

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ CHEMIE A KONTROLY LÉKŮ IV



DIPLOMOVÁ PRÁCE

SYNTÉZA ARYLSULFANYL FTALOCYANINŮ A JEJICH AZA-ANALOGŮ

Vedoucí diplomové práce: doc. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.



HRADEC KRÁLOVÉ, 2016

ANNA MÁLKOVÁ

šProhla-uji, že tato práce je mým p vodním autorských dílem. Ve-kerá literatura a dal-í zdroje, z nichž jsem p i zpracování erpala, jsou uvedeny v seznamu poufíté literatury a v práci jsou ádn citovány. Práce nebyla poufítá k získání jiného nebo stejného titulu.õ

V Hradci Králové 11.5.2016

Podpis:

Poděkování

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala svému vedoucímu doc. PharmDr. Petru Zimčíkovi, Ph.D., dále doc. PharmDr. Veronice Novákové, Ph.D. a celému kolektivu AzaPc group za ochotu, trpělivost, mnoho cenných rad i velmi příjemnou pracovní atmosféru.

Na průběhu výsledcích mé práce se též podíleli doc. PharmDr. Jiří Kuneš, CSc. (NMR spektra), Iva Vencovská (IR spektra), Věnceslava Hronová (elementární analýzy) a PharmDr. Juraj Lenko, Ph.D. (MS spektra), za jejich práci jsem rovněž velmi vděčná.

Za finanční podporu děkuji SVV 260 291 a grantu GAUK 1182313.

Obsah

1. SEZNAM ZKRATEK	6
2. ABSTRAKT	7
3. ABSTRACT.....	8
4. CÍL PRÁCE	9
5. TEORETICKÁ ÁST.....	10
5.1 Ftalocyaniny.....	10
5.1.1 Ftalocyaniny ó struktura.....	10
5.1.2 Ftalocyaniny ó centrální atom.....	11
5.1.3 Ftalocyaniny ó polohy substituent	11
5.2 Aza-analogy ftalocyanin	11
5.2.1 Tetrapyrazinoporfyraziny	12
5.3 Modifikace struktury	13
5.4 Absorp ní spektra.....	14
5.5 Agregace	15
5.6 Aplikace.....	16
5.6.1 Fotodynamická terapie	16
5.6.2 Zhá-e e a senzory.....	21
5.6.3 Barviva a pigmenty	22
5.6.4 Dal-í pouffití.....	22
6. METODOLOGICKÁ ÁST	23
6.1 Newman-Kwart v p esmyk.....	23
6.1.1 Newman-Kwart v p esmyk za zvý-ené teploty.....	24
6.1.2 Lloyd-Jonesova reakce	25
6.1.3 Fotoredoxní katalýza	25
6.1.4 Newman-Kwartova reakce s využitím mikrovlnného zah ívání.....	25
6.2 TM pení disulfid	26
6.3 Jiné metody p ípravy thiol	27
6.3.1 Alkylace sulfid	27
6.3.2 Reakce diazoniových solí.....	28
7. EXPERIMENTÁLNÍ ÁST	29
7.1 Syntéza 2,6-difenylfenyl- <i>O</i> -dimethylkarbamothioátu (2).....	29
7.2 Syntéza 2,6-difenylfenyl- <i>S</i> -dimethylkarbamothioátu (3).....	30

7.3	Syntéza 2,6-difenylfenylthiolu (4)	31
7.4	Syntéza 5,6-bis(2,6-difenylfenylsulfanyl)ftalonitrilu (5a).....	32
7.5	Syntéza 5,6-bis(2,6-difenylfenylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (5b).....	33
7.6	P íprava ho e natého komplexu 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis (2,6-difenylfenylsulfanyl)ftalocyaninu (6a-Mg)	34
7.7	P íprava ho e natého komplexu 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis (2,6-difenylfenylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (6b-Mg).....	35
7.8	P íprava 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(2,6-difenylfenylsulfanyl) ftalocyaninu (6a-2H)	36
7.9	P íprava 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(2,6-difenylfenylsulfanyl)- 1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (6b-2H)	37
7.10	P íprava zine natého komplexu 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis (2,6-difenylfenylsulfanyl)ftalocyaninu (6a-Zn)	38
7.11	P íprava zine natého komplexu 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis (2,6-difenylfenylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (6b-Zn).....	38
7.12	M ení agregace	39
8.	DISKUSE.....	40
8.1	Diskuze ó syntetická ást.....	41
8.2	M ení agregace	46
9.	ZÁV R.....	52
10.	POUÍITÁ LITERATURA.....	53

1. SEZNAM ZKRATEK

$^1\text{O}_2$ = singletový kyslík

ALA = kys. -aminolevulová (kys. 5-amino-4-oxopentanová)

Ar-atm. = argonová atmosféra

AzaPc (AzaPhthalocyanines) = azaftalocyaniny

CSS = charge separated state

DMH = *N,N'*-dimethyl-*N,N'*-bis(merkptoacetyl)hydrazin

DMSO = dimethylsulfoxid

DTT = *DL*-dithiothreitol

I = infra ervená oblast sv tla

HPD = deriváty hematoporfyrinu

LED (light emitting diode) = dioda emitující sv tlo

MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionization ó time of flight)

NMP = *N*-methyl-2-pyrrolidon

Pc (phthalocyanine) = ftalocyanin

PDT (photodynamic therapy) = fotodynamická terapie

PS (photosensitizer) = fotosenzitizér

RET (resonance energy transfer) = rezonan ní p enos energie

ROS (reactive oxygen species) = kyslíkové radikály

THF = tetrahydrofuran

TLC (thin layer chromatography) = chromatografie na tenké vrstv

UV-Vis (ultra violet-visible) = ultrafialová a viditelná oblast sv tla

UZ = ultrazvuk

2. ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv

Kandidát: Anna Málková

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

Téma práce: Syntéza arylsulfanyl ftalocyaninů a jejich aza-analogů.

Ftalocyaniny (Pc) a jejich aza-analogy (AzaPc) jsou sloučeniny využívané se v rámci fotodynamické terapie. Jsou charakterizovány rozličnými fotofyzikálními vlastnostmi, které se mění v závislosti na charakteru periferních substituentů. Například součet kvantových výtoků singletového kyslíku a fluorescence dosahuje obvykle hodnot okolo 1 u komplexů s centrálními kationty kovů (např. Mg^{2+} , Zn^{2+}), zatímco bezkovové deriváty se v tomto ohledu liší, jejich hodnoty jsou nižší. Předpokládáme, že toto chování by mohlo souviset s velikostí periferních substituentů.

Cílem této práce byla syntéza různých komplexů ftalocyaninů a jeho aza-analogů substituovaných objemným 2,6-difenylfenylsulfanyllovým substituentem jako látek určených pro studium fotofyzikálních vlastností.

Syntéza začínala komerčně dostupným 2,6-difenylfenolem, který byl pomocí dimethylkarbamoylchloridu převeden na příslušný *O*-karbamothioát. Použitím Newman-Kwartova přesmyku za vysokých teplot se podařilo získat isomerní *S*-karbamothioát, a ten zredukovat pomocí $LiAlH_4$ na příslušný thiol. 2,6-Difenylfenylthiol vstupoval následně do nukleofilní substituce se dvěma prekursorů aromatickými dikarbonitrily s pyrazinovým a benzenovým jádrem. Následující cyklotetramerizační reakce a výměny centrálních kationtů vedly k tvorbě Pc a AzaPc makrocyclů s různými centrálními atomy (Mg^{2+} , $2H$, Zn^{2+}), které byly podrobeny fotofyzikálnímu měření. Zkoumali jsme také jejich tendence k agregaci v toluenu.

3. ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department: Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control

Candidate: Anna Málková

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

Title of Thesis: Synthesis of arylsulfanyl phthalocyanines and their aza-analogues.

Phthalocyanines (Pcs) and their aza-analogues (AzaPc), chemical substances used in photodynamic therapy, are characterized by interesting photophysical properties which may substantially vary in dependence on the character of peripheral substituents. For example, sum of singlet oxygen and fluorescence quantum yields reaches typically a value of 1 for Mg and Zn complexes while is significantly decreased for metal-free derivatives. It has been suggested from several previous experiments that this effect can be influenced by bulkiness of the peripheral substituents.

The aim of this work was the synthesis of bulky 2,6-diphenylphenylsulfanyl substituted Pcs and AzaPcs with subsequent study of their photophysical properties.

The synthesis started from 2,6-diphenylphenol, a commercially available substance, which was converted to corresponding *O*-carbamothioate with dimethylcarbonylchloride. Isomeric *S*-carbamothioate was prepared using Newman-Kwart rearrangement at high temperatures and then reduced to corresponding thiol with LiAlH₄. 2,6-Diphenylphenylthiol was used for the nucleophilic substitution of two dicyanitrile precursors with pyrazine and a benzene ring. Subsequent cyclotetramerization and following exchange of the central cations led to the Pc and AzaPc macrocycles bearing different central atoms (Mg, 2H, Zn) that were subject of the following photophysical study. Tendency of Pcs and AzaPcs to aggregation in toluene was also evaluated.

4. CÍL PRÁCE

Cílem mé práce byla syntéza *–*esti slou enin, které se sestávají ze dvou typ jader ó ftalocyaninového a azaftalocyaninového. V centru t chto molekul jsou zastoupené ionty ho e naté a zine naté, jeden derivát je bezkovový. Tyto slou eniny váflou na periferii objemný substituent 2,6-difenylfenylový, který je na tyto jádra vázán jako thioether (Schéma 1, substituent E).

Tato syntéza má doplnit sérii d íve syntetizovaných a áste n testovaných látek (Schéma 1, substituenty ó oktyl (A), 2-ethylhexyl (B), *terc*-butyl (C), 2,6-diisopropylfeny (D)) se zám rem studovat závislost objemnosti substituentu na formu deaktivá ní cesty energie získané molekulou po ozá ení. V rámci této diplomové práce budou p ípravené slou eniny podrobeny také m ení schopnosti agregovat se snahou potvrdit p edpoklad ú inné inhibice agregace takto objemnými substituenty.

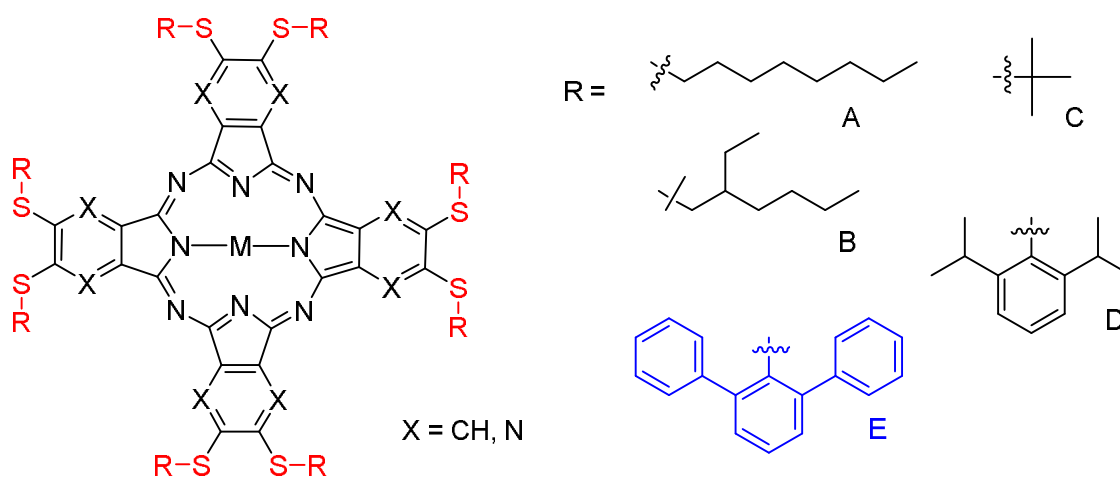


Schéma 1: Ftalocyaninové (X = CH) a azaftalocyaninové (X = N) jádro s r znými periferními substituenty.

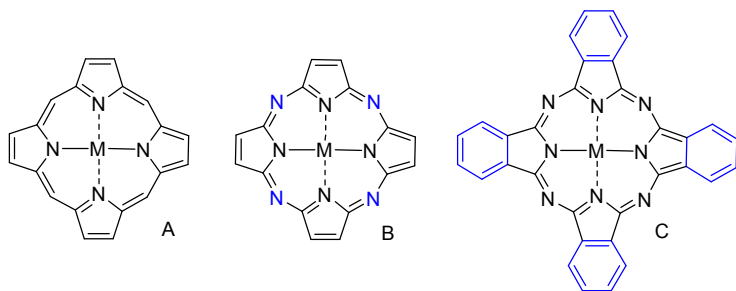
5. TEORETICKÁ ÁST

5.1 Ftalocyaniny

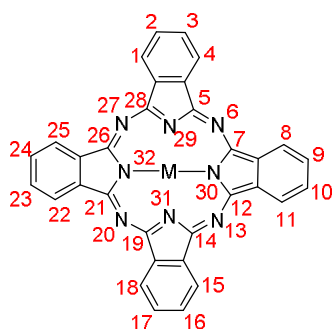
Ftalocyaniny (phthalocyanines, Pc) jsou planární makrocyclické sloučeniny ze skupiny tetrabenzoporfyrinů. Poprvé byly objeveny v roce 1907 v laboratoři dvojice Braun a Tsherniac při přípravě 2-kyanobenzamidu, kdy vznikly jako vedlejší tmavě modrý nerozpustný produkt (v současné době známé jako bezkovové Pc) [1]. Pc se již po desítky let používají jako pigmenty a barviva (zvláště v barvách modré a zelené), tvoří 25 % syntetických organických barviv [2]. Ftalocyaniny i jejich aza-analogy dosahují výborných výsledků v rámci fotodynamické terapie (PDT), neméně cenné je využití v diagnostice jako fluorescenční senzory, zejména fluorescence [3].

5.1.1 Ftalocyaniny a struktura

Struktura Pc je odvozena od přírodních porfyrinů (Obrázek 1) [4].



Obrázek 1: Strukturální předlohy ftalocyaninů – porfyrin (A), porfyrin (B), ftalocyanin (C).



Obrázek 2: Číslování obecného vzorce Pc.

Právný název Pc je 29*H*, 31*H*-tetrabenzo[*b,g,l,q*]-5,10,15,20-tetraazaporfin[2].

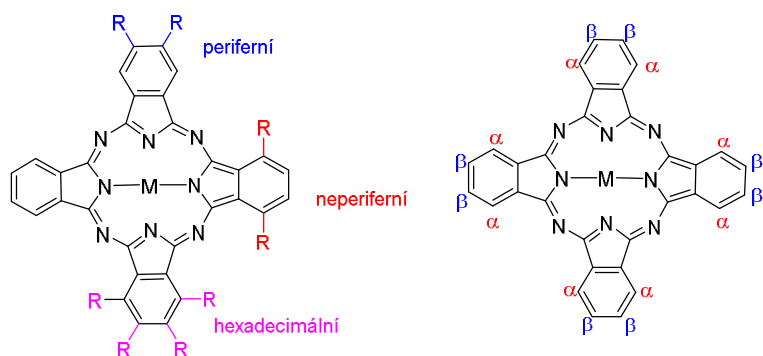
Ve své struktuře Pc obsahují systém konjugovaných dvojných vazeb, díky kterému vykazují specifické fotofyzikální a fotochemické vlastnosti. Jsou složeny ze 4 isoindolových jednotek, spojenými dusíkovými mostky (Obrázek 2) [5].

5.1.2 Ftalocyaniny o centrální atom

V centru molekuly může být umístěn kation kovu, polokovu, nebo zde mohou být 2 atomy vodíku (tj. derivát bezkovový). Dle typu kationtu se mění polohy pásů v absorpčních spektrech, charakter oxidoredukčních vlastností, schopnost emise fotonů ve formě fluorescence a produkce singletového kyslíku. Z polokovů a kovů diamagnetických se vyvíjejí nejčastěji Zn^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} a Si^{4+} . Jejich kationty ovliví fotofyzikální vlastnosti molekuly (zlepí účinnost fotodynamické terapie - prodlouží existenci tripletového stavu fotosenzitizeru [6]). Kationty paramagnetických kovů (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+}) v komplexu zlepšují redoxní vlastnosti a jsou proto využívány jako katalyzátory [3][4].

5.1.3 Ftalocyaniny o polohy substituent

V závislosti na umístění substituentu rozlišíme **polohy periferní** () a **polohy neperiferní** (). Pokud jsou substituenty vázány na Pc jádro ve všech polohách, označíme tuto substituci jako **hexadecimální** (Obrázek 3) [1][4].



Obrázek 3: Možné polohy substituentů na periférii.

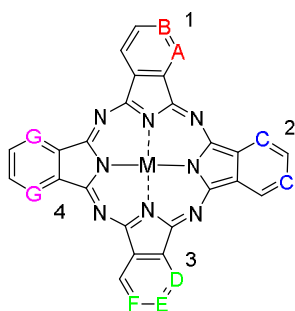
5.2 Aza-analogy ftalocyanin

Azaftalocyaniny ve své struktuře obsahují izosterní záměnu methinu v benzenovém jádru za dusík a tvoří tak nejčastěji aza-analogy. Dle počtu atomů dusíku (Obrázek 4,

tabulka 1) a jejich umístění tak rozeznáváme jádra pyridinová (modifikace .1), pyrimidinová (.2), pyridazinová (.3) a pyrazinová (.4) [3].

Tabulka 1

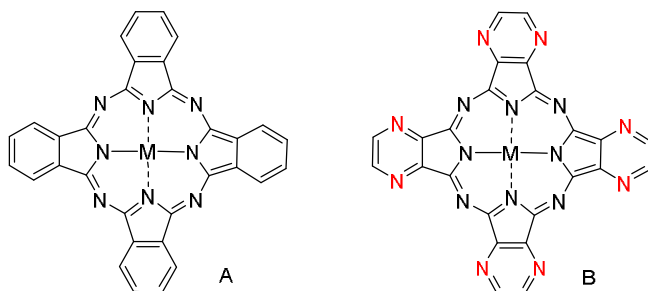
modifikace	název	A	B	C	D	E	F	G
1	tetra[2,3]pyridoporfyrazin	N	-	-	-	-	-	-
1	tetra[3,4]pyridoporfyrazin	-	N	-	-	-	-	-
2	tetrapyrimidinoporfyrazin	-	-	N	-	-	-	-
3	tetra[3,4]pyridazinoporfyrazin	-	-	-	N	N	-	-
3	tetra[4,5]pyridazinoporfyrazin	-	-	-	-	N	N	-
4	tetrapyrazinoporfyrazin	-	-	-	-	-	-	N



Obrázek 4: Aza-analogy ftalocyanin .

5.2.1 Tetrapyrazinoporfyraziny

Tato práce bude popisovat aza-analogy Pc, obsahující v polohách 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22 a 25 atom dusíku. Tento typ struktury bývá označován jako tetrapyrazinoporfyrazin nebo n kdý se pro něj používá poněkud nepřesný pojem azaftalocyanin (AzaPc), zejména proto, že patří k nejznámějším a nejstudovanějším analogům (Obrázek 5) [4].



