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

SYNTÉZA DERIVÁTŮ AZAFTALOCYANINŮ S FENOLICKOU SKUPINOU JAKO FLUORESCENČNÍCH SENZORŮ PRO pH

DIPLOMOVÁ PRÁCE

VOJTĚCH VALER

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

Hradec Králové 2017

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

V Hradci Králové 30. 3. 2017 .....

Tímto bych chtěl velmi poděkovat svému školiteli doc. PharmDr. Petru Zimčíkovi, Ph.D. za příkladné vedení, trpělivost a rady při vzniku této práce. Dále bych rád poděkoval celému kolektivu pracovní skupiny a celé katedry za příjemné pracovní prostředí a ochotu vždy pomoci.

Za změření dat bych rád poděkoval následujícím pracovníkům: Doc. PharmDr. Jiří Kuneš, CSc. (NMR spektra), Iva Vencovská (IČ spektra), Věnceslava Hronová (elementární analýzy), PharmDr. Juraj Lenčo, Ph.D. (MS spektra).

Práce vznikla za finanční podpory projektů Specifického vysokoškolského výzkumu (SVV 260 401).

1 OBSAH

1 OBSAH 4
2 ABSTRAKT 6
3 ABSTRACT 7
4 SEZNAM ZKRATEK 8
5 CÍL PRÁCE 9
6 TEORETICKÁ ČÁST 10
6.1 Charakteristika 10
6.2 Syntéza 13
6.3 Oblasti současného využití Pc v praxi 14
6.3.1 Barviva 14
6.3.2 CD/R 18
6.3.3 LCD technologie 20
6.3.4 PDT 21
6.3.5 Laserové tiskárny 23
6.3.6 Solární články typu DSSC 25
6.3.7 Fluorescenční senzory 26
6.3.8 Potenciální další využití v praxi 29
7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 30
7.1 Příprava 1,2-bis(4-methoxyfenyl)ethan-1,2-dionu (1) 31
7.2 Příprava 1,2-bis(4-hydroxyfenyl)ethan-1,2-dionu (2) 32
7.3 Příprava 5,6-bis(4-hydroxyfenyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (3) 33
7.4 Příprava 2,3-bis(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(terc-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninato hořečnatého komplexu (4) 34
7.5 Příprava 2,3-bis(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(terc-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninu (5) 35
7.6 Příprava 2,3-bis(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(terc-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninato zinečnatého komplexu (6) 36
7.7 Příprava 5-(4-hydroxyfenyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (7) 37
7.8 Příprava 2-(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(terc-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninato hořečnatého komplexu (8) 38
7.9 Příprava 2-(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(terc-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninu (9) 39

7.10 Příprava 2-(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(terc-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninato zinečnatého komplexu (10) 40
7.11 Příprava 5,6-bis(terc-butylsulfanyl)pyrazin-2,3- dikarbonitrilu (11) 41
7.12 Příprava mikroemulzní 42
7.13 Závislost fotofyzikálních parametrů na pH prostředí 42
8 DISKUZE A VÝSLEDKY 44
8.1 Příprava prekurzorů 44
8.2 Příprava AzaPc 47
8.3 Fotofyzikální vlastnosti látek v závislosti na pH prostředí 48
8.3.1 AzaPc 48
8.3.2 Pyrazinové prekurzory 49
8.3.3 Hodnoty pK_a připravených látek 51
9 ZÁVĚR 54
10 POUŽITÁ LITERATURA 55

2 ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra **Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv**

Autor **Vojtěch Valer**

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

Název **Syntéza derivátů azaftalocyaninů s fenolickou skupinou jako fluorescenčních senzorů pro pH**

Vhodně substituované azaftalocyaniny (z angl. azaphtalocyanines, AzaPc) byly již dříve shledány potenciálními pH senzory. V této práci jsme se zaměřili na rozšíření série popsaných fenolických derivátů. Hlavním důvodem pro práci bylo pK_a předchozích sloučenin (12,5-12,7), které je činilo nevhodnými pro použití ve fyziologickém prostředí.

V syntéze byly použity dvě strategie přípravy prekurzorů. Syntéza prekurzoru, který byl substituován dvěma fenolickými skupinami, začala benzoinovou kondenzací *p*-anisaldehydu, která poskytla acyloin, jenž byl dále přímo oxidován na diketon, který byl následně dealkylován kyselinou bromovodíkovou. Následně byl získán substituovaný pyrazin a to kondenzací tohoto diketonu s diaminomaleonitrilem (DAMN). Syntéza prekurzoru substituovaného jedním fenolickým substituentem započala oxidací 4-hydroxyacetofenonu na ketoaldehyd, který byl použit v kondenzaci s DAMN za získání pyrazinového prekurzoru.

Smíšené tetramerizační reakce mono nebo disubstituovaného pyrazinu s 5,6-bis(*terc*-butylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilem poskytly směs kongenerů hořečnatých AzaPc ze kterých byly opakovanými sloupcovými chromatografiemi izolovány příslušné kongenery typu AAAB. Hořečnaté komplexy byly použity pro přípravu bezkovových ligandů a zinečnatých komplexů. Nakonec byly stanoveny acido-bazické a senzorické vlastnosti pomocí absorpční a fluorescenční spektrofotometrie v závislosti na pH pufru.

3 ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

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

Candidate **Vojtěch Valer**

Supervisor **Doc. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.**

Title of Thesis **Synthesis of phenol-substituted azaphthalocyanines as fluorescent pH sensors**

Azaphtalocyanines (AzaPc) bearing suitable phenol moieties were found to be potentially useful pH sensors. In this study, we focused on expanding the series of phenol derivatives synthesized previously. The main reason of our effort was the fact, that pK_a of the previous compounds (12.5-12.7) did not fall into physiologically useful range.

Two different strategies to synthesis of precursors were developed. Synthesis of the precursor with two phenols started by benzoin condensation of *p*-anisaldehyde to obtain corresponding acyloin, which was oxidized to diketone and dealkylated. Subsequently, the substituted pyrazine was obtained by condensation of this diketone with diaminomaleonitrile (DAMN). Synthesis of precursor with one phenol began with oxidation of 4-hydroxyacetophenone to corresponding ketoaldehyde, which was used in condensation with DAMN to the pyrazine.

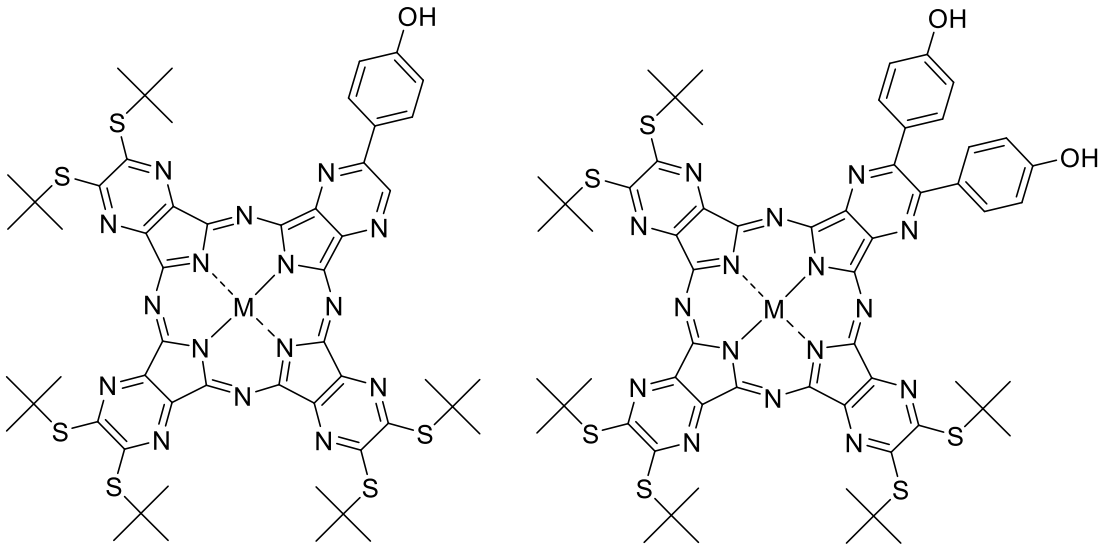
The mixed cyclotetramerization of mono or disubstituted pyrazine with 5,6-bis(*tert*-butylsulfanyl)pyrazine-2,3-dicarbonitrile provided the mix of congeners of the magnesium AzaPc, from which the relevant congeners were isolated by repeated column chromatography. The magnesium complexes were used for preparation of metal-free and zinc derivatives. Finally, acid-base sensing properties were evaluated by absorption and fluorescence spectrophotometry.

4 SEZNAM ZKRATEK

ACN	Acetonitril
AzaPc	Azaftalocyanin
CD-R	Kompaktní disk s možností zápisu
CHF	Chloroform
DAMN	Diaminomaleonitril
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSSC	Barvivem senzitizovaný solární článek
GIT	Gastrointestinální trakt
ICT	Intramolekulární přenos náboje
IČ, IR	Infračervený
LCD	Displej z tekutých krystalů
Nc	Naftalocyanin
NMR	Nukleární magnetická rezonance
Pc	Ftalocyanin
PDT	Fotodynamická terapie
p-TsOH	*p*-toluensulfonová kyselina
TBAH	Tetrabutylammonium-hydroxid
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Tenkovrstvá chromatografie

5 CÍL PRÁCE

Zamýšleným cílem mé práce byla syntéza nesymetrických derivátů azaftalocyaninů (z angl. azaphtalocyanines, AzaPc) substituovaných na periferii jedním a dvěma fenolickými substituenty a jejich následná fotofyzikální charakterizace včetně stanovení hodnot pK_a pro senzorickou část. Celá práce se odvíjela od již dříve zjištěných skutečností, že vhodně substituované AzaPc, například fenolickou či aromatickou aminoskupinou, jsou schopny přecházet z excitovaného do základního stavu v závislosti na pH cestou intramolekulárního přenosu náboje (z angl. intramolecular charge transfer, ICT).[1,2] Následkem tohoto jevu je masivní snižování kvantových výtěžků fluorescence, což nabízí potenciální využití v monitorování pH. Syntéza navazovala na publikované struktury, jejichž syntéza proběhla v naší skupině v minulosti. Tyto látky vykazovaly ICT, splňovaly podmínku substituce objemnými skupinami na periferii, které zabraňují jejich agregaci, nicméně těmto molekulám udělují pK_a v hodnotách přibližně 12. Cílem mé syntézy (Obr. 1) bylo posunutí hodnot pK_a senzorické části k nižším hodnotám, kde by byla možná větší korelace s užitím v nižším pH.



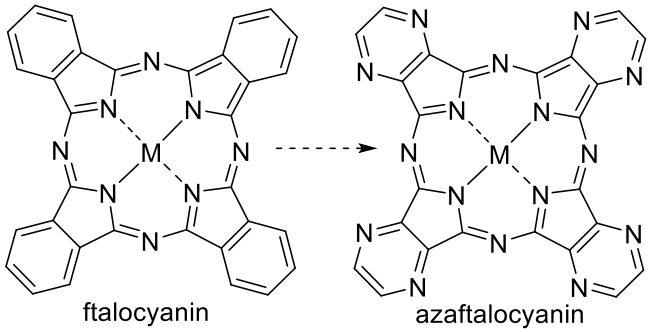
Obrázek 1. Cílové struktury připravovaných látek.

6 TEORETICKÁ ČÁST

Ftalocyaniny (z angl. phtalocyanine, Pc) a jejich strukturní analogy jsou v současnosti intenzivně zkoumanou skupinou látek. První počátky zkoumání Pc a jejich derivátů se datují již do první poloviny dvacátého století. Konkrétně je první syntéza měďnatého Pc datována do roku 1907 (Braun a Tcherniac), charakterizaci dokončil Reginald Patrick Linstead o třicet let později.[3,4] Avšak zájem o tuto skupinu má narůstající tendenci, také vzhledem k výrazně narůstajícímu počtu publikací. Důvodem jsou zejména možnosti a proveditelnost syntézy a možné rozsáhlé změny v periferní substituci, které je předurčují do role látek s širokou variabilitou fyzikálně-chemických vlastností, a tím pádem i širokým rozsahem potenciálního využití.

6.1 Charakteristika

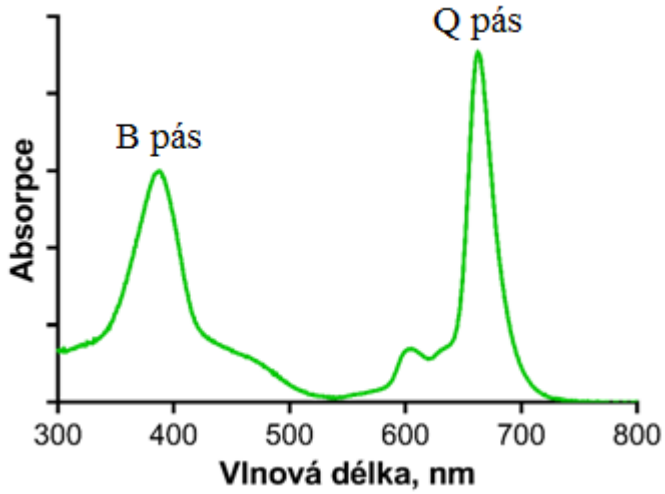
Pc jsou látky syntetického původu, jejichž předlohu můžeme naleznout v přírodních látkách typu porfyrinů. Obdobnou strukturu a vlastnosti mají také AzaPc, které vznikají izosterní záměnou methinových skupin na benzenových jádrech za atomy dusíku (Obr. 2).



Obrázek 2. Obecné struktury Pc a AzaPc (M= kationt kovu, polokovu nebo dva atomy vodíku).

Jedná se o chemicky i termálně značně stálé látky, disponující systémem konjugovaných π-vazeb, které jim udělují výrazné zbarvení, z velké většiny intenzivně zelené, modré či fialové. Ve svém středu jsou schopny chelatovat kovy (Zn, Mg, Pd, atd.) polokovy (např. Si, B) či dva atomy vodíku, celkem asi 66 různých kationtů v různých oxidačních stavech.[5] Sloučeniny jsou dobře rozpustné v řadě nepolárních rozpouštědel, rozpustnosti ve vodě a polárních rozpouštědel lze docílit tvorbou vhodných solí při vhodné periferní substituci. Ve výčtu vlastností látek je bezpochyby nutné zmínit také sklony k tvorbě dimerů a agregátů, jenž je děj bohužel povětšinou nežádoucí a vede k výrazným změnám až ztrátě fotofyzikálních vlastností. K výrazné redukci tohoto jevu lze navrhnout vhodnou objemnou periferní substituci, nicméně je nutno počítat se zamýšleným užitím látek a jejich vlastnostmi.

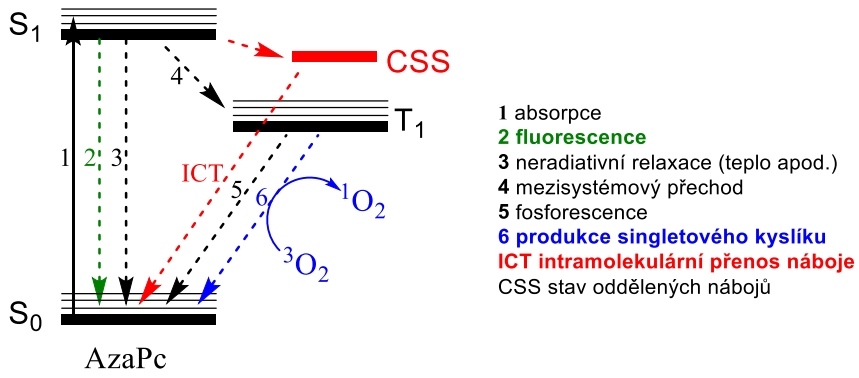
Co se týče fotofyzikálních a fotochemických vlastností, sloučeniny napříč celou širokou skupinou těchto látek vykazují jeden charakteristický znak. Je jím tvar jejich absorpčního spektra se dvěma výrazně dominujícími pásy Jedná se o B-pás nacházející se v oblasti vlnových délek 340-380 nm, a Q-pás v oblasti mezi 630-680 nm (viz. Obr. 3).[6] Na přesnou polohu pásů má vliv jak periferní substituce, centrální kation, tak i například použité rozpouštědlo.



Obrázek 3. Absorpční spektrum tvarově typické pro Pc a AzaPc.

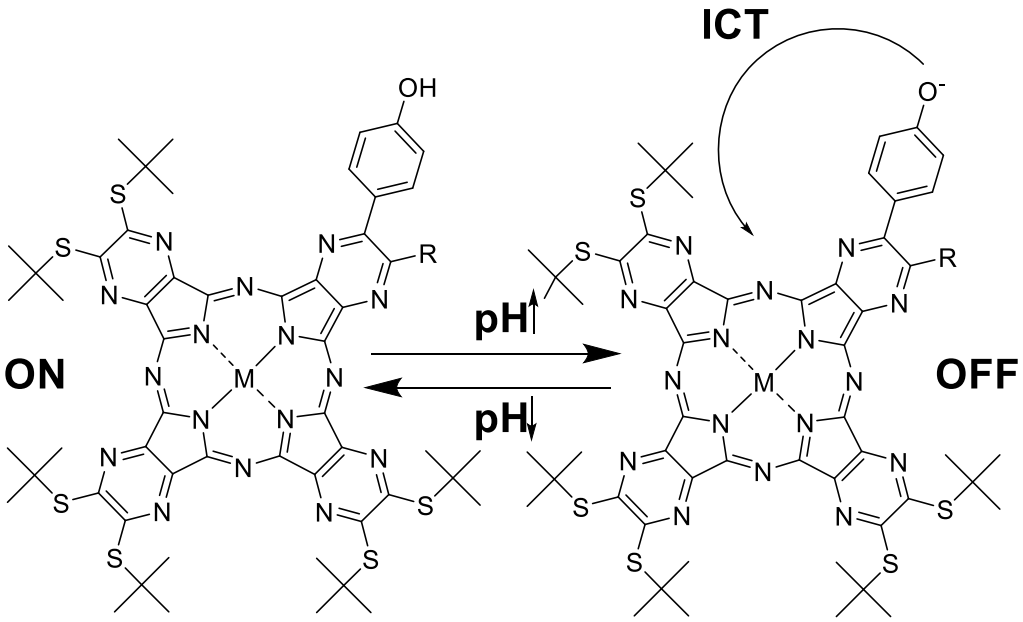
Druhým znakem je schopnost pohlcovat světelnou energii, což je zapříčiněno systémem konjugovaných π-vazeb. V čem se však látky liší, je způsob, jakým se vrátí ze stavu excitovaného do stavu základního. Obecně můžeme tyto cesty rozdělit na zářivé

(luminiscenční) a nezářivé deaktivační cesty. Mezi zářivé přechody můžeme zařadit fluorescenci a fosforescenci, mezi pochody nezářivé tvorbu tepla a ICT (viz. Obr. 4.).



