

XVII. reál- és humántudományi Erdélyi Tudományos Diákköri Konferencia (ETDK)

Kolozsvár, 2014. május 15-18

Új porfirin származékok előállítása

Szerző:

Mihálydeákpál Zsolt

Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Kémia és Vegyészmérnöki kar,
Vegyészmérnöki szak, IV. év

Témavezető:

dr. Gál Emese, egyetemi tanársegéd,

Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Magyar Kémia és
Vegyészmérnöki Intézet

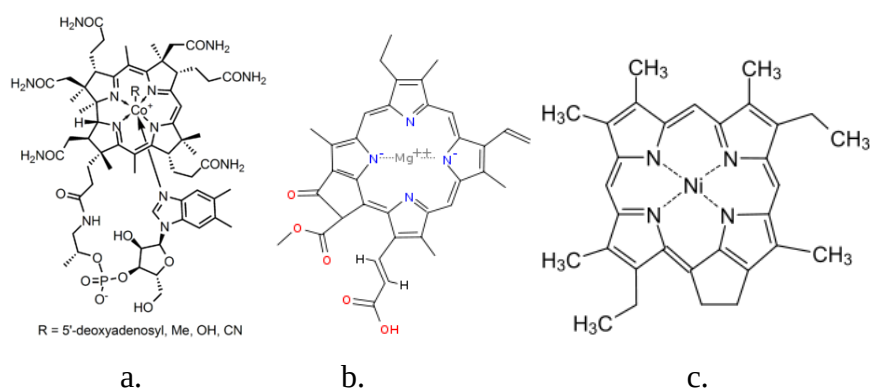
Tartalom:

I. Porfirinek kémiája- Irodalmi áttekintés.....	3
I.1. Makrociklusos vegyületek.....	3
I.2. A porfirinek szerkezete és optikai tulajdonságai.....	4
I.3. Porfirinek előállítása.....	9
I.3.1. Pirrol és aldehid kondenzálása.....	9
I.3.2. 2-es helyzetben szubsztituált pirrol autokondenzációja.....	11
I.3.3. Dipirrol-intermedierek csatolása.....	11
I.3.4. Lineáris tetrapirrolok ciklizálása.....	13
I.3.5. Fenotiazinil-porfirinek előállítása.....	14
I.4. Porfirinek felhasználása.....	15
I.4.1. Porfirinek felhasználása a gyógyászatban.....	15
I.4.2. Porfirinek hatása a DNS láncre.....	17
I.4.3. Porphirin alapú nanoszerkezetek alkalmazása.....	18
II. Fenotiazin funkcionálizálása.....	19
III. Gyakorlati rész.....	21
III.1. Alapanyagok előállítása.....	21
III.1.1. 1,6-bis-fenotiazin-hexán (BFH) előállítása.....	21
III.1.2. 1,6-bis-fenotiazin-hexán formázása.....	22
III.2. Porfirinek szintézise.....	22
III.2.1. A ₂ B ₂ és AB ₃ típusú porfirinek szintézise.....	23
III.3. Az előállított anyagok szerkezetvizsgálata	24
III.3.1. DNS-porphirin kölcsönhatás tanulmányozása.....	24
III.3.2. NMR és HRMS spektroszkópiás mérések.....	24
III.3.3. UV-VIS és fluoreszcenciás mérések.....	26
IV. Kísérleti rész.....	28
V. Következtetések.....	30
VI. Irodalmi hivatkozás.....	30
VII. Mellékletek.....	32

Porfirinek kémiája- Irodalmi áttekintés

I.1. Makrociklusos vegyületek

A porfirinek a heterociklusos vegyületek egyik legfontosabb, a természetben is előforduló származéka, amelyek fontos szerepet töltenek be a természetben és az emberi szervezetben egyaránt. A tetrapirrol szerkezet fellelhető a hemoglobinban (hem csoport), illetve mioglobin proteinek szerkezetében, de ugyanakkor a B12 vitaminban is, illetve fontos szerepe van a növények fotoszintézisében^[1]. Ásvány formájában is jelen van a természetben, az abelsonit az egyetlen létező geoporfirin, nagyon ritka e szerves vegyületnek kristály formában való természetes előfordulása (1.Ábra).



1. Ábra a. B12 vitamin, b. Klorofil, c. Abelsonit

Szerkezeti szempontból négy pirrolgyűrű négy metincsoporton, kovalens kötésekkel keresztül kapcsolódik össze úgy, hogy az egész molekulára kiterjedő konjugált, aromás kettőskötés-rendszer alakul ki. A molekula planáris szerkezetű, ez is hozzájárul az aromás jellegéhez.

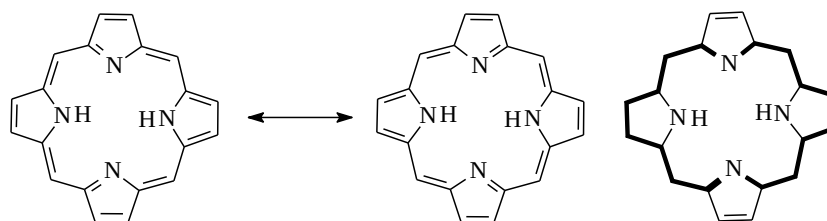
Az egyik legfontosabb porfirin alapú molekula feltalálása H.Fisher^[2,7] nevéhez fűződik, aki megfigyelte, hogy az általa előállított molekulák nagyon hasonlóak a hem szerkezetéhez, viszont az Fe^{2+} mentes volt, illetve a szénláncok porfirin gyűrűn való elhelyezkedését nem tudta pontosan meghatározni. A rendre előállított protoporfirineket összehasonlította a hemből származtatott porfirinével, és amelynek tulajdonságai megegyeztek, ahhoz vasat addicionált, így sikerült neki vegyi úton előállítani a hem molekulát, melyért később Nobel-díjat kapott.

A gyűrűs vázú tetrapirrol származékok, illetve ezek különböző fémmel alkotott komplexei rendkívül fontosak biológiai szempontból. Vizsgálatuk, tervezésük és fejlesztésük fontos feladat napjainkban is: a porfirin-kémia jelentősebb kutatási és alkalmazási területei

közé tartozik a napcellák készítése, a mesterséges fotoszintézis modellezése, legjelentősebb kutatási iránya a rák-kutatás^[3] felé tolódott, miután már az 1900-as évek végén rájöttek, hogy káros hatással vannak a rákos sejtekre (Fotodinamikus Terápia, röviden: PDT)^[4]. A PDT kihasználja a porfirinek hidrofób tulajdonságát, így ezek gond nélkül áthaladnak a sejthártyán és felhalmozódnak a rákos sejtekben. A páciensbe juttatott fotoszenzibilizátorokat^[5] megfelelő fény-dózissal egy bizonyos hullámhosszon sugározzák be, ami elegendő ahhoz, hogy elpusztítsák a káros sejteket, viszont nem túlságosan nagy ahhoz, hogy az egészséges szöveteket is károsítsák. A porfirin által elnyelt fényenergiát szingulet oxigén aktiválására fordítja, aminek következtében ez erősen citotoxikus hatást fejt ki, így a nem kívánt sejteket eltávolítja a szervezetből. A PDT-t leginkább testfelszínen, illetve az üreges szervek kezelésére alkalmazzák^[6]. A porfirinek másik fontos alkalmazási területei közé tartozik a napcellák készítése, a mesterséges fotoszintézis modellezése. A napcellákban a látható tartományon belüli széles és intenzív fényelnyelésüket kihasználva az aktív reakciócentrum felületére adszorbeálva alkalmazzák a porfirineket. A fotoszintézis modelleknél az antennának nevezett porfirinszármazék kovalens kötással kapcsolódik az elektrondonor molekulához, úgynevezett híd- vagy távtartó molekulán keresztül.

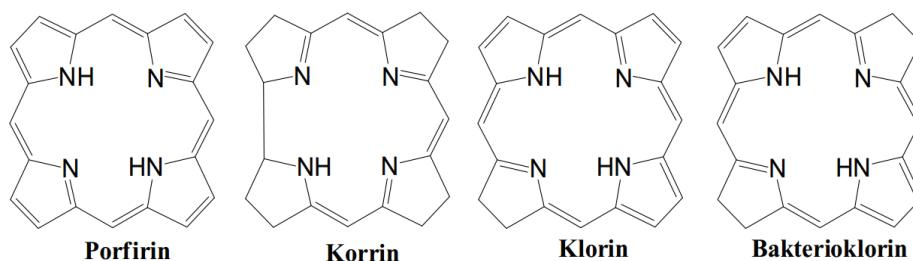
I.2. A porfirinek szerkezete és optikai tulajdonságai

A porfirinek tetrapirrol szerkezetű makrociklusos vegyületek, melyekben 4 pirrol gyűrűt 4 metinhíd kapcsol össze így alakítva ki a 20 C atomból álló makrociklust. A molekulában mindegyik szénatom sp^2 hibridállapotú. A molekulában 22 π elektron van, melyek közül csak 18 áll direkt konjugációban egymással, így eleget tesz a Hückel-féle $4n+2$ szabálynak, az így kialakult szerkezet tökéletesen alkalmas fémekkel való komplexek létrehozására ezek a komplexek is fontos szerepet töltenek be a természetben és az emberi testben egyaránt.



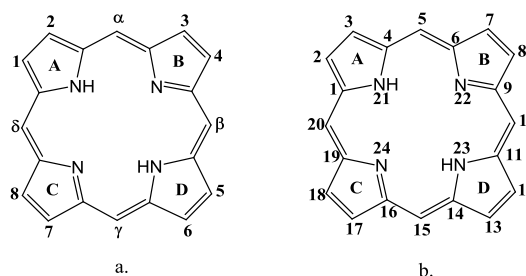
2. Ábra Az elektronok delokalizációja a porfirin gyűrűben (Vogel model szerint)

A tetrapirrolok közül a porfirin a legelterjedtebb, de ugyanakkor ismert a korrin, klorin és a bakterioklorin is^[8] (3. Ábra)



3. Ábra: *Porfirin alapvázú szerkezetek*

A porfiringyűrű számozását a 20 periférikus szénatomokon kezdjük, végül a gyűrű belsejében lévő nitrogén atomok kapják a 21-24 számozást (3.b Ábra). Ez a IUPAC szerint elfogadott számozás. Régebben használták a Fischer szerinti számozást is, ő a pirrol pozíciókat 1-től 8-ig, míg a mezo helyzeteket az α , β , γ és δ betűkkel nevezte el (4.a Ábra). Ez a számozás viszont nem volt alkalmazható új származékok előállításánál.

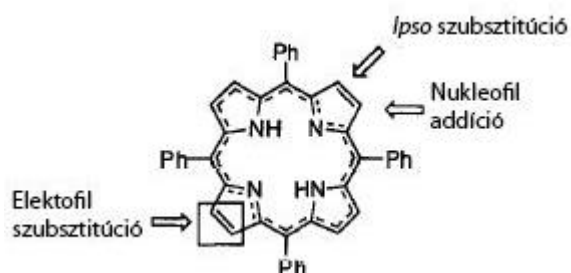


4. Ábra: *Porfirin számozása*

Kémiai reakcióban általában a periférikus szénatomok vesznek részt, ezek közül 12 szubsztituálható: a 8 β -pozíció, mely a pirrol-gyűrű része, illetve a 4 *mezo*-pozíció, melyet a pirrolgyűrűket összekapcsoló metincsoportok alkotnak. A 7-es, illetve 17-es C atomnál található kettős kötés redukálható, anélkül, hogy a gyűrű aromás jelleg megszűnne. Ezek a makrociklikus vegyületek gyenge bázisoknak tekinthetők és protonálhatók, miközben dikationok keletkeznek. A nem protonált porfirinben (amit szabad bázisnak nevezünk) a két belső proton nem rögzített, szabadon mozog a négy nitrogén atomon. Ezek a protonok megfelelő körülmények között disszociálódhatnak, és helyükre fém ionok léphetnek be. Energetikai szempontból a *transz* (21,23-H) tautomér forma kedvezőbb, mint a *cisz* (21,22-H) forma.

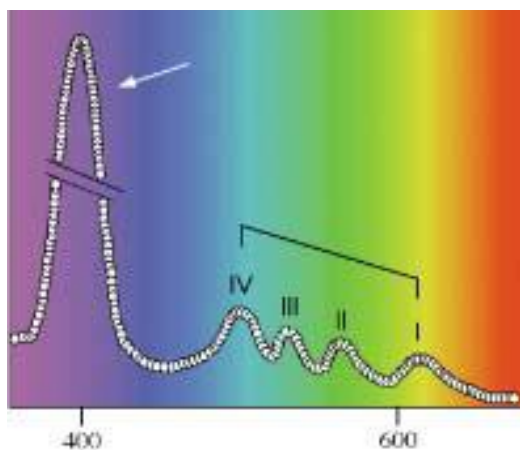
Nem csak a gyűrű belsejében mehetnek végbe reakciók, hanem magán a porfirin-vázon is. A 20 db. külső C atom közül 12 alkalmas elektrofil vagy nukleofil szubsztitúció

megvalósításához. Ez történhet β , illetve *mezo* pozíciókban, attól függően, hogy az új szubsztituens hova kapcsolódik. β helyzetnek nevezzük a pirrol pozíciókat (2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18), míg *mezo* helyzetnek a 4 metin hidat. Ezek reaktivitása nem azonos, a β pozíciók kevésbé reaktívak, mint a metin hidak. Ugyanakkor a *mezo* pozíciók is különböznek egymástól: a 10-es és 15-ös helyzetek sokkal inkább nukleofilek, mint a másik kettő (5-ös és 20-as) (5. Ábra)



5. Ábra. A porfirin váz reakciója.

A fotoszintézis mechanizmusában kifejtett fontos szerepe azt szemlélteti, hogy jól működő foton-elektron transzportfolyamatokat biztosít a növényi szervezetekben. Karakterisztikus fényelnyelésük az UV-Vis tartományban van 400 nm körül (ezt nevezzük Soret-sávnak), a Soret-sáv fölött találunk kisebb gerjesztési energiával rendelkező sávokat (450-700 nm között), ezeket Q-sávoknak nevezzük^[9] (6. ábra). Ezek intenzitása és a sávok pontos elhelyezkedése függ az oldószertől, a porfirin koncentrációjától és a porfirin típusától.



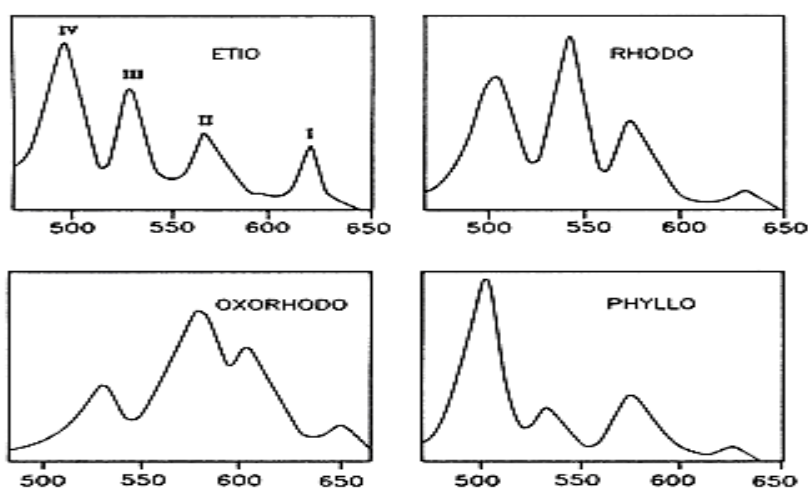
6.Ábra: Porfirinek UV-Vis abszorbancia spektruma

A porfirin makrocikluson lévő szubsztituensek az abszorbancia spektrum sávszélességének intenzitását és maximumát változtathatják. Ugyanakkor a két inert nitrogén protonálása, fém bevitele vagy ennek lecserélése az aromás szerkezetben nagymértékű

változásokat eredményez az UV-Vis spektrumban. E tulajdonságuk miatt az utóbbi években a porfirinek és porfirin-alapú vegyületek fontos alapját képezték az optoelektronikai kutatásoknak, de ugyanakkor az adattárolásban és napelemcellák létrehozásában is egyre több alkalmazási terület lelhető fel.

