

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv



Diplomová práce

Syntéza a modifikace látek zhášejících fluorescenci II.
Synthesis and modification of fluorescence quenching compounds
II.

2011

Vojtěch Dejnožka

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

Chtěl bych poděkovat svému školiteli PharmDr. Miroslavu Miletínovi, PhD. za odborné vedení a trpělivost při vypracování této diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat svým rodičům za umožnění studia na vysoké škole a za podporu v jeho průběhu.

OBSAH

OBSAH	4
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	6
1. ABSTRAKT.....	7
2. ABSTRACT.....	8
3. ZADÁNÍ PRÁCE	9
4. TEORETICKÁ ČÁST	11
4.1. Fotodynamická terapie	11
4.1.1. Úvod	11
4.1.2. Historie	13
4.1.3. Současnost.....	14
4.1.4. Mechanismus PDT	15
4.1.5. Generace fotosenzitizérů (fotosenzitivních látek)	18
4.2. Mikrovlnné záření	22
4.2.1. Teorie.....	22
4.2.2. Historie	23
4.2.3. Mechanismus působení mikrovln	24
4.2.4. Využití a aplikace mikrovln	26
4.2.5. Výhody mikrovln.....	27
4.2.6. Popis použitého přístroje	28
5. METODOLOGICKÁ ČÁST	30
5.1. Bromace	30
5.2. Reaktivita primárních aromatických aminů	32
5.3. Syntéza ftalonitrilů	34
6. Cíl práce.....	36
7. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	37
7.1. Obecná experimentální část	37
7.2. Syntéza N,N'-di- <i>p</i> -toluensulfonyl-1,2-fenylendiaminu	38
7.3. Syntéza 4,5-dibrom-N,N'- <i>p</i> -toluensulfonyl-1,2-fenylendiaminu	39

7.4 Syntéza 4,5-dibrom- <i>o</i> -fenylendiaminu	41
7.5. Syntéza 4,5-dikyan- <i>o</i> -fenylendiaminu	42
7.6. Syntéza 2,3-dioxo-1,2,3,4,-tetrahydrochinoxalin-6,7-dikarbonitrilu	48
8. DISKUZE.....	49
9. ZÁVĚR.....	51
10. LITERATURA	52

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AMD	senilní degenerace makuly
DMAC	dimethylacetamid
DMF	dimethylformamid
DPPF	1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen
HpD	hematoporfyrinové deriváty
IČ	infračervené
ISC	intersystémová přeměna
LDL	lipoproteiny s nízkou hustotou
Ncs	naftalocyaniny
NMP	<i>N</i> -methylpyrrolidin-2-on
Pc	ftalocyaniny
[Pd ₂ (dba) ₃]	tris(dibenzylidenaceton) dipalladia
PDT	fotodynamická terapie
PMHS	polymethylsiloxan
PS	fotosenzibilizátor
TLC	tenkovrstvá chromatografie
UV	ultrafialové
VP	vnitřní přeměna

1. ABSTRAKT

Tato diplomová práce se soustředí na syntézu meziproduktů vhodných k cyklotertramerizaci azanalogů naftalocyaninů. Cílem diplomové práce bylo nalézt a optimalizovat problematický krok syntézy důležitého meziproduktu, jehož příprava se za pomoci klasické syntézy jevila jako problematická. Tento problém jsme se pokusili vyřešit vyzkoušením a aplikací mikrovlnného záření na průběh reakce. V průběhu experimentů byly zkoušeny různé možnosti podmínek a parametrů reakce. Reakční směs jsme nechali reagovat za různých teplot a po různě dlouhou dobu v prostředí mikrovlnného záření. Tím se nám podařilo se nalézt cestu k uspokojivé syntéze meziproduktu s přesně definovanou dobou a podmínkami průběhu reakce v mikrovlnném reaktoru CEM Explorer – 24 position. Připravená sloučenina byla přečištěna přes kolonu a následně použita k přípravě dalšího kroku (produktu) v rámci syntézy meziproduktů pro cyklotertramerizaci azanalogů naftalocyaninů. Ten jsme pak charakterizovali IČ a NMR spektry.

2. ABSTRACT

This thesis focuses on the synthesis of intermediates suitable for cyclotertramerization of naphthalocyanine aza-analogues. The aim of this thesis was to find and optimize a problematic step of the synthesis of an important intermediate which preparation employing classical synthesis methods shown to be problematic. We tried to solve this problem by testing and application of microwave radiation on the reaction process. We tested various possibilities of reaction conditions and parameters during the experiments. The reaction mixture was subjected to various temperatures and variable time in the environment of microwave radiation. Thereby we succeeded in finding the way to the satisfactory synthesis of the intermediate with exactly defined period and conditions of reaction process in microwave reactor CEM Explorer – 24 position. We re-purified the prepared compound through column and we used it consequently for the preparation of the next step (product) within the scope of synthesis of intermediates for cyclotertramerization of naphthalocyanine aza-analogues. The last product was specified by IR and NMR spectra.

3. ZADÁNÍ PRÁCE

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

KATEDRA FARMACEUTICKÉ CHEMIE A KONTROLY LÉČIV

Akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: **Vojtěch Dejnožka**

studijní program: **Farmacie**

studijní obor: **Farmacie**

Děkan fakulty Vám podle zákona č. 111/1998 Sb. určuje tuto diplomovou práci:

Název práce:

Syntéza a modifikace látek zhašejících fluorescenci II.

Anglický název práce:

Synthesis and modification of fluorescence quenching compounds II.

Zásady pro vypracování:

1. Rešerše v zadané oblasti.
2. Studium původních literárních pramenů.
3. Výběr vhodných metod a postupů pro zpracování zadaného tématu.
4. Experimentální část práce.
5. Sepsání diplomové práce.

Principles of elaboration of the work

1. Literature search in field of interest.
2. Study of original papers found.
3. Selection of proper methods and procedures to elaborate the task of the work.
4. Experimental part of work.
5. Writing up of the work..

Seznam odborné literatury:

1. Elektronické informační zdroje (*Web of Science, CC, Science Direct*)
2. *Chemical Abstracts*
3. *Beilsteins Handbuch der organische Chemie*
4. *Přívodní literární prameny*
4. *Internet*

List of literature

1. *Electronic informational sources (Web of Science, CC, Science Direct)*
2. *Chemical Abstracts*
3. *Beilsteins Handbuch der organische Chemie*
4. *Original papers*
5. *Internet*

Vedoucí diplomové práce: **PharmDr. Miletín Miroslav, Ph.D.**

Oponenti:

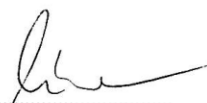
Konzultanti:

Datum zadání diplomové práce: **30.03.2011**

Termín odevzdání diplomové práce: dle harmonogramu příslušného akademického roku



.....
Vedoucí katedry



.....
Děkan

V Hr. Králové 30.03.2011

4. TEORETICKÁ ČÁST

4.1. Fotodynamická terapie

4.1.1. Úvod

Fotodynamická terapie, zkratkou PDT (photodynamic therapy) je relativně nová diagnostická a léčebná metoda, která se používá zejména k léčbě tumorů. Jejím základem je podání fotosenzitivní látky, která se po aplikaci přednostně hromadí v nejrychleji proliferujících buňkách, po ozáření světlem o vhodné vlnové délce způsobí smrt těchto buněk.

Fotosenzitivní látku neboli fotosenzibilizátor či světlocitlivou látku lze aplikovat jako mast obsahující účinnou látku nebo je zavedena injekčně. Injekční aplikace může být intravenózní nebo intralezionální, tzn. přímo do místa novotvaru. Optimální koncentrace fotosenzitivní látky v postižených buňkách se dosahuje v časech od 5 minut až po 72 hodin v závislosti na způsobu aplikace a druhu použité látky. Kumulace a koncentrace fotosenzibilizátoru v tkáních spolu s dávkou ozáření, je hlavním faktorem určujícím účinek PDT. Mezi faktory ovlivňující intracelulární lokalizaci fotosenzibilizátoru a jeho následnou fotodynamickou aktivitu patří jeho struktura, lipofilita, symetrické rozdělení mezi polární a nepolární fázi, navázané substituenty a náboj.

Osvícením tumoru vhodnou vlnovou délkou absorbují molekuly fotosenzibilizátoru fotony světla a přecházejí do excitovaného singletového stavu s dobou života řádově 10^{-9} s. Vnitřním přechodem pak přecházejí do tripletního excitovaného stavu, který má ještě delší dobu života, řádově 10^{-6} s. To umožňuje excitované formě fotosenzibilizátoru reagovat s okolními molekulami. Dochází k přenosu energie z molekuly fotosenzibilizátoru na molekulu kyslíku za vzniku jeho reaktivnějších forem. Takováto molekula kyslíku je přibližně 1000 krát reaktivnější než jeho základní stav.

Singletový kyslík (i ostatní formy aktivního kyslíku např. superoxidový radikál, hydroperoxidový a hydroxylový radikál) pak reaguje s buněčnými membránami za vzniku lipidperoxidového radikálu a následné nekrózy či apoptózy buněk. Nižší dávky

fotosenzibilizátoru a záření způsobují apoptózu, vyšší nekrózu, ovšem při každé aplikaci dochází k oběma typům smrti buněk. Fotodynamická terapie způsobuje také zničení cévního systému nádoru, což vede k jeho ischemické nekróze.

Výhodou fotodynamické terapie je téměř nulová toxicita použité látky, takže je možno ji (narozdíl například od chemo- či radioterapie) v krátkém čase opakovat. Další výhodou je poměrně přesná selekce nádorových buněk, nedochází k ničení okolních zdravých buněk. Tato terapie se řadí mezi tzv. neinvazivní metody, což je další výhoda, protože je méně invazivní než např. chirurgický zákrok. Výhodou je i možnost provádění fotodynamické terapie ambulantně či levněji než jiné druhy léčby rakoviny.

Mezi nevýhody patří omezená možnost použití, neboť světlo používané k aktivaci fotosenzibilizátoru proniká nejvýše 1cm do tkáně a lze tedy použít pouze na povrchu těla případně na části orgánů dostupné pomocí endoskopů a katetrů. Metoda vpichu optického vlákna s aktivizujícím světlem přímo do tkáně se zatím příliš nepoužívá. Nevýhodou při nitrožilní aplikaci fotosenzibilizátoru je několikahodinová (až 48h) fotosenzitivita kůže po léčbě, pacient se tedy musí vyvarovat pobytu na slunci a vystavení silného světelného záření.

Nejvýznamnější uplatnění nalézá fotodynamická terapie při léčbě různých druhů tumorů, a to jak maligních (zhoubných) tak benigních (nezhoubných). Nejčastěji se zatím jedná o léčbu paliativní nebo doplňkovou léčbu léčby jiného druhu (většinou chirurgického zásahu). PDT se s úspěchem použila i pro léčbu nádorů žaludku, tlustého střeva, hlavy a krku, ústní a nosních dutin, hrtanu, hltanu, jícnu, plic, močového měchýře, jater, prsu, genitálií i mozku^{1,2}. Nejčastěji se ovšem používá pro léčbu nejrůznějších kožních tumorů a lézí např. aktinickou keratózu, basaliom či T-lymfom. V kožním lékařství se používá také k léčbě lupénky, bradavic, nebo v estetické medicíně k vyhlazení jizev po akné či vrásek, kdy aktivuje fibroblasty k novotvorbě kolagenu. Využití nachází metoda také při léčbě senilní degenerace makuly (AMD). Velmi nadějnou aplikací je čištění kostní dřevě od leukemických buněk, kdy se pacientovi odebere kostní dřevě, vyčistí se metodou fotodynamické terapie a coby autologní štěp vrátí zpět pacientovi. Díky svému stimulačnímu efektu se metoda používá také v kosmetice³.

