



TAMPEREEN TEKNILLINEN YLIOPISTO

JANI VILJAKKA

**ORTO-FLUORINOIDUN JA -AMINOIDUN ATSOBENTSEENIN
SYNTEESI JA SPEKTROSKOOPPIINEN KARAKTERISOINTI**

Kandidaatintyö

Kemian ja biotekniikan laboratorio

Tarkastaja: Arri Priimägi

Ohjaaja: Zafar Ahmed

TIIVISTELMÄ

TAMPEREEN TEKNILLINEN YLIOPISTO

Teknis-luonnontieteellinen koulutusohjelma

Viljakka, Jani: Orto-fluoronoidun ja -aminoidun atsobentseenin synteesi ja spektroskooppinen karakterisointi

Kandidaatintyö, 26 sivua

Toukokuu 2018

Pääaine: Kemia

Tarkastaja: Arri Priimägi

Avainsanat: Atsobentseeni, *Orto*-substituointi

Atsobentseeni on valo-aktiivinen molekyyli, jonka *trans*-isomeeri muuttuu *cis*-isomeeriksi UV- tai näkyvällä valolla säteilyttäessä. *Cis*-isomeerin termisen relaksaation nopeutta *trans*-isomeeriksi sanotaan molekyylin elinajaksi. Molekyylin absorptioalueeseen ja elinaikaan voidaan vaikuttaa siihen liitettävillä substitueinteilla.

Tehty työ pohjautuu Ahmed et. al. artikkeliin, jossa yhdistettiin *orto*-fluorointi ja -aminointi atsobentseenimolekyylien ominaisuuksien kontrollointiin. *Orto*-asemaan liitetty fluoriatomi lisää molekyylin elinaikaa, ja amiiniryhmä vahvistaa ja siirtää $n \rightarrow \pi^*$ transition absorptiopiikkiä näkyvän valon alueelle. Työssä syntetisoitiin 5 molekyyliä, 4 fluori- ja/tai piperidiini substituoitua molekyyliä sekä bromi- ja piperidiini substituoitu molekyyli.

Molekyyleille määritettiin absorptiospektrit sekä elinajat. Molekyylien $n \rightarrow \pi^*$ transition absorptio piperidiinin tapauksessa on näkyvällä aallonpituusalueella, mutta lyhemmillä aallonpituuksilla kuin aiemman artikkelin vastaavat rakenteet pyrrolidiini amiinilla. Piperidiini aiemman pyrrolidiinin sijasta pidensi elinaikaa kolmen molekyylin tapauksessa n. 60 kertaiseksi, ja pisimmän elinajan omaavan molekyylin tapauksessa kuusinkertaiseksi. Elinajat olivat molekyyllille **1** 445h, **2** 10min, **3** 300min, **4** 59min.

ALKUSANAT

Kandidaatintyö koostui pääasiassa kokeellisesta työstä, joka tehtiin Arri Priimägin Smart Photonic Materials -ryhmän tutkimuksen jatkoksi. Kiitos Arri Priimägille työn tarjoamisesta, SPM ryhmälle, Matti Virkille matlab avusta, ja erityisesti kiitokset työn ohjaajana toimineelle Zafar Ahmedille.

SISÄLLYS

Tiivistelmä.....	II
Alkusanat.....	III
Termit ja niiden määritelmät	V
1. Johdanto.....	1
2. Atsobentseenimolekyylin ominaisuuksia	2
2.1. Fotoisomerisaatio	2
2.2. Substituenttien vaikutus tutkittaviin molekyyliin.....	4
2.3. Atsobentseenin sovelluksia.....	5
3. Molekyylien synteesi.....	6
3.1. Käytetyt menetelmät.....	6
3.2. Syntetisoidut molekyylit	7
3.3. Substituentit samassa renkaassa	8
3.4. Substituentit eri renkaissa	10
3.5. Bromi-substituentti	12
4. Spektroskooppinen karakterisointi.....	14
4.1. Absorptiospektrit	14
4.2. Elinajan määrittäminen.....	17
4.3. Bromisubstituoitu molekyyli.....	21
5. Yhteenveto	23
Lähteet.....	25

TERMIT JA NIIDEN MÄÄRITELMÄT

<i>eqv</i>	ekvivalentti, verrannollisuus muihin reagensseihin
<i>SM</i>	Starting material, lähtöaine johon muiden reagenssien määrää verrataan
<i>T</i>	lämpötila
<i>TLC</i>	Ohutlevykromatografia
<i>NMR</i>	Nuclear magnetic resonance, menetelmä tunnistaa alkuaineita yhdisteistä