A Q-sávok nagysága és elhelyezkedési sorrendje szerint 4 típust különböztünk meg (7. Ábra):

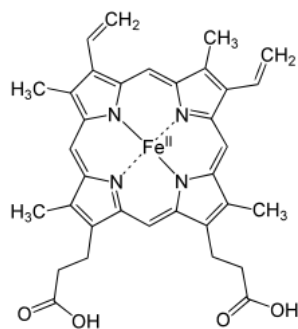
- *Ethio típus*: az intenzitási sorrend $IV > III > II > I$ sorrendbe csökken. Ebből a kategóriába tartoznak például az etio-, proto- és deuteroporfirinek.
- *Rhodo típus*: egy erős elektronvonzó csoport (formil, acetyl vagy karbonil) a sávok intenzitását $III > IV > II > I$ sorrendbe csökkenti
- *Oxorhodo típus*: azokra a porfirinokra jellemző, melyek két erősen elektronegatív csoportot tartalmaznak, ebben az esetben $III > II > IV > I$ sorrendbe csökken az intenzitás sorrendje
- *Phyllo típus*: a III és I csúcsok kisebb intenzitása miatt a sorrend $IV > II > III > I$ irányba csökken.



7. Ábra. A porfirinek karakterisztikus abszorpciós spektrumjai.

A mezo-tetrafenil (TPPH₂) porfirineknek etio-típusú Q-sávjuk van. Savas közegben a porfirin nitrogén atomjai protonálódnak, így dikationok keletkeznek, ami megváltoztatja a látható spektrumot a négy-sávú Phyllo-típustól egy egyetlen, erős intenzitású sávra. Hasonlóképpen a TPPH₂ savas közegben etio-forma helyett a spektrum kétsávossá alakul.

A porfirinek több komplex képzésére alkalmasak különböző fémionokkal illetve egyes nemfémekkel. A természetben előforduló fém-porfirinek közül messzemenőleg a vas-komplexek a legfontosabbak, melyeket *hem*-nek nevezünk (8. ábra).



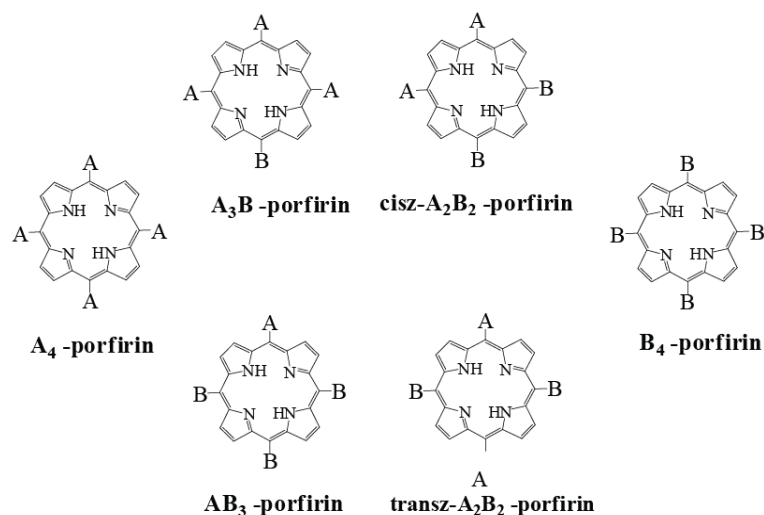
8.Ábra. Hemoglobin szerkezete

Ezek a molekulák a reakcióközpontjuk különböző hem fehérjéknek (hemoproteinek), melyek oxigén szállításra és tárolásra (hemo- és mioglobin), elektronátadásra (citokróm B és C), illetve szerves szubsztátumok oxidálására (P450 oxigenáz család) alkalmasak. A legnagyobb családját a porfirinek fémkomplexeinek viszont a magnézium-komplexek alkotják, amit klorinoknak nevezünk. Ezek minden zöld növényben megtalálhatók, ez a komplex a fotoszintézis kulcsa. Ennek fő feladata a sugárzások elnyelése, mely a klorofil molekulában lévő kettős kötések és p elektronok közötti konjugációjának tulajdonítható.

A klorofil (Mg komplex) és a feofitin (nem komplexált porfirin) megtalálhatók a növények és baktériumok fotoszintetikus mechanizmusában, míg a B12 vitamin (kobalt-komplex) baktériumokban és állatokban van jelen.

A B12-es vitamin a korrin koplexből származtatható, ennek hiánya a szervezetben káros vérszegénységet okoz, ami idegrendszeri zavarokhoz vezet.

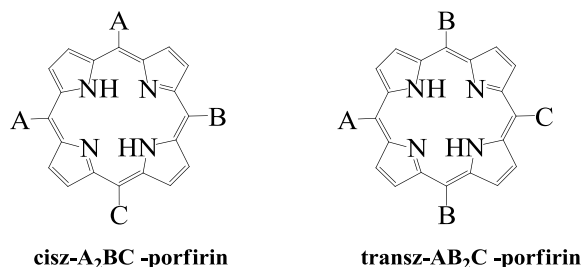
A *mezo*-pozícióba bekapcsolódó szubsztituensek többfélék lehetnek, így különböző típusú porfirineket különíthetünk el. Ha csupán egy szubsztituens kapcsolódik az aromás szerkezethez, akkor A₄ típusú porfirinről beszélünk. Ha viszont két, különböző szubsztituens kapcsolódik a makrociklus *mezo* pozíciójaihoz, akkor többféle képpen csoportosíthatjuk a porfirineket: beszélhetünk A₃B, AB₃ illetve *cis*- és *transz*-A₂B₂ típusú porfirinekről (9.ábra).



9.Ábra: Különböző, A,B szubsztituenst tartalmazó porfirinek

Ha a porfirinek előállításához sztöchiometrikus arányban használunk pirrolt és aldehidet, akkor a következő százalékos összetételű elegyet kapjuk: 6,25% A₄, 25% A₃B, 25% cisz-A₂B₂, 12,5% transz-A₂B₂, 25% AB₃ és 6,25% B₄.

Abban az esetben, amikor 3 különböző szubsztituens kapcsolódik *mezo* pozícióba, akkor a *cisz*-A₂BC és *transz*-A₂BC porfirinekről beszélünk (10.Ábra), ha pedig 4 különböző csoport szubsztituál, akkor ABCD porfirint kapunk.^[10]



10.Ábra: 3 különböző szubsztituenst tartalmazó porfirin

Az így előállított vegyes porfirinek oszlopkromatográfiás eljárással tisztíthatók, választhatók el egymástól.

I.3. Porfirinek előállítása

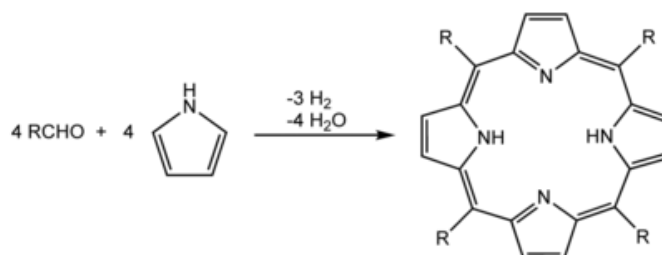
A porfirin-váz többféle módon állítható elő, ez először H. Fischernek^[7] sikerült az 1920-as években. Ezután előállította a hemet mesterségesen (porfirin IX), amiért 1930-ban Nobel-díjat kapott. Fisher szintázise után a porfirin előállítási módszerei jelentősen megváltoztak, több módszer ismert a makromolekulák felépítésére. Nagyon fontos, hogy a szintézist úgy

valósítsuk meg, hogy a gyűrűzáródás után is különböző szubsztituenseket tudjunk bevinni a makrociklusba. A következő 3 tényezőt kell figyelembe venni a szintézis kivitelezésében:

- a szubsztituens természete, szén vagy heteroatommal kapcsolódó csoport
- a szubsztituens pozíciója, *mezo* vagy β
- a molekula teljes szimmetriája

I.3.1. Pirrol és aldehid kondenzálása:

Mezo-tetrafenil-porfirint (leggyakrabban tanulmányozott porfirin) először Paul Rothermund^[11] állította elő 1936-ban, amikor pirrolt és formaldehidet oldott metanol és piridin elegyében, amit 24 órán keresztül főzött, végül egy sötétvörös kristályos vegyülethez jutott 0,1% kitermeléssel. Az elért hatásfok (bármilyen más aldehid alkalmazása esetén se) haladta meg a 3%-ot. Ez a szintézis alapja lett a modernebb Adler és Longo módszereknek^[12], akik megállapították, hogy a reakció savas közegben nagyobb hatásfokkal megy végbe, propionsav használatával a kitermelés 20%-al nőtt és a kívánt porfirin a reakció elegyből hűtéssel kikristályosodik.

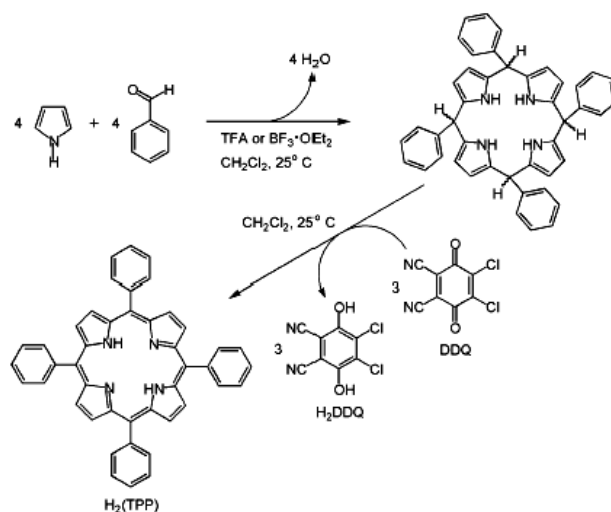


11. Ábra. *Porfirinek szintézise*

Ha oldószerként ecetsavat használtak, akkor akár 30-40%-os hatásfokot is kaptak. Ezt a módszert leggyakrabban *mezo*-szubsztituált porfirinek előállítására használják. Ez a módszer viszont számos hátrányt is rejteget: porfirin képződés során nagy mennyiségben keletkezik klorin (redukált porfirin) is, amely szennyezi a terméket, ugyanakkor ez a módszer nem alkalmazható olyan aldehidek esetében, melyek savra érzékeny funkciós csoportot tartalmaznak.

Egy másik előállítási módszert Lindsey^[13] dolgozott ki. Ő észrevette, hogy anaerob körülmények között a pirrol és az aldehid kondenzálása során porfirinogén (a) keletkezik első lépésben, így Lindsey módszere első lépésben a porfirinogén előállításán, majd ennek porfirinné oxidálásán alapszik (12. Ábra). Az oxidáláshoz többféle reagenst használhatunk, mint pl. nitrobenzolt, p-kloranilt vagy 2,3-dikloro-5,6-diciano-benzokinont (DDQ). Ez az

utóbbi reagens a termék tisztítására is alkalmas, mivel a DDQ a melléktermékként keletkezett klorint porfirinné oxidálja. A porfirinogén keletkezését, mint közbttermék, Dolphin bizonyította, izolálva a β -oktometil-mezo-tertrafenilporfirinogént.

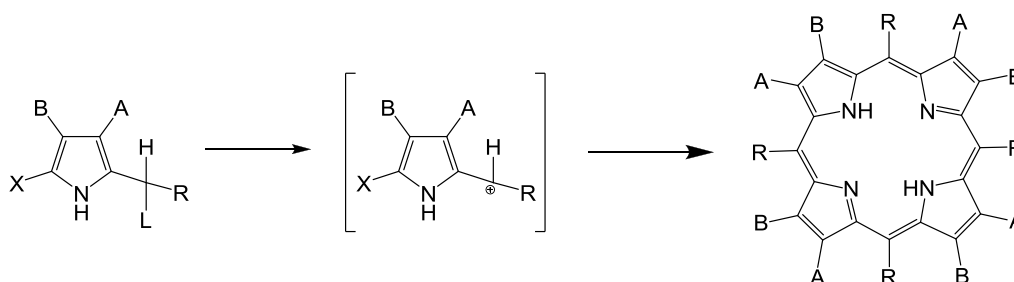


12. Ábra. Porphirinogén előállítása és oxidációja.

Az intermediér porfirinné alakulása egy több lépéses oxidációs folyamat, mely 6 elektron áthelyezését foglalja magába. A módszer előnye, hogy optimális körülmények között akár 30-40%-os hatásfok is elérhető, viszont a termék tisztítása oszlopkromatográfiás módszerrel történik, így további veszteségekre kell számítani. A módszer kitűnően alkalmazható speciális szubsztituensekkel rendelkező porfirinek előállítására.

1.3.2. 2-es helyzetben szubsztituált pirrol autokondenzációja

Ez a módszer 4 szubsztituált pirrol ciklikus kondenzációjára épül, ami savas közegben történik. A reakció hatékonysága függ a piril-karbokation stabilitásától, reaktivitásától és ennek kialakulási körülményeitől. A módszer β -szubsztituált porfirinek előállítására alkalmas, ha a pirrol 2-es vagy 5-ös pozícióban megfelelő szubsztituenst tartalmaz. A reakciónak az az egyik nagy előnye, hogy egyetlen β -szubsztituált reakcióterméket kapunk (13. Ábra)^[14]



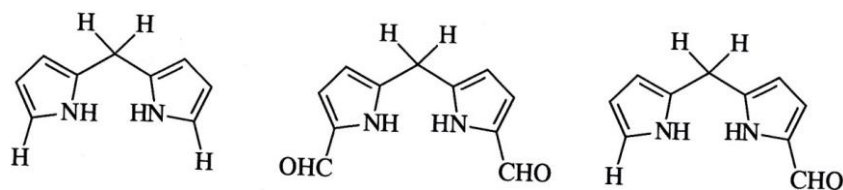
13. Ábra. 2-es helyzetben szubsztituált pirrol autokondenzációja

Ezzel a módszerrel Krol 5% hatásfokkal állított elő porfirineket kálium-perszulfátban és jégecetben, 60°C-on tartva a reakciót. Longo és kutatótársai etilbeznolban végezték a reakciót 11 napon keresztül 100°C-on, ők 18%-os hatásfokot értek el.

1.3.3. Dipirrol-intermedierek csatolása

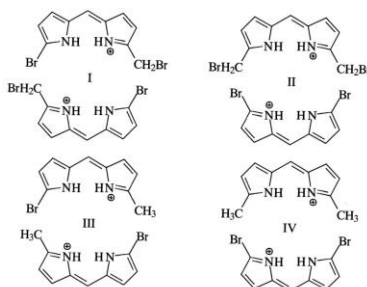
A retroszintetikus analízis alapján három típusú pirrolt különböztetünk meg, amely alkalmas porfirinek szintézisére: monopirrolokat, illetve dipirrolos- és lineáris tetrapirrolos rendszerek alkalmazhatók. Ahhoz, hogy ezekből a molekulákból makrociklus legyen, az szükséges, hogy a β pozícióban lévő szubsztituensek ne befolyásolják a fragmentum reaktivitását.^[15]

A dipirrolos szerkezetű anyagoknál beszélhetünk dipirometánokról, illetve dipirometénekről. Az előbbieket 2 pirrol egységet egy metilén-híd köt össze. Ezek reaktivitása nagyon hasonló a monopirrolokéhoz, a *mezo*-formilezett dipirometánok egyik fontos kiindulási anyagai a porfirineknek (14. Ábra)



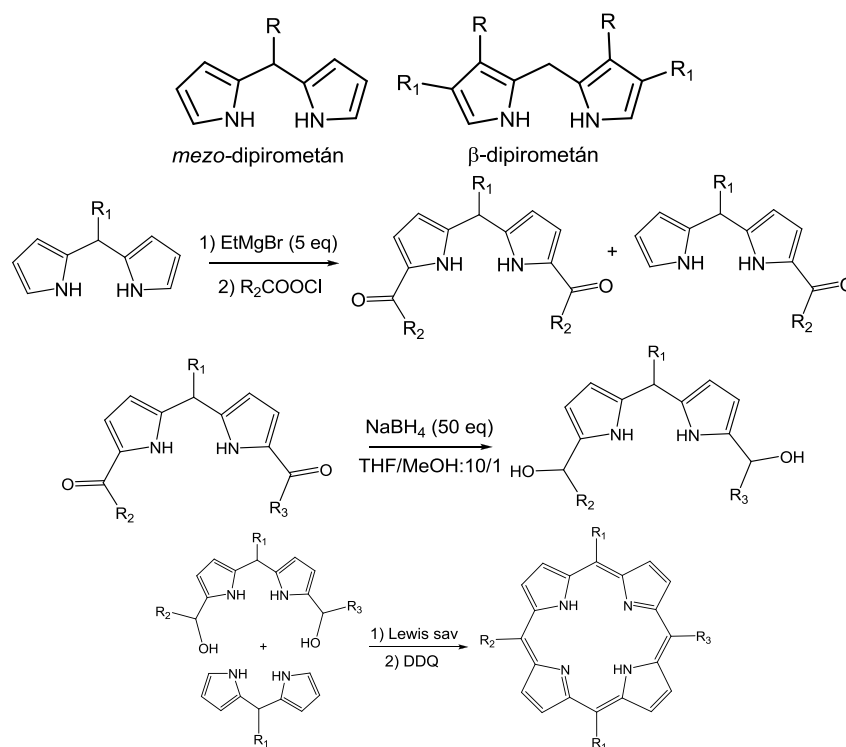
14. Ábra. Mono, di- és szabad dipirometánok

A dipirometének esetében a 2 pirrol között metin-híd teremt kapcsolatot, nevezhetjük a dipirometán oxidált formájának is. Ezek és analóg funkciós csoportjaik stabilabbak protonált formában. Négy féle dipirometén ismert, melyekkel kapcsolási reakciókat végeztek, ezek esetében is *mezo* pozícióban metil-vagy metil-bromid csoportot tartalmaznak (15. Ábra)



15. Ábra *Mezo*-pozícióba szubsztituált dipirometének.