Obrázek 4. Jablonského diagram. (převzato z NOVAKOVA, V.; Studium strukturních a fotofyzikálních aspektů azaftalocyaninů se zaměřením na jejich senzorické vlastnosti. Habilitační práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Hradec Králové 2014)

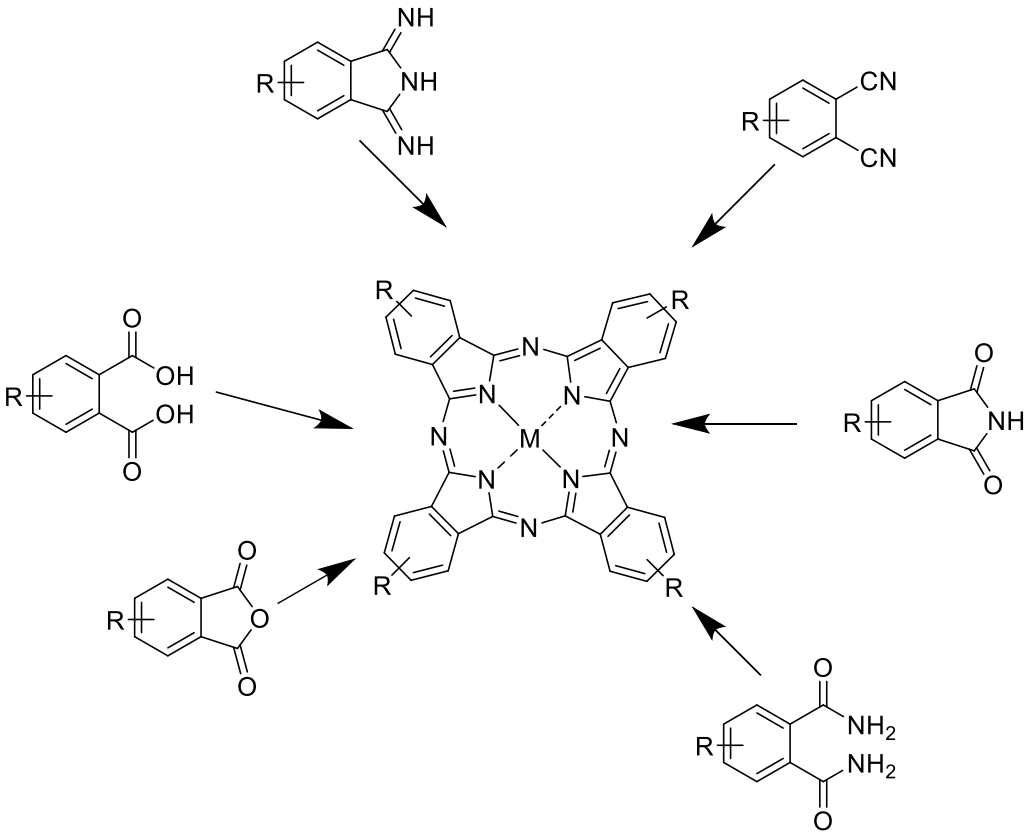
Zářivé a nezářivé deaktivační cesty vzájemně kompetují, čímž lze také vysvětlit i charakteristické chování v této práci zkoumaných látek, kdy v určitém stavu (okamžik tvorby fenolátového aniontu, indukce silného donoru v molekule), jenž je zapříčiněn změnou pH, v molekule převládne výrazně rychlejší proces ICT nad zářivým fluorescenčním přechodem.[7] Fluorescence je následně utlumena takřka k nulovým hodnotám. Situaci, kdy je periferní fenolická skupina ve stavu protonizovaném, lze tedy nazvat jako stav ON a přítomnost fenolátového aniontu charakterizuje stav OFF (Obr. 5).



Obrázek 5. Znázornění přepínání ON-OFF fluorescenčních stavů v závislosti na pH.

6.2 Syntéza

Pc a analogy jsou makrocyklické látky, které se získávají cyklotetramerizačními reakcemi 4 molekul vhodných prekurzorů. Těch je k dispozici celá řada, avšak jako majoritně užívanou skupinu můžeme označit kyselinu ftalovou a její deriváty, z nichž se nabízí například imidy, anhydridy, amidy, či nitrily (Obr. 6). Především nitrily lze vyzdvihnout jako nejčastější volbu. Druhou otázkou po výběru prekurzorů, jsou modifikace konečných vlastností Pc jádra. V úvahu připadá zejména zavedení vhodného centrálního atomu, záměny *meso*-atomů a především návrh periferní substituce. V otázce periferní substituce se nabízejí dvě možnosti, a sice návrh syntézy již substituovaného prekurzoru, kdy po jeho uvedení do cyklotetramerizace výsledný Pc nese na periferii dané substituenty, či substituce periferie již hotového Pc jádra. Druhého zmiňovaného se užívá především v průmyslových výrobách (výroba barviv), kdy jsou elektrofilní substitucí zaváděny na periferii různé substituenty, například halogeny nebo sulfonové skupiny.[8] Tyto reakce ovšem nebývají kvantitativní a produktem bývá obvykle ne zcela jednoznačná směs látek.



Obrázek 6. Vybrané prekurzory typicky užívané v syntéze Pc a jejich analogů. Dané schéma lze vztáhnout i na aza analogy.

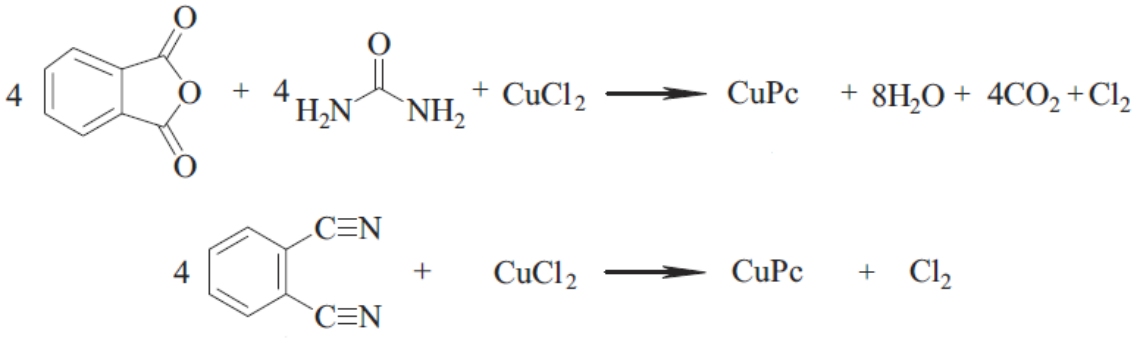
6.3 Oblasti současného využití Pc v praxi

6.3.1 Barviva

Pc jsou v současnosti masivně využívána v roli barviv, jejich užití v tomto odvětví plynule kopíruje celou historii jejich poznávání a objevování. Již v roce 1935 byl komerčně uveden měďnatý ftalocyanin (CuPc), prvně popsaný Linsteadem, pod komerčním názvem „Monastral Blue“. Zelené pigmenty následovaly o tři roky později. Uvádí se, že 25 % syntetických barviv jsou látky povahy Pc. Pro jejich užití je předurčují jejich výborné vlastnosti. Zejména jsou to: dobrá barvivost, stálost a uniformita odstínů, chemicko-fyzikální stálost a v neposlední řadě i dostupnost a snadná syntéza. Uvádí se, že náklady na výrobu 1 kg základního měďnatého Pc se pohybují v rozmezí 7-15 USD,

což lze, vzhledem k intenzitě barvení, považovat za cenu velmi nízkou. Pc barviva vykazují afinitu k široké škále materiálů, jsou užívány jako inkousty do tiskáren, k barvení kůže, plastů či jako barviva v tetování.

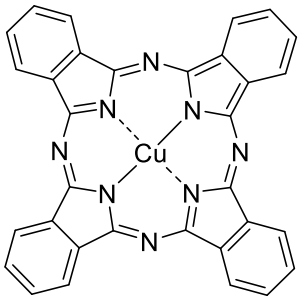
Průmyslově se používají dvě základní cesty syntézy, z nichž každá má pro a proti. Zaprvé je to reakce anhydridu kyseliny ftalové a močoviny za přídavku chloridu měďnatého jako zdroje centrálního kationtu. Výhodou je vysoký výtěžek 90 %, ovšem se zbytkem těžko izolovatelných reziduí. Druhou cestou, která se vyznačuje vysokou čistotou výsledného Pc, avšak se znatelně nižšími výtěžky, je cyklotetramerizace ftalonitrilu (Obr. 7). Dalšími kroky v přípravě Pc barviv s definovanými odstíny je především chlorace, bromace, či substituce zbytky sulfonových kyselin, která vede k derivátům rozpustným ve vodě, široce užívaným například k barvení bavlny. Další periferní substituce zahrnují fenolické, aminové, sulfonamidové, alkoholické či methylchloridové skupiny. Jako centrální kationty jsou v oblasti barviv s převahou užívány kationty měďnaté a nikelnaté.[5]



Obrázek 7. Základní způsoby průmyslové přípravy Pc barviv. (převzato z WÖHRLE, D.; SCHNURPFEIL, G.; MAKAROV, S.; KAZARIN, A.; SUVOROVA, O.; Practical Applications of Phthalocyanines - from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices. *Macroheterocycles*, **2012**, *5 (3)*, 191-202.)

Světově nejužívanějším barvivem ze skupiny Pc je základní měďnatý CuPc (Obr. 8) ve své β-modifikaci (synonyma Phtalo Blue, Blue BN, Monastral Blue, Helio Blue), jehož roční produkce se pohybuje v řádech tisíců tun. Jedná se o nejmasověji synteticky vyráběný pigment na světě. Jedná se o mimořádně chemicky stálou sloučeninu se všemi výše uvedenými výhodnými vlastnostmi umožňujícími jeho široké užití. Kromě toho se

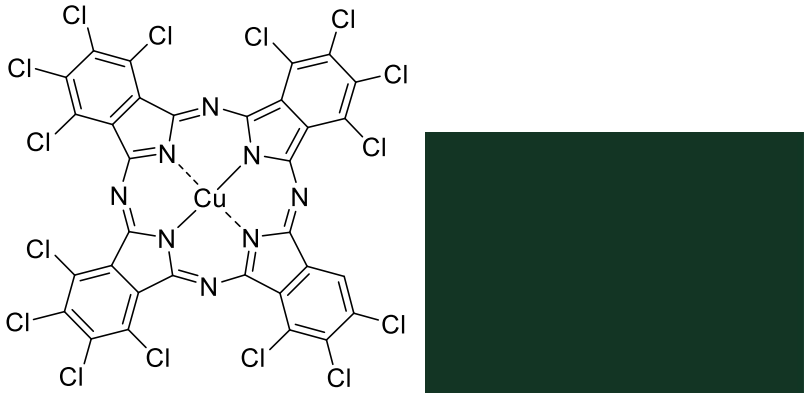
můžeme s CuPc setkat ještě v dalších krystalových modifikacích α či ε, ty se nepatrně liší svým odstínem (Obr. 9).



Obrázek 8. Phtalo Blue.

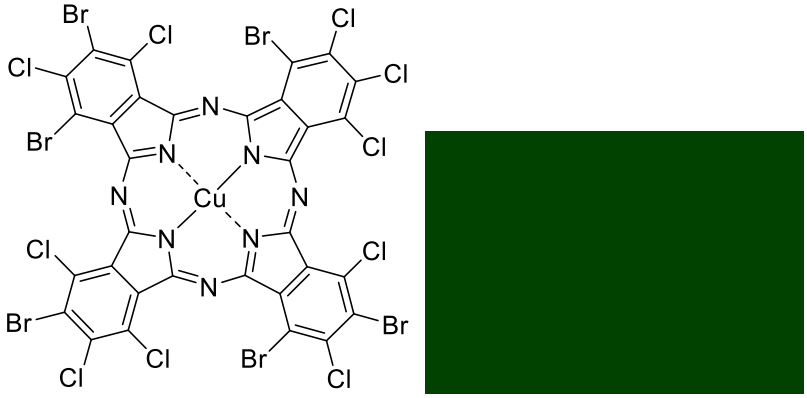
Obrázek 9. Odstínová variabilita u jednotlivých krystalových modifikací CuPc. (převzato z WÖHRLE, D.; SCHNURPFEIL, G.; MAKAROV, S.; KAZARIN, A.; SUVOROVA, O.; Practical Applications of Phthalocyanines - from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices. *Macroheterocycles*, **2012**, *5 (3)*, 191-202.)

Další významnou sloučeninou této skupiny je zelený pigment Green G (Obr. 10), který je průmyslově vyráběn z Blue BN chlorací. Jedná se o Pc periferně substituovaný 14-15 atomy chloru. Rovněž se vyznačuje vysokou stálostí.



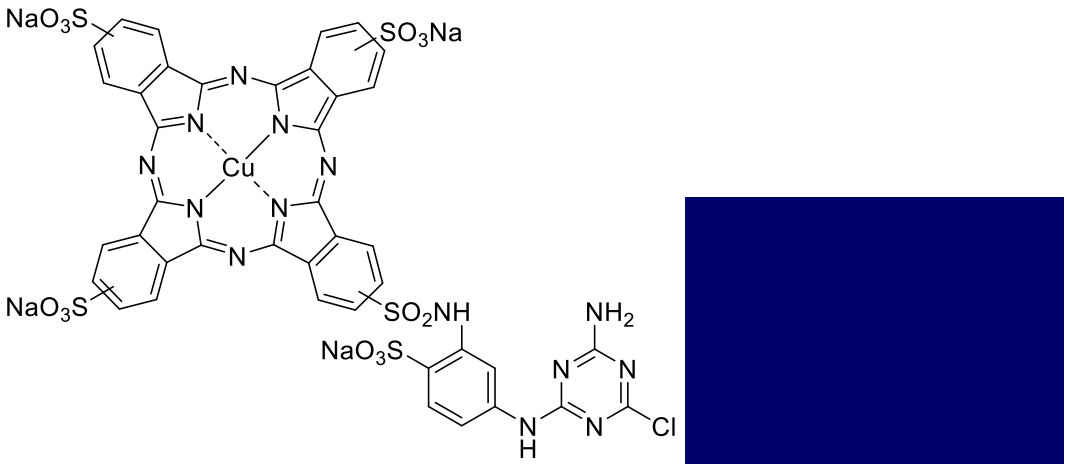
Obrázek 10. Struktura a odstín barviva Green G.

V případě periferní bromace a chlorace je získán Pc s obecným vzorcem $CuPcCl_xBr_y$ (x = 4-5, y = 11-12), popisován jako žlutozelený (PB36, Phtalo Green YS, Bamboo Green). Struktura a odstín jsou vyobrazeny na Obr. 11.

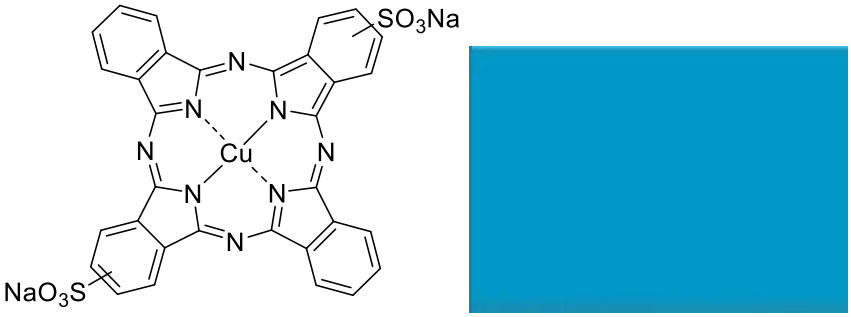


Obrázek. 11. Struktura a odstín pigmentu PB 36.

Skupinu ve vodě rozpustných sulfonovaných Pc reprezentují například Reactive Blue 15 či Direct Blue 86 (Obr. 12 a 13).



Obrázek 12. Reactive Blue 15.



Obrázek 13. Direct Blue 86.

Phtalocyaninových barviva nabízí na trhu s barvivy širokou škálu odstínů a chemicko-fyzikálních vlastností, daný výčet uvádí pouze několik většinově užívaných, existují další deriváty, u kterých však masovějšímu užití brání především vyšší cena.

