

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



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Azaftalocyany substituované jednou aminoskupinou – vliv na intramolekulární přenos náboje.



Hradec Králové, 2012

Ivana Zajícová

Děkuji Doc. PharmDr. Petru Zimčikovi Ph.D za jeho ochotu, cenné rady a pomoc při vypracování mé diplomové práce. Tato práce byla podporována z projektu SVV 265 001.

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

V Hradci Králové

Ivana Zajícová

ABSTRAKT

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

Jméno: Ivana Zajícová

Školitel: Doc. PharmDr. Petr Zimčík Ph.D

**Azaftalocyaniny substituované jednou aminoskupinou – vliv na
intramolekulární přenos náboje.**

Na počátku mé diplomové práce jsem připravovala substituovaný porfyrizin (1,2,6,7,11,12,16,17-oktakis-[(4-dimethylamino)benzylidenamino]porfyrizin) z *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitrilu a *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]maleonitrilu. Cyklotetramerizaci jsem prováděla s butanolátem hořečnatým, octanem zinečnatým v chinolinu nebo v *N,N*-dimethylformamidu. Cyklizace výchozích látek se nezdařila, a proto jsem se začala zabývat syntézou asymetrických azaftalocyaninů substituovaných jednou aminoskupinou mající vliv na intramolekulární přenos náboje. Právě tento proces kompetuje s fluorescencí a tvorbou singletového kyslíku, může ale také vést k látkám typu zhášečů fluorescence.

Připravila jsem si prekurzory, substituované pyrazin-2,3-dikarbonitrily, obsahující ve své molekule primární aminoskupinu, butylamino- a diethylamino-skupinu. Připravené prekurzory jsem podrobila cyklotetramerizaci metodou statistické kondenzace. Cyklotetramerizace probíhala v prostředí bezvodého butanolátu hořečnatého. Při této metodě vzniká šest různých kongenerů. Vzniklé hořečnaté komplexy se na TLC táhly, a proto je nešlo odseparovat. Hořčík jsem odstranila z molekuly pomocí silné kyseliny (*p*-toluensulfonové) a provedla izolaci ve formě bezkovových azaftalocyaninů. Po vyčištění jsem znovu vložila centrální kov do molekuly pomocí octanu zinečnatého nebo octanu hořečnatého.

ABSTRACT

CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE
FACULTY OF PHARMACY IN HRADEC KRALOVÉ
DEPARTMENT OF PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND DRUG
CONTROL

Name: Ivana Zajícová

Supervisor: Doc. PharmDr. Petr Zimčík Ph.D

Azaphthalocyanines substituted with one aminogroup-influence of aliphatic substituents on intramolecular charge transfer.

At the beginning of my thesis I was working on synthesis of 1,2,6,7,11,12,16,17-octakis-[(4-dimethylamino)benzylidenamino] porphyrazine from *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitrile and *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]maleonitrile. Cyclotetramerization was performed with magnesium butoxide, zinc acetate in quinoline or in *N,N*-dimethylformamide. Unfortunately, no product was obtained. As an alternative aim, I started to deal with synthesis of unsymmetrical azaphthalocyanines substituted with one amino group. The amino group is a donor in intramolecular charge transfer. This process competes with fluorescence and singlet oxygen formation and may lead to compounds useful as dark quenchers of fluorescence in hybridization probes.

I prepared a precursors, substituted pyrazine-2,3-dicarbonitriles, containing primary amino group, diethylamino- or butylamino- group. Prepared precursors were cyclotetramerized by method of statistical condensation. Cyclotetramerization was carried out in the presence of anhydrous magnesium butoxide. This method leads to six different congeners. The resulting magnesium complexes could not be separated due to extensive tailing on TLC. Magnesium was removed from the molecule by means of a strong acid (*p*-toluenesulfonic acid) and metal-free azaphthalocyanines were isolated. Subsequently, the central metal was complexed into the center of the molecule using zinc acetate or magnesium acetate.

OBSAH

ABSTRAKT.....	4
ABSTRACT.....	5
OBSAH.....	6
1 SEZNAM ZKRATEK.....	9
2 CÍL PRÁCE.....	10
3 TEORETICKÁ ČÁST.....	11
3.1 HISTORIE.....	11
3.2 PRINCIP FOTODYNAMICKÉ TERAPIE.....	12
3.2.1 Reakce typu I.....	14
3.2.2 Reakce typu II.....	14
3.3 FLUORESCENCE A JEJÍ VYUŽITÍ.....	14
3.4 KYSLÍK V PDT.....	15
3.5 SVĚTELNÝ ZDROJ.....	15
3.6 FOTOSENSITIZÉRY.....	16
3.7 ROZDĚLENÍ FOTOSENZITIZÉRŮ DO GENERACÍ.....	18
3.7.1 GENERACE I.....	18
3.7.2 GENERACE II.....	18
3.7.3 GENERACE III.....	18
3.8 BIOLOGICKÁ ODPOVĚĎ.....	28
4 METODICKÁ ČÁST.....	30
4.1 SYNTÉZA ASYMETRICKY SUBSTITUOVANÝCH FTALOCYANINŮ.....	31
4.2 SYNTÉZA A ₃ B FTALOCYANINŮ.....	32
4.2.1 METODA STATISTICKÉ KONDENZACE.....	32
4.2.2 SUBFTALOCYANINOVÁ METODA.....	33
4.2.3 METODA S VYUŽITÍM PEVNÉ FÁZE.....	35
4.2.4 METODA ROMP-CAPTURE-RELEASE.....	38
4.3 SYNTÉZA A ₂ B ₂ FTALOCYANINŮ.....	39
4.3.1 SYNTÉZA ABAB FTALOCYANINŮ.....	39
4.3.2 SYNTÉZA AABB FTALOCYANINŮ.....	41
4.4 SYNTÉZA ABAC FTALOCYANINŮ.....	43

5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	45
5.1	Příprava	49
	<i>N,N</i> -bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitrilu (1)	49
5.2	Pokusy o cyklotetramerizaci	50
	<i>N,N</i> -bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitrilu	50
5.3	Příprava	51
	<i>N,N</i> -bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]maleonitrilu (2)	51
5.4	Pokusy o cyklotetramerizaci	52
	<i>N,N</i> -bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]maleonitrilu	52
5.5	Příprava 5,6-bis(<i>terc</i> -butylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (3)	52
5.6	Příprava 5-fenyl-6-hydroxypyrazin-2,3-dikarbonitrilu (4)	54
5.7	Příprava 5-fenyl-6-chlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (5)	54
5.8	Příprava 5-diethylamino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (6)	55
5.9	Příprava 5-butylamino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (7)	56
5.10	Příprava 5-amino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (8)	57
5.11	Příprava 2-butylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (9)	59
5.12	Příprava 2-diethylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (10)	60
5.13	Příprava 2-amino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (11)	62
5.14	Příprava 2-butylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninato hořečnatého komplexu (12)	63
5.15	Příprava 2-diethylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninato hořečnatého komplexu (13)	64
5.16	Příprava 2-butylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninato zinečnatého komplexu (14)	65
5.17	Příprava 2-diethylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(<i>terc</i> -butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninato zinečnatého komplexu (15)	67

6	DISKUZE	69
7	ZÁVĚR.....	73
8	LITERATURA	74

1 SEZNAM ZKRATEK

ALA	kyselina 5-aminolevulová
DAMN	diaminomaleonitril
DBU	1,8-diazabicyklo-[5,4,0]-undec-7-en
DMAE	2-(dimethylamino)ethanol
Fmoc	(9 <i>H</i> -fluoren-9-yl)methylkarbamát
HPPH	2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinylpyropheophorbide-a
Mtt	4-methyltrityl
Pcs	ftalocyanin
PDT	fotodynamická terapie
PS	fotosensitizer
Rf	retenční faktor
SubPc	subftalocyanin
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstvá chromatografie
Zn(chinolin) ₂ Cl ₂	chlorid bis(chinolináto)zinečnatý

2 CÍL PRÁCE

Na začátku mé diplomové práce bylo mým úkolem připravit substituovaný porfyrizin s (4-dimethylamino)benzylidenaminem z *trans* (a následně *cis*-prekurzoru) *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitrilu cyklotetramerizačními metodami. Syntéza porfyrizinu se nezdařila, a proto cílem mé další práce byla syntéza asymetrických ftalocyaninů substituovaných jednou aminoskupinou vytvářející donorové centrum v molekule. Aminoskupina má vliv na intramolekulární přenos náboje, proto některé z těchto látek by mohly nalézt uplatnění v produkci singletového kyslíku nebo jako zhášedce fluorescence. Mým úkolem bylo tedy připravit ftalocyaniny s primární aminoskupinou, butylamino- a diethylaminoskupinou metodou statistické kondenzace. Jelikož touto metodou vzniká šest různých izomerů, tyto látky dále izolovat, vyčistit a charakterizovat.

3 TEORETICKÁ ČÁST

Pojem fotodynamická terapie se používá již mnoho let a je vedle chirurgie, chemoterapie, radioterapie a imunoterapie, které nejsou často schopny odstranit patologické ložisko úplně, využívána pro léčbu onkologických onemocnění, jako jsou například rakovina hlavy, krku, močového měchýře, aktinická keratóza a podobně. Kromě onkologických onemocnění se používá také k léčbě neonkologických indikací. Příkladem můžou být například lupénka a senilní makulární degenerace. Využití nachází také i v estetické medicíně, kde se používá k odstranění vrásek a jizev.

Při fotodynamické terapii je podána do těla netoxická látka, která se po dosažení místa svého účinku ozáří světlem o vhodné vlnové délce. Pokud je v tkáni přítomen kyslík, dochází k tvorbě toxických látek, které vedou ke tkáňovému poškození¹.

3.1 HISTORIE

Již od pradávna lidé uctívali slunce. Starověké čínské, indické a egyptské kultury využívaly sluneční záření k léčbě lupenky, vitiliga, ale také k léčbě psychóz. Za průkopníka helioterapie je pak považován Herodotus, který léčil vystavením celého těla na slunce². Fototerapie se začala široce rozvíjet na přelomu 19. a 20. století³ a to objevem dánského lékaře. Niels Finsen léčil neštovice ozářením červeným světlem² a kožní formy tuberkulózy, která v té době byla běžným onemocněním⁴, použitím ultrafialového světla. Později byl za tuto práci oceněn Nobelovou cenou. Dalším důležitou částí historie byl rozvoj fotochemoterapie, kdy již starověcí Indové a Egypťané využívali rostlin obsahujících psolareny k léčbě různých kožních onemocnění.

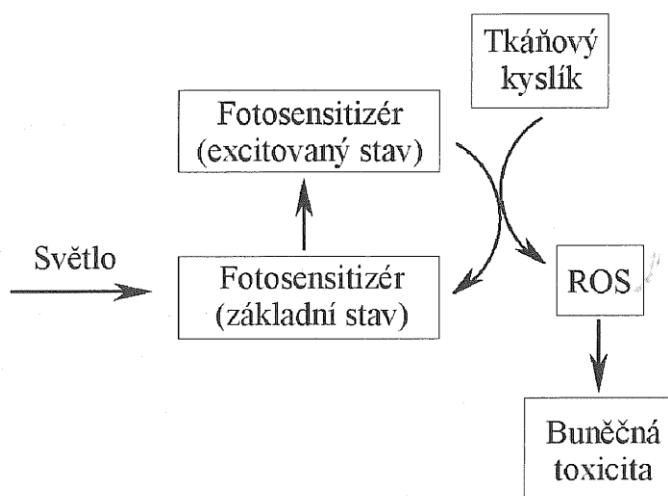
V roce 1900 německý student Oscar Raab sledoval účinek akridinové červeně na prvoky rodu *Paramecium*. Zjistil, že současným působením denního světla a akridinové červeně dochází k navození buněčné smrti a to ve větší míře než použitím samotné látky. Později profesor von Tappeiner společně s francouzským dermatologem Jesionkem v roce 1903 poprvé léčili kožní nádor topicky použitím eosinu a bílého

světla. V roce 1904 profesor von Tappeiner a Jodlbauer zjistili, že pro účinek je důležitý také kyslík a v roce 1907 byl poprvé použit termín *fotodynamický efekt*².

Na začátku vývoje PDT byly největší zkušenosti s látkami typu porfyrinů, přesněji s hematoporfyrinem. Již v roce 1911 Hausmann podal myším hematoporfyrin a po vystavení těchto myší světlu sledoval kožní reakce³. O dva roky později si Friedrich Meyer-Betz aplikoval 200 mg této látky. Části těla, které pak vystavil světlu, otekly a dlouho bolely². Pro získání látky s lepšími vlastnostmi a účinností se v roce 1955 připravil z hematoporfyrinu jeho derivát. I když se nejedná o chemicky jednotnou látku, vznikl z ní jeden z nejrozšířenějších fotosensitizerů současnosti. Od roku 1993 se vyrábí pod obchodním názvem Photofrin[®]. Protože Photofrin[®] nepatří mezi fotosensitizery s nejvýhodnějšími vlastnostmi, hledají se nadále další látky, které by měly lepší farmakokinetiku, farmakodynamiku, fotofyzikální a fotochemické vlastnosti.

3.2 PRINCIP FOTODYNAMICKÉ TERAPIE

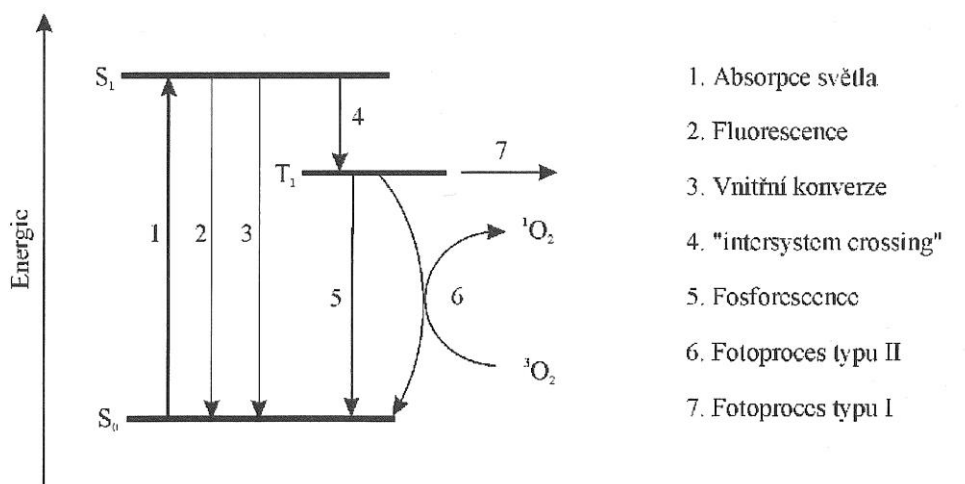
Pro vyvolání fotodynamického účinku jsou nezbytné tři základní složky: fotosensitizer, světelný zdroj a kyslík³. Prvním krokem je podání fotosensitizeru pacientovi. Po určité době, kdy koncentrace fotosensitizeru je nejvyšší v cílové tkáni, se místo ozáří světlem vhodné vlnové délky. V přítomnosti tkáňového kyslíku dochází k tvorbě cytotoxických látek¹ (obr. 1).



Obr. 1. Princip PDT³.

Principem je tedy aktivace fotosensitizeru světlem vhodné vlnové délky, při které fotosensitizer vykazuje absorpční maximum². Absorpční maximum by mělo být v rozmezí 680-800 nm³. Světlo o vyšších vlnových délkách proniká tkáněmi hlouběji, než světlo o nižších vlnových délkách⁴. Světlo o nižších vlnových délkách je totiž pohlcováno endogenními chromofory³ (hemoglobin, myoglobin a cytochromy¹). Světlo o delších vlnových délkách než 800 nm (až do 1200 nm) tkáněmi proniká ještě lépe, ale může mít již nízkou energii záření a nemusí být tedy dostatečně účinné pro aktivaci molekuly fotosensitizeru³. Aby byla PDT úspěšná, je třeba také brát v úvahu, že světlo procházející jednotlivými tkáněmi je absorbováno endogenními chromofory, nebo je rozptylováno díky nehomogenitě tkání (molekuly, buněčné organely aj.). Tyto vlastnosti různých tkání je tedy potřeba před vlastní PDT změřit¹.

Po absorpci světla přechází fotosensitizer ze základního stavu S_0 do excitovaného singletového stavu S_1 . Tento excitovaný stav trvá pouze velice krátkou dobu (nanosekundy). Jak naznačuje Jablonského diagram (obr. 2), excitovaný fotosensitizer může uvolnit energii několika způsoby. První formou uvolnění energie je fluorescence, dále je to vnitřní konverze, při které dochází k uvolňování energie ve formě tepla, a další je tzv. „mezisystémový přechod“. Při tomto procesu fotosensitizer přechází do tripletového stavu T_1 (trvá déle než stav singletový) a právě tento stav je u fotosensitizeru nezbytný pro jeho fotodynamickou aktivitu. Ze stavu T_1 se energie dále může uvolnit ve formě fosforescence, nebo fotoprocesem typu I a II, při kterém vznikají reaktivní formy kyslíku³.



Obr. 2. Jablonského diagram³.

3.2.1 Reakce typu I

Při této reakci excitovaný fotosensitizer v tripletovém stavu přenáší elektron na biologické substráty s vhodnými oxidoredukčními vlastnostmi (např. molekuly, buněčné membrány). Výsledkem těchto reakcí je vznik radikálů ($\text{OH}\cdot$, $\text{O}_2\cdot^-$)³. Superoxidový radikál ($\text{O}_2\cdot^-$) je schopen reagovat téměř se všemi biomolekulami. $\text{O}_2\cdot^-$ není schopen procházet přes buněčnou membránu, tudíž nedochází k poškození zdravých buněk. Hydroxylový radikál odebírá vodík z biomolekul, případně se aduje na dvojně vazby⁵.

3.2.2 Reakce typu II

Pokud se v nádorové tkáni nachází větší množství kyslíku, převažuje spíše reakce druhého typu³. Fotosensitizer v tripletovém stavu přenáší energii na substráty s nižší energetickou hladinou a stejným spinem. Mnoho látek má ale jiný spin základního stavu (singletový) anebo energetickou hladinu vyšší. Výjimku tvoří kyslík, který po přenosu energie z fotosenzitizeru přechází ze základního tripletového stavu do svého singletového stavu⁵. Singletový kyslík je velice reaktivní a napadá různé biomolekuly jako cholesterol, nenasycené mastné kyseliny a DNA³.

Oba fotoprocesy probíhají současně, ale to, která z těchto reakcí převládá, závisí především na množství tkáňového kyslíku, fotosenzitizeru a substrátu³. PDT upřednostňuje mechanismus reakce druhého typu⁴.

Uvažuje se také o reakci třetího typu nezávislé na kyslíku, která je zaměřena přímo na substrát. Její nevýhodou je možné napadení DNA, což by mohlo mít kancerogenní efekt. Naopak se ale může zlepšit účinnost PDT. Proto fotosensitizery, které by podstupovaly reakci druhého a třetího typu by se zdály být ideální⁶.

3.3 FLUORESCENCE A JEJÍ VYUŽITÍ

Fluorescence může být v klinické praxi velice užitečná⁴. Mezi její hlavní přednosti je vizualizace cílové tkáně, čímž může zabránit zbytečnému odnětí zdravé

tkáň. Během terapie lze také pomocí fluorescence odhadnout, zda je léčba úspěšná⁶. Navíc je možné s pomocí fluorescence určit, jestli se jedná o maligní nebo benigní onemocnění a to bez použití biopsie⁴.

3.4 KYSLÍK V PDT

Dokonce i tkáňový kyslík má svou historii ve vývoji PDT. Moan a jeho skupina zjistili, že singletový kyslík hraje důležitou roli v účinku PDT, a to v jeho vysoké buněčné toxicitě. V roce 1979 Moan a Wold sestrojili přístroj detekující $^1\text{O}_2$. Při dalším zkoumání zjistili, že nižší tkáňová koncentrace kyslíku vede k nižší účinnosti PDT. Bylo také zjištěno, že singletový kyslík se nedostane dále do vzdálenosti větší než 0,05 μm . Z toho vyplývá, že reaktivní singletový kyslík nezpůsobí poškození buněk neobsahujících fotosensitizer².