4.1.2. Historie

O využití potenciálu světla k léčbě některých kožních onemocnění (např. vitiligo, psoriáza) věděli již starověké civilizace Egypta, Indie či Číny⁴. V období antiky se tyto znalosti dále rozšiřovaly.

Moderní pojetí PDT se začalo rodit v průběhu 19. století spolu s objevením struktury, funkce a vlastnosti krevního barviva hemu. Podařilo se modifikovat strukturu tohoto barviva a výsledkem byl tzv. hematoporfyrin^{5,6}. Objev fluorescence byl dalším významným objevem této doby. Za zmínku stojí též dánský fyzik Niels Finsen, který v roce 1903 získal Nobelovu cenu za objev a popsání léčby neštovic za použití červeného světla a kožní tuberkulózy pomocí UV záření⁷.

Mezníkem ve vývoji fotodynamické terapie byla buněčná smrt vyvolaná interakcí chemikálie (červeného akridinu) a IČ záření na trepce rodu *Infusoria*, kterou popsal Oscar Raab⁸. V roce 1903 Jesionek s von Tappeinerem vyzkoušeli na kožní klinice v Mnichově léčbu kožního tumoru eosinem a světlem⁹. Von Tappeiner a Jodlbauer podali důkazy, že základním prvkem ve fotosenzitické reakci je kyslík. Tito pracovníci také zavedli termín „fotodynamický efekt“^{10,11}. V roce 1913 aplikoval sám sobě Meyer-Betz potenciálně efektivní dávku hematoporfyrinu, po následném ozáření zkoušel účinky PDT reakce¹². Význam tohoto experimentu nebyl po několik následujících desetiletí doceněn.

V druhé polovině 20. století se podařilo vědcům Scwartzovi a Lipsonovi vyvinout podstatně čistší a aktivnější formy hematoporfyrinu, které byly pojmenovány hematoporfyrinovými deriváty (HpD). HpD byly využity jako první fluorescenční diagnostika u lidských nádorů^{13,14,15}.

4.1.3. Současnost

V roce 1972 byl uskutečněn první experiment moderní éry PDT v léčbě rakoviny¹⁶. Richard Lipson byl první, kdo pomocí HpD vyléčil pacienta, který měl metastatický nádor prsní strany hrudníku¹⁷. Roku 1975 Dougherty a spol. demonstroval, že hematoporfyrinové deriváty spolu se světlem z červené oblasti světelného spektra mohou selektivně ničit nádorové buňky a to bez současného poškození okolní zdravé tkáně¹⁸. Během následujících let proběhly další studie s pomocí PDT při léčbě nádorů kůže, močového měchýře, rakoviny plic, jícnu, konečníku či mozkových nádorů^{19,20,21,22}. Všechny tyto objevy a výzkumy zrodily éru moderního vývoje fotodynamické terapie realizovanou zavedením HpD jako standardu u přípravku Photofrin® do klinického použití. V současné době se vývoj a výzkum s ohledem na vedlejší účinky a již nevhodné vlastnosti Photofrinu® pro moderní PDT zaměřuje na další generace fotosenzitizérů. Ty mají absorpci v dalekém červeném a blízkém IČ spektru, dále vykazují např. menší kožní cytotoxicitu. S rostoucím porozuměním farmakokinetiky a biodistribuce těchto látek postupně dochází k tzv. zacílení PDT.

4.1.4. Mechanismus PDT

Mechanismus fotodynamické terapie zahrnuje tři základní komponenty:

1. fotosenzitizér (PS, světlo absorbující molekula)
2. světlo odpovídající vlnové délky
3. molekulární kyslík

Fotosenzitizér se aktivuje světlem o odpovídající vlnové délce. Molekulární kyslík (třetí základní složka) je využit v průběhu fotochemické reakce k vytvoření singletového kyslíku – cytotoxického agens, které následně zničí neoplastickou tkáň. Dochází k porušení biologické funkce buňky, což v konečném důsledku vede k její smrti. Vlnová délka světla aktivujícího PS má pro použití v PDT veliký význam. Protože v případě světla o nižších vlnových délkách, dochází k jeho průniku živými tkáněmi jen do hloubky několika milimetrů, zasažená oblast je pak malá, navíc dochází i k pohlcování světla endogenními chromofory (např. hemoglobinem). Optimální rozpětí vlnových délek se u PDT pohybuje v rozmezí 680-800 nm. Při vyšších vlnových délkách (nad 800 nm) má záření nízkou energii a nemusí již dostačovat k účinné aktivaci fotosenzitizéru²³.

Fotosenzitizér se většinou podává intravenózně a rychle se distribuuje do tělesných tkání. Přibližně za 48-72 hod po podání může být koncentrace fotosenzitizující látky znatelně vyšší v tumorózní tkáni v porovnání s okolní zdravou tkání. Přesný mechanismus selektivního vychytávání fotosenzitizéru není zatím zcela vyjasněn²⁴. Selektivně absorbovaný fotosenzitizér je pak ozářen světlem odpovídající vlnové délky, tím excituje do vyššího energetického stavu (PS*), který vede k produkci cytotoxického agens a nekróze tumoru.

Tento mechanismus lze vyjádřit takto:

PS → PS* → Cytotoxické agens → Biologické poškození → Buněčná smrt

Mechanismus PDT má dvě části. První zahrnuje fotofyzikální a fotochemické vlastnosti PS a jeho schopnost produkovat cytotoxické agens. Do druhé řadíme biologickou odpověď buňky vystavené působení cytotoxického agens²⁵.

Fotofyzikální základ PDT

Základem je přenos absorbované energie z fotosenzitizéru na další složky. Nejdůležitějším článkem celého procesu je molekulární kyslík, ten se přeměňuje na vysoce reaktivní cytotoxické radikály. Po ozáření světlem o vhodné vlnové délce excituje fotosenzitizér ze základního singletového stavu na excitovaný singletový stav s velmi krátkou dobou života (nanosekundy). Z tohoto stavu se PS uvolňuje dále radiálními procesy (fluorescencí) a neradiálními procesy (vnitřní přeměnou-VP). Významnou cestou přeměny excitovaného PS je tzv. intersystémová přeměna (ISC, inter-system crossing). Jedná se o „nepovolenou“ cestu a dochází při ní k inverzi spinu a přeměně fotosenzitizéru do tripletového stavu, pro něhož je charakteristická delší životnost (mikrosekundy). Z tripletového stavu se fotosenzitizér může uvolnit vyzářením fotonu ve formě fosforescence (triplet-singlet emise) či cestami bez vyzářování. V tomto případě se jedná o dva procesy, které jsou vlastním základem PDT, fotoproces typu I a fotoproces typu II. Oba se objevují současně a poměr mezi nimi závisí na povaze použitého PS, koncentrací substrátu a kyslíku ve tkáni¹¹.

Fotochemický základ PDT

Fotoproces I

V tomto případě dochází k odštěpení vodíku nebo k přenosu elektronu mezi excitovaným stavem PS a substrátem, rozpouštědlem nebo jiným fotosenzitizérem, vytváří se radikály či radikálové ionty. Vzniklé radikály jsou vysoce aktivní, interagují s molekulárním kyslíkem a vytváří reaktivní druhy kyslíku (superoxidový anion, hydroxylový radikál, peroxid vodíku) nebo způsobí neopravitelné poškození buňky. Dochází k oxidativnímu poškození, které vede až k cytotoxickému efektu.

Fotoproces II

Jedná se o přenos energie z tripletového stavu PS na základní stav molekulárního kyslíku, nastává vytvoření excitovaného stavu kyslíku označovaného jako singletový

kyslík. Ten díky vysoké reaktivitě interaguje s velkým množstvím biologických substrátů, způsobuje oxidativní poškození následované buněčnou smrtí²⁵.

V průběhu fotodynamické reakce se vyskytují oba typy fotoprocесů společně, nicméně převládá fotoprocес typu II. Fotoprocес typu II probíhá převážně v okysličených tkáních, v lipofilnějším prostředí a způsobuje delší životnost singletového kyslíku. Naproti tomu fotoprocес I vede ke smrti membránových součástí v tkáních v hypoxickém stavu a v polárnějším prostředí. Můžeme proto konstatovat, že fotodynamický účinek je přímo úměrný koncentraci kyslíku v tkáni²⁶.

4.1.5. Generace fotosenzitizérů (fotosenzitivních látek)

V této kapitole je uveden pouze stručný a omezený výtah jednotlivých generací fotosenzitivních látek s podrobnějším popisem ftalocyaninů. Fotosenzitizér je látka schopná absorbovat světlo specifické vlnové délky a přetvářet jej na užitečnou energii. Podle různých vlastností (např. chemická čistota, optimální spektrální vlastnosti, minimální toxicita ve tmě, selektivní kumulace v tumorózní tkáni, eliminace z těla pacienta apod.) dělíme fotosenzitizéry do tří generací ^{27,28}.

První generace

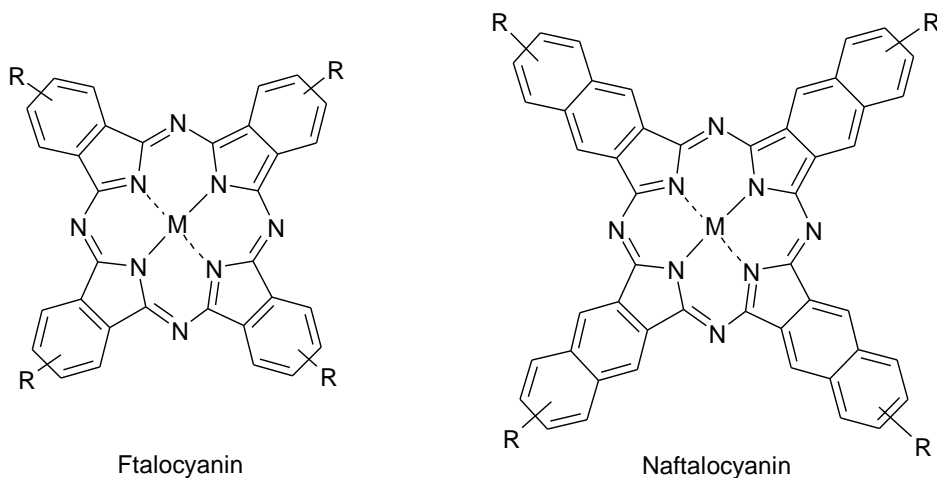
Pro první generaci je charakteristická absorpce záření o nízkých vlnových délkách (přibližně 630nm), navíc tyto látky zůstávají v kožní tkáni po několik měsíců. Zástupcem této generace je porfimer a jednoduché hematoporfyrinové deriváty (*Porfimer sodium- hematoporphyrin derivate*, *HpD*, *Photofrin*, *Photogen*, *Photosan*). Jedná se o směs monomerů, dimerů a oligomerů spojených etherovými nebo esterovými vazbami ²⁹.

Druhá generace

Fotosenzitivní látky druhé generace mají absorpční maximum posunuto do vyšších vlnových délek (650-800nm), které pronikají hlouběji do tkání. Chemicky patří PS druhé generace mezi chloriny, porfyriny, benzoporfyrinové deriváty, ftalocyaniny, etiopurpuriny apod.