6.3.2 CD/R

Velmi zajímavou oblastí praktické aplikace Pc je jejich role ve funkci CD-R (Compact disc-recordable) – optických discích pro záznam a uchování dat. Jsou nejpoužívanějším typem barviv v CD-R a lze je považovat za standard. Kompaktní disky typu CD-R nastoupily na trh v roce 1982 a lišily se od předchozích CD možností uložit

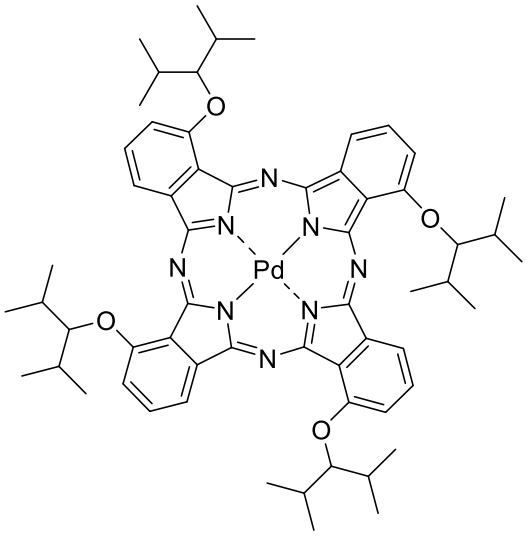
si data na disk za pomoci optické mechaniky.[5] Později se toto stalo naprosto běžnou součástí všech počítačů a životů uživatelů. Prvními užitými barvivy byly modré a zelené cyaniny, vzápětí ale nastupují Pc, nesoucí výhodnější vlastnosti, především vyšší odolnost a stálost (ne však tak vysokou, jakou se později vyznačovalo barvivo Metal Azo). Jejich první aplikaci v CD-R provedla firma Matsui. Nutno však připomenout, že životnost informací na těchto nosičích je omezena na dobu 8 let, poté se již mohou, vlivem degradabilních procesů ve struktuře, začít objevovat chyby při čtení. Změny jsou především podmíněny mírou odolnosti užitého barviva vůči UV záření.[9]

Pc (či jiná barviva – cyaniny nebo metal-azo komplexy) zde neplní roli estetickou, ale jejich přítomnost je naprosto esenciální pro vlastní funkci nosiče. Princip zápisu využívá schopnosti barviva absorbovat světelnou energii vysokoenergetického laserového paprsku v optické mechanice. Absorbovaná energie je zde přeměněna na teplo, a barva se taví. V rovnoměrné souvislé vrstvě vznikají tzv. pity, tedy jakési vroubky, vypálená místa. Zároveň je vlivem tepla mírně narušena i podložní polykarbonátová vrstva. V místech s ovlivněnou a neovlivněnou vrstvou (místa neodrazivá a odrazivá), je takto zapsán binární kód, kdy 1 je charakterizována vždy přechodem mezi místem odrazivým a neodrazivým a 0 přechodem mezi místy stejné povahy, či spíše na pravidelných úsecích délky odrazivého a neodrazivého místa. Ke čtení je užito nízkoenergetického laserového paprsku, kdy jsou na základě rozdílných optických vlastností úseků rozlišována místa s porušenou a neporušenou strukturou. Tento binární zápis je poté převeden na elektronický signál.

Zjednodušeně lze říci, že užité barvivo můžeme odhadnout z odstínu spodní strany CD-R, kdy na CD-R s Pc připadá zbarvení zlaté, nazelenalé nebo stříbrné, při užití cyaninů je to barva modrá až zelená a azo metalová barviva poznáme podle tmavě modrého odstínu. Nicméně toto nemusí být pravidlem, přesné složení užitých barviv je pod patentovou ochranou jednotlivých výrobců. Barviva jsou také vzájemně mísena.

Základní otázkou kvality u CD-R je použití v delším časovém horizontu, kdy stabilita použitého barviva hraje zásadní roli. Stabilita a výdrž kvality záznamu při užití Pc (i ostatních typů barviv) je ovlivněna především expozicí vzdušnému kyslíku a UV záření, kdy u CD-R bez zápisu jsou znatelné změny v barevné vrstvě, u CD-R s datovým záznamem markantně narůstá počet chyb při čtení.[9] I tak jsou však Pc barviva relativně stabilní.[10] Dalšími nároky na užitý Pc je teplota tání, ta musí být vyšší než 150 °C avšak nesmí přesáhnout 267 °C, jelikož by byl výrazně zničen polykarbonát, který při této teplotě začíná tát, vysoký absorpční koeficient, a v neposlední řadě deaktivační cesta,

kterou se Pc vrací do základního stavu. Musí naprosto převládnout cesta formou tepla nad fluorescencí či fosforencí.[5] Nesmíme také opomenout typ centrálního kationtu. Na obrázku 14 je jeden z vhodných typů Pc, jenž je komerčně užíván v tomto odvětví. Většina struktur užívaných Pc jsou součástí know-how jednotlivých firem.



Obrázek 14. Příklad palladnatého Pc užívaného v technologii CD-R.

6.3.3 LCD technologie

LCD (Liquid crystal display) technologie, používaná od ranných 70-tých let, se bez Pc rovněž neobejde. Jejich vlastnosti, především stálost, uniformita a barvivost je předurčily i k tomuto účelu.

Dle RGB modelu je k zapotřebí pouze tří barev, a to červené (Red), zelené (Green) a modré (Blue) k tomu, aby na základě míchání vyzařovaného světla byla vytvořena paleta milionů barev, včetně bílé. Podstatou je smíchání barevných tónů v dané intenzitě, kde stejnoměrné zastoupení všech tří základních barev poskytne barvu bílou, přítomnost žádné barvu černou a zbylé aditivní barvy jsou vždy kombinací dvou odstínů.

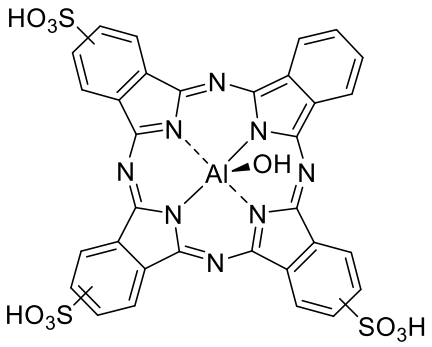
Dva základní odstíny v barevných filtrech, a to zelenou a modrou, zastupují Pc běžně užívané v průmyslu barev a laků. Je to modře zbarvená ε modifikace CuPc a zelená forma tohoto komplexu s periferní halogenací $CuPcCl_4Br_{12}$. Třetí, červený odstín pak zajišťuje diketopyrrolopyrrol. Částice barevných krystalů ale musí být v uniformní a globulární formě, aby se zamezilo tvorbě konglomerátů.[5]

6.3.4 PDT

Fotodynamická terapie (z angl. photodynamic therapy, PDT), je moderní způsob léčby, kdy jsou za použití světla a fotosenzitizéru (FS) produkovány reaktivní formy kyslíku. Zjednodušeně lze děj popsat takto. FS přijme energii ve formě světla, tím se dostane do excitovaného stavu S_1. Z něj pak může dojít mezisystémovým přechodem k inverzi spinu jednoho z vnějších elektronů a přechodu do tripletového stavu T_1. Právě v tomto stavu pak FS předává svou energii buďto formou vodíkových atomů či elektronů za vzniku radikálů (fotoproces typu I). Fotoproces typu II předpokládá předání energie přímo molekule kyslíku v základním stavu, ze které vzniká reaktivní singletová forma ($^1O_2$). Základní výhodou tohoto typu terapie je její zacílení a neinvazivita. Je to dáno velmi krátkou životností singletového kyslíku (10-320 ns v závislosti na rozpouštědle) a tím i krátkým difúzním poloměrem, tedy vzdáleností, které stačí během své existence dosáhnout. Velmi snadno tedy lze účinek omezit jen na malou oblast, která bude osvícena aktivačním světlem.[7]

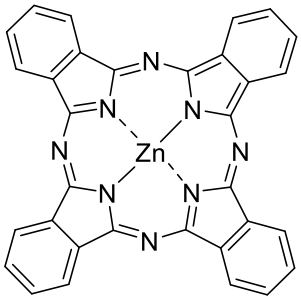
Pc jsou vhodnými kandidáty pro aplikaci v PDT především díky intenzivní absorpci blízko IR oblasti (světlo této vlnové délky je nejpronikavější a je nejméně pohlcováno a rozptylováno) a vysoké chemické stabilitě.[4] Užití v PDT však předpokládá především rozpustnost ve vodě a také minimální tendenci k agregaci či tvorbě dimerů, kdy je schopnost tvorby reaktivních forem kyslíku minimální. Důležitá je také velikost molekuly v kontextu průchodu biologickými membránami. Tyto faktory se dají stále označit jako hlavní limitující prvky pro rozsáhlejší užití Pc v PDT.

Ve světě je zatím pro PDT registrována jediná látka povahy Pc a tou je Photosens® (Obr.15), který je registrován v Rusku od roku 2001 k léčbě rakoviny prsu, gastrointestinálního traktu, plic a kůže. Jedná se o chemicky nejednotnou směs, kdy je hydroxyhlinitý Pc na periferii substituován různým počtem sulfonových skupin s průměrem tří skupin na molekulu. Jistou nevýhodou je 4-6 týdnů dlouhá doba fotosenzitivity pacienta.[11]



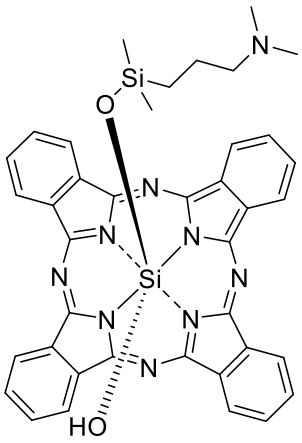
Obrázek 15. Photosens®.

Látkou v minulosti uvedenou do klinického zkoušení je látka CGP55847 (Obr. 16). Jedná se o zinečnatý komplex nesubstituovaného Pc vyvíjený a testovaný ve Švýcarsku pro léčbu karcinomu dlaždicového epitelu dýchacích cest.



Obrázek 16. Zinečnatý Pc CGP55847.

Třetím zástupcem, který podstoupil pokročilejší fáze testování je křemičitý komplex PC4 (Obr. 17), testovaný v USA k léčbě rakoviny prsu, tlustého střeva a gliomů.[12]



Obrázek 17. Křemičitý komplex PC4.

Na různých úrovních *in vitro* testování je celá řada komplexů s obsahem rozličných centrálních kationtů, které spolu s periferní substitucí ovlivňují distribuci látky a ovlivňují jeho fotoaktivitu. Dobrou aktivitu vykazují například komplexy zinečnaté a hlinité, naopak například komplexy nikelnaté nebo měďnaté vykazují minimální fotoaktivitu.[13]

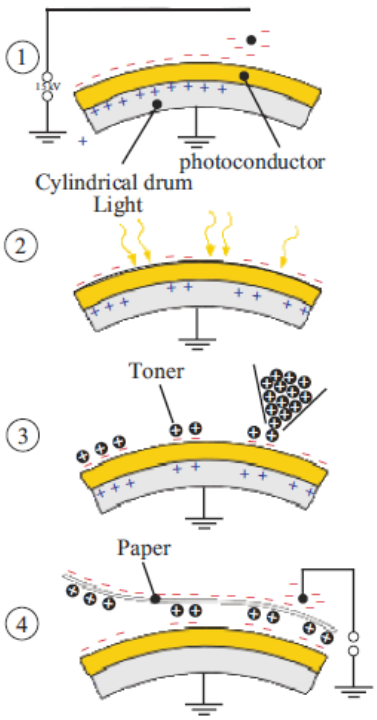
Dalšími potenciálně zajímavými a nadějnými skupinami látek odvozených od Pc jsou látky povahy naftalocyaninů (Nc) a tetrapyrazinoporfyrazinů. U Nc je nejdiskutovanější vlastností posun absorpce ještě výše k IR oblasti (přibližně 740 až 780 nm), což je předurčuje k léčbě pro světlo těžce propustných melanomů. Oproti tomu však mají výrazné sklony k agregaci, příliš velkou molekulu k průchodu přes membrány a v neposlední řadě i nižší fotostabilitu než Pc. Naše skupina se také zabývá produkcí nových látek ze skupiny tetrapyrazinoporfyrazinů a tetrachinoxalinoporfyrazinů, ty vynikají předpoklady k intenzivní tvorbě singletového kyslíku, avšak omezují je již výše zmíněné nedostatky podobné látkám ze skupiny Nc.

6.3.5 Laserové tiskárny

Užití Pc v laserových tiskárnách se uskutečňuje na dvou na sobě nezávislých místech. Jednak je to (Ti=O)Pc ve funkci fotokonduktoru, a poté je to také užití modrého CuPc v β modifikaci jako jednoho ze 4 základních barviv v barevných tiskárnách.[5]

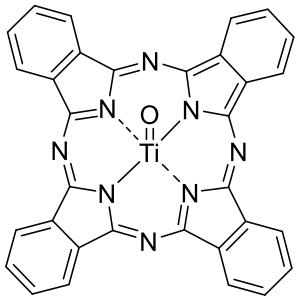
Velmi zjednodušeně je technologie laserové tiskárny založena na tom, že paprsek laseru vykreslí požadovaný obraz na válec. Na místa, která ozářil je následně nasypán toner, tedy jemný prášek dříve povahy grafitu, dnes různých typů polymerů. Nakonec je při vysoké teplotě (120-180 °C) zapečen. Úloha (Ti=O)Pc se odehrává hned na začátku celého procesu, kdy laserový paprsek vykresluje výsledný obraz do válce.

Fotokonduktor lze popsat jako látku na povrchu válce, která po ozáření světlem příslušné vlnové délky dokáže zvýšit svoji konduktivitu díky vygenerování excitonu, čímž ztratí svůj negativní náboj, který se přesune dovnitř válce. Laser tedy ozařuje povrch válce pokrytý fotokonduktorem, který byl na úplném začátku stejnosměrným proudem rovnoměrně nabit záporným nábojem. Ozářená místa v další fázi tedy nebudou osazena tonerovým práškem. Ten totiž záměrně nese kladný náboj a je tedy z osvícených míst, nenesoucích záporný, nýbrž kladný náboj, odpuzován. Následně je toner přenesen na papír nesoucí opačný náboj. Pro snadnější pochopení děje může posloužit přiložený obrázek 18.



Obrázek 18. Nástin funkce laserové tiskárny krok za krokem. (převzato z WÖHRLE, D.; SCHNURPFEIL, G.; MAKAROV, S.; KAZARIN, A.; SUVOROVA, O.; Practical Applications of Phthalocyanines - from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices. *Macroheterocycles*, **2012**, *5 (3)*, 191-202.)

Užití (Ti=O)Pc v technologii laserových tiskáren je velmi důležité, až 90 % všech organických fotokonduktorů tiskáren je založeno právě na (Ti=O)Pc. Jeho největšími přednostmi je fotostabilita, dobrá fotokonduktivita, poměrně nízká cena a také absorpce v širokém pásmu viditelné oblasti s vysokou absorbancí.[5] Tato látka se vyskytuje ve více krystalických modifikacích, z nichž je užívána Y-modifikace z důvodu nejvyšší fotosenzitivity.[14]. Struktura komplexu je vyobrazena na obrázku 19.



Obrázek 19. Titaničitý Pc komerčně rozšířený v technologii laserových tiskáren.

6.3.6 Solární články typu DSSC

Solární články dnes představují nezanedbatelný zdroj elektrické energie ve většině států vyspělého světa (i když nutno dodat, že se o přibližně 2/3 celkového instalovaného výkonu na světě dělí pětice států, a to Čína, Německo, USA, Japonsko a Itálie). Podíl solární energie každoročně narůstá a jsou proto intenzivní snahy o zdokonalení a především zlevnění technologie solárních článků.

Běžné solární články, ať už ty, které využívají technologii tlustých (85% všech článků) či tenkých vrstev, jsou založeny na užití krystalického křemíku, který zde funguje jako polovodič a je využíváno fotovoltaického jevu. Ten se zakládá na principu, že foton s dostatečnou energií je schopen v polovodiči uvolnit elektron z valenčního do vodivostního pásu. Na jeho místě vznikne díra, tu můžeme chápat jako elementární kladný náboj. Je-li v polovodičovém materiálu vytvořen PN přechod, pohybují se tyto náboje směrem ke stejně polárním elektrodám. Pokud jsou elektrody spojeny vnějším obvodem, putují elektrony k opačné elektrodě, kde se spojují s děrami a vnějším obvodem prochází elektrický proud.[15] Zásadním podnětem pro vývoj nových typů článků je účinnost, to znamená získat z co nejmenšího množství sluneční energie co nejvíce proudu. Články ve stádiu prototypů dnes dosahují 30 %, majoritně využívané tlustovrstvé

křemíkové články 15 %, tenkovrstvé dokonce pouze 7-9 %. Navíc je nutno zdůraznit fakt, že efektivita článku v závislosti na čase a opotřebovanosti rapidně klesá. Zvýšením efektivity článků by pochopitelně klesla cena produkované energie, v neposlední řadě se také hledá výrobně jednodušší, levnější a ekologičtější alternativa k dnes užívaným článkům.

Jednou z alternativ je výroba organických fotovoltaických článků. Z pohledu užití Pc se nabízí články typu DSSC (z ang. Dye-sensitized solar cell), někdy také nazývané Grätzelovy články. Předpokládají využití výborných absorpčních vlastností Pc barviva v oblasti přelomu viditelné a infračervené oblasti, v níž se v slunečním záření nachází nejvíce využitelných fotonů. Barviva tvoří krycí vrstvu polovodičového TiO_2 (popř. jiné látky, např. $CaTiO_3$). Po excitaci světlem barvivo předá elektrony polovodiči, tím navýší konduktivní vlastnosti polovodiče. Zároveň je předpokládána regenerace barviva, například roztokem elektrolytu (I^-).