3.5 SVĚTELNÝ ZDROJ

Výběr světelného zdroje ovlivní hloubku penetrace světla tkáněmi². Při vlnové délce 400 nm se světlo dostává 1 mm hluboko, při 630 nm okolo 1 cm^4 . Musí se ale vzít v úvahu absorpční maximum použitého fotosenzitizeru. Při použití světla, jehož vlnová délka odpovídá absorpčnímu maximu PS, dochází k vytvoření co největšího množství singletového kyslíku v co nejnižší hloubce ozářené tkáň². Rozmezí nejvhodnějších vlnových délek by mělo být od 680-800 nm. Světlo o kratších vlnových délkách je pohlcováno endogenními chromofory (hemoglobin). Naopak světlo o delších vlnových délkách má nízkou energii záření a nemusí být tedy dostatečně účinné³.

V minulosti se k ozáření používaly obyčejné lampy s filtry. Dnes se upřednostňuje použití laserového světelného zdroje. U míst, které jsou těžko dostupné, se používají optické vlákna, která jsou přizpůsobena snadnému ozařování cílových tkání.

Během posledních let se používala spousta druhů laserových zdrojů, např. barvivový laser pumpovaný argonovým laserem. Tyto lasery měly spousta

nevýhodných vlastností, mezi které patří především vysoká cena, nesnadná údržba a potřeba vnějšího chladicího systému. Proto byly také nahrazeny polovodičovým diodovým laserem, který má naopak spoustu výhodných vlastností. Je menší, relativně levný, spolehlivý a není potřeba vnějšího chladicího systému².

3.6 FOTOSENSITIZÉRY

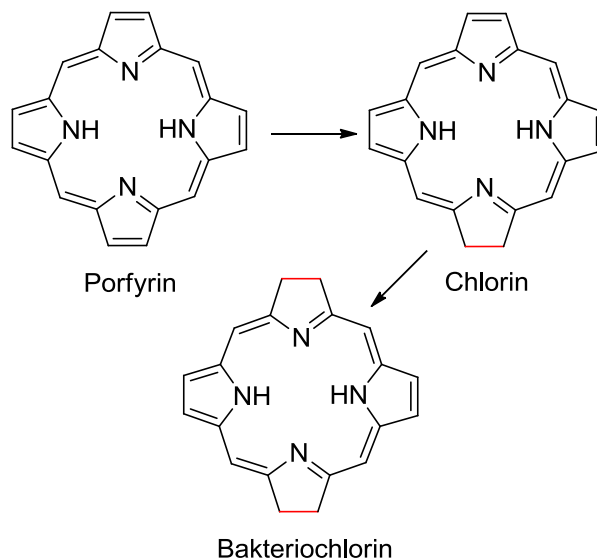
Od vzniku prvních fotosensitizérů (PS) až po současnost se neustále vyvíjí a hledají látky nové, které by měly ideální vlastnosti. I když bylo *in vivo* a *in vitro* zkoumáno mnoho z těchto látek, je dostupných jen málo fotosensitizérů s vhodnými vlastnostmi¹.

O tom, jak fotosensitizér působí na zničení buněk nádoru, závisí mimo jiné na jeho lipofilitě. Hydrofobní sloučeniny působí ve větší míře přímým účinkem na buňky, kdežto hydrofilní jsou zodpovědné především za uzavření cév³. Uvádí se také, že nádorová tkáň má větší množství receptorů pro lipofilní sloučeniny⁶. Pokud se nachází na jedné straně v molekule karboxylová, sulfonová nebo hydroxylová skupina a druhá část molekuly je hydrofobní, mluvíme o amfifilní sloučenině. Polární část molekuly umožňuje rozpustnost ve vodě a také její injekční podání, zatímco část nepolární umožňuje fotosensitizéru procházet cytoplazmatickou membránou nádorových buněk.

Oba mechanismy působí najednou, ale jsou ovlivněny typem nádorových buněk, fotosensitizérem a ozářením³. Hydrofilní vlastnosti dovolují fotosensitizéru procházet krevním řečištěm bez jeho poškození. Také brání shlukování PS a jeho agregaci. Vhodnou vlastností úspěšného fotosensitizéru je tedy amfifilicita⁶.

Úpravou jejich struktury můžeme získat látky s lepšími vlastnostmi, ale i velice toxické látky⁶. Agregace molekul PS může snížit účinek PDT. Agregaci se dá zabránit použitím elektricky nabitých funkčních skupin nebo použitím objemných substituentů. Tyto modifikace molekuly brání agregaci molekul buď elektrostatickým odpuzováním, nebo brání shlukování stericke.

Většina fotosenzitizérů patří mezi deriváty porfyrinu, chlorinu nebo bakteriochlorinu (získané částečnou hydrogenací jednoho nebo dvou pyrrolů v molekule porfyrinu⁷, viz obr. 3).



Obr. 3. Porphyrin, chlorin, bakteriochlorin.

Ideální fotosenzitizér by měl mít tyto vlastnosti:

- neměl by být sám o sobě toxický
- neměl by mít mutagenní nebo kancerogenní vlastnosti
- měl by být snadno odstranitelný z organismu
- měl by se selektivně akumulovat v cílových místech⁴ (poměr mezi koncentrací fotosenzitizéru v nádorové tkáni a tkáni zdravé nám určuje potenciální selektivitu fotodynamické terapie; zvýšením hydrofobicity nebo vytvářením amfifilních sloučenin se často zlepšuje cílení molekuly fotosenzitizéru)⁷
 - fotosensitivita způsobená PS by měla trvat co nejkratší dobu (myšleno v hodinách nebo dnech)
 - léčba by měla být bezbolestná
 - podání fotosenzitizéru by mělo být ambulantní
 - měl by být dostupný
 - cena by měla být přijatelná
 - měl by být bezpečný (neměl by způsobovat jiná onemocnění)

- měl by mít vhodné biochemické vlastnosti
- měl by být aktivován vhodnou vlnovou délkou
- fotosenzitizér by neměl bránit použití ostatních metod léčení (operace, chemoterapie a ozařování)⁴
- další vlastností je chemická čistota (výjimkou je Photofrin[®] skládající se z oligomerů)

Fotobleaching (vyblednutí) je vlastnost fotosenzitizéru, při kterém dochází k chemickým změnám způsobené působením světla a tím k narušení chromoforu. Během fotobleachingu se chromofor modifikuje nebo dokonce rozpadá na malé fragmenty. Tento rozklad může mít význam při rychlejší vylučování fotosenzitizéru z těla. Rozpadlý fotosenzitizér se už na druhou stranu ale nevyznačuje fotodynamickými vlastnostmi⁸.

3.7 ROZDĚLENÍ FOTOLENIZITIZÉRŮ DO GENERACÍ

3.7.1 GENERACE I.

Do první generace řadíme látky založené na porfyrinu. Patří sem hematoporfyrin a jeho deriváty⁶.

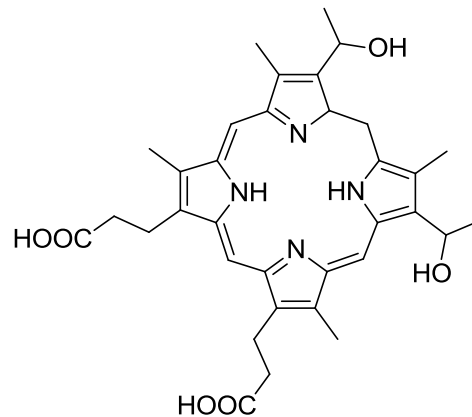
3.7.2 GENERACE II.

Objev látek druhé generace byl založen na nevýhodných vlastnostech látek předchozí generace. Tyto látky absorbují ve vyšších vlnových délkách, mají kratší fotosensitivitu a cílenější biodistribuci⁸. Nacházíme tady látky, jejichž struktury se liší. Řadíme sem některé látky odvozené od porfyrinu, deriváty chlorofylu a syntetická barviva.

3.7.3 GENERACE III.

Do třetí generace patří látky z první a druhé generace, k jejichž struktuře je připojena ještě další částice jako protilátky nebo nanočástice⁶ umožňující lepší biodistribuci v těle⁸.

PORFIMER

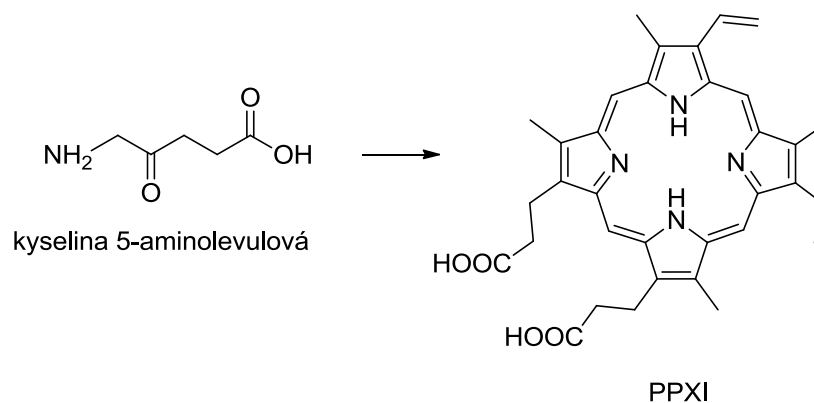


Příklad části molekuly porfimeru.

Jedná se o hematoporphyrinový derivát. Na trhu se nachází už přes třicet let⁶. Porfimer je směsí asi šedesáti⁸ monomerů, dimerů a oligomerů. Pro jeho fotodynamický účinek jsou důležité všechny jeho složky. Cílem menších složek jsou mitochondrie, kdežto cílem větších částí tohoto fotosensitizeru je plazmatická membrána. Jelikož je porfimer směsí látek, konečné množství jeho jednotlivých částí se může lišit v závislosti na různém výrobci. Absorpční maximum u této látky je 630 nm. Porfimer se po podání do organismu během 24-48 hodin koncentruje v rychle se dělících buňkách (nádor, ale taky i kůže). Po ozáření převládá především uzávěr cév. Výhodou je bezbolestné ozáření. V kůži zůstává 4-6 týdnů⁶, pacient by se měl po tuto dobu vyhýbat ostrému světlu.

Používá se pro léčbu Barrettova jícnu, cervikální dysplazie, karcinomu žaludku a bronchiálního karcinomu⁸. Byl poprvé na trh uveden pod názvem Photofrin[®].

KYSELINA 5-AMINOLEVULOVÁ



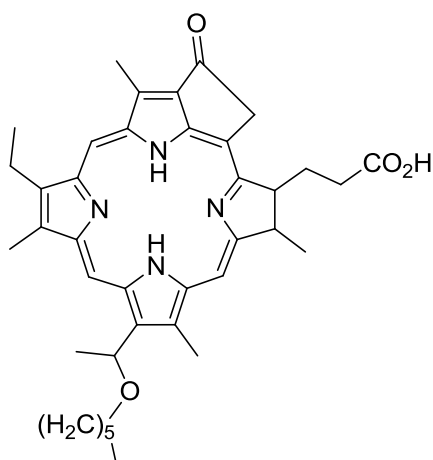
Kyselina 5-aminolevulová (ALA) patří mezi endogenní látky. Jedná se o předstupeň syntézy hemu. Nejprve z ALA vzniká fotodynamicky aktivní protoporphyrin IX (PPIX)⁶. Pomocí enzymu *ferrochelatasy* je následně do molekuly PPIX zaveden atom železa za vzniku hemu, který už nevykazuje žádnou fotodynamickou aktivitu⁸. PDT využívá podání nadbytku ALA, čímž se obchází negativní zpětná vazba (hem inhibuje tvorbu ALA) a tvoří se rychle velké množství fotoaktivního PPIX. Konverze PPIX na hem je velice pomalá, a proto se v buňkách hromadí.

ALA může být podána topicky, intravenózně ale i taky orálně, přičemž topické podání může být bolestivé. Po aplikaci na kůži se za 18 hodin může místo ozářit. Při tomto podání se pak fotosensitivita vyskytuje jen v místě aplikace a obecně, např. při intravenózním podání trvá 48 hodin.

Díky nízké lipofilitě ALA byly vytvořeny její estery. Její methyl ester má vyšší lipofilitu, a tím je umožněna jeho hlubší penetrace do tkání, kde je pomocí enzymů demethylován a přeměněn na aktivní formu PPIX. Na trhu se také nachází hexyl ester kyseliny 5-aminolevulové.

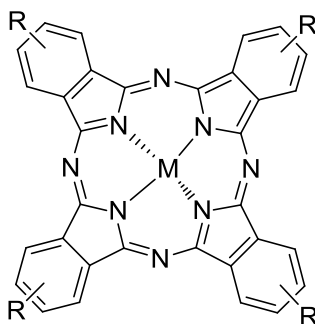
ALA se používá už delší dobu k léčbě aktinické keratózy. Úspěšná byla také v léčbě Barrettova jícnu, rakoviny prostaty, rakoviny močového měchýře, dokonce i rakoviny hlavy a krku. Kromě onkologických indikací nachází své uplatnění také v kosmetice. Mimo onkologickou oblast se tato látka používá k odstranění vrásek a omlazení obličeje.

2-(1-HEXYLOXYETHYL)-2-DEVINYLPYROPHEOPHORBIDE-a (HPPH)



Jedná se o chlorinový derivát. Uplatnění nachází u rakoviny koček a psů. HPPH může být aktivována ozářením jak při 665 nm tak i při 408 nm.

FTALOCYANINY



Ftalocyaniny jsou další zajímavou skupinou fotosenzitizérů. Jejich struktura je odvozena od porfyriu, kde se methynové skupiny nahradily dusíkem a k pyrrolové části molekuly se přikondenzovala benzenová jádra. Uvnitř molekuly se nachází centrálně vázaný kationt kovu (zinečnatý, křemičitý nebo hlinitý). Tyto kovy zlepšují účinnost PDT prodloužením doby života tripletového stavu fotosenzitizéru, čímž se zvýší množství vytvořeného cytotoxického singletového kyslíku⁶.

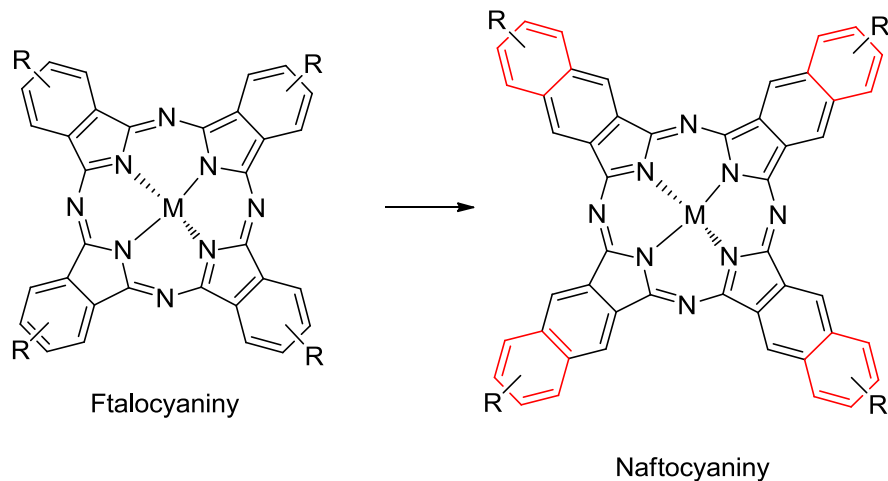
Ftalocyaniny jsou velice špatně rozpustné ve vodě. Rozpustnost ve vodě se dá zvýšit sulfonací. Sulfonací ale vzniká směs sloučenin, které lze od sebe oddělit jen velice špatně. Nízká rozpustnost ve vodě se dá kromě modifikace na periferii zvýšit také enkapsulací do lipozómů.

Absorpční maximum ftalocyaninů se nachází v rozmezí 670-700 nm⁸.

Po podání do organismu pacienta se akumulují v mitochondriích buněk a po jejich aktivaci navozují především apoptózu. Asi za hodinu po aplikaci PS je možno zahájit léčbu, přičemž během 24 hodin dochází k odstranění ftalocyaninů z těla.

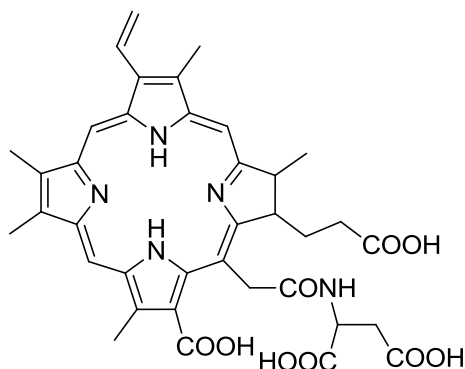
V Rusku je dostupný Photosens. Jedná se o sulfonovaný hlinitý ftalocyanin. Používá se v léčbě některých nádorů (časných stádií opakujících se nádorů rtů, jazyka, hltanu, hrtanu ale i opakujících se nádoru plic a jícnu) a infekcí⁶.

Od ftalocyaninů jsou odvozeny naftocyaniny. Vznikly přikondenzováním benzenového jádra na periferii makrocyklu. Jejich absorpční maximum se tím zvýšilo až na 770 nm, čímž je umožněna léčba hlubších vrstev tkání nebo léčba vysoce pigmentovaných nádorů⁸.



TALAPORFIN

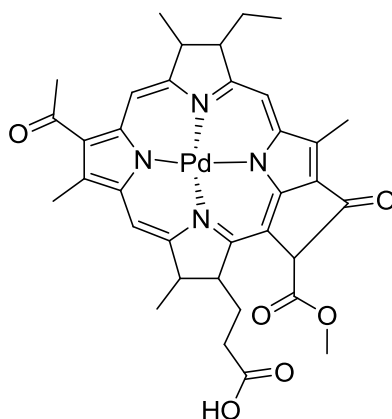
(MACE, NPe6, LS11, Laserphyrin, LithTM, Photolon, Apoptosin)



Jedná se o derivát chlorinu. Má silnou absorpci při vlnových délkách 664 nm. K ozáření dochází 2-4 hodiny po jeho podání a během této léčby se nevyskytuje žádná bolest. Talaporfin je hydrofilní sloučenina, po ozáření dochází především k uzavěru cév. Fotosensitivita trvá 2 týdny⁶. Používá se k léčbě časného stádia rakoviny plic⁸. Talaporfin se vylučuje žlučí, což se musí brát v úvahu u pacientů s poškozením jater.

PADOPORFIN

(WST09, Tookad)

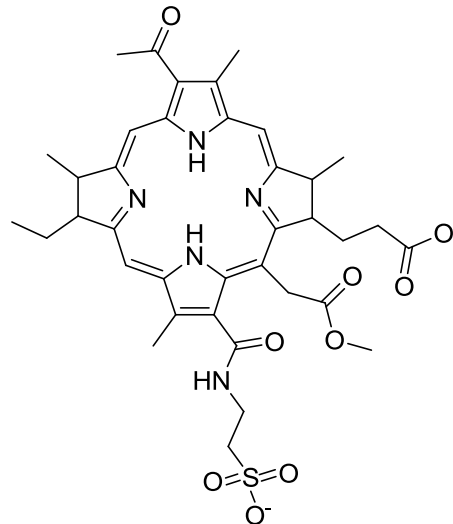


Tento derivát je založen na bakteriochlorofylu. Jedná se o hydrofóbní sloučeninu, která po ozáření způsobuje rychlé uzavření cév. Padoporfin se aktivuje při vlnové délce 763 nm. Chvilí po podání do organismu, díky jeho rychlé clearance, se

nádorová tkáň ozáří. Fotosensitivita trvá asi jen okolo 3 hodin. Pacienty je velmi dobře snášen.

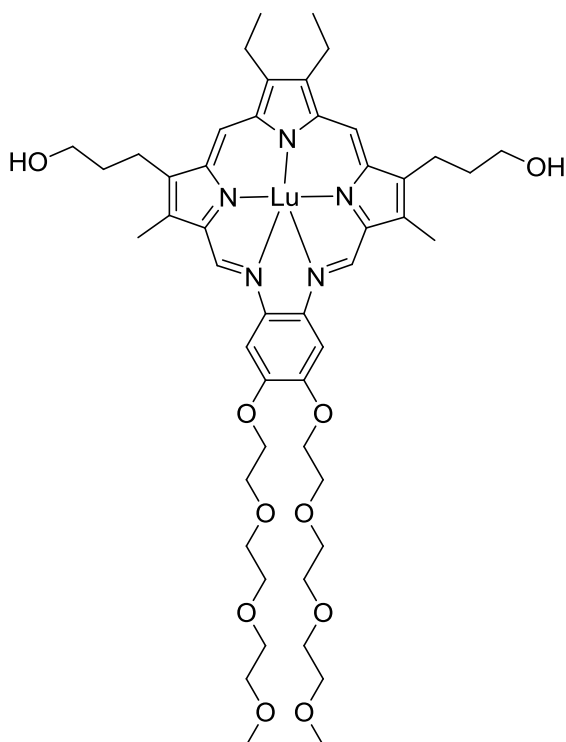
Padoporfin je velmi účinný při léčbě rakoviny prostaty.