Obrázek 5: Obecné vzorce: A ó ftalocyanin, B ó azaftalocyanin (tetrapyrazinoporfyrazin).

Azaftalocyaniny jsou na rozdíl od Pc více elektrondeficitní díky vým n methinových skupin v benzenovém jád e za dusíky. Z hlediska fotofyzikálních vlastností mají AzaPc kvantové výt flky produkce singletového kyslíku nižší a vyulívají tak více deaktivaci pomocí vyzá ení fluorescence, kdefto u Pc je to naopak (v porovnávání molekul se stejnými periferními substituenty i centrálním kationtem) [3]. Rozdíly jsou ov-em velice malé.

Mezi výhodné vlastnosti AzaPc (ale i Pc) pro r zné aplikace lze za adit jejich vysoké kvantové výt flky singletového kyslíku a vhodný rozsah absorpce sv tla k excitaci (660-700 nm). Av-ak planárním tvarem makrocyklu asto dochází k tvorb dimer a vy-ích agregát . Dochází tak ke zhá-ení excitovaných stav a tím pádem nevzniká singletový kyslík. Tyto látky jsou téfl velmi -patn rozpustné ve vod . Dv vý-e uvedené negativní vlastnosti AzaPc lze eliminovat objemnými substituenty navázanými na jádro, nebo substituenty s náboji, kdy poté dochází k potla ení agregace. Rozpustnost ve vod lze také zlep-ít navázáním na nosi ó lipofilní AzaPc m fle být nap íklad zabudován do lipidové dvojvrstvy liposom [7]. P ípravou AzaPc s kvartérními amoniovými skupinami lze vy e-ít jak rozpustnost ve vod , tak snížení agregace [3].

5.3 Modifikace struktury

Jád ro Pc i AzaPc je mořné sestavit cyklotetrameriza ní reakcí vhodných prekurzor . Lze tak cílen modifikovat strukturu. Pokud je výchozí látkou pouze jeden prekurzor, vznikající látka bude symetrická. V reakci, kam vstupují dva r zné prekurzory, m fleme o ekávat afl 6 typ nesymetrických derivát (Schéma 2). Tento typ cyklotetrameriza ní reakce se dv ma prekurzory je ozna ován jako statistická kondenzace. Vyulívá se jí s výhodou, pokud chceme izolovat typ AAAB. Vzniklé produkty jsou chromatograficky separovány (v t-inou obtířn) [3][8].

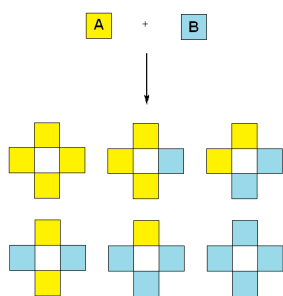
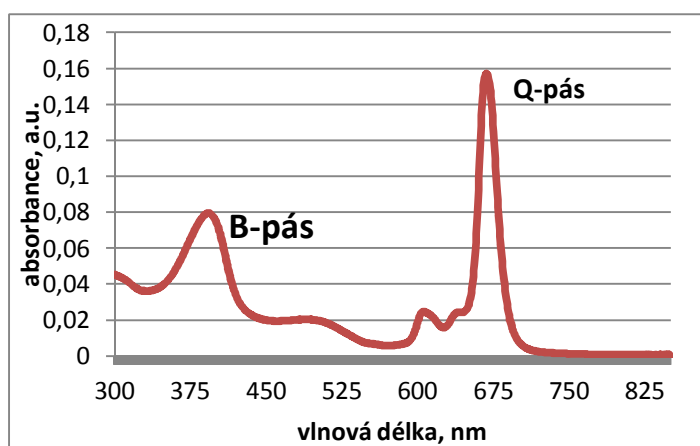


Schéma 2: Statistická kondenzace.

5.4 Absorp ní spektra

Schopnost absorpce energie světelného záření je jedna z velmi důležitých vlastností Pc/AzaPc. Průnik světla do tkáně se zvyšuje s delšími vlnovými délkami a tím je určena hloubka terapeutického zásahu v rámci fotodynamické terapie (photodynamic therapy, PDT) [8]. Absorpce při delších vlnových délkách je výhodnější, jelikož je červené světlo méně rozptylováno a není absorbováno endogenními chromofory [9].

Schopnost absorpce je umožněna rozsáhlým systémem konjugovaných dvojných vazeb [10]. V absorpčním spektru těchto látek se vyskytují 2 charakteristické absorpční pásy (Obrázek 6) – je jím vysokoenergetický B-pás (340-380 nm, též zvaný Soret v; extinkční koeficient typicky nad $100\,000\text{ M}^{-1}\times\text{cm}^{-1}$ [9]) v UV oblasti a nízkoenergetický Q-pás (630-680 nm; extinkční koeficient typicky nad $200\,000\text{ M}^{-1}\times\text{cm}^{-1}$ [9]) v oblasti červené [4]. Oba tyto pásy se při itají povolenému - * přechodu [8].



Obrázek 6: Typické absorpční spektrum Pc a AzaPc.

Izosterní záměna methinových skupin v benzenových jádrech Pc za dusíky v AzaPc způsobí hypsochromní posun Q-pásu o 40-60 nm. Pozice tohoto pásu je ovlivována atomem/atomy, kterými je periferní eterec vázán na jádro Pc nebo AzaPc (a to pouze tehdy, když jsou přímo připojené k makrocyklu – tak přispívají ke konjugaci svými volnými elektronovými páry). Vazba přes alifatický uhlík Q-pás téměř neposouvá, kdežto kyslík ho posouvá směrem k modré oblasti spektra (hypsochromní posun), síra a dusík způsobují bathochromní (červený) posun [8]. Jako další příklad můžeme srovnat pozice Q-pásu alkylsulfanylových a arylsulfanylových AzaPc – Q-pás arylsulfanyl je posunut o 10 nm díky větší konjugovanému systému [9].

Změnou pozici Q-pásmu lze i centrálním kationtem. Vlnová délka absorpčního maxima nesubstituovaného AzaPc nebo substituovaného se stejnou periferní substitucí klesá v řadě: $ZrCl_2 > V=O > SiCl_2 \sim HfCl_2 \sim Cu > Zn \sim Mg > Co$ [8].

Bathochromní posun Q-pásmu způsobí i protonizace azomethinových dusíků, nebo nesymetrické uspořádání makrocycly [8].

Intenzivní rozšíření Q-pásmu pozorujeme u derivátů s chelatovaným kationtem kovu. U bezkovových forem, kdy jsou v centru dva atomy vodíku, je Q-pásmo rozšířené (v oblasti okolo 693 a 656 nm pro nesubstituovaný Pc v chloroformu/tetrachlormethanu/dimethylformamidu). Rozšíření se snižuje s rostoucí velikostí aromatického skeletu [10].

Vliv rozpouštědla na pozici Q-pásmu je malý. Obecný trend posunu Q-pásmu do červené oblasti nastává ve směru: alkyly < rozpouštědla obsahující v molekule kyslík < aromatické uhlovodíky < rozpouštědla obsahující dusík < 1-chlornaftalen [10].

5.5 Agregace

Ftalocyaniny i jejich aza-deriváty mají vysokou tendenci k agregaci díky interakcím svých planárních makrocycly [11]. Při agregaci se snižuje rozpustnost, krátí se doba života tripletového stavu a nedochází k produkci singletového kyslíku [3]. To je samozřejmě velkou nevýhodou v aplikacích. Agregaci lze potlačit vhodnou periferní substitucí (např. fenoxyskupinami s objemnými substituenty v polohách 2,6 na fenolu, nebo objemnými *tert*-butyly). Shlukování molekul ve vodném prostředí může potlačit kationickými, i anionickými substituenty na periférii [8]. Např. o derivátech Pc a AzaPc obsahujících v rámci mnohoství ionizovaných karboxy a sulfo skupin (s různými centrálními kationty) nebo kvarterních amoniových skupin je známo, že vykazují výbornou rozpustnost ve vodě a UV-Vis spektra i ve vodném prostředí odpovídají monomerům [8][12][13].

5.6 Aplikace

Tyto sloučeniny mají širokou škálu uplatnění, ať už je to v oblasti fotodynamické terapie (kde jsou látky využívány pro své fotosenzitivní schopnosti), využití vlastností singletového kyslíku, detekování (záření fluorescence a senzory), nebo v oblasti elektroniky a barevného průmyslu. Jednotlivé aplikace jsou detailně probrány v následujících podkapitolách.

5.6.1 Fotodynamická terapie

Fotodynamická terapie je již nyní používanou [14] a velmi slibnou metodou terapie zvláště nádorových onemocnění, ale i diagnostiky. Léčivem je fotosenzitizer (fotosenzitivní látka), který je aplikován a následně osázen světlem určité vlnové délky (ideální z oblasti 650-800 nm [6]), tuto energii pak využije k produkci velmi reaktivního singletového kyslíku, který zabíjí okolní buňky [15].

Fotofyzikální princip PDT lze názorně vysvětlit na Jablonského diagramu (Schéma 3). Fotosenzitizer je v základním energetickém stavu S_0 a po osázení se dostává do excitovaného stavu (S_1). Z toho energeticky bohatého stavu S_1 se vrací zpět do základního pomocí několika deaktivací cest. Na schématu 3 jsou uvedeny dvě hlavní deaktivací cesty: vyzaření fluorescence (emise fotonu) a mezzystémový přechod do tripletového stavu T_1 , kde je získaná energie předána kyslíku (3O_2) a ten přechází v extrémně reaktivní singletový kyslík (1O_2). Druhou popsanou deaktivací cestu využívá PDT.

Kvalitu fotosenzitizeru lze odvodit podle jeho vlastností: je jimi znalost přesné chemické struktury, selektivní kumulace v maligních tkáních, účinná exkrece fotosenzitizeru po osázení (aby nedocházelo k systémové fototoxicitě), kvalitní fotochemické (vysoké hodnoty kvantových výtoků singletového kyslíku a dlouhý tripletový stav) a fotofyzikální vlastnosti (silná absorpce při delších vlnových délkách, kde světlo proniká do tkání hlouběji a světelná energie je účinněji produkuje singletový kyslík) [6].

Mezi výhody PDT patří jednoznačně velmi nízká toxicita fotosenzitizujících látek (cytotoxicita se projeví až po osázení a reakci singletového kyslíku v tkáních [6]), určitá selektivita k rakovinným buňkám a neinvazivnost metody. Nevýhodou je ale malý pronikání aktivujícího světla skrz tkáň, což lze proto léčit pouze na které druhy rakoviny (zejména kožní melanomy, rakovina dutiny ústní, plic, mozku, jícnu aj.) [14][16]. Možným by mohlo být

v současnosti studované použití endoskopické laserové technologie [17]. Léčba pomocí PDT se rozrostla o terapii nemocí koronárních cév, degenerativních změn na sítnici (rostoporfin, verteporfin), ale i chronického zánětu dásní a mikrobiálních infekcí [16].

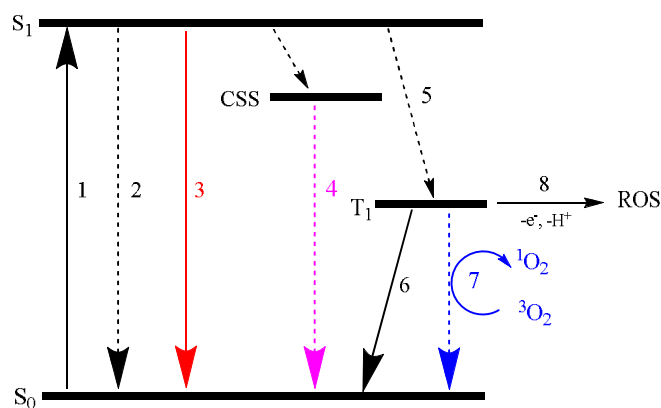


Schéma 3: Upravený Jablonského diagram popsaný v legendě tabulky 2.

Tabulka 2

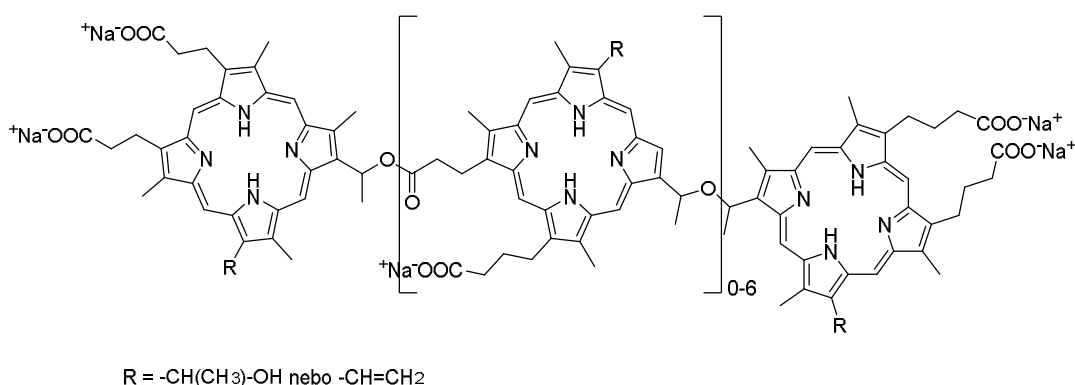
Ozáření molekuly	Absorpce světla (energie)	1
Deaktivace cesty	Vyzáření tepla	2
	Emise fotonu ve formě fluorescence	3
	Intramolekulární přenos náboje (ICT) /CSS = charge separated state/	4
	Mezisystémový přechod do tripletového stavu (T ₁)	5
	Fosforescence	6
	Fotoproces typu II. o přenos energie a tvorba singletového kyslíku	7
	Fotoproces typu I. o tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů (ROS)	8

V rámci PDT spolupůsobí další mechanismy pro destrukci nádorových tkání, které jsou jimi způsobeny v krevním zásobení této oblasti a aktivace imunitního systému skrze cytokiny a mediátory zánětu. Cévní uzávěry jsou indukovány vazokonstrikcí způsobenou narušením rovnováhy mezi vazokonstrikčními a vazodilatačními faktory. Imunitní systém je pomocí PDT aktivován látkami uvolněnými z mrtvých buněk, což takto vzniká silná prozářivá odpověď pomocí neutrofilů (a jejich enzymů) a kyslíkových radikálů, kterými ničí buněčné struktury nádoru. Destrukci neutrofilů vzniká další podnět (chemotaktický signál) pro zánětlivé buňky, což přiláká buňky uvolňující cytokiny. Monocyty a makrofágy pak ničí poslední části buněk [18].

5.6.1.1 Fotosenzitizéry

Fotosenzitizéry (PS) lze podle mechanismu působení rozdělit na hydrofilní (poškozující zejména cévy - maligní tkáň tak nedostane fliviny) a hydrofobní (vyuflívající singletový kyslík k destrukci nádorových buněk) [18]. Studium PDT začalo na Mayo Clinic pod vedením dvojice R. L. Lipson a R. Schwartz v roce 1960 s použitím hematoporphyrinu, který po injekční aplikaci vykazoval fluorescenci neoplastických lézí v průběhu operace. K lepší lokalizaci nádoru začaly později používat oligomerní směsi vycházející ze struktury hematoporphyrinu a tato směs byla nazvána ořerivátý hematoporphyrinö (HPD). Po ořitní HPD od méně aktivních monomerních porfyrinů vznikl v roce používaný fotosenzitizér 1. generace a porfimer (Photofrin®) (Obrázek 7). Není přesně chemicky definován, ale uvádí se, že směs obsahuje hematoporphyrin, (1-hydroxyethyl)vinyldeteroporfyrin, protoporfyrin, dimerní a oligomerní frakce [16].

Po aplikaci způsobuje déletrvající kořní fototoxicitu (afl 6 týdnů) [15][17], k jeho použití je potřeba vyšší dávky fotosenzitizéru i svítla - pro aktivaci vyřaduje velmi nízkou vlnovou délku (630 nm) a v tomto maximu pak dosahuje pouze nízkých extinkčních koeficientů ($1170 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), není tolik selektivní (kumuluje se také v křvi, játrech, slezině a ledvinách). Poprvé byl použit v lébě rakoviny mořového mřhy v roce 1993 [6].

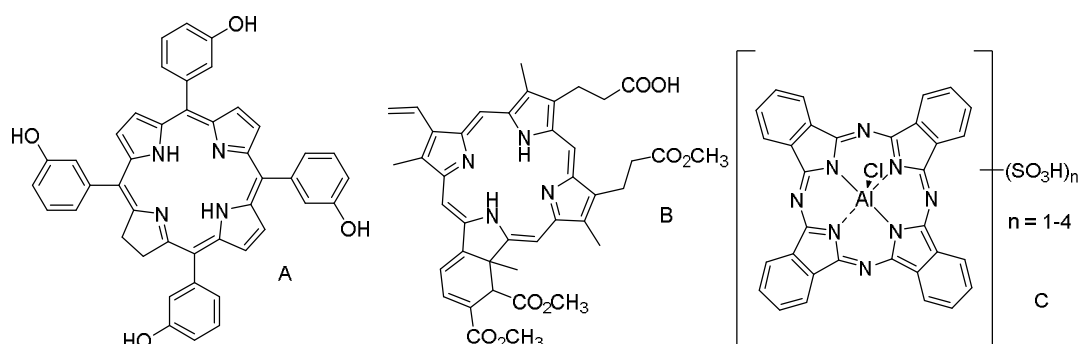


Obrázek 7: Struktura porfimeru.

Druhou generací fotosenzitizérů jsou nejčastěji barviva odvozená od tetrapyrrolů (ftalocyaniny, benzochloriny, chloriny, bakteriochloriny a purpuriny), která jsou chemicky jasně definována, více zadržována v maligní tkáni a absorbují při delších vlnových délkách než 1. generace [17]. Konkrétními příklady např. jsou temoporfin (Foscan®), strukturou

syntetický chlorin; 5,10,15,20-tetrakis(3-hydroxyfenyl)chlorin), verteoporfin (Visudyne[®], derivát benzoporfyrinu), sulfonovaný hlinitý ftalocyanin (Photosens[®]) aj. (Obrázek 8).

Lze sem za adit i endogenní fotosenzitizér ó protoporfyrin IX ó vznikající v bu kách z jeho metabolického prekursoru -aminolevulové kyseliny (ALA) pomocí stimulované biosyntézy. Z ALA se v organismu tvo í za normálních podmínek k flivotu pot ebné porfyriny (Schéma 4). Protoporfyrin IX vznikající v této reakci je taktéř zastoupen. P i exogenním podání ALA je pak syntetizován ve vy—í mí e a tak m fle produkovat singletový kyslík. Toho lze pouřít jak v PDT, tak p i vývoji nových, flivotní prost edí mén zat flujících pesticid [16].



Obrázek 8: Struktury Foscan[®] (A), Visudyne[®] (B), Photosens[®] (C).