Ftalocyaniny (Phthalocyanines, Pc, obr. 1) jsou syntetická barviva používaná v různých průmyslových odvětvích ³⁰. Byly náhodně připraveny v roce 1907 a roku 1933 určil prof. Reginald P. Linstead jejich strukturu ³¹. Výjimečnost ftalocyaninů spočívá především v pozoruhodné fyzikální i chemické stabilitě vyplývající z dokonalé konjugace násobných vazeb, koordinace centrálního atomu kovu v aromatickém skeletu ³². Ftalocyaniny se svou strukturou podobají tetraazaporfyrinům, mají čtyři přemostěné atomy uhlíku, které jsou v mezipozicích nahrazené atomy dusíku. Jejich absorpční maximum je posunuto k červené oblasti spektra (670-700nm). Pro účinek PDT je důležitá přítomnost chelatovaných centrálních atomů (Zn, Al, Si)⁺, které zvyšují její

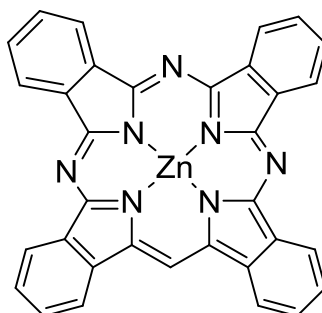
účinnost prodloužením tripletového stavu fotosenzitizéru. Ftalocyaniny jsou špatně rozpustné ve vodě, v organických rozpouštědlech a snadno agregují^{33,34}.



Obr. 1

Zinc phtalocyanine CGP55847 (synonymum Zn Pc)

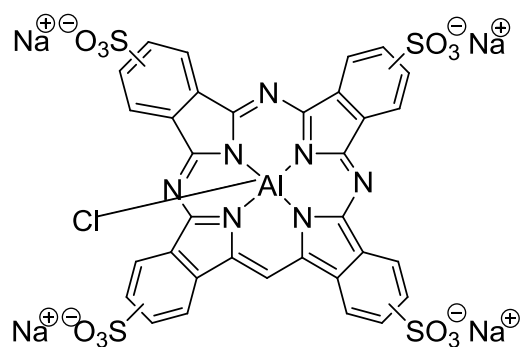
Jedná se o nejjednodušší Pc ve fázi klinického zkoušení.



Obr. 2

Photosens (synonymum Aluminium tetrasulfophthalocyanine, Al-PcTs, AlPcS4, Aluminiumphthalocyanine tetrasulfonate)

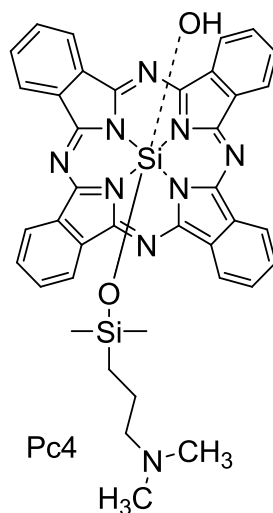
Řadí se mezi sulfonované ftalocyaniny, je vysoce fotosenzitivní (4-6 týdnů). Jiné sulfonované Pc, zink-ftalocyaniny tetrasulfonáty jsou v poslední fázi klinického zkoušení pro použití jako fotosenzitizéry v PDT u psů³⁵.



Obr 3.

Pc4 (synonymum Si Pc IV.)

Jako třetí ftalocyanin je nasazen do klinické fáze zkoušení v PDT. Pc4 je křemičitý komplex, zkouší se jako léčivý přípravek u topické léčby malignit a premalignit kůže^{36,37}.



Obr. 4

Naftalocyaniny (Naphthalocyanines, Ncs, obr. 1)

Řadí se mezi deriváty ftalocyaninů, charakteristické je pro ně připojené benzenové jádro k isoindolovým podjnotkám na periferii molekuly. Tím dochází

k prodloužení chromoforového systému a tím pádem zvýšení absorpčního maxima v hodnotách 740-800nm. Díky hlubší penetraci do tkání se dají použít na pigmentové léze^{38,39}. K nevýhodám patří relativně nízká fotochemická stabilita, vyšší tendence k agregaci a horší rozpustnost než v případě „klasických“ ftalocyaninů⁴⁰.

Třetí generace

Jako třetí generaci označujeme konjugáty fotosenzitizérů s různými biomolekulami. Mezi tyto biomolekuly patří protilátky, steroidy, sacharidy a polynukleotidy. Zjednodušeně se dá říci, že se jedná o kombinaci látek druhé generace s těmito biomolekulami a slouží k cílnému targetingu⁴¹. Např. konjugáty PS s LDL slouží k následnému uvolnění v tumorózní tkáni, konjugáty PS s monoklonálními protilátkami interagují se specifickými receptory (antigeny) na povrchu maligních buněk, konjugáty PS s pohlavními hormony mají vyšší afinitu k buňkám, které ve zvýšené míře exprimují steroidní receptory (např. buňky rakoviny prsu).

4.2. Mikrovlnné záření

4.2.1. Teorie

O mikrovlnách hovoříme jako o vysokofrekvenčním elektromagnetickém záření s frekvencí v intervalu 30-0,3 GHz (vlnová délka 0,01-1m). Mikrovlny o vlnové délce 12 cm (2,45GHz) mají frekvenci blízkou rezonanční frekvenci vody. Mikrovlnná trouba je de facto konstruována tak, aby ohřívala vodu, která je ve vysoké míře obsažena v potravinách^{42,43,44}. Molekula vody se skládá ze dvou atomů vodíku jednoho atomu kyslíku, toto uspořádání jí dává charakteristický tvar, ve kterém atomy svírají úhel přibližně 105 ° a vytváří tzv. dipól. Molekula vody se navenek jeví na jedné straně jako nabitá víc kladně a na druhé záporně, tento jev je dán nesymetrickým rozmístěním kladných nábojů jádra a záporných nábojů elektronových obalů.

Mikrovlny produkované mikrovlnou troubou vytváří elektromagnetické vlnění, jež působí na nabitě předměty, respektive na molekuly vody. Mikrovlny velmi rychle mění polaritu elektromagnetického pole v daném místě, oscilující pole působí na dipóly vody, rozkmitává je a dodává jim energii. Důsledkem je například rozrušováním chemických vazeb v řetězcích molekul navázaných k sobě či zvýšení pohybové energie molekul. Tyto jevy pozorujeme jako zvýšený pohyb molekul a růst teploty. Frekvence mikrovln (asi 2,45 GHz) odpovídá vlastní frekvenci kmitání dipólů vody a dochází k rezonanci, proto mikrovlny nejlépe rozkmitají právě molekuly vody a na ostatní molekuly pole tolik nepůsobí⁴⁴.

4.2.2. Historie

Mikrovlny teoreticky objevil fyzik James Clerk Maxwell v druhé polovině 19. století, kdy je popsal pomocí matematických rovnic a roku 1888 jejich existenci demonstroval německý fyzik Heinrich Hertz^{43,45}. Ve 40. letech 20. století zkonstruoval první mikrovlnnou troubu americký vynálezce Percy Lebaron Spencer (Obr. 5⁴⁶). Jeho mikrovlnná trouba měla výšku necelé dva metry, vážila přibližně 400 kilogramů a stála 3000 dolarů, byla pojmenována *Radar range* (Obr. 6⁴⁷)⁴⁸.



Obr. 5



Obr. 6

4.2.3. Mechanismus působení mikrovln

Účinek mikrovlnného záření spočívá v jeho interakci s polárními látkami (např. molekulami vody), které mají snahu orientovat se ve směru záření. Při frekvenci 2,45GHz mění elektrické pole svůj směr $2,45 \times 10^9$ krát za sekundu a polární molekuly se snaží tyto změny sledovat. Pokaždé změně jejich orientace současně dochází k jejich vibraci až rotaci ve směru pole (Obr. 7 - dipolární molekuly se snaží přizpůsobit oscilujícímu el. poli). Při vysoké rychlosti oscilace pole nestačí molekuly již změny dokonale sledovat, pohybem molekul a vzájemným třením dochází k přeměně mikrovlnné energie na tepelnou^{42,49,50,51}.

Kapaliny nemající dipólový moment nebo kapaliny, u kterých nemůže být dipólový moment indukován, nedochází k jejich přímému ohřevu mikrovlnami. Musíme přidat malé množství polární kapaliny k mísitelné nepolární kapalině, tím vytvoříme směs, která rychle dosáhne shodné teploty po ozáření mikrovlnami. Mechanismus ohřevu u látek obsahujících ionty je odlišný. Ionty mají možnost pohybovat se roztokem díky působení elektrického pole, dochází ke srážkám a kinetická energie srážek se přeměňuje na teplo (Obr. 8 – nabitě částice v roztoku následují el. pole)^{49,51}.

Rychlost ohřevu jednotlivých látek ovlivňuje i jejich tepelná kapacita, nižší tepelná kapacita znamená rychlejší ohřev, proto je např. propan-1-ol ohřátý v mikrovlnné troubě rychleji než voda⁵⁰.



Obr. 7



Obr. 8

4.2.4. Využití a aplikace mikrovln

Využití mikrovln je dnes již velice rozšířené, téměř každá domácnost má doma klasickou mikrovlnnou troubu na ohřev potravin. Dále se mikrovlny používají např. k vysoušení vlhkosti v knihách, k hubení škůdců v domácnostech a podobně ⁵².

V chemickém průmyslu našla tato technologie také své nezastupitelné uplatnění, používá se např. k sušení farmaceutik, k regeneraci sorbentů a k aktivaci

Katalyzátorů ⁵³. Při chemických reakcích může mikrovlnné záření vést ke zlepšení selektivity reakce, k produkci většího výtěžku či ke zkrácení reakčního času ⁴⁹. U rovnovážných reakcí lze pomocí mikrovln odpařit malou molekulu z reakční směsi a tím posunout tuto rovnováhu směrem k žádanému produktu ⁵⁴. V biochemii jsme schopni za použití mikrovln aktivovat reakční centrum enzymu a urychlit tak biochemickou reakci ⁵².

Reakce se provádí v několika odlišných typech reaktorů. Rozlišujeme uzavřené, průtokové nebo otevřené reaktory. Uzavřené reaktory se vyrábí většinou z teflonu, vše je plně uzavřeno v teflonovém kontejneru, kde se nacházejí čidla pro kontrolu teploty a tlaku. V otevřených reaktorech je reakční baňka spojena s chladičem, u tohoto typu se ozařuje celý prostor uvnitř zařízení a je možné pracovat s obyčejným laboratorním sklem. U průtokových reaktorů „protéká“ ozařovaný vzorek ze zásobníku kolonou, v koloně je ozářen a pokračuje do jímače. Další možností je použití fokusovaného pole. K ozáření vzorku dochází v omezeném rozsahu, např. úzkým pruhem záření ⁵⁰.

4.2.5. Výhody mikrovln

V organické syntéze dochází k rozšíření použití mikrovln, které opírá o řadu výhod, za nejdůležitější zmiňme např. ^{53,55,56}:

1. reakce za použití mikrovln probíhají velice rychle (řádově minuty, dochází k přehřátí reakční směsi)
2. lepší čistota produktů, vyšší výtěžky reakcí
3. vysoká rychlost ohřevu v celém objemu.
4. umožnění provedení reakce při vyšší teplotě bez použití tlaku.
5. možnost zvýšení selektivity chemických reakcí.
6. provedení reakcí, které probíhají obtížně za klasických podmínek.
7. syntézy s malým objemem rozpouštědla nebo i bez rozpouštědla
8. možnost kontroly a monitorování procesu (přesný výkon, teplota)

4.2.6. Popis použitého přístroje

Reakce v experimentální části této práce byly prováděny na přístroji-mikrovlnném reaktoru CEM Explorer – 24 position, CEM Corporation, Matthews, North Carolina, USA.