A „2+2” típusú porfirinek előállításához olyan dipirrolos molekulákat alkalmaznak intermediereként, melyek α helyzetben funkciós csoportokat tartalmaztak, így a terméket egy négy lépéses reakció végén kapjuk meg. Az első lépésben dipirometánt állítunk elő pirrol és különböző aldehidek Lewis savak által katalizált reakcióiban. Továbbá a második lépésben szimmetrikus vagy aszimmetrikus diacil-dipirometánná alakítjuk a kapott reakcióterméket, majd ezt a harmadik lépésben dipirometán-dikarbinollá redukáljuk ahhoz, hogy ehhez a negyedik lépésben dipirometánt kondenzálva, majd oxidálva porfirinné alakítsunk (16. Ábra)

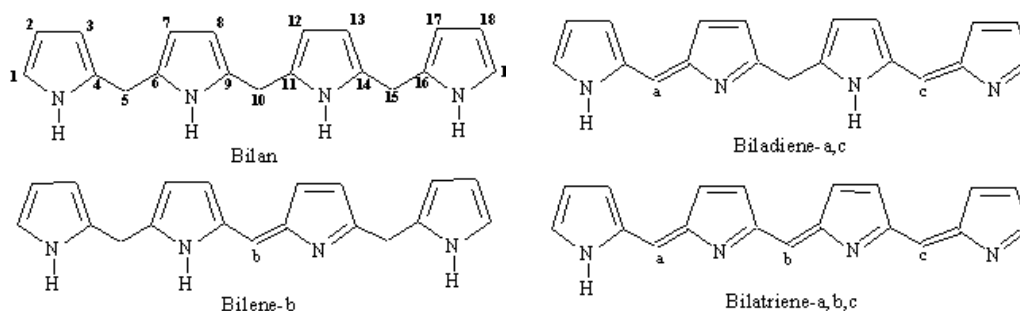


16. Ábra. 2+2 porfirin szintézis

A dipirrol intermedierek kapcsolásával nagyobb hatásfokot érhetünk el, mint a klasszikusabb pirrol és aldehides reakciók esetén, ennek ellenére ezt a módszert ritkábban használják, mivel több lépéses reakciót igényel, ami bonyolultabb folyamatot eredményez.

I.3.4. Lineáris tetrapirrolok ciklizálása

Fontos megemlíteni, hogy β pozícióban aszimmetrikusan szubsztituált porfirinek nagy kitermeléssel főleg lineáris tetrapirrolok ciklizálásával állítanak elő. Ehhez a szintézishez leginkább a *b*, illetve az *ac* típusú molekulákat alkalmazzák (17. Ábra)

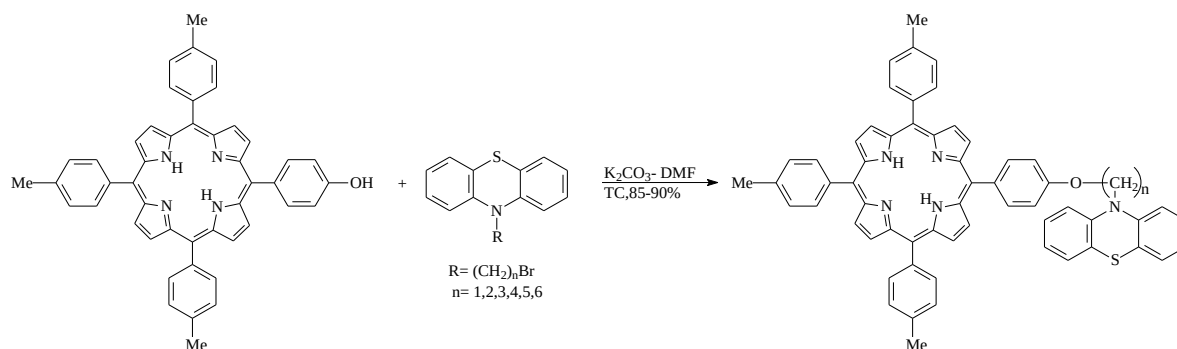


17. Ábra. Lineáris tetrapirrolok

A tetrapirrolok stabilitása az 5, 10 és 15-ös szénatomokhoz bevitt kettőskötésekkel növelhető.

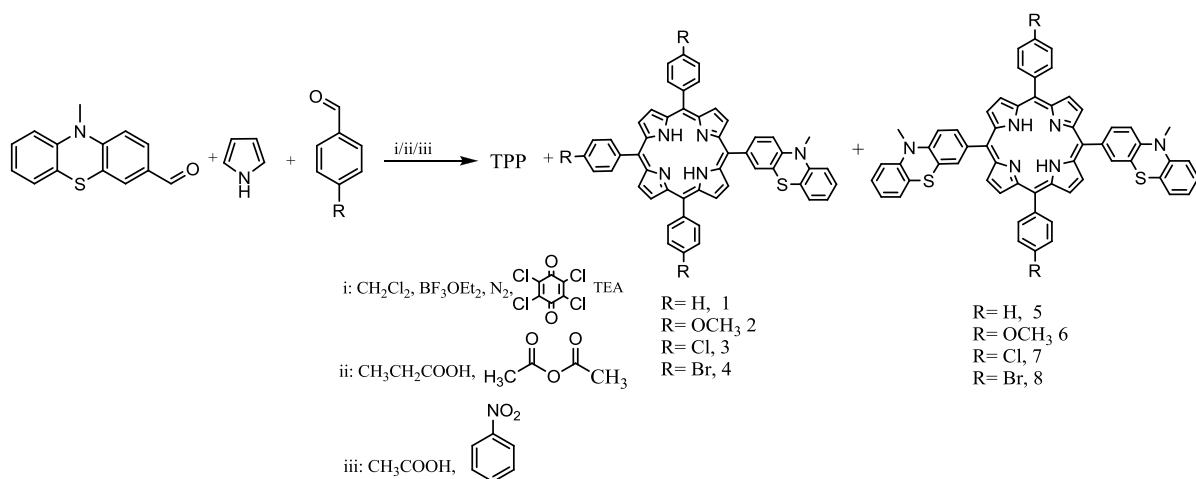
I.3.5. Fenotiazint tartalmazó porfirin származékok

Goverdhan M. és munkatársai olyan molekulákat állítottak elő, mely porfirinből és egy olyan elemből állnak, ami kötődhet a DNS-hez. Ők (4-hidroxifenil)-10, 15, 20-tri(p-tolil)porfirin-ből és bromo-alkil fenotiazinból indultak ki (18.Ábra).^[16]



18.Ábra. Fenotiazinil-porfirinek előállítása

Gál és munkatársai új kromofor felépítésű porfirinek előállítását valósították meg, fenotiazin és különböző aromás szubsztituensek segítségével, melyek a porfirin gyűrű *meso* pozíciójába kapcsolódnak be (fenothiazinil A₄, fenothiazinil és (hetero)aril: AB₃ trans-A₂B₂ és A₃B). Ezen anyagok optikai tulajdonságait UV-Vis spektroszkópiával vizsgálták, mely eredmények szerint az abszorpciós maximum 420nm körül volt (Soret sáv) 105 M⁻¹cm⁻¹ moláros abszorbtivitással. Az emisszió nagy Stokes sáv eltolódást mutatott (3800-4500 cm⁻¹) és a fluoreszcens kvantumhatásfok 0.01 és 0.06 között volt. Ezek után a *meso*-fenotiazinil-porfirineket fotoszenszibilizátorként próbálták ki: *in vitro* sugároztak két emberi bőr sejtvonalat (HaCaT and A431) vörös illetve kék fénnel (19. Ábra).



19. Ábra. Fenotiazinil porfirinek előállítása.

I.4. Porfirinek felhasználása

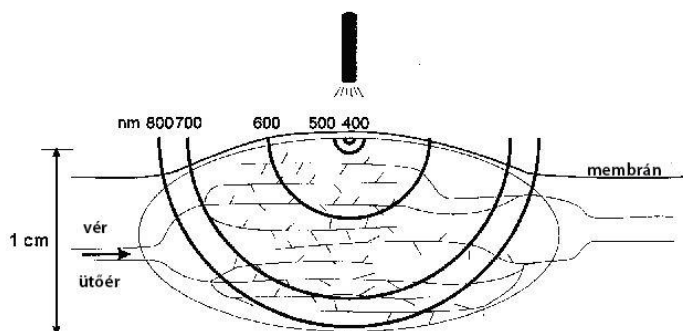
A porfirinek egy olyan egyedülálló osztályt alkotnak, melyek szinte mindenütt megtalálhatóak a természetben és számos funkciójuk van, többek között részt vesznek az oxigén szállításában, az elektron átadásban, illetve a fotoszintézis folyamatában, ugyanakkor néhány reakcióban katalizátorként is alkalmasak. A porfirinek ez utóbbi csoportját a biomimetikus fém-porfirinek alkotják, melyek különböző oxidálási, régiószelektív vagy akár enantiomérszelektív epoxidálási reakciókat katalizálnak, királis porfirinek használata esetén. Az első biomimetikus fém-porfirin katalizátorokat a citokróm P450 és a lignin peroxidáz molekulák modelljét követve alakították ki. Habár az organizmusok gyakran egy enzimnek csak egy szubsztrátumát mutatják, ezek nagyon sokféle képpen modelálhatók egy enzim divergens formájából (pl. A P450-es enzimnek több mint 150 formája ismert).

Egy másik fontos felhasználási terület a fotokémiai úton indukált elektron-átviteli folyamat modellezése (hasonlóan a fotoszintézis első szakaszához). Jelentős kutatási és alkalmazási területei közé tartozik a napcellák készítése, félvezetők gyártása, a nemlineáris optika és a nanoanyagok tanulmányozásában^[17], valamint a rákos sejtek pusztítása (fotodinamikus terápia).

I.4.1. Porfirinek felhasználása a gyógyászatban

A porfirineknek fontos szerepük van a gyógyászatban, különösképpen a rákos sejtek pusztításában. Az ezzel kapcsolatos kutatások az 1900-as évek elején kezdődtek, amikor is

Tappenheimer és munkatársa észrevették, hogy bizonyos festékekkel (pl. akridin, eozin) megfestett baktériumtenyészetek elpusztultak, ha jelentős intenzitású fény éri őket. Az UV sugarak sejtpusztító hatása akkor már ismert volt, az igazi újdonságot az jelentette, hogy megfelelő festékanyagok jelenlétében a látható hullámhosszúságú fény is képes volt sejthalál előidézésére, ugyanakkor ez a fény ártalmatlan az élő szervezetekre. 1925-ben Policard és kutató csoportja tanulmányozni kezdték, a porfirinek citotoxicitását, Lipson 1960-as években tanulmányozta a hatóanyag felhalmozódást illetve a fluorescenciás besugárzásból eredő melléktermékeket rákos egerek és patakonyokon. 1980-es években QLT PhotoTherapeutics Inc. kifejlesztették a Photofrin[®] gyógyszert, amely hematoporphirin oligomerből áll. A legnagyobb abszorpciós hullámhossza a hatóanyagnak, amelyen aktiválni lehet 630nm (20. Ábra). A fotodinamikus terápia-PDT egy non-invazív technika, amely különböző bőrbetegségek kezelésére alkalmas. Ilyenek például a már említett rákos elváltozások (bőrrák), de napjainkban egyre szélesebb körben alkalmazzák kozmetikai célokra is (a bőr megfiatalítására).



20. Ábra. Hullámhossz függése a behatolás mélységétől a tumor szövetben szövetmélységtől.



21. Ábra. PDT idealizált hatásmechanizmusa

A fotoszenszibilizátort a páciensnek adminisztrálják (21. Ábra) (1-2), amely felhalmozódik a rákos szövetben (3). Az érintett területre egy gondosan kiszámolt fény-dózist alkalmaznak, amely elég erős a tumor sejtek elpusztításához nagy koncentrációjú fotoszenzibilizátorokkal, de elég gyenge ahhoz, hogy az egészséges szövetet megkímélje a káros hatástól. Az így besugározott fény aktiválja a hatóanyagot. A kezelést követően a rákos sejt elhal, ezt később körbeveszik az egészséges szövetek. A módszer nagy előnye az, hogy duplán szelektív: egyrészt a gyógyszer a daganatban specifikusan halmozódik fel, másrészt a fényforrást könnyen lehet arra a területre irányítani, ahol sugárzás aktiválja a hatóanyagot.

I.4.2. Porfirinek hatása a DNS lánkra

Robert J. Fiel és munkatársai vizsgálataiban, különböző hematoporfirin származékoknak (*meso*-tetra(p-szulfonatofenil)-porfirin, *meso*-tetra(p-karboxifenil)-porfirin, és *meso*-tetra(4-A/-metilpiridil)-porfirin) fényérzékeny hatását tanulmányozták, ColE1 szupertekert DNS mintákon agaróz gél-elektroforézis segítségével. Fény hatására semleges körülmények között az ssDNS (egyszeresen tekert DNS) és dsDNS (duplán felcsavarodott DNS) láncok szakadását figyelték meg. Kimutatták, hogy a szingulett oxigén jelenléte okozza az elváltozásokat az első két hematoporfirin esetén, de ugyanakkor jelentős szerepet játszott a *meso*-tetra(4-A/-metilpiridil)-porfirin esetében is. Az eredmények arra utalnak, hogy a fotodinamikus daganat kezelést fotokemoterápia és fluoreszcens endoszkópia kísérhet, mely eljárások porfirines fotoszenszibilizátorok segítségével mennek végbe.^[18]

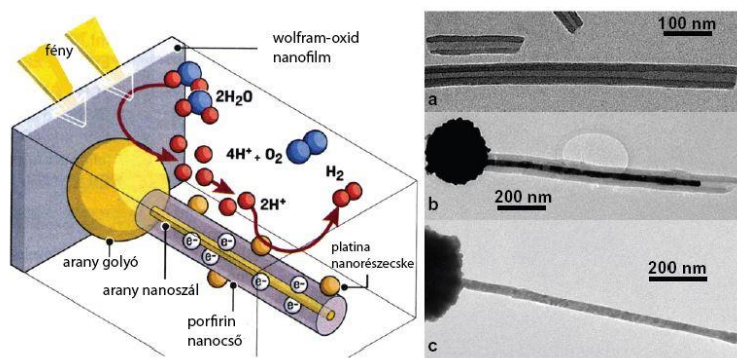
Gutter és munkatársai^[19] a DNS hematoporfirinek által történő fotodinamikus elváltozását vizsgálták, azt észlelték, hogy ha a DNS-t látható fénnel (300-750 nm) világítják meg hematoporfirinek (5×10^{-4} M) jelenlétében, akkor ez a guanin szelektív degradációját okozza, amint ezt a DNS olvadási hőmérséklete mutatta. Ugyanakkor ssDNS szakadásokat is találtak, amiket másodlagosnak feltételeztek a guanin fotodinamikus degradációjában. Boye és Moan kimutatták, hogy a *in vitro* és *Escherichia coli* sejtekben a DNS elváltozása 365nm hullámhosszú fényintenzitás mellett történik 1×10^{-5} M hematoporfirin használatával. A lánctöréseket lúgos körülmények között észlelték szacharóz sűrűség-gradiens technika alkalmazásával, de semleges körülmények között az eredmény nem volt reprodukálható.^[20]

Calf thymus, borjú agyalapi mirigyből kivont DNS, szupramolekuláris tetraruténiumos zink-porfirin (ZnTRP) jelenlétében történő fotooxidációja során azt figyelték meg, hogy erős

kölcsönhatás jön létre a ZnTRP és a DNS között, ahol magasabb DNS koncentráció esetén nagyobb az elektrosztatikus kötés erőssége. [21]

I.4.3. Porfirin alapú nanoszerkezetek alkalmazása

A Sandia nemzetközi laboratóriumokban porfirinekből álló nanostruktúrákat fedeztek fel, ezeknek fontos szerepük van katalitikus reakciókban, mint pl. a víz fotokatalitikus bontásában (22. Ábra), melynek eredményeként hidrogén üzemanyagot állíthatunk elő. Egy másik, nem teljesen feltárt területe ezeknek a multifunkcionális nanoszerkezeteknek a nanoelektronikában és nanofotonikában fejleszthető ki, aminek alapját a porfirin kristályok és aggregátumok korábbi kutatások során felfedezett vezető illetve félvezető tulajdonsága képezi. Továbbá fényvezető és látható fénnel szembeni nem-liniáris optikai tulajdonságai is ismertek a porfiringyűrűt tartalmazó anyagoknak. Ugyanakkor olyan porfirin nanocsöveket, melyek arany nanoszálakat illetve cső külső felületén platina részecskéket tartalmaznak, víz fotokatalitikus bontásában vizsgálják, melynek eredményeképpen napenergia segítségével oxigént és hidrogént állíthatunk elő. Az alábbi ábra ezt a nanoeszközt illusztrálja, melyet vízmolekulák hasítására használnak, illetve egy transzmissziós elektronmikroszkópos képet azokról az arany nanoszálakról, melyeket a nanocsőbe növesztettek.