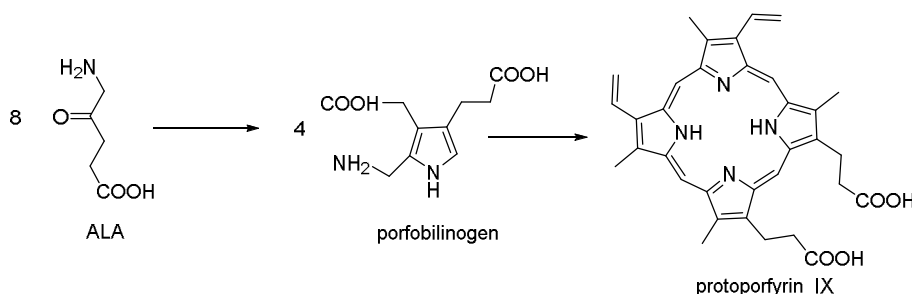
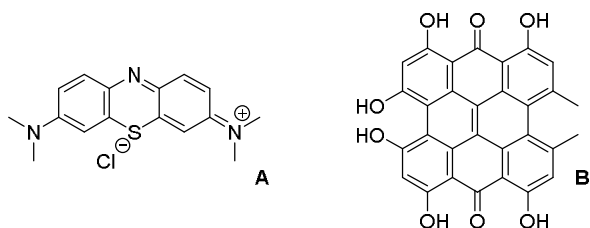


Schéma 4: Biosyntéza endogenního fotosenzitizéru protoporfyrinu IX.

T etí generací jsou struktury vznikající spojením fotosenzitizéru s biomolekulami (sacharidy, peptidy, steroidy, retinoidy). Dochází tak k lep—ímu transportu skrz bun éné membrány, p em nám molekul z hydrofobních na více amfifilní/polární, a také tyto modifikace p íspívají k cílené distribuci PS do tkání [17].

Za zmínku stojí i to, fle fotosenzitizéry mohou být i látky známé z jiných odv tví ó je jimi nap . methylenová mod (má schopnost inaktivace vir , proto se dá pouřít

k dekontaminaci (erstv zmrazené plazmy) nebo p írodní antidepressivum z t ezalky te kované ó hypericin (Obrázek 9) [6].



Obrázek 9: Metylenová mod (A, derivát fenothiazinu), hypericin (B, derivát antrachinonu).

5.6.1.2 Singletový kyslík ó $^1\text{O}_2$

Singletový kyslík, základní cytotoxické agens v PDT, je jednou z velmi reaktivních a energeticky bohatých forem kyslíku. Má malý difúzní polom r ($< 0,1 \mu\text{m}$) a krátkou dobu flivota, která je závislá na okolním prost edí (biologické prost edí: $0,04\text{-}0,6 \mu\text{s}$; lipidy: $50\text{-}100 \mu\text{s}$; voda ó $2\text{-}4 \mu\text{s}$ [18]), proto je využití této toxické molekuly vysoce selektivní [3].

Jak již bylo popsáno vý-e (Schéma 3), singletový kyslík vzniká po ozá ení molekuly fotosenzitizéru jako jedna z relaxa ních cest reakcí s tká ovým kyslíkem a spolu s kyslíkovými radikály pomocí oxidace a cykloadice naru-ují strukturu okolních biomolekul, dochází tak k nekróze i apoptóze bun k [3][18].

Využití této reaktivní formy kyslíku nekon í pouze u PDT, poufívá se také jako selektivn p sobící oxida ní inidlo v organické syntéze (adice na dvojnou vazbu, cykloadice, oxidace sulfid). P íkladem je fotooxygenace 4-methylpent-3-en-2-olu, který po konverzi meziproductu -hydroperoxyalkoholu poskytne antimalaricky p sobící 1,2,4-trioxan. Také v parfumérském pr myslu m fleme využít vlastností singletového kyslíku ó (-)-citronellol se pomocí fotooxidace singletovým kyslíkem p em ní v allylalkohol (v reduk ních podmínkách si i itanu sodného; senzitivován bengálskou ervení), následn v kyselém prost edí vzniká cyklický terpenoid (-)-rose oxid (Schéma 5) [16].

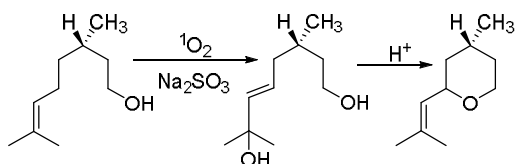


Schéma 5: Syntéza (-)-rose oxidu fotooxidací (-)-citronellolu.

5.6.2 Zhá-e e a senzory

Zhá-ení fluorescence je metodou využívanou pro identifikaci a kvantifikaci definovaných sekvencí DNA v DNA hybridizačních sondách. Principem je dvojice fluoroforů a zhá-e (nefluoreskující, ani neposkytující reaktivní formy), která je v rozličné vzdálenosti. Při velmi blízkém přiblížení dochází k rezonančnímu přenosu energie (RET), nebo ke statickému zhá-ení (tvorba heterodimeru mezi touto dvojicí barviv) a fluorescence je potlačena. Takto lze označovat cílené struktury. Pro tuto aplikaci se hodí alkylaminové a dialkylaminové substituenty na AzaPc, který jich v tomto případě musí obsahovat v určitém množství (alespoň šest) [3].

Na poli diagnostiky a detekce lze využít těchto molekul také jako fluorescenčních senzorů. Využívá se červené oblasti spektra (670-700 nm) [6], kde tyto senzory emitují. To je výhodou pro jejich *in vivo* použití, protože červené světlo má nejhlubší penetraci do tkání. Tyto látky pracují na principu blokování nežádoucího deaktivace dle - intramolekulárního přenosu náboje (ICT, Schéma 3). Při ICT dojde po excitaci látky k rychlému návratu do základního stavu (S_0) způsobením hustoty náboje v rámci molekuly. Pokud tuto deaktivaci cestu daná látka využívá, tento proces díky své rychlosti převládá.

Pro tento způsob deaktivace excitovaného stavu je nutné, aby látka obsahovala volný elektronový pár na donorovém atomu (u těchto molekul je to dusík) na periférii. Pokud tento volný pár zablokujeme (například pomocí protonizace kyselinou, tvorby komplexu mezi kationtem kovu a volným elektronovým párem a tzv. aza-crown ethery), nebo ho odstraníme, ICT nebude probíhat a molekula se bude deaktivovat pomocí vyzařování fluorescence a/nebo produkce singletového kyslíku [3]. Pro toto použití jsou tedy vhodné struktury AzaPc obsahující jednu až dvě periferní alkylaminoskupiny [19].

5.6.3 Barviva a pigmenty

Zastoupení ftalocyanin jako barviva je široké, používají se hlavně jako: inkousty do tiskáren o 40 %, barvy a laky o 30 %, barviva plastů o 20 %. Pc a jejich deriváty tvoří dnes třetinu syntetických organických barviv [2].

Díky aromatickému charakteru rozšířeného π -systému je intenzita barvy ve viditelné oblasti (λ je 650 o 750 nm) vysoká, ale hlavně stoupá tepelná i chemická stabilita planárních ftalocyaninů v pevném stavu. Pevný agregovaný stav molekuly je u Pc vyžadován jak v této oblasti používání, tak pro využití v LCD monitorech a laserových tiskárnách. Výhodou těchto molekul v oblasti barviv je jejich stabilita proti rozkladu, rezistence, jednotnost a intenzita [2].

Mezi často využívané struktury patří například nesubstituovaný měďnatý ftalocyanin (modré barvivo), nebo sulfonované ftalocyaniny (obsahující 2-4 sulfonové skupiny) jako zástupci ve vodě rozpustných barviv, kterými se dá barvit bavlna [2].

5.6.4 Další použití

Ftalocyaniny mohou být použity v rámci optických, elektronických a fotoelektronických zařízení jako semi- a fotokonduktory. V CD/R (compact disk recordable) tvoří vrstvu barviva mezi polykarbonátem a reflexní vrstvou stříbro/zlato. Absorbce fotonů po ozáření laserem přechází do excitovaného stavu. Dle barvy můžeme poznat, o jaký typ Pc se jedná o zeleno-modré jsou ftalocyaniny, tmavě modré jsou kovové aza-analogy [2].

Jako fotokonduktory se využívají díky své citlivosti na světlo, velmi dobré fotostabilitě a absorpci světla ve viditelné oblasti s vysokou absorpční schopností. Dnes přes 90 % organických fotokonduktorů tvoří titaničitý ftalocyanin (Ti=O)Pc [2].

6. METODOLOGICKÁ ÁST

V navržené syntetické cestě bylo zásadní získat periferní substituent ve formě thiolu (Schéma 6). Tato syntéza vycházela z vhodně substituovaného fenolu, který po deprotonaci zreagoval s dimethylthiokarbamoylchloridem na *O*-dimethylkarbamothioát. Pomocí Newman-Kwartova intramolekulárního přesmyku došlo k záměně pozic síry a kyslíku a vznikl tak stabilnější *S*-dimethylkarbamothioát [9], který v následující redukční reakci poskytl benzenthiool.

Zásadní reakcí pro získání thiofenolu je právě Newman-Kwartova reakce, která může probíhat v různých podmínkách [20].

6.1 Newman-Kwart v přesmyk

K přesmyku fenolu na thiofenoly dochází nukleofilním atakem thiokarbonylu na arylovém kruhu, který se v průběhu této reakce dostává do spirocyklického stavu (Schéma 6).

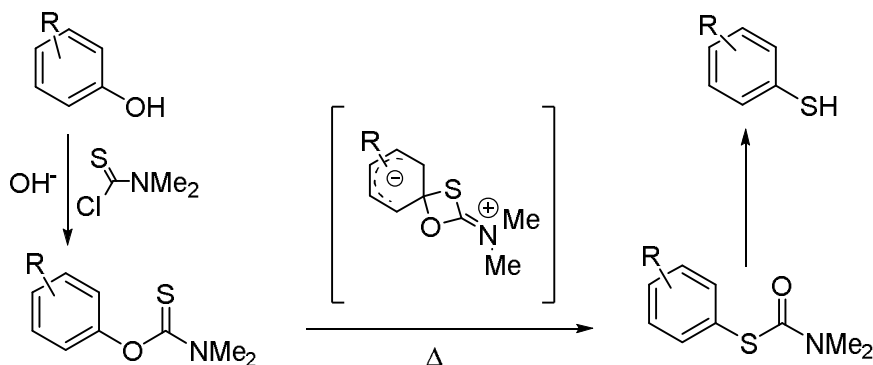


Schéma 6: Newman-Kwartova reakce o termický přesmyk *O*-aryl karbamothioátu na *S*-aryl karbamothioát.

V 60. letech minulého století Newman a Karnes popsali přesmyk *O*-aryl karbamothioát na *S*-aryl karbamothioáty za pomoci zvýšení teploty reakce (200-300 °C). Onco a dříve Kwart a Evans provedli podobný experiment v plynné fázi [21]. K této konverzi je nutná vysoká aktivní energie vyžadující vyšší teploty reakce (což může být nevhodné pro některé struktury o např. termolabilní molekuly, racemáty [22]). Proto byly navrženy úpravy,

které teplotu reakce snižují použitím katalyzátor [22], vyuffívající alternativní zdroj tepla ó mikrovlnné zah ívání [23], zkracující dobu zah ívání (na úkor zvý-ení teploty na 400-700 °C [22]), nebo vyuffívající fotoredoxní katalýzy za teploty okolního prost edí [21].

Obecné schéma 7 a tabulka 3 shrnuje mofné alternativy p esmyku *O*-karbamothioát na *S*-karbamothioáty.

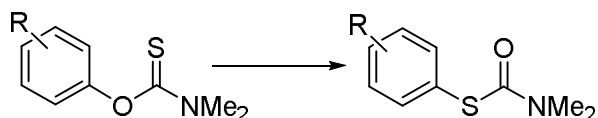


Schéma 7: Vývoj podmínek pro p em nu *O*-aryl karbamothioát .

Tabulka 3.

reakce	teplota [°C]	katalyzátor	prost edí reakce	lit.
Newman-Kwart	200-300	-		[20][21]
Newman-Karnes	25	solí HCl		[21]
Lloyd-Jones	100	Pd(<i>terc</i> -Bu ₃ P) ₂	toluen	[21] [22]
šfotoredoxníõ	25	2,4,6-tri(<i>p</i> -tolyl)pyrylium-tetrafluoroborát	acetonitril	[21]
šmikrovlnné zah íváníõ	200-300	-		[23][24]

6.1.1 Newman-Kwart v p esmyk za zvý-ené teploty

Tento štermickýõ p esmyk vyuffívající teplot 200-300 °C je stále –iroce vyuffívanou metodou pro syntézu aromatickým thiol [21]. Tyto teploty musí být je-t vy–í pro substráty *O*-aryl karbamothioát nesoucí elektron-donorové skupiny ó je to kv li jejich vy–í nedostupnosti pro nukleofilní atak síry na aromatické jádro [20].

P i objevu *O*-(pyridyl)karbamothioát jich Newman a Karnes vyuffili ve form hydrochloridových solí jako katalyzátor , tato reakce pak probíhala za laboratorní teploty [21].

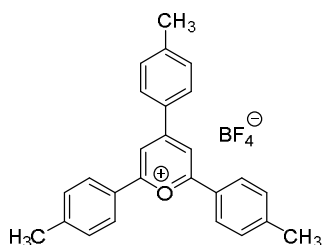
6.1.2 Lloyd-Jonesova reakce

P i této reakci se vyuffívá katalytických schopností bis(tri-*terc*-butylfosfinu)palladia v prost edí toluenu, kdy p i snífení teploty na 100 °C probíhá p em na *p*-substituovaných *S*-karbamothioát na *O*-karbamothioáty. Podobn jako je tomu u Newman-Kwartovy reakce, i zde se chovají jinak substituenty s elektron-akceptorovými skupinami (reakce probíhá rychleji), kdefto elektron-donorové skupiny reakci prodluflují [21].

6.1.3 Fotoredoxní katalýza

Reakce je založena na principu redoxní katalýzy s kome n dostupnými solemi triarylpyrylia. Konkrétní studie probíhala na *O*-(4-methoxyfenyl)dimethylkarbamothioátu s 2,4,6-tri(*p*-tolyl)pyrylium-tetrafluoroborátem (Obrázek 10) s iniciací ozá ením sv tlem modrých diod. Princip této metody byl navržen s p edpokladem jedoelektronové oxidace *O*-arylkarbamothioátu ó tímto se sníflí p ekáflky nukleofilní substituce síry na arylovém jád e a zrychlí se tak p esmyk.

Velkou výhodou je to, fl e syntéza probíhá za laboratorní teploty. Je reaktivitou srovnatelná s Newman-Kwartovým p esmykem, z ehofl op t profitují zvlá-t elektronov bohaté substráty [21].



Obrázek 10: 2,4,6-tri(*p*-tolyl)pyrylium-tetrafluoroborát ó vyuffívající se ve fotoredoxní katalýze.

6.1.4 Newman-Kwartova reakce s vyuffitím mikrovlnného zah ívání

Tato modifikace ó provedení Newman-Kwartovy reakce s mikrovlnným zah íváním ó se projevila jako adekvátní náhrada olejových lázní a kovových blok . Velmi rychle (45-90 s) dosahuje teplot okolo 200-300 °C. V porovnání s šklasickou metodou zah ívání se jediná odli-nost jeví v pouflití dvou nízce polárních rozpou-t del ó difenyletheru a xylenu ó kdy jsou výsledky lep-í p i pouflití p vodního oh evu [24].

6.2 Tělení disulfid

Pro získání thiofenol z *S*-karbamothioát je nutná jejich redukce. Při této reakci se objevují reakce vedlejší (v t-inou do 10 % výt flku), kdy vznikají tělí disulfidy. To bylo pozorováno u periferních substituent vázajících isopropyly (Schéma 8, var. A, var. B s bromem navázaným v *para*-poloze) [9].

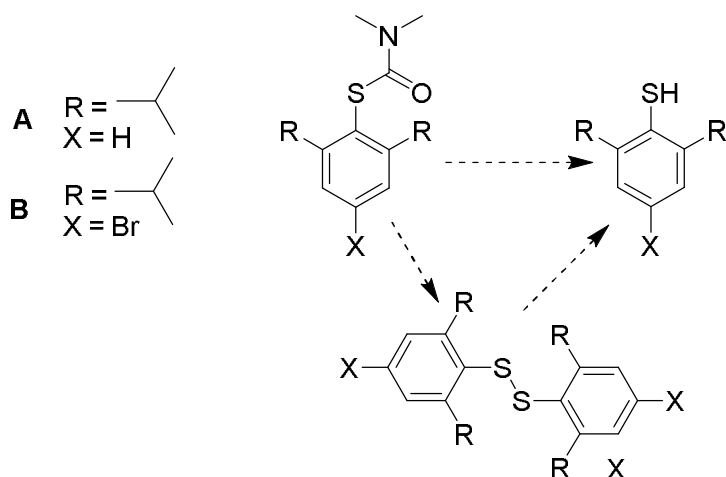
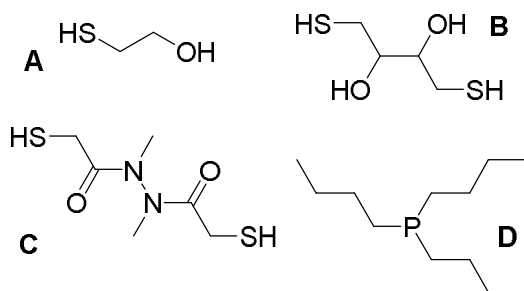


Schéma 8: Příprava thiofenol z *S*-karbamothioát a jejich vedlejší reakce za vzniku disulfid .

Tuto konverzi lze potlačit použitím objemných substituent (např. *tert*-butyl) v polohách 2 a 6 nebo přidat na závěr reakce redukční činidlo ve velkém množství. K používaným redukčním činidlům patří dithiothreitol (DTT) a 2-merkптоethanol [9].

Dithiothreitol (Obrázek 11, B) (a také jeho izomer, dithioerythritol) je schopný udržovat thiole v redukovaném stavu díky svému nízkému redoxnímu potenciálu (0,33 V) při pH 7 [25].



Obrázek 11: Struktury používaných redukčních činidel (A - 2-merkптоethanol, B - dithiothreitol, C - *N,N'*-dimethyl-*N,N'*-bis(merkптоacetyl)hydrazin, D - tributylfosfin).

inidlo *N,N'*-dimethyl-*N,N'*-bis(merkptoacetyl)hydrazin (Obrázek 11, C) je alternativním redukčním inidlem k DTT. Ve vodném prostředí, při pH 7 je dokonce 7× rychlejší ve štěpení -S-S- vazby [26].

K redukci jak alifatických, tak aromatických disulfidů lze použít též **tributylfosfin** (Obrázek 11, D). K rozštěpení disulfidické vazby dochází za 5 - 60 minut za laboratorních teplot v prostředí voda/methanol/kyselina chloristá [27].

6.3 Jiné metody přípravy thiolů

Kromě Newman-Kwartovy reakce lze k přípravě thiolů použít i některé jiné metody, jako alkylace sulfidů nebo využití diazoniových solí.