První pokusy s užitím Pc se datují do roku 1986, kdy Tang použil karboxyethylovaný CuPc do svého nového organického článku. Víceméně až do dnešní doby majoritní skupinu pro fotovoltaický průmysl testovaných Pc tvoří deriváty nesoucí na periferiích COOH skupinu, testy zahrnují i použití různých typů centrálních kationtů.

Ukázalo se, že bezkovové formy nevykazují takové absorpční vlastnosti, jako kovové formy. V předchozí části zmíněný TiOPc byl rovněž brán v úvahu, nicméně články vykazovaly účinnost pouze kolem 4,2 %.[16]

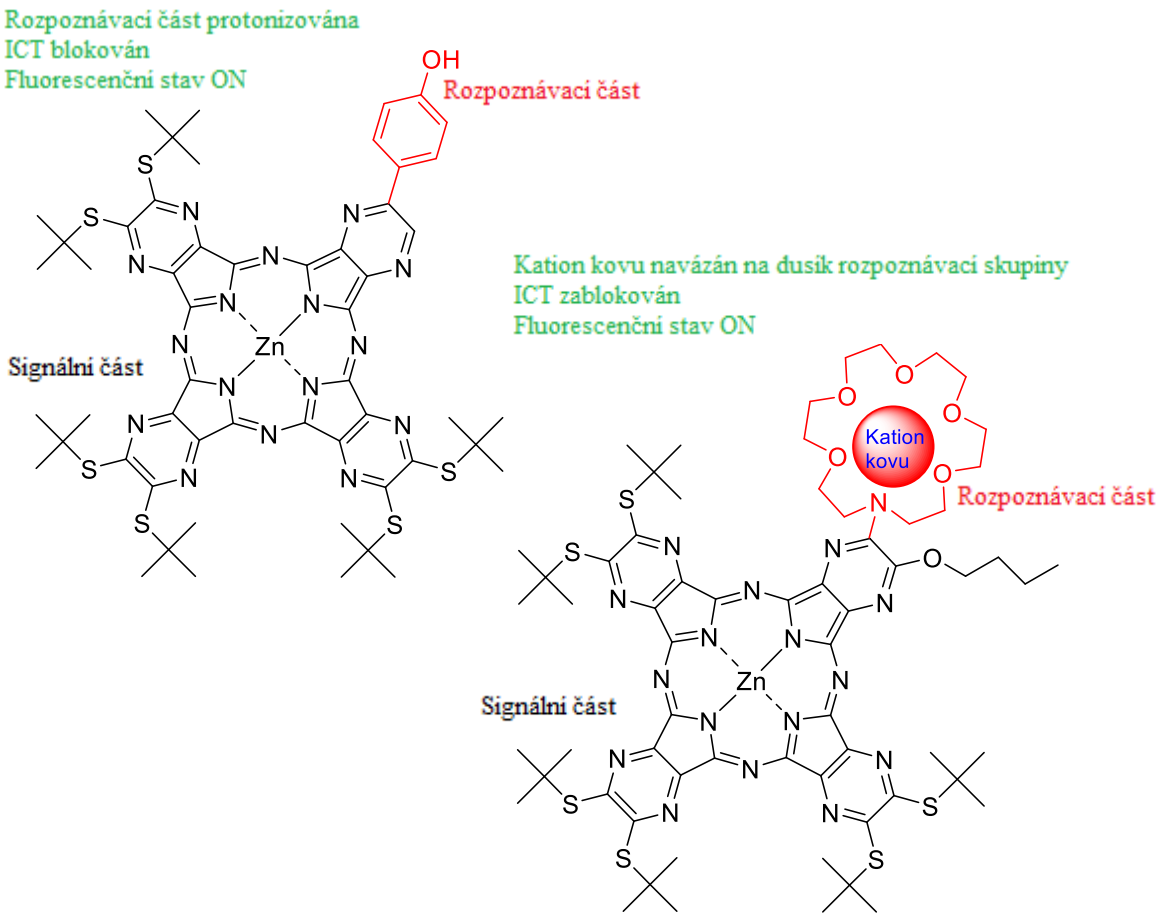
Perspektiva užití Pc v hromadné komerční výrobě organických solárních článků je prozatím v nedohlednu, výrobci s Pc prozatím nepočítají, jelikož jiné materiály vykazují pro toto použití lepší vlastnosti a dosahují vyšší efektivity.

6.3.7 Fluorescenční senzory

Již několikrát zmiňované vlastnosti těchto látek je uvedly také do role možných fluorescenčních senzorů. Především jsou jimi absorpce v VIS-IR oblasti, kde toto světlo o nižší energii nepoškozuje biologické struktury, navíc nepodléhá interakcím s endogenními chromofory či vysokému rozptylu, velké možnosti snadného měření intenzity fluorescence, vysoká citlivost těchto metod a dále pak také schopnost chelatovat široké spektrum kationtů kovů či polokovů či velice přesně zaznamenávat změny v pH

prostředí.

Naší skupinou vyvíjené senzory lze rozdělit na dvě základní skupiny a to na senzory pro kationty kovů a pH senzory. V podstatě fungují velice podobně. Molekulu senzoru si lze představit jako receptor se dvěma částmi- rozpoznávací, na kterou se váže analyt, nebo je jím ovlivněna a signální část, která je přímo zodpovědná za danou odpověď molekuly, tedy například za fluorescenci. Základními fotofyzikálními principy ON-OFF přepínání fluorescenčních senzorů jsou světlem vyvolaný přenos elektronu, přenos energie, tvorba epimeru a pro naši oblast zkoumání zásadní proces ICT. Při něm je nezbytná přítomnost volného elektronového páru na periferním substituentu (rozpoznávací části), který je v konjugaci s jádrem a tím vytváří donor-akceptorovou strukturu molekuly. V přítomnosti tohoto volného páru, tedy v deprotonizovaném stavu, významně klesají výtěžky fluorescence z důvodu jejího potlačení převládajícím ICT (viz také Obr. 4.). Oproti tomu v případě protonizace této periferní skupiny přenos náboje ustává a fluorescence narůstá.[17] Obdobně lze děj převést i na druhou oblast, a to vývoj senzorů pro kationty kovů. Zde je volný elektronový pár nejčastěji na dusíku začleněném do struktury azacrownů. Po navázání kovu koordinační vazbou je opět zablokováno ICT a molekula vykazuje nárůst fluorescence (viz Obr. 20).[18]



Obrázek 20. Schématické znázornění potenciálně využitelných struktur a principu fluorescenčních senzorů (struktura pH senzoru je uvedena vlevo, struktura senzoru pro kationty kovu vpravo).

Z dosavadních výsledků vyplývá, že kromě typu periferní substituce je důležitý také počet těchto donorových center (což můžeme také označit jako význam návrhu v této práci popisované syntézy, a sice přípravu AzaPc s jedním a dvěma fenolickými hydroxyly). Ukázalo se, že útlum fluorescence je v přítomnosti více donorových jader úplnější a fluorescence se blíží k nule.[17] Na druhou stranu mohou být výrazně ovlivněny acidobazické podmínky průběhu procesu, vzhledem k dalšímu užití v soustavách biologického rázu. Proto bylo v minulosti přistoupeno například k omezení počtu skupin či změnám jejich charakteru. Na výzkum týkající se skupiny amino derivátů navázaly také výsledky s fenolickými deriváty, k jejichž pokračování směřuje i tato práce.

Možný budoucí přínos vyvíjených senzorů pro kationty můžeme hledat v rozšíření nabídky momentálně dostupných senzorů, ať už pro stanovování analytů

v biologickém prostředí (Zn^{2+}, Mg^{2+} a mnohé další), či například kationtů těžkých kovů v odpadních vodách (Hg^{2+}, Cd^{2+}). V případě pH senzorů se pak nabízí využití všech výše uvedených výjimečných vlastností a jejich aplikace například v biochemii.

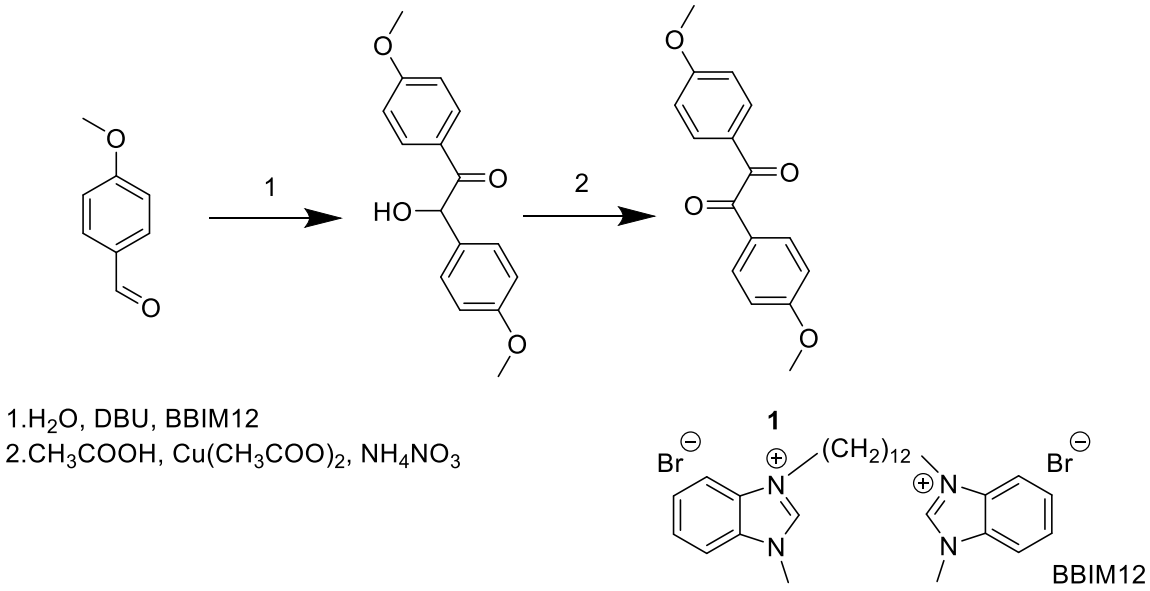
6.3.8 Potenciální další využití v praxi

Potenciál Pc je v současnosti předmětem intenzivního zkoumání a zájmu. Pro ucelení představ o možnostech této skupiny látek nabízím krátký a stručný výčet dalších potenciálních aplikací. Jedná se zejména o výzkum v oblastech čištění odpadních vod, nanotechnologie, [19, 20] katalýzy polutantů životního prostředí, například 2,4,6-trichlorfenolu, [21] nelineární optiky, [22] modifikátorů zemního plynu (zde se jedná o schopnost katalyzovat rozkladné oxidační procesy thiolů), [23], polymerace alkenů, [24] použití jako součást OLED elektroluminiscenčních diod,[25] a dalších.

7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Látky a rozpouštědla potřebná k provedení reakcí byly zakoupeny od firem Sigma-Aldrich, Acros, Penta, TCI Chemicals. K měření teplot tání sloučenin bylo využito digitálního přístroje ELECTROTHERMAL IA9200. K monitoringu průběhu reakcí a čistoty produktů bylo užíváno tenkovrstvé chromatografie (TLC) na deskách Merck Kieselgel 60 F254. Desky byly vyhodnocovány pod UV lampou při vlnových délkách 254 a 366 nm. Produkty byly čištěny sloupcovou chromatografií na stacionární fázi Merck Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm). Bližší specifikace složení mobilních fází užívaných při sloupcové chromatografii jsou uvedeny v jednotlivých článcích. Spektra UV/VIS byla měřena pomocí přístroje Shimadzu UV-2600PC spectrophotometer. Infračervená spektra byla měřena IČ spektrofotometrem Nicolet 6700 v ATR módu na Katedře anorganické a organické chemie. ^{1}H NMR a ^{13}C NMR spektra byla měřena na přístroji Varian Mercury Vx BB 300 nebo VNMR S500 na Katedře anorganické a organické chemie. Elementární analýza byla provedena pomocí přístroje Vario Micro Cube Elemental Analyzer. Měření fluorescenčních spekter probíhalo na spektrofluorimetru FS5 (Edinburgh Instruments) s fotonásobičem R928P. Hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF) byla stanovena na přístroji AB Sciex 4800 MALDI TOF/TOF spectrometer. Ke kalibraci přístroje bylo užito pětibodové kalibrační metody pomocí Peptide Calibration Mix1 (LaserBioLabs, Sophia-Antipolis, France). Roztok měřeného vzorku v dichlormethanu (přibližně 10 μM, 1,5 μl) byl po smísení s matricí, kterou byl *trans*-2-[3-(4-*terc*-butylfenyl)-2-methyl-2-propenyliden]malononitril v dichlormethanu, nanesen na destičku a dokonale vysušen.

7.1 Příprava 1,2-bis(4-methoxyfenyl)ethan-1,2-dionu (1)



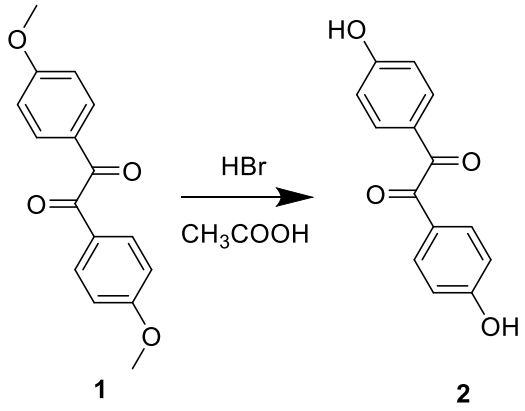
Výchozí látka anisaldehyd (3 g, 22 mmol) byla navážena do baňky. Byla přidána destilovaná voda (22 ml), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU, 660 µl, 4,3 mmol) a bisbenzoimidazoliový katalyzátor (BBIM12, 660 mg, 1,1 mmol), který byl připraven dle publikovaného postupu.[26] Na magnetické míchačce se směs za stálého míchání nechala reagovat po dobu 24 h při laboratorní teplotě. Hydrofobní fáze vykazovala pouze mírné změny zabarvení. Reakce byla monitorována pomocí TLC, kde jako mobilní fáze byla zvolena směs hexanu a ethyl-acetátu (EAC) v poměru 3:1. Po ukončení reakce byla směs opakovaně vyextrahována EAC. Po vysušení síranem sodným a zfiltrování bylo rozpouštědlo odpařeno do sucha. Produkt nebyl izolován, ale připraven pro přímý vstup do oxidace na produkt **1**.

Po rozpuštění produktu předchozí reakce v kyselině octové (100 ml) byl přidán dusičnan amonný (2,2 g, 27,5 mmol) a octan měďnatý (48 mg, 264,3 µmol). Směs byla za teploty varu rozpouštědla zahřívána po dobu 2 h pod zpětným chladičem. Po ukončení reakce byla kyselina octová odpařena a směs vyextrahována tetrahydrofuranem (THF), extrakt byl přefiltrován a odpařen do sucha. K odseparování a vyčištění výsledného produktu byla použita sloupcová chromatografie, kde byla jako mobilní fáze použita směs hexan:EAC (3:1). Výsledkem bylo 2,02 g (67 %, počítáno na výchozí anisaldehyd)

čistého produktu **1**, a zanedbatelné množství výchozího aldehydu, který nebyl již dále využit. Produkt byl jemný, krystalický, jemně nažloutlé barvy.

T. t.: 129,7-131,6 °C (lit. 130-134 °C).[27] ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ (ppm) 7,95 (4H, d, *J*= 8,9 Hz, ArH), 6,97 (4H, d, *J*= 8,9 Hz, ArH), 3,89 (6H, s, CH_3). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ (ppm) 55,6, 114,3, 126,3, 132,3, 164,8, 193,5. IČ (ATR): ν = 3064, 3031, 2935, 2850, 1740, 1655, 1598, 1572, 1509, 1439, 1312, 1261, 1224, 1157.

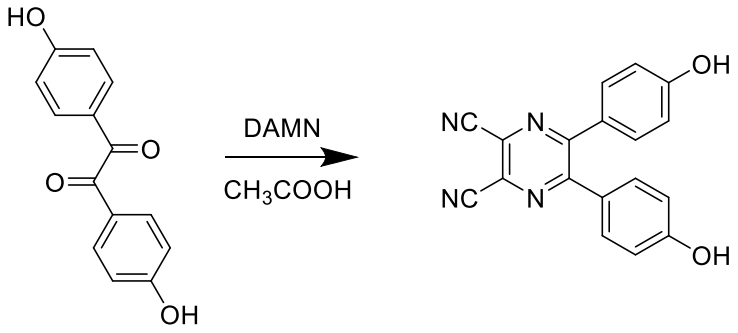
7.2 Příprava 1,2-bis(4-hydroxyfenyl)ethan-1,2-dionu (2)



K látce **1** (2 g, 7,4 mmol) byla přidána kyselina bromovodíková (4 ml) a octová (4 ml). Při teplotě varu kyseliny octové pod zpětným chladičem byla směs zahřívána po dobu 24 h. Poté byla reakce ukončena, směs ponechána vychladnout a rozpouštědla odpařena do sucha. Následně byla provedena extrakce do THF, jeho vysušení síranem sodným, zfiltrování a následné odpaření rozpouštědla. Po provedení sloupcové chromatografie, kde bylo užito jako mobilní fáze směsi hexan:EAC:kyselina octová (20:10:1) bylo získáno 1,42 g (79 % teoretického výtěžku) světle žlutého práškovitého produktu **2**.

T. t.: 248,9-249,5 °C (lit. 250-252 °C).[28] ^{1}H NMR (DMSO, 500 MHz) δ (ppm) 10,88 (2H, bs, OH), 7,73 (4H, d, *J*=8,7 Hz, ArH), 6,91 (4H, d, *J*=8,8 Hz, ArH). ^{13}C NMR (DMSO, 125 MHz) δ (ppm) 116,3, 124,3, 132,4, 164,3, 193,8. IČ (ATR): ν = 3396(OH), 1641, 1597, 1567, 1512, 1335, 1291, 1219, 1166 cm^{-1}.