22. Ábra. *Víz fotokatalitikus bontása a porfirin nano-szerkezeten, a) a nano-cső TEM felvétele, b) egy arany nanoszál növekedése a porfirin nanocső belsejében, c) egy szabad arany nanoszál a porfirin nanocső feloldása után.*

II. A fenotiazin funkcionálizálása

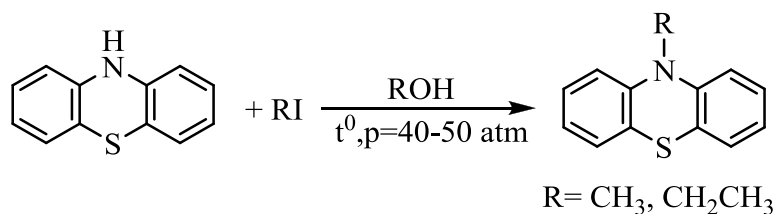
A fenotiazint A.Berthsen állította elő 1885-ben, ez a vegyület alapjául szolgál különböző gyógyszereknek, festékanyagoknak illetve polimereknek.

Akil-láncok vagy alkil-aminok bevitelle a fenotiazin nitrogén atomjára (a malária ellenes szerekhez analóg módon) biológiailag aktív anyagokat eredményez. Az 1950-es években több ilyen biológiailag aktív anyagot állítottak elő, többek között a prometazint (Phenegan), mely egy hisztaminellenes szer, illetve a dietazint, melyet Parkinson-os betegek esetén használtak.

Az utóbbi 10 évben számos kutatást végeztek hosszú láncot tartalmazó N-alkil-fenotiazinokól^[22,23,24]. Ezek oldatban micellákat képeznek, melyek segítségével lehetővé válhat a fotoszintézis modellezése ezen molekulák fényenergiagyűjtő képességük miatt.

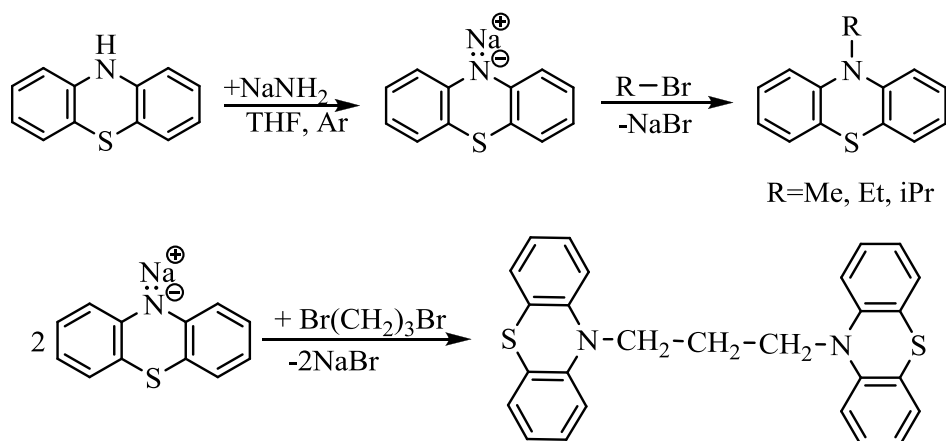
Az alábbiakban N-alkilezési módszereket és a fenotiazin funkcionálizálását láthatjuk, mely következtében mono-vagy polifunkcionális makroheterociklusok alakulnak ki.

A fenotiazinok első N-alkilezési reakcióit Bernthsen végezte el, ő alkilezési ágensnek metanolt illetve etanolt használt, így 10-metil-, és 10-etil-fenotiazint kapott termékként. Az egyszerűségének és hatékonyságának köszönhetően ennek a módszernek egy módosított változatát mai napig is használják 10-metil-fenotiazin előállítására érdekében, ennek maximális hatásfoka 90%-ot is elérhet. Kezdetben a reakcióhoz alkohol elegyet, alkil-halogenidet és fenotiazint melegítettek zárt lombikban 110-115°C-on. Észrevették, hogy ha nagy nyomáson dolgoznak (pl. autoklávban), a hatásfok etil-jodid esetében 50-70%-ra emelkedik, metil-jodid illetve metanol esetében pedig elérheti a 87-89%-ot is (23. Ábra).^[25]



23. Ábra. Fenotiazin alikilezése alkohol jelenlétében.

Alkil halogenidekkel történő N-alkilezés esetén általában bázikus közegben (KOH, NaNH₂ vagy NaH) dolgozunk. KOH illetve DMF oldószerekben a hatásfok 20% alá csökkent, ezért NaNH₂ és THF oldószerben végezzük a reakciót.

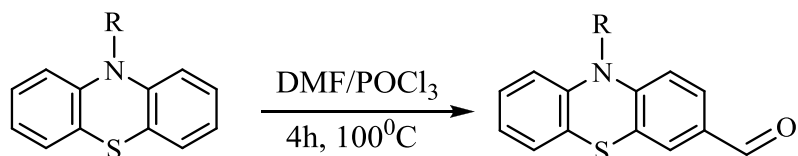


24. Ábra. Fenotiazin alkilezése nátrium amid jelenlétében.

Abban az esetben, ha nátrium-amiddal vagy nátrium-hidroxiddal dolgozunk, a reakció első lépésében 10-Na-fenotiazin só keletkezik, mely könnyen reakcióba lép alkil-jodidokkal, így jó hatásfokkal kapunk 10-alkil-fenotiazinokat. Oldószerként ez esetben benzolt, THF-t vagy DMF-ot alkalmazhatunk. Egy modernebb módszer az alkilezésre, fázistranszferen alapszik, melynek eredménye úgyszintén a fenotiazin Na-sója, mely könnyen reagál alkil-bromiddal. A fázistranszfer két, nem elegyedő, szerves és vízes fázis között megy végbe. A fenotiazint feloldjuk egy szerves oldószerben (általában toluol, benzol, diklórmétán vagy metil-izobutilketon). A fenotiazin mellé a rendszerbe alkilező ágenszt is teszünk, ami általában olyan alkil-bromid, mely oldódik a szerves oldószerben. A vízes fázis nátrium- vagy kálium-hidroxidot tartalmaz, ez biztosítja a fémiont, amely szükséges a reakció végbemeneteléhez. A fémion vízes fázisból szerves fázisba való átmenetét fáziskatalizátorral segítjük, erre a célra általában a TBAB-ot (tetrabutil-ammonium-bromid) használunk. A módszer előnye az, hogy nincs szükség vizmentes oldószerre, mivel a fázisok egyike maga a víz.

Hátrányt jelent viszont a csökkentett reakciósebesség, mivel egy jó konverzió eléréséhez a reakcióidő az alkil-bromidtól függően lehet 24, 72 vagy akár 168 óra is. Fázistranszfert használva az alkil-bromidok jobb reakcióhozamot nyújtanak a jód- illetve klór származékokkal szemben. Ezek a reakciók dihalogén alkiláncokkal is elvégezhetők, ennek eredményeként bis-N-fenotiazinil-alkileket nyerünk.

A fenotiazin formilezése direkt módon Vilsmeier-Haack reakció alapján történik ^[26], vagy indirekt módon lítium-organikus vegyületek segítségével, melyek DMF jelenlétében formilekké alakulnak, az utóbbi módszer viszont a fenotiazin komplexálását eredményezi. A Vilsmeier-Haack reakciót először a 10-metil-fenotiazin előállítására használta Buu-Hoï és Hoán, akik 3-formil-10-metil-fenotiazint nyertek $\eta > 50\%$ -os hatásfokkal. ^[27]



25 Ábra. Vilsmeier-Haack formilezés

A fenotiazinok N-alkilezése DMF és foszfor-oxoklorid jelenlétében mindig a heterociklusban lévő N-atomhoz képest *para* helyzetben fog történni, függetlenül attól, ha a fenotizin bármely C-atomjához kapcsolódik valamilyen alkil csoport.

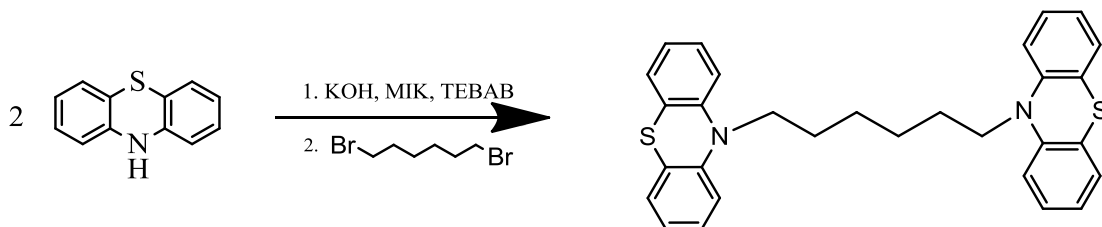
III. Gyakorlati rész

III.1. Alapanyagok előállítása:

III.1.1. 1,6-bis-fenotiazin-hexán (BFH) előállítása:

A vegyület előállítása a következő recept szerint történt (26. ábra) :

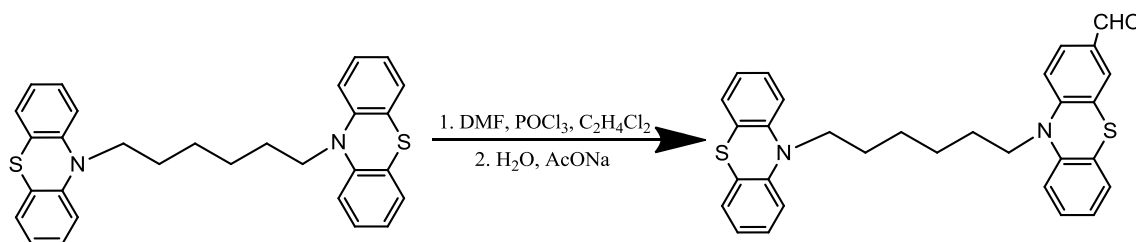
0,1 mól fenotiazinhoz 0,16 mól metil-izobutil-ketont (MIK) adagolunk, ezt egy 250 ml-es gömblombikban mágneses keverőn szobahőmérsékleten kevertetjük. Ehhez 2 mól NaOH tömény vizes oldatát adagoljuk, majd 1,55 mmól tetrabutil-ammonium-bromid fáziskatalizátort öntünk hozzá (TEBAB), ezután a lombikot 30 percig vízhűtés alatt keverjük (amíg az oldat sötét-zöld színű lesz). Ezek után 0,05 mól 1,6-dibromhexánt adagolunk a lombikba, amit 24 órán keresztül refluxáltatunk olajfürdőn 118°C-on (MIK forráspontja). Az anyagot 50ml etanollal kristályosítjuk (5 percig főzzük, hogy ne szakadjon el a molekula), majd forrón vákuum alatt leszűrjük.



26. Ábra. 1,6-bis-fenotiazin-hexán előállítása

III.1.2. 1,6-bis-fenotiazin-hexán formilezése:

A vegyület előállítása Vilsmeier-Haack formilezéssel történt (20. ábra), jégfürdőn 30 percig keverjük foszfor-oxoklorid (0,012 mól) és dimetil-formamid (DMF, 0,012 mól) elegyét majd 0,01 mól BFH-t adjuk hozzá 1,2-diklór-etán oldószerbe oldva, melyet 84°C-on 5 órán keresztül folyamatos keverés mellett refluxálunk. Kicsapás, extrahálás és oszlopkromatográfián való tisztítás után megkapjuk a citromsárga formilt.



27. Ábra. 1,6-bis-fenotiazin-hexán formilezése

III.2. Porfirinek szintézise:

A kutatás során *mezo* helyzetben szubsztituált vegyes tetraaril-porfirineket állítottam elő Adler-Longo módszerrel, aldehideket kondenzálva pirrollal savas közegben. A végtermék egy többlépéses folyamat eredménye, a porfirineket kondenzációs és oxidációs lépések után kapjuk meg. Az aldehid és a pirrol reakciója tetrapirimetánt eredményez, amely megfelelő körülmények között porfirinogénné ciklizálódik. Ebből oxidálószer hatására az utolsó lépésben porfirin keletkezik.

A porfirinek előállítására az Adler-Longo^[12] módszert használtuk, ugyanis mind gazdasági (minimális vegyszer szükséglet), mind kitermelés szempontjából ez bizonyult a legelőnyösebbnek a többi szintézis módszerrel szemben.

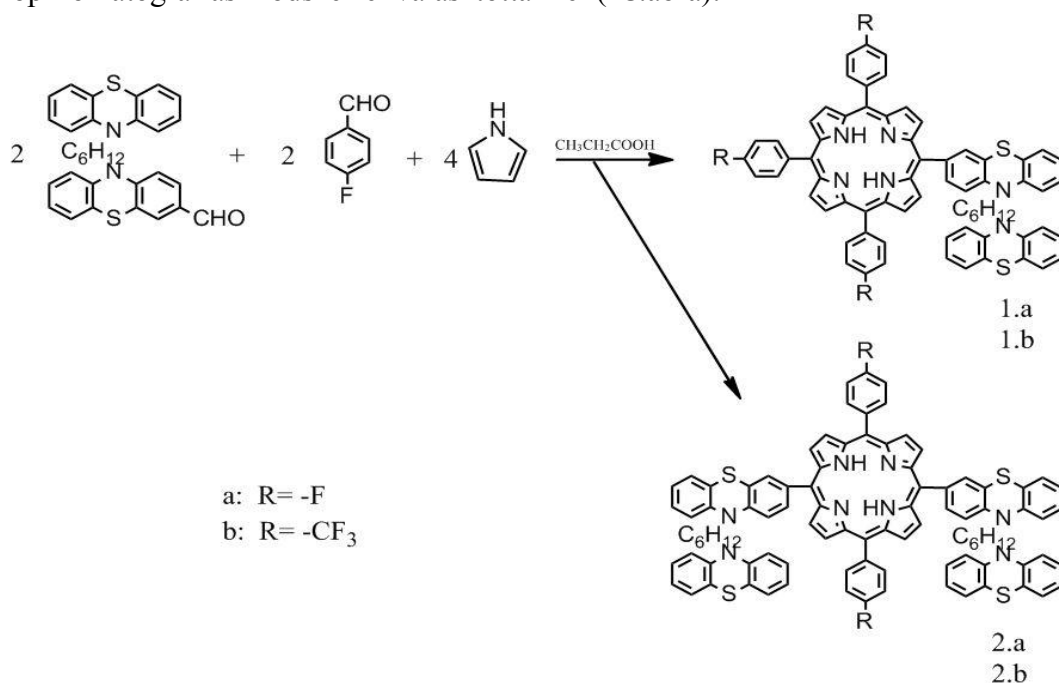
A gyártás során propionsavhoz ecetsavanhidridet adagoltam, melynek szerepe, hogy elvonja az esetleges vizet a savból, ugyanakkor azt a mennyiséget is, ami a reakció során keletkezik, mivel ez negatívan befolyásolja a termék képződését. Az így kapott elegyet kb. 30 percen keresztül kevertettem és 100°C-on melegítettem. Ezután hozzáadtam a kiinduló anyagokat (pirrol + 4-fluoro/4-trifluorometán benzaldehidet) sztöchiometriai arányban, és 4 órán keresztül 120 °C-on refluxáltattam.