6.3.1 Alkylace sulfidů

Alkylováním hydrogensulfidu (sulfidů alkalických kovů) lze získat thiol a další produkty v pokračování této neselektivní reakce - směs s thiolem, dialkylsulfidu a trialkylsulfoniové soli (Schéma 9) [28]. Alkylování inidla (alkylhalogenidy, cykloalkylhalogenidy, dialkylsulfáty) vstupují do reakce v menším, nebo ekvimolárním množství, kvůli možnému vzniku sulfoniových solí.

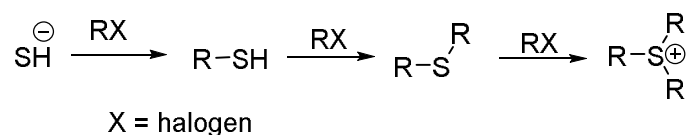
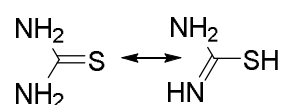


Schéma 9: Alkylace hydrogensulfidu.

Pokud chceme připravit pouze thiol, provádíme alkylování thioaminy. Přesněji, do reakce vstupuje její tautomerní forma isothioaminy (Obrázek 12). Alkylování vzniká isothiuroniová sůl, která v alkalickém prostředí poskytuje thiol (Schéma 10) [28].



Obrázek 12: Thioaminy a isothioaminy.

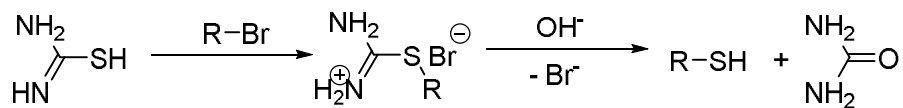


Schéma 10: Alkylace isothiomo oviny.

6.3.2 Reakce diazoniových solí

Diazoniové soli jsou svou reaktivitou často využívány jako meziproducty pro syntézu fenolů, aryljodidů, aromatických azidů aj., ale i thiofenolů. S výhodou je využívána schopnost diazoniových solí odštěpit elementární dusík, o její velikosti rozhoduje charakter substituentů navázaných na aromát. Pokud je na jádru vázán aktivující substituent (např. alkyl), reaktivita soli se zvyšuje (alkyl svým kladným indukčním efektem pomáhá odštěpit diazoniovou skupinu, která je slabým elektrofilem). U deaktivujících skupin (např. nitro-skupina) je tomu naopak a reaktivita soli se snižuje.

Nukleofilní substitucí aromátů tedy lze z diazonové soli odštěpit dusík a vzniklý karbokation pak naváže nukleofilní skupinu (Schéma 11) [28].

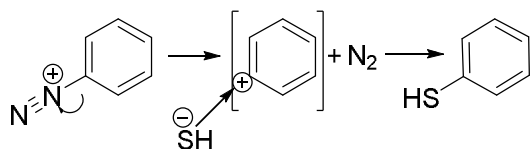
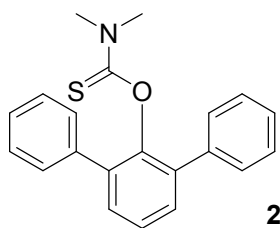


Schéma 11: Nukleofilní substituce diazoniové soli za vzniku thiofenolu.

7. EXPERIMENTÁLNÍ ÁST

Výchozí látky pro syntézu byly zakoupeny od firem Penta, Lach-Ner, Acros a Sigma-Aldrich. Pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC) byl sledován vývoj reakcí a obsah neistot o desky Merck Kieselgel 60 F254, UV lampa pro detekci (vlnové délky o 254 nm, 366 nm). Sloupcová chromatografie byla použita pro separaci neistot od výsledných produkt o stacionární fáze Merck Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm), mobilní fáze se lišily dle konkrétních reakcí (jsou popsány v rámci jednotlivých syntéz). Měření teplot tání probíhalo na digitálním přístroji ELECTROTHERMAL IA9200. Na Katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv byla naměřena UV/Vis spektra přístrojem Shimadzu UV-2600 spectrophotometer. Na Katedře anorganické a organické chemie probíhalo měření infračervených spekter (FTIR spektrofotometr Nicolet 6700 (ATR mód)), NMR spekter (¹H NMR, ¹³C NMR) - přístroj Varian Mercury Vx BB 300 a VNMR S500. Hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF) byla změřena přístrojem AB Sciex 4800 MALDI TOF/TOF spectrometer, externě kalibrovaným pomocí přídavné kalibrační metody pomocí Peptide Calibration Mix1 (LaserBioLabs, Sophia-Antipolis, France). Roztok vzorku rozpuštěn v dichlormethanu (1,5 µl; 10 µM) a smíchan s matricí (*trans*-2-[3-(4-*tert*-butylfenyl)-2-methyl-2-propenyliden]-malonitril) v dichlormethanu byl nanesen na destičku a vysušen.

7.1 Syntéza 2,6-difenylfenyl-*O*-dimethylkarbamothioátu (2)

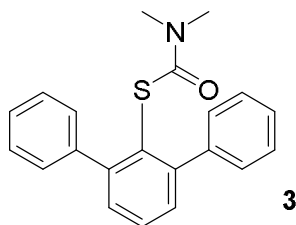


2,6-Difenylfenol (**1**) (12,2 g; 0,05 mol) byl rozpuštěn za stálého míchání v argonové atmosféře v *N*-methyl-2-pyrrolidonu (NMP) (50 ml). Po rozpuštění byla reakční směs přesunuta do ledové lázně, po částečném ochlazení byl přidán hydrid sodný (2,5 g 60% suspenze v minerálním oleji; 0,06 mol), následovalo 30 minut míchání v této lázni. Roztok dimethylthiokarbamoyl-chloridu (9,4 g; 0,07 mol) rozpuštěný v NMP (10 ml) byl nakapán na fluitozelený fenolát (jeho vznikající v reakci). Následovalo zahřívání (80 °C; 2 hodiny, argonová atmosféra) během něhož roztok postupně zelenal (30 min) a nakonec zeffloutl.

Po ukonění reakce byla reakční směs nalita do vody (400 ml, vývoj bílých par) a vznikl naedlý roztok. Ten byl extrahován ethyl-acetátem (3 × 150 ml), organická fáze byla vysušena bezvodým síranem sodným, přeefiltrována a odpařena na rotační vakuové odparce. Vzniklý *O*-dimethylkarbamothioát **2** byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie v mobilní soustavě toluen:chloroform 5:1. Těpinavé frakce byly dále přečištěny v následující sloupcové chromatografii s toluenem jako mobilní fází. Po vymytí nečistot byla soustava změněna na toluen:chloroform 1:1. Následovala krystalizace za horka z methanolu s přidávkou aktivního uhlí. Bylo získáno celkem 10,2 g (62 %) bílých krystalů.

t. t. 135.0-135.8 °C (MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 7,54-7,49 (m, 4 H, ArH), 7,43-7,36 (m, 7 H, ArH), 7,36-7,30 (m, 2 H, ArH), 3,05 (s, 3 H, CH₃), 2,98 ppm (s, 3 H, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 186,1, 148,2, 138,0, 136,4, 130,0, 129,4, 127,9, 127,2, 126,3, 42,8, 38,2 ppm; IR (ATR): 3053, 2935, 1531, 1454, 1424, 1409, 1396, 1285, 1193, 1129 cm⁻¹; CHN analýza, vypočítáno pro C₂₁H₁₉NOS: C, 75,64; H, 5,74; N, 4,20, nalezeno: C, 75,82; H, 5,69; N, 4,22.

7.2 Syntéza 2,6-difenylfenyl-*S*-dimethylkarbamothioátu (3)

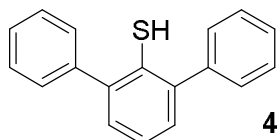


O-Karbamothioát **2** (9,75 g, 0,03 mol) byl zahříván v kovovém bloku za současného chlazení vzdušným chladičem v argonové atmosféře. Po 5 minutách při 200 °C začal vzorek tát a vznikl světle hnědý roztok. Po 15 minutách při 260 °C začal substance sublimovat a usazovat se v chladiči. Zahřívání bylo ukončeno po 4 hodinách a reakční směs byla zchlazena na vzduchu. *S*-Karbamothioát **3** byl přečištěn gradientní sloupcovou chromatografií v těchto mobilních fázích s postupně zvyšující polaritou - toluen:chloroform 1:1, toluen:chloroform 1:3, chloroform, aceton:chloroform 1:10. stejný produkt byl následně přeekrystalizován za horka z methanolu. Bylo získáno 8,83 g (91 %) bílých krystalů.

t. t. 129,2-129,7 °C (MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 7,52-7,31 (m, 13 H, ArH), 2,68 ppm (br s, 6 H, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, 25 °C): δ = 166,7,

148,6, 142,1, 129,8, 129,5, 129,2, 127,4, 126,9, 126,2, 36,9 ppm; IR (ATR): 3057, 1660 (CO), 1572, 1496, 1455, 1443, 1364, 1256, 1096 cm^{-1} ; CHN analýza, vypořítáno pro $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NOS}$: C, 75,64; H, 5,74; N, 4,20, nalezeno: C, 75,96; H, 5,48; N, 4,33.

7.3 Syntéza 2,6-difenylfenylthiolu (4)



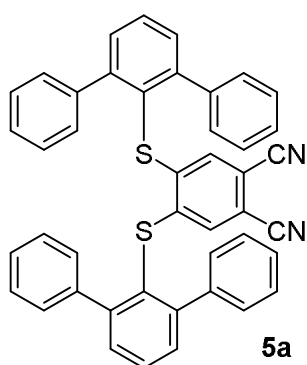
Lithium-aluminium hydrid (7,86 g; 0,21 mol) byl rozpuřt n v 1,2-dimethoxyethanu (100 ml) za mřchání a chlazení v ledové lázni. S-Karbamothioát **3** (8,66 g; 0,03 mol) byl rozpuřt n t ěfl v 1,2-dimethoxyethanu (140 ml) a pomalu nakapán do roztoku lithium-aluminium hydridu za vývoje plynu. Po p idání ve-keré látky **3** byla ledová láze zam n na za olejovou a reak ní sm s byla zah ívána na 115 °C po dobu 3 hodin za vzniku -edého hustého roztoku. P ebyte ný LiAlH_4 byl zhydrolyzován postupným p idáním methanolu (50 ml) za chlazení v ledové lázni. Po okyselení kyselinou sírovou (5 %, 200 ml) vznikl -edý, velmi hustý roztok, který byl dvakrát extrahován ethyl-acetátem, vysu-en síranem sodným a odpa en na rota ní vakuové odparce. Produkt byl p e i-t n gradientní sloupcovou chromatografií ve sm sích:hexan a poté hexan:toluen 3:1. Bylo získáno 5,07 g (74 %) bílých krystal . Produkt byl uchováván pod argonovou atmosférou v mrazni ce.

t. t. 64,6-65,6 °C (MeOH); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): = 7,58-7,35 (m, 10 H, ArH), 7,25-7,19 (m, 3 H, ArH), 3,44 ppm (s, 1 H, SH); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3 , 25 °C): = 141,4, 140,8, 130,7, 129,34, 129,32, 128,5, 127,7, 124,5 ppm; IR (ATR): 3057, 3027, 2574 (SH), 1494, 1455, 1396 cm^{-1} ; CHN analýza, vypo řítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{S}$: C, 82,4; H, 5,38; S, 12,22, nalezeno: C, 82,41; H, 5,51; S, 12,47.

Z chromatografického i-t ní (hexan:toluen 3:1) byla získána frakce obsahující vedlej-í produkt s vy-ím R_f . Tento vedlej-í produkt z chromatografie byl nakonec p ekrytalizován z methanolu a bylo získáno 56,5 mg ístého analytického vzorku jako bílé krystaly. Vedlej-í produkt byl následn charakterizován jako *meta*-terfenyl.

t. t. 85,8-86,7 °C (MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 7.87 (t, J = 2 Hz, 1 H, ArH), 7.74-7.68 (m, 4 H, ArH), 7.65-7.60 (m, 2 H, ArH), 7.59-7.54 (m, 1 H, ArH), 7.54-7.49 (m, 4 H, ArH), 7.45-7.39 ppm (m, 2 H, ArH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 141,8, 141,2, 129,2, 128,8, 127,4, 127,2, 126,2, 126,1 ppm; IR (ATR): 3063, 3035, 1595, 1570, 1495, 1472, 1442, 1405 cm^{-1} ; CHN analýza, vypočítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{14}$: C, 93,87; H, 6,13, nalezeno: C, 93,62; H, 6,30.

7.4 Syntéza 5,6-bis(2,6-difenylfenylsulfanyl)ftalonitrilu (5a)



4,5-Dichlorftalonitril (54,2 mg, 0,28 mmol) byl společně s thiolem **4** (165,2 mg, 0,63 mmol) rozpuštěn v dimethylsulfoxidu (2,5 ml) v ultrazvuku a následně byl během hodiny po částech přispáván bezvodý uhlíkatý draselný (218,7 mg, 1,59 mmol), stále v ultrazvuku. Reakční směs byla poté zahřívána pod vzdušným chladičem při 100 °C po dobu 24 hodin. Reakce byla ukončena nalitím na vodu s ledem (75 ml) a po 1 hodině míchání byly vzniklé bílé krystaly odsáty na fritě. Filtrát byl dále extrahován ethylacetátem, vysušen bezvodým síranem sodným a po odpaření na rotační vakuové odparce spojen s odsátými krystaly. Produkt byl poté za pomoci směsi toluen:chloroform 2:1 přečištěn sloupcovou chromatografií. Bylo získáno 93,4 mg (52 %) bílých krystalů. Analytický vzorek byl překrystalován z ethanolu.

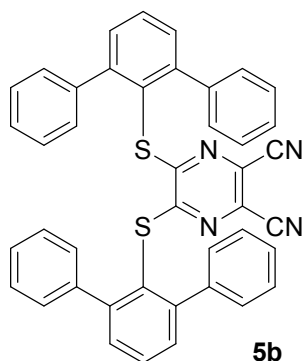
Reakce byla provedena opakovaně s výtisky 32 % a 42 %.

t. t. 225,9-226,5 °C (EtOH); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 7,52 (t, J = 7,6, 2 H, ArH), 7,34 (d, J = 7,6, 4 H, ArH), 7,25-7,14 (m, 12 H, ArH), 7,11-7,04 (m, 8 H, ArH), 6,41 ppm (s, 2 H, ArH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 147,1, 143,8, 140,4, 131,4, 130,5, 129,8, 129,0, 127,8, 127,5, 127,3, 115,3, 110,2 ppm; IR (ATR): 3065, 2230 (CN),

1561, 1497, 1452, 1394, 1346 cm^{-1} ; CHN analýza, vypočítáno pro $\text{C}_{44}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{S}_2$: C, 81,45; H, 4,35; N, 4,32; S, 9,88, nalezeno: C, 81,41; H, 4,48; N, 4,28; S, 10,06.

7.5 Syntéza 5,6-bis(2,6-difenylfenylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu

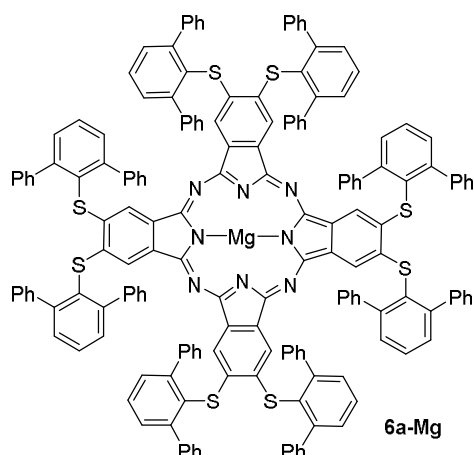
(5b)



2,6-Difenylfenylthiol (**4**) (629 mg; 2,4 mmol) byl rozpuštěn v pyridinu (4 ml). K tomuto roztoku byl přidán 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitril (295 mg; 1,5 mmol) a směs byla dále míchána po dobu 1 hodiny při laboratorní teplotě. Roztok postupně přecházel z růžové barvy na tmavě hnědou. Reakce byla ukončena odpařením rozpouštědla na rotační vakuové odparce, přidáním vody a následným odsátím tmavě hnědých krystalků na fritu. Produkt byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (mobilní fáze toluen). Bylo získáno 589 mg (61 %) dikarbonitrilu ve formě fluitooranžových krystalů. Analytický vzorek byl překrystalizován z ethanolu.

t. t. 231,6-232,4 °C (EtOH); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 7,55 (t, J = 7,6 Hz, 2 H, ArH), 7,38 (d, J = 7,6 Hz, 4 H, ArH), 7,30-7,24 (m, 4 H, ArH), 7,22 (t, J = 7,4 Hz, 8 H, ArH), 7,18-7,13 ppm (m, 8 H, ArH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 158,2, 147,5, 140,5, 130,4, 130,2, 128,9, 127,6, 127,5, 126,0, 123,6, 113,3 ppm; IR (ATR): 3057, 2245 (CN), 1471, 1302, 1271, 1152 cm^{-1} ; CHN analýza, vypočítáno pro $\text{C}_{42}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{S}_2$: C, 77,51; H, 4,03; N, 8,61; S, 9,85, nalezeno: C, 77,54; H, 4,11; N, 8,60; S, 9,86.

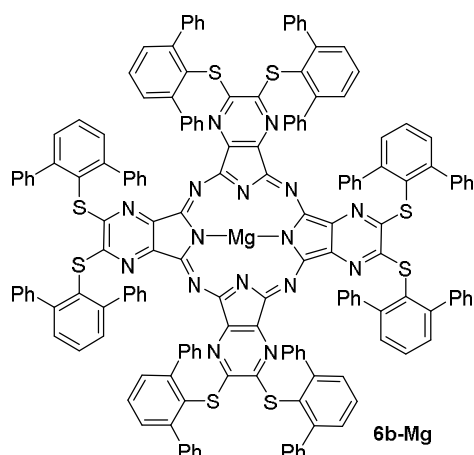
7.6 Příprava ho e natého komplexu 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis (2,6-difenylfenylsulfanyl)ftalocyaninu (6a-Mg)



Ho ík (109 mg; 4,5 mmol) byl zah íván p i teplot varu pod zp tným chladi em spolu se zrnkem jodu v prost edí erstv p edestilovaného bezvodého butanolu (10 ml), zah ívání probíhalo p i teplot varu p ibliřn 4 hodiny, kdy vznikal butanolát ho e natý. Po p idání látky **5a** (336 mg; 0,5 mmol) pokračovalo zah ívání dal-ích 15 hodin. V rámci prvních 5 hodin v reak ní sm si za ala vznikat erná sraffenina. Po ukon ení zah ívání a ochlazení na laboratorní teplotu byl produkt p elit na roztok voda:methanol:kyselina octová 5:5:1 (220 ml), následovalo 30 minutové míchání p i laboratorní teplot . Vzniklá erná sraffenina byla odfiltrována p es fritu a promyta vodou a methanolem. Produkt byl p e i-t n opakovanou sloupcovou chromatografií ó první sloupec s mobilní fází chloroform:THF 50:1, druhý sloupec toluen:THF 50:1. Bylo získáno 205,1 mg (60 %) tmav zelené pevné látky.