PADELIPORFIN



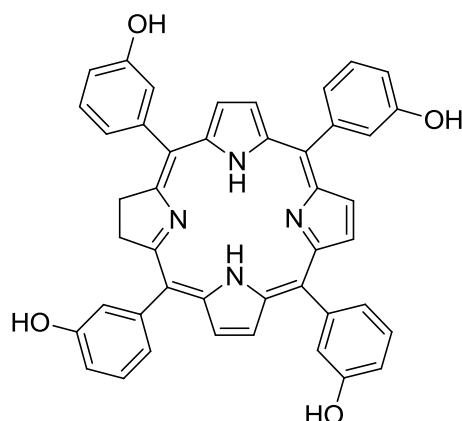
Stejně jako padoporfin se jedná o derivát bakteriochlorofylu. Na rozdíl od padoporfinu je padeliporfin hydrofilní sloučenina, která se dostává na místo svého působení snadno, bez použití přenašeče. Chvíli po podání do organismu se nádorová tkáň ozáří a po aktivaci dochází k rychlému uzavírání cév nádorové tkáně⁶.

MOTEFAXIN LUTECIUM
(LUTRIN, Lu-TeX)



Motefaxin je odvozen od texafyrinu. Texafyriny jsou sloučeniny s pětiusíkatým makrocyclickým jádrem a chelatovaným atomem lutecia⁸. Jedná se o hydrofilní sloučeninu, která se může podávat intravenózně i topicky. Aktivuje se při vlnové délce 732 nm⁶. Vzhledem k tak vysoké vlnové délce se může používat k terapii vysoce pigmentovaných nádorových tkání (melanom). Má rychlou clearance, a proto k ozáření dochází 3 hodiny po její aplikaci a umožní také opakovanou PDT⁸. Kožní fotosensitivita trvá jen jeden den.

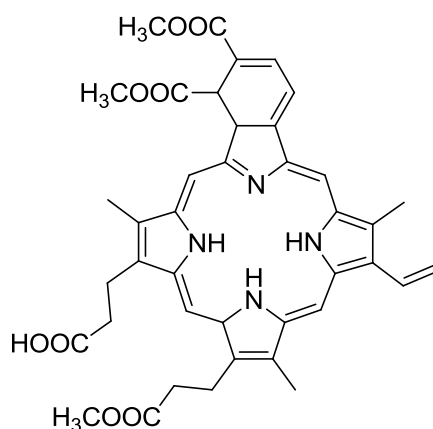
TEMOPORFIN



Temoporfin je derivátem chlorinu. Je dostupný pod názvem Foscan[®]. Po ozáření při vlnové délce 652 nm dochází k vytváření velkého množství toxického singletového kyslíku. Temoporfin se kumuluje v nádorové tkáni čtvrtý den po jeho aplikaci. Jeho velkou nevýhodou je, že se během léčby mohou vyskytnout velké bolesti a fotosensitivita trvá ještě šest týdnů po aplikaci. Pacienti jsou citliví během prvních dnů dokonce i na tlumené světlo.

Temoporfin se používá k terapii nádorů krku a hlavy.

VERTEPORFIN



Tato látka se řadí k benzoporphyrinovým derivátům. V klinické praxi se používá ve formě lipozomů. Absorpční maximum se vyskytuje při vlnové délce 690 nm. Po

podání se aktivuje asi za 30 minut a dochází k uzávěru cév. Má rychlou clearance, fotosensitivita je krátká a trvá jen několik hodin.

Používá se k léčbě senilní makulární degenerace⁶. Toto onemocnění je charakterizováno tvorbou abnormálních cév za retinou. Tyto cévy prosakují a tím retinu poškozují. Důsledkem tohoto onemocnění je většinou slepota. Verteporfin svým mechanismem tyto cévy uzavírá⁸.

Jelikož má verteporfin spoustu výhodných vlastností, lze jej považovat za vzor pro všechny fotosensitizéry⁶.

3.8 BIOLOGICKÁ ODPOVĚĎ

Existují tři hlavní mechanismy, kterými PDT ničí nádorové buňky. Jedná se o přímé působení reaktivních kyslíkatých sloučenin na nádorové buňky, uzávěr cévního zásobení nádoru a aktivaci imunitního systému.

Nádorová tkáň, jako každá jiná je závislá na cévním zásobení a tedy na přísunu kyslíku a živin. Po ozáření některých fotosensitizerů nejprve dochází především k silné vazokonstrikci, která je způsobena poruchou rovnováhy mezi vazoaktivními a vazokonstrikčními látkami umístěnými v endotelu cév. Po určité době dochází ke konečnému uzavření cév trombem. Jak již bylo zmíněno, tento mechanismus poškození nádorových buněk převládá především u hydrofilních fotosensitizerů, ale ve značné míře je ovlivněn typem buněk a ozářením.

Jak je známo, z poškozených buněk se uvolňuje spousta buněčných zbytků a látek aktivujících imunitní systém (např. cytokiny patřící do rodiny signálních proteinů). Za několik minut po ozáření se objevují neutrofilové vylučující reaktivní formy kyslíku a lyzozomální enzymy. Dochází k ničení endotelu cév a nádorových buněk. Kromě neutrofilů se do místa dostávají žírné buňky uvolňující mimo jiné vazoaktivní látky, dále monocyty a z nich vyvíjející se makrofágy, jejichž základní funkcí je fagocytóza³.

V závislosti na vlastnostech a umístění fotosensitizeru, vlastnostech použitého záření (vlnová délka a intenzita), typu buněk a koncentraci kyslíku může být buněčná smrt způsobena nekrózou, apoptózou nebo v menší míře poškozením DNA. Nekróza může být způsobena fyzikálním i chemickým poškozením a vede k otoku buňky, rozrušení buněčných organel, prasknutí cytoplazmatické membrány a uvolnění buněčného obsahu do okolí a následné tvorbě zánětu¹. Vede k poškození i okolních buněk⁶. Naproti tomu při apoptóze dochází ke sraštění buňky a části těchto buněk jsou sbírány fagocyty. Touto cestou buněčné smrti nedochází k tvorbě zánětu.

To, zda bude ve větší míře převládat nekróza či apoptóza může záviset jednak na velikosti dávek PDT a jednak na cíli PDT. Při nižších dávkách PDT mají buňky vyšší tendenci podléhat apoptóze, kdežto při vyšších dávkách naopak nekróze¹. Jestliže jsou cílem PDT intracelulární komponenty (např. mitochondriální membrána), buňky

podléhají apoptóze. Pokud je cílem buněčná membrána nebo cévní zásobenění, dochází k nekróze⁴. Hlavním cílem PDT je především aktivovat apoptotickou smrt nádorových buněk.

Byla také provedena spousta studií, které se zabývaly působením PDT na DNA poškození, které by vedlo k buněčné smrti. Ukázalo se, že následkem PDT může dojít k oxidačnímu poškození nukleových bází. Toto poškození ale nemusí zpravidla navodit buněčnou smrt. A to právě díky opravným mechanismům buněk. V porovnání s ozařováním měla PDT nižší potenciál poškodit DNA¹.

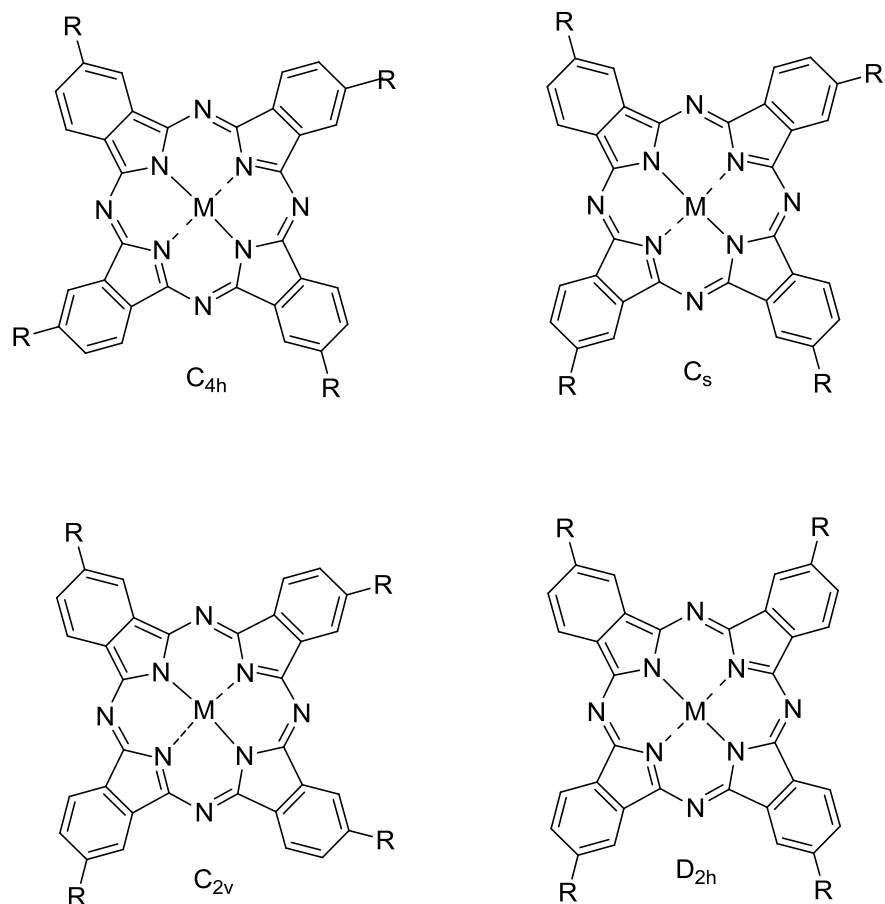
4 METODICKÁ ČÁST

Mezi přírodní životně důležité tetrapyrrolové makrocyclické sloučeniny patří například hemoglobin, chlorofyl nebo cytochromy. Jejich základ tvoří čtyři pyrrolová jádra spojená přes methylenový můstek. Právě tyto sloučeniny se staly středem zájmu výzkumu při syntéze syntetických derivátů, které se vyznačují jedinečnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi⁹. Modifikací jejich struktury se získaly sloučeniny typu porfyrainů (tetraazaporfyriny), ftalocyaninů, naftalocyaninů nebo antracencyaninů.

Tyto deriváty nacházejí široké uplatnění ve vědě, technice i medicíně. Mohou být využity jako fotosensitizéry ve fotodynamické terapii, katalyzátory, tekuté krystaly nebo jako materiály pro nanotechnologii⁹. Kationické ftalocyaniny jsou zkoušeny vzhledem ke svému účinku na mikrobiální buňky u multirezistentních mikroorganismů¹⁰.

Ftalocyaniny jsou 18 π -elektronové aromatické makrocycly s významnými fyzikálními i chemickými vlastnostmi. Jejich vlastnosti mohou být měněny a vylepšeny modifikací struktury a to nejen různou substitucí na periférii, ale i schopností těchto látek udržet ve své dutině více než 70 různých kovových i nekovových kationtů¹¹.

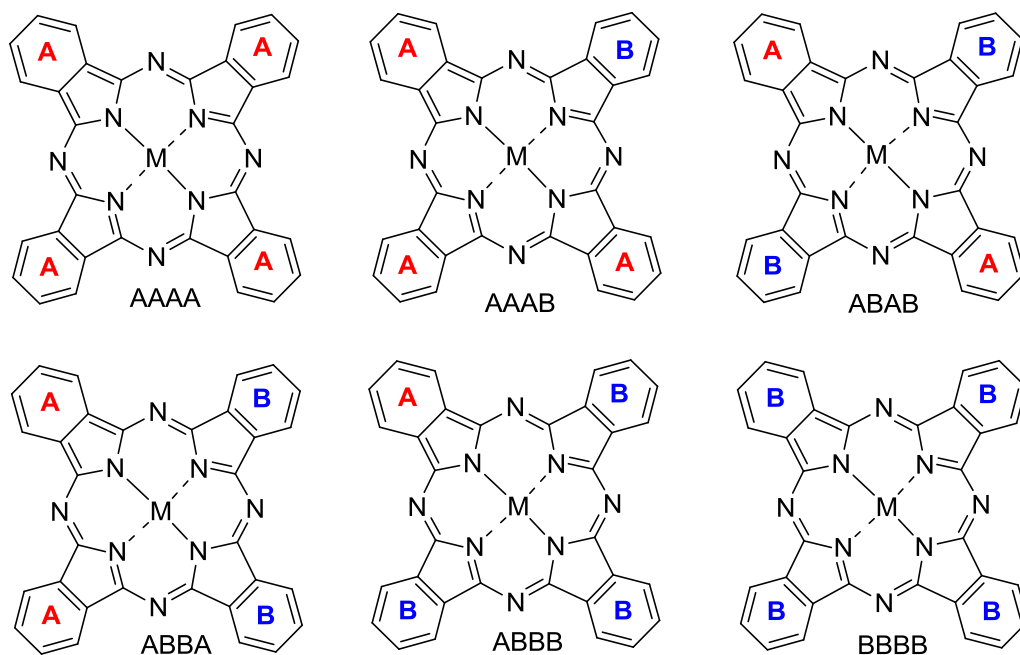
Pokud se k syntéze ftalocyaninů použijí čtyři stejné symetrické podjednotky, vznikají symetrické sloučeniny. Pokud do reakce vstupuje nesymetrická výchozí látka, vzniká směs polohových izomerů C_s , D_{2h} , C_{2v} a C_{4h} (obr. 4). Symetrické ftalocyaniny a jejich analoga získaná izolací polohových izomerů většinou neposkytovaly optimální vlastnosti. Vědci se proto začali zabývat syntézou asymetrických ftalocyaninů¹², jejichž syntéza vychází ze dvou různých výchozích látek¹¹.



Obr. 4. Izomery C_s , D_{2h} , C_{2v} a C_{4h}

4.1 SYNTÉZA ASYMETRICKY SUBSTITUOVANÝCH FTALOCYANINŮ

Pro syntézu asymetrických ftalocyaninů se nejčastěji používá metoda statistické kondenzace, kterou se získá ze dvou různých prekurzorů (A a B) šest různých ftalocyaninů označovaných jako AAAA, AAAB, ABAB, AABB, ABBB a BBBB, zvaných také jako kongenery (obr. 5). Dále byly vyvinuty metody pro selektivní syntézu určitého typu kongeneru, příkladem může být například subftalocyaninová metoda, nebo metoda s využitím pevné fáze a další¹³.



Obr. 5. Typy kongenerů získaných metodou statistické kondenzace.

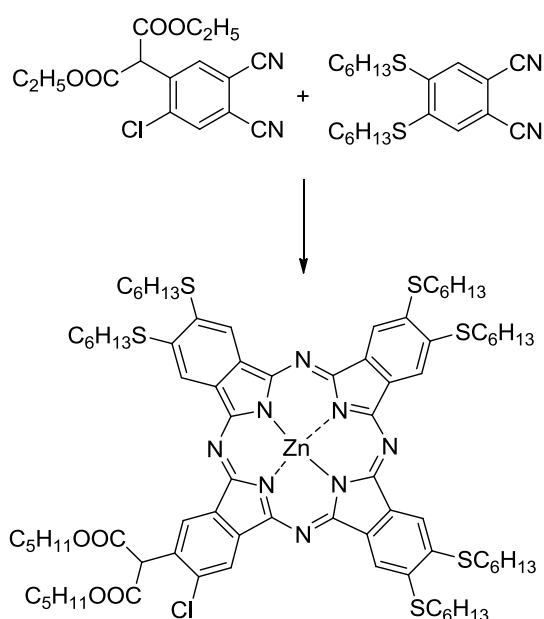
4.2 SYNTÉZA A₃B FTALOCYANINŮ

4.2.1 METODA STATISTICKÉ KONDENZACE

Jedná se o neselektivní metodu. Vzhledem k výše zmíněné směsi vznikajících kongenerů, je potřeba následně jednotlivé sloučeniny od sebe izolovat za použití chromatografických metod (sloupcovou chromatografií). Metoda statistické kondenzace se používá nejčastěji pro přípravu A₃B ftalocyaninů, které jsou složeny z jedné rozdílné a tří stejných podjednotek. Aby při této metodě ve větších poměrech vznikaly látky typu A₃B, upravuje se stechiometrický poměr reaktantů. Nejčastěji se používá poměr 3:1 (A:B), přičemž vznikající směs obsahuje 33 % A₄, 44 % A₃B a 23 % A₂B₂¹¹. Vzhledem k rozdílnému vlivu substituentů se mohou použít ale i jiné poměry jako 9:1, 10:1 i vyšší. Jelikož se jednotlivé kongenery od sebe špatně separují, používá se tato metoda převážně v laboratořích¹⁴. Mezi nevýhody metody statistické kondenzace patří tedy problémy při izolaci požadované sloučeniny a rozdílná reaktivita prekurzorů¹⁵. Špatná izolace produktu může být způsobena agregací planárních ftalocyaninů. Agregaci se dá zabránit například substitucí pomocí *tert*-butyl-sulfanylové skupiny, tedy pomocí objemných substituentů¹⁶.

Na aromatické jádro mohou být navázány různé alkyl-, aryl- substituenty, elektron donorové (např. alkylsulfanyl-, amino- substituované ftalocyaniny), elektron odtahující (např. karboxylová skupina a její deriváty) skupiny i obojí¹⁴, vedoucí k polarizované elektronové struktuře¹⁷.

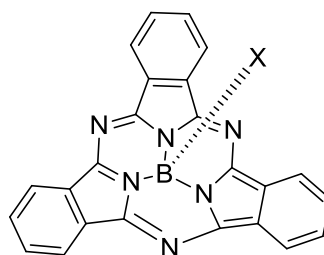
Příkladem syntézy A₃B ftalocyaninu metodou statistické kondenzace je reakce dvou různých ftalonitrilů, které byly zahřívány pod zpětným chladičem v přítomnosti bezvodého octanu zinečnatého, DBU a bezvodého *n*-pentanolu v argonové atmosféře. Při této reakci rovněž docházelo k reesterifikaci ethyl-malonátu na pentyl-malonát (obr. 6)¹⁸.



Obr. 6. Příprava A₃B ftalocyaninu metodou statistické kondenzace a reesterifikace produktu.

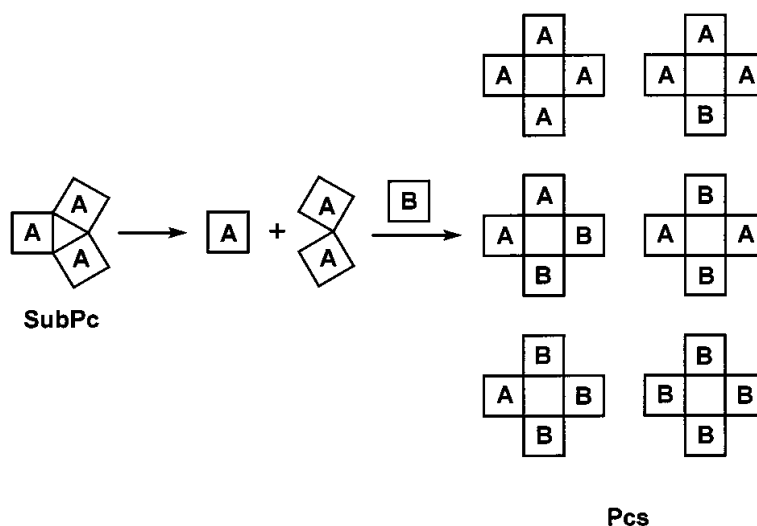
4.2.2 SUBFTALOCYANINOVÁ METODA

Tato selektivní metoda syntézy ftalocyaninů typu A₃B byla objevena v roce 1980 Kobayashim a jeho spolupracovníky¹¹. Subftalocyaniny (SubPc) jsou neplanární aromatické molekuly kónického tvaru se 14-ti π elektrony¹⁴ (obr. 7).