A reakció lefolyása után a kapott reakcióelegyet bepároltam, annak érdekében, hogy eltávolítsuk az oldószert. A bepárlás után a lombikba maradó termékhez diklórmétánt (100ml) adtam leszűrtem, melynek során a számomra hasznos termék a szűrőn marad, míg a melléktermékek és a szennyeződések az anyalúgba kerülnek. Az anyalúgot ledesztilláltam

annak érdekében, hogy a diklórmétánt visszanyerjem. A szűrőn maradó terméket tovább mostam (szintén diklórmétánnal), azért, hogy eltávolítsam a még benne maradó szennyeződések és így nagyobb tisztasági fokot érjek el.

III.2.1. A_2B_2 és AB_3 típusú porfirinek szintézise:

A vegyes típusú porfirinek előállítása szintén az Adler-Longo módszer alapján történt, propionsavas oldószerben. A különböző származékok előállításához eltérő aldehidet használtam: az **1.a** illetve **2.a** porfirint *para*-fluóro-benzaldehid segítségével nyertem, míg az **1.b** és **2.b** származékhoz 4-(trifluórmétán)-benzaldehyd volt szükséges. A reakció lezajlását vékonyréteg kromatográfián követtem, majd a keletkezett porfirin származékokat oszlopkromatográfiás módszerrel választottam el (28.ábra):

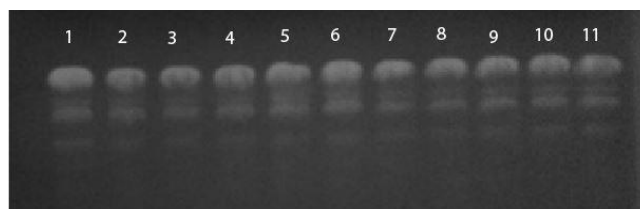


28. Ábra. Porphirin származékok előállítási reakciója

III. 3. Az előállított anyagok szerkezetvizsgálata

III.3.1. DNS-porfirin kölcsönhatás tanulmányozása

Az **1.a.** porfirin-DNS kölcsönhatását vizsgáltuk agaróz gél-elektroforézis segítségével (29.ábra).



29.Ábra. Agaróz gél-elektroforézis

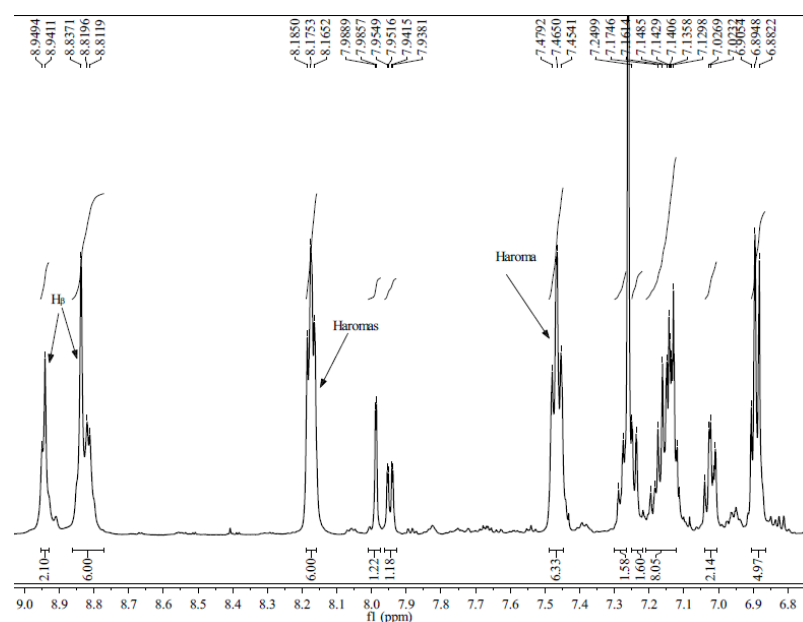
- | | |
|------------------------|---|
| 1- DNS | 7- 2 ml 1a + 10 ml DNS + 10 min UV-Vis |
| 2- 2 ml 1a + 10 ml DNS | 8- 4 ml 1a + 10 ml DNS + 10 min UV-Vis |
| 3- 4 ml 1a + 10 ml DNS | 9- 6 ml 1a + 10 ml DNS + 10 min UV-Vis |
| 4- 6 ml 1a + 10 ml DNS | 10- 8 ml 1a + 10 ml DNS + 10 min UV-Vis |
| 5- 8 ml 1a + 10 ml DNS | 11- DNS |
| 6- DNS -UV | |

Az *E. Coli*-ból nyert plazmid DNS-t tartalmazó oldatot (380ng/ml) összekevertük a DMSO-ban feloldott **1.a.** porfirint (a kapott oldat 5µg/ml koncentrációjú) a fent felsorolt mennyiségekkel, 10xTAE buffer oldatot használva illetve bromfenol-kék festéket, agaróz gélelektroforézist végeztünk el. A vizualizálás etidium-bromid fürdőben majd UV lámpa segítségével történt. Az eredmény azt mutatja, hogy az **1.a.** anyag, sem UV fény hatására sem normál körülmények között nem roncsolja a DNS láncot.

III.3.2. NMR és HRMS spektrometriás mérések

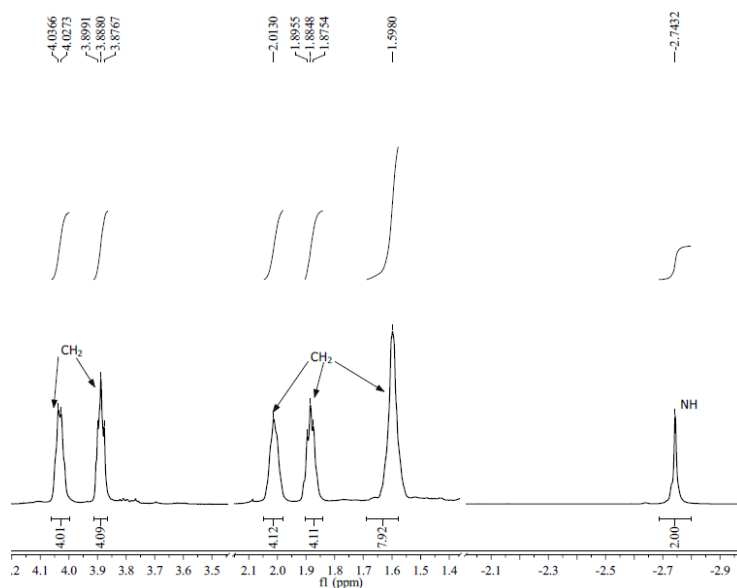
Az előállított vegyületek szerkezetvizsgálata NMR, mono-, és kétdimenziós (^1H , ^{13}C , COSY, HMQC), UV-Vis, fluoreszcencia- illetve tömegspektroszkópiás (HRMS) módszerekkel történt.

Az **1.a.** vegyület NMR spektrumában megfigyelhető a porfirin gyűrűben található protonok jele -2,8 ppm-nél van, az aromás részében megtalálhatóak a porfirin váz β -pozíciójában található protonok, mivel a vegyület nem szimmetrikus, két különböző jelet kapunk, a nagyobb eltolodást a fenotiazin mellett található pirrol protonok adják 8,9ppm-nél, illetve 6 protonnak megfelelő jelet 8,8ppm-nél a többi proton a pirrol gyűrűkről (30.Ábra).

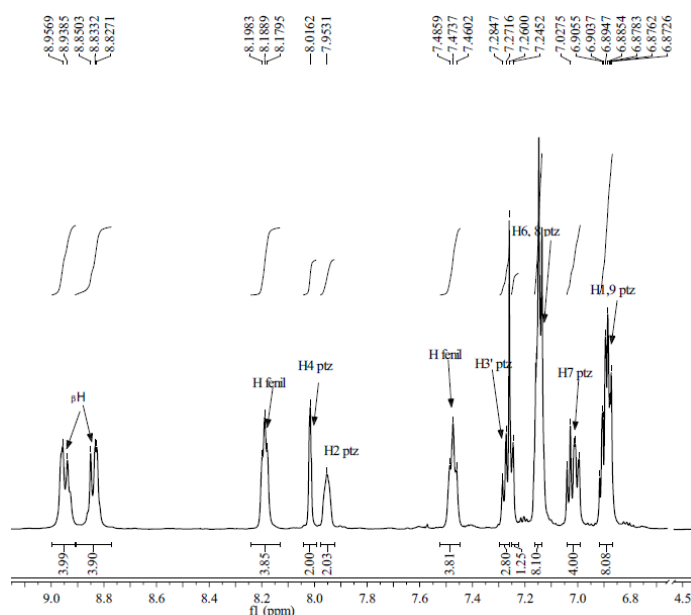


30.Ábra. **1.a.** vegyület ^1H NMR spektruma aromás rész, CDCl_3 , 600MHz.

A **2.a.** vegyület NMR spektrumában -2,74ppm-nél találjuk a porfirin gyűrűben lévő 2H, amely egy szingletet ad. Mivel ebben az esetben a szerkezetünk szimmetrikus a β -pozícióban lévő 8 proton 2 dubletet ad 8,9ppm-nél, a csatolási állandója 11Hz. Az alifás részében találjuk a hexil lánc jeleit, a két nitrogén atomhoz kapcsolódó CH_2 , dezekranáltabb, 4ppm-nél található (31a. b. Ábra).

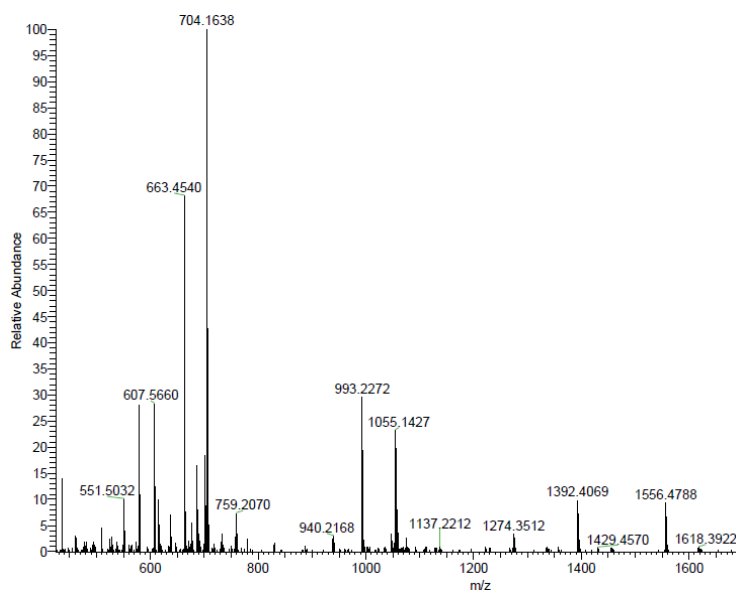


30.a.Ábra. **2.a.** ^1H NMR spektruma alifás rész, CDCl_3 , 600MHz.



30.b.Ábra. **2.a.** ^1H NMR spektruma aromás rész, CDCl_3 , 600MHz.

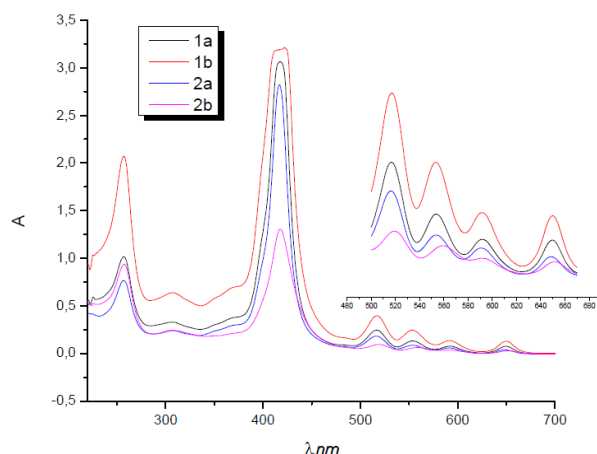
Az előállított vegyületek szerkezetét igazoltuk az NMR-en kívül, nagyfelbontású tömegspektrometriával is (ESI ionizációs technikával). Minden vegyület spektrumában megtalálható a molekuláris csúcs (31. Ábra), illetve a fenil gyűrű leszakadásával keletkező fragmentumok is.



31. Ábra. **2.b.** vegyület HRMS spektruma.

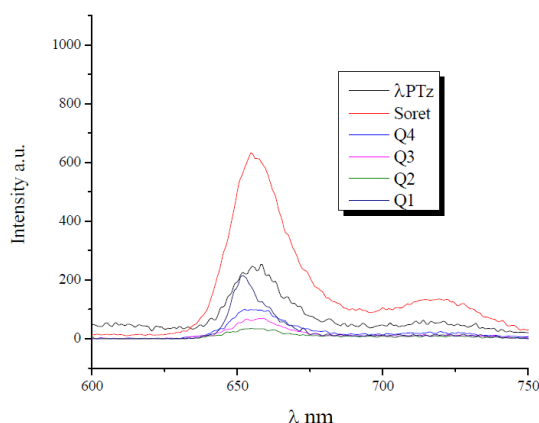
III.3.3. UV-Vis és fluoreszcenciás mérések

Az UV-Vis méréseket diklorometánban végeztük. A 32. ábrán látható a négy előállított porfirin származék UV-Vis spektruma, a legintenzívebb sáv a Soret sáv, 417nm, illetve a molekulában található fenotiazin rész abszorpciós sávja látható 257nm. Emellett megtalálható mind a négy Q sáv.

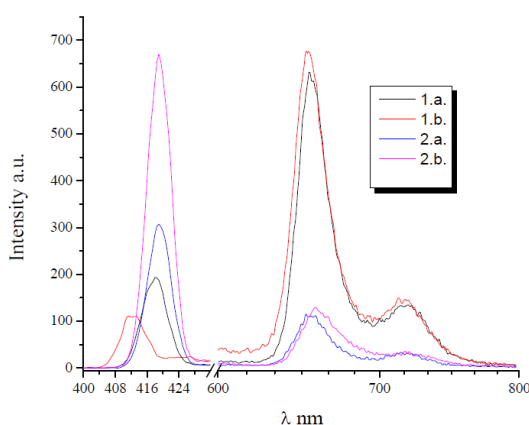


32. Ábra. **1.a, 2.a, 1.b, 2.b** porfirinek UV-Vis spektruma.

Az emissziós spektrumban mind a 6 abszorpciós sávon excitáltuk az anyagot, és azt észleltük, hogy minden esetben az emisszió ugyanabban a tartományban jelentkezik, különböző intenzitással (33.a Ábra). Az emisszió nagy Stokes eltolódást mutat, a szimmetrikusan szubsztituált porfirinek emissziója kisebb mint az asszimmetrikus porfirinek esetében (33.b. Ábra).



33.a.Ábra **1.a**, porfirin emissziós spektruma.



33.b. Ábra **1.a, 2.a, 1.b, 2.b** Soret sávon excitált emissziós spektruma

A mérések során az figyelhető meg, hogy az abszorpciós maximumok szinte egyforma hullámhossz értékeknél jelennek meg, ami azzal magyarázható, hogy a négy molekula szerkezetében csak minimális az eltérés. Látható, hogy mind a négy esetben batokróom eltolódás lép fel. Ugyanakkor megfigyelhető, hogy az előállított vegyületek nagy moláris abszorptivitással (ϵ) rendelkeznek (1.táblázat).

1. Táblázat. *Porfirinek optikai tulajdonságai*

Anyag	λ_{PTZ} [nm]	λ_{Soret}^a [nm]	λ_{Q1} [nm]	λ_{Q2} [nm]	λ_{Q3} [nm]	λ_{Q4} [nm]	ϵ	$\lambda_{emissió}$ [nm]	Stokes eltolódás ^b
1.a	257	417	650	592	554	517	34354	655	8714
2.a	257	414	650	592	553	517	50198	654	8864
1.b	257	419	649	590	554	516	46509	655	8599
2.b	257	417	652	592	559	519	38143	659	8806

a-a moláris abszorptivitás a Soret sávra számolva

b-a Stokes eltolódás a Soret sávval számolva

IV. Kísérleti rész:

1,6-bis-fenotiazinil-hexán (BFH) előállítása:

20 g fenotiazinhoz 20 ml metil-izobutil-ketont (MIK) adagolunk. Ehhez 80g NaOH tömény, vizes oldatát, majd 0.5g TEBAB, 30 percig vízhűtés alatt keverjük (amíg az oldat sötét-zöld színű lesz), majd 7,7 ml 1,6-dibromhexánt adagolunk a lombikba, amit 24 órán keresztül főzünk olajfürdőn 118°C-on (MIK forráspontja). A leszűrt anyagot etanollal átkristályosítottuk, majd szűrtük. Az 1,6-bis-fenotiazinil-hexánt így 63,5%-os hatásfokkal tudtuk előállítani, o.p.=144°C.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1,45ppm (m, 4H, H_c); 1,78ppm (m, 4H, H_b); 3,81ppm (t, 4H, ³J= 7,2Hz, H_a); 6,82ppm (d, 2H, ³J_{orto}= 8,4Hz, H₁); 6,90ppm (t, 2H, H₃); 7,12ppm (d, 2H, ³J_{orto}= 7,6Hz, H₄); 7,13ppm (t, 2H, H₂).