^1H NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridin-D}_5$, 25 °C): δ = 8,37 (s, 8 H, ArH), 7,52-7,00 ppm (m, 104 H, ArH); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridin-D}_5$, 25 °C): nedetekováno; IR (ATR): 3054, 1598, 1495, 1453, 1398, 1367, 1333, 1284, 1113, 1064 cm^{-1} ; CHN analýza, vypo ítáno pro $\text{C}_{176}\text{H}_{112}\text{MgN}_8\text{S}_8 + 4\text{H}_2\text{O}$: C, 78,53; H, 4,49; N, 4,16; S, 9,53, nalezeno: C, 78,80; H, 4,60; N, 4,02; S, 9,48; MS (MALDI-TOF): m/z = 2616,3 $[\text{M}]^+$; UV/Vis (THF): λ_{max} () = 720 (332 300), 687 (44 400), 646 (50 600), 385 nm (88 000 $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$).

7.7 P íprava ho e natého komplexu 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(2,6-difenylfenylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (6b-Mg)



Ho ík (105 mg; 4,4 mmol) se zrnkem jodu byl zah íván pod zp tným chladi em v erstv p edestilovaném bezvodém butanolu (10 ml) p i teplot varu do vytvo ení butanolátu (p íblifn po 4 hodiny). Poté byla p idána látka **5b** (388 mg; 0,6 mmol), pokračovalo se zah íváním dal ích 18 hodin. Roztok po 1 hodin p e-el p es zelenou do erné. Po ukon ení reakce byla sm s ochlazena na laboratorní teplotu, nalita do roztoku voda:methanol:kys. octová 5:5:1 (p íblifn 220 ml) a míchána p i laboratorní teplot 30 minut. Vznikající erná sraženina byla odfiltrována na frit a promyta vodou a methanolem. Vzniklý produkt byl p e-ít n sloupcovou chromatografií pomocí mobilní fáze chloroform:tetrahydrofuran 50:1. Bylo získáno 296 mg (75 %) zeleno erné pevné látky.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridin-D}_5$, 25 °C): δ = 7,58 (d, J = 7,0 Hz, 32 H, ArH), 7,36 (d, J = 7,6 Hz, 16 H, ArH), 7,28-7,19 (m, 8 H, ArH), 7,11-6,95 ppm (m, 48 H, ArH); $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{pyridin-D}_5$, 25 °C): nedetekováno; IR (ATR): 3055, 1571, 1509, 1496, 1454, 1442, 1391, 1316, 1237, 1168, 1109 cm^{-1} ; CHN analýza, vypo ítáno pro $\text{C}_{168}\text{H}_{104}\text{MgN}_{16}\text{S}_8 + 2\text{H}_2\text{O}$: C, 75,76; H, 4,09; N, 8,41; S, 9,63, nalezeno: C, 75,80; H, 4,29; N, 8,38; S, 9,83; MS (MALDI-TOF): m/z = 2624.4 $[\text{M}]^+$; UV/Vis (THF): λ_{max} () = 663 (300 000), 633 sh, 601 (39 900), 487 (27 500), 397 nm ($126\,700\text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$).

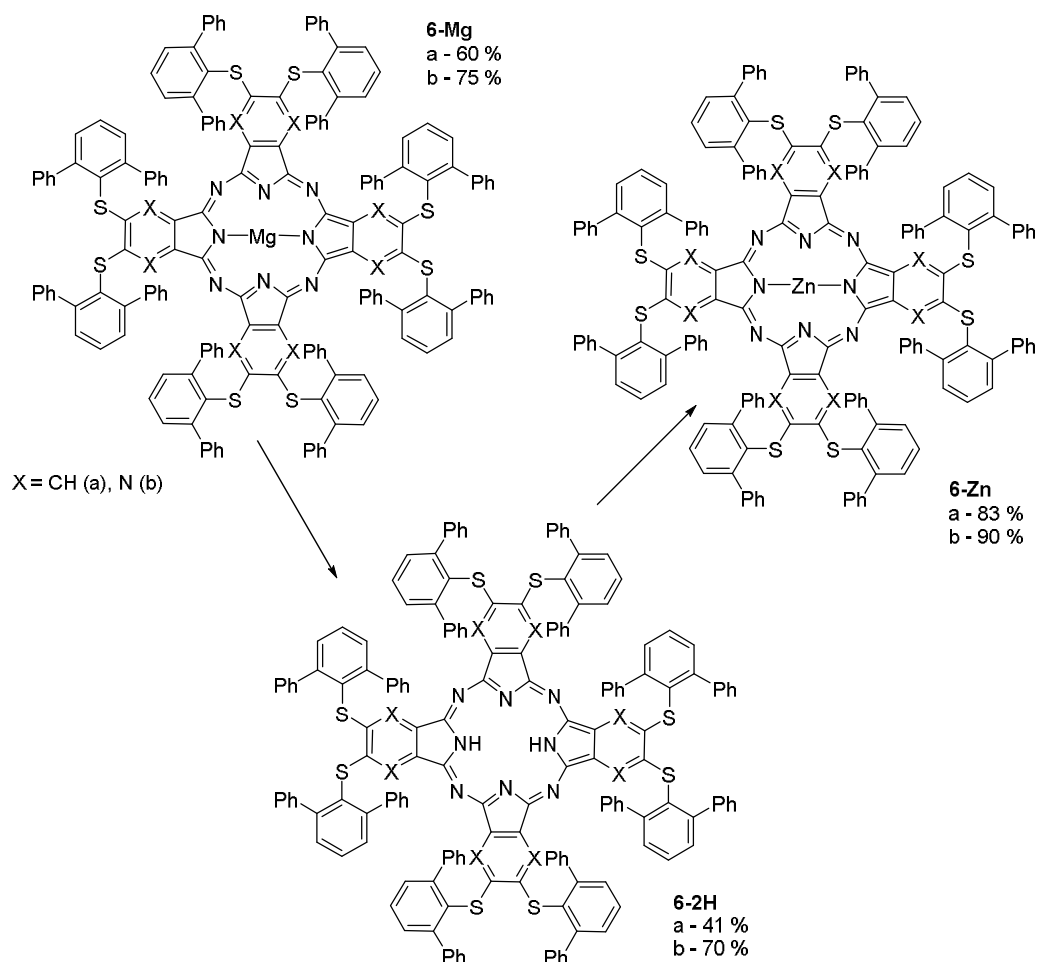


Schéma 12

7.8 P íprava 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(2,6-difenylylfenylsulfanyl)ftalocyaninu (6a-2H)

Ho e natý Pc **6a-Mg** (0,1312 g; 0,05 mmol) (Schéma 12) byl rozpou- t n v chloroformu (25 ml), k n mu byla p ílita sm s kyseliny *para*-toluensulfonové (159,2 mg; 0,93 mmol, rozpou- t né v 25 ml THF) a m íchání prob íhalo po dobu 1 hodiny p í laboratorní teplot . Po 2 hodinách byla p ídána dal- í kys. *para*-toluensulfonová (301,8 mg; 1,75 mmol, rozpou- t ná v THF). Po 19 hodinách byla reakce ukon ena, následovalo odpa ní rozpou- t del, promytí zelené pevné látky vodou a methanolem, rozpou- t ní v toluenu a poté odpa ní na rota ní vakuové odparce. P e í- t ní sloupcovou chromatografi í prob íhalo v toluenu. Po odpa ní ístých frakcí byla získána tmav zelená pevná látka (52,8 mg, 41 %).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 8,17 (s, 8 H, ArH), 7,48-7,38 (m, 24 H, ArH), 7,33-7,28 (m, 32 H, ArH), 7,09-7,00 ppm (m, 48 H, ArH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 148,0, 142,2, 141,0, 134,2, 131,9, 131,2, 130,2, 129,6, 128,4, 127,6, 123,8 ppm (1 atom uhlíku nebyl detekován); IR (ATR): 3301 (NH), 3053, 1598, 1494, 1453, 1441, 1416, 1393, 1287, 1125, 1072, 1017 cm^{-1} ; CHN analýza, vypočítáno pro $\text{C}_{176}\text{H}_{114}\text{N}_8\text{S}_8 + 1 \text{H}_2\text{O}$: C, 80,83; H, 4,47; N, 4,28; S, 9,81, nalezeno: C, 80,73; H, 4,37; N, 4,24; S, 10,09; MS (MALDI-TOF): m/z = 2594,3 $[\text{M}]^+$; UV/Vis (THF): λ_{max} () = 747 (216 500), 717 (173 400), 681 (44 000), 647 (37 200), 477 (33 700), 336 nm (72 600 $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$).

7.9 Příprava 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(2,6-difenylfenylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (6b-2H)

Hoře natý AzaPc **6b-Mg** (217 mg; 0,08 mmol) (Schéma 12) byl rozpuštěn v chloroformu (25 ml) a do této směsi byl přidán roztok kys. *p*-toluensulfonové (96 mg; 0,56 mmol) v THF (25 ml), následovalo míchání 1 hodinu při laboratorní teplotě. Po 2 hodinách byla do směsi přidána další kys. *p*-toluensulfonová (182 mg; 1,1 mmol) rozpuštěná v THF (10 ml). Po dalších 19 hodinách reakce nevykazovala dle TLC změny, proto byla opět přidána kys. *p*-toluensulfonová (94 mg; 0,55 mmol) rozpuštěná v THF (10 ml) a směs byla zahřívána 3 hodiny při 80 °C. Následovalo odpaření na rotační vakuové odparce, promytí vodou a methanolem. Produkt byl následně přečištěn sloupcovou chromatografií s mobilní fází chloroform:THF 100:1. Čistý produkt byl promyt methanolem. Bylo získáno 150 mg (70 %) fialové pevné látky.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 7,50-7,45 (m, 32 H, ArH), 7,31 (d, $J = 7,6$ Hz, 16 H, ArH), 7,16 (t, $J = 7,6$ Hz, 8 H, ArH), 7,09-6,99 ppm (m, 48 H, ArH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 147,4, 141,4, 130,2, 129,6, 129,4, 127,4, 126,9, 126,8 ppm (jeden porfyrizinový uhlík nebyl detekován); IR (ATR): 3298 (NH), 3054, 1514, 1495, 1454, 1441, 1392, 1309, 1279, 1225, 1159 cm^{-1} ; CHN analýza, vypočítáno pro $\text{C}_{168}\text{H}_{106}\text{N}_{16}\text{S}_8$: C, 77,45; H, 4,10; N, 8,60; S, 9,84, nalezeno: C, 77,28; H, 4,22; N, 8,51; S, 11,10; MS (MALDI-TOF): m/z = 2602,4 $[\text{M}]^+$; UV/Vis (THF): λ_{max} () = 682 (142 600), 657 (107 300), 626 (37 600), 512 (51 500), 382 nm (84 500 $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$).

7.10 Příprava zinekatého komplexu 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(2,6-difenylfenylsulfanyl)ftalocyaninu (6a-Zn)

Bezkovový Pc **6a-2H** (27,5 mg; 0,01 mmol) (Schéma 12) byl rozpouštěn v pyridinu (10 ml) za vzniku zeleného roztoku. K tomuto roztoku byl přidán bezvodý octan zinekatý (20,3 mg; 0,11 mmol) a roztok byl zahříván pod zpětným chlazením při teplotě varu rozpouštědla po dobu 1 hodiny. Rozpouštědlo bylo poté odpařeno na rotační vakuové odparce. Po přidání vody byl zelený produkt zfiltrován přes fritu, promyt vodou a methanolem. Následovalo peičení sloupcovou chromatografií v uspořádání dvou mobilních fází – první toluen, druhá toluen:THF 50:1. Istej produkt byl promyt methanolem. Byla získána tmavě zelená pevná látka (23,4 mg, 83 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 8,19 (s, 8 H, ArH), 7,47-6,98 ppm (m, 104 H, ArH); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 147,2, 141,5, 137,9, 130,3, 129,4, 129,2, 129,0, 128,7, 128,2, 127,5, 126,8, 125,3 ppm; IR (ATR): 3054, 1495, 1454, 1400, 1369, 1118, 1065 cm^{-1} ; CHN analýza, vypočítáno pro $\text{C}_{176}\text{H}_{112}\text{N}_8\text{S}_8\text{Zn} + 2 \text{H}_2\text{O}$: C, 78,39; H, 4,34; N, 4,16; S, 9,51, nalezeno: C, 78,28; H, 4,37; N, 3,95; S, 9,93; MS (MALDI-TOF): $m/z = 2656,3 [\text{M}]^+$; UV/Vis (THF): $\lambda_{\text{max}} (\epsilon) = 720 (300\ 100), 688 (41\ 500), 647 (47\ 500), 364 \text{ nm} (67\ 700 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1})$.

7.11 Příprava zinekatého komplexu 2,3,9,10,16,17,23,24-oktakis(2,6-difenylfenylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-oktaazaftalocyaninu (6b-Zn)

Bezkovový AzaPc **6b-2H** (58 mg; 0,02 mmol) (Schéma 12) byl rozpouštěn v pyridinu (10 ml) za vzniku tmavě černého roztoku. K němu byl přidán bezvodý octan zinekatý (41 mg; 0,22 mmol) a směs byla zahřívána za varu rozpouštědla pod zpětným chlazením. Po 45 minutách roztok zezelenal. Po 1 hodině zahřívání byla reakce ukončena a rozpouštědlo bylo odpařeno na rotační vakuové odparce. Poté byla přidána voda, zelená sraženina byla odfiltrována na fritě, promyta vodou a methanolem. Peičení bylo realizováno pomocí sloupcové chromatografie v mobilní fázi chloroform:THF 100:1. Istej produkt byl promyt methanolem. Bylo získáno 53 mg (90 %) černé pevné látky.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 7,50-7,40 (m, 32 H, ArH), 7,28 (d, $J = 7,6 \text{ Hz}$, 16 H, ArH), 7,18-7,09 (m, 8 H, ArH), 7,09-6,94 ppm (m, 48 H, ArH);

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ = 157,4, 150,1, 147,4, 145,5, 141,5, 130,2, 129,6, 129,3, 127,4, 127,1, 126,8 ppm; IR (ATR): 3054, 1513, 1495, 1454, 1442, 1391, 1321, 1240, 1169, 1111 cm^{-1} ; CHN analýza, vypočítáno pro $\text{C}_{168}\text{H}_{104}\text{N}_{16}\text{S}_8\text{Zn} + 6 \text{H}_2\text{O}$: C, 72,67; H, 4,21; N, 8,07; S, 9,24, nalezeno: C, 72,74; H, 4,21; N, 7,99; S, 10,49; MS (MALDI-TOF): m/z = 2664,3 $[\text{M}]^+$; 2702,3 $[\text{M}+\text{K}]^+$; UV/Vis (THF): λ_{max} () = 661 (269 800), 631 sh, 599 (36 500), 493 (30 000), 388 nm (107 600 $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$).

7.12 Měření agregace

Vzorky **6a-Mg**, **6a-2H**, **6a-Zn** a **6b-Mg**, **6b-2H**, **6b-Zn** byly připraveny k měření v zásobním roztoku o koncentraci 200 μM , **9a-Zn** a **9b-Zn** jako 800 μM zásobní roztoky rozpouštěné v toluenu. Pro měření absorbance byly vyufily absorpční kyvety se dvěma různými optickými dráhami a pro roztoky více koncentrované (800 a 6,25 μM) to byly kyvety s optickou dráhou 1 mm, pro roztoky méně koncentrované (6,25-0,0976 μM) kyvety s optickou dráhou 10 mm. Byla proměřena koncentrací závislost absorbance o koncentracích 800 (200) μM po 0,0976 μM . Spektrofotometrické měření probíhalo na přístroji Shimadzu UV-2600 spectrophotometer v rozsahu 850-300 nm. Grafy byly vytvořeny pomocí programu Microsoft Office Excel 2007. Nelineární regrese byla provedena pomocí programu GraphPad Prism, verze 6.07 a následně byly vypočteny hodnoty dimerizačních konstant.

8. DISKUSE

Arylsulfanylové AzaPc a Pc mohou být připraveny cyklotetramerizací příslušných disubstituovaných aromatických *ortho*-dikarbonitrilů. Tyto prekurzory jsou výsledkem nukleofilní substituce aromatických dikarbonitrilů obsahujících odpovídající odstupující skupinu (LG) s příslušným thiofenolem (Schéma 13) [9].

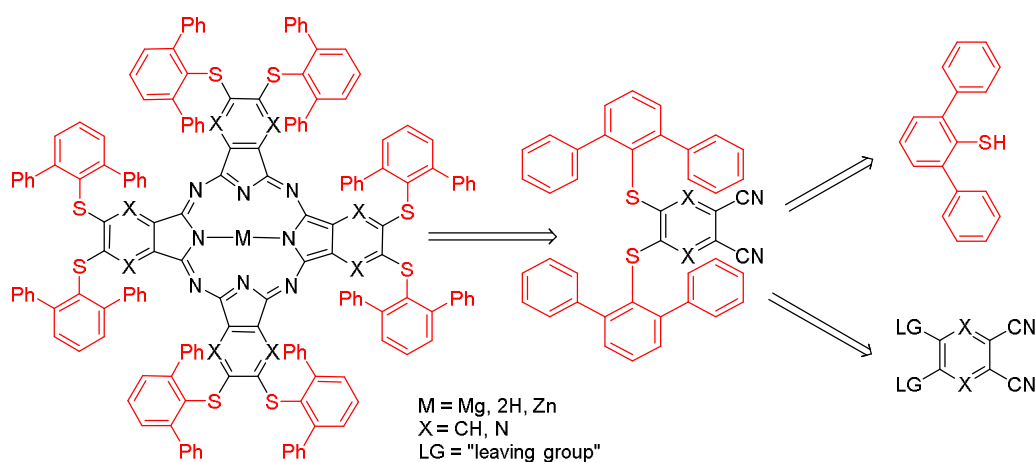


Schéma 13

Cílem této práce bylo využít objemný thiol 2,6-difenylfenylthiol **4**, který bude vázán na dvě různá jádra o benzenové a pyrazinové. V obou případech pak byly z prekurzorů připraveny příslušné Pc a AzaPc s centrálně chelatovanými hořelými, zinekatými kationty, případně i volné ligandy (tzv. šezkovové deriváty). Vzhledem k tomu, že požadovaný thiol **4** nebyl komerčně dostupný, přistoupili jsme k jeho syntéze za využití Newman-Kwartova příesmyku z příslušného fenolu. Souhrn reakcí prováděných v rámci mé diplomové práce je zobrazen na schématu 14.