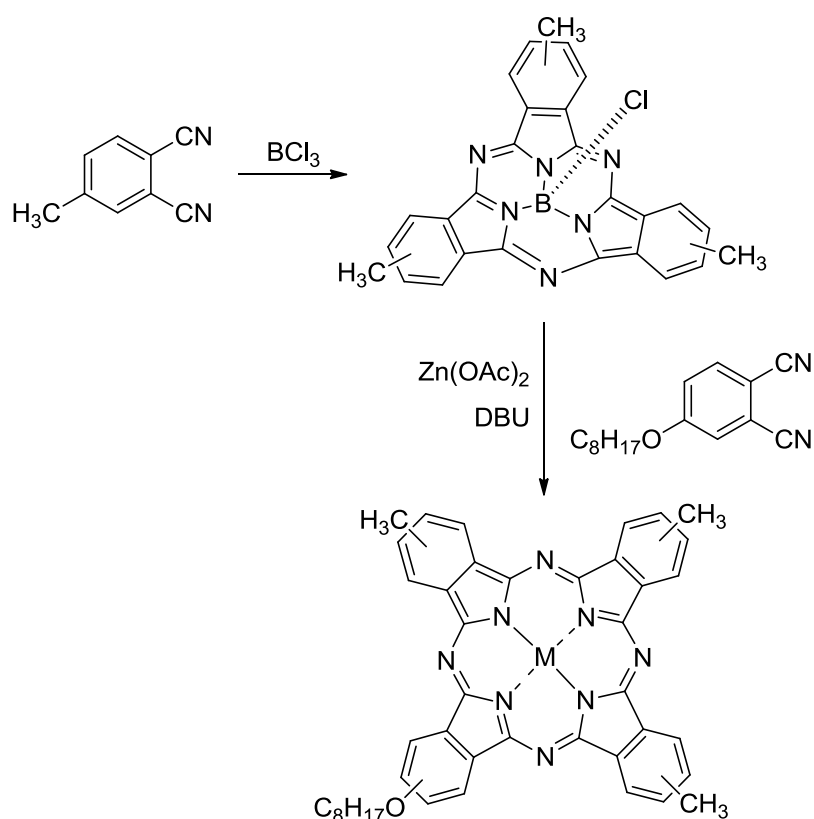
Obr. 7. Obecná struktura subftalocyaninu.

Při této metodě dochází k rozšíření subftalocyaninového kruhu složeného ze tří stejných podjednotek o další odlišnou podjednotku typu sukcinimidu nebo diiminoisoindolinu. Tato reakce se osvědčila při přípravě ftalocyaninů, které jinými metodami nelze připravit. Použitím této metody lze získat až 90% výtěžek. Subftalocyaninová metoda je závislá na reakčních podmínkách a vlastnostech prekurzorů¹¹. I když ještě není znám přesný mechanismus této metody¹⁴, předpokládá se, že během této reakce dochází k částečné nebo úplné fragmentaci subftalocyaninového kruhu a následnému uzavření. I když se jedná o selektivní metodu, dochází někdy ke vzniku všech typů ftalocyaninů právě díky fragmentaci kruhu, viz. Obr. 8¹¹. Na rozdíl od metody statistické kondenzace je subftalocyaninová metoda účinnější, selektivnější, může být dosaženo vysokých výtěžků a čištění produktů je jednodušší¹⁴.



Obr. 8. Fragmentace subftalocyaninu (SubPc) a vznik izomerů ftalocyaninů (Pcs)¹¹.

Příkladem metody může být práce Chauhana a kol. , kteří se snažili připravit asymetrické ftalocyaniny subftalocyaninovou metodou. Při syntéze použili iontová rozpouštědla (např. tetrabutylamonium-bromid nebo butyl-(2-hydroxyethyl)dimethylamonium-bromid). Ze substituovaného ftalonitrilu za vhodných podmínek (1M BCl_3 v *p*-xylenu, dusíková atmosféra) vznikal příslušný SubPc (výtěžek 75 %). Následnou kruhovou expanzí s dalším ftalonitrilem za použití butyl-(2-hydroxyethyl)dimethylamonium-bromidu v přítomnosti octanu zinečnatého a DBU (1,8-diazabicyklo-[5,4,0]-undec-7-en) vznikaly asymetrické ftalocyaniny ve vysokých výtěžcích (59 %), viz. Obr. 9¹⁹.



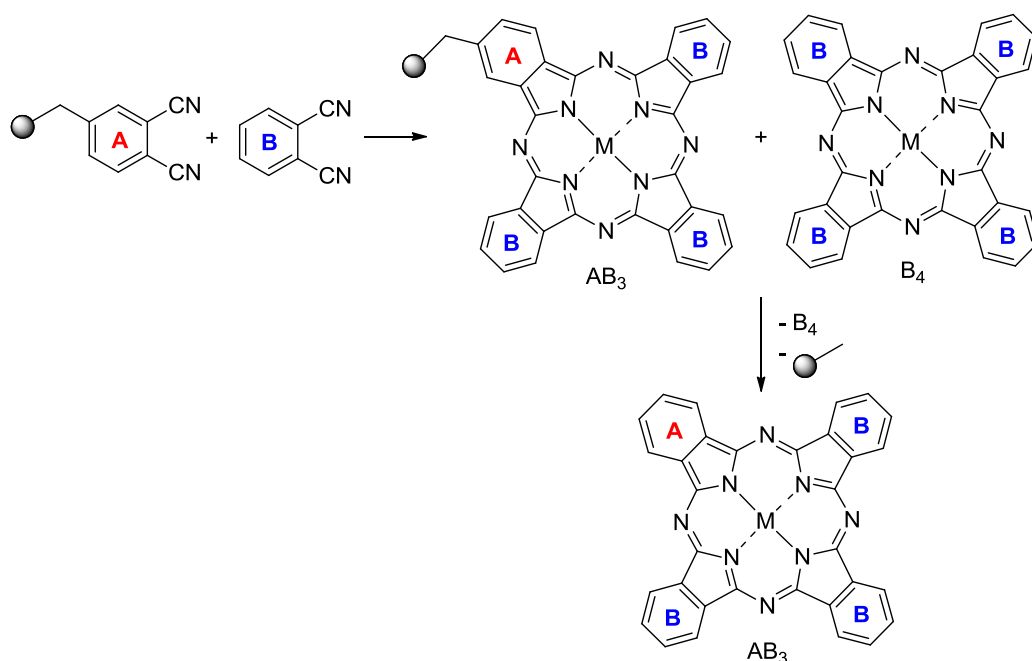
Obr. 9. Syntéza A₃B ftalocyaninu subftalocyaninovou metodou.

4.2.3 METODA S VYUŽITÍM PEVNÉ FÁZE

Tato další selektivní metoda přípravy ftalocyaninů typu A₃B byla vyvinuta Leznoffem v roce 1982¹⁴. Při této metodě dochází k navázání podjednotky B (vhodně substituovaného ftalonitrilu) k polymeru za vzniku nerozpustného prekursoru. Reakcí s podjednotkou A (odlišný ftalonitril), která je v nadbytku, vzniká A₃B sloučenina

s navázaným polymerem, který se jednoduše oddělí od vedlejšího produktu reakce (A_4), nacházejícího se na rozdíl od požadovaného produktu v roztoku²⁰, promytím pevné fáze vhodným rozpouštědlem. Volný A_3B ftalocyanin se pak získá odštěpením polymeru (obr. 10). Pro použití této metody jsou nutné funkční skupiny, na které lze navázat polymer¹¹.

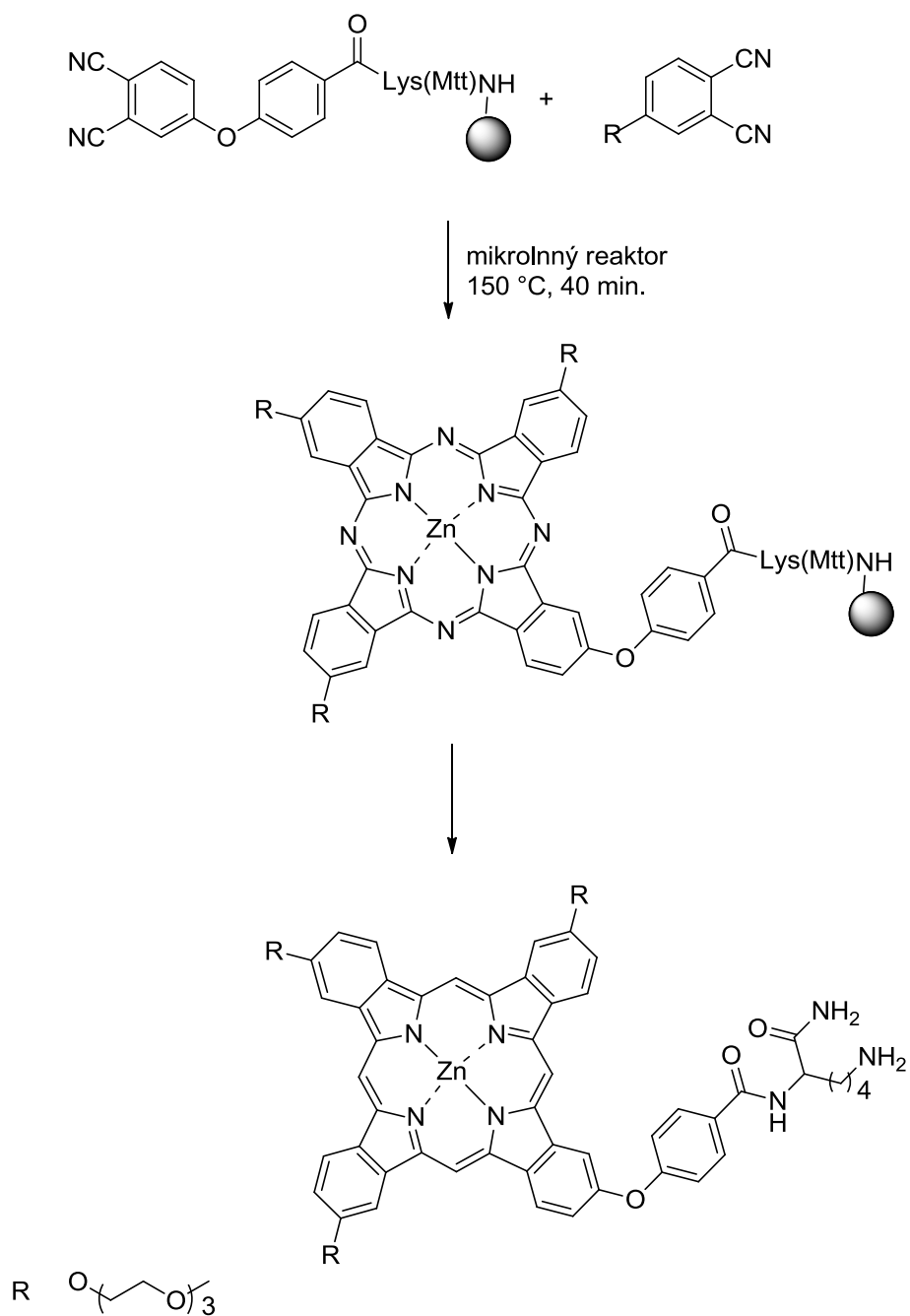
Leznoff při této metodě použil polystyrenový polymer. K pročištění produktu od A_4 a oddělení produktu od polymeru bylo potřeba rozsáhlého čištění a použití Soxhletovy extrakce. Erdem a kolektiv zjistili, že použitím více hydrofilního polymeru dojde k urychlení syntézy a snadnějšímu čištění. Místo polystyrenového polymeru použili Wangovu pryskyřici²⁰.



Obr. 10. Schéma syntézy AB_3 metodou s využitím pevné fáze.

Metodu s využitím pevné fáze lze využít také k syntéze syntéze ftalocyaninů substituovaných jednou aminoskupinou. Erdem a kolektiv pro syntézu těchto ftalocyaninů použili Rink Amide Chem-Matrix polymer. Nejdříve inkorporovali aminoskupiny do polymeru pomocí Fmoc-Lys(Mtt)-OH, přičemž Fmoc (9H-fluoren-9-yl)methylkarbamát) a Mtt (4-methyltrityl) jsou skupiny chránící aminoskupiny. Následně se suspenze polymeru s navázaným ftalonitrilem, ftalonitrilu substituovaného ethylenglykolem, octanu zinečnatého a DBU v butanolu nechala reagovat v mikrovlnném reaktoru. Produktem byly A_3B ftalocyanin na polymeru a A_4 v roztoku

(obr.11). Spojením této metody s ozářením v mikrovlnném reaktoru poskytuje vysoké výtěžky a vede k urychlení reakce²¹.

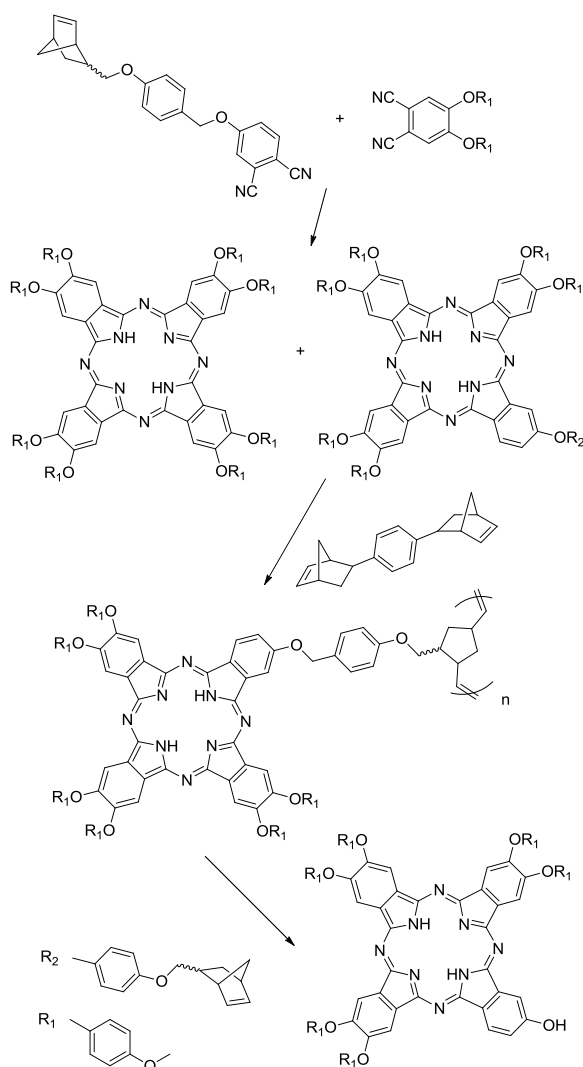


Obr. 11. Syntéza ftalocyaninů substituovaných jednou aminoskupinou metodou s využitím pevné fáze.

4.2.4 METODA ROMP-CAPTURE-RELEASE

Tato metoda zahrnuje zkříženou Linsteadovu cyklizaci ftalonitrilu označeného norbornenylem (A) s dalším ftalonitrilem (B), a za ROMP (ring-opening metathesis polymeration) reakčních podmínek vzniká norbornenylem označený asymetrický ftalocyanin, který je následně uvolněn z ROMP polymeru v kyselém prostředí (obr. 12). Vznikající ftalocyaniny nevyžadují následné náročné čištění.

Nejdříve byl k cyklizaci použit poměr 1:3 (A:B), tato směs obsahovala velké množství B₄, méně AB₃, a malé množství A₂B₂. Snížením poměru se snížila tvorba nežádoucího A₂B₂. Jako nejvhodnější poměr se ukázal 1:6²².



Obr. 12. Schéma ROMP-capture-release.

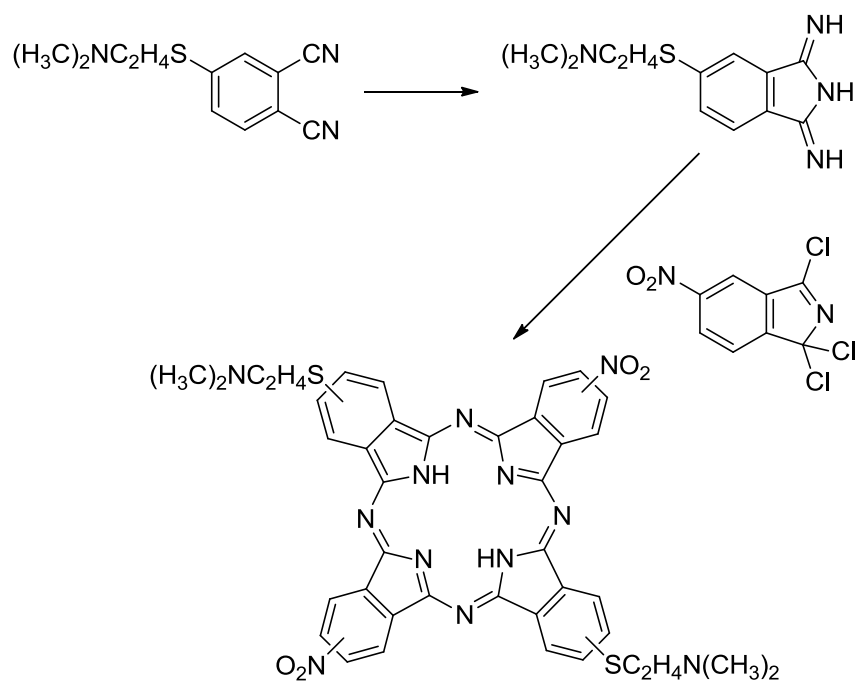
4.3 SYNTÉZA A₂B₂ FTALOCYANINŮ

Tyto sloučeniny lze získat metodou statistické kondenzace. Jedná se o směs dvou izomerů typu ABAB (*cis*-A₂B₂) a AABB (*trans*-A₂B₂). Tyto kongenery mají většinou podobnou rozpustnost a polaritu¹⁴. Následkem je častá eluce ve stejné frakci a tím jejich znesnadněná separace. Proto byly snahy k vytvoření selektivních metod.

4.3.1 SYNTÉZA ABAB FTALOCYANINŮ

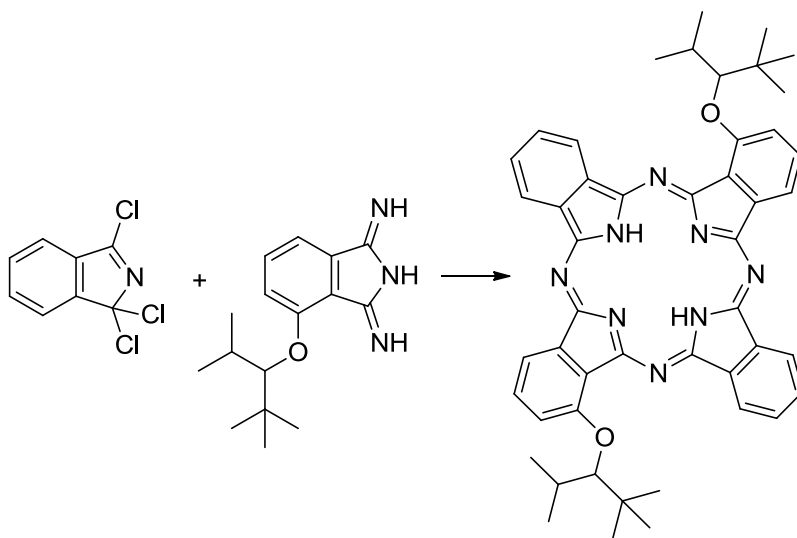
Jedná se o příčně substituované ftalocyaniny (crosswise-substitued phthalocyanines) syntetizované pomocí zkřížené-kondenzační metody (crossed-condensation method). Při této metodě dochází k reakci ekvivalentního množství 1,3-diiminoisoindolinu s 1,3,3-trichlorisoindolinem za mírných reakčních podmínek v přítomnosti báze a redukčního činidla. Vedlejšími produkty mohou být v malém množství všechny možné kongenery¹⁴.

Na obr. 13 je zobrazena syntéza ABAB ftalocyaninu. Příslušný 1,3-diiminoisoindolin byl připraven z 4-[(2-dimethylamino)ethylsulfanyl]ftalonitrilu. Následně zkříženou-kondenzační metodou s 1,3,3-trichlor-5-nitroisoindolinu s 5-[(2-dimethylamino)ethylsulfanyl]-1,3-diiminoisoindolinem v poměru 2:2 vzniká asymetrický ftalocyanin. Reakce probíhá v přítomnosti triethylaminu, methoxidu sodného a hydrochinonu²³.



Obr. 13. Schéma syntézy 1,3-diiminoisindolinu a syntézy ABAB ftalocyaninu.