¹³C-NMR, (125MHz, CDCl₃) δ (ppm): 26,5ppm (CH₂, C_c); 26,7ppm (CH₂, C_b); 47,1ppm (CH₂, C_a); 115,5ppm (CH, C₁); 122,4 (CH, C₃); 125,0ppm (Cq, C_{4a}); 127,2ppm (CH, C₂); 127,5ppm (CH, C₄); 145,2ppm (Cq, C_{9a}).

3-karbaldehid-(1,6-bis-fenotiazinil-hexán) előállítása:

Jégfürdőn 30 percig kevertem foszfor-oxoklorid és dimetil-formamid (DMF) elegyét majd ehhez a formilező ágenshez adtam hozzá a 5g BFH-t 5 ml 1,2-diklór-etán oldószerben oldva. Az így kapott reakció elegyet melyet 100C°-on 5 órán keresztül folyamatos keverés mellett refluxáltam. Kicsapás, extrahálás és oszlopkromatográfián való tisztítás után megkaptam a citromsárga formilt, η = 65% o.p.= 108°C.

IR ν_{max} : ν_{C-S} = 693cm⁻¹; δ_{C-H} = 737cm⁻¹, 803cm⁻¹; ν_{C-N} = 1244cm⁻¹; τ_{C-H} = 1367cm⁻¹; δ_{CH_2} = 1440cm⁻¹, 1457cm⁻¹; $\nu_{C=Carom}$ = 1553cm⁻¹, 1573cm⁻¹, 1598cm⁻¹; $\nu_{C=O}$ = 1679cm⁻¹; ν_{C-Hsim} = 2850cm⁻¹; $\nu_{C-Hasim}$ = 2933cm⁻¹.

¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz), δ(ppm): 1,46ppm (s, 4H, **H_c**); 1,78ppm (s, 4H, **H_b**); 3,87ppm (t, 4H, ³J= 6,8Hz, **H_a**); 6,84ppm (d, 2H, ³J_{orto}= 7,2Hz, **H₉**); 6,86ppm (d, 2H, ³J_{orto}= 8,4Hz, **H₁**); 6,97ppm (t, 2H, ³J_{orto}= 7,6Hz, **H₇**); 7,10ppm (dd, 2H, ³J_{orto}= 7,6Hz, **H₆**); 7,15ppm (t, 2H, ³J_{orto}= 8,0Hz, **H₈**); 7,56ppm (d, 2H); 7,62ppm (dd, 2H, ³J_{orto}= 8,4Hz, **H₂**), 9,79ppm (s, 2H, **H_{3a}**).

¹³C-NMR, (125MHz, CDCl₃), δ(ppm): 26,2ppm (CH₂, **C_c**); 26,5ppm (CH₂, **C_b**); 47,5ppm (CH₂, **C_a**); 114,9ppm (CH, **C₁**); 116,0ppm (CH, **C₉**); 123,6ppm (CH, **C₇**); 124,0ppm (Cq, **C_{5a}**); 125,3ppm (Cq, **C_{4a}**); 127,5ppm (CH, **C₆**); 127,6ppm (CH, **C₈**); 128,4ppm (CH, **C₄**); 130,0ppm (CH, **C₂**); 131,1ppm (Cq, **C₃**); 143,4ppm (Cq, **C_{9a}**); 150,7ppm (Cq, **C_{10a}**); 190,0ppm (CH, **C_{3a}**).

5,10,15-tri(-4-fluoro-fenil),-20-(1,6-bis-fenotiazinil-hexán-3-il)-21H,23H-porfirin 1.a./ 5, 15-di(-4-fluoro-fenil),-10,20-di(1,6-bis-fenotiazinil-hexán-3-il)-21H,23H-porfirin 2.a. előállítása:

10 ml propionsavhoz ecetsavanhidridet adagoltam. Az így kapott elegyet kb. 30 percen keresztül kevertettem és 100°C-on melegítettem. Ezután hozzáadtam 1,1 ml pirrolt illetve 1,25 ml 4-fluoro/4-trifluorometán benzaldehidet adtam hozzá, ezt 4 órán keresztül 120 °C-on refluxáltattam (PTZ:pirrol:aldehid=1:3:4). A reakció lefolyása után a kapott reakcióelegyet bepároltam, majd a lombikba maradó termékhez diklórmétánnal (100ml) leszűrtem, melynek során a számomra hasznos termék a szűrőn marad, míg a melléktermékek és a szennyeződések az anyalúgba kerülnek. A szűrőn maradó terméket még egyszer átmostam (szintén diklórmétánnal).

1.a. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃) δ(ppm): -2,80ppm (2H, s, NH), 1,61(4H, d, 2CH₂), 1,88 (2H, t, CH₂), 2,02 (2H, t, CH₂), 3,91 (2H, t, N-CH₂), 4,07 (2H, t, N-CH₂), 6,90-6,88 (5H, m, ptzH1, H9, H3), 7,01 (2H, t, H7 ptz, J= 7.6Hz), 7,20-7,11 (8H, m, Hfenil, ptzH6), 7,26-7,23 (2H, m, ptzH8), 7,45 (2H, d, ptzH2, J= 7.2Hz), 7,46 (2H, d, ptzH4, J= 1.2Hz), 8,17 (6H, m, Hfenil), 8,81 (6H, m, Hβ), 8,94 (2H, m, Hβ).

¹³C NMR (150MHz, CDCl₃), δ(ppm): 26.7ppm, 26.8, 26.9, 27, 47.2, 47.6, 113.6, 113.8, 113.9, 115.6, 119.1, 122.5, 122.9, 125.2, 127.3, 127.6, 127.9, 133.4, 133.9, 135.9, 138.1, 145.4, 162.1, 163.8.

2.a. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃), δ(ppm): -2.74ppm (2H, NH), 1.59 (8H, 4CH₂), 1.88 (4H, t, 2CH₂), 2.01 (4H, t, 2CH₂), 3.88 (4H, t, 2CH₂-N), 4.01 (4H, t, 2CH₂-N), 6,90-6,88 (10H, m, ptzH1, H9, H3), 7,01 (4H, t, H7 ptz, J= 7.6Hz), 7,20-7,11 (6H, m, Hfenil, ptzH6), 7,26-7,23 (4H, m, ptzH8), 7,45 (4H, d, ptzH2, J= 7.2Hz), 7,46 (4H, d, ptzH4, J= 1.2Hz), 8,17 (4H, m, Hfenil), 8,83 (4H, m, Hβ), 8,94 (4H, m, Hβ).

¹³C NMR (150MHz, CDCl₃), δ(ppm): 26.7ppm, 26.76, 26.87, 26.9, 47.2, 47.6, 113.6, 115.6, 115.8, 118.8, 119.6, 122.5, 122.5, 122.8, 124.8, 125.2, 127.3, 127.6, 127.8, 133.3, 133.9, 135.8, 136.3, 138.1, 145.1, 145.4, 162.1, 163.8.

5,10,15-tri(-4(trifluorometil)-fenil),-20-(1,6-bis-fenotiazinil-hexán-3-il)-21H,23H-porfirin/ 5, 15-di(-4(trifluorometil)-fenil),-10,20-di(1,6-bis-fenotiazinil-hexán-3-il)-21H,23H-porfirin előállítása

A reakció körülményei azonosak az 1a illetve 2a porfirin előállításával, különbséget képez a PTZ:pirrol:aldehid=2:2:4 molarány.

1.b. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃), δ(ppm): -2,83ppm (2H, s, NH), 1,62(4H, d, 2CH₂), 1,90 (2H, t, CH₂), 2,03 (2H, t, CH₂), 3,91 (2H, t, N-CH₂), 4,07 (2H, t, N-CH₂), 6,90-6,88 (5H, m, ptzH1, H9, H3), 7,01 (2H, t, H7 ptz, J= 7.6Hz), 7,20-7,11 (8H, m, Hfenil, ptzH6), 7,26-7,23 (2H, m, ptzH8), 7,45 (2H, d, ptzH2, J= 7.2Hz), 7,46 (2H, d, ptzH4, J= 1.2Hz), 8,04 (6H, m, Hfenil), 8,76 (6H, m, Hβ), 8,96 (2H, m, Hβ).

¹³C NMR (150MHz, CDCl₃), δ(ppm): 26.7ppm, 26.76, 26.8, 26.9, 47.2, 47.6, 113.6, 113.8, 113.9, 115.6, 119.1, 122.5, 122.9, 125.2, 127.3, 127.6, 127.9, 133.4, 133.9, 135.9, 138.1, 145.1, 145.4, 162.1, 163.8.

2.b. ¹H NMR (600MHz, CDCl₃), δ(ppm): -2.82ppm (2H, NH), 1.62 (8H, 4CH₂), 1.88 (4H, t, 2CH₂), 2.01 (4H, t, 2CH₂), 3.88 (4H, t, 2CH₂-N), 4.01 (4H, t, 2CH₂-N), 6,90-6,88 (10H, m, ptzH1, H9, H3), 7,01 (4H, t, H7 ptz, J= 7.6Hz), 7,20-7,11 (6H, m, Hfenil, ptzH6), 7,26-7,23 (4H, m, ptzH8), 7,45 (4H, d, ptzH2, J= 7.2Hz), 7,46 (4H, d, ptzH4, J= 1.2Hz), 8,17 (4H, m, Hfenil), 8,83 (4H, m, Hβ), 8,94 (4H, m, Hβ).

¹³C NMR (150MHz, CDCl₃), δ(ppm):26.7ppm, 26.76, 26.87, 26.9, 47.2, 47.6, 113.6, 115.6, 115.8, 118.8, 119.6, 122.5, 122.5, 122.8, 124.8, 125.2, 127.3, 127.6, 127.8, 133.3, 133.9, 135.8, 136.3, 138.1, 145.1, 145.4, 162.1, 163.8.

V. Következtetés

Kutatásaim során sikerült a fent tárgyalt 1.a, 1.b, 2.a és 2.b vegyületeket oszlopkromatográfiás eljárás segítségével tisztán előállítani. Az anyagok tisztaságát és szerkezetét NMR, HRMS és FT-IR-el bizonyítottam, optikai tulajdonságaikat UV-VIS, fluoreszcenciával tanulmányoztam, illetve agaróz gél-elektroforézis módszerekkel vizsgáltam a DNS-porfirin kölcsönhatást. Ezek a vegyületek új anyagoknak számítanak, az általam használt bibliográfiában nem szerepeltek. Mind a négy típusú porfirinről elmondható, hogy elektronküldő szubsztituensek hatására az abszorpciós maximumuk batokróm eltolódást mutatnak. Nagy moláris abszorbivitásuk miatt festékanyagokként használhatók, illetve alkalmasak lehetnek a PDT-ban is valamint fényvezető tulajdonságaik miatt napelemekben is alkalmazhatók.

VI. Irodalmi hivatkozás:

[1] Maxwell J Crossley, Joseph Shy, *Porphyrim arrays as models for light-harvesting systems involved in photosynthesis*

[2] Kadis, K.M.; Smith,K.M.; Guliard,R., Eds. *The Porphyrin Handbook*; Academic Press: Burlington MA, **1999**. Vol.6

[3] Solanki, Manish J., “*Studies and Biological Evaluation of Synthetic Therapeutic Agents*”, **2009**

[4] Sternberg, E.D.; Dolphin, D.; Brückner, C., *Tetrahedron*, **1998**, 54, 4151-4202

[5] Z. Huang, *Technol. Cancer Res. Treat.* **2005**, 4(3), 283–293

[6] C.C. Guo, R.B. Tong, K.L. Li, *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 2469–2475

[7] H.Fischer, *On haemin and the relationships between haemin and chlorophyll*, Nobel Lecture, **1930**

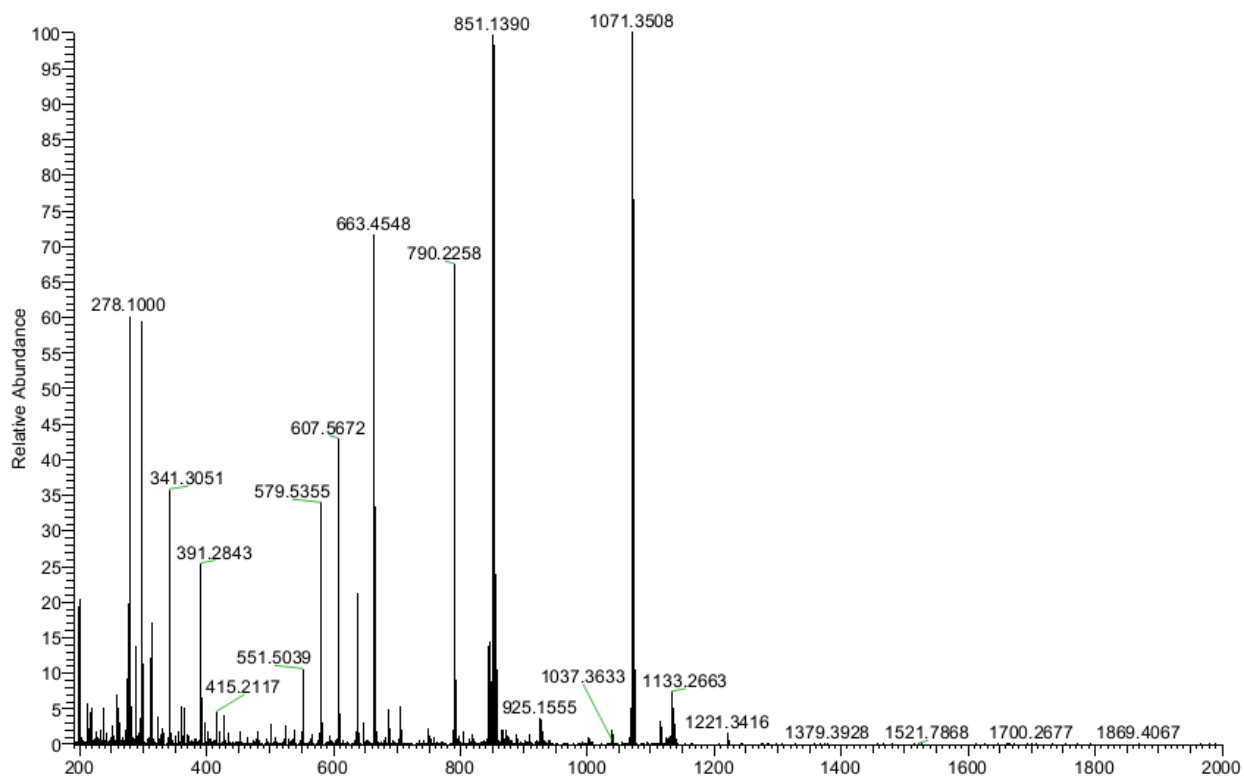
[8] R. P. Linstead, *J. Chem. Soc.*, **1953**, 2873-2884

