick M. P., Alvarez M. G., Rovera M., Durantini E. N.: Photodynamic inactivation of *Candida albicans* sensitized by tri- and tetra-cationic porphyrin derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, 44, 1592-1599.
- 81 Gerasimov O. V., Lymar S. V., Parmon V. N.: Water photo-oxidation sensitized by zinc (II) meso-tetrakis (N-methyl-4-pyridyl) porphine. *J. Photoch. Photobiol. A: Chem.*, **1991**, 56, 2-3, 275-285.
- 82 Kasuga K., Morisada M., Handa M.: Conductivity of reduced metallo-tetra-N-methyl-2,3-pyridinoporphyrazine complexes, *Inorg. Chim. Acta*, **1990**, 174, 2, 161-163.
- 83 a) Dezhampah H., Firouzi R.: Spectroscopic studies on the interaction of Co(II) tetrapyrroline porphyrin with synthetic polynucleotides and DNA. *Phys. Chem. Res.*, **2016**, 4, 2, 161-172.
- b) Uslan C., Sesalan B. S.: Synthesis of novel DNA-interacting phthalocyanines. *Dyes Pigm.*, **2012**, 94, 1, 127-135.
- 84 Benov L.: Photodynamic therapy: Current status and future directions. *Med. Princ. Pract.*, **2015**, 24, 14-28.
- 85 Lakowicz J. R. : *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3.vydání. Springer, New York, **2006**. ISBN: 978-387312781.
- 86 Stokes G. G.: On the change of refrangibility of light. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **1852**, 142, 463-562.
- 87 Merer A. J., Mulliken R. S.: Ultraviolet spectra and excited states of ethylene and its alkyl derivatives. *Chem Rev.*, **1969**, 69, 639-656.
- 88 Yamazaki I., Murao T., Yoshihara K.: Picosecond fluorescence decays from vibrational levels in the S1(n, $\pi$ ) state of pyridine vapor. *Chem. Phys. Lett.*, **1982**, 92, 421-424.
- 89 Hsieh C. C., Cheng Y. M., Hsu C. J., Chen K. Y., Chou P. T.: Spectroscopy and femtosecond dynamics of excited-state proton transfer induced charge transfer reaction. *J. Phys. Chem. A.*, **2008**, 112, 8323-32.
- 90 Berezin M. Y., Achilefu S.: Fluorescence lifetime measurements and biological imaging. *Chem. Rev.*, **2010**, 110, 2641-2684.
- 91 Bhattacharyya K.: Solvation dynamics and proton transfer in supramolecular assemblies. *Acc. Chem. Res.*, **2003**, 36, 95-101.
- 92 Petrik P., Zimcik P., Kopecky K., Musil Z., Miletin M., Loukotova V.: Protonation and deprotonation of nitrogens in tetrapyrroline porphyrin macrocycles. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, **2007**, 11, 487-495.
- 93 Levshin V. L., Baranova E. G.: Study of the nature of concentration quenching of luminescence for dyes in different solvents and the classification of different types of quenching. *Opt. Spektrosk.*, **1959**, 6, 55-64.
- 94 Förster, T.: Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz. *Ann. Phys.*, **1948**, 437, 55-75.

- 95 Qian H., Georgi C., Anderson N., Green A. A., Hersam M. C., Novotny L., Hartschuh A.: Exciton energy transfer in pairs of single-walled carbon nanotubes. *Nano. Lett.*, **2008**, 8, 1363-7.
- 96 Clapp A. R., Medintz I. L., Mattoussi H.: Förster resonance energy transfer investigations using quantum-dot fluorophores. *Chem. Phys. Chem.*, **2006**, 7, 47-57.
- 97 Gadella T. W.: *FRET and FLIM Techniques*. přepracované vydání. Elsevier Science, Amsterdam, Nizozemí, **2011**. ISBN 978-0080915128.
- 98 Tramier M., Coppey-Moisan M.: Fluorescence anisotropy imaging microscopy for homo-FRET in living cells. *Methods Cell. Biol.*, **2008**, 85, 395-414.
- 99 Piston D. W., Rizzo M. A.: FRET by fluorescence polarization microscopy. *Methods Cell. Biol.*, **2008**, 85, 415-30.
- 100 Dexter D. L.: A theory of sensitized luminescence in solids. *J. Chem. Phys.*, **1953**, 21, 836-850.
- 101 a) Murphy C. B., Zhang Y., Troxler T., Ferry V., Martin J. J., Jones W. E.: Probing Förster and Dexter energy-transfer mechanisms in fluorescent conjugated polymer chemosensors. *J. Phys. Chem. B*, **2004**, 108, 1537-1543.
- b) Soler M., McCusker J. K.: Distinguishing between Dexter and rapid sequential electron transfer in covalently linked donor-acceptor assemblies. *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 4708-4724.
- c) Hurley D. J., Tor Y.: Donor/acceptor interactions in systematically modified Ru(II)-Os(II) oligonucleotides. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 13231-13241.
- 102 Hsu C.P.: The electronic couplings in electron transfer and excitation energy transfer. *Acc. Chem. Res.*, **2009**, 42, 509-518.
- 103 Murphy C. J., Arkin M. R., Jenkins Y., Ghatlia N. D., Bossmann S. H., Turro N. J., Barton J. K.: Long-range photoinduced electron transfer through a DNA helix. *Science*, **1993**, 262, 1025-1029.
- 104 Valeur B.: *Molecular fluorescence: Principles and applications*. 2. vydání. Wiley-VCH Verlag, Německo, **2013**. ISBN 978-3527328468.
- 105 a) Zhang X., Guo L., Wu F.-Y., Jiang Y.-B.: Development of fluorescent sensing of anions under excited-state intermolecular proton transfer signaling mechanism. *Org. Lett.*, **2003**, 5, 2667-2670.
- b) Choi K.; Hamilton A. D.: A dual channel fluorescence chemosensor for anions involving intermolecular excited state proton transfer. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2001**, 40, 3912-3915.
- 106 Nishizawa S., Kaneda H., Uchida T., Teramae N.: Anion sensing by a donor-spacer-acceptor system: an intra-molecular exciplex emission enhanced by hydrogen bond-mediated complexation. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1998**, 2325-2327.
- 107 Beer P. D.: Transition-Metal Receptor Systems for the Selective Recognition and Sensing of Anionic Guest Species. *Acc. Chem. Res.*, **1998**, 31, 71-80.
- 108 Balzani V.: *Electron transfer in chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim, Německo, **2001**. ISBN: 978-3527299126.

- 109 Rathore R., Kochi J. K.: Donor/acceptor organizations and the electron-transfer paradigm for organic reactivity. *Adv. Phys. Org. Chem.*, 35, **2000**, 193-318.
- 110 Natali M., Campagna S., Scandola F.: Photoinduced electron transfer across molecular bridges: Electron- and hole-transfer superexchange pathways. *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 4005–4018.
- 111 a) Marcus R. A.: Electron transfer reactions in chemistry: Theory and experiment (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1993**, 32, 1111–1121.
- 112 Closs G. L., Miller J. R.: Intramolecular long-distance electron transfer in organic molecules. *Science*, **1988**, 240, 440–447.
- 113 Weller A.: Photoinduced electron transfer in solution: exciplex and radical ion pair formation free enthalpies and their solvent dependence. *Z. Phys. Chem.*, **1982**, 133, 93–98.
- 114 Williams R. M., Braslavsky S. E.: *Triggering of photomovement – Molecular basis. 2. kapitola* Photomovement v knize Comprehensive Series in Photosciences. Vol. 1, editoři: Häder D.-P., Lebert M., Elsevier Science B.V., Amsterdam, 15–50, **2001**. ISBN: 978-0444507068.
- 115 Gray H. B., Winkler J. R.: Electron flow through metalloproteins. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **2010**, 1797, 1563–1572.
- 116 Hammarström L.: Accumulative charge separation for solar fuels production: Coupling light-induced single electron transfer to multielectron catalysis. *Acc. Chem. Res.*, **2015**, 48, 840–850.
- 117 Grätzel M.: Dye-sensitized solar cells. *J. Photochem. Photobiol. C*, **2003**, 4, 145–153.
- 118 a) Daly B., Ling J., de Silva A. P.: Current developments in fluorescent PET (Photoinduced electron transfer) sensors and switches. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44, 4203–4211.
- b) Stennett E. M. S., Ciuba M. A., Levitus M.: Photophysical processes in single molecule organic fluorescent probes. *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, 43, 1057–1075.
- 119 Suzuki Y., Yokoyama K.: Development of functional fluorescent molecular probes for the detection of biological substances. *Biosens.*, **2015**, 5, 2, 337-363.
- 120 Siegerman, H.: *Techniques of Electroorganic Synthesis*. Part 2; editor: Weinberg N. L., Wiley: New York, **1975**.
- 121 a) Ma L., Qian J., Tian H., Lan M., Zhang W.: A colorimetric and fluorescent dual probe for specific detection of cysteine based on intramolecular nucleophilic aromatic substitution. *Analyst*, **2012**, 137, 5046-5050.
- b) Dash N., Malakar A., Kumar M., Mandal B., Krishnamoorthy G.: Metal ion dependent “ON” intramolecular charge transfer (ICT) and “OFF” normal switching of the fluorescence: sensing of Zn<sup>2+</sup> by ICT emission in living cells. *Sensors Actuators B Chem.* **2014**, 202, 1154-1163.
- c) Staneva D., Grabchev I., Soumillion J. P., Bojinov V.: A new fluorosensor based on bis-1,8-naphthalimide for metal cations and protons. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **2007**, 189, 192-197.
- 122 Orzel L., Janczyk A., Brindell M., Stopa G., Stochel G.: New trends in the application of laser flash photolysis – Case studies. *J. Coord. Chem.*, **2010**, 63, 2695–2714.