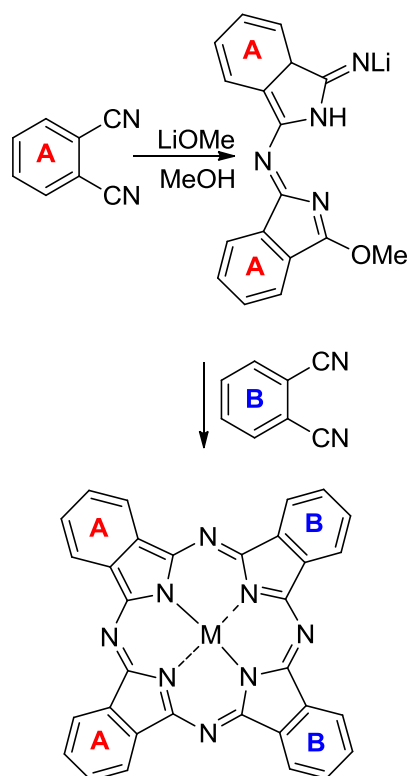
Dalším příkladem je reakce 1,3,3-trichlorisindolinu s 4-(2,2,4-trimethyl-3-pentoxy)1,3-diiminoisindolinem (obr. 14)²⁴.



Obr. 14. Schéma syntézy ABAB ftalocyaninů.

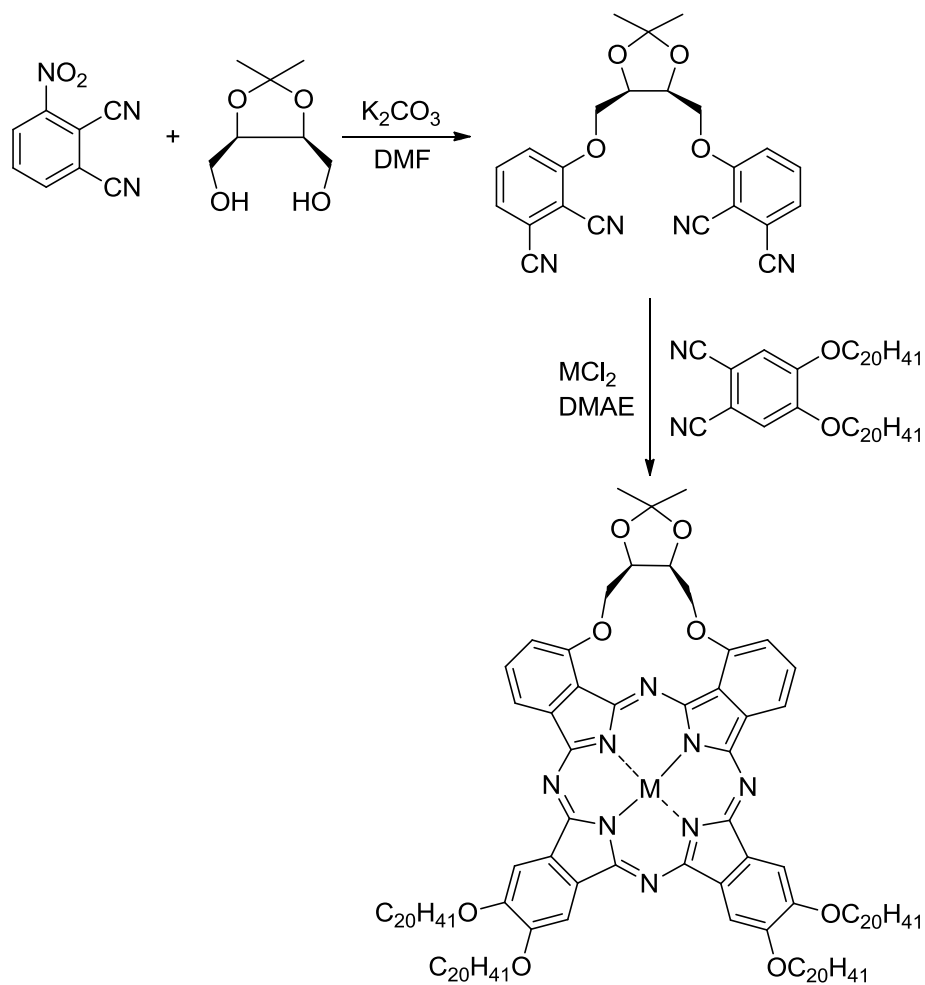
4.3.2 SYNTÉZA AABB FTALOCYANINŮ

Leznoff a kolektiv se zabývali syntézou AABB ftalocyaninů (souměrně substituované ftalocyaniny, adjacent phthalocyanines). Při jejich metodě dochází v prvním kroku k syntéze meziprojektu, tzv. polovičního ftalocyaninu, do kterého se v druhém kroku za mírných podmínek následně vpraví další ftalonitril (obr. 15). Pro přípravu stabilního meziprojektu se používají ftalonitrily s elektron odtahujícími substituenty¹¹.



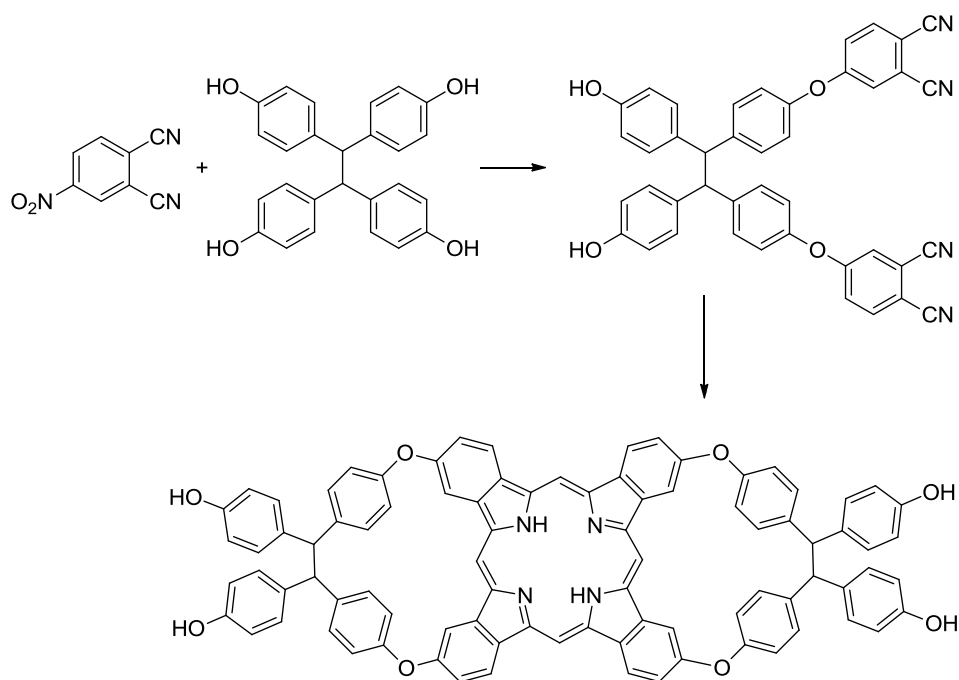
Obr. 15. Schéma syntézy AABB ftalocyaninu.

Další možností syntézy AABB ftalocyaninů je kondenzace jednotky složené ze dvou ftalonitrilů spojených přes vhodný můstek s dalším ftalonitrilem (obr. 16)²⁵.



Obr. 16. Příprava ftalonitrilové podjednotky a syntéza AABF ftalocyaninu.

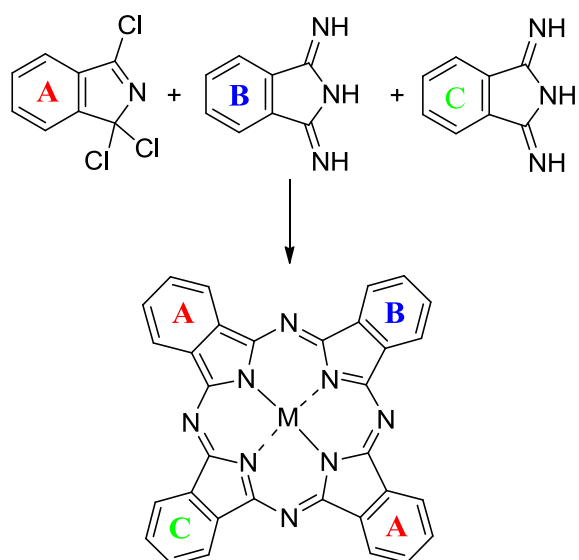
ABAB ftalocyaniny lze také připravit ze dvou podjednotek, z nichž každá je složená ze dvou ftalonitrilů spojených vhodným můstkem obsahujícím čtyři nebo více hydroxylových skupin, např. 1,1,2,2-tetrakis(4-hydroxyfenyl)ethan (obr. 17)²⁶.



Obr. 17. Syntéza ABB ftalocyaninu s použitím 1,1,2,2-tetrakis(4-hydroxyfenyl)ethanu.

4.4 SYNTÉZA ABAC FTALOCYANINŮ

Jak již bylo zmíněno, v poslední době je studium převážně zaměřeno na syntézu asymetrických ftalocyaninů. Dumoulin a její skupina se zabývají syntézou ftalocyaninů typu ABAC, obsahujících tedy tři různé podjednotky. Patentovaná metoda selektivní syntézy je rozdělena do dvou kroků. V prvním kroku byla míchána směs trichlorisoindolinu a se dvěma různými diiminoisoindoliny (obr. 18) v prostředí tetrahydrofuranu a triethylaminu, v druhém kroku po přidání hydrochinonu byl roztok zahříván za vzniku produktů. Během syntézy vzniká značné množství různě substituovaných ftalocyaninů. Množství těchto vedlejších produktů lze ovlivnit změnou poměru použitých prekurzorů²⁷.



Obr. 18. Schéma syntézy ABAC ftalocyaninů.

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Teploty tání byly stanoveny na přístroji ELECTROTHERMAL IA9200 a nejsou korigovány.

Čistota produktů a meziproduktů a průběh jednotlivých reakcí byly kontrolovány tenkovrstvou chromatografií na deskách Merck Silikagel 60 F254. Detekce byla prováděna světlem o vlnové délce 254 nm a 366 nm.

K sloupcové chromatografii byl použit silikagel Merck Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm).

Infračervená spektra byla měřena IČ spektrofotometrem Nicolet 6700 na KAOCH FaF UK v Hradci Králové v ATR módu. Vlnočty jsou uvedeny v cm^{-1} .

NMR spektra byla naměřena na přístroji VARIAN MERCURY VxBB 300 nebo VNMR S500 na KAOCH FaF UK v Hradci Králové. Posuny jsou vztaženy k vnitřnímu standardu $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$.

Spektrum ve viditelné oblasti bylo naměřeno na přístroji SHIMADZU UV 2401 PC: UV-VIS recording spectrophotometer.

Hmotnostní spektra (MALDI-TOF) byla měřena na přístroji Voyager – DE STR mass spectrometer.

Schéma prováděných reakcí

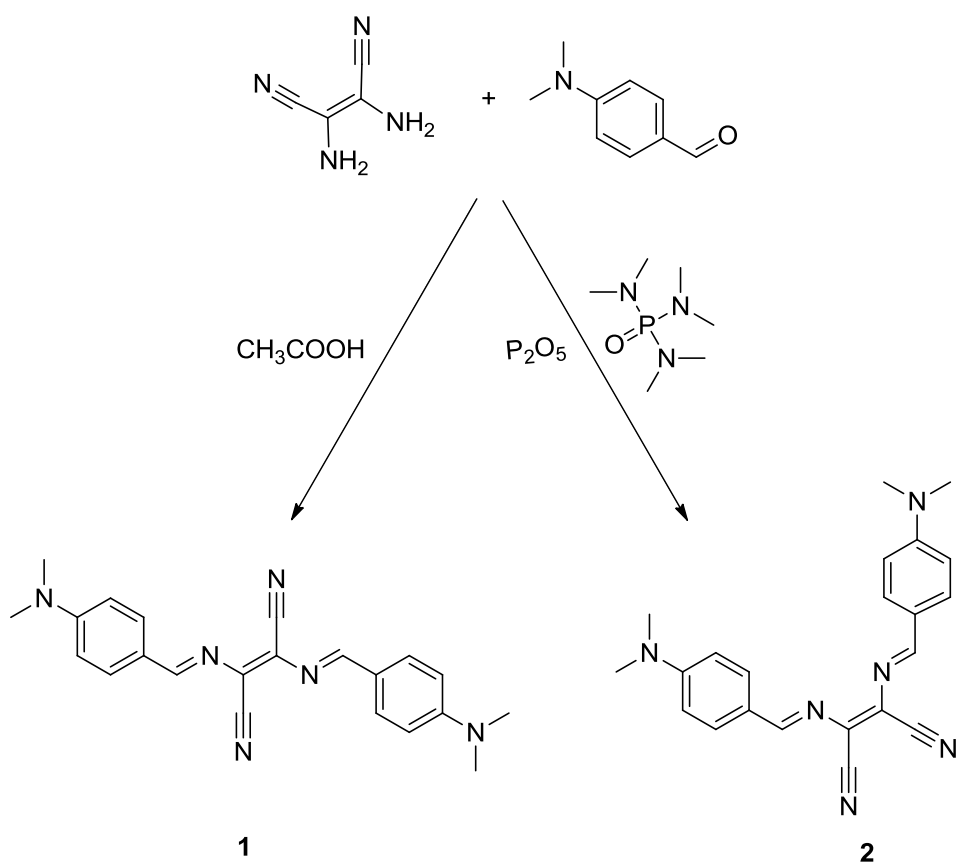


Schéma 1

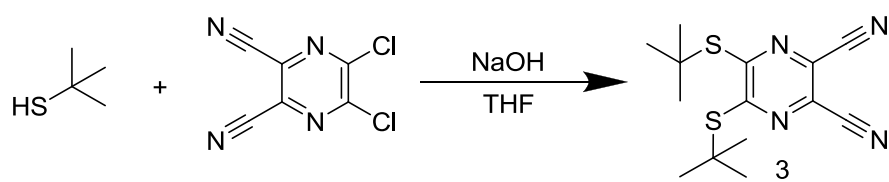


Schéma 2

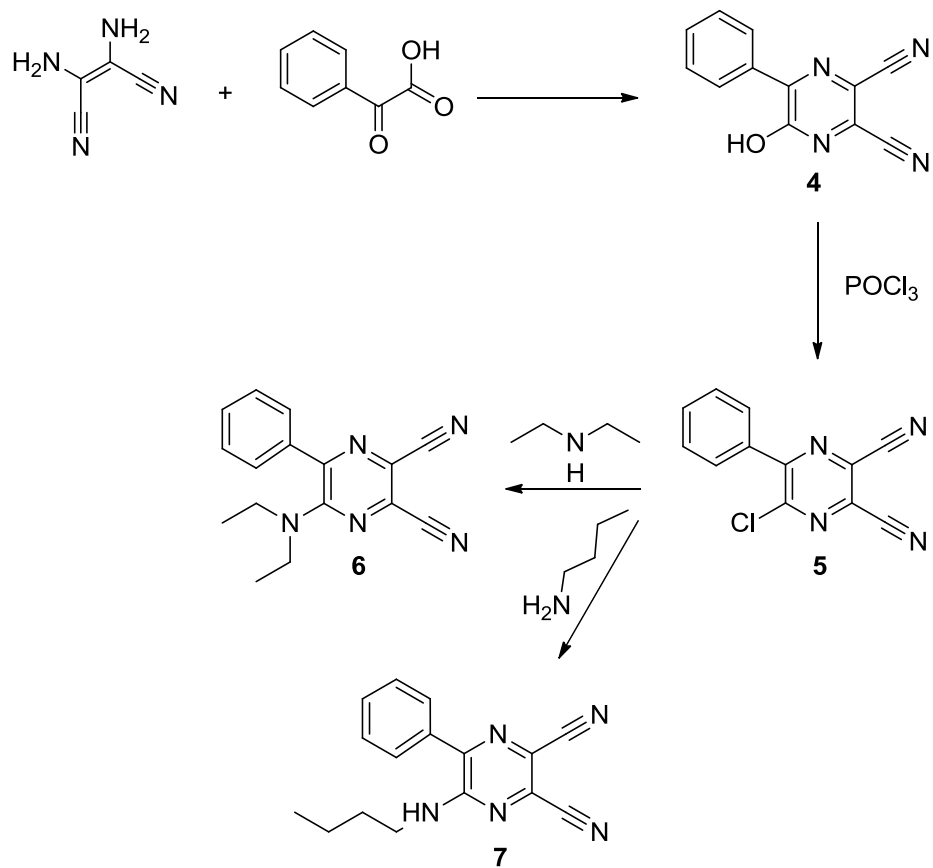


Schéma 3

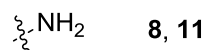
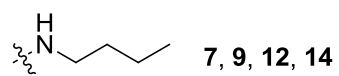
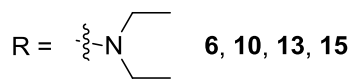
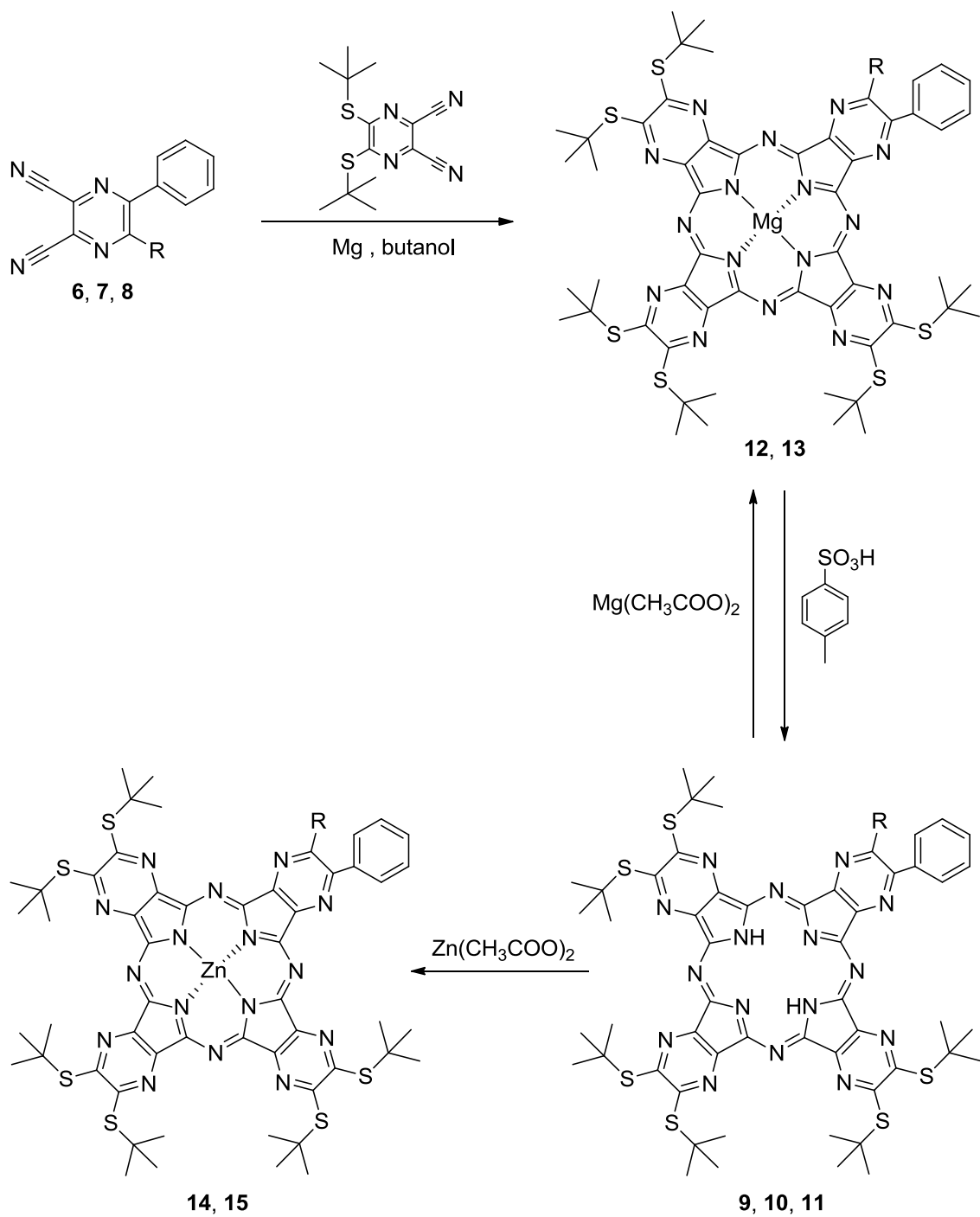
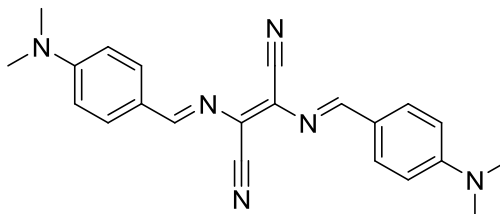


Schéma 4

5.1 Příprava

***N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitrilu (1)**



K 4-dimethylaminobenzaldehydu (656 mg, 4,4 mmol) se přidala kyseliny octová (10 ml) a diaminomaleonitril (DAMN) (216 mg, 2 mmol). Směs se zahřívala na olejové lázni při 136 °C pod zpětným chladičem po dobu 7 hodin. Reakce byla kontrolována tenkovrstvou chromatografií s použitím toluenu jako mobilní fáze. Po vychladnutí došlo k vysrážení produktu, který se odfiltroval. Následně se suspendoval v methanolu za pomoci ultrazvuku, přefiltroval a promyl větším množstvím methanolu. Produkt byl dále přečištěn sloupcovou chromatografií s toluenem jako mobilní fází.