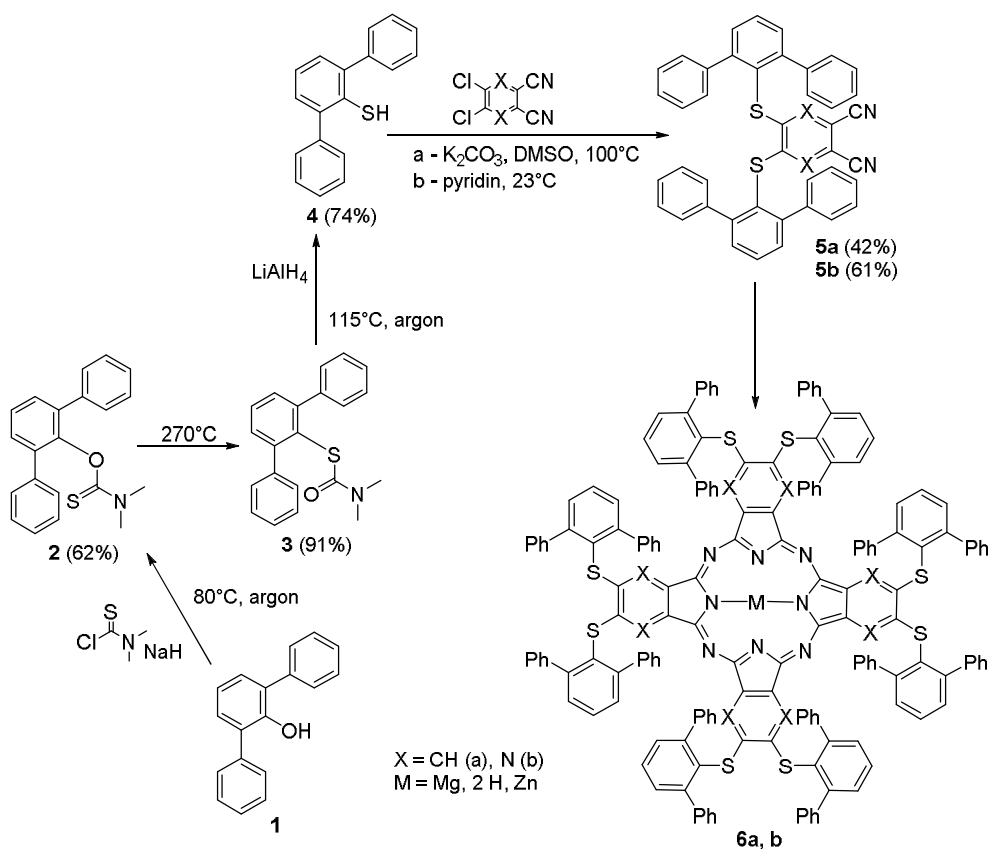


Schéma 14

8.1 Diskuze ó syntetická ást

P i této syntéze jsme vycházeli z komer n dostupného 2,6-difenylnolu, který byl deprotonován hydridem sodným a vzniklý fenolát poté reagoval s dimethylthiokarbamoylchloridem na *O*-dimethylkarbamothioát **1** (Schéma 15).

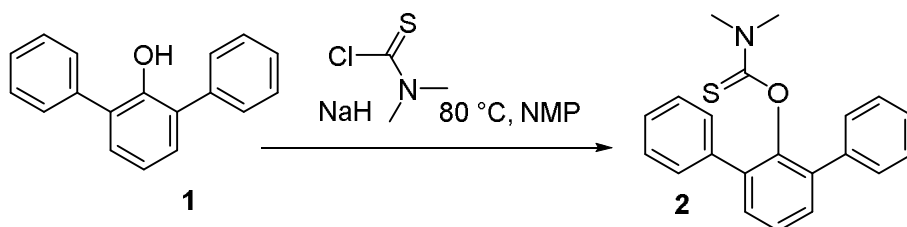


Schéma 15

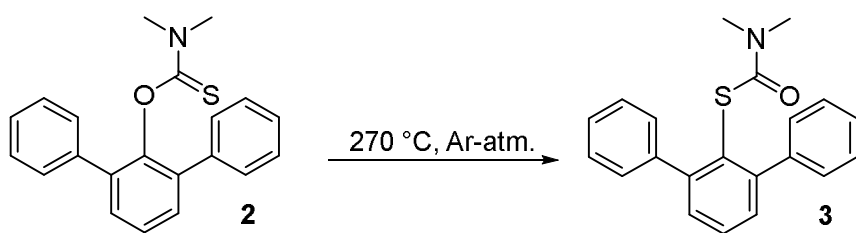


Schéma 16

Pomocí Newman-Kwartovy reakce za zvýšené teploty (270 °C) jsme dosáhli výměny pozic kyslíku a síry (z *O*-dimethylkarbamothioátu vznikl *S*-dimethylkarbamothioát, Schéma 16). Reakce probíhala velmi ochotně, výtěžnost reakce byla 91 %.

S-Dimethylkarbamothioát **3** byl redukován pomocí LiAlH_4 na 2,6-difenylfenylthiol **4** (Schéma 17) s výtěžkem 74 %. Zaznamenali jsme zde také vznik vedlejšího produktu s velice podobným R_f . V publikacích pojednávajících o syntéze thiofenolů s menšími substituenty (a obecně u přípravě takovýchto thiofenolů [9]) je popisován vznik disulfidu. Výsledky nukleární magnetické rezonance a infračervené analýzy tohoto navrhovaného vedlejšího produktu, které jsme měli rychle k dispozici, nebyly v rozporu s přítomností možného disulfidu. Z tohoto důvodu jsme se pokusili tuto látku rozštělit redukcí pomocí dithiotreitolu (Schéma 18), abychom zvýšili výtěžek požadovaného thiofenolu. Reakce s použitím tohoto redukčního činidla v chloroformu za přítomnosti triethylaminu ovšem vůbec neprobíhala ani za pokojové teploty, ani za varu rozpouštědla a dle TLC nedocházelo k žádným změnám. Následující elementární analýza tohoto vedlejšího produktu nepotvrdila přítomnost síry. Z tohoto důvodu jsme přehodnotili závěry ohledně struktury tohoto vedlejšího produktu. Mohlo dojít k vzniku *meta*-terfenylu (t.t. 84-87 °C dle lit. [29]) nebo se tyto molekuly mohly spojit ve zdvojený *meta*-terfenyl (t.t. 256,6 °C dle lit. [30]) (Obrázek 13). Po změnění hodnot tání vedlejšího produktu (85,8-86,7 °C) jsme došli k názoru, že vznikl *meta*-terfenyl.

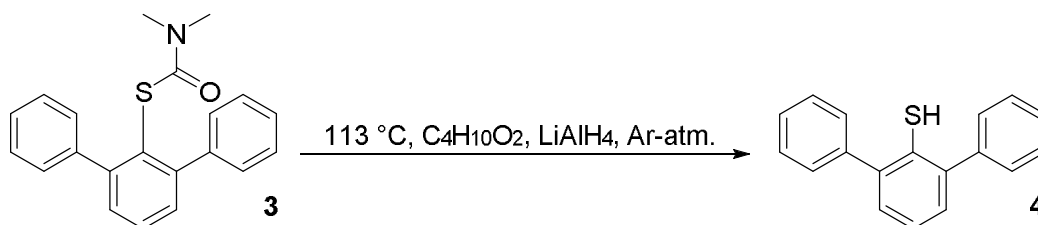


Schéma 17

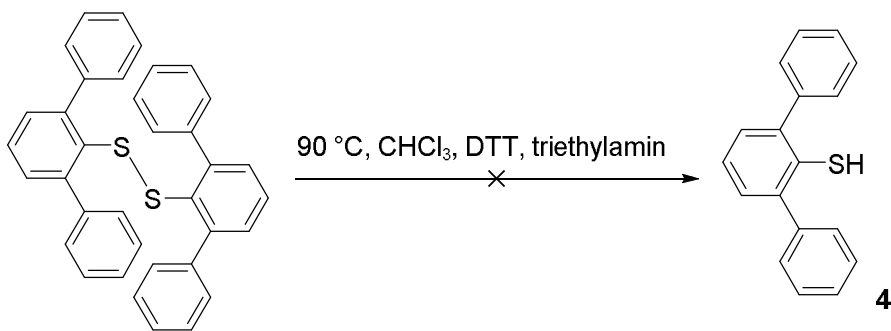
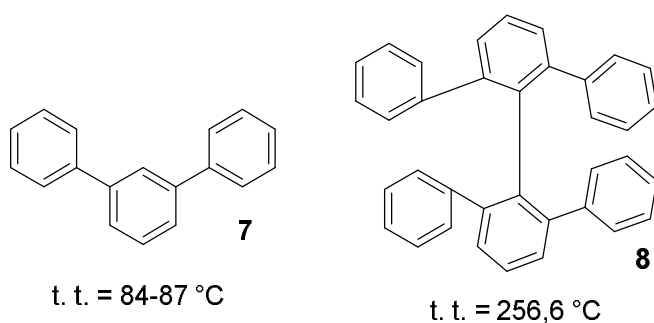


Schéma 18



Obrázek 13: *meta*-terfenyl (**7**) a zdvojený *meta*-terfenyl (**8**).

2,6-Difenylylfenylthiol **4** byl následně použit v nukleofilní substituci s 4,5-dichlorftalonitrilem (a) nebo 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilem (b) (Schéma 19). Látka s pyrazinovým cyklem reagovala nukleofilní substitucí ochotně bez zahřívání a s dobrými výtělky látky **5b** (61 %), protože reakce byla usnadněna elektron-deficitními uhlíky v polohách 5 a 6 pyrazinového jádra. Benzenové jádro mělo méně elektron-deficitní uhlíky a reakce byla proto zahřívána na 100°C s nižším výtělkem pro **5a** (42 %).

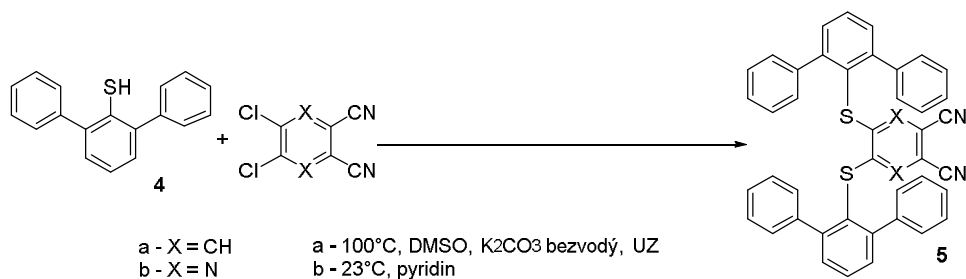


Schéma 19

Následovala cyklotetramerizační reakce, jejímž iniciátorem byl butanolát ho e natý (Schéma 20), díky níž vznikly ho e naté makrocykly **6a-Mg** a **6b-Mg** ve výtěžcích 60 % a 75 %. Při zpracovávání reakce a při následném čištění Pc derivátu **6a-Mg** docházelo k jeho poměrně intenzivnímu rozkladu na světle. Z tohoto důvodu byla tato látka chráněna před světlem. I přesto se tato nízká stabilita na světle mohla částečně podepsat pod nízký výtěžek u této látky (Schéma 21), výtěžek reakce se propadl na 41 %.

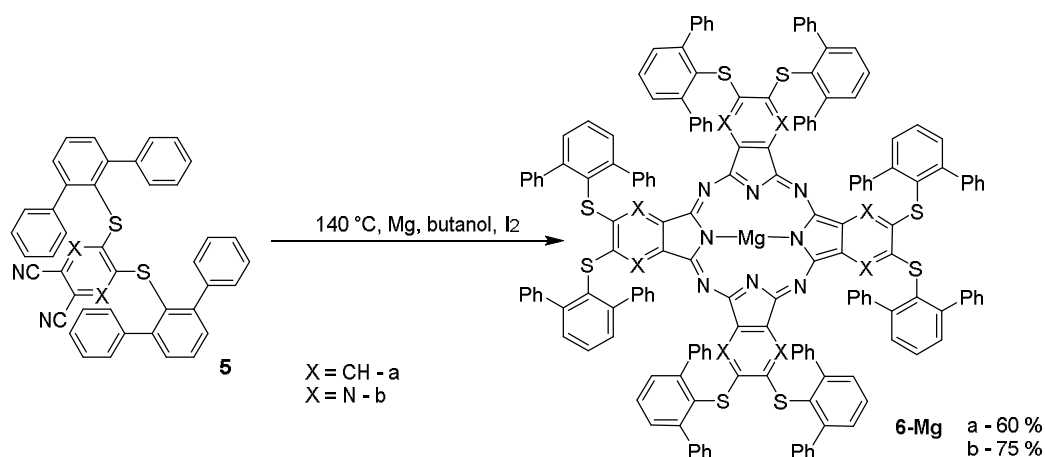


Schéma 20

Z ho e natých derivátů jsme získali bezkovové formy makrocyklů v reakci s kyselinou *p*-toluensulfonovou v prostředí tetrahydrofuranu a chloroformu (Schéma 21). Tato reakce je popisována v publikacích jako bezproblémová a probíhající za laboratorní teploty během přibližně 1-2 hodin [9]. V obou případech naměřených látek jsme zaznamenali neochotu k odkoření a reakce musely být prodlouženy až na 19 hodin. V případě AzaPc derivát **6b-Mg** musela být reakce dokonce zahřívána k teplotě varu reakční směsi, aby došlo ke kompletní konverzi. Toto chování by mohlo být vysvětleno silným sterickým bráněním objemnými periferními 2,6-difenylfenylovými substituenty, které brání přístupu kyselině k centru makrocyklu.

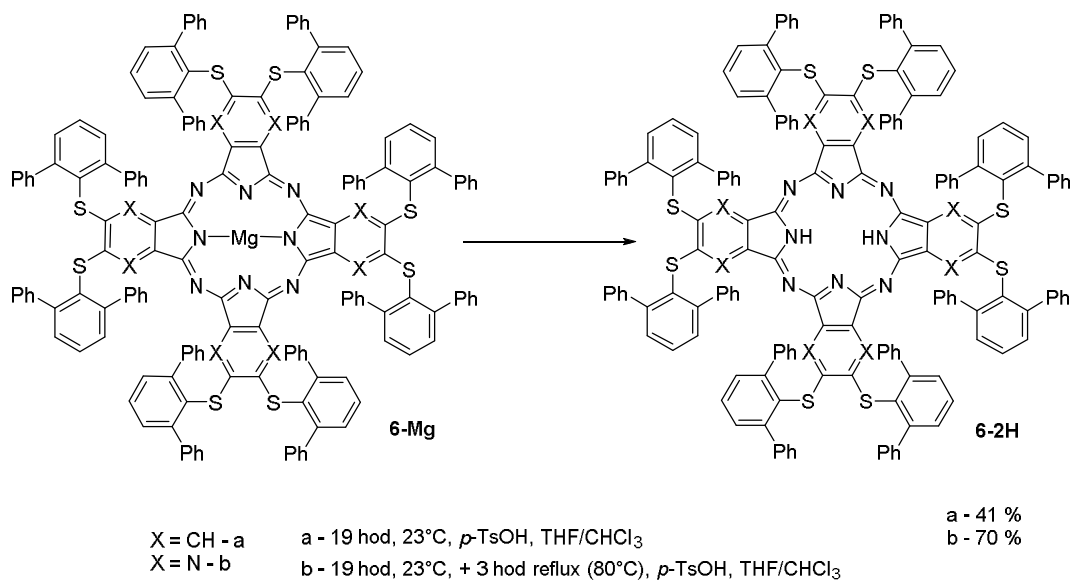


Schéma 21

Poslední reakcí bylo zavedení zine natého kationtu do st edu molekuly pomocí octanu zine natého v pyridinu (Schéma 22). Zde reakce prob hly prakticky kvantitativn . I v tomto p ípad , podobn jako u ho e natého komplexu a bezkovového derivátu, jsme pozorovali výrazn sníženou stabilitu na sv tle pro Pc derivát.

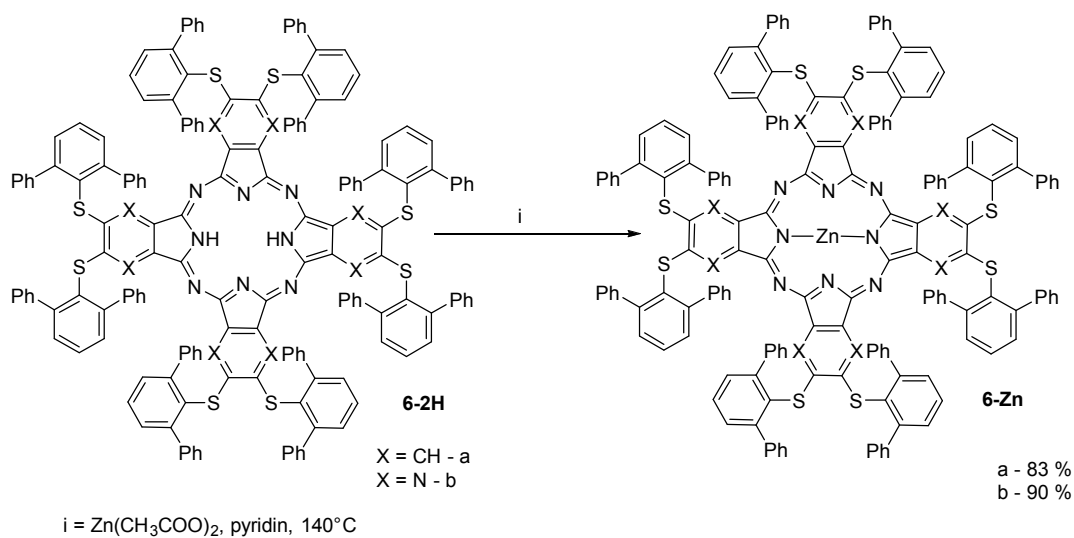
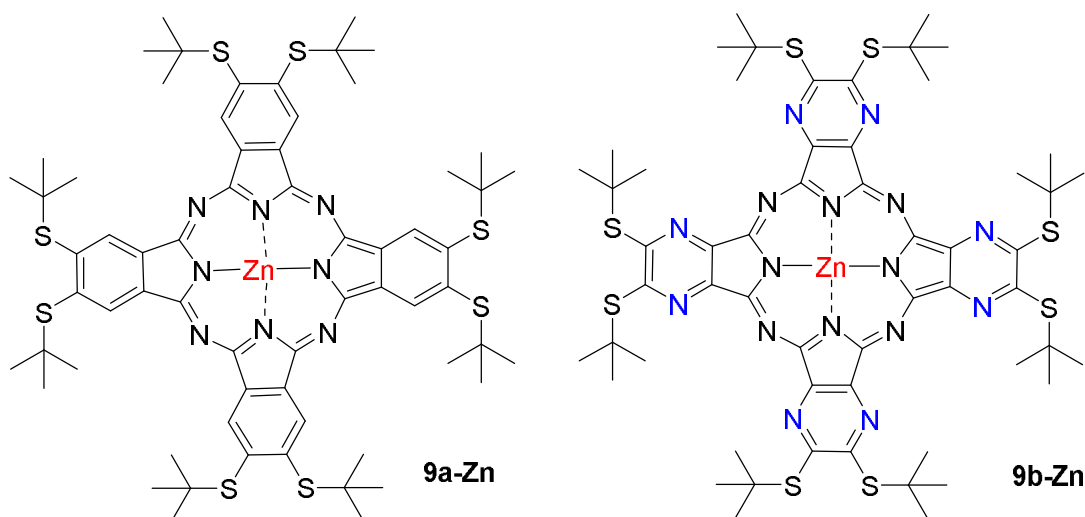


Schéma 22

8.2 Mění agregace

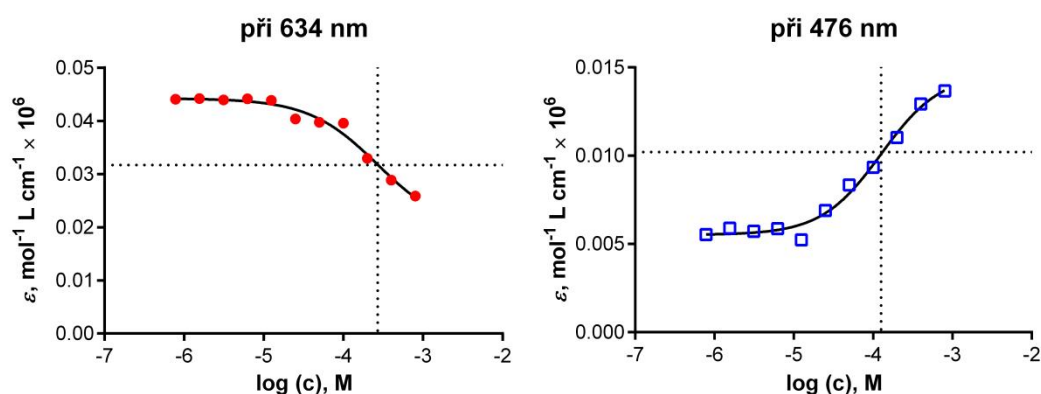
Syntetizované vzorky **6a-Mg**, **6b-Mg**, **6a-2H**, **6b-2H**, **6a-Zn**, **6b-Zn** byly podrobeny spektrofotometrickému měření za účelem zjištění náchylnosti k agregaci. Agregace se typicky projevuje změnou absorpčních spekter v oblasti Q-pásu, zejména jeho rozšířením, snížením extinkčních koeficientů a nárůstem nových absorpčních pásů. Vzorky byly měřeny v toluenu v diluční řadě (od níž vždy na polovinu předchozí koncentrace) od vysokých (200 mM) až po nízké koncentrace prakticky na hranici detekce použitého přístroje (0,0977 mM). Tvar absorpčního spektra ani u jedné zkoumané látky se v závislosti na koncentraci neměnil, nedocházelo ke snížení hodnot extinkčních koeficientů (Obrázek 17-24). Z toho je patrné, že látky neagregovaly a objemnost 2,6-difenylfenylových substituentů zajišťuje prakticky plnou monomerizaci i ve vysokých koncentracích.