Existují dva základní druhy mikrovlnných zařízení:

1. s rozptýleným polem
2. s fokusovaným polem

Použitý přístroj patří mezi druhý typ, fokusované pole se pro výzkum v malém měřítku hodí více, reakční vzorek se totiž umísťuje přímo do vlnovodu.



Obr. 9



Obr. 10

CEM Explorer – 24 position (Obr. 9 ⁵⁷, Obr. 10 ⁵⁸) vyrábí společnost CEM Corporation, Matthews, North Carolina, USA. Společnost CEM se přes 30 let zabývá

navrhováním, vývojem laboratorních přístrojů a vědeckých metod v oblasti mikrovln ⁵⁹. CEM Explorer -24 position je typizován pro 10 ml lahvičky („vialky“) a má zásobník na 24 pozic. Přístroj má tyto rozměry 36 cm (15 palců) šířka x 52 cm (21 palců) délka x 67 cm (27 palců) výška ⁶⁰. Obecné vlastnosti výrobků typu CEM Explorer uvádí Tab. 1 ⁶¹. Jedná se o první mikrovlnné automatizované reaktory použitelné pro syntézu chemických látek.

Popis jednotky	Autosampler pro sekvenční načítání vzorků do mikrovlnné dutiny na základě jednotného režimu
Teplotní rozsah	-80 ° C až 300 ° C
Tlakový rozsah	Atmosférický až 21 Bar
Objemový rozsah	0.1 ml to 125 ml
Typ nádoby	10 ml, 35 ml (automatizované), 80 ml, otevřené nádoby (manuální)
Kompatibilní příslušenství	CoolMate , vložení plynu, SPS, enzymatické trávení, bílkoviny hydrolyzou

Typ Explorer-obecně (Tab. 1)

5. METODOLOGICKÁ ČÁST

5.1. Bromace

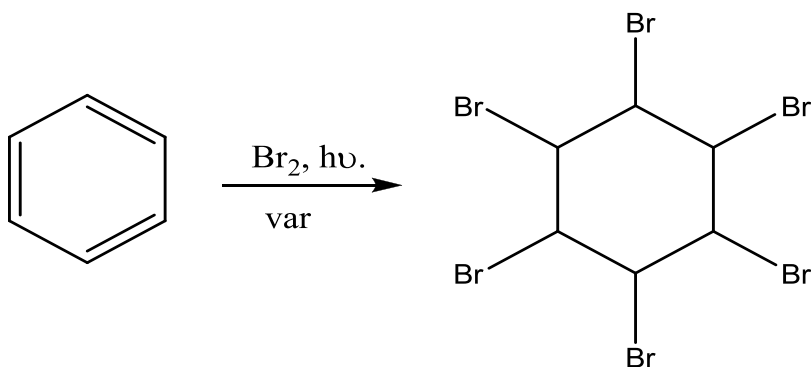
Bromace organických látek se provádí kapalným bromem na pevné nebo kapalné sloučeniny, na sloučeniny rozpuštěné ve vhodném rozpouštědle, dále např. zaváděním plynných sloučenin do kapalného bromu, kontaktem plynných látek s bromovými parami atd.⁶²

Rozpouštědlo použité při reakci hraje nezastupitelnou a významnou roli. Pomáhá úplnějšímu průběhu bromace (dokonalejší styk sloučeniny s bromem), nebo naopak zmírňuje prudkou reakci bromu s reagující sloučeninou (snižuje koncentraci reakčních složek a částečně na sebe váže tepelnou energii vznikající při reakci). Rozpouštědlo ovlivňuje i rychlost bromace, např. bromace benzaldehydu v chloridu uhličitém je asi 1000x rychlejší než v H₂S nebo CHCl₃⁶³. Polární rozpouštědla (kyselina octová, nitrobenzen) podporují bromaci jádra, nepolární rozpouštědla (sirouhlík, chlorid uhličitý, benzen) podporují bromaci postranního řetězce⁶⁴.

Většina bromací se provádí za atmosférického tlaku, teplotní rozmezí je široké, např. velmi reaktivní sloučeniny se bromují při -80°C⁶⁵.

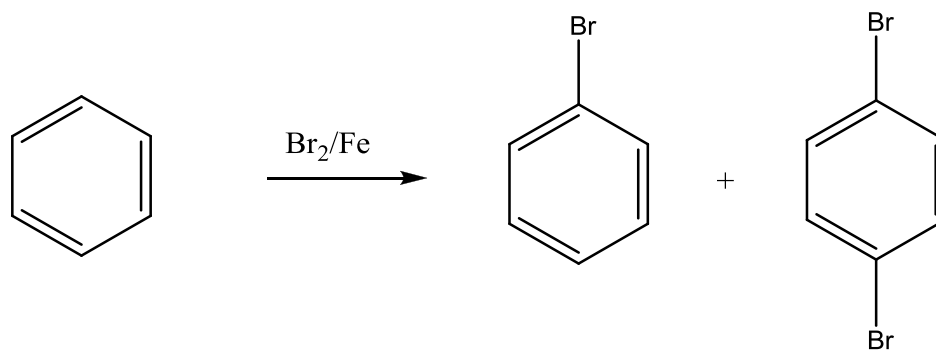
Bromace benzenu

Uvedeny jsou jen některé možné způsoby bromace benzenu. Při osvětlení dochází k adici tří molekul bromu na benzenové jádro a vzniká 1,2,3,4,5,6 hexabromcyklohexan (Obr. 11)⁶².



Obr. 11

Další možností je substituce benzenu v přítomnosti katalyzátorů, která vede k mono derivátům nebo k polybromovaným derivátům benzenu. Reakcí ekvivalentního množství bromu vzniká za katalýzy FeCl_3 při nízkých teplotách převážně mono derivát s malým množstvím *p*-dibrombenzenu (Obr. 12) ⁶². Tento způsob halogenace je obecnou metodou získávání aromatických bromderivátů (v případě Cl_2 i chlorderivátů) aromatických uhlovodíků, jedná se o elektrofilní substituci ⁶⁶.



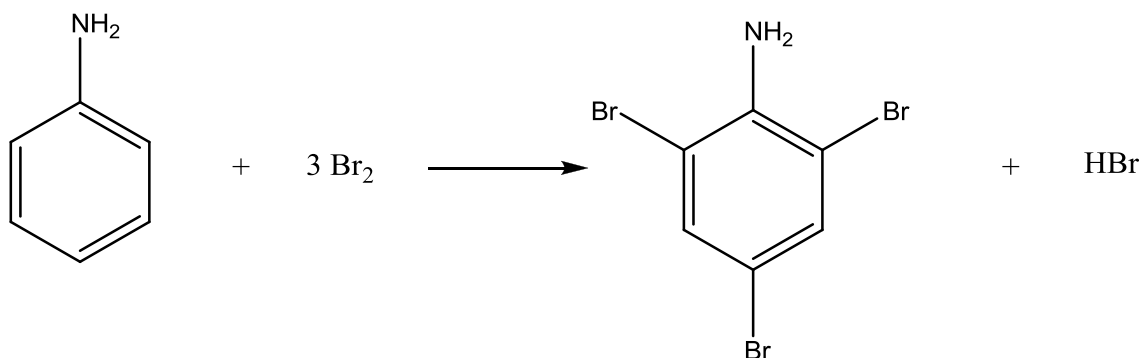
Obr. 12

5.2. Reaktivita primárních aromatických aminů

Primární aromatické aminy zařazujeme mezi organické dusíkaté deriváty uhlovodíků, jedná se o sloučeniny, ve kterých je uhlíkový atom zbytku uhlovodíku spojen s atomem dusíku některé dusíkaté skupiny. Dusíkatých derivátů uhlovodíků je velké množství, aminy jsou jen jednou skupinou. Rozlišujeme aromatické, alifatické, primární, sekundární a terciární aminy⁶⁷. Aminy a jejich deriváty zaujímají v organické chemii důležité postavení, jsou surovinami a meziprodukty řady reakcí, jak v chemickém průmyslu, tak jako součást biochemických procesů, své nezastupitelné postavení nacházejí i v chemii léčiv⁶⁸.

Aromatické aminy jsou kapaliny charakteristického zápachu, diaminy benzenové řady jsou většinou krystalické látky⁶⁹

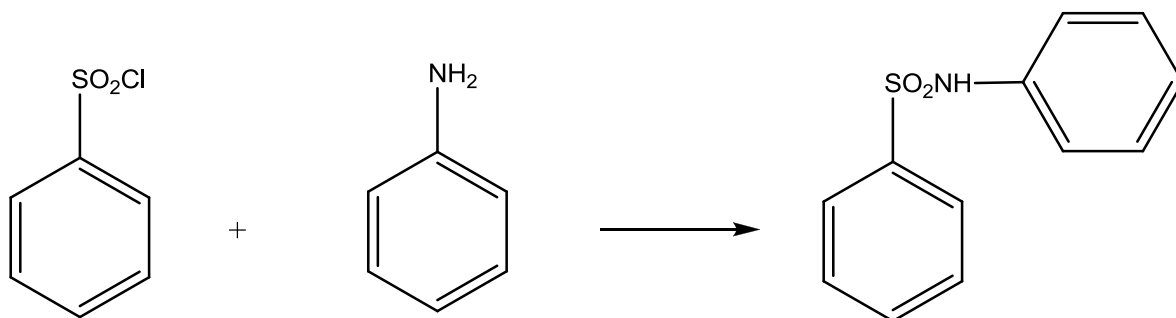
Aminoskupina aktivuje benzenový kruh pro bromaci jádra. Stupeň bromace se odvíjí podle struktury aminu a je možné ho ovládat reakčními podmínkami. Při bromaci anilinu vzniká *p*-bromanilin případně 2,4,6-tribromanilin (Obr. 13 schéma přípravy 2,4,6-tribromanilinu), při reakci *N*-methylanilinu s bromem vzniká 2,4-dibromanilin⁷⁰. Aminoskupina je jedním z nejsilnějších substituentů tzv. první třídy a proto značně usnadňuje substituční reakce na aromatickém kruhu⁷¹.



Obr. 13

V některých případech je nutné aminoskupinu ochránit, aby nedošlo k syntéze jiného než požadovaného produktu. Chránění můžeme provést např. reakcí primárních aminů s anhydridy karboxylových kyselin, kdy acetylací ochráníme aminoskupinu. Jinou možností je reakce aminů se sulfonylchloridy, kdy vznikají sulfonamidy a

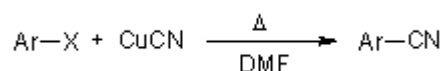
aminoskupina je opět ochráněna před nežádoucími reakcemi (např. oxidace, nitrace, obr. 14) ⁷².



Obr. 14

5.3. Syntéza ftalonitrilů

Ftalonitrily jsou perspektivní sloučeniny sloužící k syntéze nekovových (metal-free) a kovových (metal) ftalocyaninů⁷³. Běžná cesta přípravy těchto látek vychází z Rosenmund-von Braunovy reakce⁷⁴. 1,2-dibrombenzen reaguje s CuCN₂ v dimethylformamidu (DMF) jako rozpouštědle. Problémem této syntézy jsou malé výtěžky a kvůli drastickým podmínkám reakce (vysoká teplota) i možnost dalších nežádoucích reakcí na funkčních skupinách (oxidace). Obecné schéma reakce ukazuje obrázek (Obr. 15)^{74,75}.