7.3 Příprava 5,6-bis(4-hydroxyfenyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (3)

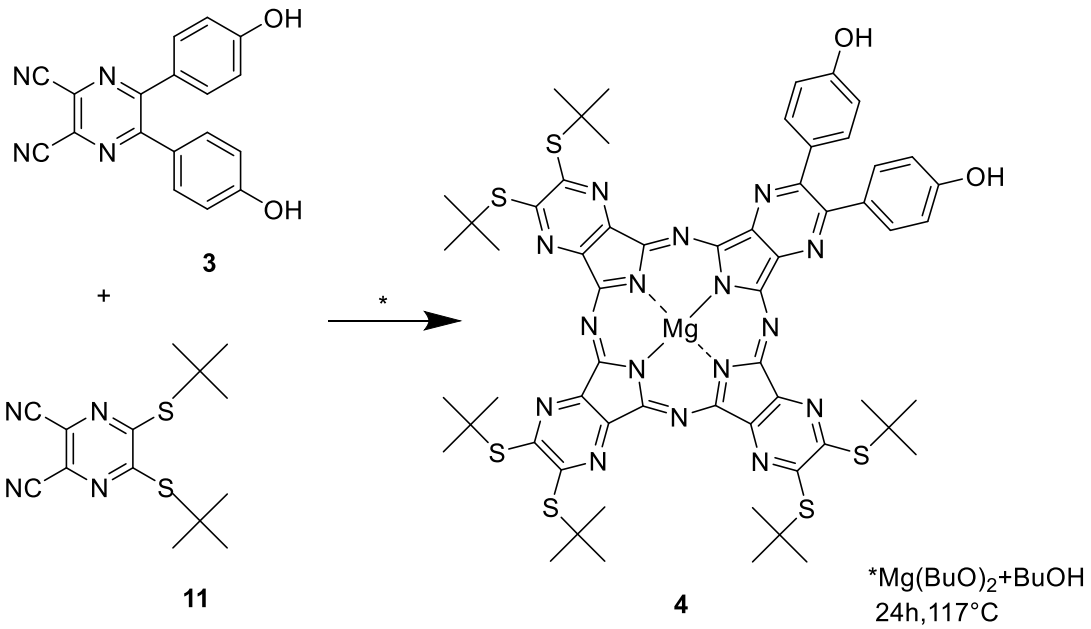


2 **3**

Nejprve byla v 50 ml baňce látka **2** (340 mg, 1,4 mmol) rozpuštěna za tepla v koncentrované kyselině octové (100 ml). Poté byl přidán diaminomaleonitril (DAMN, 303 mg, 2,8 mmol). Směs byla zahřívána pod zpětným chladičem při teplotě varu rozpouštědla. TLC prokázalo předpokládaný průběh reakce a po dvou hodinách bylo zahřívání ukončeno. Po odpaření kyseliny octové byla provedena extrakce pomocí THF a extrakt byl přefiltrován. Produkt byl dále čištěn sloupcovou chromatografii, která proběhla za použití mobilní fáze o složení hexan:EAC:kyselina octová v poměru 20:10:2. Následně byl produkt překrystalizován z methanolu. Produktem byl zářivě žlutý práškovitý produkt **3** v množství 114 mg (26 % teoretického výtěžku). Za účelem získání dostatečného množství produktu byla reakce zopakována s 0,950 mg (3,9 mmol) látky **2**. Výtěžkem po stejném průběhu práce bylo 300 mg produktu (25 %).

T. t.: rozklad při 245 °C. ^{1}H NMR (DMSO, 500 MHz) δ (ppm) 10,14 (2H, s, OH), 7,38 (4H, d, J = 8,7 Hz, ArH), 6,77 (4H, d, J = 8,7 Hz, ArH). ^{13}C NMR (DMSO, 125 MHz) δ (ppm) 114,6, 115,8, 126,6, 128,7, 131,5, 154,1, 160,1. IČ (ATR): ν = 3407(OH), 2252(CN), 1607, 1591, 1497, 1373, 1273, 1199, 1173. Elementární analýza (%) vypočítáno pro $C_{18}H_{10}N_4O_2$: C 68,79, H 3,21, N 17,83; nalezeno C 68,55, H 3,53, N 16,62.

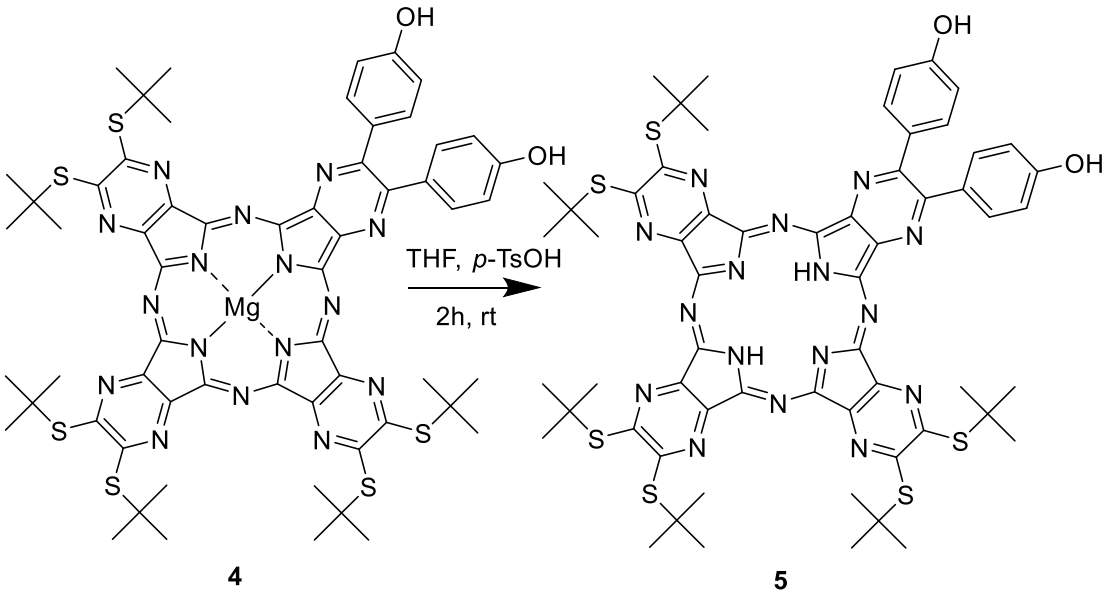
7.4 Příprava 2,3-bis(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(*terc*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninato hořečnatého komplexu (4)



Do předem připraveného bezvodého butanolu (20 ml) byly přisypány hořčíkové piliny (650 mg, 26,9 mmol) a malý krystalek jódu. Tato směs byla zahřívána za varu za stálého míchání pod zpětným chladičem po dobu 3,5 hodiny. Poté byly přidány oba výchozí pyrazin-2,3-karbonitrily **3** (300 mg, 1 mmol) a **11** (881 mg, 2,9 mmol). Reakce pokračovala po dobu 24 hodin při teplotě varu rozpouštědla a za stálého míchání. Poté byl obsah baňky kvantitativně převeden do kádinky s připravenou směsí voda:methanol:kyselina octová (10:10:1, 200 ml) a míchán při laboratorní teplotě 30 minut. Vysrážená suspenze byla přefiltrována na fritě, několikrát promyta vodou, a pevná složka byla i s papírkem kvantitativně převedena do baňky. Po rozpuštění produktu v chloroformu (CHF) a přefiltrování, bylo rozpouštědlo odpařeno. Produkt se čistil opakovanou sloupcovou chromatografií. Napřed byla použita mobilní fáze ve složení CHF a THF (10:1), poté proběhlo další čištění pomocí mobilní fáze CHF:THF:methanol v poměru 9:1:0,4. Celý proces poskytl výtěžek 136 mg (11 %) látky **4**. Ta byla černozelené barvy a sypké konzistence.

UV/VIS (mikroemulze, pH 7, 0,5 μM): λ_{max} (ε) = 658 (194600), 596 (28300), 380 nm (113600 $mol^{-1}cm^{-1}dm^3$). MS (MALDI-TOF): *m/z* 1256 $[M]^+$.

7.5 Příprava 2,3-bis(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(*terc*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninu (5)

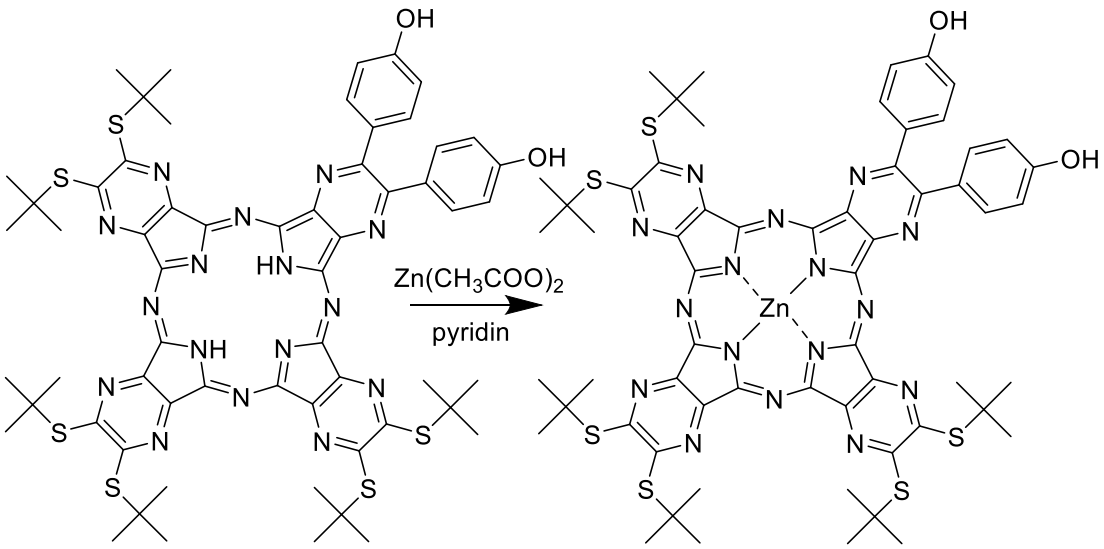


4 **5**

Látka **4** (135 mg, 0,1 mmol) byla rozpuštěna v THF (10 ml) a byla přidána kyselina *p*-toluensulfonová (*p*-TsOH, 190 mg,1 mmol), která byla předem rozpuštěna v THF (10 ml). Směs reagovala při pokojové teplotě za stálého míchání. Reakce byla sledována za pomoci TLC, mobilní fází zde byla směs CHF:THF (10:1). Po 2 hodinách byla směs zbavena rozpouštědla odpařením na vakuové odparce. K vymytí *p*-TsOH bylo užito destilované vody. Po zfiltrování na fritě byl produkt ponechán do druhého dne vyschnout. Produkt reakce byl dále čištěn sloupcovou chromatografií, při které byla jako mobilní fáze použita směs CHF:THF:methanol (9:1:0,2). Výsledný produkt **5** byl tmavě zelené barvy a krystalické povahy. Výtěžek 105 mg (79 %).

MS (MALDI-TOF): *m/z* 1234,3$[M]^+$.

7.6 Příprava 2,3-bis(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(*terc*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninato zinečnatého komplexu (6)

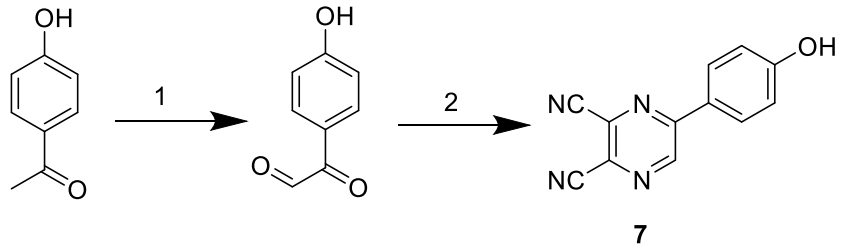


5 **6**

Po rozpuštění derivátu **5** (100 mg, 0,08 mmol) v pyridinu (20 ml) byl přidán nadbytek octanu zinečnatého (200 mg, 1,1 mmol). Směs byla za stálého míchání zahřívána při teplotě varu rozpouštědla po dobu 2 hodin pod zpětným chladičem. Poté bylo odstraněno rozpouštědlo na vakuové odparce. Následně byl produkt promyt vodou a methanolem. Produkt byl rozpuštěn ve směsi CHF a acetonu a přefiltrován. Po přečištění sloupcovou chromatografií za použití soustavy CHF:THF:methanol (9:0,5:0,2) byl získán tmavě zelený pevný produkt **6** (48 mg, 46 % teoretického výtěžku).

^{1}H NMR ($CDCl_3$/pyridin-d_5, 500 MHz) δ (ppm) 11,76 (2H, bs), 8,14 (4H, d, *J*= 8,2 Hz, ArH), 7,19 (4H, d, *J* = 8,2 Hz, ArH), 2,26 (36H, s, CH_3), 2,20 (18H, s, CH_3). ^{13}C NMR ($CDCl_3$/pyridin-d_5, 125 MHz) δ (ppm) 159,61, 159,42, 158,66, 158,26, 154,63, 151,68, 151,57, 151,50, 151,30, 147,65, 144,90, 144,66, 144,61, 132,42, 131.08, 116,05, 51,49, 51,36, 31,03, 30,85, 30,82. IČ (ATR): ν = 2959, 2918, 1609, 1518, 1453, 1347, 1249, 1142, 975 cm^{-1}.UV/VIS (THF, 1 μM): λ_{max} (ε) = 651 (229400), 590 (31300), 379 nm (122600 $mol^{-1}cm^{-1}dm^3$). MS (MALDI-TOF): *m/z* 1296,2$[M]^+$, 2592,4$[M]^+$.

7.7 Příprava 5-(4-hydroxyfenyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (7)



7

1. H_2O, dioxan, SeO_2, 24h
2. DAMN, CH_3COOH, 3h

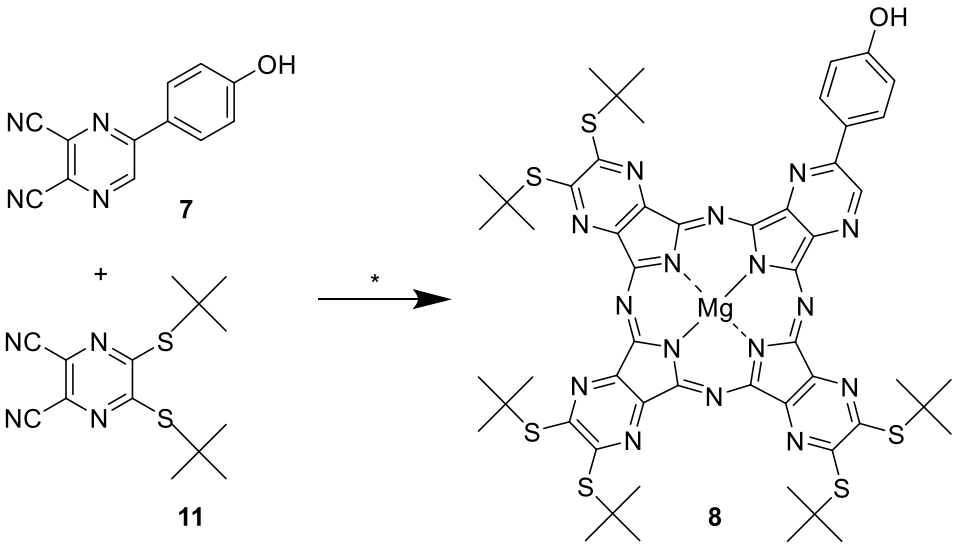
Výchozí *p*-hydroxyacetofenon byl navážen (0,5 g, 3,7 mmol) do 25 ml baňky, a vystaven oxidaci oxidem seleničitým (0,45 g, 4 mmol) v prostředí vodného dioxanu (10 ml, voda:dioxan 1:6) při teplotě 114 °C. Na základě monitoringu pomocí TLC byl po 2 hodinách do reakční soustavy přidán další nadbytek oxidačního činidla (1 g, 9 mmol). Reakční směs vykazovala po celou dobu cihlově červené zabarvení. Po 24 hodinách byla reakce ukončena. Vodný dioxan byl odpařen a poté byl pevný podíl vyextrahován THF a nerozpuštěný pevný podíl byl odstraněn. Roztok v THF byl vysušen síranem sodným a zfiltrován. Produkt byl následně naadsorbován na silikagel a připraven k sloupcové chromatografii. Za mobilní fázi byla zvolena soustava hexan:EAC v poměru 2:1. Byly odstraněny pouze majoritně zastoupené nečistoty. Výsledná izolovaná směs produktů reakce nebyla dále čištěna a charakterizována, ale byla použita v dalším reakčním kroku.

Přibližně 400 mg směsi z předchozí reakce (počítáno jako čistý ketoaldehyd, 2,6 mmol) bylo rozpuštěno v koncentrované kyselině octové (25 ml) za tepla. Poté byl přidán nadbytek DAMN (570 mg, 5,3 mmol). Směs byla zahřívána za teploty varu kyseliny octové pod zpětným chladičem. Po 3 hodinách byla reakce ukončena, směs pozvolna ochlazena a rozpouštědla odpařena. Produkt byl ze směsi vyextrahován pomocí THF, extrakt přefiltrován a THF odpařen na vakuové odparce. Sloupcová chromatografie, kde byla jako mobilní fáze použita směs hexanu, EAC a kyseliny octové v poměru 20:10:1, poskytla světle žlutý produkt. Produkt byl následně překrystalizován z ethanolu. Konečný výtěžek činil 150 mg (19 %, počítáno na výchozí látku) žluté, jemně krystalické látky (**7**).