1. JOHDANTO

Erilaisia molekyylejä ja systeemejä pystytään kontrolloimaan useilla eri tavoilla. On syntetisoitu lukuisia molekyylejä jotka vastaavat ulkoisiin ärsykkeisiin, kuten esimerkiksi pH:n muutokseen, sähkövirtaan tai lämpötilaan. Kaikki näin saadut muutokset eivät ole reversiibeilejä ja voivat viedä aikaa. Eri menetelmät soveltuvat eri käyttökohteisiin, joissakin tapauksissa molekyylien ohjaaminen valon avulla on yksityiskohtaisempaa ja nopeaa. Valoaktiiviset molekyylit tarjoavat mahdollisuuden esimerkiksi tarkkaan kohdistukseen ja aallonpituuskontrolliin. [1]

Atsobentseeni on diatseeni, jossa kumpaankin typpiin on liittynyt bentseenirengas. Molekyylillä on *trans*- ja *cis*-isomeerit, joiden fysikaaliset ominaisuudet kuten molekyylin pituus ovat erilaiset. *Trans* → *cis* fotoisomerisaatio tapahtuu, kun molekyyliä säteilytetään UV- tai näkyvän valon aallonpituuksilla. Molekyylin *trans*-isomeeri on termodynaamisesti stabiilimpi, joten *cis*-isomeeri palautuu termisen relaksaation kautta takaisin *trans*-isomeeriksi. [2]

Muovattavien ominaisuuksiensa ja valo-aktiivisuuden takia atsobentseenillä on lukuisia sovelluksia materiaalitieteestä optikkaan ja biolääketieteeseen. Jo 1960 luvun lopulla atsobentseenin avulla saatiin valokontrolloituja entsyymejä ja K^+ -ionikanava [3]. Materiaalitekniikan puolella atsobentseeniä voidaan soveltaa esimerkiksi materiaaleihin, joiden kokoa voidaan muuttaa valon avulla [1]. Sovellusten kannalta on huomion arvoista, että joissain tapauksissa *cis* isomeeri on termodynaamisesti stabiilimpi molekyylin substituenttien johdosta [3].

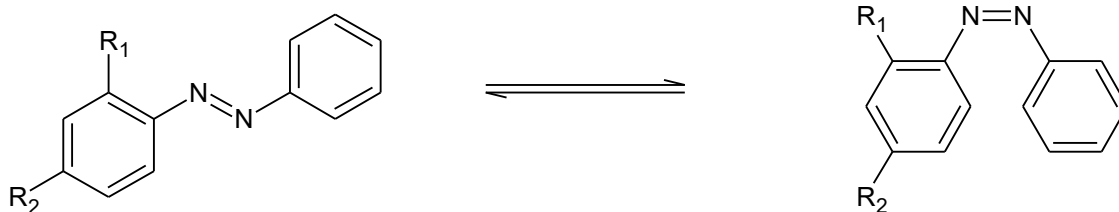
Työn kirjallisuusosassa esitellään työn taustalla olevassa julkaisussa [4] tutkittujen molekyylien rakennetta ja ominaisuuksia. Artikkelissa yhdistettiin *orto*-fluorointi ja -aminointi, jolla voidaan vaikuttaa atsobentseenimolekyylin ominaisuuksiin. Lisäksi esiteltiin menetelmä, jolla saadaan selektiivisesti substituoituja molekyylejä hyvällä saannolla. Menetelmässä valmistetaan ensin fluorinoitu atsobentseeni, josta korvataan haluttu tai halutut fluoriatomit amiiniryhmällä.

Artikkelissa tutkittiin fluori- ja pyrrolidiini substituoituja molekyylejä, sekä yksi piperidiinisubstituoitu molekyyli. Piperidiiniä sisältävällä molekyylillä oli huomattavasti pidempi elinaika kuin vastaavalla rakenteella jossa amiinina oli pyrrolidiini. Tämän perusteella työssä tutkittaviksi molekyyleiksi valikoitui fluori- ja piperidiinisubstituoitu atsobentseeni, joilla odotetaan olevan pidempi elinaika kuin aikaisemmassa tutkimuksessa. Teoriaosan jälkeen kuvataan tutkittujen molekyylien synteesireaktiot, sekä niiden spektroskooppinen karakterisointi. Vertaillaan saatuja tuloksia aikaisempiin tuloksiin ja tehdään yhteenveto.