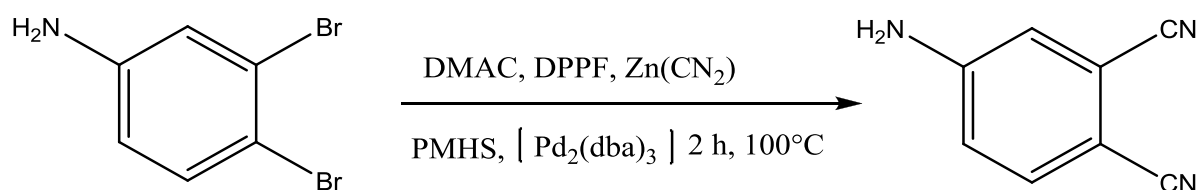
Obr. 15

Hanack a kolektiv⁷⁶ navrhuje jednodušší způsob syntézy ftalonitrilů vycházející ze substituovaných pyrokatecholů na odpovídající aryl bis (trifluormethansulfonáty). Výměna trifluormethansulfonátové skupiny v molekule pyrokatecholu za skupinu CN⁻ probíhá ve vysokých výtěžcích, pokud použijeme reakční podmínky zahrnující Zn(CN)₂, [Pd₂(dba)₃] a DPPF jako katalyzátorů. Mírné reakční podmínky tolerují i četné funkční skupiny přítomné na molekule pyrokatecholu a představují zlepšení Rosenmund-von Braunovy reakce.

Popsaná reakce kovem katalyzovaná kyanace halogenbenzenů je tedy alternativou Rosenmund-von Braunovy reakce v přípravě substituovaných benzennitrilů (kyanbenzenů). Změna je ve většině případů katalyzována kovovými katalyzátory platinové řady, zejména Pd nebo Ni⁷⁷. Obecné kyanace brom- a jodbenzenů se provádějí v nadbytku kyanidových iontů jako jsou KCN, NaCN, Zn(CN)₂, hexakynoželeznatanu draselného v polárních aprotických rozpouštědlech jako DMF, DMAC, NMP při 100-160°C. Mezi zdroje Pd, které byly úspěšně použity k převedení halogenbenzenů na odpovídající benzennitrily, patří např. PdCl₂, Pd/C, Pd(OAc)₂ a [Pd₂(dba)₃]⁷⁸.

Nejnovější modifikací popsaných reakcí autorů Iqbal a kolektiv k přípravě substituovaných ftalonitrilů se stala Pd katalyzovaná kyanace mono a disubstitiovaných

o-dibrombenzenů s $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$ a DPPF jako katalyzátorů v DMAC jako rozpouštědle při 100-120°C ⁷⁹. Reakci lze provést bez inertní atmosféry, která je nezbytnou podmínkou pro jiné Pd katalyzované reakce. Použití inertního plynu bylo nahrazeno přidáním malého množství PMHS ⁸⁰. Navíc nebyly v reakční směsi objeveny vedlejší produkty syntetizovaných ftalocyaninů. Reakce např. *o*-dibrombenzenů, 5-methoxy- *o*-dibrombenzenů či 5-amino- *o*-dibrombenzenů probíhá v krátkém čase, řádově 1,5-3 hodiny a ve výtěžcích 86-95% (Obr. 16 schéma syntézy amino-*o*-dikyanobenzenu) ⁷⁹.



Obr. 16

6. Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo zpracování nových metod syntézy meziproductů pro cyklotetramerizaci azaanalogů naftalocyaninů za využití mikrovlnného záření.

7. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

7.1. Obecná experimentální část

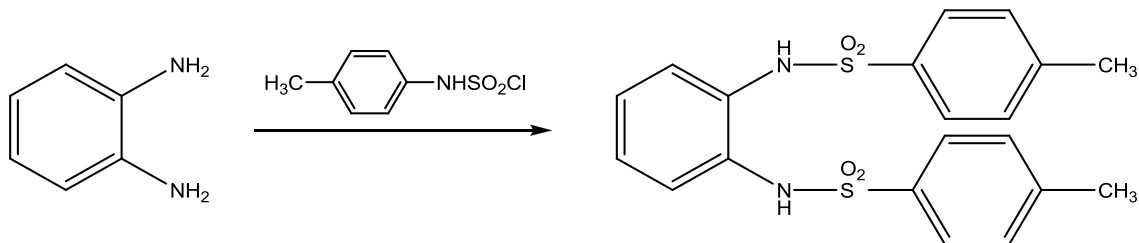
Čistota produktů, čistota meziproduktů a samotný průběh reakcí byla kontrolována tenkovrstvou chromatografií (TLC) na silikagelových deskách Merck Silikagel 60 F254. Kontrola byla prováděna pod UV lampou Cawag světlem o vlnových délkách 254 nm a 366 nm. Vytvořené soustavy jednotlivých reakcí jsou uvedeny níže (Tab. 2). Sloupcová chromatografie se prováděla na silikagelu Merck Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm). Syntéza za použití mikrovln se provedla v mikrovlnném reaktoru CEM Explorer – 24 position, CEM Corporation, Matthews, North Carolina, USA.

Reakce	Vytvořené soustava
Syntéza N,N'-di- <i>p</i> -toluensulfonyl-1,2-fenylendiamin	Hexan/aceton poměr dílů 3:1
Syntéza 4,5-dibrom-N,N'- <i>p</i> -toluensulfonyl-1,2-fenylendiamin	Hexan/aceton poměr dílů 3:1
Syntéza 4,5-dibrom- <i>o</i> -fenylendiamin	Lékařský benzín/aceton poměr dílů 3:1 Lékařský benzín/ethylacetát poměr dílů 3:1
Syntéza 4,5-dicyano- <i>o</i> -fenylendiamin	Lékařský benzín/aceton poměr dílů 3:1 Lékařský benzín/ethylacetát poměr dílů 2:1 Lékařský benzín/ethylacetát poměr dílů 3:2

Tab. 2 - vytvořené soustavy jednotlivých reakcí

7.2. Syntéza N,N'-di-*p*-toluensulfonyl-1,2-fenylendiaminu

Schéma reakce:



Reagencie:

Reagencie	První syntéza	Druhá syntéza
hydroxid sodný	60 ml, 2 M	200 ml, 2 M
<i>o</i> -fenylendiamin:	3 g, 27,75 mmol	10 g, 92,5 mmol
<i>p</i> -toluensulfonylchlorid:	11,58 g, 60,6 mmol	38,6 g, 202 mmol
diethylether	60 ml	200 ml

Tab. 3

Postup ⁸¹:

Roztok hydroxidu sodného (NaOH) a *o*-fenylendiaminu se ochladí na 0°C. Po kapkách se přidá roztok *p*-toluensulfonylchloridu v diethyletheru. Vznikne tmavě hnědý roztok, který se ponechá přes noc při pokojové teplotě.

Reakce byla prováděna dvakrát s různými navážkami (Tab. 3). Celkové množství připravené sloučeniny bylo 32,93 g.

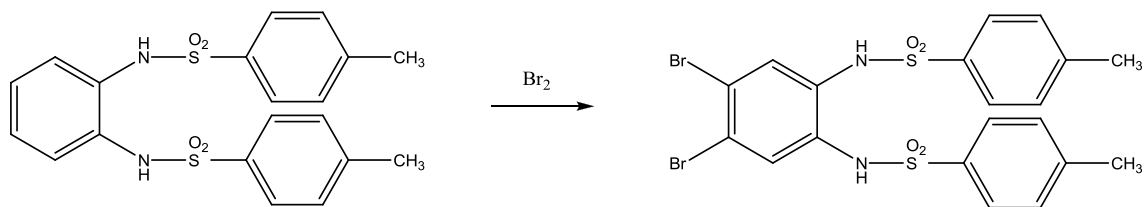
Celkový výtěžek: 32,93 g, tj. průměrně 65,77 % teoretického výtěžku

Molekulová hmotnost: 416,51

Teplota tání: změřená 204-206°C / z literatury 204-205°C ⁸², 206,5-207,5°C ⁸³

7.3. Syntéza 4,5-dibrom-N,N'-*p*-toluensulfonyl-1,2-fenylendiaminu

Schéma reakce:



Reagencie:

Reagencie	První syntéza	Druhá syntéza	Třetí syntéza
N,N'-di- <i>p</i> -toluensulfonyl-1,2-fenylendiamin	2,5 g, 0,006 mol	14,5 g, 0,035 mol	14,5 g, 0,035 mol
brom	1,92 g, 0,012 mol	11,136 g, 0,186 mol	11,136 g, 0,186 mol
octan sodný	1,0 g	5,8 g	5,8 g
kyselina octová (bezvodá)	10 ml	58 ml	58 ml

Tab. 4

Postup⁸⁴:

Připraví se směs N,N'-di-*p*-toluensulfonyl-1,2-fenylendiaminu s octanem sodným v bezvodé kyselině octové. Po kapkách se k této směsi přidává brom za současného chlazení celé soustavy v ledové lázni. Vaří se v glycerinové lázni pod zpětným chladičem po dobu 2 hodin při 100°C. Směs se ochladí, dolije se vodou (přibližně 300 ml). Produkt se odsaje přes fritu. Odsátý produkt se krystalizuje za tepla ledovou kyselinou octovou a zfiltruje se. Pak se nechá ochladit v lázni s ledem. Ochlazením vypadávají krystaly.

Tato sloučenina se připravovala třikrát, vždy s různou navázkou dle tohoto obecného návodu (Tab. 4). Celkově bylo nasyntetizováno 16,44 g této sloučeniny.

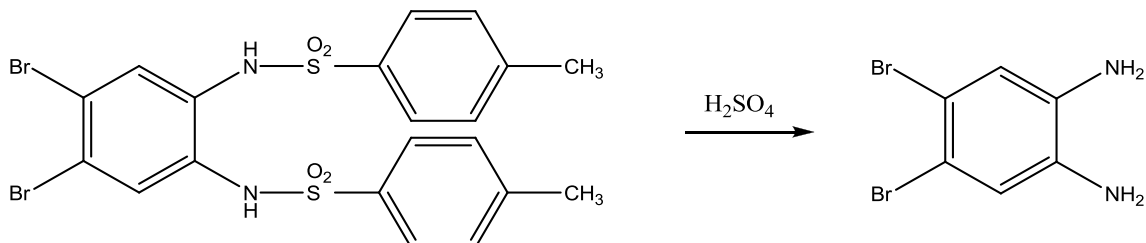
Celkový výtěžek: 16,44g, tj. průměrně 37,85 % teoretického výtěžku

Molekulová hmotnost: 574,31

Teplota tání: změřená 215-218°C / z literatury 221-224°C⁸⁴

7.4 Syntéza 4,5-dibrom-*o*-fenylendiaminu

Schéma reakce:



Reagencie:

4,5-dibrom-N,N'-*p*-toluensulfonyl-1,2-fenylendiamin: 7,0 g, 0,012 mol

kyselina sírová: 17,8 ml, 0,04 M

hydroxid sodný: 2,98g, 0,075 mol

Postup⁸⁴:

K 4,5-dibrom-N,N'-*p*-toluensulfonyl-1,2-fenylendiaminu se přidá kyselina sírová H₂SO₄ 98%, tak aby byly všechny krystaly smyty do suspenze. Směs se míchá při pokojové teplotě asi 20 hodin (přes noc). Z počáteční suspenze se stal čirý nahnědlý roztok. Směs se nalila na přibližně 150 g ledu a doplnila na cca 450 ml vody. Dále se alkalizuje hydroxidem sodným NaOH do bazické reakce. Směs se nalije do dělicí nálevky a 3x se vytřepe s ethylacetátem. Získaná organická fáze se vysuší síranem sodným Na₂SO₄, přefiltruje a odpaří. Produkt se uchovává pod argonem, umístí se do tmy a do mrazáku.