T. t.: 159,2-160,1°C. ^{13}C NMR (DMSO, 125 MHz) δ (ppm) 114,4, 114,8, 116,7, 123,7, 129,4, 130,4, 133,1, 144,4, 153,7, 162,1. ^{1}H NMR (DMSO, 500 MHz) δ (ppm) 10,48

(1H, s, OH), 9,56 (1H, s, pyrazin), 8,14 (2H, d, J = 8,8 Hz, ArH), 6,95 (2H, d, J = 8.8 Hz, ArH). IČ (ATR): ν = 3460 (OH), 2236 (CN), 1608, 1588, 1552, 1521, 1506, 1436, 1323, 1283, 1201, 1176 cm^{-1}**.** Elementární analýza (%) vypočítáno pro $C_{12}H_6N_4O$: C 64,86, H 2,72, N 25,21; nalezeno C 65,02, H 2,67, N 24,92.

7.8 Příprava 2-(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(*terc*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninato hořečnatého komplexu (8)



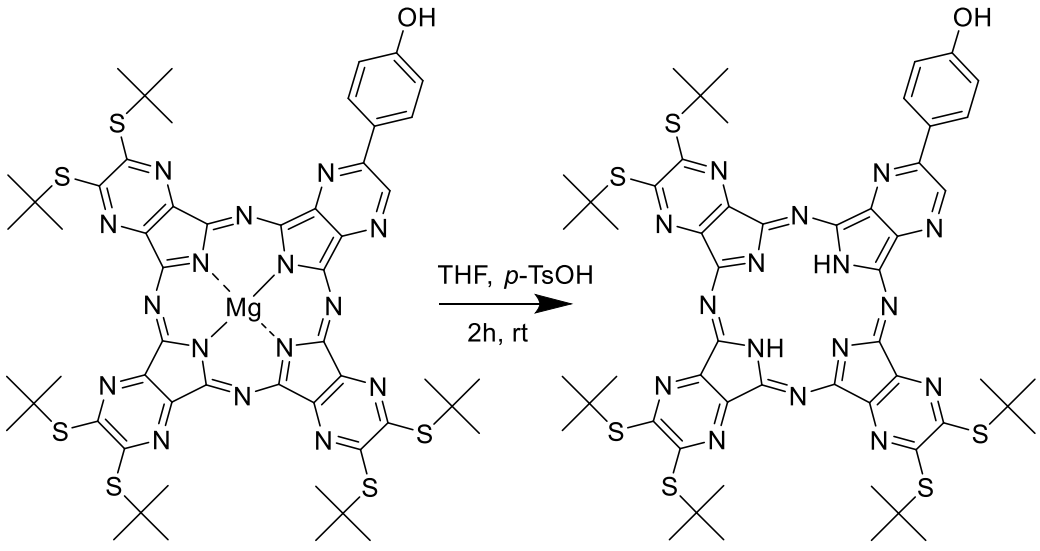
*$Mg(BuO)_2$+BuOH
24h,117°C

Příprava reakčního prostředí proběhla podle výše uvedeného postupu. K bezvodému butanolu byl přidán hořčík (610 mg, 25,1 mmol)a malý krystalek jódu. Tato směs byla ponechána při teplotě varu butanolu za vzniku butanolátu hořečnatého. Navážky výchozích pyrazinů **7** (150 mg, 0,7 mmol) a **11** (642 mg, 2,1 mmol) byly přidány do reakční směsi po 3,5 hodinách. Po 24 hodinách při teplotě varu rozpouštědla a stálého míchání byla reakce ukončena. Obsah baňky byl vlit do předem připravené kádinky se směsí voda:methanol:kyselina octová (10:10:1; 200 ml). Vysrážená suspenze

byla odfiltrována a opakovaně promyta vodou. Bezbarvý louh pod filtrem byl odstraněn a filtrační papírek i se zelenou pevnou složkou byl převeden do baňky, kde byl pečlivě vymyt pomocí CHF. Při sloupcové chromatografii bylo použito dvou soustav. Poprvé byla použita mobilní fáze ve složení CHF a THF (10:1), poté proběhlo další čištění pomocí mobilní fáze (CHF:THF:methanol 9:1:0,4). Výsledkem byl zisk 61 mg (8 % teoretického výtěžku) látky **8** sytě tmavě zeleného až zelenočerného zbarvení a sypké konzistence.

UV/VIS (mikroemulze, pH 7, 0,5 μM): λ_{max} (ε) = 655 (178300), 595 (27300), 375 nm (115600 $mol^{-1}cm^{-1}dm^3$). MS (MALDI-TOF): *m/z* 1148,3 $[M-O]^+$, 1164,3 $[M]^+$.

7.9 Příprava 2-(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(*terc*-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninu (9)



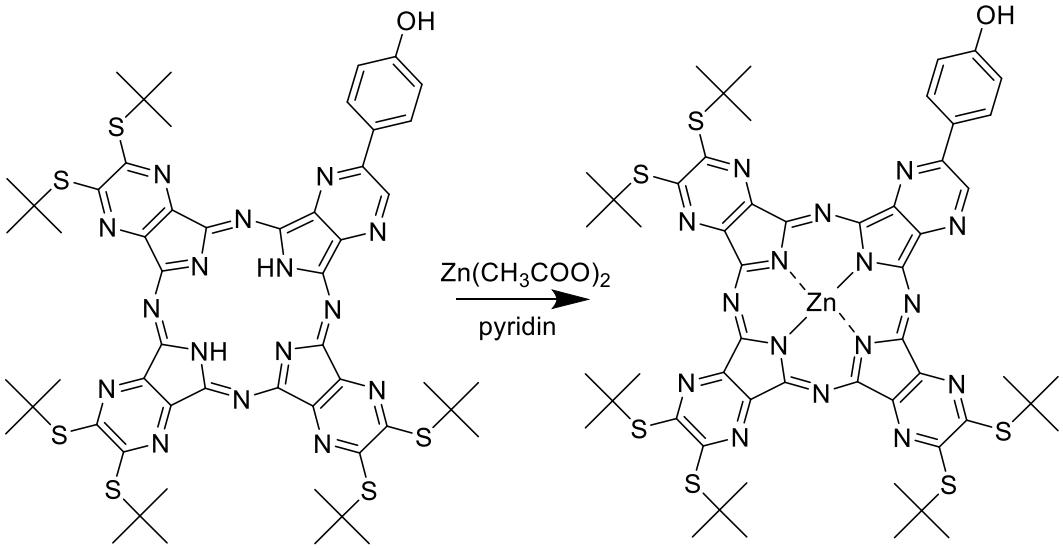
8 **9**

Hořečnatý komplex **8** (60 mg, 0,05 mmol) byl rozpuštěn v THF (10 ml) a byla přidána *p*-TsOH (95 mg, 0,5 mmol), která byla předem rozpuštěna v THF (10 ml). Reakce probíhala při pokojové teplotě za stálého míchání. Reakce byla sledována za pomoci TLC, mobilní fází zde byla směs CHF:THF (10:1). Po 2 hodinách byla směs zbavena rozpouštědla odpařením na vakuové odparce. K vymytí *p*-TsOH bylo užito destilované

vody. Po zfiltrování na fritě byl produkt ponechán do druhého dne vyschnout. Produkt reakce byl dále čištěn sloupcovou chromatografií, při které byla jako mobilní fáze použita směs CHF:THF:methanol (9:1:0,2). Výsledný produkt **9** byl tmavě zelené krystalické povahy. Výtěžek 45 mg (77 %).

MS (MALDI-TOF): *m/z* 1126,3 $[M\text{-}O]^+$, 1142,3M $[M]^+$.

7.10 Příprava 2-(4-hydroxyfenyl)-9,10,16,17,23,24-hexakis(terc-butylsulfanyl)-1,4,8,11,15,18,22,25-(oktaaza)ftalocyaninato zinečnatého komplexu (10)

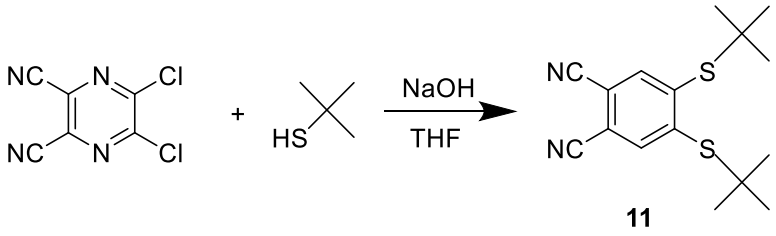


9 **10**

Po rozpuštění bezkovového derivátu **9** (40 mg, 0,04 mmol) v pyridinu (20 ml) byl přidán nadbytek octanu zinečnatého (200 mg, 1,1 mmol). Směs byla za stálého míchání zahřívána pod zpětným chladičem při teplotě varu rozpouštědla po dobu 2 hodin. Poté bylo odstraněno rozpouštědlo na vakuové odparce. Následně byl produkt promyt vodou a methanolem. Produkt byl poté rozpuštěn ve směsi CHF a acetonu a přefiltrován. Po přečištění sloupcovou chromatografií, kde byla jako soustava použita směs CHF:THF:metanol (9:0,5:0,2) byl získán tmavě zelený práškovitý produkt **10** (12 mg, 28 %)

^{1}H NMR ($CDCl_3$/pyridin-d_5, 500 MHz) δ (ppm) 12,14 (1H, s), 9,99 (1H, s, pyrazin), 8,77 (2H, d, *J*= 8,3 Hz, ArH), 7,38 (2H, d, *J*= 8,4 Hz, ArH), 2,26 (45H, s, CH_3), 2,22 (9H, s, CH_3). ^{13}C NMR ($CDCl_3$/pyridin-d_5, 125 MHz) δ (ppm) 161,39; 159,44; 159,33; 158,77; 158,73; 158,50; 158,35; 153,91; 152,07; 151,89; 151,69; 151,58; 151,38; 150,90; 150,70; 150,34; 147,55; 144,84; 144,75; 144,72; 144,69; 144,65; 143,04; 129,98; 127,97; 117,02; 51,51; 51,42; 51,38; 31,03; 30,83; 30,62. IČ (ATR): ν = 2963, 2925, 1609, 1520, 1454, 1363, 1233, 1150, 976 cm^{-1}**.** UV/VIS (THF, 1 μM): λ_{max} (ε) = 649 (199200), 589 (26300), 376 nm (101700 $mol^{-1}cm^{-1}dm^3$). MS (MALDI-TOF): *m/z* 1188,2 $[M\text{-}O]^+$, 1204,2 $[M]^+$.

7.11 Příprava 5,6-bis(*terc*-butylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (11)

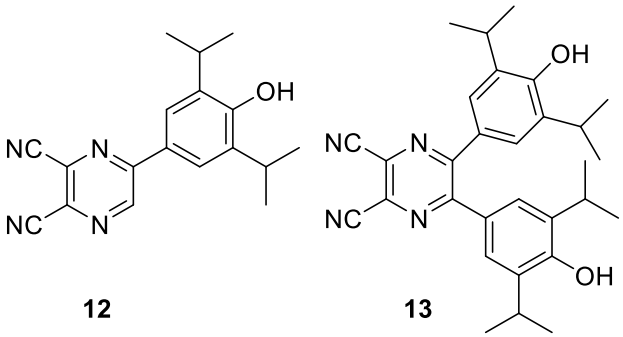


11

Vodný roztok hydroxidu sodného o koncentraci 1 mol/l (70 ml, 70 mmol) byl umístěn do baňky o objemu 200 ml. K němu byl přidán 2-methylpropan-2-thiol (8 ml, 71 mmol). Směs za stálého míchání reagovala 30 minut při laboratorní teplotě. Následně byl přidán 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitril (6,0 g, 30 mmol) a směs byla opět míchána po dobu 30 minut za laboratorní teploty. Po ukončení reakce byl přidán EAC a produkt byl vytřepány několikrát do organické fáze. Organická fáze byla vysušena síranem sodným a přefiltrována. Rozpouštědlo bylo odpařeno. Produkt byl dále čištěn sloupcovou chromatografií s toluenem jako mobilní fází. Finální produkt **11** byl překrystalizován z methanolu s aktivním uhlím. Výtěžek činil 8,62 g (95 %). Látka byla úspěšně identifikována pomocí TLC za použití standardu, který byl skupinou v minulosti již několikrát připraven. Příprava látky **11** byla již dříve publikována v odborné literatuře.[29]

7.12 Příprava mikroemulzní

Příprava byla provedena dle publikovaného postupu.[1] Nejprve byly připraveny zásobní roztoky látek v koncentracích 100 µM v případě AzaPc (**4** a **8**) a 1 mmol pro prekurzory (**3**, **7, 12** a **13**) za použití THF jako rozpouštědla. Látky **12** a **13** (Obr. 21) byly připraveny již dříve v laboratoři.[30, 31] Cremophor® EL (BASF, 72 mg) a triglyceridy se střední délkou řetězce (Ecogreen Oleochemicals, 29 mg) byly rozpuštěny v CHF (2 ml), k tomu bylo přidáno 2,5 ml zásobního roztoku zkoumané látky, směs byla promíchána, důkladně zbavena rozpouštědel na vakuové odparce a poté ještě 1 hodinu ponechána ve vakuové odparce při 40 °C v hlubokém vakuu (3 mbar) za účelem odstranění všech reziduí rozpouštědel. Poté byl přidán Britton-Robinsonův pufr o pH 10 (4 mL), emulze byla homogenizována na vortexové míchačce, kvantitativně převedena do 5 ml odměrné baňky a doplněna po rysku pufrem o pH 10. Tímto způsobem byly připraveny vodné roztoky mikroemulzí zkoumaných látek o koncentraci 50 µM (pro AzaPc) a 0.5 mmol (pro prekurzory).



Obrázek 21. Struktury látek 12 a 13, které byly také zahrnuty do experimentu.

7.13 Závislost fotofyzikálních parametrů na pH prostředí

Do kyvety byl napipetován Britton-Robinsonův pufr o zvoleném pH (2,5 ml) a k němu byl přidán zásobní roztok měřeného vzorku v mikroemulzi (25 µl, tzn. finální měřená koncentrace pro AzaPc byla 0.5 µM, pro prekurzory 5 µM) a vzorek byl opatrně

promíchán. Následně byla změřena absorpční a fluorescenční emisní spektra (λ_{ex} (**4**) = 594 nm, λ_{ex} (**8**) = 604 nm). Tímto způsobem byla změřena spektra i pro další pH. Po ukončení experimentu byly vyneseny křivky závislosti intensity fluorescence (pro AzaPc, λ_{em} = 663 nm) nebo absorbance (pro prekurzory; vlnová délka zvolena individuálně pro každou látku, viz níže) na pH a pK_a bylo vypočítáno nelineární regresí v programu Prism for Windows 7.03 (GraphPad, Inc.).

8 DISKUZE A VÝSLEDKY

Během mé práce jsem se zabýval syntézou a následně fotofyzikálními vlastnostmi ve skupině nesymetrických AzaPc nesoucích na periferii jeden, případně dva fenolické substituenty.

V minulosti byly naší skupinou uveřejněny výsledky látek typu AzaPc s periferně vázanými terciárními aminy, u kterých docházelo k deaktivaci excitovaných stavů pomocí ICT. Při tomto procesu přijímá silně elektrondeficitní jádro makrocyklu elektron od donorové periferní aminoskupiny, což se následně projeví značným poklesem intenzity fluorescence.[2] Tyto výsledky byly později motivací pro obdobné pokusy s AzaPc nesoucími na periferii deriváty fenolů. Konkrétně se jednalo o 3,5-bis(*terc*-butyl)-4-hydroxyfenylové substituenty. I zde bylo potvrzeno, že po deprotonizaci na fenolát se tato periferní skupina stane donorem pro jádro makrocyklu a dojde opět k výraznému poklesu fluorescence.[1] Úkolem této práce tedy bylo navázat na dosažené výsledky v této rovině práce naší skupiny a rozšířit řadu fenolických derivátů AzaPc o další deriváty s nižší hodnotou pK_a senzorické části, které by dokázaly měnit ON-OFF fluorescenční stavy při nižším pH a tím zvýšit svůj potenciál pro účelné využití v pH blízkém fyziologickému.

8.1 Příprava prekurzorů

Návrh syntézy předpokládal přípravu dvou základních prekurzorů, substituovaných pyrazin-2,3-dikarbonitrilů (látky **3** a **7**) a jejich následné využití ve smíšené cyklotetramerizační reakci, do které vstoupí tyto pyrazin-2,3-dikarbonitrily s 5,6-bis(*terc*-butylsulfanyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilem (**11**).