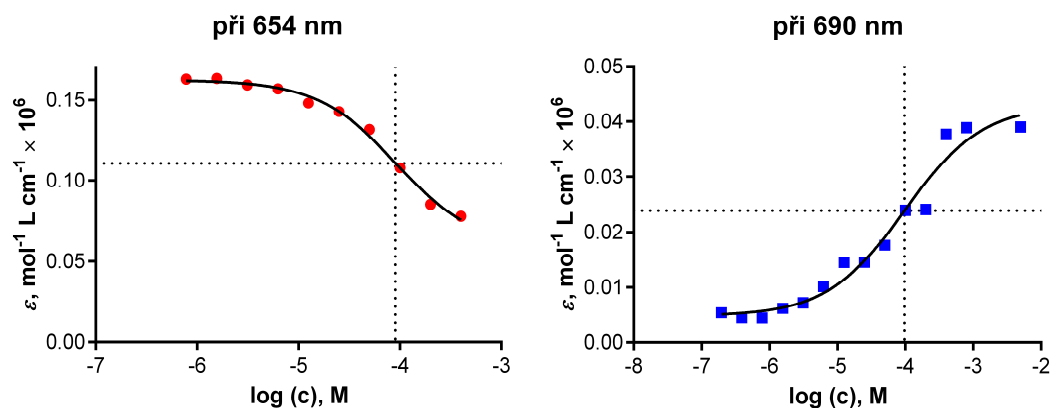
Obrázek 14: Referenční látky s objemnými *tert*-butylovými skupinami na ftalocyaninovém (**9a-Zn**) a azaftalocyaninovém jádře (**9b-Zn**).

Pro srovnání byly změřeny také již dříve syntetizované vzorky **9a-Zn** a **9b-Zn** (Obrázek 14). Tyto látky obsahují méně objemné skupiny *tert*-butylsulfanylové navázané na makrocyclické jádro Pc (**9a-Zn**) a AzaPc (**9b-Zn**). Na absorpčních spektrech těchto látek bylo jasné vidět, že dochází k agregaci přibližně od koncentrace 10 μM , jak lze usuzovat z poklesu extinkčního koeficientu v Q-pásu, a nárůstu absorbance v oblasti, kde se projevují dimery. Ze závislosti extinkčního koeficientu na koncentraci při různých vlnových délkách byla spočítána za pomoci nelineární regrese dimerizační konstanta K_D . Hodnota K_D pro látku **9b-Zn** byla $1,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ (analyzováno při 654 nm) a $1,03 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ (analyzováno při 690 nm) (Obrázek 16). Pro Pc analog **9a-Zn** byla hodnota $K_D = 7,92 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$ (při 634 nm)

a $3,69 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}$ (při 476 nm) (Obrázek 15). V případě látky **9b-Zn** je výpočet poměrně přesný, pro obě zvolené vlnové délky jsou hodnoty K_D prakticky shodné. V případě látky **9a-Zn** nebylo možné výpočet upřesnit vzhledem k tomu, že by bylo potřeba více bodů při vyšší koncentraci, což ovšem nebylo možné, protože jsme narazili při maximální studované koncentraci na mez rozpustnosti. I přesto je z hodnot K_D zřejmé, že Pc analog je při stejné periferní substituci méně náchylný k agregaci než AzaPc makrocyklus.

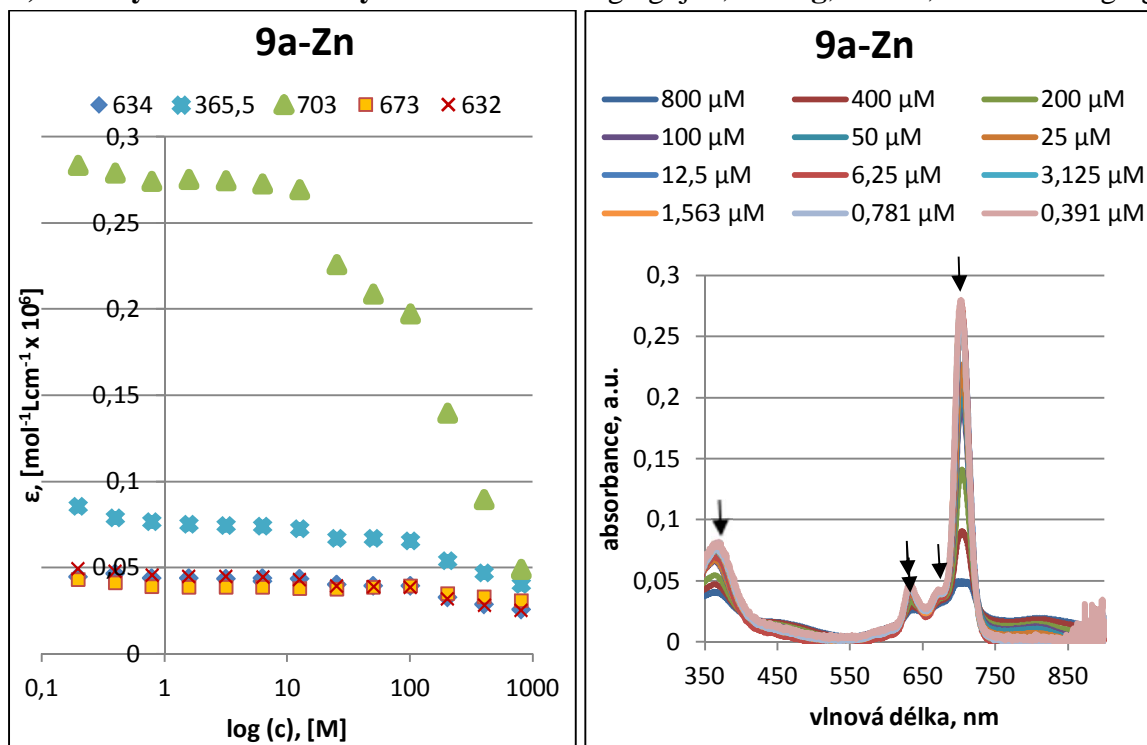


Obrázek 15: Závislost extinkčního koeficientu na koncentraci látky **9a-Zn** v toluenu při vlnové délce 634 a 476 nm. Plná čára je nelineární regrese vyufitá pro výpočet hodnoty K_D .

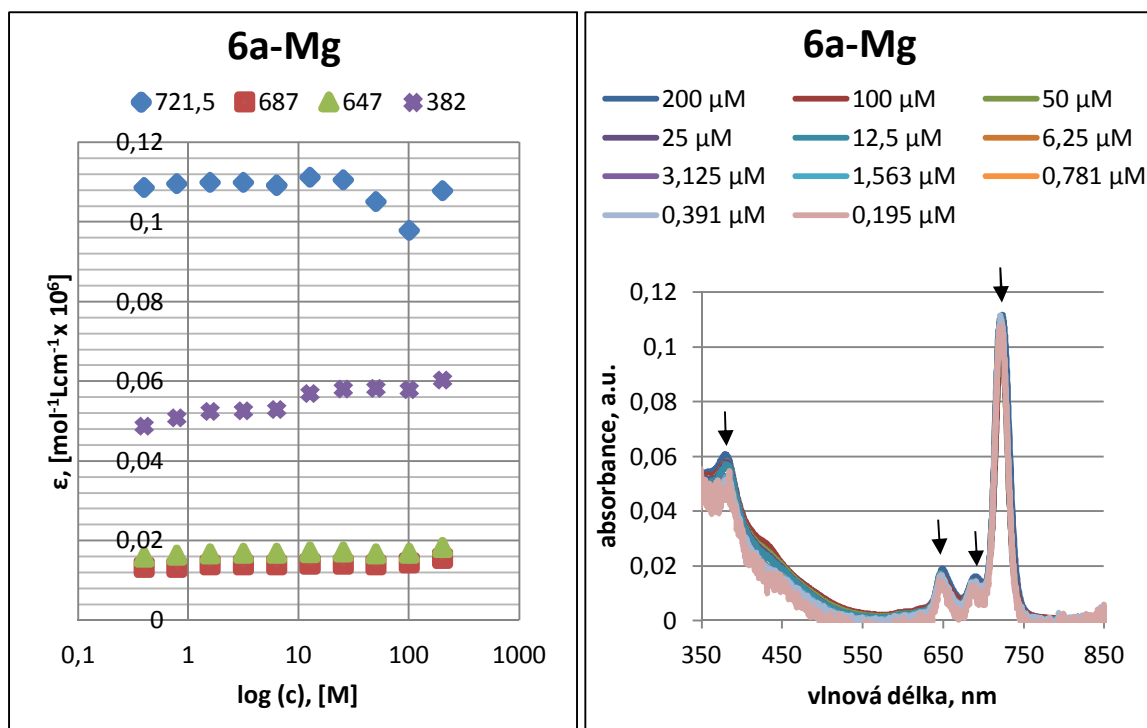


Obrázek 16: Závislost extinkčního koeficientu na koncentraci látky **9b-Zn** v toluenu při vlnové délce 654 nm a 690 nm. Plná čára je nelineární regrese vyufitá pro výpočet hodnoty K_D .

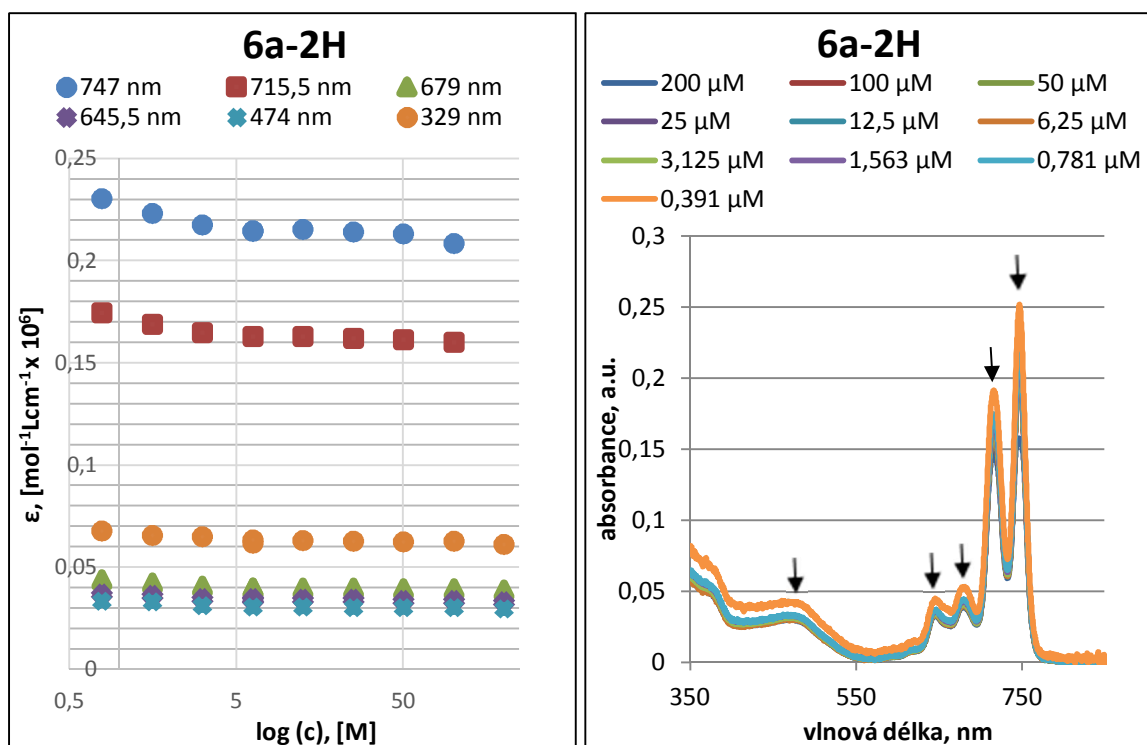
A) Ftalocyaninové deriváty ó vzorek **9a-Zn** agregující; **6a-Mg**, **6a-2H**, **6a-Zn** ó neagregující



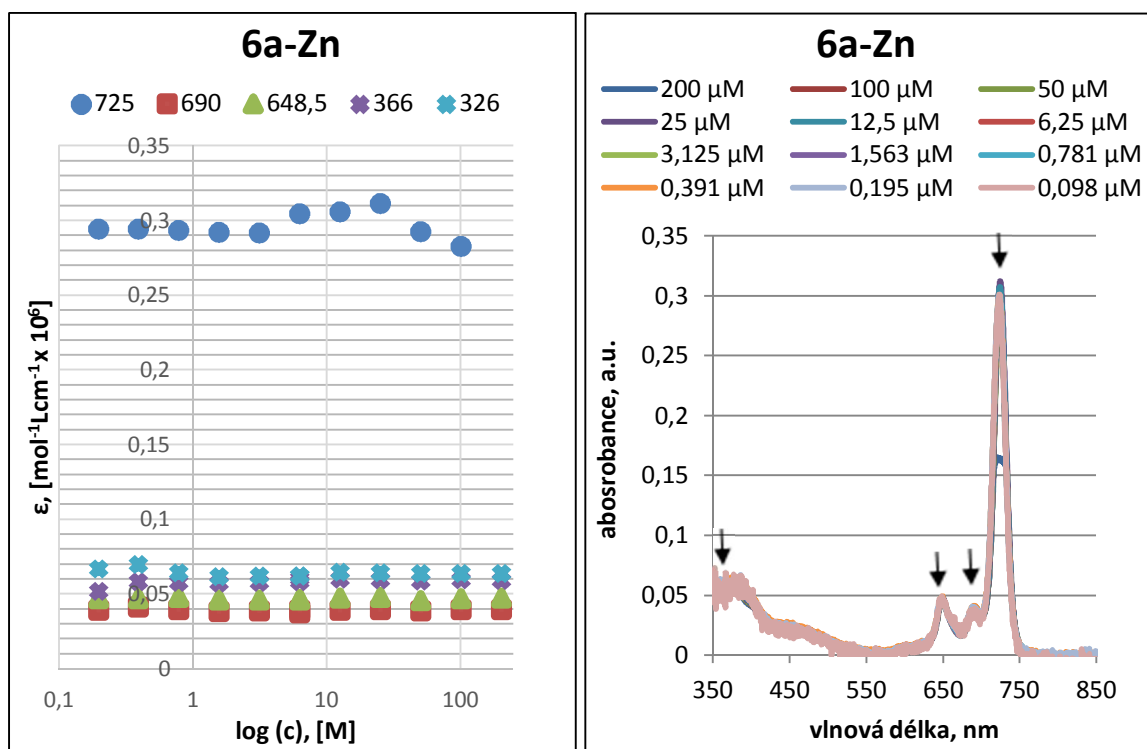
Obrázek 17: Závislost extinkčního koeficientu při vybraných vlnových délkách na koncentraci pro látku **9a-Zn** v toluenu (vlevo). Normalizovaná absorpční spektra látky **9a-Zn** v toluenu při různých koncentracích (vpravo).



Obrázek 18: Závislost extinkčního koeficientu při vybraných vlnových délkách na koncentraci pro látku **6a-Mg** v toluenu (vlevo). Normalizovaná absorpční spektra látky **6a-Mg** v toluenu při různých koncentracích (vpravo).