Výtěžek: 2,31 g, tj. 71,30 % teoretického výtěžku

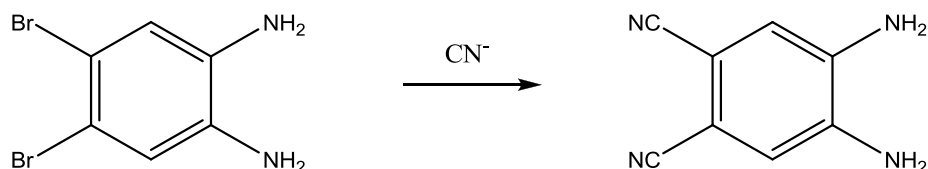
Molekulová hmotnost: 265,93

Teplota tání: 155°C⁸⁴

7.5. Syntéza 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu

Syntéza této byla prováděna opakovaně a to dvěma odlišnými způsoby. První z nich se ukázal pro úspěšnou syntézu jako velmi problematický a získané množství produktu bylo velmi nízké. Naopak druhá metoda se ukázala jako mnohem úspěšnější. Zde bylo použito mikrovln.

Schéma reakce:



Reagencie:

Reagencie	První syntéza	Druhá syntéza
4,5-dibrom- <i>o</i> -fenylendiamin	100 mg, $3,76 \cdot 10^{-4}$ mol	100 mg, $3,76 \cdot 10^{-4}$ mol
DMAC	0,75 ml	0,75 ml
PMHS	7,5 μl	15,0 μl
$[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$	7,5 mg	15,0 mg
DPPF	5,6 mg	11,2 mg
$\text{Zn}(\text{CN})_2$	44,0 mg	88,0 mg

Tab. 5

Postup A⁷⁹:

Postup A se prováděl klasickou chemickou reakcí v baňce. Do baňky se třemi hrdly byl navážen 4,5-dibrom-*o*-fenylendiamin s DMAC a PMHS, vše se přidalo při pokojové teplotě. Baňka se pak umístila do glycerinové lázně a pod zpětný chladič, soustava se zahřála na 110°C. Při této teplotě se postupně přidávalo $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$, DPPF a kyanid železnatý $\text{Zn}(\text{CN})_2$ a nechalo se 2 hodiny zahřívát.

Tímto způsobem se zkoušela sloučenina připravit 2x, navážky uvádí Tab. 5. Při prvním experimentu se použil přesný přepočít reagentů podle obecného návodu, na TLC se ale neprojevovalo uspokojivé proběhnutí reakce. Zkusili jsme proto v průběhu

druhé syntézy 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu tímto způsobem přidat nadbytek katalyzátorů a kyanidových iontů. Ani tím jsme ale nedocílili uspokojivých skvrn o průběhu reakce na TLC ve srovnání se standardem, i tak se ale přidání reagensů jeví jako možný způsob zlepšení průběhu reakce. Syntézu jsme zkusili provést jiným způsobem.

Postup B⁷⁹:

Druhým způsobem byla syntéza dle stejného postupu jako výše (Postup A) za pomoci přístroje mikrovln, reaktoru CEM Explorer – 24 position.

Nejprve se musely optimalizovat podmínky reakce. Ideálního nastavení přístroje pro reakci se docílilo provedením několika experimentů, kdy se měnila doba trvání reakce a teplota. Nakonec se zkusil použít i nadbytek reagensů $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$, $\text{Zn}(\text{CN})_2$, který se osvědčil u předchozího způsobu syntézy (Postup A) a skvrny průběhu reakce byly o něco průkaznější než u předcházejících reakcí. Všechny další syntézy 4,5-dikyano-*o*-fenylendiaminu se po optimalizaci podmínek prováděly způsobem, který se osvědčil jako nejvhodnější.

Při optimalizaci parametrů reakce v mikrovlnném reaktoru se vycházelo z přibližně 20 mg 4,5-dibrom-*o*-fenylendiaminu, který se navázil do 10 ml lahvičky („vialky“) s ostatními reagensy (Tab. 6). Následně se lahvičky vložily do mikrovlnného reaktoru, který se nastavil podle zkoumaných parametrů pro reakci, obecné nastavení přístroje uvádí Tab. 7. Průběh zkoušených reakcí byl ověřován umístěním a zbarvením skvrn na TLC mezi výchozí látkou, syntetizovanou látkou a standardem.

Reagencie	Množství
4,5-dibrom- <i>o</i> -fenylendiamin	20 mg, $7,52 \cdot 10^{-5}$ mol
DMAC	0,15 ml
PMHS	1,5 μ l
[Pd ₂ (dba) ₃]	1,5 mg
DPPF	1,13 mg
Zn(CN) ₂	8,8 mg

Tab. 6

Veličina-parametr	charakteristika
Teplota	mění se veličina, °C
Náběhový čas	30 sekund
Doba reakce	mění se veličina, minuty
Tlak	15 bar
Síla - Energie	200 W
Maximální síla	Vypnuto
Míchání	Vysoké

Tab. 7

Nejprve se zkoušely tyto teploty:

160°C po dobu 15-ti minut

170°C po dobu 15-ti minut

180°C po dobu 15-ti minut

Podle skvrn na TLC byla z dalšího zkoumání vyřazena teplota 180°C, syntéza se opakovala s teplotami:

1. 160°C po dobu 15-ti minut

2. 170°C po dobu 15-ti minut

Ze skvrn TLC byla jako optimální vybrána teplota 170°C.

Po zjištění teploty se přistoupilo k optimalizaci doby reakce při 170°C, syntéza se prováděla se těmito teplotami:

1. 5 minut

2. 15 minut

3. 25 minut

Tímto experimentem se jako nejlepší doba reakce objevila syntéza po dobu 15 minut.

K syntéze produktu uskutečněné při 15 minutách a 170°C se zkusil přidat nadbytek (+25%) katalyzátorů $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$, $\text{Zn}(\text{CN})_2$ a látka se dala ještě na 5 minut při 170°C do mikrovlnného reaktoru. Skvrny proběhlé reakce byly intenzivnější než bez následného přidání katalyzátorů. Rozhodli jsme se proto provádět následující reakce tímto způsobem, tedy při 170°C po dobu 15 minut a následném přidání 25% $[\text{Pd}_2(\text{dba})_3]$, $\text{Zn}(\text{CN})_2$ po dobu 5 minut při 170°C.

Nastavení mikrovlnného reaktoru CEM Explorer – 24 position po optimalizaci podmínek přípravy 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu (Tab. 8).

Veličina-parametr	charakteristika
Teplota	170°C
Náběhový čas	30 sekund
Doba reakce	15 minut
Tlak	15 bar
Síla - Energie	200 W
Maximální síla	Vypnuto
Míchání	Vysoké

Tab. 8

Jednotlivé navážky reagensů po stanovení podmínek průběhu reakce jsou uvedeny v Tab. 9.

Reagencie	První syntéza	Druhá syntéza	Třetí syntéza	Čtvrtá syntéza	Pátá syntéza	Šestá syntéza
4,5-dibrom- <i>o</i> -fenyldiamin	0,1031 g	0,2515 g	0,2517 g	0,2509 g	0,2530 g	0,3018 g
DMAC	0,75 ml	1,89 ml	1,89 ml	1,89 ml	1,89 ml	2,27 ml
PMHS	7,5 µl	18,9 µl	18,9 µl	18,9 µl	18,9 µl	22,7 µl
[Pd ₂ (dba) ₃]	9,38 mg	23,65 mg	23,65 mg	23,65 mg	23,65 mg	28,38 mg
DPPF	5,6 mg	14,19 mg	14,19 mg	14,19 mg	14,19 mg	17,03 mg
Zn(CN) ₂	55,0 mg	138,39 mg	138,39 mg	138,39 mg	138,39 mg	166,05 mg

Tab. 9

Výtěžek: 1,36 g, tj. přes 90 % teoretického surového výtěžku

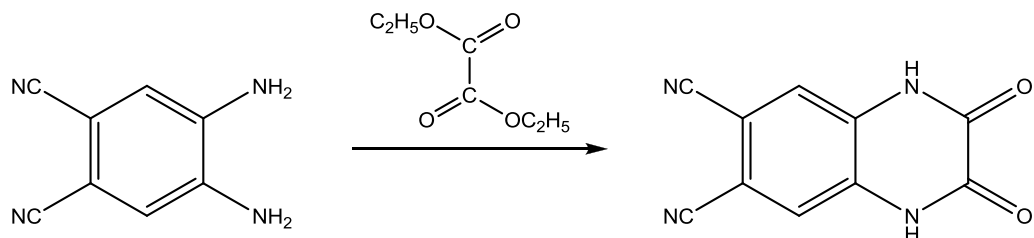
Molekulová hmotnost: 158,16

Teplota tání: 262-264°C⁸⁵, 272-275°C⁸⁶, charakterizace látky nebyla provedena vzhledem k její nízké stabilitě, charakterizace byla provedena až u další sloučeniny.

Produkt byl přečištěn přes kolonu. Zde došlo nejspíše k velkým ztrátám 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu z důvodu jeho nestability na světle a z důvodu přítomných nečistot ve vzorku. Z kolony bylo získáno 97,01 mg vyčištěného 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu.

7.6. Syntéza 2,3-dioxo-1,2,3,4,-tetrahydrochinoxalin-6,7-dikarbonitrilu

Schéma reakce:



Reagencie:

4,5-dikyan-*o*-fenylendiamin: 97,01 mg, 0,61 mmol

diethyloxalát: 3,07 ml

Postup⁸⁷:

4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu se rozpustí v ethanolu a dá se zahřívát ve vodní lázni na 70°C. Po rozpuštění 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu v ethanolu (po cca 5 minutách) se přilije diethyloxalát, teplota se zvedne na 140°C a nechá se zahřívát po dobu 8 hodin. Po té se směs ochladí na pokojovou teplotu a sraženina se přefiltruje a promyje toluenem.

Výtěžek: 49,57 mg, tj. 38,09 % teoretického výtěžku

Molekulová hmotnost: 212,16

Teplota tání: > 300°C⁸⁷

IČ: 31914, 3049, 2237 (CN), 1713, 1691 (C=O)

¹HNMR (300 MHz, [D₆]DMSO): δ = 12.43 (s, 2 H, NH), 7.56 (s, 2 H, CH) ppm.

¹³C NMR (75 MHz, [D₆]DMSO): δ = 108.1, 116.0, 120.0, 130.2, 155.0 ppm.