Příprava prekurzoru **3** vycházela z benzoinové kondenzace *p*-anisaldehydu. Tento krok se ukázal být značně problematickým na samotné provedení, později na určení optimálních reakčních podmínek a vybrání vhodného katalyzátoru. V první fázi bylo užito jako katalyzátoru thiazoliové soli (konkrétně 5-(2-hydroxyethyl)-3,4-dimethylthiazol-3-ium-jodid) v prostředí ethanolu. Výtěžek byl dle TLC velmi malý a stále i po reakční době několik dní zůstávalo v reakční směsi velké množství výchozí

látky. Po dalších, naprosto neúspěšných optimalizačních pokusech za využití KCN i NaCN, případně vyšší koncentrace thiazoliové soli, bylo přistoupeno k přípravě nového katalyzátoru a to BBIM12. Syntéza BBMI12 proběhla dle publikovaného postupu a bez jakýchkoliv problémů.[26]

Poté proběhla optimalizace složení reakční směsi. Za rozpouštědlo nakonec byla zvolena voda, za bázi DBU (0,2 ekvivalentu) a jako katalyzátor BBIM12 (0,05 ekvivalentu). Na základě publikací byla reakce ponechána za stálého míchání při pokojové teplotě po dobu jednoho dne.[26] Po dřívějších zkušenostech, kdy byla pozorována oxidace acyloinu na diketon, bylo přistoupeno k přímé oxidaci dusičnanem amonným a octanem měďnatým bez předchozí izolace acyloinu. Izolován byl až výsledný produkt obou reakcí a to diketon ve výtěžku 67 %. Následné odchránění hydroxylů reakcí s kyselinou bromovodíkovou v prostředí kyseliny octové proběhlo ve velmi uspokojivém výtěžku 79 %. Poté již následovala kondenzace diketonu **2** s DAMN za předpokládaného vzniku příslušného pyrazin-2,3-dikarbonitrilu **3**. Zde vyvstaly nečekané problémy se separací produktu a zbylého nezreagovaného diketonu **2**. Retenční faktory obou látek byly naprosto shodné ve všech testovaných mobilních fázích a přítomnost diketonu byla zjištěn až za pomoci NMR. Bylo podniknuto několik kroků k odstranění zbylého reaktantu. Zaprvé byla směs znovu podrobena opakované kondenzaci s DAMN po dobu 1 dne, po izolaci však došlo k snížení podílu diketonu pouze v řádu jednotek procent. Za druhé byla provedena série reakcí s rozličnými látkami povahy primárních aminů za účelem převedení diketonu na odseparovatelný produkt typu Schiffovy báze. V neposlední řadě byl vyzkoušen značný počet mobilních soustav v různých poměrech a složeních. Žádný z postupů ovšem nevedl k uspokojivým výsledkům. Nakonec bylo přistoupeno k rekrystalizaci z methanolu, která poskytla čistý produkt i za cenu výrazných ztrát. Průběh přípravy znázorňuje Schéma 1.

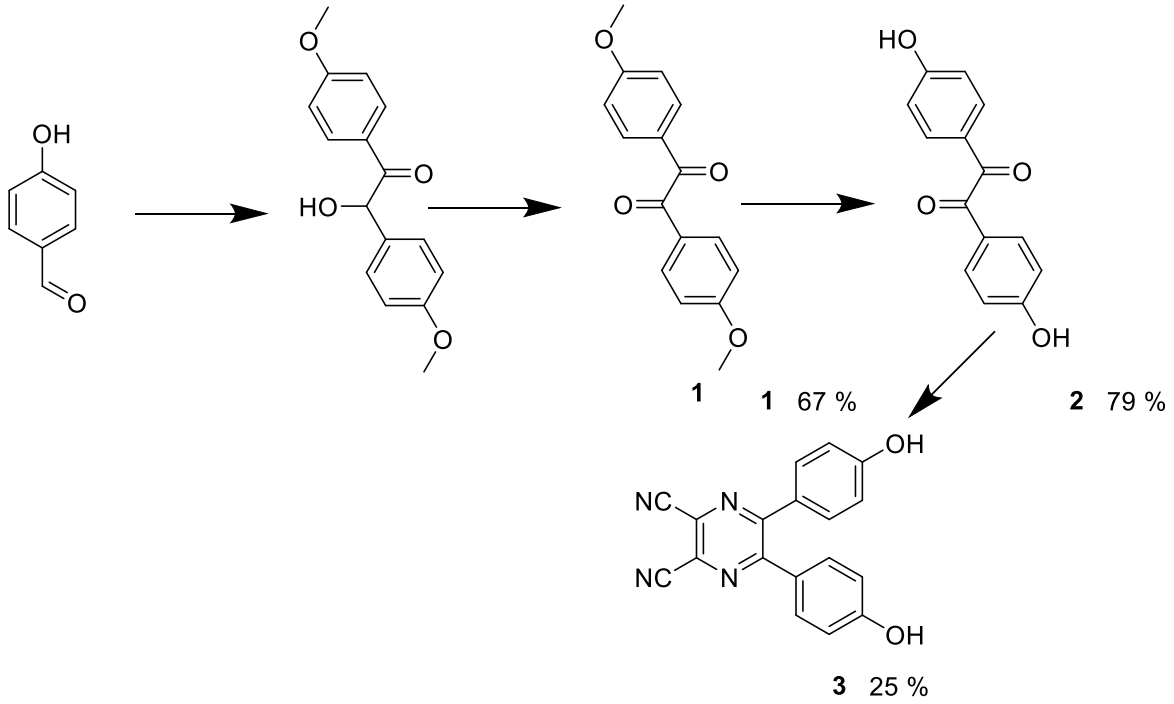


Schéma 1. Syntéza prekurzoru 3.

Cesta k monosubstituovanému pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (**7**) byla o poznání snazší. Vedla skrz oxidaci *p*-hydroxyacetofenonu oxidem seleničitým v prostředí vodného dioxanu. Výsledná směs byla přečištěna sloupcovou chromatografií od základních nečistot a přímo podrobena kondenzaci s DAMN za stejných reakčních podmínek jako v případě syntézy prekurzoru **3**. Po rekrystalizaci z methanolu za přídavku aktivního uhlí byl získán čistý pyrazin-2,3-dikarbonitril, který mohl být dále využit v cyklotetramerizaci. průběh syntézy znázorňuje Schéma 2.

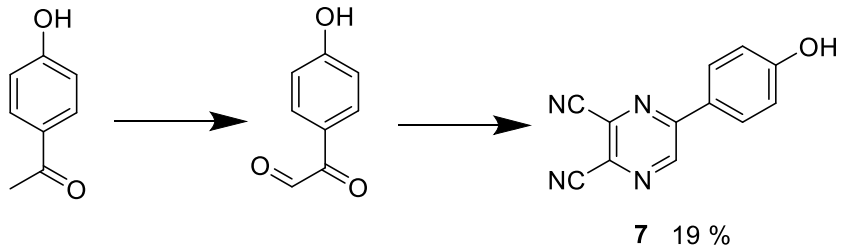
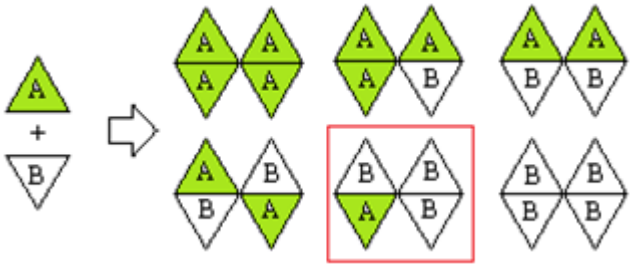


Schéma 2. Syntéza prekurzoru 7.

Příprava prekurzoru **11** byla provedena reakcí 5,6-dichlorpyrazin-2,3-dikarbonitrilu s 2-methylpropan-2-thiolem v prostředí THF s přídavkem NaOH. Tato reakce byla již dříve publikována a proběhla naprosto bez obtíží a s očekávanými výtěžky (95 %).[29]

8.2 Příprava AzaPc

Finálním krokem přípravy výsledných AzaPc byla cyklotetramerizační reakce v prostředí butanolátu hořečnatého. Do reakce byla vložena směs pyrazinu **3** (resp. **7**) a **11** v poměru 1:3 (prekurzory A a B). Ze vzniklé kombinace kongenerů (Obr. 22) byl v obou případech chromatograficky odseparován právě kongener ABBB. Díky značně rozdílným lipofilitám jednotlivých prekurzorů A a B se snadno dělily i jednotlivé kongenery a to již jako hořečnaté komplexy (obvykle dochází k separaci až po převedení na bezkovové ligandy).



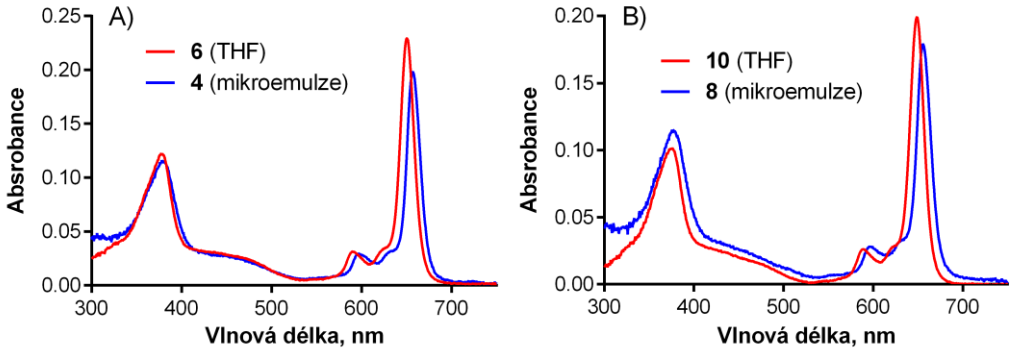
Obrázek 22. Výsledné složení produktů smíšené cyklotetramerizační reakce s vyznačením izolovaného kongeneru.

Chelatovaný hořečnatý kationt lze snadno odstranit použitím silnější kyseliny za zisku bezkovové formy AzaPc, čehož bylo dosaženo v obou řadách látek reakcemi s *p*-TsOH. Poté bylo přistoupeno k přípravě zinečnatých komplexů reakcí s octanem zinečnatým v bezvodém pyridinu. Po konečném vyčištění byla tedy získána zamýšlená série látek.

8.3 Fotofyzikální vlastnosti látek v závislosti na pH prostředí

8.3.1 AzaPc

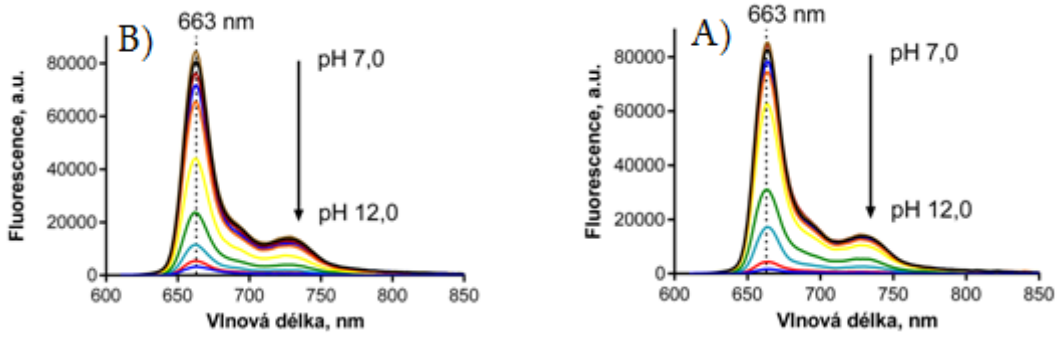
AzaPc se vyznačují typickým tvarem absorpčního spektra, který je popsán v teoretické části. Maxima zinečnatých komplexů se nacházela při 379 a 651 nm u látky **6** a 376 a 649 nm u látky **10** v THF. Tvarově odpovídala spektra typicky monomerům příbuzných látek bez náznaku agregace, což je také důležité pro správné fungování senzorů. Agregace totiž výrazně snižuje fluorescenci nespecificky bez ohledu na okolní podmínky. Stejná kvalita spektra byla pozorována i pro hořečnaté komplexy **4** a **8** v mikroemulzích, což podporuje validitu níže naměřených dat, která tak nebyla ovlivněna agregací AzaPc molekul (Obr. 23).



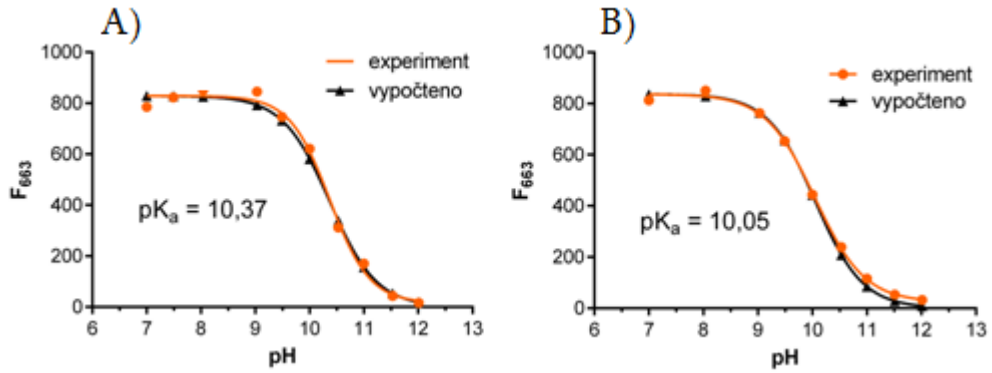
Obrázek 23. Absorpční spektra hořečnatých komplexů 4 a 8 v mikroemulzích a zinečnatých komplexů 6 a 10 v THF. Koncentrace 1 µM.

Dle předpokladu by zkoumané AzaPc měly být silně fluorescenční v kyselém prostředí (převládá forma fenolu) a v bazickém prostředí by mělo dojít k indukci ICT po deprotonizaci na fenolát. Vzhledem ke špatné rozpustnosti AzaPc ve vodě jsme využili acidobazická stanovení v mikroemulzích, kdy AzaPc je rozpuštěný v olejové fázi a reaguje na změny pH vodné fáze. Změny byly monitorovány jak fluorimetricky tak spektrofotometricky. V absorpčních spektrech hořečnatých komplexů **4** a **8** prakticky

nedocházelo ke změnám v závislosti na pH, zato intenzita fluorescence dle předpokladu výrazně klesla při vyšších pH jako důsledek deprotonizace fenolické skupiny (Obr. 24). Závislost intenzity fluorescence v emisním maximu na pH měly typický charakter pro acidobazické titrace (Obr. 25) a odpovídala Henderson-Hasselbalchově rovnici. Pomocí nelineární regrese byly určeny hodnoty pK_a = 10,37 (látka **4**) a pK_a = 10,05 (látka **8**).



Obrázek 24. Změny fluorescence látek 4 (A) a 8 (B) v závislosti na pH.



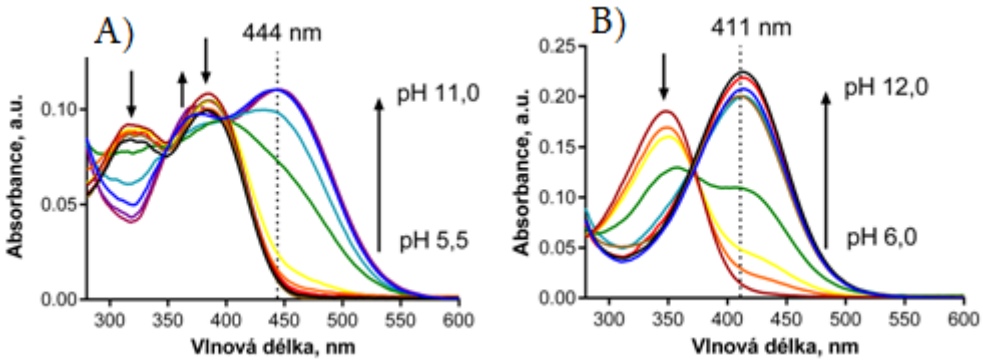
Obrázek 25. Závislost fluorescence na pH u hořečnatých komplexů 4 (A) a 8 (B) (oranžová) a vypočtená křivka dle Henderson-Hasselbalchovy rovnice pro stanovené pK_a (černá).

8.3.2 Pyrazinové prekurzory

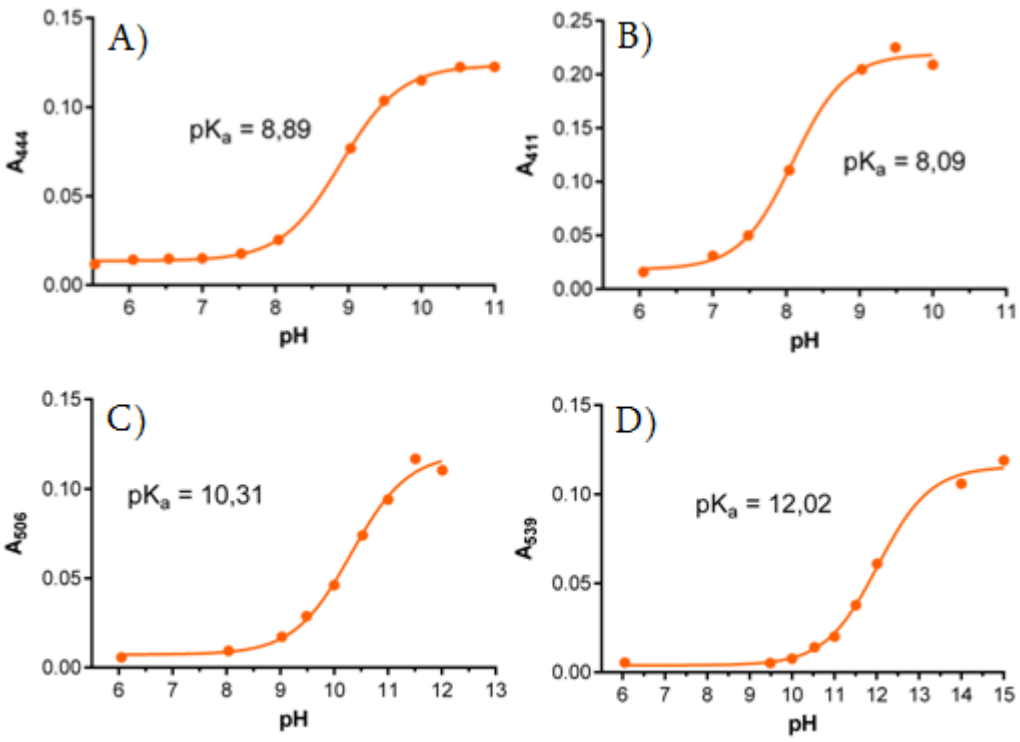
Donor-akceptorová povaha pyrazin-2,3-dikarbonitrilového jádra, kdy nitrilové skupiny v povahách 2 a 3 jsou značně elektrondeficientní, a odtahují elektronový náboj z konjugovaného systému pyrazinového jádra, v nás podmínil zájem také o studium

fotofyzikálních vlastností těchto látek v závislosti na pH. Také výrazné barevné změny těchto látek po postřiku TLC desek 0,1M roztokem NaOH, naznačovaly změny absorpčních spekter v závislosti na pH. Pro objasnění závislostí a ucelení našeho přehledu jsme podrobili testům také pyrazinové prekurzory nesoucí jeden (látka **12**) nebo dva (látka **13**) 3,5-bis(*terc*-butyl)-4-hydroxyfenylové substituenty, které byly připraveny již dříve. Všechny látky opět díky své rozpustnosti byly testovány v mikroemulzích.