Výtěžek: 0,37 g (50 %)

Popis: fialovo-růžová pevná látka

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) 8,64 (s, 2H, CH); 7,94 (d, 4H, $J=8,6$ Hz, ArH); 7,05 (d, 4H, $J=9,0$ Hz, ArH); 3,16 (s, 12H, CH_3).

Signály v ^{13}C NMR nebyly detekovány, zřejmě díky špatné rozpustnosti.

t.t. 285-287 °C za rozkladu.

Pozn.:

Reakce byla zkoušena i za pokojové teploty. Výchozí látky se míchaly 2 dny. Produkt vznikal, ale pouze v malém množství.

5.2 Pokusy o cyklotetramerizaci

***N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitrilu**

Metoda 1: cyklotetramerizace s butanolátem hořečnatým

K hořčíku (22 mg, 0,9 mmol) byl přidán bezvodý butanol (5 ml) a malý krystalek jódu. Směs se zahřívala na olejové lázni při 135 °C pod zpětných chladičem. Po dokončení reakce hořčíku s butanolem (přibližně 3-4 hodiny) se přidala látka **1** (50 mg, 0,1 mmol) a reakce probíhala dále při stejné teplotě po dobu 7 hodin.

Metoda 2: cyklotetramerizace s octanem zinečnatým v chinolinu

Do baňky se navázila látka **1** (50 mg, 0,1 mmol), přidal se bezvodý octan zinečnatý (24,7 mg, 0,35 mmol) a čerstvě predestilovaný chinolin (1,5 ml). Směs se zahřívala na lázni při 160 °C pod zpětným chladičem po dobu 7 hodin.

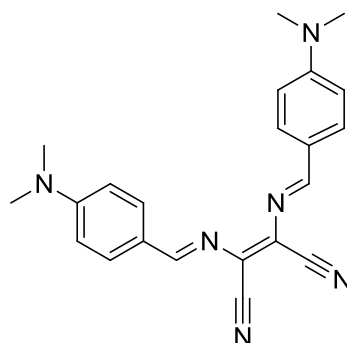
Metoda 3: cyklotetramerizace s octanem zinečnatým v *N,N*-dimethylformamidu

Látka **1** (50 mg, 0,1 mmol) se smísila s bezvodým octanem zinečnatým (24,7 mg, 0,35 mmol), přidal se bezvodý *N,N*-dimethylformamid (1,5 ml) a směs se zahřívala na olejové lázni při 160 °C pod zpětným chladičem po dobu 7 hodin.

Průběh všech tří reakcí byl monitorován odebráním vzorků z reakční směsi, naředěním do pyridinu a změřením absorpčních spekter. Ani v jednom případě se neobjevil absorpční pás v očekávané oblasti nad 600 nm.

5.3 Příprava

N,N-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]maleonitrilu (2)



Směs 4-dimethylaminobenzaldehydu (1402 mg, 9,4 mmol), DAMN (233 mg, 2,2 mmol), P₂O₅ (568 mg, 4 mmol) a hexamethylfosforamidu (12 ml) byla zahřívána pod zpětným chladičem při 55 °C. Přičemž každé 2 hodiny se přidal další P₂O₅ (124 mg, 0,9 mmol). Po 6-ti hodinách se reakce nalila do destilované vody (100 ml) s 25% roztokem amoniaku (5 ml) a směs se nechala míchat ještě 1 hodinu při laboratorní teplotě. Následně se vysrážený produkt odfiltraval a promyl vodou a isopropanolem. Produkt byl nakonec přečištěn sloupcovou chromatografií s použitím toluenu jako mobilní fáze.

Výtěžek: 500 mg (63,6 %)

Popis: fialovo-růžová pevná látka

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 8,56 (s, 2H, CH); 7,89 (d, 4H, J=8,8 Hz, ArH); 6,75 (d, 4H, J=9,1 Hz, ArH); 3,13 (s, 12H, CH₃).

Signály v ¹³C NMR nebyly detekovány, zřejmě díky špatné rozpustnosti.

t.t. 140 °C za rozkladu.

Pozn.:

Při čištění produktu krystalizací z isopropanolu za horka byla na TLC pozorována konverze na dvojně vazbě a část *cis* izomeru se změnila na *trans* izomer.

5.4 Pokusy o cyklotetramerizaci

N,N-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]maleonitrilu

Metoda 1: cyklotetramerizace s butanolátem hořečnatým

K hořčíku (22 mg, 0,9 mmol) byl přidán bezvodý butanol (5 ml) a malý krystalek jódu. Směs se zahřívala na olejové lázni při 135 °C pod zpětných chladičem. Po dokončení reakce hořčíku s butanolem (přibližně 3-4 hodiny) se přidala látka **2** (50 mg, 0,1 mmol) a reakce probíhala dále při stejné teplotě po dobu 7 hodin.

Metoda 2: cyklotetramerizace s octanem zinečnatým v chinolinu

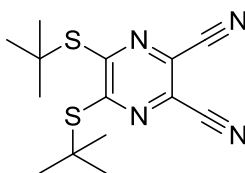
Do baňky se navážila látka **2** (25 mg, 0,07 mmol), přidal se bezvodý octan zinečnatý (12,4 mg, 0,17 mmol) a čerstvě předestilovaný chinolin (1,5 ml). Směs se zahřívala na lázni při 160 °C pod zpětným chladičem po dobu 7 hodin.

Metoda 3: cyklotetramerizace s chloridem bis(chinolináto) zinečnatým

Směs složená z látky **2** (25 mg, 0,07 mmol) a $Zn(chinolin)_2Cl_2$ (27 mg, 0,06 mmol) byla zhomogenizována v třence, nasypána do destilační baňky a zahřívána horkovzdušnou pistolí při teplotě 260 °C po dobu 10 min. Po ochlazení byla směs extrahována do pyridinu a bylo změřeno absorpční spektrum.

Průběh všech tří reakcí byl monitorován odebráním vzorků z reakční směsi, naředěním do pyridinu a změřením absorpčních spekter. Ani v jednom případě se neobjevil absorpční pás v očekávané oblasti nad 600 nm.

5.5 Příprava 5,6-bis(*tert*-butylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (**3**)



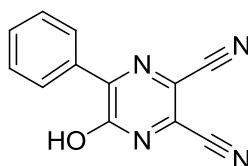
Do baňky se k 1M vodnému roztoku NaOH (69 ml, 69 mmol) přidal 2,2-dimethylpropan-1-thiol (8 ml, 0,2 mmol) a směs se míchala za laboratorní teploty přibližně 15 min. Následně se ke směsi přidal roztok 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (6 g, 30 mmol) v THF (160 ml) a směs se míchala za laboratorní teploty 30 min. Po ukončení reakce se oddělily dvě fáze. Organická fáze se oddělila a vodná fáze se vytřepala ethyl-acetátem. Organické fáze se spojily, vysušily pomocí Na₂SO₄ a následně přefiltrovaly. Rozpouštědlo bylo odpařeno pomocí vakuové rotační odparky. Produkt byl překrytalizován z methanolu a matečné louhy následně ještě přečištěny sloupcovou chromatografií, kde jako mobilní fáze byl použit toluen.

Látka **3** byla již dříve na katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv na FaF UK připravena³³. Látka byla porovnána se standardem na TLC v toluenu.

Výtěžek: 8.3 g (90 %)

Popis: žluté krystaly

5.6 Příprava 5-fenyl-6-hydroxypyrazin-2,3-dikarbonitrilu (4)



DAMN (5,4 g, 0,05 mol) se rozpustil v methanolu (120 ml), pak se přidala kyselina benzoylglyoxalová (7,5 g, 0,05 mol) a následně 15% kyselina chlorovodíková (20 ml). Reakce probíhala za stálého míchání po dobu 1 hodiny při laboratorní teplotě. Průběh reakce byl kontrolován tenkovrstvou chromatografií za použití ethyl-acetátu jako mobilní fáze. Po uplynutí reakční doby se přidala horká destilovaná voda (60 ml) a odpařil se metanol. Po zchlazení na teplotu přibližně 3-5 °C došlo k vysrážení produktu, který se zfiltroval a vysušil.

Reakce byla prováděna dle již publikovaného postupu dle Nakamury²⁸.

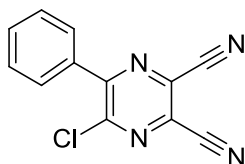
Výtěžek: 10,6 g (96 %)

Popis: bílá krystalická látka

¹³C NMR (aceton-d₆, 75 MHz) δ (ppm) 158,0; 134,3; 132,5; 130,5; 129,3; 115,0; 113,5.

¹H NMR (aceton-d₆, 300 MHz) δ (ppm) 8,31-8,26 (m, 2H, ArH); 7,63-7,51 (m, 3H, ArH); signál OH skupiny nedetekován.

5.7 Příprava 5-fenyl-6-chlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (5)



5-fenyl-6-hydroxy-pyrazin-2,3-dikarbonitril (10,6 g, 0,03 mol) se přidal k chloridu fosforylu (17,9 ml) a reakční směs se zchladila se na 0 °C. Poté byl do této

směsi pomalu přikapáván bezvodý pyridin (5,4 ml). Po skončení exotermní reakce byla reakční směs za stálého míchání zahřívána 1 hod. při 90 °C pod zpětným chladičem. Následně se přebytečný chlorid fosforylu se odpařil na vakuové odparce. Vznikl černý olejovitý produkt, který po přidání vody a intenzivním promíchání ztuhnul na hnědošedou pevnou látku. Produkt byl ze stěn baňky seškrábán, následně se odfiltroval a promyl malým množstvím směsi methanol/voda 1:1. Po filtraci na Büchnerově nálevce a vysušení se produkt rozpustil v acetonu. Na dně baňky zůstaly černé usazeniny, které byly dekantovány a pak se ještě několikrát promyly acetonem. Po odpaření acetonu na vakuové odparce se produkt rozpustil v chloroformu a vytřepal (celkem 2×) s vodou. Chloroformová část se vysušila (Na_2SO_4), odpařila a produkt se překrystalizoval z ethanolu.

Reakce byla prováděna dle již publikovaného postupu dle Nakamury.²⁸

Výtěžek: 6,3 g (54,8%)

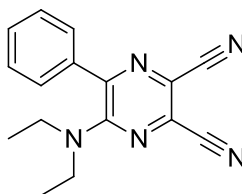
Popis: naředlá krystalická látka

t.t. 138,3-139,2 °C (ethanol), lit.²⁸: 139-141 °C (benzen).

¹³C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm) 156,8; 150,1; 132,7; 132,2; 130,7; 129,9; 129,4; 128,8; 112,3; 111,9

¹H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) 7,96-7,89 (m, 2H, ArH); 7,68-7,54 (m, 3H, ArH).

5.8 Příprava 5-diethylamino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (6)



Do baňky s míchadlem se navázil 5-fenyl-6-chlor-pyrazin-2,3-dikarbonitril (481,2 mg, 2 mmol), přidal se THF (40 ml) a diethylamin (0,6 ml, 6 mmol) a nechalo se míchat na elektromagnetické míchačce 2 hodiny za pokojové teploty. Vzniklá sůl hydrochlorid diethylaminu se odfiltrovala a promyla tetrahydrofuranem.

Tetrahydrofuran se odpařil a oranžový produkt olejovité konzistence se následně překrytalizoval z methanolu. Matečný louh byl poté ještě přečištěn sloupcovou chromatografií s mobilní fází benzín/ethyl-acetát 4:1.

Reakce byla prováděna dle již publikovaného postupu dle Fukunaga.²⁹

Výtěžek: 548 mg (99 %)

Popis: žlutá krystalická látka

t.t. 104,7-105 °C (methanol), litChyba! Záložka není definována.. 107-108 °C (cyklohexan).

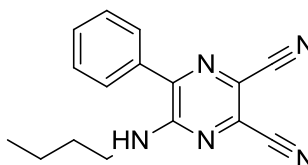
¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm) 152,1; 143,5; 137,3; 130,3; 129,0; 128,1; 127,2; 118,9; 114,5; 113,8; 44,5; 12,4.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 7,63-7,56 (m, 2H, ArH); 7,52-7,45 (m, 3H, ArH); 3,41(q, 4H, J=7,1 Hz, CH₂N); 1,08 (t, 6H, J=7,1 Hz, CH₃).

IČ (ATR) ν (cm⁻¹) 2979; 2938 (alifCH); 2222 (CN); 1531; 1490; 1465; 1444; 1400; 1369; 1305; 1271; 1189; 1147; 1118; 1076; 1036; 1018; 988.

Elem. analýza: vypočítáno pro C₁₆H₁₅N₅: C 69,29; H 5,45; N 25,25; nalezeno: C 69,11; H 5,68; N 25,31.

5.9 Příprava 5-butylamino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (7)



Do baňky s míchadlem se navázil 5-fenyl-6-chlor-pyrazin-2,3-dikarbonitril (481,2 mg, 2 mmol), přidal se THF (40 ml) a butylamin (0,5 ml, 5 mmol) a nechalo míchat na elektromagnetické míchačce 2 hodiny za pokojové teploty. Vzniklá sůl hydrochloryd butylaminu se odfiltrovala a produkt promyl tetrahydrofuranem. Tetrahydrofuran se odpařil a oranžový produkt olejovité konzistence se následně překrytalizoval z methanolu a matečný louh se dále přečistil sloupcovou chromatografií s mobilní fází benzín/etyl-acetát 4:1.

Výtěžek: 165 mg (90 %)

Popis: žlutá krystalická látka

t.t. 138,9-139,8 °C (methanol).

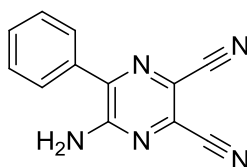
^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm) 151,9; 145,4; 133,5; 131,2; 131,1; 129,8; 127,9; 119,5; 114,5; 113,9; 41,6; 30,6; 20,1; 13,7.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm) 7,67-7,55 (m, 5H, ArH); 5,91 (bs, 1H, NH); 3,54-3,43 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$); 1,66-1,53 (m, 2H, CH_2); 1,38 (sext, 2H, $J=7,2$ Hz, CH_2); 0,95 (t; 3H, $J=7,3$ Hz, CH_3).

IČ (ATR) ν (cm^{-1}) 3430 (NH); 2952; 2859 (alifCH); 2228 (CN); 1564; 1507; 1450; 1412; 1393; 1359; 1331; 1275; 1232; 1187; 1116; 1079; 1006.

Elem. analýza: vypočítáno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_5$: C 69,29; H 5,45; N 25,25; nalezeno: C 69,29; H 5,55; N 25,47.

5.10 Příprava 5-amino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (8)



5-Fenyl-6-chlor-pyrazin-2,3-dikarbonitril (2 g, 8,3 mmol) byl navážen do baňky s míchadlem a rozpuštěn v THF (150 ml). Do roztoku se následně přidal 25% vodný roztok amoniaku (3,7 ml, 0,05 mol) a nechalo se míchat na elektromagnetické míchače 4 hodiny za pokojové teploty. Po ukončení reakce se vzniklá sůl (chlorid amonný) odfiltrovala a rozpouštědla se odpařila na vakuové rotační odparce. Produkt, který byl následně ještě promyt vodou, se rozpustil za horka v ethanolu, a přidáním studené vody se nechal vykrystalizovat.

Výtěžek: 1,4 g (76 %)

Popis: žlutá krystalická látka

t.t. 162,4-163,1 °C (ethanol-voda), lit **Chyba! Záložka není definována.** 166-167 °C.

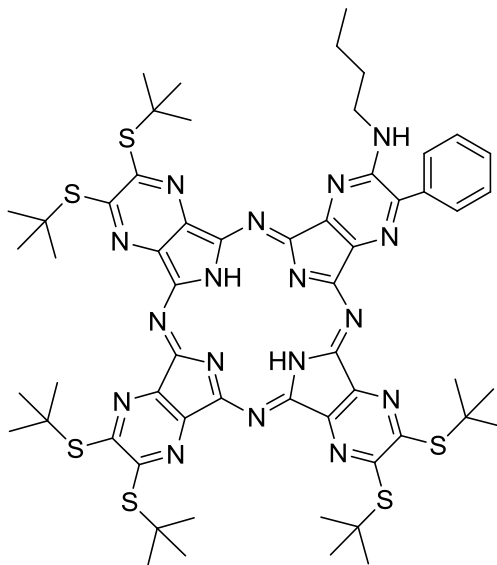
^{13}C NMR (aceton- d_6 , 75 MHz) δ (ppm). 154,9; 145,7; 135,4; 131,8; 131,4; 129,9; 129,0; 120,7; 115,7; 115,0.

^1H NMR (aceton- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 7,82-7,74 (m, 2H, ArH); 7,60-7,52 (m, 3H, ArH); 7,33 (bs, 2H, NH_2).

IČ (ATR) ν (cm^{-1}) 3460; 3340 (NH_2); 3210 (aromCH); 2228 (CN); 1621; 1529; 1458; 1445; 1406; 1324; 1278; 1241; 1184; 1133; 1080; 1003.

Elem. analýza: vypočítáno pro $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{N}_5$: C 65,15; H 3,19; N 31,66; nalezeno: C 64,93; H 3,33; N 31,41.

5.11 Příprava 2-butylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (9)



Do baňky s butanolem (50 ml) byl navážen hořčík (873 mg, 35,9 mmol) a přidáno zrníčko jodu. Takto připravená směs byla míchána pod zpětným chladičem se sušící rourkou až do úplného zreagování hořčíku, tedy do vytvoření butanolátu hořečnatého (přibližně 3-4 hodiny). Následně se přidala látka **7** (360 mg, 1,3 mmol) a látka **3** (1,2 g, 3,9 mmol) a směs se nechala míchat při 130 °C po dobu 16 hodin. Po ukončení reakce byl butanol odpařen a k produktu byla přidána předem připravená 50% CH₃COOH, do které byl produkt seškrábán ze stěn baňky. Po 5 min. míchání na elektromagnetické míchačce byl zelený produkt odfiltrován na fritě. Směs hořečnatých kongenerů byla dále převedena na bezkovové deriváty. Kyselina *p*-toluensulfonová (2,5 g, 13,1 mmol) se rozpustila v THF (30 ml). Takto připravený roztok byl pomalu po stěně baňky přidán k produktu rozpuštěného v chloroformu (70 ml), který se pak míchal při laboratorní teplotě 30 minut. Po ukončení míchání byl THF odpařen a do baňky nalita destilovaná voda, do které byl produkt seškrábán a následně odsán na fritě. Látka **8** byla celkem 3× čištěna sloupcovou chromatografií směsí toluen/chloroform/ethylacetát v poměru 20:10:1 a 2× směsí toluen/chloroform/tetrahydrofuran v poměru 25:8:1.

Výtěžek: 144,2 mg (9,77 %)

Popis: tmavě zelená pevná látka

^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 75 MHz) δ (ppm) 159,1; 159,0; 158,8; 158,3; 157,54; 157,47; 154,0; 136,5; 129,2; 128,7; 128,4; 51,0; 50,9; 50,6; 50,5; 41,2; 30,8; 30,15; 30,11; 29,94; 29,86; 20,0; 13,5; některé aromatické signály AzaPc jádra nebyly detekovány.

^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 300 MHz) δ (ppm) 12,76 (bs, 2H, centrNH); 7,89 (d, 2H, $J=7,0$ Hz, ArH-2); 7,41 (t, 2H, $J=7,2$ Hz, ArH-3); 7,32 (d, 1H, $J=7,3$ Hz, ArH-4); 6,55 (t, 1H, $J=5,7$ Hz, NH); 3,89-3,78 (m, 2H, CH_2NH) 1,92-1,82 (m, 47H, CCH_3+CH_2); 1,74 (s, 9H, CCH_3); 1,43 (sext, 2H, $J=7,4$ Hz, CH_2); 0,89 (t, 3H, $J=7,4$ Hz, CH_3).