- 123 Miura T., Urano Y., Tanaka K., Nagano T., Ohkubo K., Fukuzumi S.: Rational design principle for modulating fluorescence properties of fluorescein-based probes by photoinduced electron transfer. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 8666–8867.
- 124 a) Fukuzumi S., Ohkubo K., Suenobu T.: Long-lived charge separation and applications in artificial photosynthesis. *Acc. Chem. Res.*, **2014**, 47, 1455–1464.
- b) Vlcek A. Jr., Kvapilová H., Towrie M., Zalis S.: Electron-transfer acceleration investigated by time resolved infrared spectroscopy. *Acc. Chem. Res.*, **2015**, 48, 868–876.
- 125 a). Delor M., Scattergood P. A., Sazanovich I. V., Parker A. W., Greetham G. M., Meijer A. J. H. M., Towrie M., Weinstein J. A.: Toward control of electron transfer in donor-acceptor molecules by bond-specific infrared excitation. *Science*, **2014**, 346, 1492–1495.
- b) Batat P., Vives G., Bofinger R., Chang R.-W., Kauffmann B., Oda R., Jonusauskas G., McClenaghan N. D.: Dynamics of ion-regulated photoinduced electron transfer in BODIPY-BAPTA conjugates. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2012**, 11, 1666–1674.
- 126 a) Georgiev N., Bojinov V., Nikolov P., The design, synthesis and photophysical properties of two novel 1,8-naphthalimide fluorescent pH sensors based on PET and ICT. *Dyes Pigments*, **2011**, 88, 350-357.
- b) Callan J., de Silva A., Magri D.: Luminescent sensors and switches in the early 21st century. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 8551-888.
- c) Alamry K., Georgiev N., Abdullah El-Daly S., Taib L., Bojinov V.: A highly selective ratiometric fluorescent pH probe based on a PAMAM wavelength-shifting bichromophoric system. *Spectrochim. Acta A*, **2015**, 135, 792-800.
- 127 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.
- 128 Barbara P. F., Meyer T. J., Ratner M. A. Contemporary Issues in Electron Transfer Research. *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 31, 13148-13168.
- 129 a) Demchenko A.: Practical aspects of wavelength ratiometry in the studies of intermolecular interactions. *J. Molec. Str.*, **2014**, 1077, 51-67.
- c) Ma Y., Chen H., Wang F., Kambam S., Wang Y., Mao C., Chen X. A highly sensitive and selective ratiometric fluorescent sensor for Zn<sup>2+</sup> ion based on ICT and: FRET. *Dyes Pigments*, **2014**, 102, 301-307.
- d) Xia X., Zeng F., Zhang P., Lyu J., Huang Y., Wu S.: An ICT-based ratiometric fluorescent probe for hydrazine detection and its application in living cells and in vivo. *Sensors Actuators B Chem.*, **2016**, 227, 411-418.
- e) Alamry K., Georgiev N., Abdullah El-Daly S., Taib L., Bojinov V.: A ratiometric rhodamine-naphthalimide pH selective probe built on the basis of a PAMAM light-harvesting architecture. *J. Lumin.*, **2015**, 158, 50-59.
- 130 a) Liu Y., Lv X., Zhao Y., Chen M., Liu J., Wang P., Wei G.: A naphthalimide-rhodamine ratiometric fluorescent probe for Hg<sup>2+</sup> based on fluorescence resonance energy transfer. *Dyes Pigments*, **2012**, 92, 909-915.

- b) Cui L., Zhu W., Xu Y., Qian X.: A novel ratiometric sensor for the fast detection of palladium species with large red-shift and high resolution both in aqueous solution and solid state. *Anal. Chim. Acta*, **2013**, 786, 139-145.
- c) Hamilton G., Fullerton L., McCaughan B., Donnelly R., Callan J.: A ratiometric fluorescent hydrogel sensor for zinc(II) based on a two fluorophore approach. *New. J. Chem.*, **2014**, 38, 2823-2830.
- d) Georgiev N., Dimitrova M., Asiri A., Alamry K., Bojinov V.: Synthesis, sensor activity and logic behaviour of a novel bichromophoric system based on rhodamine 6G and 1,8-naphthalimide. *Dyes Pigments*, **2015**, 115, 172-180.
- 131 a) Zhang X., Zhang T., Shen S., Miao J., Zhao B.: A ratiometric lysosomal pH probe based on the coumarin-rhodamine FRET system. *RSC Adv.*, **2015**, 5, 49115-49121.
- b) Kikuchi K., Takakusa H., Nagano T.: Recent advances in the design of small molecule-based FRET sensors for cell biology. *Trends Anal. Chem.*, **2004**, 23, 407-415.
- c) Wu Y., Zhang X., Li J., Zhang C., Liang H., Mao G., Zhou L. Y., Tan W., Yu R. Q.: Bispirene-Fluorescein hybrid based FRET cassette, a convenient platform toward ratiometric timeresolved probe for bioanalytical applications. *Anal. Chem.*, **2014**, 86, 10389-10396.
- 132 a) Georgiev N., Sakr A., Bojinov V.: Design and synthesis of a novel PET and ICT based 1,8-naphthalimide FRET bichromophore as a four-input Disabled- Enabled-OR logic gate. *Sensors Actuators B Chem.*, **2015**, 221, 625-634.
- b) Qian J., Qian X., Xu Y., Zhang S.: Multiple molecular logic functions and molecular calculations facilitated by surfactant's versatility. *Chem. Commun.*, **2008**, 4141-4143.
- c) Georgiev N., Lyulev M., Alamry K., Abdullah El-Daly S., Taib L., Bojinov V.: Synthesis, sensor activity and logic behavior of a highly water-soluble 9,10- dihydro-7H-imidazo[1,2-b]benz[d,e]isoquinolin-7-one dicarboxylic acid. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **2014**, 297, 31-38.
- d) Zammit R., Pappova M., Zammit E., Gabarretta J., Magri D.: 1,3,5- Triarylpyrazolines - pH-driven off-on-off molecular logic devices based on a "receptor1-fluorophore-spacer-receptor2" format with internal charge transfer (ICT) and photoinduced electron transfer (PET) mechanisms. *Can. J. Chem.*, **2015**, 93, 1-8.
- e) Said A., Georgiev N., Bojinov V.: Sensor activity and logic behavior of dihydroxyphenyl hydrazone derivative as a chemosensor for Cu<sup>2+</sup> determination in alkaline aqueous solutions. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **2015**, 311, 16-24.
- 133 a) Ozlem S., Akkaya E.: Thinking outside the silicon box, molecular AND logic as an additional layer of selectivity in singlet oxygen generation for photodynamic therapy. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 48-49.
- b) Pais V., Remon P., Collado D., Andréasson J., Perez-Inestrosa E., Pischel U.: OFF-ON- OFF fluorescence switch with T-latch function. *Org. Lett.*, **2011**, 13, 5572-5575.
- c) Pu F., Ju E., Ren J., Qu X.: Multiconfigurable logic gates based on fluorescence switching in adaptive coordination polymer nanoparticles. *Adv. Mater.*, **2014**, 26, 1111-1117.
- d) de Silva A.: *Molecular logic-based computation*. Cambridge, Royal Society of Chemistry, **2013**. ISBN: 978-1849731485.

- e) Marinova N., Georgiev N., Bojinov V.: Facile synthesis, sensor activity and logic behaviour of 4-aryloxy substituted 1,8-naphthalimide. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **2013**, 254, 54-61.
- f) Magri D., Fava M., Mallia C.: A sodium-enabled 'Pourbaix sensor', a three-input AND logic gate as a 'lab-on-a-molecule' for monitoring Na<sup>+</sup>, pH and pE. *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 1009-1011.
- g) Mahapatra A., Manna S., Mukhopadhyay C., Mandal D.: Pyrophosphate-selective fluorescent chemosensor based on ratiometric tripodal-Zn(II) complex, application in logic gates and living cells. *Sensors Actuators B Chem.*, **2014**, 200, 123-131.
- h) Ling J., Naren G., Kelly J., Moody T., de Silva A.: Building pH sensors into paperbased small-molecular logic systems for very simple detection of edges of objects. *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 13, 3763-3766.
- i) Sun J., Yang F., Zhao D., Chen C., Yang X.: Integrated logic gate for fluorescence turn-on detection of histidine and cysteine based on Ag/Au bimetallic nanoclusters-Cu<sup>2+</sup> ensemble. *Appl. Mater. Interfaces*, **2015**, 7, 6860-6866.
- j) Georgiev N., Yaneva I., Surleva A., Asiri A., Bojinov V.: Synthesis, sensor activity and logic behavior of a highly water-soluble naphthalimide derivative. *Sensors Actuators B Chem.*, **2013**, 184, 54-63.
- k) Jung H., Singh N., Lee D., Jang D.: Benzimidazole-based ratiometric fluorescent receptor exhibiting molecular logic gate for Cu<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup>. *Tetrahedron Lett.*, **2009**, 50, 5555-5558.
- 134 Dance Z. E., Mickley S. M., Wilson T. M., Ricks A. B., Scott A. M., Ratner M. A., Wasielewski M. R.: Intersystem crossing mediated by photoinduced intramolecular charge transfer: julolidine-anthracene molecules with perpendicular pi systems. *J. Phys. Chem. A*, **2008**, 112, 4194-4201.
- 135 Menzel R., Thiel E.: Intersystem crossing rate constants of rhodamine dyes: influence of the amino-group substitution. *Chem. Phys. Lett.*, **1998**, 291, 237-243.
- 136 Boens N., Qin W., Basaric N., Hofkens J., Ameloot M., Pouget J., Lefevre J. P., Valeur B., Gratton E., vandeVen M., Silva N. D., Engelborghs Y., Willaert K., Sillen A., Rumbles G., Phillips D., Visser A. J. W. G., van Hoek A., Lakowicz J. R., Malak H., Gryczynski I., Szabo A. G., Krajcarski D. T., Tamai N., Miura A.: Fluorescence lifetime standards for time and frequency domain fluorescence spectroscopy. *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 2137-2149.
- 137 Khajehpour M., Troxler T., Vanderkool J. M.: Probing the active site of trypsin with rose bengal: insights into the photodynamic inactivation of the enzyme. *Photochem. Photobiol.*, **2004**, 80, 359-365.
- 138 Larkin J. M., Donaldson W. R., Foster T. H., Knox R. S.: Reverse intersystem crossing from a triplet state of rose bengal populated by sequential 532- + 1064-nm laser excitation. *Chem. Phys.*, **1999**, 244, 319-330.
- 139 Ogunsipe A., Nyokong T.: Effects of central metal on the photophysical and photochemical properties of non-transition metal sulfophthalocyanine. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, **2005**, 9, 121-129.
- 140 Medlycott E. A., Hanan G. S.: Designing tridentate ligands for ruthenium(II) complexes with prolonged room temperature luminescence lifetimes. *Chem. Soc. Rev.*, **2005**, 34, 2, 133-142.