[9] L. B. Josefsen, R. W. Boyle, *Theranostics*, **2012**, 2(9), 917

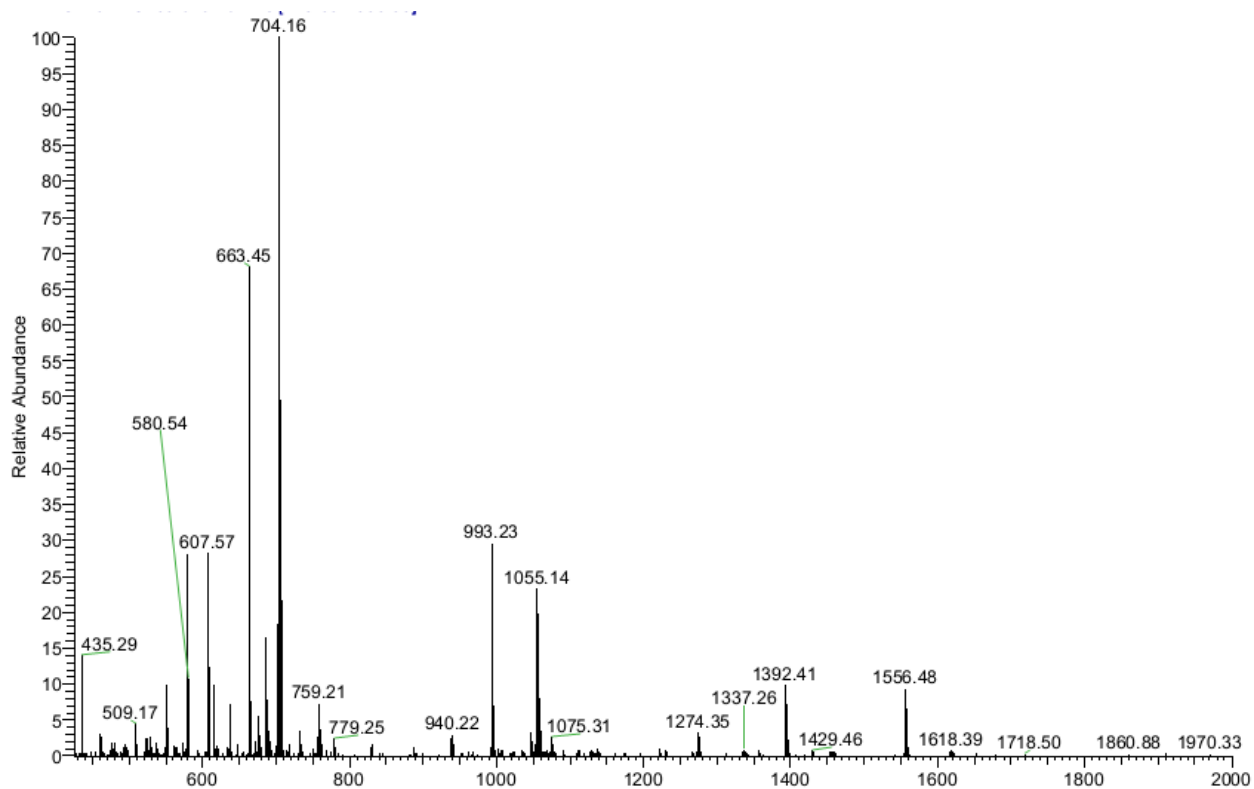
- [10] Z. Yao, J. Bhaumik, S. Dhanalekshmi, M. Ptaszek, P. A. Rodriguez, J. S. Lindsey, *Tetrahedron*, **2007**, 63, 10657–10670
- [11] P. Rothmund, *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, 57 (10), 2010
- [12] A.D. Adler, F.R. Longo, J.D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff, *Org. Chem.* **1967**, 32, 476.
- [13] Lindsey, J. S.; Schreiman, I. C.; Hsu, H. C.; Kearney, P. C.; Marguerettaz, A. M. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 827.
- [14] W. Siedel, F. Winkler, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1943**, 554, 162
- [15] Arsenault, G. P.; Bullock, E.; MacDonald, S. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 4384.
- [16] G. Mehta, T. Sambaiah, B. G. Maiya, M. Sirish and A. Dattagupta *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1995**, 295 – 297.
- [17] E. Gal, B. Brem, I. Perețeanu, L. Găină, T. Lovasz, M. Perde-Schrepler, L. Silaghi-Dumitrescu, C. Cristea, L. Silaghi-Dumitrescu, *Dyes and Pigments*, **2013**, 99 (1), 144-153.
- [18] S. A. Krasnikova, A. B. Preobrajenskia, N. N. Sergeevad, M.M. Brzhezinskayaa, M. A. Nesterova, A.A. Cafollab, M.O. Senged, A.S. Vinogradova, *Chem. Phys.*, **2007**, 332, 318–324
- [19] Robert J. Fiel, N. Datta-Gupta, E. H. Mark, and J. C. Howard, *Cancer Research*, **1981**, 41, 3543-3545.
- [20] B. Gutter, W. T. Speck, and H. S. Rosenkranz, *Biochim. Biophys. Acta*, **1977**, 475, 307-314.
- [21] E. Boye, and J. Moan, *Photochem. Photobiol.*, **1980**, 3, 223-228.
- [22] Y. Soo Kang, H. J. McManus, L. Kevan, *J. Phys. Chem.*, **1993**, 97, 2027-2033
- [23] Y. Soo Kang, H. J. McManus, L. Kevan, *J. Phys. Chem.*, **1992**, 97, 1055-1060
- [24] H. Yonemura, H. Nakamura, H. Matsuo, *Chem. Phys.*, **1992**, 162, 69-78
- [25] K. Araki, C. A. Silva, He.E. Toma, L. H. Catalani, M. H.G. Medeiros, P. Di Mascio, *Journal of Inorganic Biochemistry* **2000**, 78, 269–273
- [26] A. Vilsmeier, A. Haak, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1927**, 60(1), 119-122
- [27] Ng. Ph. Buu-Hoi, N. G. Hoán, *J. Chem. Soc.*, **1951**, 1834-1836.

Mellékletek:

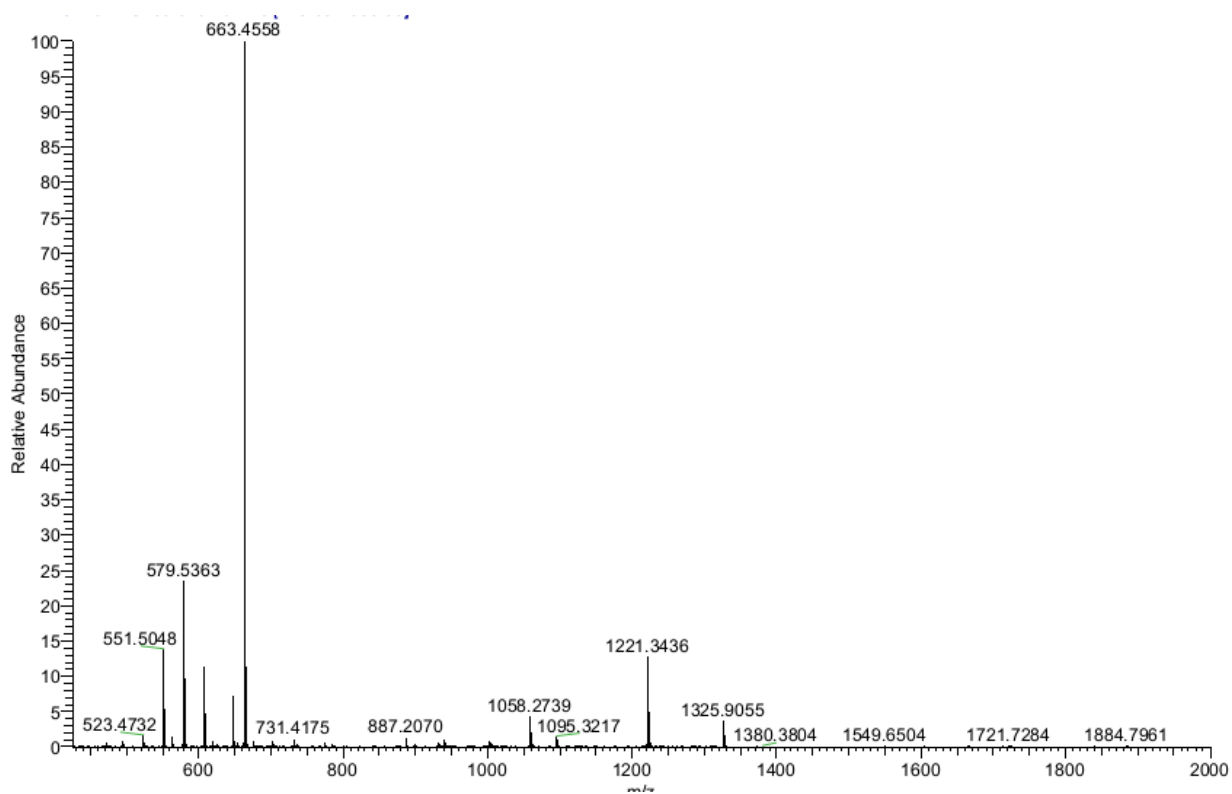
1. 1.a porfirin nagyfelbontású tömegspektruma



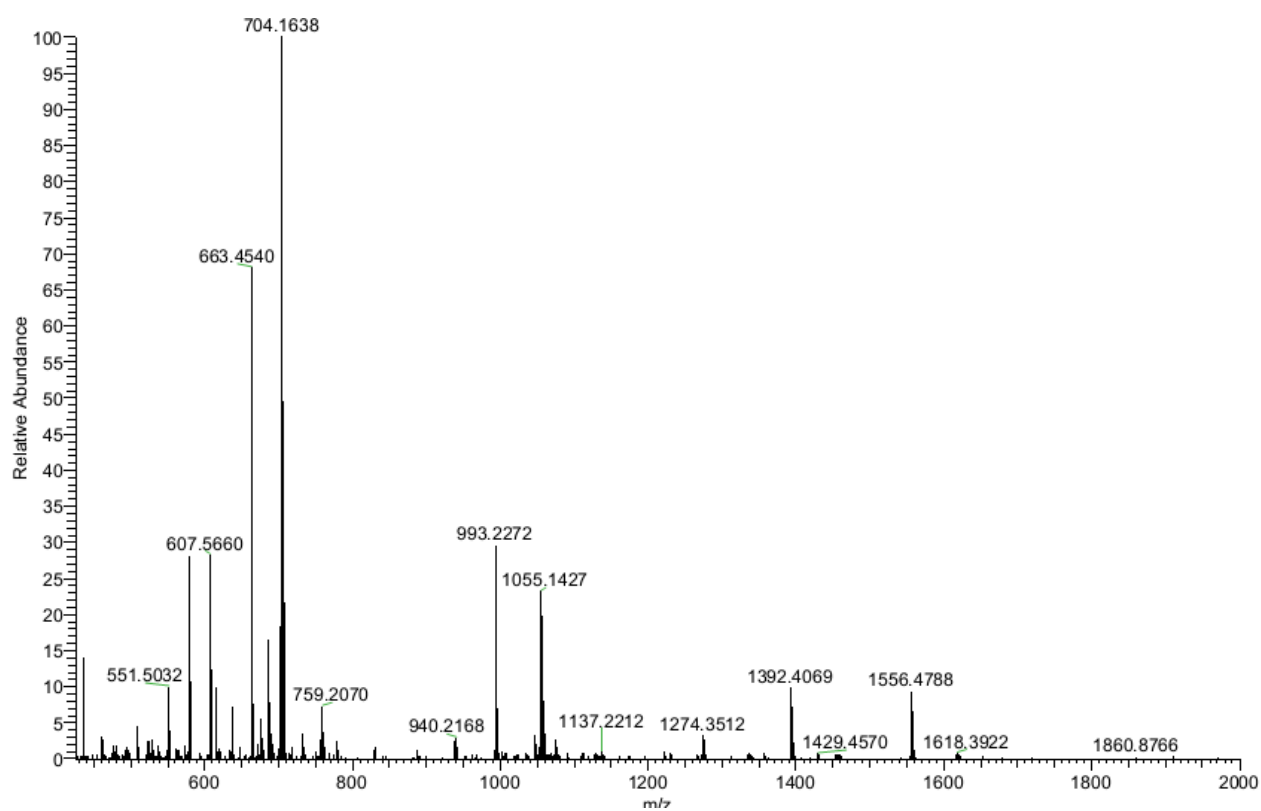
2. 2.a porfirin nagyfelbontású tömegspektruma



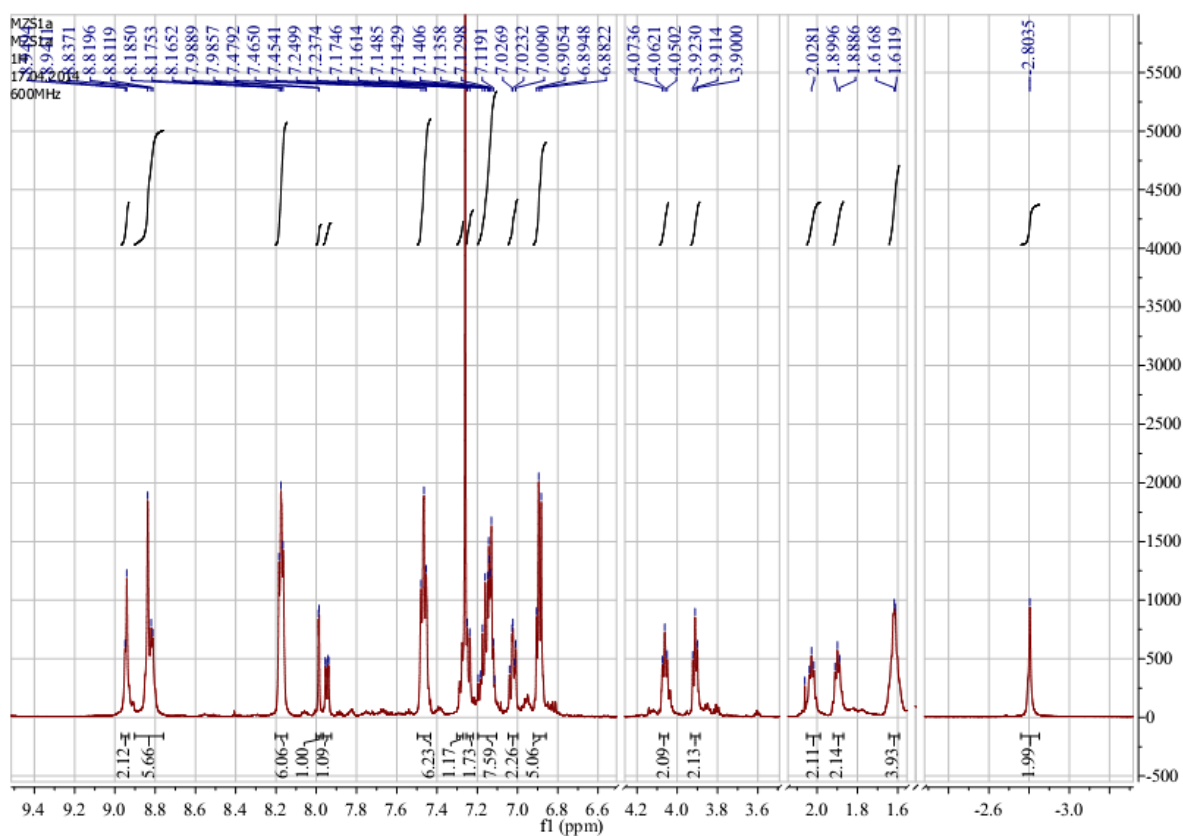
3. 1.b. porfirin nagyfelbontású tömegspektruma



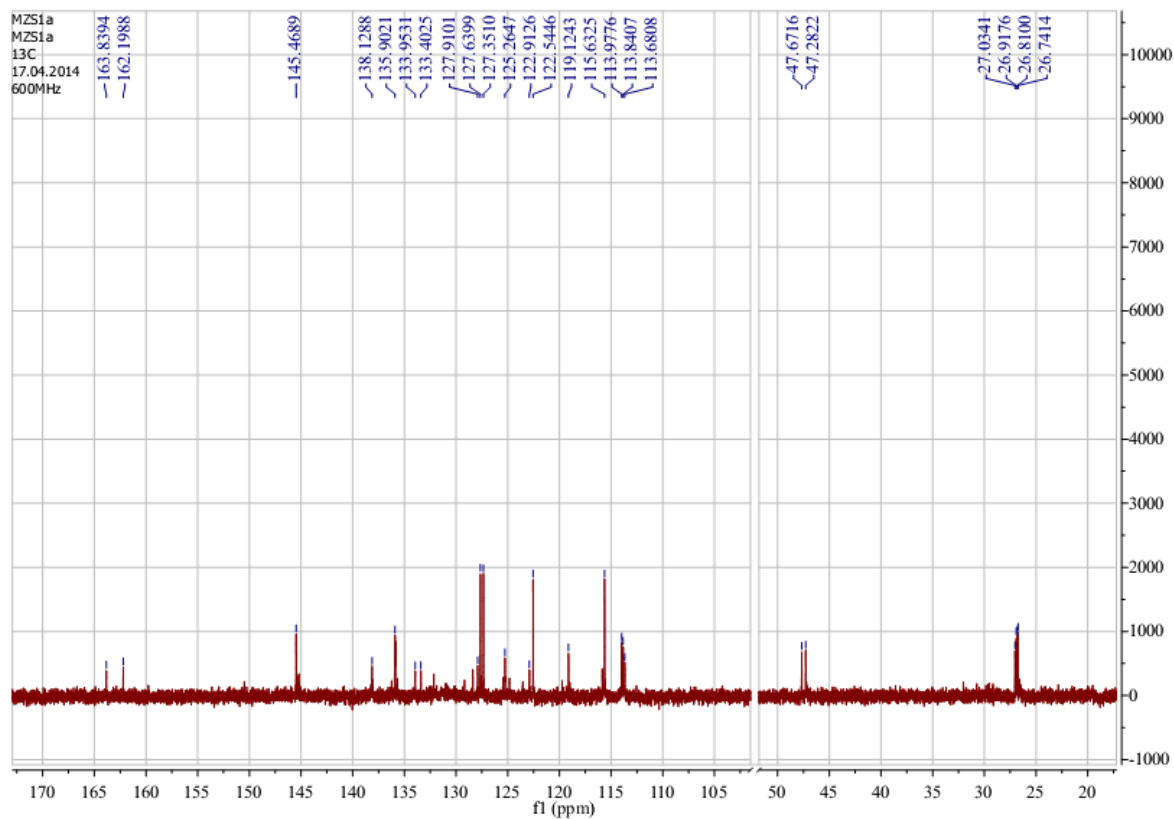
4. 2.b. porfirin nagyfelbontású tömegspektruma