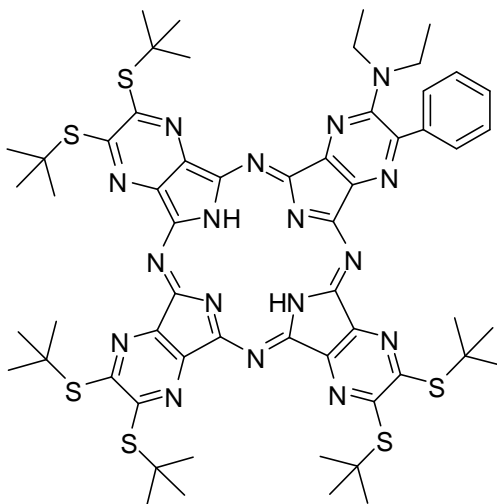
IČ (ATR) ν (cm^{-1}) 3441 (sekNH); 3300 (centrNH); 2960; 2920 (alifCH); 1515; 1476; 1452; 1391; 1362; 1312; 1280; 1231; 1140; 1078; 1021; 967.

Elem. analýza: vypočítáno pro $\text{C}_{58}\text{H}_{71}\text{N}_{17}\text{S}_6+1\text{H}_2\text{O}$: C 57,25; H 6,05; N 19,57; S 15,81; nalezeno: C 57,54; H 5,87; N 19,00; S 15,02.

UV-vis (THF, 1 μM) λ (ϵ) 674 (127100); 651 (110000); 617 (39800); 474 (56200); 367 (126400)

MS (MALDI-TOF) m/z 1197,38 $[\text{M}]^+$; vypočítáno pro $\text{C}_{58}\text{H}_{71}\text{N}_{17}\text{S}_6$: 1197,44.

5.12 Příprava 2-diethylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (10)



Do baňky s butanolem (50 ml) se navázil hořčík (873 mg, 35,9 mmol) a přidalo se zrníčko jodu. Směs byla míchána pod zpětným chladičem se sušící rourkou až do vytvoření butanolátu hořečnatého. Následně se přidala látka **6** (360 mg, 1,3 mmol) a látka **3** (1,2 g, 3,9 mmol) a nechalo se míchat při 130 °C po dobu 16 hodin. Po ukončení reakce byl butanol odpařen a k produktu byla přidána předem připravená 50% CH₃COOH, do které byl produkt seškrábán ze stěn baňky. Po 5 min míchání na elektromagnetické míchačce byl zelený produkt odfiltrován na fritě. Směs hořečnatých kongenerů byla dále převedena na bezkovové deriváty. Předem připravený roztok kyseliny *p*-toluensulfonové (2,5 g, 13,1 mmol) v THF (30 ml) byl pomalu po stěně baňky přidán k produktu rozpuštěném v chloroformu (70 ml), který se pak míchal při pokojové teplotě 30 minut. Po ukončení míchání byl THF odpařen a do baňky nalita destilovaná voda, do které byl produkt seškrábán a následně odsán na fritě. Látka **9** byla celkem 3× čištěna sloupcovou chromatografií směsí toluen/chloroform/ethyl-acetát v poměru 20:10:1 a 2× směsí toluen/chloroform/tetrahydrofuran v poměru 25:8:0,5.

Výtěžek: 117,9 mg (7,6 %)

Popis: tmavě zelená pevná látka

¹H NMR (CDCl₃/pyridin-d₅, 300 MHz) δ (ppm) 13,01 (bs, 2H, centrNH); 8,01 (d, 2H, J=7,5 Hz, ArH-2); 7,40 (t, 2H, J=7,5 Hz, ArH-3); 7,30 (d, 1H, J=7,3, ArH-4); 3,60 (q, 4H, J=6,9 Hz, CH₂); 1,90 (s, 9H, CCH₃); 1,85 (s, 36H, CCH₃); 1,81 (s, 9H, CCH₃); 1,16 (t, 6H, J=7,0 Hz, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃/pyridin-d₅, 75 MHz) δ (ppm) 159,2; 158,9; 158,8; 158,7; 158,1; 156,0; 146,6; 140,0; 128,6; 128,2; 127,4; 50,98; 50,94; 50,78; 50,69; 44,8; 30,12; 29,99; 29,85; 12,5, některé aromatické signály AzaPc jádra nebyly detekovány.

IČ (ATR) ν (cm⁻¹) 3298 (centrNH); 2962; 2918 (alifCH); 1519; 1495; 1444; 1421; 1362; 1314; 1281; 1232; 1139; 1079; 1015; 969.

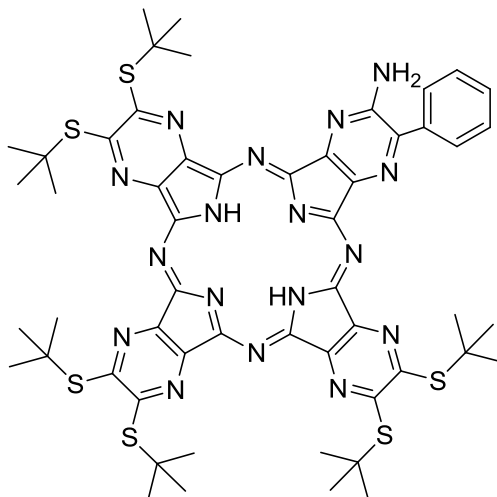
Elem. analýza: vypočítáno pro C₅₈H₇₁N₁₇S₆+1H₂O: C 57,25; H 6,05; N 19,57; S 15,81; nalezeno: C 57,11; H 5,96; N 19,02; S 15,83.

UV-vis (THF, 1 μM) λ (ε) 675 (124200); 652 (95200); 621 (41000); 478 (52800); 367 (119800).

MS (MALDI-TOF) m/z 1197,41 [M]⁺; vypočítáno pro C₅₈H₇₁N₁₇S₆: 1197,44.

5.13 Příprava

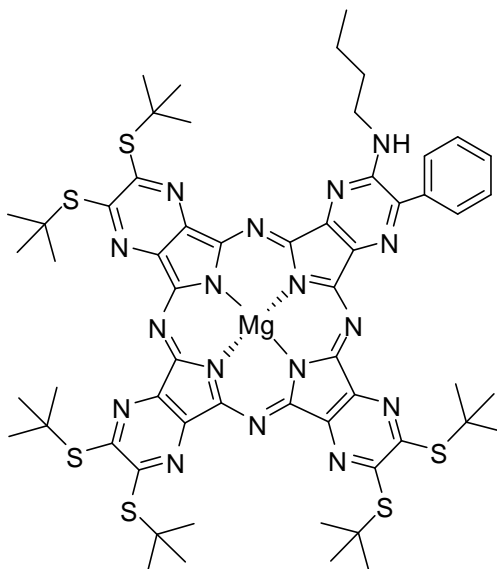
2-amino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (11)



Do baňky s butanolem (5 ml) se navázil hořík (68 mg, 2,8 mmol) a přidalo se zrníčko jodu. Směs byla míchána pod zpětným chladičem se sušící rourkou až do vytvoření butanolátu hořečnatého. Následně se přidala látka **8** (22 mg, 0,1 mmol) a látka **3** (92 mg, 0,3 mmol) a nechalo se míchat při 130 °C po dobu 16 hodin. Po ukončení reakce byl butanol odpařen a k produktu byla přidána předem připravená 50% CH₃COOH, do které byl produkt seškrábán ze stěn baňky. Po 5 min. míchání na elektromagnetické míchačce byl zelený produkt odfiltrován na fritě. Směs hořečnatých kongenerů byla dále převedena na bezkovové deriváty. Předem připravený roztok kyseliny *p*-toluensulfonové (190 mg, 1 mmol) v THF (5 ml) byl pomalu po stěně baňky přidán k produktu rozpuštěného v chloroformu (15 ml), který se pak míchal při pokojové teplotě 30 minut. Po ukončení míchání byl THF odpařen a do baňky nalita destilovaná voda, do které byl produkt seškrábán a následně odsán na fritě.

Látka byla analyzována pomocí TLC v různých soustavách, ale žádná nebyla ideální. Produkt se na desce táhl a nešel odseparovat od ostatních látek. Alespoň pro potvrzení zda produkt vůbec vzniká, se nanosil na desku (chloroform:toluen:THF 5:5:1) a po dokončení vyvíjení se z desky předpokládané frakce vyškrábaly. Po vyškrábání z chromatografické desky se látka **11** rozpustila v THF a přefiltrovala. Po odpaření THF byl produkt odeslán na MS analýzu, kde byla jeho struktura potvrzena. Bylo tedy zjištěno, že produkt v reakcích vzniká, ale nelze jej oddělit od ostatních látek.

5.14 Příprava 2-butylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninato hořečnatého komplexu (12)



V pyridinu (4 ml) se rozpustila látka **8** (30 mg, 0,025 mmol). K roztoku byl přidán bezvodý octan hořečnatý (35,6 mg, 0,25 mmol) a takto připravená směs se nechala míchat při 130 °C po dobu 1 hodiny pod zpětným chladičem. Po ukončení reakce se pyridin odpařil na vakuové rotační odparce a produkt byl promyt vodou a vysušen. Poté byl produkt rozpuštěn v chloroformu, přefiltrován a odpařen. Látka byla následně promyta methanolem.

Výtěžek: 28,1 mg (91,8 %)

Popis: tmavě zelená pevná látka

^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 100 MHz) δ (ppm) 158,1; 157,14; 157,06; 156,6; 153,4; 152,1; 150,8; 150,5; 149,9; 149,8; 149,7; 149,3; 149,1; 144,6; 144,3; 144,1; 144,0; 143,92; 143,86; 139,3; 136,9; 128,9; 128,6; 128,3; 50,52; 50,48; 50,45; 50,37; 50,36; 41,1; 30,8; 30,22; 30,18; 30,02; 29,97; 19,9; 13,4, některé aromatické signály AzaPc jádra nebyly detekovány.

^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 500 MHz) δ (ppm) 7,85 (d, 2H, $J=7,0$ Hz, ArH-2); 7,35 (t, 2H, $J=7,5$ Hz, ArH-3); 7,31-7,22 (m, 1H, ArH-4, překryto signálem

rozpouštědla); 6,15 (bs, 1H, NH); 3,79 (broad, 2H, CH_2NH); 1,95-1,78 (m, 45H, CCH_3); 1,78-1,63 (m, 11H, CCH_3+CH_2); 1,36 (broad, 2H, CH_2); 0,83 (t, 3H, $J=7,0$ Hz, CH_3).

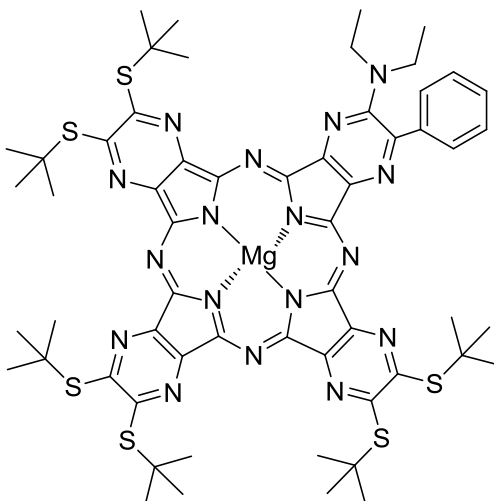
IČ (ATR) ν (cm^{-1}) 3438 (sekNH); 2960; 2921 (alifCH); 1519; 1477; 1392; 1362; 1249; 1143; 1095; 974.

Elem. analýza: vypočítáno pro $\text{C}_{58}\text{H}_{69}\text{MgN}_{17}\text{S}_6+3\text{H}_2\text{O}$: C 54,64; H 5,93; N 18,68; S 15,09; nalezeno: C 54,84; H 5,85; N 18,22; S 15,31.

UV-vis (THF, 1 μM) λ (ϵ) 658 (180500); 595 (34000); 382 (153800).

MS (MALDI-TOF) m/z 1219,31 $[\text{M}]^+$; 1242,29 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 1258,26 $[\text{M}+\text{K}]^+$; vypočítáno pro $\text{C}_{58}\text{H}_{69}\text{MgN}_{17}\text{S}_6$ 1219,41.

5.15 Příprava **2-diethylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninato hořečnatého komplexu (13)**



V pyridinu (4 ml) se rozpustila látka **9** (20 mg, 1,67 mmol). K roztoku byl přidán bezvodý octan hořečnatý (23,8 mg, 0,167 mmol). Směs se míchala při 130 °C 1 hodinu pod zpětným chladičem. Po ukončení reakce se pyridin odpařil na vakuové rotační odparce a produkt se promyl vodou a vysušil. Poté byl produkt rozpuštěn v chloroformu, přefiltrován a odpařen.

Výtěžek: 18,6 mg (91,3 %)

Popis: tmavě zelená pevná látka

^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 300 MHz) δ (ppm) 8,00 (d, 2H, $J=7,3$, ArH-2); 7,35 (t, 2H, $J=7,5$ Hz, ArH-3); 7,27-7,20 (m, 1H, ArH-4, překryto signálem rozpouštědla); 3,54 (q, 4H, $J=7,0$, CH_2); 1,94-1,84 (m, 45H, CCH_3); 1,81 (s, 9H, CCH_3); 1,09 (t, 6H, $J=7,0$ Hz, CH_3).

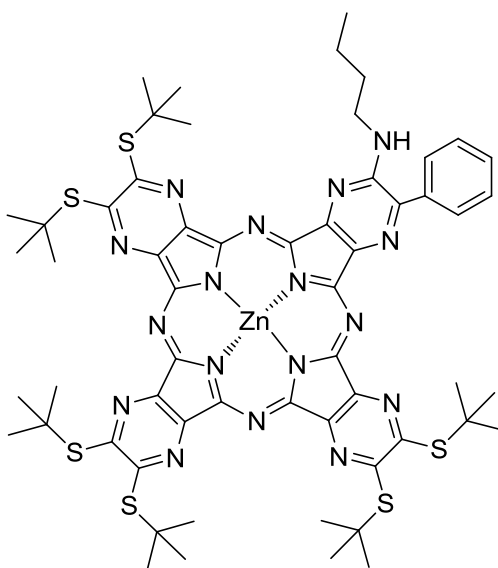
^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 75 MHz) δ (ppm) 158,1; 157,6; 157,1; 156,9; 156,7; 155,7; 151,6; 150,7; 150,3; 149,88; 149,85; 149,76; 149,4; 149,3; 147,8; 145,2; 144,6; 144,3; 144,2; 144,1; 144,02; 144,00; 141,3; 140,2; 128,3; 128,1; 127,3; 50,54; 50,52; 50,49; 50,39; 44,5; 30,3; 30,12; 30,02; 29,97; 12,5.

IČ (ATR) ν (cm^{-1}) 2961; 2921 (alifCH); 1515; 1453; 1425; 1362; 1250; 1143; 1093; 1035; 974.

UV-vis (THF, 1 μM) λ (ϵ) 655 (206800); 596 (35000); 382 (148100).

MS (MALDI-TOF) m/z 1219,30 $[\text{M}]^+$; 1242,28 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 1258,25 $[\text{M}+\text{K}]^+$; vypočítáno pro $\text{C}_{58}\text{H}_{69}\text{MgN}_{17}\text{S}_6$ 1219,41.

5.16 Příprava 2-butylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninato zinečnatého komplexu (14)



Látka **8** (30 mg, 0,025 mmol) se rozpustila v pyridinu (4 ml). K roztoku se přidal bezvodý octan zinečnatý (45,8 mg, 0,25 mmol) a reakce se nechala míchat při 130 °C po dobu 1 hodiny pod zpětným chladičem. Po ukončení reakce byl pyridin odpařen na vakuové odparce a produkt promyt destilovanou vodou.

Výtěžek: 20,3 mg (64,28 %)

Popis: tmavě zelená pevná látka

^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 75 MHz) δ (ppm) 158,4; 157,9; 157,5; 157,4; 157,1; 157,0; 153,6; 152,6; 151,2; 151,0; 150,4; 150,3; 150,2; 149,7; 149,5; 149,4; 144,2; 143,9; 143,8; 143,6; 143,51; 143,48; 139,0; 136,9; 128,9; 128,6; 128,3; 50,58; 50,55; 50,51; 50,46; 41,2; 30,8; 30,18; 30,15; 29,99; 29,94; 19,9; 13,4.

^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 300 MHz) δ (ppm) 7,84 (d, 2H, $J=7,1$ Hz, ArH-2); 7,36 (t, 2H, $J=7,3$ Hz, ArH-3); 7,31-7,22 (m, 1H, ArH-4, překryto signálem rozpouštědla); 6,23 (t, 1H, $J=5,5$ Hz, NH); 3,84 (q, 2H, $J=6,8$ Hz, CH_2NH); 1,92-1,83 (m, 45H, CCH_3); 1,77-1,66 (m, 11H, CCH_3+CH_2); 1,39 (sext, 2H, $J=7,4$ Hz, CH_2); 0,84 (t, 3H, $J=7,4$ Hz, CH_3).

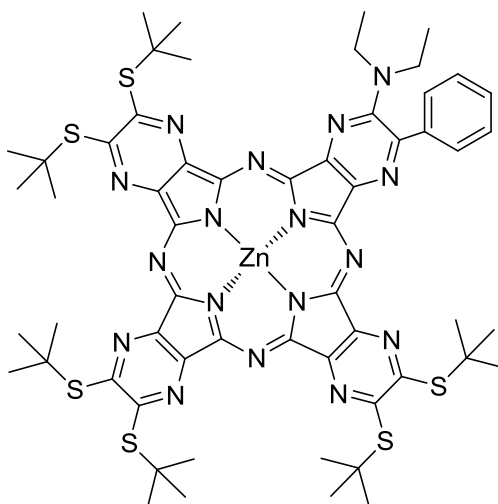
IČ (ATR) ν (cm^{-1}) 3438 (sekNH); 2959; 2922 (alifCH); 1519; 1477; 1391; 1362; 1315; 1248; 1143; 1097; 975.

Elem. analýza: vypočítáno pro $\text{C}_{58}\text{H}_{69}\text{N}_{17}\text{S}_6\text{Zn}+3\text{H}_2\text{O}$: C 52,93; H 5,74; N 18,09; S 14,62; nalezeno: C 52,99; H 5,57; N 17,73; S 14,80.

UV-vis (THF, 1 μM) λ (ϵ) 656 (160600); 593 (30800); 376 (130000).

MS (MALDI-TOF) m/z 1259,23 $[\text{M}]^+$; 1282,22 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 1289,19 $[\text{M}+\text{K}]^+$; vypočítáno pro $\text{C}_{58}\text{H}_{69}\text{N}_{17}\text{S}_6\text{Zn}$: 1259,35.

5.17 Příprava 2-diethylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninato zinečnatého komplexu (15)



Látka **9** (20 mg, 0,0167 mmol) byla rozpuštěna v pyridinu (4 ml). K roztoku se přidal bezvodý octan zinečnatý (30,5 mg, 0,167 mmol) a reakce se míchala se při 130 °C po dobu 1,5 hodiny pod zpětným chladičem. Po ukončení reakce byl pyridin odpařen a produkt promyt destilovanou vodou.

Výtěžek: 16,7 mg (79,3 %)

Popis: tmavě zelená pevná látka

^{13}C NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 100 MHz) δ (ppm) 158,4; 157,9; 157,51; 157,45; 157,2; 157,1; 155,8; 152,1; 151,2; 150,8; 150,36; 150,33; 150,25; 149,9; 149,7; 147,4; 145,4; 144,1; 143,8; 143,7; 143,6; 143,5; 140,9; 140,1; 128,3; 128,1; 127,3; 50,59; 50,54; 50,45; 44,6; 30,2; 30,1; 29,98; 29,93; 12,5.

^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{pyridin-d}_5$, 500 MHz) δ (ppm) 8,01 (d, 2H, $J=7,2$ Hz, ArH-2); 7,36 (t, 2H, $J=7,2$ Hz, ArH-3); 7,32-7,22 (m, 1H, ArH-4, překryto signálem rozpouštědla); 3,60-3,49 (m, 4H, CH_2); 1,95-1,83 (m, 45H, CCH_3); 1,81 (s, 9H, CCH_3); 1,10 (t, 6H, $J=6,8$ Hz, CH_3).

IČ (ATR) ν (cm^{-1}) 2960; 2920 (alifCH); 1519; 1452; 1425; 1407; 1362; 1252; 1233; 1142; 1095; 1035; 975.

Elem. analýza: vypočítáno pro $C_{58}H_{69}N_{17}S_6Zn+2H_2O$: C 53,66; H 5,67; N 18,34; S 14,82; nalezeno: C 53,62; H 5,65; N 17,80; S 14,97.