- 141 Scholz M., Dedic R., Breitenbach T., Hala J.: Singlet oxygen-sensitized delayed fluorescence of common water-soluble photosensitizers. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2013**, 12, 1873-1884.
- 142 Parker C. A.: *Photoluminescence of Solutions: With applications to photochemistry and analytical chemistry*. 1. vydání. Elsevier Publishing Co., Amsterdam-London-New York, **1968**. ISBN: 978-0444407634.
- 143 a) Bonnett R.: Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 24, 19-33.
- b) Gambichler T., Breuckmann F. B. S., Altmeyer P., Kreuter A.: Narrowband UVB phototherapy in skin conditions beyond psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2005**, 52, 660-670.
- c) Paus S., Schmidt-Hubsch T., Wullner U., Vogel A., Klockgether T., Abele M.: Bright light therapy in Parkinson's disease: A pilot study. *Mov. Disord.* **2007**, 22, 1495-1498.
- 144 Ben-Hur E., Chan W.-S.: *Phthalocyanines in photobiology and their medical applications*, 117. kapitola v knize *The porphyrin handbook: Applications of phthalocyanines*. Vol. 19, editoři: Kadish K., Guillard R., Smith K. M., Elsevier, San Diego, 1-36, **2012**. ISBN: 978-0123957931.
- 145 Rabb O.: Ueber die wirkung fluoreszierender stoffe auf infusori. *Ztg. Biol.*, **1900**, 39, 524-536.
- 146 Von Tappeiner H., Jesionek A.: Therapeutische versuche mit fluoreszierenden stoffen. *Munch. Med. Wochenschr.*, **1903**, 50, 2042-2044.
- 147 Dougherty T. J., Kaufman J. E., Goldfarb A., Weishaupt K. R., Boyle D., Mittleman A.: Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res.* **1978**, 38, 2628-2635.
- 148 Mroz P., Bhaumik J., Dogutan D. K., Aly Z., Kamal Z., Khalid L., Kee H. L., Bocian D. F., Holten D., Lindsey J. S., Hamblin, M. R.: Imidazole metalloporphyrins as photosensitizers for photodynamic therapy: role of molecular charge, central metal and hydroxyl radical production. *Cancer Lett.*, **2009**, 282, 63-76.
- 149 Fridovich I.: Oxygen toxicity: a radical explanation. *J. Exp. Biol.*, **1998**, 201, 1203-1209.
- 150 Fee J. A.: Is superoxide important in oxygen poisoning? *Trends Biochem. Sci.*, **1982**, 7, 84-86.
- 151 Winterbourn C. C., Kettle A. J.: Radical-radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2003**, 305, 729-736.
- 152 a) d'Alessandro N., Bianchi G., Fang X., Jin F. M., Schuchmann H. P., von Sonntag: Reaction of superoxide with phenoxy-type radicals. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, **2000**, 9, 1862-1867.
- b) Nagy P., Kettle A. J., Winterbourn C. C.: Superoxide-mediated formation of tyrosine hydroperoxides and methionine sulfoxide in peptides through radical addition and intramolecular oxygen transfer. *J. Biol. Chem.*, **2009**, 284, 14723-14733.
- 153 Misiaszek R., Crean C., Joffe A., Geacintov N. E., Shafirovich V.: Oxidative DNA damage associated with combination of guanine and superoxide radicals and repair mechanisms via radical trapping. *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279, 32106-32115.

- 154 DeRosa M. C., Crutchley R. J.: Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, 233, 351–371.
- 155 Rodgers M. A., Snowden P. T.: Lifetime of  $O_2(^1\Delta_g)$  in liquid water as determined by timeresolved infrared luminescence measurements. *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 5541–5543.
- 156 Redmond R. W., Kochevar I. E: Spatially resolved cellular responses to singlet oxygen. *Photochem. Photobiol.*, **2006**, 82, 1178–1186.
- 157 Davies M. J.: Reactive species formed on proteins exposed to singlet oxygen. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2004**, 3, 17–25.
- 158 Dongen G. A. M. S. V., Visser G. W. M., Vrouenraets M. B.: Photosensitizer-antibody conjugates for detection and therapy of cancer. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2004**, 56, 31–52.
- 159 Ormond A. B., Freeman H. S.: Dye sensitizers for photodynamic therapy. *Materials*, **2013**, 6, 817–840.
- 160 Wu, S., Xing, D. Mechanism of mitochondrial membrane permeabilization during apoptosis under photofrin-mediated photodynamic therapy. *J. Xray Sci. Technol.*, **2012**, 20, 363–372.
- 161 Levine, B., Klionsky, D.J. Development by self-digestion: Molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev. Cell*, **2004**, 6, 463–477.
- 162 Mroz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G. B., Hamblin M. R.: Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer. *Cancers*, **2011**, 3, 2516–2539.
- 163 a) Zheng Y., Guifang Y., Le V., Zhang A., Chen S., Liang X., Liu J.: Photodynamic-therapy activates immune response by disrupting immunity homeostasis of tumor cells, which generates vaccine for cancer therapy. *Int. J. Biol. Sci.*, **2016**, 12, 1, 120-132.
- b) Korbelik M.: Cancer vaccines generated by photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2011**, 10, 664-669.
- c) Saini R., Lee N. V., Liu K. Y. P. Poh C. F.: Prospects in the application of photodynamic therapy in oral cancer and premalignant lesions. *Cancers*, **2016**, 8, 9, 83.
- 164 Holohan C., Van Schaeybroeck S., Longley D. B., Johnston P. G.: Cancer drug resistance an evolving paradigm, *Nat. Rev. Cancer*, **2013**, 13, 714–726.
- 165 a) Yu C. H., Yu C. C.: Photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid (ALA) impairs tumor initiating and chemo-resistance property in head and neck cancer-derived cancer stem cells. *PLoS One*, **2014**, 9, e87129.
- b) Özdemir B. C., Pentcheva-Hoang T., Carstens J. L., Zheng X. F., Wu C. C., Simpson T. R., Laklai H., Sugimoto H., Kahlert C., Novitskiy S. V., De Jesus-Acosta A., Sharma P., Heidari P., Mahmood U., Chin L., Moses H. L., Weaver V. M., Maitra A., Allison J. P., LeBleu V. S., Kalluri R.: Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell*, **2014**, 25, 719–734.
- 166 a) Lovell J. F., Jin C. S., Huynh E., Jin H. L., Kim C., Rubinstein J. L., Chan W. C. W., Cao W. G., Wang L. V., Zheng G.: Porphysome nanovesicles generated by porphyrin bilayers for use as multimodal biophotonic contrast agents. *Nat. Mater.*, **2011**, 10, 324–332.
- b) Nishiyama N., Nakagishi Y., Morimoto Y., Lai P.-S., Miyazaki K., Urano K., Horie S., Kumagai M., Fukushima S., Cheng Y., Jang W.-D., Kikuchi M., Kataoka K.: Enhanced

- photodynamic cancer treatment by supramolecular nanocarriers charged with dendrimer phthalocyanine. *J. Control. Release*, **2009**, 133, 245–251
- 167 Szacilowski K., Macyk W., Drzewiecka-Matuszek A., Brindell M., Stochel G.: Bioinorganic photochemistry: Frontiers and mechanisms. *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 2647–2694.
- 168 Brancaleon L., Moseley H.: Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. *Lasers Med. Sci.*, **2002**, 17, 173–186.
- 169 a) Erkiert-Polguj A., Halbina A., Polak-Pacholczyk I., Rotsztejn H.: Light-emitting diodes in photodynamic therapy in non-melanoma skin cancers—Own observations and literature review. *J. Cosmet. Laser Ther.*, **2016**, 18, 105–110.
- b) Hino H., Murayama Y., Nakanishi M., Inoue K., Nakajima M., Otsuji E.: 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy using light-emitting diodes of different wavelengths in a mouse model of peritoneally disseminated gastric cancer. *J. Surg. Res.*, **2013**, 185, 119–126.
- 170 a) Cantisani C., Paolino G., Bottoni U., Calvieri S.: Daylight-photodynamic therapy for the treatment of actinic keratosis in different seasons. *J. Drugs Dermatol.*, **2015**, 14, 1349–1353.
- b) Lacour J. P., Ulrich C., Gilaberte Y., Von Felbert V., Basset-Seguín N., Dreno B., Girard C., Redondo P., Serra-Guillen C., Synnerstad I, Tarstedt M., Tsianakas A., Venema A. W., Kelleners-Smeets N., Adamski H., Perez-Garcia B., Gerritsen M. J., Leclerc S., Kerrouche N., Szeimies R. M.: Daylight photodynamic therapy with methyl aminolevulinic acid cream is effective and nearly painless in treating actinic keratoses: A randomised, investigator-blinded, controlled, phase iii study throughout europe. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, **2015**, 29, 2342–2348.
- 171 Henderson B. W., Busch T. M., Snyder J. W.: Fluence rate as a modulator of PDT mechanisms. *Lasers Surg. Med.*, **2006**, 38, 489–493.
- 172 Lipsin R. L., Baldes E. J.: The photodynamic properties of a particular hematoporphyrin derivative. *Arch. Dermatol.*, **1960**, 82, 4, 508-516.
- 173 a) Nyman E. S., Hynninen P. H.: Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol. B*, **2004**, 73, 1–28.
- b) Wolfsen H. C: Porfimer sodium photodynamic therapy: the long road to acceptance in America. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, **2007**, 4, 242–243.
- 174 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: Cancer J. Clin.*, **2011**, 61, 250-281.
- 175 Batlle A. M. D. C.: Porphyrins, porphyrias, cancer and photodynamic therapy—A model for carcinogenesis. *J. Photochem. Photobiol. B*, **1993**, 20, 5–22.
- 176 Teijo M. J., Diez B., Batlle A., Fukuda H.: Modulation of 5-Aminolevulinic acid mediated photodynamic therapy induced cell death in a human lung adenocarcinoma cell line. *Integr. Cancer Sci. Therap.*, **2016**, 3, 450-459.
- 177 Lopez R. F. V., Lange N., Guy R. H., Bentley M. V. L. B.: Photodynamic therapy of skin cancer: controlled drug delivery of 5-ALA and its esters. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2004**, 56, 77–94.