Při změně pH z kyselého do bazického u všech pyrazinových derivátů docházelo k výrazným změnám v absorpčních spektrech s nárůstem absorpčních pásů při vyšších vlnových délkách, což bylo doprovázeno změnou barvy roztoku (Obr. 26). Vynesení závislosti absorbance na pH dalo jednoznačnou závislost, ze které mohlo být podobně jako v případě AzaPc, vypočítáno pK_a pro jednotlivé látky (Obr. 27).



Obrázek. 26. Změny absorpčních spekter látek 3 (A) a 7 (B) v závislosti na pH.

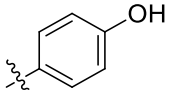
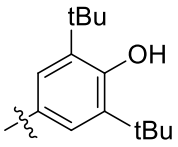


Obrázek 27. Závislost absorbance na pH u prekurzorů 3 (A), 7 (B) a u látek 12 (C) a 13 (D).

8.3.3 Hodnoty pK_a připravených látek

Z výše umístěných grafů závislosti fluorescence či absorpce na pH mohly být odečteny hodnoty pK_a připravených látek. Z přiložené Tabulky 1 lze vyčíst a porovnat získané hodnoty pK_a připravených prekurzorů a AzaPc s prekurzory a AzaPc nesoucími 3,5-bis(*terc*-butyl)-4-hydroxyphenylové substituenty. Hodnoty pK_a lze také srovnat s hodnotami vypočítanými softwarem ACD/Labs V11.02 pro obdobně substituované fenoly (tzn. bez substituce v poloze 4 fenolu).

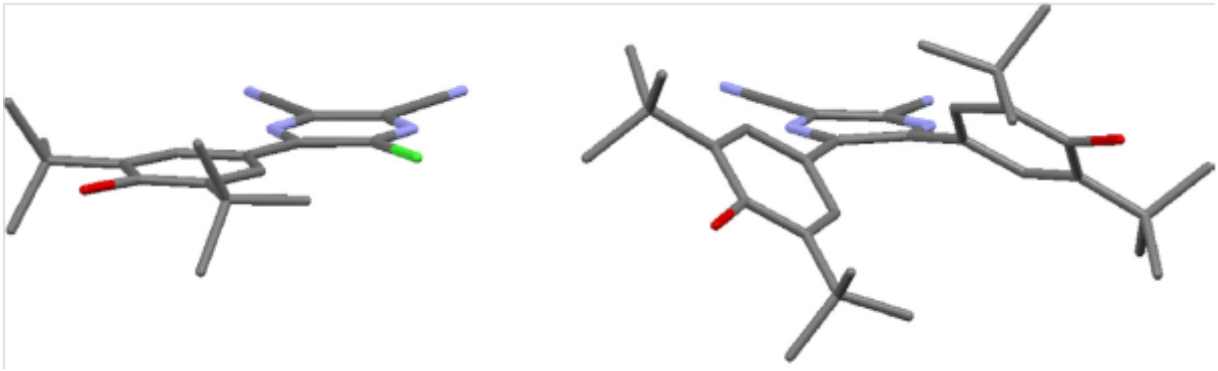
Tabulka 1. Srovnání hodnot pK_a připravených látek (v závorce jsou uvedeny čísla látek).

Typ substituentu	Počet substituentů	AzaPc	Pyrazinové prekurzory	Fenol – vypočítaná hodnota
	1	10,05 (**8**)	8,09 (**7**)	9,86
	2	10,37 (**4**)	8,89 (**3**)	
	1	12,5	10,31 (**12**)	12,16
	2	12,6	12,02 (**13**)	

Zajímavým poznatkem je skutečnost, že pK_a fenolů vázaných na pyrazin-2,3-dikarbonitrilové jádro je výrazně nižší než u příslušných AzaPc, u kterých je přibližně stejné jako pro fenoly samotné. Toto dokazuje, že pyrazin-2,3-dikarbonitrilový kruh je silnějším elektronovým akceptorem než jádro AzaPc a tím výrazně zvyšuje kyselost fenolického hydroxylu. AzaPc jádro prakticky neovlivňuje elektronově kyselost fenolického hydroxylu a jeho příspěvek se dá srovnat s příspěvkem vodíku.

Za zdůraznění stojí fakt, že sloučeniny (zejména se jedná o deriváty pyrazinu) substituované dvěma fenolickými substituenty vykazují signifikantně vyšší hodnoty pK_a oproti sloučeninám monosubstituovaným. To je dáno inhibicí elektronových efektů (není účinná konjugace) jako důsledek vytočení aromatických jader z roviny pyrazinu. Dvě aromatická jádra v *ortho* poloze nemohou ležet v jedné rovině. Jako příklad velmi dobře poslouží látky **12** a **13** s 3,5-bis(*terc*-butyl)-4-hydroxyphenylovými substituenty u nichž bylo dříve zjištěno prostorové uspořádání na základě krystalografických studií (Obr. 28) – pro látku **12** je použita analogický derivát s chlor substitucí v poloze 5. Z Tabulky 1 je pak patrné, že v případě látky **13** se hodnoty pK_a prakticky blíží hodnotám pro nesubstituovaný fenol, tzn. elektronový efekt pyrazin-2,3-dikarbonitrilového jádra je zde prakticky zcela eliminován výrazným vytočením fenylových jader. U méně objemných

4-hydroxyfenylových substituentů látky **7** je snížení elektronového efektu (tzn. nárůst pK_a) výrazně menší a neblíží se nesubstituovanému fenolu.

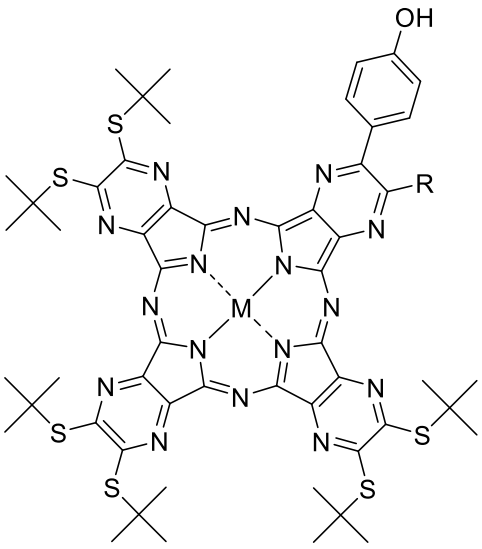


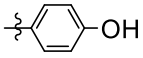
Obrázek 28. Znázornění vlivu sterického působení objemných substituentů na výslednou strukturu 5-chlor-6-(3,5-di-*terc*-butyl-4-hydroxyfenyl)pyrazin-2,3-dikarbonitrilu (vlevo, CCDC 864530) a látky 13 (CCDC 864529). (převzato z Hill, J.P.; Subbaiyan, N. K.; D'Souza, F.; Xie, Y.; Sahu, S.; Sanchez-Ballester, N. M.; Richards, G. J.; Mori, T.; Ariga, K.; Antioxidant-substituted Tetrapyrazinoporphyrazine as Fluorescent Sensor for Basic Anions. *Chem. Commun*., **2012,** *48,* 3951).

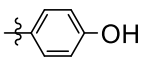
9 ZÁVĚR

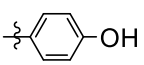
I přes několik problémů, které se objevily během syntézy, byly připraveny dvě skupiny nesymetrických AzaPc nesoucích na periferii jednu, respektive dvě fenolické skupiny (Obr. 29). Nezbytným předpokladem byla optimalizace syntetických postupů.

Měřením byly stanoveny absorpční a fluorescenční spektra získaných hořečnatých AzaPc i příslušných pyrazinových prekurzorů v prostředí s měnícím se pH, které potvrdily naši hypotézu o pH-dependentních změnách ve fluorescenci (absorbanci) těchto typů látek. Stanovené hodnoty pK_a pro pyrazinové prekurzory a pro připravené AzaPc jednoznačně prokázaly, že pyrazin-2,3-dikarbonitrilové jádro má výrazný elektron-akceptorový efekt a zvyšuje kyselost fenolických hydroxylů, zatímco efekt AzaPc jádra je minimální, prakticky srovnatelný s efektem vodíku. Zjistili jsme také, že elektronové efekty pyrazinového jádra se markantně snižují, až téměř ruší, vytočením fenolických substituentů z roviny pyrazinového jádra. Zjištěné závislosti se dají snadno aplikovat na návrh nových látek s hodnotou pK_a rozpoznávací fenolické částí optimalizovanou pro zamýšlené aplikace např. zavedením elektron-akceptorových substituentů na fenolické jádro.



4 M=Mg R= 

5 M=2H R= 

6 M=Zn R= 

8 M=Mg R=H

9 M=2H R=H

10 M=Zn R=H

Obrázek 29. Struktury připravených látek.

10 POUŽITÁ LITERATURA

1. NOVAKOVA, V.; LASKOVA, M.; VAVRICKOVA, H.; ZIMCIK, P.; Phenol-Substituted Tetrapyrazinoporphyrazines: pH-Dependent Fluorescence in Basic Media. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 14382 – 14392.

2. NOVAKOVA, V.; MILETIN, M.; KOPECKY, K.; ZIMCIK, P.; Red-Emitting Dyes with Photophysical and Photochemical Properties Controlled by pH. *Chem. Eur. J.,* **2011**, *17*, 14273 – 14282.

3. SEKKAT, N.; VAN DEN BERGH, H.; NYOKONG, T.; LANGE, N.; Like a Bolt from the Blue: Phthalocyanines in Biomedical Optics. *Molecules,* **2012**, 17, 98-144.

4. KADISH, K. M.; SMITH, K. M.; GUILARD, R.; *Handbook of Porphyrin Science*. Vol. 3, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, Singapore, 2010, ISBN 978-981-4280-16-7.

5. WÖHRLE, D.; SCHNURPFEIL, G.; MAKAROV, S.; KAZARIN, A.; SUVOROVA, O.; Practical Applications of Phthalocyanines- from Dyes and Pigments to Materials for Optical, Electronic and Photo-electronic Devices. *Macroheterocycles*, **2012**, *5 (3)*, 191-202.

6. CLAESSENS, C. G.; HAHN, U.; TORRES, T.; Phtalocyanines: from Outstanding Electronic Properties to Emerging Applications. *Chem. Rec*., **2008**, *8 (2)*, 75-97.

7. ZIMCIK, P.; Azaftalocyaniny - od syntéz přes fotochemické a fotofyzikální vlastnosti k aplikacím. *Chem. Listy*, **2012**, *106 (4)*, 275-282.

8. LUKYANETS, E.; NEMYKIN, V. N.; The Key Role of Peripheral Substituents in the Chemistry of Phtalocyanines. *J. Porphyr. Phtalocyanines*, **2010**, *14*, 4-6.

9. ROLLET, F.; MORLAT-THERIAS, S.; GARDETTE, J.; AFM Analysis of CD-R Photoageing. *Polym. Degrad. Stab.,* **2009**, *94 (6)*, 877-885.

10. ROLLET, F.; MORLAT-THERIAS, S.; GARDETTE, J.; FONTÁNE, J.; PERDEREAU, J.; POLACK, J.; Identification of Parameters Involved in the

Photochemically Induced Degradation of CD-R Phthalocyanine Dye. *J. Cult. Heritage*, **2008**, *9 (3)*, 234-243.

11. ZIMCIK, P.; MILETIN, M. Photodynamic Therapy. In: ARNOLD R. LANG (Ed.). *Dyes and Pigments: New Research.* Nova Science Publishers Inc., New York, 2009. ISBN 978-1606920275

12. JOSEFSEN, L. B.; BOYLE, R. W.; Photodynamic Therapy and the Development of Metal-Based Photosensitisers. *Met. Based Drugs*, **2008,** 276109.

13. HASRAT, A.; VAN LIER, J. E.; Metal Complexes as Photo- and Radiosensitizers. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2379−2450.

14. YAMAGUCHI, S.; SASAKI, Y.; Primary Carrier-generation Process in Y-form and Phase I Titanyl Phthalocyanines. *Chem. Phys. Lett.,* **2000**, *323 (1-2)*, 35-42.

15. BECHNIK, B.; Stručná historie fotovoltaiky. *TZB-info,* **2014**, 1801-4399.

16. MARTINEZ-DIAZ, M. V.; DE LA TORRE G.; TORRES T.; Lighting Porphyrins and Phthalocyanines for Molecular Photovoltaics. *Chem. Commun*., **2010**, *46 (38)*, 7090-7108.

17. NOVAKOVA, V.; Studium strukturních a fotofyzikálních aspektů azaftalocyaninů se zaměřením na jejich senzorické vlastnosti. Habilitační práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci králové, Hradec Králové 2014.

18. NOVAKOVA V., LOCHMAN, L.; ZAJÍCOVÁ, I.; KOPECKY, K.; MILETIN, M.; LANG, K.; KIRAKCI, K.; ZIMCIK, P.; Azaphtalocyanines: Red Fluorescent Probes for Cations. *Chem. Eur. J*., **2013**, *19*, 5025-5028.

19. BOTTARI, G.; DE LA TORRE, G.; GULDI, M. D.; TORRES, T.; Covalent and Noncovalent Phthalocyanine-Carbon Nanonstructure Systems: Synsthesis, Photoinduced Electron Transfer, and Application to Molecular Photovoltaics. *Chem. Rev*., **2010**, *110 (11)*, 6768-6816.

20. DE LA TORRE, G.; CLAESSENS, C. G.; TORRES, T.; Phthalocyanines: Old Dyes, New Materials. Putting Color in Nanotechnology. *Chem. Commun*., **2007**, *20*, 2000-2015.

19. SANCHEZ, M.; HADASCH, A.; RABION, A.; MEUNIER, B.; Oxidation of 2,4,6-Trichlorophenol Catalyzed by Iron Phthalocyanines Covalently Bound to Silica. *C. R. Acad. Sci.,* **1999**, *2 (4)*, 241-250.

22 . VILLANO, M.; AMENDOLA, V.; SANDONA, G.; DONZELLO, M. P.; ERCOLANI, C.; MENEGHETTI, M.; Excited State Dynamics and Nonlinear Absorption of a Pyrazinoporphyrazine Macrocycle Carying Externally Appended Pyridine Rings. *J. Phys. Chem. B*., **2006**, *110 (48)*, 24354-24360.

23 . WÖHRLE, D.; SUVOROVA, O.; GERDES, R.; BARTELS, O.; LAPOK, L.; BAZIAKINA, N.; MAKAROV, S.; SLODEK, A.; Efficient Oxidations and Photooxidations with Molecular Oxygen Using Metal Phthalocyanines as Catalyst and Photocatalysts. *J. Porphyr. Phtalocyanines*, **2004**, *8 (8)*, 1020-1041.

24. LONG, G.; SNEDEKER, B.; BARTOSH, K.; WERNER, M.; SEN, A.; Transition Metal Phthalocyanine and Porphyrin Complexes as Catalysts for the Polymerization of Alkenes. *Can. J. Chem.,* **2001**, *79 (5-6)*, 1026-1029.

25. D´ANDRADE, B. W.; FORREST, S. R.; White Organic Light-emitting Device for Solid-state Lifting. *Adv. Mater*., **2004**, *16 (18)*, 1585-1595.

26 . IWAMOTO, K.; KIMURA, H.; MASAAKI, O.; MASAYUKI, Y.; Methylene-bridged Bis(benzimidazolium) Salt as a Highly Efficient Catalyst for the Benzoin Reaction in Aqueous Media . *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, *6*, 912–915.

27. KHURANA, J. M.; LUMB, A.; CHAUDHARY, A.; NaBrO3/bmim[HSO4]: A Versatile System for the Selective Oxidation of 1,2-diols, α-Hydroxyketones, and Alcohols. *Monatsh Chem.* **2017***, 148*, 381–386.

28. ENGLAND, P.; McDOUGALL, H. R.; Approaches to Heterocyclic Analogues of Biphenylene. Part I. The Reaction of 5,6-Diaryl-2,3-dihydropyrazinesw ith Alcoholic Alkali. *J. Chem. Soc. C.* **1971**, 2685-2689.

29. ZIMČÍK, P.; MILETÍN, M.; NOVÁKOVÁ, V.; KOPECKÝ, K.; NEJEDLÁ, M.; STARÁ, V.; SEDLÁČKOVÁ, K.; Effective Monofunctional Azaphthalocyanine Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Aust. J. Chem*. **2009**, *62 (2)*, 425 – 433.

30. LÁSKOVÁ, M.; Syntéza azaftalocyaninů nesoucích jeden 2,6-di(*terc*-butyl)fenolický substituent. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Hradec Králové 2015.

31. VAVŘIČKOVÁ, H.; Syntéza symetrických derivátů azaftalocyaninů substituovaných objemnými aromatickými substituenty. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Hradec Králové 2015.