UV-vis (THF, 1 μ M) λ (ϵ) 653 (207200); 594 (36600); 375 (142200).

MS (MALDI-TOF) m/z 1259,22 $[M]^+$; vypočítáno pro $C_{58}H_{69}N_{17}S_6Zn$: 1259,35.

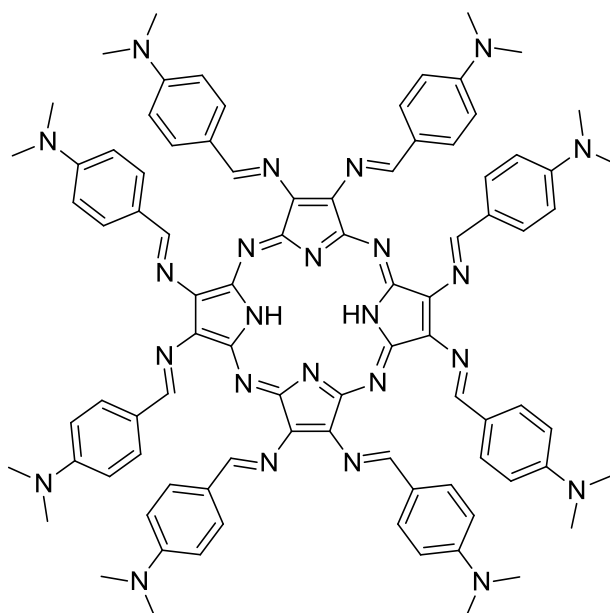
6 DISKUZE

Na počátku své diplomové práce jsem se zabývala syntézou látky vzešlé z kondenzace DAMN a 4-dimethylaminobenzaldehydu (Schéma 1), který byl na katedře izolován jako vedlejší produkt při jiných syntézách. Očekávalo se, že tato látka po cyklotetramerizaci poskytne zajímavý otevřený analog azaftalocyaninů (viz obrázek X). Po úspěšné kondenzaci jsem se pokusila tuto látku převést na požadovaný porfyrizin, ale žádná z použitých cyklotetramerizačních metod (cyklotetramerizace s butanolátem hořečnatým, s octanem zinečnatým v chinolinu a s octanem zinečnatým v *N,N*-dimethylformamidu) nebyla úspěšná. Po podrobnějším prostudování literatury jsme dospěli k závěru, že u naší metody syntézy vznikl *trans* izomer, přesněji *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitril (**1**). Jak bylo popsáno v literatuře³⁰ pro vyšší homolog obsahující periferně vázanou *N,N*-diethylamino skupinu dochází při reakci benzaldehydů s DAMN v prostředí kyseliny octové ke vzniku právě *trans* izomeru. *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitril byl fialovo-růžové barvy a velice špatně, i když většinou alespoň částečně, se rozpouštěl prakticky ve všech organických rozpouštědlech. Tato špatná rozpustnost se pak odrážela mj. i na laboratorním skle, které se nesnadno umývalo. Problémy se také objevily při čištění, kdy docházelo k výrazným ztrátám při sloupcové chromatografii. Tento prekurzor byl díky špatné rozpustnosti charakterizován pouze ¹H NMR spektrem, ale konfigurace na centrální dvojné vazbě nemohla být jednoznačně potvrzena.

V literatuře jsem následně objevila patentovanou metodu³⁰ pro přípravu *cis*-izomeru, čili *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]maleonitrilu (**2**). Při syntéze tohoto prekurzoru byl použit 4-dimethylaminobenzaldehyd a DAMN v prostředí hexamethylfosforamidu a reakce posunuta směrem k produktům za použití dehydratačního činidla P₂O₅. Látka **2** se svými vlastnostmi výrazně lišila od *trans* izomeru **1**, zejména lepší rozpustností, jinými R_f hodnotami na TLC a teplotou tání. I zde nebylo možné jednoznačné určení konfigurace na centrální dvojné vazbě pomocí ¹H NMR. Chemické posuny byly nepatrně jiné než u látky **1**, ale neumožnili jednoznačné přiřazení konfigurace na dvojné vazbě. Uváděná izomerie látky **1** a **2** je pouze předpokládána a nebyla v mé diplomové práci jednoznačně stanovená díky nedostupnosti vhodných metod. Můj závěr vyplývá pouze z porovnání teplot tání s dříve

připravenými vyššími homology (ethyl místo methylu na anilinu), kde konfigurace byla zjištěna pomocí měření dipólového momentu. V této práci měl *trans* izomer výrazně vyšší teplotu tání.

Tento prekurzor jsem také zkoušela podrobit cyklotetramerizačním reakcím (cyklotetramerizace s butanolátem hořečnatým, s octanem zinečnatým v chinolinu a s octanem zinečnatým v *N,N*-dimethylformamidu). Ani tyto cyklotetramerizační reakce se ovšem nezdařily.



1,2,6,7,11,12,16,17-oktakis-[(4dimethylamino)benzylideno]porfyrizin

I když se tato práce zdála velice zajímavá, reakce nevyšly, a proto jsem se rozhodla vydat jiným směrem.

Začala jsem se v další části své práce zabývat azaftalocyaniny substituovanými jednou aminoskupinou a jejím vlivem na intramolekulární přenos náboje. Tento proces v azaftalocyaninech je kompetitivní k fluorescenci i produkci singletového kyslíku a může vést k vývoji zhášečů fluorescence³¹ anebo azaftalocyaninů se senzorickejšími vlastnostmi³². Mým úkolem bylo připravit nesymetrické azaftalocyaniny obsahující jedno donorové centrum, které bylo součástí sekundární nebo terciární aminoskupiny. Nejprve jsem si musela připravit výchozí látky pro cyklotetramerizační reakce (Schémata 2 a 3).

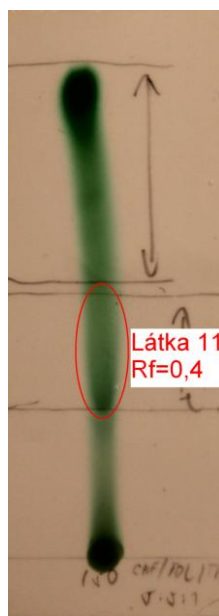
5-Fenyl-6-hydroxypyrazin-2,3-dikarbonitril (**4**) vznikal kondenzací diaminomaleonitrilu a kyseliny benzoylglyoxalové v prostředí 15% HCl. Hydroxylovou skupinu v látce **4** jsem následně substituovala halogenem pomocí chloridu fosforylu v prostředí pyridinu na chlor derivát **5**. Halogen deriváty pyrazinu a především pak pyrazin-2,3-dikarbonitrilů jsou obecně velmi náchylné k nukleofilní substituci. Dalším krokem proto byla nukleofilní substituce látky **5** přebytkem diethylaminu (v případě látky **6**), butylaminu (v případě látky **7**) nebo amoniaku (látka **8**). Při přípravě těchto prekurzorů se nevyskytli žádné obtíže, nukleofilní substituce probíhaly velmi dobře s vysokými výtěžky.

Další prekurzor pro cyklotetramerizaci, 5,6-bis(*tert*-butylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitril (**3**), byl již v minulosti na katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv na FaF UK připraven a je používán naprosto běžně. Já jsem postupem již dříve publikovaným³³ připravila tuto látku znova ve větším množství.

Cyklotetramerizaci prekurzoru **3** s prekurzorem **6**, **7**, nebo **8** jsem prováděla metodou statistické kondenzace za použití butanolátu hořečnatého jako iniciátoru reakce (Schéma 4). Touto metodou vzniká ze dvou odlišných prekurzorů šest různých molekul. Mým cílem bylo připravit a izolovat jeden kongener typu AAAB. Pro zvýšení zastoupení tohoto kongeneru ve směsi jsem upravila molární poměr výchozích látek na 3:1 (látka **3** : látka **6**, **7**, nebo **8**). Jelikož cyklotetramerizace probíhala v přítomnosti hořečnatých iontů, vznikal hořečnatý komplex. Bohužel, při pokusu najít vhodnou mobilní fázi pro separaci jednotlivých kongenerů, jsem zjistila, že ve všech zkoumaných fázích se produkty výrazně táhly na TLC a jednotlivé kongenery se překrývaly. Proto separace ve formě hořečnatých komplexů nebyla možná. V předchozích studiích na azaftalocyaninech bylo zjištěno, že u bezkovových derivátů se tento problém nevyskytuje³⁴, proto jsem se pokusila tento centrální kationt odstranit. Hořečnaté ionty (kov alkalických zemin) jsou v centru molekuly vázány o něco silněji než ionty alkalických kovů (např. lithné), proto bylo nutné použít silnější kyselinu, v mém případě jsem použila kyselinu *p*-toluensulfonovou. Takto odkovené produkty jsem separovala a čistila sloupcovou chromatografií. Čistily se velice špatně a bylo zapotřebí několika opakovaných sloupcových chromatografií pro získání čistého produktu.

Problémy se ale vyskytly u látky **11**. Nejprve jsem se domnívala, že tento produkt při cyklotetramerizaci nevznikal, proto neuvádím ani výtěžky. Později jsem se

k této látce vrátila a po provedené hmotnostní analýze vzorku vyškrábaného z TLC desky (viz obrázek X) jsem zjistila, že látka **11** vznikala. Bohužel i po odkovení se na TLC produkt táhl ($R_f \sim 0,4$), byl výrazně překryt jinými látkami a bylo zřejmé, že nebude možné jej vyizolovat v čistém stavu. Jako mobilní fázi jsem zkoušela chloroform/toluen/THF 5:5:1 a chloroform/THF 5:1.



Obr. X (mobilní fáze: chloroform/toluen/THF 5:5:1)

Jelikož se mi látka **11** nepodařila na TLC odseparovat od nečistot, ve své diplomové práci jsem již pokračovala pouze s látkami **9** a **10**.

Do izolovaného požadovaného bezkovového produktu (látky **9** a **10**) jsem pak znovu chelatovala hořečnaté a zinečnaté ionty pomocí bezvodého octanu hořečnatého a octanu zinečnatého v pyridinu. Získané látky budou dále podrobeny fotofyzikálním a fotochemickým měřením (kvantové výtěžky fluorescence a singletového kyslíku) společně s dalšími látkami (až budou dosyntetizovány) obsahujícími periferně vázané arylamino, heteroarylamino a aminoalkylsulfanyl substituenty. Ze studie se očekávají informace o vlivu elektronové hustoty a vzdálenosti donorového centra na intramolekulární přenos náboje.

7 ZÁVĚR

Na počátku mé diplomové práce jsem si připravila již v literatuře popsané prekurzory:

- *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]fumaronitril (**1**)
- *N,N*-bis[(4-dimethylamino)benzylidenamino]maleonitril (**2**)

Mým cílem bylo připravit z těchto prekurzorů cyklotetramerizačními reakcemi 1,2,6,7,11,12,16,17-oktakis-[(4dimethylamino)benzylidenamino]porfyrizin. Syntéza se nezdařila, a proto jsem se v další části mé diplomové práce začala zabývat syntézou asymetrických ftalocyaninů obsahující ve své molekule jednu aminoskupinu.

V rámci další části mé práce jsem si připravila prekurzory:

- 5,6-bis(*tert*-butylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitril (**3**)
- 5-diethylamino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitril (**6**)
- 5-butylamino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitril (**7**)
- 5-amino-6-fenylpyrazin-2,3-dikarbonitril (**8**)

Poslední tři jmenované prekurzory jsem získala syntézou z 5-fenyl-6-chlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu (**5**), který jsem připravila z 5-fenyl-6-hydroxypyrazin-2,3-dikarbonitrilu (**4**).

Cyklotetramerizací látky **3** s prekurzory **6**, **7**, **8** jsem získala:

- 2-butylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyanin (**9**)
- 2-diethylamino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyanin (**10**) a jejich hořečnaté (**12**, **13**) a zinečnaté (**14,15**) komplexy.

- 2-amino-3-fenyl-9,10,16,17,23,24-hexakis(*tert*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyanin (**11**) vznikal, ale nešel odseparovat od ostatních látek.

8 LITERATURA

¹ ROBERTSON C. A., EVANS D. H., ABRAHAMSE H. Photodynamic therapy (PDT): A short review on cellular mechanisms and research applications for PDT. *J. Photochem. Photobiol., B*. 2009, vol. 96, p. 1–8.

² MITTON D., ACKROYD R. A brief overview of photodynamic therapy in Europe. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2008, vol. 5, p. 103–111.

³ ZIMČÍK P., MILETÍN M. Fotodynamická terapie jako nová perspektivní metoda léčby nádorových onemocnění. I. historie, základní princip. *Ceska Slov. Farm.* 2004, vol. 5, p. 219–224.

⁴ ALLISON R. R., DOWNIE G. H., CUENCA R., HU X., CHILDS C. JH., SIBATA C. H. Photosensitisers in clinical PDT. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2004, vol. 1, p. 27–42.

⁵ RYCHTARIKOVA R., KUNCOVA G. Imobilizované fotosenzitizátory singletového kyslíku a jejich účinek na mikroorganismy. *Chem. Listy*. 2009, 800-813.

⁶ ALLISON R. R., SIBATA C. H. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2010, vol. 7, p. 61-75.

⁷ JORI G. Tumor photosensitisers: approaches to enhance the selectivity and efficiency of photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol., B*. 1996, vol. 36, p. 87–93.

⁸ ZIMČÍK P., MILETÍN M. Fotodynamická terapie jako nová perspektivní metoda léčby nádorových onemocnění I. přehled fotosenzitizérů. *Ceska Slov. Farm.* 2004, vol. 6, p. 271–279.

⁹ ISLYAIKIN M. K., DANILOVA E. A. Structural analog of tetrapyrrole macrocycles and their biological properties. *Russ. Chem. Bull.* 2007, vol. 56, p. 689-706.

¹⁰ TEMPESTI T. C., ALVAREZ M. G., DURANTINI E. N. Synthesis and photodynamic properties of amphiphilic A₃B-phthalocyanine derivatives bearing N-heterocycles as potential cationic phototherapeutic agents. *Dyes. Pigm.* 2011, vol. 91, p. 6-12.

-
- ¹¹ De la TORRE G., CLAESSENS CH. G., TORRES T. Phthalocyanines: The need for selective synthetic approaches. *Eur. J. Org. Chem.* 2000, p. 2821-2830.
- ¹² MACK J., KOBAYASHI N. Low symmetry phthalocyanines and their analogues. *Chem. Rev.* 2011, vol. 111, p. 281-321.
- ¹³ KOPECKY K., ŠATINSKÝ D., NOVAKOVA V., MILETIN M., SVOBODA A, ZIMCIK P. Synthesis of mono-, di-, tri- and tetracarboxy azaphthalocyanines as potential dark quenchers. *Dyes Pigm.* 2011, vol. 91, p. 112-119.
- ¹⁴ WANG A., LONG L., ZHANG Ch. Synthesis of unsymmetrical phthalocyanines: a brief overview. *Tetrahedron.* 2012, vol. 68, p. 2433-2451.
- ¹⁵ KUDRIK E. V., NIKOLAEV I. YU., SHAPOSHNIKOV G. P. 3,6-didecyloxyphthalonitrile as a starting compound for the selective synthesis of phthalocyanines of the ABAB type. *Russ. Chem. Bull.* 2000, vol. 49, p. 2027-2030.
- ¹⁶ ZIMCIK P., MILETIN M., NOVAKOVA V., KOPECKY K., DVORAKOVA Z. Tetrapyrizinoporphyrazines with different number of peripheral pyridyl rings: Synthesis, photophysical and photochemical properties. *Dyes Pigm.* 2009, vol. 81, p. 35-39.
- ¹⁷ GALANIN N. E., SHAPOSHNIKOV G. P. Synthesis and spectral properties of porphyrazines with unsymmetrical structure based on 3,6-dipentoxyphthalodinitrile and 1,2-diphenylfumarodinitrile. *Russ. J. Gen. Chem.* 2009, vol. 79, p. 1024-1028.
- ¹⁸ UĞUR A. L., DINÇER H. A., ERDOĞMUŞ A. Synthesis, photophysical and thermal studies of symmetrical and unsymmetrical zinc phthalocyanines. *Polyhedron.* 2012, vol. 31, p. 431-437.
- ¹⁹ CHAUHAN S. M. S., KUMARI P. Synthesis of unsymmetrical benzoporphyrazines in functional ionic liquids and formation of self-aggregates of zinc (II) pyridino [3,4]tribenzoporphyrazines in solutions. *Tetrahedron.* 2009, vol. 65, p. 2518-2524.
- ²⁰ ERDEM S. S., NESTEROVA I. V., SOPER S. A., HAMMER R. P. Solid-phase synthesis of asymmetrically substituted „AB₃-type“ phthalocyanines. *J. Org. Chem.* 2008, vol. 73, p. 5003-5007.
- ²¹ ERDEM S. S., NESTEROVA I. V., SOPER S. A., HAMMER R. P. Monoamine functionalized phthalocyanines: Microwave-assisted solid-phase synthesis and bioconjugation strategies. *J. Org. Chem.* 2009, vol. 74, p. 9280-9286.

-
- ²² CHEN X., SALMON T. R., McGRATH D. C. Asymmetric phthalocyanine synthesis by ROMP-capture-release. *Org. Lett.* 2009, vol. 11, p. 2061-2064.
- ²³ DABAK S., BEKAROĞLU Ö. Synthesis and properties of water-soluble crosswise-disubstituted phthalocyanines. *J. Chem. Research (S)*. 1997, p. 8-9.
- ²⁴ WANG J.-D., LIN M.-J., WU S.-F., LIN Y. 1,15-bis(2,2,4-trimethyl-3-pentoxy)phthalocyanine, a *trans*-form nonperipheral di-substituted phthalocyanine synthesized by the „cross condensation“ method. *J. Organomet. Chem.* 2006, vol. 691, p. 5074-5076.
- ²⁵ KIMURA M., UEKI H., OHTA K., SHIRAI H., KOBAYASHI N. Self organization of low-symmetry adjacent-type metallophthalocyanines having branched alkyl chains. *Lagmuir*. 2006, vol. 22, p. 5051-5056.
- ²⁶ ELMAH D., ALTINDAL A., ÖZKAYA A. R., BEKAROĞLU Ö. Synthesis and characterization, novel across adjacent ring formed phthalocyanine. *Dalton Trans.* 2011, vol. 40, p. 651-660.
- ²⁷ DUMOULIN F., ZORLU Y., AYHAN M. M., HIREL C., ISCI Ü., AHSEN V. A first ABAC phthalocyanine. *J. Porphyrins Phthalocyanines*. 2009, vol. 13, p. 161-165.
- ²⁸ NAKAMURA A., ATAKA T., SEGAWA H., TEKEUCHI Y., TAKEMATSU T. Structure–activity relationships of herbicidal 5-ethylamino and 5-propylamino-2,3-dicyanopyrazines. *Agric. Biol. Chem.* 1983, vol. 47, p. 1561-1568.
- ²⁹ FUKUNAGA T, BEGLAND RW. Hydrogen cyanide chemistry 9. Cycloaddition reactions and nitrenium ion type reactivity of diiminosuccinonitrile. *J. Org. Chem.* 1984, vol. 49, p. 813–821.
- ³⁰ du Pont de Nemours, E. I., and Co., USA. Disperse bisanil dyes derived from diaminomaleonitrile and their preparation, Původce vynálezu: Begland, R. W., Neumer, J. F. Patent GB 1 488 924.
- ³¹ KOPECKY K., NOVAKOVA V., MILETIN M., KUČERA R., ZIMCIK P. Solid-phase synthesis of azaphthalocyanine-oligonucleotide conjugates and their evaluation as new dark quenchers of fluorescence. *Bioconjugate Chem.* 2010, vol. 21, p. 1872-1879.

³² NOVAKOVA V., MILETIN M., KOPECKY K., ZIMCIK P. Red-emitting dyes with photophysical and photochemical properties controlled by pH. *Chem. Eur. J.* 2011, vol. 17, p. 14273-14282.

³³ ZIMCIK P., MILETIN M., NOVAKOVA V., KOPECKY K., NEJEDLA M., STARA V., SEDLACKOVA K. Effective monofunctional azaphthalocyanine photosensitizers for photodynamic therapy. *Aust. J. Chem.* 2009, vol. 62 (5), p. 425-433.

³⁴ NOVAKOVA V., ZIMCIK P., MILETIN M., VACHOVA L., KOPECKY K., LANG K., CHÁBERA P., POLÍVKA T. Ultrafast intramolecular charge transfer in tetrapyrrolineporphyrins controls the quantum yields of fluorescence and singlet oxygen. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, vol. 12, p. 2555-2563.