- 178 Furre I. E., Shahzidi S., Luksiene Z., Moller M. T. N., Borgen E., Morgan J., Tkacz-Stachowska K., Nesland J. M., Peng Q.: Targeting PBR by hexaminolevulinate-mediated photodynamic therapy induces apoptosis through translocation of apoptosis-inducing factor in human leukemia cells. *Cancer Res.*, **2005**, *65*, 11051–11060.
- 179 Chan W. M., Lim T. H., Pece A., Silva R., Yoshimura N.: Verteporfin PDT for non-standard indications – a review of current literature. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, **2010**, *248*, 613–626.
- 180 Nanashima A., Nagayasu T.: Current status of photodynamic therapy in digestive tract carcinoma in Japan. *Int. J. Mol. Sci.*, **2015**, *16*, 3434–3440.
- 181 Wagner A., Denzer U. W., Neureiter D., Kiesslich T., Puespoeck A., Rauws E. A., Emmanuel K., Degenhardt N., Frick U., Beuers U., Lohse A. W., Berr F., Wolkersdörfer G. W.: Temoporfin improves efficacy of photodynamic therapy in advanced biliary tract carcinoma: a multicenter prospective phase II study. *Hepatology*, **2015**, *62*, 1456–1465.
- 182 Chakravarthy U., Soubrane G., Bandello F., Chong V., Creuzot-Garcher C., Dimitrakos S. A., Korobelnik J. F., Larsen M., Mones J., Pauleikhoff D., Pournaras C. J., Staurengi G., Virgili G., Wolf S.: Evolving European guidance on the medical management of neovascular age related macular degeneration. *Br. J. Ophthalmol.*, **2006**, *90*, 1188–1196.
- 183 Biswas R., Moon J. H., Ahn J. C.: Chlorin e6 derivative radachlorin mainly accumulates in mitochondria, lysosome and endoplasmic reticulum and shows high affinity toward tumors in nude mice in photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.*, **2014**, *90*, 1108–1118.
- 184 Mroz P., Huang Y. Y., Szokalska A., Zhiyentayev T., Janjua S., Nifli A. P., Sherwood M. E., Ruzie C., Borbas K. E., Fan D., Krayer M., Balasubramanian T., Yang E., Kee H. L., Kirmaier C., Diers J. R., Bocian D. F., Holten D., Lindsey J. S., Hamblin M. R.: Stable synthetic bacteriochlorins overcome the resistance of melanoma to photodynamic therapy. *FASEB J.*, **2010**, *24*, 3160–3170.
- 185 Saavedra R., Rocha L. B., Dabrowski J. M., Arnaut L. G.: Modulation of biodistribution, pharmacokinetics, and photosensitivity with the delivery vehicle of a bacteriochlorin photosensitizer for photodynamic therapy. *Chem. Med. Chem.*, **2014**, *9*, 390–398.
- 186 Huang Y. Y., Mroz P., Zhiyentayev T., Sharma S. K., Balasubramanian T., Ruzie C., Krayer M., Fan D., Borbas K. E., Yang E., Kee H. L., Kirmaier C., Diers J. R., Bocian D. F., Holten D., Lindsey J. S., Hamblin M. R.: *In Vitro* photodynamic therapy and quantitative structure-activity relationship studies with stable synthetic near-infrared-absorbing bacteriochlorin photosensitizers. *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 4018–4027.
- 187 Huang L., Krayer M., Roubil J. G., Huang Y. Y., Holten D., Lindsey J. S., Hamblin M. R.: Stable synthetic mono-substituted cationic bacteriochlorins mediate selective broad-spectrum photoinactivation of drug-resistant pathogens at nanomolar concentrations. *J. Photochem. Photobiol. B*, **2014**, *141*, 119–127.
- 188 Gross S., Gilead A., Scherz A., Neeman M., Salomon Y.: Monitoring photodynamic therapy of solid tumors online by BOLD-contrast MRI. *Nat. Med.*, **2003**, *9*, 1327–1331.
- 189 Chevalier S., Anidjar M., Scarlata E., Hamel L., Scherz A., Fichoux H., Borenstein N., Fiette L., Elhilali M.: Preclinical study of the novel vascular occluding agent, WST11, for photodynamic therapy of the canine prostate. *J. Urol.*, **2011**, *196*, 302–309.
- 190 Brun P. H., DeGroot J. L., Dickson E. F. G., Farahani M., Pottier R. H.: Determination of the *in vivo* pharmacokinetics of palladium-bacteriopheophorbide (WST09) in EMT6 tumor-

- bearing Balb/c mice using graphite furnace atomic absorption spectroscopy. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2004**, 3, 1006–1010.
- 191 Lobel J., MacDonald I. J., Ciesielski M. J., Barone T., Potter W. R., Pollina J., Plunkett R. J., Fenstermaker R. A., Dougherty T. J.: 2-[1-Hexyloxyethyl]-2-Devinyl Pyropheophorbide-a (HPPH) in a nude rat glioma model: Implications for photodynamic therapy. *Lasers Surg. Med.*, **2001**, 29, 397–405.
- 192 Bellnier D. A., Greco W. R., Loewen G. M., Nava H., Oseroff A. R., Pandey R. K., Tsuchida T., Dougherty T. J.: Population pharmacokinetics of the photodynamic therapy agent 2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinyl pyropheophorbide-a in cancer patients. *Cancer Res.*, **2003**, 63, 1806–1813.
- 193 Bellnier D. A., Greco W. R., Nava H., Loewen G. M., Oseroff A. R., Dougherty T. J.: Mild skin photosensitivity in cancer patients following injection of Photochlor (2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinylpyropheophorbide-a) for photodynamic therapy. *Cancer Chemother Pharmacol.*, **2005**, 57, 40–45.
- 194 Mody T. D., Sessler J. L.: Texaphyrins: A new approach to drug development. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, **2001**, 5, 134–142.
- 195 Ali H., Lier J. E. V.: Metal complex as photo- and radiosensitizers. *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2379–2450.
- 196 Roberts W. G., Klein M. K., Loomis M., Weldy S., Berns M. W.: Photodynamic therapy of spontaneous cancers in felines, canines, and snakes with chloro-aluminum sulfonated phthalocyanine. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1991**, 83, 18–23.
- 197 Soriano J., Villanueva A., Stockert J. C., Canete M.: Vehiculization determines the endocytic internalization mechanism of Zn(II)-phthalocyanine. *Histochem. Cell Biol.*, **2013**, 139, 149–160.
- 198 Mannucci E., Genovese S., Monami M., Navalesi G., Dotta F., Anichini R., Romagnoli F., Gensini G.: Photodynamic topical antimicrobial therapy for infected foot ulcers in patients with diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study – the D.A.N.T.E (Diabetic ulcer Antimicrobial New Topical treatment Evaluation) study. *Acta Diabetol.*, **2014**, 51, 435–440.
- 199 Sanovic R., Krammer B., Grumboeck S., Verwanger T.: Time-resolved gene expression profiling of human squamous cell carcinoma cells during the apoptosis process induced by photodynamic treatment with hypericin. *Int. J. Oncol.*, **2009**, 35, 921–939.
- 200 Jebaranya J., Ilanchelian M., Prabakar S.: Spectral studies of toluidine blue O in the presence of sodium dodecyl sulfate. *Dig. J. Nanomater. Biostruct.*, **2009**, 4, 789–797.
- 201 Chen Y., Zheng W., Li Y., Zhong J., Ji J., Shen P.: Apoptosis induced by methylene-blue-mediated photodynamic therapy in melanomas and the involvement of mitochondrial dysfunction revealed by proteomics. *Cancer Sci.*, **2008**, 99, 2019–2027.
- 202 Mousavi S. H., Tavakkol-Afshari J., Brook A., Jafari-Anarkooli I.: Direct toxicity of rose bengal in MCF-7 cell line: Role of apoptosis. *Food Chem. Toxicol.*, **2009**, 47, 855–859.
- 203 Dovigo L. N., Pavarina A. C., Ribeiro A. P. D., Brunetti I. L., Costa C. A. D. S., Jacomassi D. P., Bagnato V. S., Kurachi C.: Investigation of the photodynamic effects of curcumin against *Candida albicans*. *Photochem. Photobiol.*, **2011**, 87, 895–903.

- 204 Araujo N. C., Fontana C. R., Gerbi M. E. M., Bagnato V. S.: Overall-mouth disinfection by photodynamic therapy using curcumin. *Photomed. Laser Surg.*, **2012**, 30, 96–101.
- 205 Muehlmann L. A., Ma B. C., Longo J. P. F., Menezes M. D., Santos A., Azevedo R. B.: A aluminum-phthalocyanine chloride associated to poly(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) nanoparticles as a new third-generation photosensitizer for anticancer photodynamic therapy. *Int. J. Nanomedicine*, **2014**, 9, 1199-1213.
- 206 Josefsen L. B., Boyle R. W.: Photodynamic therapy: novel third-generation photosensitizers one step closer? *Br. J. Pharmacol.*, **2008**, 154, 1-3.
- 207 a) Benes J., Pouckova P., Zeman J., Zadinova M., Sunka P., Lukes P., Kolarova H.: Effects of tandem shock waves combined with photosan and cytostatics on the growth of tumours. *Folia Biol.*, **2011**, 57, 255–260.
- b) Trindade F. Z., Pavarina A. C., Ribeiro A. P. D., Bagnato V. S., Vergani C. E., Souza Costa C. A.: Toxicity of photodynamic therapy with LED associated to Photogem®: An *in vivo* study. *Lasers Mes. Sci.*, **2012**, 27, 403–411.
- c) Pushpan S. K., Venkatraman S., Anand V. G., Sankar J., Parmeswaran D., Ganesan S., Chandrashekar T. K.: Porphyrins in photodynamic therapy-A search for ideal photosensitizers. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents*, **2002**, 2, 187–207.
- 208 Hage R., Ferreira J., Bagnato V. S., Vollet-Filho J. D., Plapler H.: Pharmacokinetics of photogem using fluorescence spectroscopy in dimethylhydrazine-induced murine colorectal carcinoma. *Int. J. Photoenergy*, **2012**, 2012, 1–8.
- 209 Usuda J., Kato H., Okunaka T., Furukawa K., Tsutsi H., Yamada K., Suga Y., Honda H., Nagatsuka Y., Ohira T., Tsuboi M., Hirano T.: Photodynamic therapy (PDT) for lung cancers. *J. Thorac. Oncol.*, **2006**, 1, 489–493.
- 210 Dougherty T. J.: An update on photodynamic therapy. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, **2002**, 20, 3–7.
- 211 Peng Q., Berg K., Moan J., Kongshaug M., Nesland J. M.: 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: Principles and experimental research. *Photochem. Photobiol.*, **1997**, 65, 235–251.
- 212 Lui H., Hobbs L., Tope W. D., Lee P. K., Elmets C., Provost N., Chan A., Neyndorff H., Su X. Y., Jain H., Hamzavi I., McLean D., Bissonnette R.: Photodynamic therapy of multiple nonmelanoma skin cancers with verteporfin and red light-emitting diodes. *Arch. Dermatol.* **2004**, 140, 26–32.
- 213 Kobayashi W., Liu Q., Nakagawa H., Sakaki H., Teh B., Matsumiya T., Yoshida H., Imaizumi T., Satoh K., Kimura H.: Photodynamic therapy with mono-L-aspartyl chlorin e6 can cause necrosis of squamous cell carcinoma of tongue: Experimental study on an animal model of nude mouse. *Oral Oncol.*, **2006**, 42, 46–50.
- 214 Muragaki Y., Akimoto J., Maruyama T., Iseki H., Ikuta S., Nitta M., Maebayashi K., Saito T., Okada Y., Kaneko S., Matsumura A., Kuroiwa T., Karasawa K., Nakazato Y., Kayama T.: Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors. *J. Neurosurg.*, **2013**, 119, 845–852.
- 215 a) Triesscheijn M., Ruevekamp M., Aalders M., Baas P., Stewart F. A.: Outcome of mTHPC mediated photodynamic therapy is primarily determined by the vascular response. *Photochem. Photobiol.*, **2005**, 81, 1161–1167.