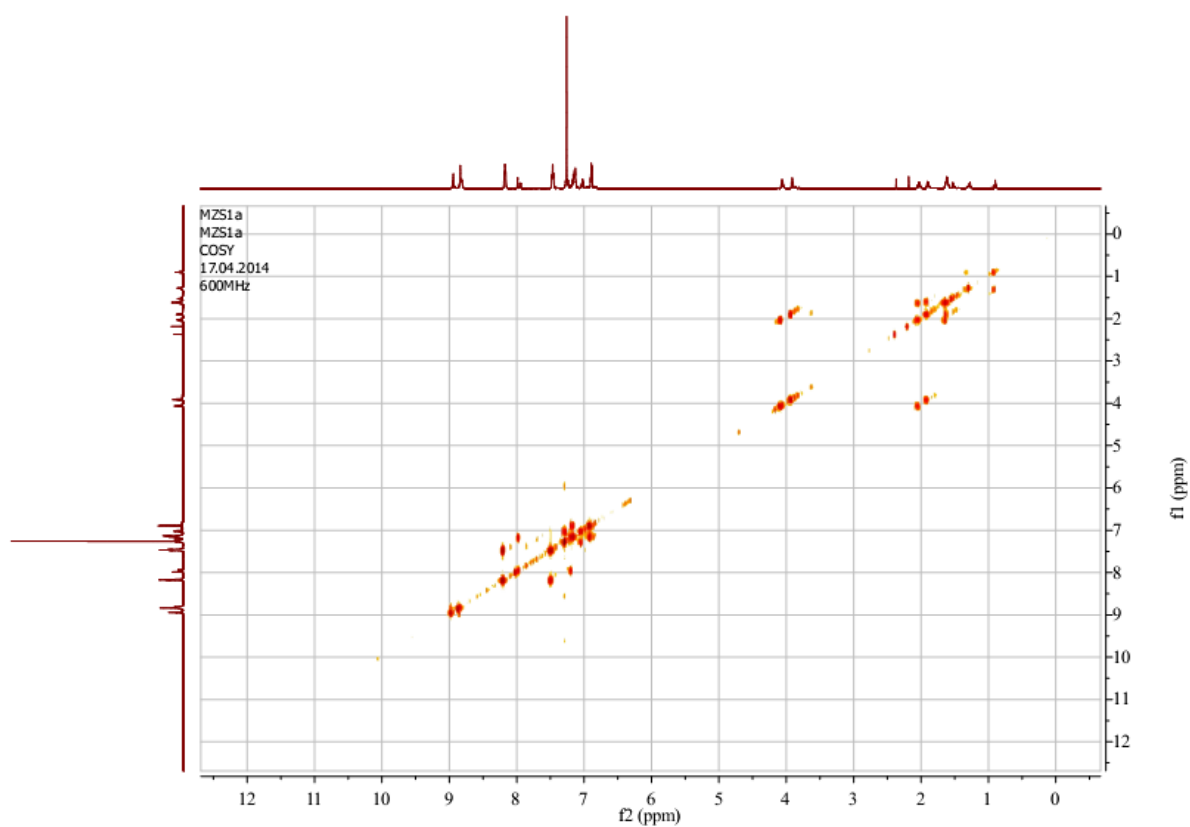
5. 1.a. ^1H NMR



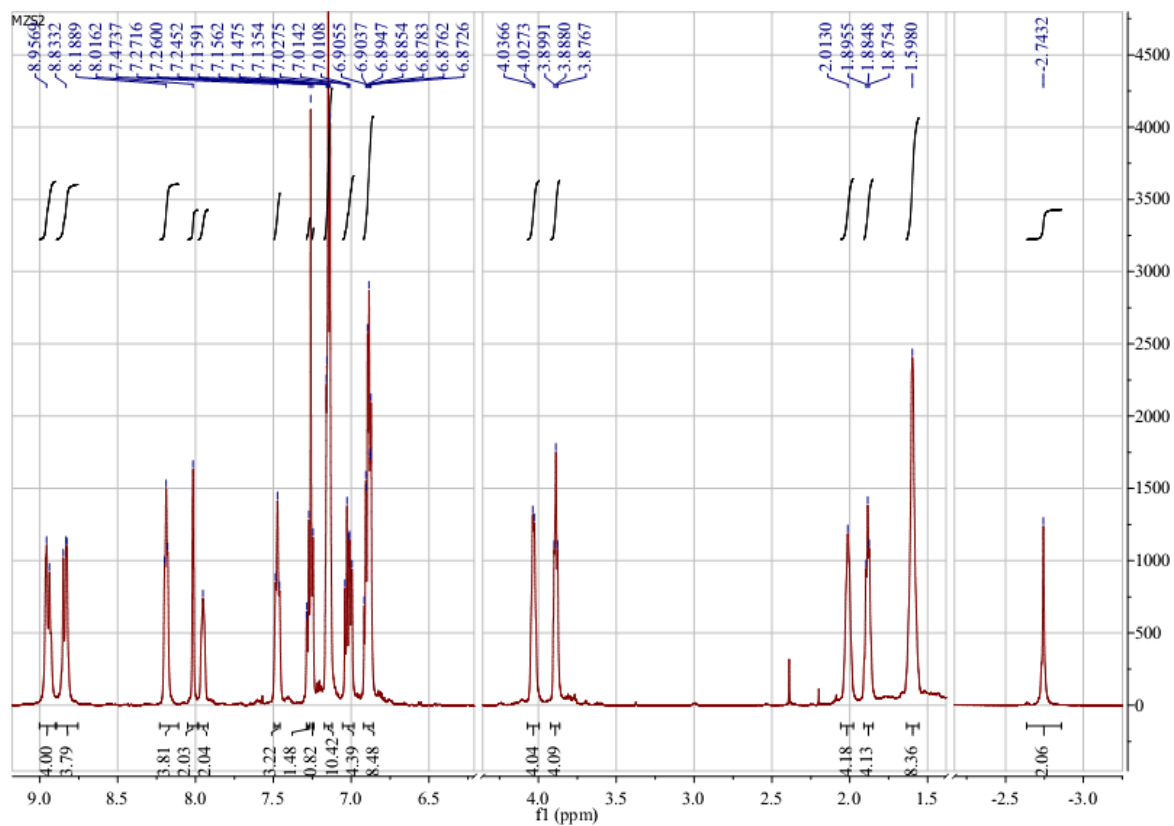
6. 1.a. ^{13}C NMR



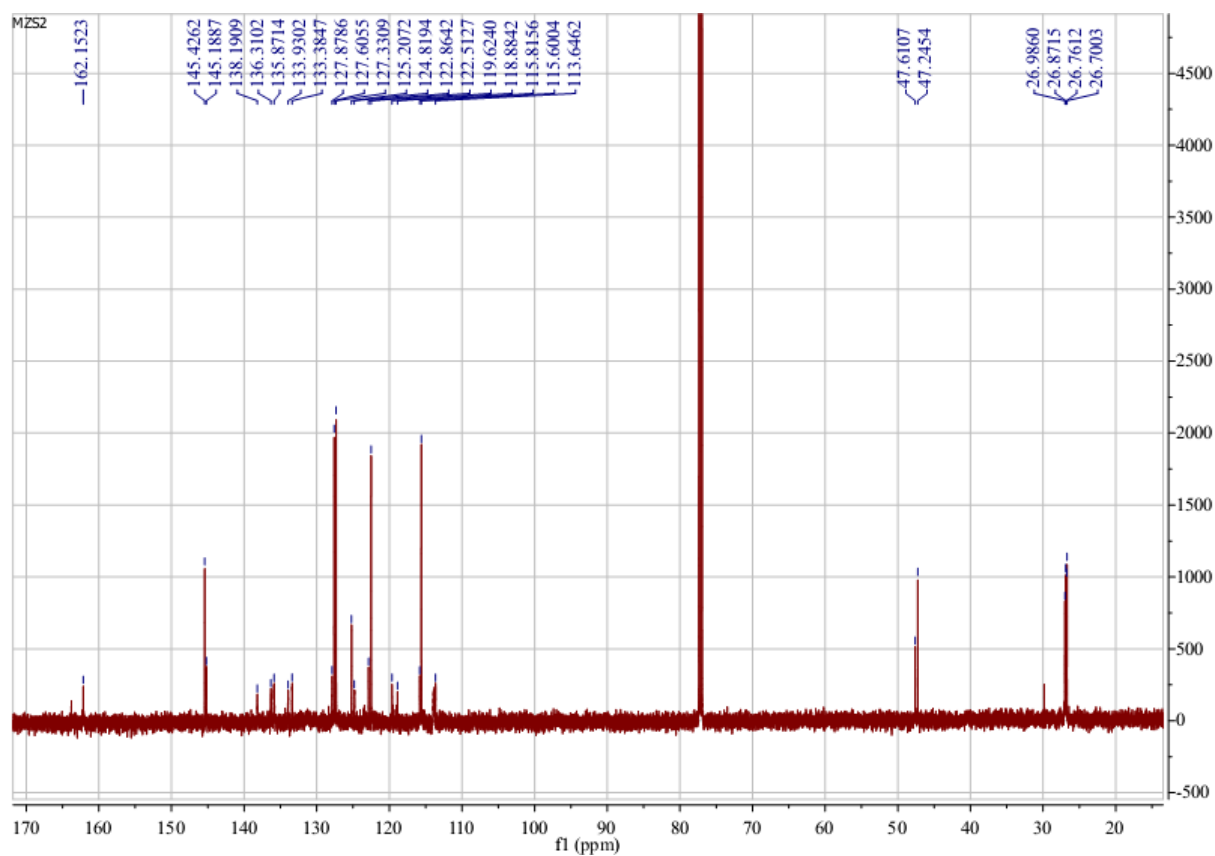
7. 1.a. COSY



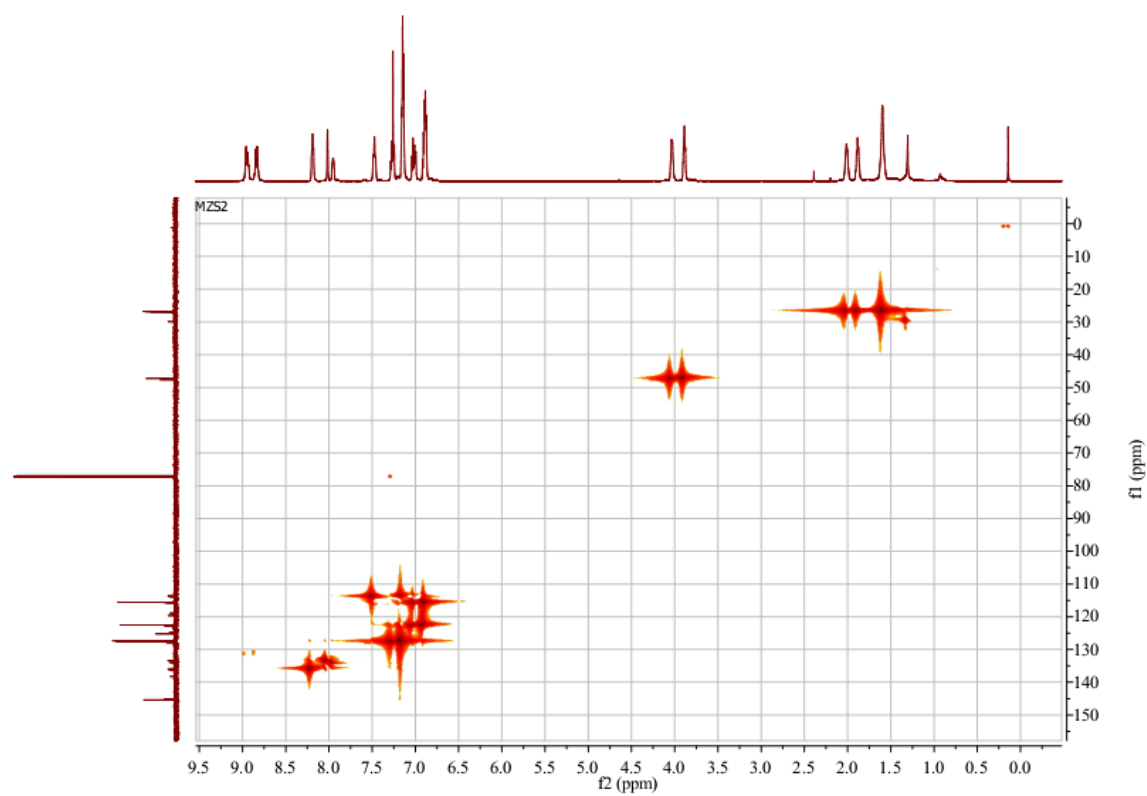
8. 2.a. ^1H NMR



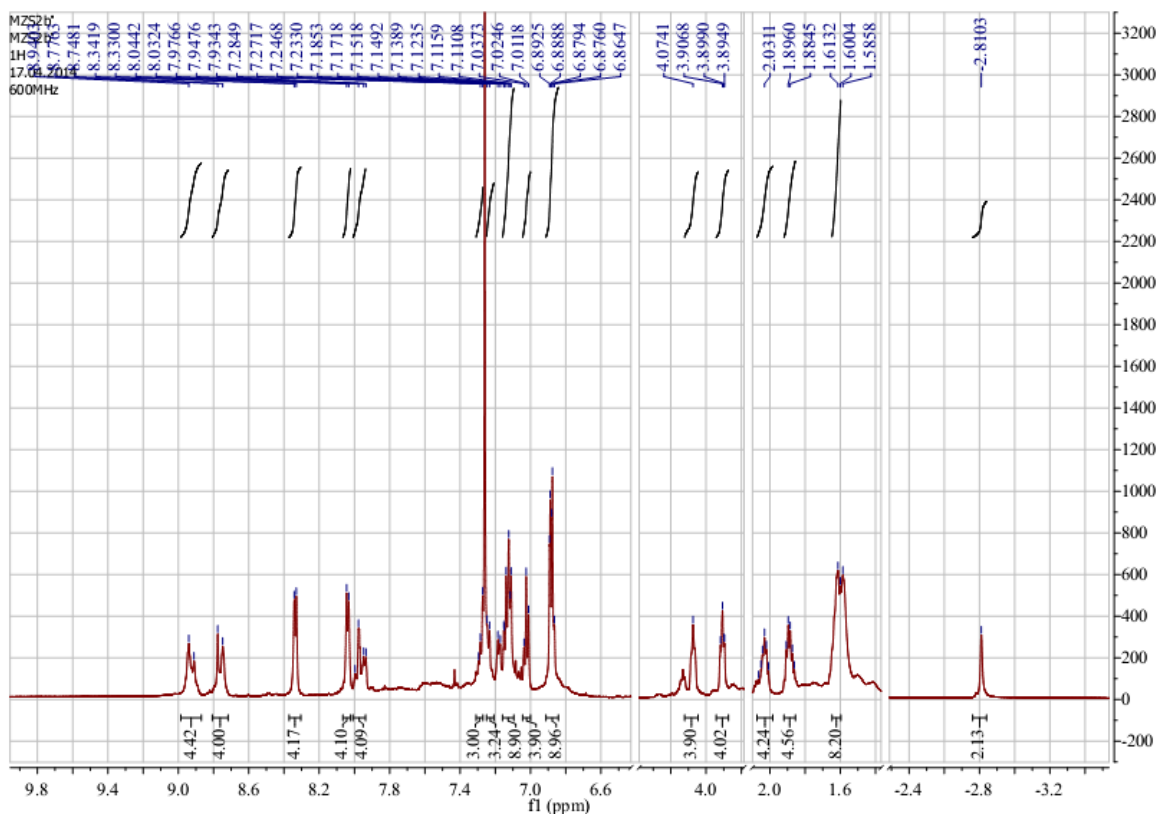
9. 2.a. ^{13}C NMR



10. 2.a. HMQC



11. 2.b. ^1H NMR



12. 2.b. COSY