8. DISKUZE

Azaanalogy ftalocyaninů jsou díky svým zajímavým fotodynamickým vlastnostem vhodnými potencionálními sloučeninami pro využití ve fotodynamické terapii. Díky tomu jsou v dnešní době intenzivně zkoumány. Cílem této práce bylo využití mikrovlnného záření při přípravě prekurzorů vhodných k cyklotetramerizaci azaanalogů naftalocyaninů. K myšlence aplikace mikrovln při syntéze meziproductů syntézy azaanalogů ftalocyaninů v průběhu experimentální části práce bylo přistoupeno kvůli špatnému průběhu syntézy 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu. Nasyntetizovat tuto sloučeninu klasickou chemickou reakcí se prakticky nedařilo, ačkoliv v popsaném návodu k přípravě byly konstatovány vysoké výtěžky a snadný průběh reakce. Potvrzení popsaných myšlenek se nám podařilo právě díky provedení reakce v mikrovlnném reaktoru CEM Explorer – 24 position, kde bylo docíleno dle orientačního hodnocení pomocí TLC surového výtěžku přes 90 %, který však částečně zahrnoval pravděpodobně i monosubstituovaný produkt. Tato část diplomové práce se stala časově nejnáročnějším úsekem.

Aby se podařilo získat co nejvyšší výtěžky a aby se podařilo vhodně modifikovat podmínky klasické syntézy 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu pro aplikaci mikrovln v průběhu reakce, museli jsme provést několik zkušebních experimentů s malými navážkami a zjistit dle skvrn na TLC, které parametry nastavení mikrovlnného reaktoru jsou pro úspěšnost syntézy nejlepší. Bylo nalezeno nastavení vedoucí k velmi vysokým surovým konečným výtěžkům, kterých se docílilo také použitím nadbytku katalyzátorů této reakce. Nastavení jednotlivých parametrů souhrnně uvádí tabulka.

Veličina-parametr	charakteristika
Teplota	170°C
Náběhový čas	30 sekund
Doba reakce	15 minut
Tlak	15 bar
Síla – Energie	200 W
Maximální síla	Vypnuto
Míchání	Vysoké

Kritickým krokem v experimentální části bylo čištění 4,5-dikyan-*o*-fenyldiaminu přes kolonu, kdy došlo k významným ztrátám připravené sloučeniny nejspíše kvůli velké nestabilitě tohoto aminu na světle (oxidaci). Další důvodem této ztráty produktu mohla být vysoká míra nečistot přítomných ve vzorku 4,5-dikyan-*o*-fenyldiaminu. Po vyčištění byl výtěžek 97,01 mg, což činilo 0,07 % původního hodnoceného surového výtěžku.

Posledním krokem experimentální části byla syntéza 2,3-dioxo-1,2,3,4,-tetrahydrochinoxalin-6,7-dikarbonitrilu, který se podařilo připravit ve výtěžku 38,09 %. Tento meziprodukt syntézy pro cyklotetramerizaci azaanalogů naftalocyaninů byl charakterizován IČ a NMR spektry.

9. ZÁVĚR

V rámci diplomové práce byly provedeny syntézy několika meziproductů přípravy tetra[6,7]chinoxalinoporfyrazinů:

N,N'-di-*p*-toluensulfonyl-1,2-fenylendiamin

4,5-dibrom-N,N'-*p*-toluensulfonyl-1,2-fenylendiamin

4,5-dibrom-*o*-fenylendiamin

4,5-dikyan-*o*-fenylendiamin

2,3-dioxo-1,2,3,4,-tetrahydrochinoxalin-6,7-dikarbonitril

Dále se v práci podařilo stanovit a optimalizovat podmínky průběhu syntézy 4,5-dikyan-*o*-fenylendiaminu s využitím mikrovlnného záření v přístroji CEM Explorer – 24 position.

10. LITERATURA

- 1 ARCHIVE: *Fotodynamická terapie*, dostupné z: <http://classic-web.archive.org/web/20080108152949/http://pdt.wz.cz/teorie+PDT.htm> k 3. 5. 2011.
- 2 ZDRAVOTNICKÉ NOVINY: *Diagnostika a terapie některých kožních nemocí za pomoci fotodynamicky aktivních látek*, dostupné z: <http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/diagnostika-a-terapie-nekterych-koznich-nemoci-za-pomoci-fotodyn-166553> k 3. 5. 2011.
- 3 WIKIPEDIA: *Fotodynamická terapie*, dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Fotodynamick%C3%A1_terapie k 3. 5. 2011.
- 4 ACKROYD, R., KELTY, C., BROWN, N., REED, M.: The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.*, 2001, 74, s. 656-669.
- 5 SCHERER, H.: Scherer, H.: Chemisch-physiologische untersuchungen. *Ann. Chem. Pharm.*, 1841, 40, s. 1.
- 6 HOPPE-SEYLER, F.: The haemamins. *Tubinger Med. Chem. Untersuchungen*, 1871, 4, s. 523-533.
- 7 FINSEN, N.: Phototherapy. London: Arnold; 1901: In ZIMČÍK, P., MILETÍN, M.: *Photodynamic therapy*, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Charles University in Prague, 66s.
- 8 RAAD, O.: Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien. *Z. Biol.*, 1900, 39, s. 524-546.
- 9 VON TAPPEINER, H., JESIONEK, A.: Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen. *Münch. Med. Wochenschr.*, 1903, 47, s. 2042-2044.
- 10 VON TAPPEINER, H., JESIONEK, A.: Über Wirkung der photodynamischen (fluoreszierenden) Stoffe auf Protozan und Enzyme. *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, 1904, 80, s. 427-487.
- 11 VON TAPPEINER, H., JODLBAUER, A.: Die Sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Substanzen. Gesamte Untersuchungen über die photodynamische Erscheinung. Leipzig: F. C. W. Vogel; 1907.

-
- 12 MEYER-BETZ, F.: Untersuchungen über die Biologische (photodynamische) Wirkung des Haematoporphyrins und anderer Derivative des Blut- und Galenfarbstoffs. *Dtsch. Arch. Klin. Med.* 1913, 112, s. 476-503.
- 13 LIPSON, R. L., BALDES, E. J., OLSEN, A. M.: Use of a Derivative of Hematoporphyrin in Tumor Detection. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1961, 26, S. 1-11.
- 14 LIPSON, R. L., BALDES, E. J., OLSEN, A. M.: Further Evaluation of the Use of Hematoporphyrin Derivative as a New Aid for the Endoscopic Detection of Malignant Disease. *Dis. Chest*, 1964, 46, s. 676-679.
- 15 GRAY, M. J., LIPSON, R. L., MAECK, J. V., PARKER, L., ROMEYN, D.: Use of Hematoporphyrin Derivative in Detection and Management of Cervical Cancer – a Preliminary Report. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1967, 99, 766-771.
- 16 DIAMOND, I., GRANELLI, S. G., MCDONAGH, A. F., et. al.: Photodynamic Therapy of Malignant Tumors, *Lancet*, 1972, 2, s. 1175-&.
- 17 LIPSON, R. L., GRAY, M. J., BALDES, E. J.: *Ninth Internat. Cancer Congr., Tokyo, japan*, 1966, s. 393.
- 18 DOUGHERTY, T. J., KAUFMAN, J. E., GOLDFARB, A., WEISHAUP, K. R., BOYLE, D., MITTLEMAN, A.: Photoradiation Therapy for Treatment of Malignant-Tumors. *Cancer Res.*, 1978, 38, s. 2628-2635.
- 19 HAYATA, Y., KONAKA, C., TAKIZAWA, N. AND KATO, H.: Hematoporphyrin Derivate and Laser Photoradiation in the Treatment of Lung-Cancer. *Chest*, 1982, 81, s. 269-277.
- 20 MCCAUGHAN, J.S., HICKS, W., LAUFMAN, L., MAY, E. AND ROACH, R.: Palliation of Esophageal Malignancy with Photoradiation Therapy. *Cancer*, 1984, 54, s. 2905-2910.
- 21 BARR, H., KRASNER, N., BOULOS, P.B., CHATLANI, P. AND BROWN, S.G.: Photodynamic Therapy for Colorectal-Cancer – a Quantitative Pilot-Study. *Br. J. Surg.*, 1990, 77, s. 93-96.
- 22 LAWS, E.R., CORTESE, D.A., KINSEY, J.H., EAGEN, R.T. AND ANDERSON, R.E.: Photoradiation Therapy in the Treatment of Malignant Brain-Tumors – a Phase-I (Feasibility) Study. *Neurosurgery*, 1981, 9, 672-678.

-
- 23 ZIMČÍK, P., MILETÍN, M.: Fotodynamická terapie jako nová perspektivní metoda léčby nádorových onemocněníI. Historie, základní princip, *Čes.Slov.Farm.*, 2004, 53(5), s. 219.
- 24 JIANG, H. J., GRANVILLE, D. J., NORTH, J. R., RICHTER, A. M. AND HUNT, D. W. C.: Selective action of the photosensitizer QLT0074 on activated human T lymphocytes. *Photochem. Photobiol.*, 2002, 76, s. 224-231.
- 25 SHARMAN, W. M., ALLEN, C. M., VAN LIER, J. E.: *Methods Enzymol.*, 2000, 319, s. 376.
- 26 HENDERSON, B. W. AND FINGAR, V. H.: Relationship of Tumor Hypoxia and Response to Photodynamic Treatment in an Experimental Mouse-Tumor. *Cancer Res.*, 1987, 47, s. 3110-3114.
- 27 CASTANO, A. P., DEMIDOVA, T. N. AND HAMBLIN, M. R.: Mechanisms in photodynamic therapy: part one--photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 2001, 1, s. 279-293.
- 28 ZIMČÍK, P., MILETÍN, M.: Fotodynamická terapie jako nová perspektivní metoda léčby nádorových onemocnění. Přehled fotosenzitizerů, *Čes.Slov.Farm.*, 2004, 53(6), s. 271- 279.
- 29 STERNBERG, E. D., DOLPHIN, D. AND BRUCKNER, C.: Porphyrin-based photosensitizers for use in photodynamic therapy. *Tetrahedron*, 1998, 54, s. 4151-4202.
- 30 ARMSTRONG, N. R.: Phthalocyanines and porphyrins as materials. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 2000, 4, s. 414-417.
- 31 STRAŠÁK, T., KLUSOŇ, P., Fotokatalytické vlastnosti ftalocyaninů, dostupné z: <http://www.vscht.cz/kot/resources/svk2005/strasak.pdf> k 3. 5. 2011.
- 32 KLUSOŇ, P., KRÝSA, J. (Ed.): Nanomateriály a fotokatalýza-sborník příspěvků, dostupné z: <http://www.nanopin.cz/pdf/sbornik08.pdf> k 3. 5. 2011.
- 33 ALI, H. AND VAN LIER, J. E.: Metal complexes as photo- and radiosensitizers. *Chem. Rev.*, 1999, 99, s. 2379-2450.
- 34 ALLEN, C. M., SHARMAN, W. M. AND VAN LIER, J. E.: Current status of phthalocyanines in the photodynamic therapy of cancer. *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 2001, 5, s. 161-169.