- b) Dolmans D., Fukumura D., Jain R. K.: Photodynamic therapy for cancer. *Nat. Rev. Cancer*, **2003**, 5, 380–387.
- c) Senge M. O., Brandt J. C.: Temoporfin (Foscan(R),5,10,15,20-tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin) – a second-generation photosensitizer. *Photochem. Photobiol.*, **2011**, 87, 1240–1296.
- 216 O'Connor A. E., Gallagher W. M., Byrne A. T.: Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: Preclinical and clinical advances in photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.*, **2009**, 85, 1053–1074.
- 217 Azzouzi A. R., Lebdaï S., Benzaghoul F., Stief C.: Vascular-targeted photodynamic therapy with TOOKAD Soluble in localized prostate cancer: standardization of the procedure. *World J. Urol.*, **2015**, 33, 937–944.
- 218 Loewen G. M., Pandey R., Bellnier D., Henderson B., Dougherty T.: Endobronchial photodynamic therapy for lung cancer. *Lasers Surg. Med.*, **2006**, 38, 364–370.
- 219 Patel H., Mick R., Finlay J. C., Zhu T. C., Rickter E., Cengel K. A., Malkowicz S. B., Hahn S. M., Busch T. M.: Motexafin lutetium-photodynamic therapy of prostate cancer: Short- and long-term effects of prostate-specific antigen. *Clin. Cancer Res.*, **2008**, 14, 4869–4876.
- 220 Kinsella T. J., Baron E. D., Colussi V. C., Cooper K. D., Hoppel C. L., Ingalls S. T., Kenney M. E., Li X., Oleinick N. L., Stevens S. R., Remick S. C.: Preliminary clinical and pharmacologic investigation of photodynamic therapy with the silicon phthalocyanine photosensitizer Pc 4 for primary or metastatic cutaneous cancers. *Front. Oncol.*, **2011**, 1, 1–6.
- 221 Fernandez J. M., Bilgin M. D., Grossweiner L. I.: Singlet oxygen generation by photodynamic agents. *J. Photochem. Photobiol. B*, **1997**, 37, 131–140.
- 222 Vakrat-Haglilil Y., Weiner L., Brumfeld V., Brandis A., Salomon Y., McIlroy B., Wilson B. C., Pawlak A., Rozanowska M., Sarna T., Scherz A.: The microenvironment effect on the generation of reactive oxygen species by pd-bacteriopheophorbide. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 6487–6497.
- 223 Plaetzer K., Krammer B., Berlanda J., Berr F., Kiesslich T. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: Fundamental aspects. *Lasers Med. Sci.*, **2009**, 24, 259–268.
- 224 Korbelik M.: Low density lipoprotein receptor pathway in the delivery of Photofrin: How much is it relevant for selective accumulation of the photosensitizer in tumors? *J. Photochem. Photobiol. B*, **1992**, 12, 107–113.
- 225 Vicente M. G. H.: Porphyrin-based sensitizers in the detection and treatment of cancer: Recent progress. *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents*, **2001**, 1, 175–194.
- 226 Jori G.: Tumor photosensitizers: Approaches to enhance the selectivity and efficiency of photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol. B*, **1996**, 36, 87–93.
- 227 Hamblin M. R., Newman E. L.: On the mechanism of the tumour-localising effect in photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol. B*, **1994**, 23, 3–8.
- 228 Maeda H., Nakamura H., Fang J.: The epr effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2013**, 65, 71–79.

- 229 Boyle R. W., Dolphin D.: Structure and biodistribution relationships of photodynamic sensitizers. *Photochem. Photobiol.*, **1996**, 64, 469–485.
- 230 Castano A. P., Demidova T. N., Hamblin M. R.: Mechanisms in photodynamic therapy: Part three-photosensitizer pharmacokinetics, biodistribution, tumor localization and modes of tumor destruction. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2005**, 2, 91–106.
- 231 Selbo P.K., Sivam G., Fodstad O., Sandvig K., Berg K.: *In vivo* documentation of photochemical internalization, a novel approach to site specific cancer therapy. *Int. J. Cancer*, **2001**, 92 761–766.
- 232 Norum O.- J., Gaustad J.- V., Angell-Pettersen E., Rofstad E. K., Peng Q., Giercksky K.- E., Berg K.: Photochemical internalization of bleomycin is superior to photodynamic therapy due to the therapeutic effect in the tumor periphery. *Photochem. Photobiol.*, **2009**, 85, 740–749.
- 233 a) Hakerud M., Selbo P. K., Waeckerle-Men Y., Contassot E., Dziunycz P., Kundig T. M., Hogset, A., Johansen P.: Photosensitisation facilitates cross-priming of adjuvant-free protein vaccines and stimulation of tumour-suppressing CD8 T cells. *J. Controlled Release*, **2015**, 198, 10–17.
- b) Hakerud M., Waeckerle-Men Y., Selbo P. K., Kundig T. M., Hogset A., Johansen P.: Intradermal photosensitisation facilitates stimulation of MHC class-I restricted CD8 T-cell responses of co-administered antigen, *J. Controlled Release*, **2014**, 174, 143–150.
- 234 Berg K., Selbo P. K., Prasmickaite L., Tjelle T. E., Sandvig K., Moan J., Gaudernack G., Fodstad O., Kjolsrud S., Anholt H., Rodal G. H., Rodal S. K., Hogset A.: Photochemical internalization: a novel technology for delivery of macromolecules into cytosol. *Cancer Res.*, **1999**, 59, 1180–1183.
- 235 Norum O.- J., Selbo P. K., Weyergang A., Giercksky K.- E., Berg K.: Photochemical internalization (PCI) in cancer therapy: From bench towards bedside medicine. *Photochem. Photobiol. B*, **2009**, 96, 83–92.
- 236 Berg K., Nordstrand S., Selbo P. K., Tran D. T., Ngell-Petersen E., Hogset A.: Disulfonated tetraphenyl chlorin (TPCS2a), a novel photosensitizer developed for clinical utilization of photochemical internalization. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2011**, 10, 1637–1651.
- 237 Dietze A., Peng Q., Selbo P. K., Kaalhus O., Muller C., Bown S., Berg K.: Enhanced photodynamic destruction of a transplantable fibrosarcoma using photochemical internalisation of gelonin. *Br. J. Cancer*, **2005**, 92, 2004–2009.
- 238 Berstad M. B., Cheung L. H., Berg K., Peng Q., Fremstedal A. S., Patzke S., Rosenblum M. G., Weyergang A.: Design of an EGFR-targeting toxin for photochemical delivery: *in vitro* and *in vivo* selectivity and efficacy. *Oncogene*, **2015**, 34, 44, 5582-5592.
- 239 Norum O. J., Gaustad J. V., Angell-Petersen E., Rofstad E. K., Peng Q., Giercksky K. E., Berg K.: Photochemical internalization of bleomycin is superior to photodynamic therapy due to the therapeutic effect in the tumor periphery. *Photochem. Photobiol.*, **2009**, 85, 740–749.
- 240 Lu H.-L., Syu W.-J., Nishiyama N., Kataoka K., Lai P.-S.: Dendrimer phthalocyanine-encapsulated polymeric micelle-mediated photochemical internalization extends the efficacy of photodynamic therapy and overcomes drug-resistance *in vivo*. *J. Control. Release*, **2011**, 115, 3, 458-464.



- 241 Kopecky K.: *Azaftalocyaniny jako nová skupina zhášeců fluorescence*. Disertační práce. Hradec Králové, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, **2009**.
- 242 Yang C. J., Medley C. D., Tan W.: Monitoring nucleic acids using molecular beacons. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **2005**, 6, 445-452.
- 243 Navarro E., Serrano-Heras G., Castaño M. J., Solera J.: Real-time PCR detection chemistry. *Clin. Chim. Acta*, **2015**, 439, 231–250.
- 244 Chen Y., Chen L., Ou Y. D., Guo L. Q., Fu F. F.: Enzyme-free detection of DNA based on hybridization chain reaction amplification and fluorescence resonance energy transfer. *Sens. Actuator B-Chem.*, **2016**, 233, 691-696.
- 245 Didenko V. V.: DNA probes using fluorescence resonance energy transfer (FRET): Designs and applications. *BioTechniques*, **2001**, 31, 1106-1121.
- 246 Le Reste L., Hohlbein J., Gryte K., Kapanidis A. N.: Characterization of dark quencher chromophores as nonfluorescent acceptors for single-molecule FRET. *Biophys. J.*, **2012**, 102, 2658–2668.
- 247 Eurofins Genomics. [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z : <https://www.eurofinsgenomics.eu/en/dna-rna-oligonucleotides/custom-dna-oligos/dna-modifications/dark-quencher.aspx>
- 248 ATDBio. [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z : <http://www.atdbio.com/content/35/FRET-fluorescence-quenchers>
- 249 Zhang Q. F., Li J. M., Zhang Y. Y., Hu Z. Z., Yu C.: One-pot synthesis of quencher labeled Hairpin DNA-CdTe QDs conjugate for target DNA and deoxyribonuclease I detection. *Anal. Sci.*, **2016**, 32, 1035-1037.
- 250 Chevalier A., Massif C., Renard P. Y., Romieu A.: Bioconjugatable azo-based dark-quencher dyes: Synthesis and application to protease-activatable far-red fluorescent probes. *Chem. Eur. J.*, **2013**, 19, 1686-1699.
- 251 Chevalier A., Renard P. Y., Romieu A. : Straightforward synthesis of bioconjugatable azo dyes. Part 2: Black Hole Quencher-2 (BHQ-2) and BlackBerry Quencher 650 (BBQ-650) scaffolds. *Tetrahedron Lett.*, **2014**, 55, 6764-6768.
- 252 Ogawa M, Kosaka N., Choyke P. L., Kobayashi H.: Tumor-specific detection of an optically targeted antibody combined with a quencher-conjugated neutravidin "quencher-chaser": A dual "quench and chase" strategy to improve target to nontarget ratios for molecular imaging of cancer. *Bioconjug. Chem.*, **2009**, 20, 147-154.
- 253 Integrated DNA Technologies. [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z : <https://eu.idtdna.com/Site/Catalog/Modifications/Category/3>
- 254 Eurofins Genomics. [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z : <https://www.eurofinsgenomics.eu/en/dna-rna-oligonucleotides/custom-dna-oligos/dna-modifications/fluorescent-dyes.aspx>
- 255 ATDBio. [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z : <http://www.atdbio.com/content/33/FAM-fluorescein-HEX-JOE-ROX-TAMRA-TET-Texas-Red-and-others>