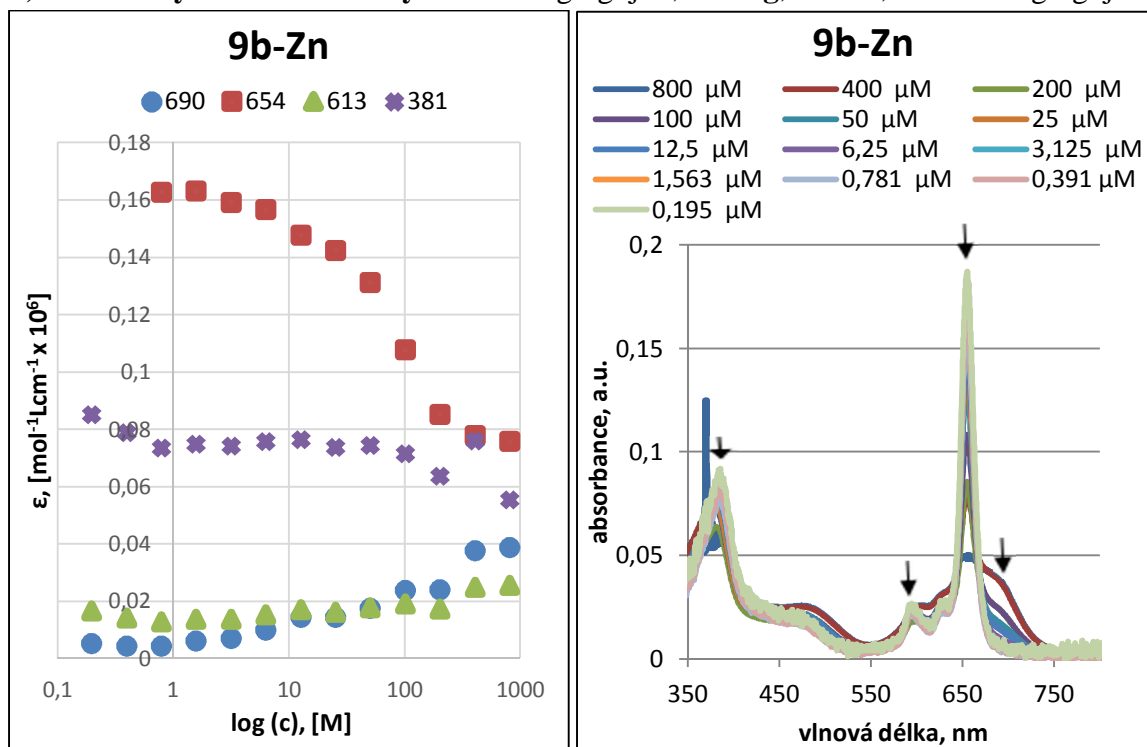


Obrázek 19: Závislost extinkčního koeficientu ϵ na vybraných vlnových délkách na koncentraci pro látku **6a-2H** v toluenu (vlevo). Normalizovaná absorpční spektra látky **6a-2H** v toluenu při různých koncentracích (vpravo).

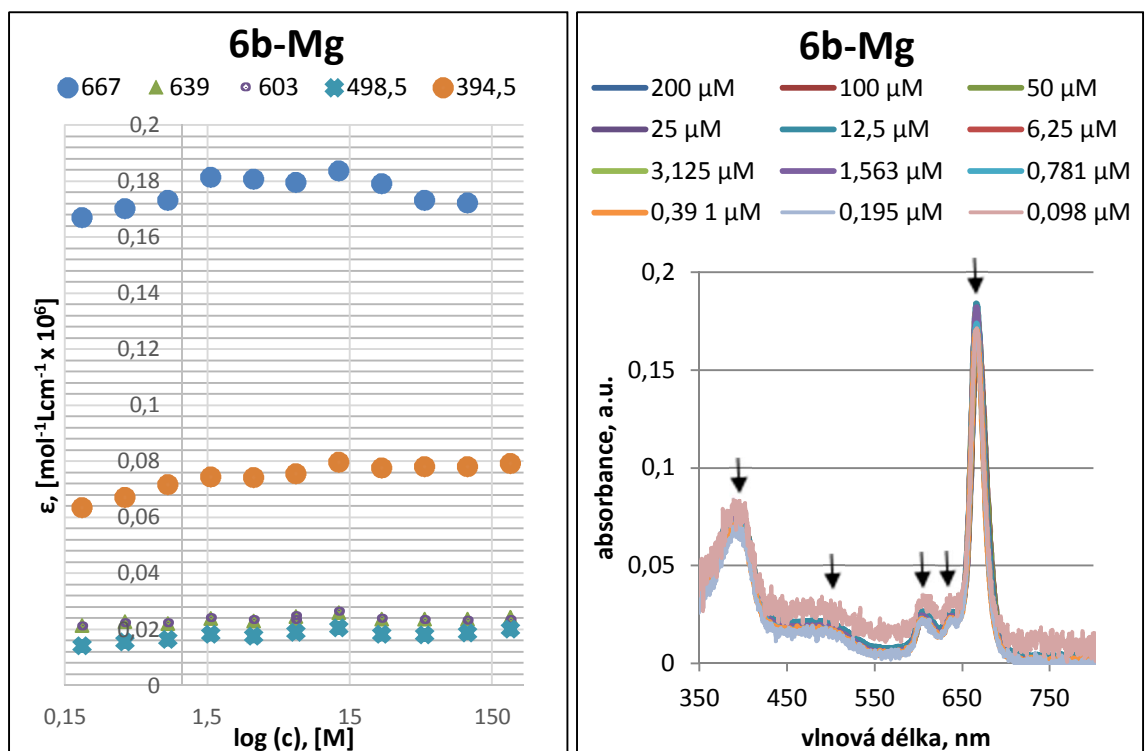


Obrázek 20: Závislost extinkčního koeficientu ϵ na vybraných vlnových délkách na koncentraci pro látku **6a-Zn** v toluenu (vlevo). Normalizovaná absorpční spektra látky **6a-Zn** v toluenu při různých koncentracích (vpravo).

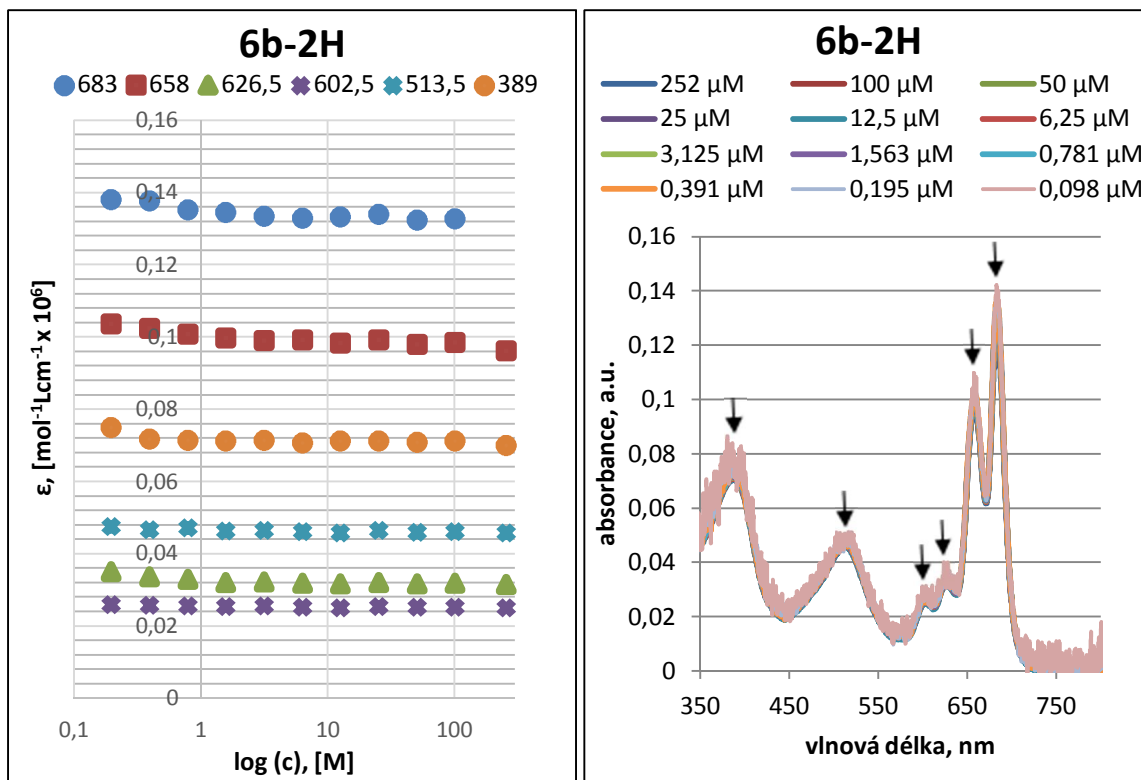
B) Azaftalocyaninové deriváty ó 9b-Zn agregující; 6b-Mg, 6b-2H, 6b-Zn neagregující



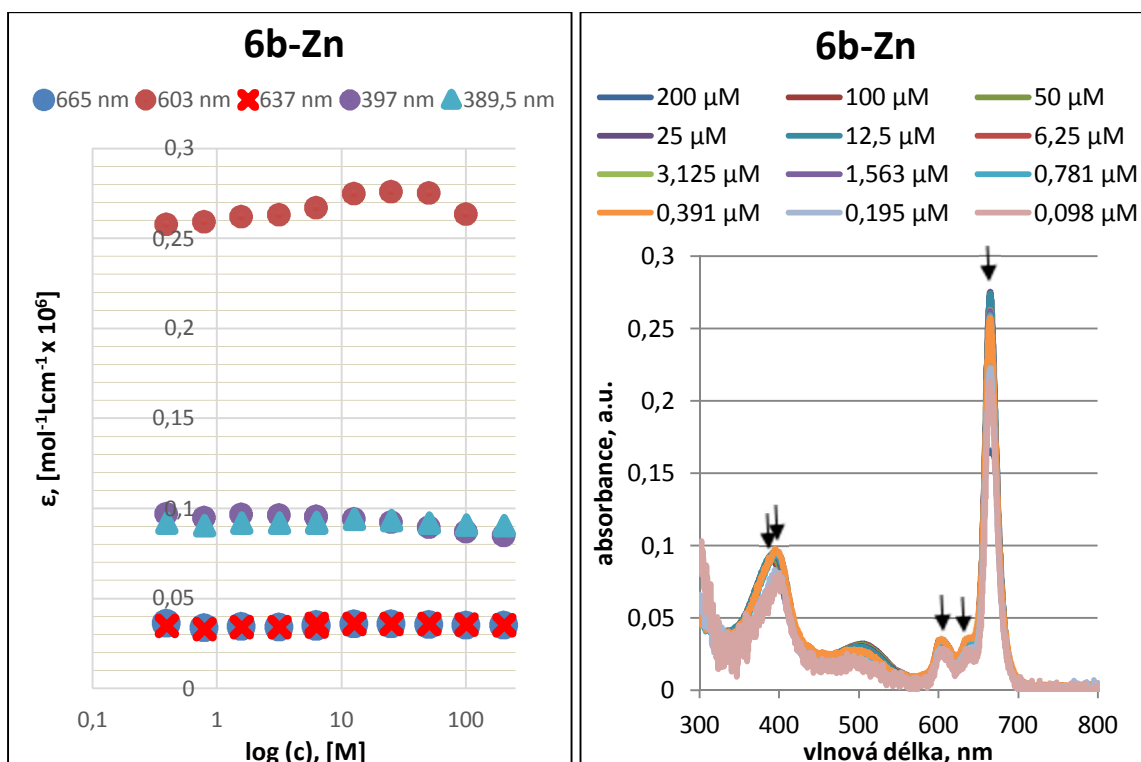
Obrázek 21: Závislost extinkčního koeficientu při vybraných vlnových délkách na koncentraci pro látku **9b-Zn** v toluenu (vlevo). Normalizovaná absorpční spektra látky **9b-Zn** v toluenu při různých koncentracích (vpravo).



Obrázek 22: Závislost extinkčního koeficientu při vybraných vlnových délkách na koncentraci pro látku **6b-Mg** v toluenu (vlevo). Normalizovaná absorpční spektra látky **6b-Mg** v toluenu při různých koncentracích (vpravo).



Obrázek 23: Závislost extinkčního koeficientu při vybraných vlnových délkách na koncentraci pro látku **6b-2H** v toluenu (vlevo). Normalizovaná absorpční spektra látky **6b-2H** v toluenu při různých koncentracích (vpravo).



Obrázek 24: Závislost extinkčního koeficientu při vybraných vlnových délkách na koncentraci pro látku **6b-Zn** v toluenu (vlevo). Normalizovaná absorpční spektra látky **6b-Zn** v toluenu při různých koncentracích (vpravo).

9. ZÁVĚR

V rámci této práce byly připraveny sloučeniny s ftalocyaninovým i azaftalocyaninovým jádrem s navázanými objemnými 2,6-difenylfenylsulfanylovými substituenty, vřdy v provedení ho e natý, zine natý komplex a bezkovový derivát. Byla zm ena schopnost agregace a porovnána s analogickými látkami, obsahující mén objemné *tert*-butylsulfanylové skupiny na periferii. Ve vřech p ípadech syntetizovaných látek bylo zjiřeno, ře tyto látky neagregují díky velikosti periferních substituent ůfl do maximální testované koncentrace. V p ípad derivát s *tert*-butylsulfanylovými substituenty docházelo k agregaci jiřl od koncentrace p ůblifln 10 M.

P ípravené látky jako zástupci nejobjemn ěřch periferních substituent ůdopl ůjí řerii Pc a AzaPc s alkyl/aryl sulfanylovými substituenty a budou dále slouřit k dalřmu zkoumání fotofyzikálních parametr ů. Fotofyzikální a fotochemická m ěn ění budou dopln ěna v diplomové práci Lenky Hrubé, jejířl obhajoba prob ěhne v ěrvnu 2016 [31].

10. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] KADISH K. M., SMITH K. M., GUILARD R. Handbook of Porphyrin Science. *World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.*, Singapore, 2010, vol. 3, s. 1-6, ISBN 13 978-981-4280-16-7.
- [2] WÖHRLE D., et al. Practical Applications of Phthalocyanines - from Dyes and Pigments to Material for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices. *Macroheterocycles*, 2012, 5 (3), s.191-202.
- [3] ZIM ÍK P. Azaftalocyaniny - Od syntéz p es fotochemické a fotofyzikální vlastnosti k aplikacím. *Chem. listy.*, 2012, 106 (4), s. 275-282.
- [4] NOVÁKOVÁ V. Studium strukturních a fotofyzikálních aspektů azaftalocyanin se zaměřením na jejich senzorické vlastnosti. Habilitační práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2014.
- [5] KADISH K. M., SMITH K. M., GUILARD R. Handbook of Porphyrin Science. *World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.*, Singapore, 2010, vol. 7, s. 3-16 a 249-278, ISBN 1793-9518.
- [6] ZIM ÍK P., MILETÍN M. Fotodynamická terapie jako nová perspektivní metoda léčby nádorových onemocnění - I. pohled fotosenzitizérů. *Česká a slovenská farmacie*, 2004, 6, s. 271-279.
- [7] ZIM ÍK, P. et al. Influence of aggregation on interaction of lipophilic, water-insoluble azaphthalocyanines with DOPC vesicles. *Photochem. Photobiol.*, 2007, 83 (6), s. 1497-1504.
- [8] ZIM ÍK P., et al. Azaphthalocyanines Containing Pyrazine Rings with Focus on the Alkylheteroatom, Aryl, and Heteroaryl Substitution and Properties Important in Photodynamic Therapy. *Macroheterocycles*, 2008, 1, s. 21-29.
- [9] NOVÁKOVÁ V., et al. Role of Steric Hindrance in the Newman-Kwart Rearrangement and in the Synthesis and Photophysical Properties of Arylsulfanyl Tetrapyrazinoporphyrazines. *J. Org. Chem.*, 2014, 79 (5), s. 2082-2093.
- [10] KADISH K. M., SMITH K. M., GUILARD R. Handbook of Porphyrin Science. *World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.*, Singapore, 2010, vol. 9, s. 3-16, ISBN 978-981-4307-22-2.
- [11] NOVÁKOVÁ V., et al. Systematic investigation of phthalocyanines, naphthalocyanines, and their aza-analogues. Effect of the isosteric aza-replacement in the core. *Dalton Trans.*, 2015, 44, s. 13220-13233.

- [12] MAKHSEED S., et al. Water-soluble non-aggregating zinc phthalocyanine and in vitro studies for photodynamic therapy. *Chem. Commun.*, 2013, 49, s. 11149-11151.
- [13] MACHÁ EK M., et al. Anionic hexadeca-carboxylate tetrapyrizinoporphyrazine: Synthesis and in vitro photodynamic studies of a water-soluble, non-aggregating photosensitizer. *RSC Adv.*, 2016, 6, s. 10064-10077.
- [14] fotonicka-medicina.cz, fotonická medicína [online]. [cit. 1.2.2016]. Dostupné z: www.fotonicka-medicina.cz/novinky
- [15] DOUGHERTY T. J., et al. Photodynamic Therapy. *JNCI*, 1998, 90 (12), s. 889-905.
- [16] LANG K., MOSINGER J., WAGNEROVÁ D. M. Singletový kyslík v praxi - současnost a perspektiva. *Chem. listy*, 2006, 100, s. 169-177.
- [17] TOMANOVÁ P., JURÁČEK M. Konjugáty porfyrin . *Chem. listy*, 2014, 108, s. 843-852.
- [18] ZIMÍK P., MILETÍN M. Fotodynamická terapie jako nová perspektivní metoda léčby nádorových onemocnění - I. Historie, základní princip. *česká a slovenská farmacie*, 2004, 5, s. 219-224.
- [19] REIMEROVÁ P. Porovnání fotofyzikálních vlastností různých typů zafthalocyanin . Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2014.
- [20] TILSTAM U., et al. The Newman-Kwart Rearrangement Revisited: Continuous Process under Supercritical Conditions. *Org. Process Res. Dev.*, 2009, 13, s. 321-323.
- [21] PERKOWSKI A. J., CRUZ C., NICEWICZ D. A. Ambient-Temperature Newman-Kwart Rearrangement Mediated by Organic Photoredox Catalysis. *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137, s. 15684-15687.
- [22] BURNS M., et al. The molecularity of the Newman-Kwart Rearrangement. *J. Am. Chem.*, 2010, 75, s. 6347-6353.
- [23] GILDAY, J. The Newman-Kwart Rearrangement: A Microwave Kinetic Study. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 73, s. 3130-3134.
- [24] MOSELEY J. D., et al. The Newman-Kwart rearrangement re-evaluated by microwave synthesis. *Tetrahedron*, 2006, 62, s. 4685-4689.
- [25] CLELAND, W. Dithiothreitol, a New Protective Reagent for SH Groups. *Biochemistry*, 1964, 4 (3), s. 480-482.

- [26] SINGH R., WHITESIDES G. M. A Reagent for Reduction of Disulfide Bonds in Proteins That Reduces Disulfide Bonds Faster Than Does Dithiothreitol. *J. Org. Chem.*, 1991, 56, 2332-2337.
- [27] HUMPHREY R. E., POTTER J. R. Reduction of Disulfides with Tributylphosphine. *Analytical Chemistry*, 1965, 37 (1), 164-165.
- [28] HRABÁLEK A., a kol. Laboratorní cvičení z organické chemie pro farmaceuty. *Praha: Nakladatelství Karolinum*, 2004., ISBN 80-7184-968-5.
- [29] TENG Q., et al. TfOH-Catalyzed Reaction of Bispropargyl Alcohols with 1,3-dicarbonyl Compounds. *Synthesis*, 2016, 48 (3), s. 455-461
- [30] OZASA S., et al. Syntheses and Spectral Properties of several Branched-chain Polyphenyls Containing 1,2,3-trisubstituted Ring(s). *Chem. Pharm. Bull.*, 1983, 31 (5), s. 1572-1581.
- [31] HRUBÁ L. Optimalizace metod pro stanovení kvantového výt flku produkce singletového kyslíku a kvantového výt flku fluorescence u derivát azaftalocyanin . Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, plánované datum obhajoby 1.6.2016.