-
- 35 BORGATTI-JEFFREYS, A., HOOSER, S. B., MILLER, M. A. AND LUCROY, M. D.: Phase I clinical trial of the use of zinc phthalocyanine tetrasulfonate as a photosensitizer for photodynamic therapy in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2007, 68, s. 399-404.
- 36 CLINICALTRIALS.GOV: Photodynamic Therapy Using Silicon Phthalocyanine 4 in Treating Patients With Actinic Keratosis, Bowen's Disease, Skin Cancer, or Stage I or Stage II Mycosis Fungoides, dostupné z:
<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00103246?term=pc4&rank=1> k 3. 5. 2011
- 37 MILLER, J. D., NANCY, O., SCULL, H. M., HSIA, A., COOPER, K. D. AND BARON, E. D.: Phase I clinical trial using topical silicon phthalocyanine Pc 4-photodynamic therapy for the treatment of malignant and pre-malignant skin conditions: an update. *J. Invest. Dermatol.*, 2006, 126, s. 46-46.
- 38 SHOPOVA, M., WOEHRLE, D., MANTAREVA, V. AND MUELLER, S.: Naphthalocyanine complexes as potential photosensitizers for photodynamic therapy of tumors. *J. Biomed. Opt.*, 1999, 4, s. 276-285.
- 39 BIOLO, R., JORI, G., SONCIN, M., PRATESI, R., VANNI, U., RIHTER, B., KENNEY, M. E. AND RODGERS, M. A. J.: Photodynamic Therapy of B16 Pigmented Melanoma with Liposome-Delivered Si(IV)-Naphthalocyanine. *Photochem. Photobiol.*, 1994, 59, s. 362-365.
- 40 ALI, H. AND VAN LIER, J. E.: Metal complexes as photo- and radiosensitizers. *Chem. Rev.*, 1999, 99, s. 2379-2450.
- 41 STERNBERG, E. D., DOLPHIN, D. AND BRUCKNER, C.: Porphyrin-based photosensitizers for use in photodynamic therapy. *Tetrahedron*, 1998, 54, s. 4151-4202.
- 42 ŠAULINOVÁ J., *ChemMagazín*, č. 1, ročník XV, 2005, s. 8-10 in: LIŠKOVÁ, M.: *Syntézy za neklasických podmínek - E-Learningový kurs*, Závěrečná práce (Diplomová práce), 2008, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Brno, 247 s.
- 43 WIKIPEDIA: *Mikrovlny*, dostupné z:
<http://cs.wikipedia.org/wiki/Mikrovlny> k 3. 5. 2011.
- 44 FYZWEB: *Jak funguje mikrovlnná trouba*, dostupné z:
<http://fyzweb.cuni.cz/new/clanky/index.php?id=44> k 3. 5. 2011.

-
- 45 WIKIPEDIA: *James Clerk Maxwell*, dostupné z:
http://cs.wikipedia.org/wiki/James_Clerk_Maxwell k 3. 5. 2011.
- 46 EARTHLYISSUES: *Microwaves*, dostupné z:
<http://www.earthlyissues.com/microwaves.htm> k 3. 5. 2011.
- 47 MINDFULLY: *The Microwave Oven Cooks Food Quickly by Microwave Radiatio*,
dostupné z: <http://www.mindfully.org/Technology/Microwave-Oven24jan50.htm>
k 3. 5. 2011.
- 48 WIKIPEDIA: *Percy Spencer*, dostupné z:
http://cs.wikipedia.org/wiki/Percy_Spencer k 3. 5. 2011.
- 49 LANCASTER M.: *Green Chemistry: An Introductory Text*, Royal Society of
Chemistry, Cambridge, 2002, ISBN 0-85404-620-8.
- 50 TOMA Š., *Chem. Listy*, 1993, 87, s. 627-644 in: LIŠKOVÁ, M.: *Syntézy za
neklasických podmínek - E-Learningový kurs, Závěrečná práce (Diplomová práce)*,
2008, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Brno, 247 s.
- 51 LINDSTRÖM P., TIERNEY J., WATHEY B., WESTMAN J.: Microwave assisted
organic synthesis - a review, *Tetrahedron Lett.*, 2001, 57, s. 9225-9283.
- 52 NOHAVOVÁ, T., JEŽKOVÁ, T., MARKOVÁ, T.: *Mikrovlny*, dostupné z:
<http://fyzsem.fjfi.cvut.cz/2008-2009/Leto09/proc/mikrovlny.pdf> k 3. 5. 2011.
- 53 HÁJEK, M., *Mikrovlny v chemických reakcích*, dostupné z:
[http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/Public/30/048/30048756.p
df](http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/Public/30/048/30048756.pdf) k 3. 5. 2011.
- 54 PAZDERA P., ŠIBOR J.: Synthesis of Some New Five-membered Heterocycles
Containing Selenium and Tellurium, *Molecules*, 1996, 1, s. 157-162.
- 55 HÁJEK, M., *Mikrovlny v akci*, dostupné z: [http://archiv.otevrena-
veda.cz/users/Image/default/C2Seminare/MultiObSem/112.pdf](http://archiv.otevrena-veda.cz/users/Image/default/C2Seminare/MultiObSem/112.pdf) k 3. 5. 2011.
- 56 TIERNEY J., LIDSTROM P. (Ed.): *Microwave Assisted Organic Synthesis*,
Blackwell Publishing Ltd, Oxford, 2005, 208 s., ISBN 1-4051-1560-2.
- 57 DE LERA GROUP: *Microwave explorer CEM*, dostupné z:
<http://webs.uvigo.es/delera/equipos.html> k 3. 5. 2011.
- 58 CEM: *Explorer 48 – position*, dostupné z:
<http://www.cem.com/page37.html> k 3. 5. 2011.

-
- 59 CEM: *About CEM*, dostupné z:
http://www.cem.com/e107_plugins/content/content.php?content.66 k 3. 5. 2011.
- 60 CEM: *Explorer 24 – position*, dostupné z:
<http://www.cem.com/page36.html> k 3. 5. 2011.
- 61 CEM: *Organic/Medicinal Chemistry*, dostupné z:
<http://www.cem.com/page120.html> k 3. 5. 2011.
- 62 HERZ, W., DICK, H.: The Speed Effect of Bromine on Benzaldehyd, *Ber.*, 1908, 41, s. 2645-2648.
- 63 BRUNER, L., VORBRODT, J. *Bull. Intern. Acad. Sci.*, 1909, 1909, s. 221: In SCHWARZ, J.: *Syntéza a spektrofotometrické hodnocení azaznalogů phthalocyaninů I*, Diplomová práce. 2003. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 55 s.
- 64 RUPE, H., KESSLER, S.: The impact of negative groups on the formation of the semicarbons *Ber.*, 1909, 42, s. 4715-4720.
- 65 COWPER, R. M., DAVIDSON, L. H.: Phenacyl bromide, *Org. Syntheses*, 1943, 2, s. 480-481.
- 66 ČERVINKA, O., DĚDEK, V., FERLES, M.: *Organická chemie*, Informatorium, Praha, 1991, 792 s., ISBN 80-85427-03-6, s. 218.
- 67 ČERVINKA, O., DĚDEK, V., FERLES, M.: *Organická chemie*, Informatorium, Praha, 1991, 792 s., ISBN 80-85427-03-6, s. 419.
- 68 ČELADNÍK, M., et al.: *Organická chemie*, Avicenum, Praha, 1990, 596 s., ISBN 80-201-0093-8, s. 354-355.
- 69 ČERVINKA, O., DĚDEK, V., FERLES, M.: *Organická chemie*, Informatorium, Praha, 1991, 792 s., ISBN 80-85427-03-6, s. 445.
- 70 BIRD, C., W. *Tetrahedron*, 1992, 48, 335
- 71 ČERVINKA, O., DĚDEK, V., FERLES, M.: *Organická chemie*, Informatorium, Praha, 1991, 792 s., ISBN 80-85427-03-6, s. 458
- 72 ČELADNÍK, M., et al.: *Organická chemie*, Avicenum, Praha, 1990, 596 s., ISBN 80-201-0093-8, s. 361.

-
- 73 DE LA TORRE, G.; CLAESSENS, C. G.; TORRES, T.: *Chem. Commun.* 2007, s. 2000. (b) HANACK, M.; HECKMANN, H.; POLLEY, R.: *Methods of Organic Chemistry (Houben-Weyl)*; Thieme. Stuttgart, 1997, s. 717. (c) LEZNOFF, C. C.: *Phthalocyanines: Properties and Applications*; VCH Publishers, Inc.: New York, 1989, s. 1 (d) HANACK, M. LANG, M.: *Adv. Mater.* 1994, 6, s. 819.
- 74 SHARMAN, W. M.; VAN LIER, J. E.: In *Porphyrin handbook*, Vol. 15; KADDISH, E.; SMITH, K. M. GUILARD, R., Eds. ; Academic Press: New York, 2003, 1.
- 75 FRIEDMAN, L.; SHECHTER, H.: Dimethylformamide as a useful solvent in preparing nitriles from aryl halides and cuprous cyanide - Improved isolation techniques, *J. Org. Chem.* 1961, 26, s. 2522-&.
- 76 HANACK, M.; DRECHSLER, U.: An easy route from catechols to phthalonitriles, *Synlett*, 1998, 11, s. 1207-+.
- 77 (a) ZHU, Y. Z.; CAI, C.: *Eur. J. Org. Chem.* 2007, 2401. (b) WEISSMAN, S. A.; ZEWGE, D.; CHEN, C.: *J. Org. Chem.*, 2005, 70, s. 1508. (c) SUNDERMEIER, M.; ZAPF, A.; BELLER, M. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2003, 3513.
- 78 (a) TSUJI, J. *Transition Metal Reagents and Catalysts – Innovations in Organic Synthesis*; John Wiley and Sons; Chichester, 2000. (b) BRANDSMA, L.; VASILEVSKY, S. F.; VERKRUIJSSE, H. D. *Application of Transition Metal Catalysts in Organic Synthesis*; Springer: Berlin, Heidelberg, 1999, 149. (c) HECK, R. F. *Palladium Reagents in Organic Syntheses*; Academic Press: London, 1985.
- 79 IQBAL, Z.; LYUBIMTSEV, A.; HANACK, M.: Synthesis of Phthalonitriles Using a Palladium Catalyst, *Synlett* 2008, No. 15, s. 2287-2290.
- 80 MARTIN, M. T.; LIU, B.; COOLEY, B. E. JR.; EADDY, J. F.: Open air Palladium catalyzed cyanation – The use of PMHS to protect from oxygen, *Tetrahedron Lett.*, 2007, 48, s. 2555-2557.
- 81 SIBERT, J., W. et al.: Synthesis of N,N'-di-p-toluensulfonyl-1,4- fenylendiamin, *Tetrahedron*, 2005, 61, s. 12350-12357.
- 82 ELDERFIELD; MEYER: *Journal of the American Chemical Society*; 1954, 76, s. 1891, ISSN: 0002-7863.
- 83 CHEESMAN, G., W.: *Journal of The Chemical Society*; 1995; 3308; ISSN: 0368-1769.

-
- 84 CHEESEMAN, G. W.: Quinoxalines and Related Compounds. Part VI. Substitution of 2,3-Dihydroxyquinoxaline and its 1,4-Dimethyl Derivate, *J. Org. Chem.*, 1962, 4, s. 1170.
- 85 BURMESTER CH., FAUST R.: A reliable route to 1,2-diamino-4,5-phthalodinitrile. *Synthesis* 2008, 8, s. 1179-1181.
- 86 YOUNGBLOOD, W., J.: Synthesis of a new trans-A(2)B(2) phthalocyanine motif as building block for building block for rodlike phthalocyanines polymers, *J. Org. Chem.*, 2006, 71(9), s. 3345-3356.
- 87 MUSIL Z., ZIMCIK P., MILETIN M., KOPECKY K. LENCO J.: Synthesis, Separation and UV/Vis Spectroscopy of Pyrazino-quinoxalinoporphyrazine Macrocycles. *Eur. J. Org. Chem.* 2007, s. 4535–4542.