- 256 Shi X., Bányai I., Rodriguez K., Islam M. T., Lesniak W., Balogh P., Balogh L. P., Baker Jr. J. R.: Electrophoretic mobility and molecular distribution studies of poly(amidoamine) dendrimers of defined charges. *Electrophoresis*, **2006**, 27, 1758–1767.
- 257 a) Stöckigt D., Lohmer G., Belder D.: Separation and identification of basic dendrimers using capillary electrophoresis on-line coupled to a sector mass spectrometer. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **1996**, 10, 521–526.
- b) Klajnert B., Bryszewska M.: The interaction of tryptophan and ANS with PAMAM dendrimers. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, **2002**, 7, 1087–1094.
- 258 Hodge P.: Polymer science branches out. *Nature*, **1993**, 362, 18–19.
- 259 Kesharwani P., Jain K., Jain N. K.: Dendrimer as nanocarrier for drug delivery. *Prog. Poly. Sci.*, **2014**, 39, 268–307.
- 260 Fréchet M. J, Tomalia D. A.: *Dendrimers and other dendritic polymers*. Wiley-VCH, New York, **2002**. ISBN: 978-0471638506.
- 261 Chaudhari H. S., Popat R. R., Adhao V. S., Shrikhande V. N.: Dendrimers: Novel carriers for drug delivery. *J. Appl. Pharm. Res.*, **2016**, 4, 1,1–19.
- 262 a) Tomalia D. A., Naylor A. M., Goddard W. A: Starburst dendrimers: Molecular-level control of size, shape, surface chemistry, topology, and flexibility from atoms to macroscopic matter. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, 138-175.
- b) Tomalia D. A, Fréchet J. M. J.: Discovery of dendrimers and dendritic polymers: A brief historical perspective. *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, **2002**, 40, 2719-2728.
- c) Lee C. C., MacKay J. A., Fréchet J. M. J, Szoka F. C.: Designing dendrimers for biological applications. *Nat. Biotechnol.*, **2005**, 23, 1517-1526.
- d) Caminade A.-M, Hameau A., Majoral J.-P.: Multicharged and/or water-soluble fluorescent dendrimers: Properties and uses. *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15, 9270-9285.
- e) Tekade R. K., Kumar P. V., Jain N. K. : Dendrimers in oncology: an expanding horizon. *Chem. Rev.*, **2009**, 109, 49-87
- f). Bouit P.-A, Westlund R., Feneyrou P., Maury O., Malkoch M., Malmstrom E., Andraud C.: Dendron-decorated cyanine dyes for optical limiting applications in the range of telecommunication wavelengths. *New J. Chem.*, **2009**, 33, 964-968.
- 263 Stewart W. W.: Synthesis of 3,6-disulfonated 4-aminonaphthalimides. *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, 103, 7615-7620.
- 264 a) Bouche C. M., Berdague P., Facoetti H., Robin P., Le Barny P., Schott M.: Side-chain electroluminescent polymers. *Synth. Met.*, **1996**, 81, 191-195.
- b) Morgado J., Gruner J., Walcott S. P., Yong T. M., Cervini R., Moratti S. C., Holmes A. B., Friend R. H.: 4-AcNi - A new polymer for light emitting diodes. *Synth. Met.*, **1998**, 95, 113-117.
- c) Zhu W., Hu C., Chen K., Tian H.: Luminescent properties of copolymeric dyad compounds containing 1,8-naphthalimide and 1,3,4-oxadiazole. *Synth. Met.*, **1998**, 96, 151-154.

- 265 a) Tian H., Gan J., Chen K., He J., Song Q. L., Hou X. Y. J.: Positive and negative fluorescent imaging induced by naphthalimide polymers. *Mater. Chem.*, **2002**, 12, 1262-1267.
- b) Grabchev I., Chovelon J. M., Qian X.: A copolymer of 4-*N*, *N*-dimethylaminoethylene-*N*-allyl-1, 8-naphthalimide with methylmethacrylate as a selective fluorescent chemosensor in homogeneous systems for metal cations. *J. Photochem. Photobiol. A*, **2003**, 158, 37-43.
- c) Tian H., Xu T., Zhao Y., Chen K. J.: Two-path photo-induced electron transfer in naphthalimide-based model compound. *Chem. Soc. Perkin Trans. 2: Phys. Org. Chem.*, **1999**, 0, 545-550.
- 266 a) Gunnlaugsson T., McCoy C. P., Morrow R. J., Phelan C., Stomeo F.: Towards the development of controllable and reversible 'on-off' luminescence switching in soft-matter; synthesis and spectroscopic investigation of 1, 8-naphthalimide-based PET (photoinduced electron transfer) chemosensors for pH in water-permeable hydrogels. *ARKIVOC*, **2003**, 7, 216-228.
- b) Poteau X., Brown A. I., Brown R. G., Holmes C., Matthew D.: Fluorescence switching in 4-amino-1,8-naphthalimides: "on-off-on" operation controlled by solvent and cations. *Dyes Pigm.*, **2000**, 47, 91-105.
- c) Jia L., Zhang Y., Guo X., Qian X.: A novel chromatism switcher with double receptors selectively for Ag<sup>+</sup> in neutral aqueous solution: 4,5-diaminoalkeneamino-*N*-alkyl-1,8-naphthalimides. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 3969-3973.
- 267 a) Chang S.-C., Archer B. J., Utecht R. E., Lewis D. E., Judy M. M., Matthews J. L.: 4-alkylamino-3-bromo-*N*-alkyl-1,8-naphthalimides: New photochemically activatable antiviral compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1993**, 3, 555-556.
- b) Chang S.-C., Utecht R. E., Lewis D. E.: Synthesis and bromination of 4-alkylamino-*N*-alkyl-1,8-naphthalimides. *Dyes Pigm.*, **1999**, 43, 83-94.
- 268 a) Tao, Z.-F., Qian, X.: Naphthalimide hydroperoxides as photonucleases: substituent effects and structural basis. *Dyes Pigm.*, **1999**, 43, 139-145.
- b) King A. S., Martin I. K., Twyman L. J.: Synthesis and aggregation of amine-cored polyamidoamine dendrons synthesised without invoking a protection/deprotection strategy. *Polym. Int.*, **2006**, 55, 798-807.
- c) Georgiev N. I., Bojinov V. B., Nikolov P. S.: Design and synthesis of a novel pH sensitive core and peripherally 1, 8-naphthalimide-labeled PAMAM dendron as light harvesting antenna. *Dyes Pigm.*, **2009**, 81, 18-26.
- 269 Esfand R., Tomalia D. A.: Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications. *Drug Discov. Today*, **2001**, 6, 427-436.
- 270 Wiwattanapatapee R., Carreno-Gomez B., Malik N., Duncan R.: Anionic PAMAM dendrimers rapidly cross adult rat intestine *in vitro*: a potential oral delivery system? *Pharm. Res.*, **2000**, 17, 991-998.
- 271 El-Sayed M., Ginski M., Rhodes C., Ghandehari H.: Transepithelial transport of poly(amidoamine) dendrimers across Caco-2 cell monolayers. *J. Control. Release*, **2002**, 81, 355-365.
- 272 Chiba F., Hu T. C., Twyman L. J., Wagstaff M.: Dendritic macromolecules as inhibitors to protein-protein binding. *Macromol. Symp.*, **2010**, 287, 37-41.

- 273 Zimcik P., Novakova V., Kopecky K., Miletin M., Kobak R. Z. U., Svandrikova E., Vachova L., Lang K.: Magnesium azaphthalocyanines: An emerging family of excellent red-emitting fluorophores. *Inorg. Chem.*, **2012**, 51, 4215–4223.
- 274 Zimcik P., Miletin M., Kostka M., Schwarz J., Musil Z., Kopecky K.: Synthesis and comparison of photodynamic activity of alkylheteroatom substituted azaphthalocyanines. *J. Photobiol. A: Chem.*, **2004**, 163, 21–28.
- 275 Kopecky K., Satinský D., Novakova V., Miletin M., Svoboda A., Zimcik P.: Synthesis of mono-, di-, tri- and tetracarboxy azaphthalocyanines as potential dark quenchers. *Dyes Pigm.*, **2011**, 91, 112–119.
- 276 Univerzita Karlova v Praze, farmaceutická fakulta v Hradci Králové a Generi Biotech, s.r.o. *Nefluoreskující deriváty ftalocyaninů a azaftalocyaninů jako zhášedce fluorescence*. Původce vynálezu: Miletin M., Zimčík P., Kopecký K., Musil Z., Nováková V., Haluza R., Bunčec M. Česká republika. **2009**. Patent č. 300906.
- 277 Váchová L.: Syntéza asymetrických derivátů azaftalocyaninů. Diplomová práce Hradec Králové: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, **2008**.
- 278 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: Chem.*, **2006**, 183, 59–69.
- 279 Mataga N., Chosrowjan H., Taniguchi S.: Ultrafast charge transfer in excited electronic states and investigations into fundamental problems of exciplex chemistry: Our early studies and recent developments. *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.*, **2005**, 6, 37–79.
- 280 Makhseed S., Samuel J.: The synthesis and characterization of zincphthalocyanines bearing functionalized bulky phenoxy substituents. *Dyes Pigm.*, **2009**, 82, 1–5.
- 281 Kostka M., Zimcik P., Miletin M., Klemra P., Kopecky K., Musil Z.: Comparison of aggregation properties and photodynamic activity of phthalocyanines and azaphthalocyanines. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2006**, 178, 16–25.
- 282 Zhang X. F.: Fluorescence properties of phenol-modified zinc phthalocyanine that tuned by photoinduced intra-molecular electron transfer and pH values. *J. Fluoresc.*, **2011**, 21, 1559–1564.
- 283 Donzello M. P., Ou Z., Monacelli F., Ricciardi G., Rizzoli C., Ercolani C., Kadish K. M.: Tetra-2,3-pyrazinoporphyrazines with externally appended pyridine rings. 1. tetrakis-2,3-[5,6-di(2-pyridyl)pyrazino]porphyrazine: A new macrocycle with remarkable electron-deficient properties. *Inorg. Chem.*, **2004**, 43, 8626–8636.
- 284 Stuzhin P. A., Ercolani C.: *Porphyrazines with annulated heterocycles*, 101. kapitola v knize *The porphyrin handbook: Phthalocyanines: Synthesis*. Vol. 15, editoři: Kadish K., Guillard R., Smith K. M., Elsevier, San Diego, 326–331, **2012**. ISBN: 978-0080923918.
- 285 Kobayashi N.: *Synthesis and spectroscopic properties of phthalocyanine analogs*, 100. kapitola v knize *The porphyrin handbook: Phthalocyanines: Synthesis*. Vol. 15, editoři: Kadish K., Guillard R., Smith K. M., Elsevier, San Diego, 186–191, **2012**. ISBN: 978-0080923918.
- 286 Martí C., Nonell S., Nicolau M. Torres T.: Photophysical properties of neutral and cationic tetrapyrrolineporphyrazines. *Photochem. Photobiol.*, **2000**, 71, 1, 53–59.

- 287 Carniato S., Roulet H., Dufour G., Palacin S., Barraud A., Millié P., Nenner I.: Electronic structure of nitrogen square planar copper complex in Langmuir-Blodgett films. *J. Phys. Chem.*, **1992**, 96, 277-285.
- 288 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.
- 289 Nonomura T., Kobayashi N., Tomura T.: Synthesis and some spectroscopic properties of tetra-2,3-pyridoporphyrinatosisicon involving bulky axial ligands. *J. Porphyrins Phthalocyanines.*, **2000**, 4, 538-543.
- 290 a) Tse Y. H., Janda P., Lever A. B. P.: Electrode with electrochemically deposited *N,N',N'',N'''*-tetramethyltetra-3,4-pyridinoporphyrazinocobalt(I) for detection of sulfide ion. *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 384-390
- b) Chen J., Zhang J., Tse Y. H., Janda P., Christendat D., Lever A. B. P.: Surface electrochemistry of *N,N',N'',N'''*-tetramethyl-tetra-3,4-pyridinoporphyrazinocobalt(II). *J. Porphyrins Phthalocyanines.*, **2006**, 10, 1238-1248.
- c) Thamae M. A., Nyokong T.: Spectroscopic studies of the interaction of cobalt(II) *N,N',N'',N'''*-tetramethyltetra-3,4-pyridinoporphyrazine with amino acids and nitrogen oxides. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2001**, 5, 839-845.
- d) Tempesti T. C., Alvarez M. G., Durantini E. N.: Synthesis and photodynamic properties of amphiphilic A<sub>3</sub>B-phthalocyanine derivatives bearing *N*-heterocycles as potential cationic phototherapeutic agents. *Dyes Pigm.*, **2011**, 91, 1, 6-12.
- e) Umile T. P., Wang D., Groves J. T.: Dissection of the mechanism of manganese porphyrin-catalyzed chlorine dioxide generation. *Inorg Chem.*, **2011**, 50, 20, 10353-10362.
- 291 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, 765-776.
- 292 Lipin K. V., Maksimova V. N., Ershov O. V., Eremkin A. V., Kayukov Y. S., Nasakin O. E.: Three-component synthesis of 2-chloropyridine-3,4-dicarbonitriles. *Russ. J. Org. Chem.*, **2010**, 46, 617-618.
- 293 Zimcik P., Miletin M., Kostka M., Schwarz J., Musil Z., Kopecky K.: Synthesis and comparison of photodynamic activity of alkylheteroatom substituted azaphthalocyanines. *J. Photoch. Photobiol. A: Chem.*, **2004**, 163, 21-28.
- 294 Novakova V., Miletin M., Filandrova T., Lenco J., Ruzicka A., Zimcik P.: Role of steric hindrance in the Newman-Kwart rearrangement and in the synthesis and photophysical properties of arylsulfanyl tetrapyrazinoporphyrazines. *J. Org. Chem.*, **2014**, 79, 2082-2093.
- 295 de la Torre G., Claessens C. G., Torres T.: Phthalocyanines: The need for selective synthetic approaches. *Eur. J. Org. Chem.*, **2000**, 2821-2830.
- 296 Gao Y., Nemykin V. N.: Modeling of the energies and splitting of the Q<sub>x</sub> and Q<sub>y</sub> bands in positional isomers of zinc pyridinoporphyrazines by TDDFT approach: Can TDDFT help distinguishing the structural isomers? *J. Mol. Graphics Modell.*, **2013**, 42, 73-80.
- 297 Novakova V., Roh J., Gela P., Kunes J., Zimcik P.: Azaphthalocyanines with fused triazolo rings: formation of sterically stressed constitutional isomers. *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 4326-4328.

- 298 Rager C., Schmid G., Hanack M.: Influence of substituents, reaction conditions and central metals on the isomer distributions of 1(4)-tetrasubstituted phthalocyanines. *Chem.–Eur. J.*, **1999**, 5, 280–288.
- 299 Luk'yanets E. A., Bundina N. I., Galpern M. G., Derkacheva V. M., Kopranenkov V. N., Michalenko S. A., Negrimovskii V. M., Solovieva L. I., Tomilova L. G.: *Electronic spectra of phthalocyanines and related compounds*. NIITECIM/NIOPIK, Cherkassy, **1989**.
- 300 Kobayashi N., Higashi R., Tomura T.: Phthalocyanines containing silicons in their peripheral substituent groups. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1997**, 70, 2693-2698.
- 301 Szulbinski W. S., Kincaid J. R.: Synthesis and Spectroscopic Characterization of Zinc Tetra(3,4-pyridine)Porphyrizine Entrapped within the Supercages of Y-Zeolite. *Inorg. Chem.*, **1998**, 37, 5014–5020.
- 302 Mikhalenko S. A., Derkacheva V. M., Luk'yanets E. A. v ruštině. *Zh. Obshch. Khim.*, **1981**, 51, 1650–1657.
- 303 Nemykin V. N., Luk'yanets E. A.: *The key role of peripheral substituents in the chemistry*, 11. kapitola v knize Handbook of Porphyrin Science: With applications to chemistry, physics, materials science, engineering, biology and medicine. Vol. 3, editoři: Kadish K., Smith K. M., Guillard R., World Scientific, Singapore, 1–323, **2010**. ISBN: 978-9814307185.
- 304 Svec J., Zimcik P., Novakova L., Rakitin O. A., Amelichev S. A., Stuzhin P. A., Novakova V.: 1,2,5-chalcogenadiazole-annulated tripyrazinoporphyrazines: Synthesis, spectral characteristics, and influence of the heavy atom effect on their photophysical properties. *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, 596–604.
- 305 Brana M. F., Dominguez G., Saez B., Romerdahl C., Robinson S., Barlozzari T.: Synthesis and antitumour activity of new dendritic polyamines-(imide-DNA-intercalator) conjugates: potent Lck inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, **2002**, 37, 541-551.
- 306 Bojinov V. B., Georgiev N. I., Nikolov P. S.: Design and synthesis of core and peripherally functionalized with 1,8-naphthalimide units fluorescent PAMAM dendron as light harvesting antenna. *J. Photochem. Photobiol. A*, **2008**, 197, 281-289.
- 307 Malik N., Wiwattanapatapee R., Klopsch R., Lorenz K., Frey H., Weener J. W., Meijer E. W., Paulus W., Duncan R.: Dendrimers: relationship between structure and biocompatibility *in vitro*, and preliminary studies on the biodistribution of 125I-labelled polyamidoamine dendrimers *in vivo*. *J. Control. Release*, **2000**, 65, 1-2, 133-148.
- 308 Nakaya K., Tanaka T., Shirataki Y., Shiozaki H., Funabiki K., Shibata K., Matsui M.: 4-(2-Aminoethylamino)-7H-benz[de]benzimidazo[2,1-a]isoquinoline-7-one as a highly sensitive fluorescent labeling reagent for carnitine. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2001**, 74, 173-177.
- 309 a) Hayek A., Ercelen S., Zhang X., Bolze F., Nicoud J.-F., Schaub E., Baldeck P. L., Mely Y.: Conjugation of a new two-photon fluorophore to poly(ethylenimine) for gene delivery imaging. *Bioconjugate Chem.*, **2007**, 18, 844-851.
- b) Talanov V. S., Regino C. A. S., Kobayashi H., Bernardo M., Choyke P. L., Brechbiel M. W.: Dendrimer-based nanoprobe for dual modality magnetic resonance and fluorescence imaging. *Nano Lett.*, **2006**, 6, 1459-1563.
- 310 a) Bissell R. A., Prasanna de Silva A., Gunaratne H. Q. N., Lynch P. L. M., Maguire G. E. M., Sandanayake K. R. A. S.: Molecular fluorescent signalling with 'fluor-spacer-receptor' systems: approaches to sensing and switching devices *via* supramolecular photophysics. *Chem. Soc. Rev.*, **1992**, 21, 187-195.

- b) 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, 1515-1566.
- 311 Adronov A., Fréchet J. M. J.: Light-harvesting dendrimers. *Chem. Commun.*, **2000**, 1701-1710.
- 312 Zimčík P.: *Interakce světelného záření s azaftalocyaninovými barvivy*. Habilitační práce. Hradec Králové: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, **2010**.
- 313 Ogunsipe A., Maree D., Nyokong T.: Solvent effects on the photochemical and fluorescence properties of zinc phthalocyanine derivatives. *J. Mol. Struct.*, **2003**, 650, 131-140.
- 314 Seybold P. G., Gouterman M.: Porphyrins: XIII: Fluorescence spectra and quantum yields. *J. Mol. Spectrosc.*, **1969**, 31, 1-13.
- 315 Musil Z., Zimcik P., Miletin M., Kopecky K., Link M., Petrik P., Schwarz J.: Synthesis and singlet oxygen production of azaphthalocyanines bearing functional derivatives of carboxylic acid. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2006**, 10, 122-131.
- 316 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, 660-667.
- 317 Michelsen U., Kliesch H., Schnurpfeil G., Sobbi A. K., Wöhrle D.: Unsymmetrically substituted benzonaphthoporphyrazines: a new class of cationic photosensitizers for the photodynamic therapy of cancer. *Photochem. Photobiol.*, **1996**, 64, 694-701.
- 318 Mack J., Kobayashi N.: Low symmetry phthalocyanines and their analogues. *Chem. Rev.*, **2011**, 111, 5, 281-321.
- 319 Galanin N. E., Kudrik E. V., Shaposhnikov G. P.: Synthesis and spectral characteristics of phthalocyanines of unsymmetrical structure containing fragments of 3,6-didecyloxyphthalonitrile and 2-methyl-5,6-dicyanobenzimidazole. *Russ. J. Org. Chem.*, **2008**, 44, 2, 225-230.
- 320 De La Hoz A., Diaz-Ortiz A., Fraile J. M., Gomez M. V., Mayoral J. A., Moreno A., Saiz A., Vazquez E.: Synergy between heterogeneous catalysis and microwave irradiation in an efficient one-pot synthesis of benzene derivatives via ring-opening of Diels-Alder cycloadducts of substituted furans. *Synlett*, **2001**, 6, 753-756.
- 321 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.
- 322 a) Scott, J. E.: Histochemistry of Alcian blue. II. The structure of Alcian blue 8GX. *Histochem.*, **1972**, 30, 215-234.
- b) Gal'pern E. G., Luk'yanets E. A., Gal'pern M. G. v ruštině, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.* **1973**, 1976-1980.
- c) Rothkopf H. W., Wöhrle D., Müller R. Kossmehl G.: Di- und Tetracyanpyrazine, v němčině. *Chem. Ber.*, **1975**, 108, 875-886.

- 323 Kobayashi N.: *Synthesis and spectroscopic properties of phthalocyanine analogs*, 100. kapitola v knize *The porphyrin handbook: Phthalocyanines: Synthesis*. Vol. 15, editoři: Kadish K., Guillard R., Smith K. M., Elsevier, San Diego, 161–262, **2012**. ISBN: 978-0080923918.
- 324 Danzig M. J., Liang C. Y., Passaglia E. J.: Preparation and electrical conductivity of copper tetra-2,3-pyridinoporphyrazine and copper tetra-2,3-pyrazinoporphyrazine. *Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 668-671.
- 325 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**, 1136-1142.
- 326 RodriguezMorgade S., Hanack M.: Synthesis, separation and characterization of the structural isomers of octa-tert-butylphthalocyanines and dienophilic phthalocyanine derivatives. *Chem.-Eur. J.*, **1997**, 3, 1042-1051.
- 327 Kudrevich S. V., Galpern M. G., Vanlier J. E.: Synthesis of octacarboxytetra(2,3-pyrazino)porphyrazine - Novel water-soluble photosensitizers for photodynamic therapy. *Synthesis-Stuttgart*, **1994**, 779-781.
- 328 Drew D. M., Leznoff C. C.: The synthesis of pure 1,11,15,25-tetrasubstituted phthalocyanines as single isomers using bisphthalonitriles. *Synlett*, **1994**, 623-624.
- 329 Palacin S., Ruaudel-Teixier A., Barraud A.: Chemical reactivity in monolayers: study of an amphiphilic tetrapyridinoporphyrazine in Langmuir-Blodgett films. *J. Phys. Chem.*, **1986**, 90, 23, 6237–6242.
- 330 Wöhrle D., Gitzel J., Okura I., Aono S.: Photoredox properties of tetra-2,3-pyridinoporphyrazines (2*H*,31*H*-tetrapyrido[2,3-*b*:2',3'-*g*:2'',3''-*l*:2''',3'''-*q*]porphyrazine). *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1985**, 8, 1171-1178.
- 331 Gal'pern E. G., Luk'yanets E. A., Gal'pern M. G. v ruštině, *Izv. Akad. Nauk SSSR Ser. Khim.*, **1973**, 9, 1976–1980.
- 332 Serge Palacin S., Ruaudel-Teixier A., Barraud A.: Chemical reactivity in monolayers: study of an amphiphilic tetrapyridinoporphyrazine in Langmuir-Blodgett films. *J. Phys. Chem.*, **1986**, 90, 23, 6237–6242.
- 333 Smith T. D., Livorness J., Taylor H., Pilbrow J. R., Sinclair G. R.: Physico-chemical study of copper(II) and cobalt(II) chelates of tetra-2,3-pyridinoporphyrazine. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1983**, 1391-1400
- 334 a) Hanack M., Thies R.: [Tetra(2,3-pyrido)porphyrazinato]iron(II) compounds with isocyanides as axial ligands, *Chem. Bericht.-Rec.*, **1988**, 121, 7, 1225–1230.
- b) M. Yokote, F. Shibamiya, S. Tokairin: Aza compounds. XXVII. Copper phthalocyanine nitrogen isolog (copper tetra-3,4-pyridinoporphyrazine) synthesized from cinchomeric acid. *Kogyo Kagaku Zasshi*, **1964**, 67, 166–168.
- 335 Sakamoto K., Kato T., Ohno-Okumura E., Watanabe M., Cook M. J.: Synthesis of novel cationic amphiphilic phthalocyanine derivatives for next generation photosensitizer using photodynamic therapy of cancer. *Dyes Pigm.*, **2005**, 64, 1, 63–71.
- 336 Linssen T. G., Dürr K., Hanack M., Hirsch, A.: A green fullerene: synthesis and electrochemistry of a Diels–Alder adduct of [60]fullerene with a phthalocyanine. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1995**, 103-104.



- 337 Maya E. M., García C., García-Frutos E. M., Vázquez P., Torres T.: Synthesis of novel push-pull unsymmetrically substituted alkynyl phthalocyanines. *J. Org. Chem.*, **2000**, 9, 65, 2733-2739.
- 338 Kobayashi N., Rondo T., Nakajima S.-I., Osa T.: New route to unsymmetrical phthalocyanine analogs by the use of structurally distorted subphthalocyanines. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 26, 9640 – 9641.
- 339 Sastre A., del Rey B., Torres T.: Synthesis of novel unsymmetrically substituted push-pull phthalocyanines. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 24, 8591-8597.
- 340 Leznoff C. C., Hall T. W.: The synthesis of soluble, unsymmetrical phthalocyanine on a polymer support. *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 3023-3026.
- 341 Young J., Onyebuagu W.: Synthesis and characterization of di-disubstituted phthalocyanines. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 7, 2155–2159.
- 342 Dabak S., Bekaroğlu Ö.: Synthesis of phthalocyanines crosswise-substituted with two alkylsulfanyl and two amino groups, *New J. Chem.*, **1997**, 21, 267-271.
- 343 Leznoff C. C., Hu M., Nolan K. J. M.: "Adjacent" substituted phthalocyanines. *Synlett*, **1997**, 593–594.
- 344 Kobayashi N.: Optically active 'adjacent' type non-centrosymmetrically substituted phthalocyanines. *Chem. Commun.*, **1998**, 487–488.
- 345 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, 1872–1879.
- 346 Choi M. T. M., Li P. P. S., Ng D. K. P.: A direct comparison of the aggregation behavior of phthalocyanines and 2,3- naphthalocyanines. *Tetrahedron*, **2000**, 56, 3881-3887.
- 347 McKeown N. B., Makhseed S., Msayib K. J., Ooi L.-L., Helliwell M., Warren J. E.: A phthalocyanine clathrate of cubic symmetry containing interconnected solvent-filled voids of nanometer dimensions. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 46, 7546-7549.
- 348 Wöhrle D., Eskes M., Shigehara K., Yamada A.: A simple synthesis of 4,5-disubstituted 1,2-dicyanobenzenes and 2,3,9,10,16,17,23,24-octasubstituted phthalocyanines. *Synthesis*, **1993**, 194–196.

## 10. Seznam publikovaných vědeckých prací

### V rámci disertační práce:

- ❖ **VACHOVA L.**, Novakova V, Kopecky K, Miletin M., Zimcik P.: Effect of intramolecular charge transfer on fluorescence and singlet oxygen production of phthalocyanine analogues. *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 11651–11656. IF<sub>2016</sub> 4,029.  
*Podíl autorky: Příprava prekurzorů a cílových molekul, jejich izolace a charakterizace, fotofyzikální měření a analýza dat. Spoluautor textu.*
- ❖ El-Betany A. M. M., **VACHOVA L.**, Bezzu C. G., Pope S. J. A., McKeown N. B.: The synthesis and study of fluorescent PAMAM-based dendritic molecules. *Tetrahedron*, **2013**, 69, 8439-8445. IF<sub>2016</sub> 2,651.  
*Podíl autorky: Studium fotofyzikálních parametrů a jejich stanovení při acidobazických titracích. Podíl na přípravě textu.*
- ❖ **VACHOVA L.**, Machacek M., Kučera R., Demuth J., Cermak P., Kopecky K., Miletin M., Jedlickova A., Simunek T., Novakova V., Zimcik P.: Heteroatom-substituted tetra(3,4-pyrido)-porphyrazines: a stride toward near-infraredabsorbing macrocycles. *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, 13, 5608-5612. IF<sub>2016</sub> 3,564.  
*Podíl autorky: Syntéza většiny prekurzorů a cílových molekul, jejich izolace a charakterizace, fotofyzikální měření, příprava vzorků na HPLC chromatografii, analýza dat. Spoluautor textu.*

### Další práce:

- ❖ Novakova V., Zimcik P., Miletin M., **VACHOVA L.**, Kopecky K., Lang K., Chabera P., Polivka T.: Ultrafast intramolecular charge transfer in tetrapyrazinoporphyrazines controls the quantum yields of fluorescence and singlet oxygen. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2010**, 12, 11, 2555-2563. IF<sub>2016</sub> 4,123.  
*(Tato práce vznikla za použití dat z mé diplomové práce. Není proto uplatněna jako podklad pro získání titulu Ph.D.)*
- ❖ Zimcik P., Novakova V., Kopecky K., Miletin M., Kobak R. Z. U., Svandrlíkova E., **VACHOVA L.**, Lang K.: Magnesium azaphthalocyanines: An emerging family of excellent red-emitting fluorophores. *Inorg. Chem.*, **2012**, 51, 4215–4223. IF<sub>2016</sub> 4,857.

## 11. Výstupy na odborných konferencích

❖ VÁCHOVÁ L., Zimčík P., Nováková V., Kopecký K.: Monokarboxylové deriváty ftalocyaninů a jejich aza- analogů využitelné jako zhášedce fluorescence. Syntéza a analýza léčiv, Hradec Králové, **2009**, plakátové sdělení.

❖ VÁCHOVÁ L., Zimčík P., Nováková V., Kopecký K.: Monokarboxylové deriváty ftalocyaninů a jejich aza- analogů využitelné jako zhášedce fluorescence. Studenská vědecká konference, Hradec Králové, **2009**, přednáška.

❖ VACHOVA L., Zimcik P., Novakova V., Kopecky K.: Synthesis of unsymmetrical derivatives of phthalocyanines and azaphthalocyanines capable of quenching the fluorescence. 2009. 13th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Bled, Slovinsko, **2009**, plakátové sdělení.

❖ VACHOVA L., Zimcik P., Novakova V., Kopecky K.: Synthesis of monocarboxylic derivatives of phthalocyanines capable as fluorescence quenchers on oligonucleotide probes. 18th International Conference on Organic Synthesis, Bergen, Norsko, **2010**, plakátové sdělení.

❖ VÁCHOVÁ L., Zimčík P., Nováková V., Kopecký K.: Syntéza ftalocyaninů použitelných jako zhášedce fluorescence na oligonukleotidických sondách. Konference Syntéza a analýza léčiv, Modra, Slovensko, **2010**, plakátové sdělení.

❖ VACHOVA L., Novakova V., Kopecky K., Zimcik P.: Effect of intramolecular charge transfer on fluorescence of phthalocyanines and azaphthalocyanines. Studenská vědecká konference, Hradec Králové, **2011**, přednáška.

- ❖ VACHOVA L., Zimcik P., Novakova V., Kopecky K.: Synthesis of monocarboxylic derivatives of phthalocyanines and azaphthalocyanines and study of their photophysical and photochemical properties. 12th Tetrahedron Symposium, Sitges, Španělsko, **2011**, plakátové sdělení.
  
- ❖ VACHOVA L., Novakova V., Zimcik P., Kopecky K.: Monocarboxylic derivatives of phthalocyanines and azaphthalocyanines - study of their synthesis, photophysical and photochemical properties. Konference Syntéza a analýza léčiv, Brno, **2011**, plakátové sdělení.
  
- ❖ VÁCHOVÁ L., Bezzu C. G., El-Betany A. M. M., McKeown N. B.: Photophysical Study of Poly(amidoamine) Dendrimers Molecules. Konference Syntéza a analýza léčiv, Bratislava, Slovensko, **2012**, plakátové sdělení.
  
- ❖ VACHOVA L., Novakova V., Cidlina A., Kopecky K., Zimcik P.: Synthesis of novel tetrapyrroldiporphyrin complexes. 13th Tetrahedron Symposium; Challenges in Organic and Bioorganic Medicinal Chemistry, Taipei, Taiwan, **2012**, plakátové sdělení.
  
- ❖ VACHOVA L., Zimcik P., Novakova V., Kopecky K.: Synthesis and study of azaphthalocyanines and phthalocyanines in relation to their peripheral heteroatoms substitution. Fakultní postgraduální a postdoktorandská vědecká konference, Hradec Králové, **2013**, přednáška.

## 12. Granty

- ❖ Syntéza ftalocyaninových barviv a studie jejich využití při zhašení fluorescence (hlavní řešitel: Mgr. Lenka Váchová) GAUK 68110/B-CH/FaF UK 2010-2012
- ❖ Konjugáty ftalocyaninů a azaftalocyaninů pro fotodynamickou terapii připravené pomocí "click" chemie (hlavní řešitel: Mgr. Veronika Nováková, spoluřešitel: Mgr. Lenka Váchová) GAUK 57810/B-CH/FaF UK 2010-2012
- ❖ Studium vlivu strukturních faktorů na účinnost intramolekulárního přenosu náboje u azaftalocyaninů (hlavní řešitel Mgr. Antonín Cidlina, spoluřešitel: Mgr. Lenka Váchová) GAUK 1182313 /B-CH/FaF 2013-2015