2. ATSOBENTSEENIMOLEKYYLIN OMINAISUUKSIA

2.1. Fotoisomerisaatio

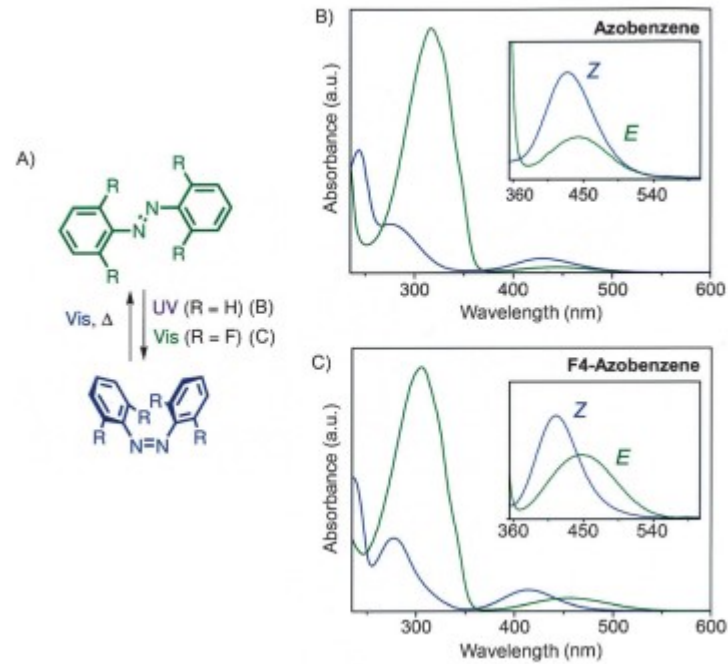
Atsobentseenille on mahdollista kuvan 2.1 mukainen *trans* → *cis* fotoisomerisaatio, eli molekyylin avaruudellinen geometria muuttuu kun sitä säteilytetään. Fotoisomerisaatiolle on ehdotettu neljää eri mekanismia, rotaatiota, inversiota, yhdenmukaistettua inversiota tai rotaatio avusteista inversiota [2]. Molekyylin sovelluskohteen perusteella pyritään vaikuttamaan aallonpituuteen, jolla fotoisomerisaatio tapahtuu. Substituimattoman atsobentseenin absorptiomaksimi on UV-alueella, noin 316nm kohdalla [2]. Kun molekyyliä säteilytetään lähellä tätä aallonpituutta, tapahtuu fotoisomerisaatio. Aallonpituus on kuitenkin UV-alueella, joka ei sovellu esimerkiksi biologisiin systeemeihin [3]. Absorptiomaksimin, ja siten fotoisomerisaation aallonpituuteen voidaan vaikuttaa atsobentseeniin liitetyillä substitueinteilla [2]. Kuvassa 2.1 substituentti R₁ on *orto*-asemassa ja R₂ *para*-asemassa.



Kuva 2.1 Atsobentseenimolekyyli ja sen fotoisomerisaatio sekä relaksaatio

Cis → *trans* termisen relaksaation nopeus on toinen käyttömahdollisuuksiin vaikuttava ominaisuus, jota voidaan kontrolloida substituenttien avulla. *Cis* → *trans* relaksaatio on joissain tapauksissa mahdollista saada aikaan säteilyttämällä molekyyliä eri aallonpituudella [2, 5]. Tämä on haluttu useissa eri sovelluksissa, joissa molekyyliä tai niitä sisältäviä materiaaleja halutaan ohjata valolla kumpaankin suuntaan [1, 6]. Tässä työssä keskitytään termiseen relaksaatioon ja sen nopeuteen, eli *cis* tilan elinaikaan.

Fotoisomerisaatio muuttaa molekyylin absorptiospektriä merkittävästi. Kuvassa 2.2 on tetra-*orto*-substituoidun atsobentseenin *trans*- ja *cis*-spektrit. Kummankin molekyylin $\pi \rightarrow \pi^*$ transition aallonpituusalue on päällekkäin 320nm alueella, mutta substituoinnilla $n \rightarrow \pi^*$ transition aallonpituus eri isomeerien välillä (kuva 2.2 C) saadaan erotettua.



Kuva 2.2 Fotoisomerisaation vaikutus absorptiospektriin, kuvassa Z tarkoittaa *cis*-isomeeria ja E *trans*-isomeeria, muokattu [7]

Kuvasta huomataan, kun *cis*- ja *trans*-isomeerien spektrit eivät mene päällekkäin, voidaan fotoisomerisaatio saada aikaan kumpaankin suuntaan käyttäen eri aallonpituutta. Spektristä C nähdään, että yli 500nm aallonpituudella säteilytys saa aikaan *trans* → *cis* isomerisaation, ja 410nm aallonpituudella saadaan palautettua *cis*-isomeeri *trans*-muotoon. [7] Substituimattoman atsobentseenin spektrissä B isomeerien $n \rightarrow \pi^*$ absorptiopiikit ovat päällekkäin, joten *cis* → *trans* palautuminen tapahtuu termisen relaksaation kautta tai UV-säteilyn avulla.

2.2. Substituenttien vaikutus tutkittaviin molekyyliin

Biologisten käyttökohteiden kannalta absorptio näkyvän valon punaisella aallonpituudella on haluttu ominaisuus. Punainen valo läpäisee elävää kudosta paremmin kuin lyhyemmät aallonpituudet, ja sen lämmittävä vaikutus on pienempi [5, 8]. M. Dong et al. tekemässä tutkimuksessa *orto*-asemaan liitetyillä metoksi ryhmillä saatiin siirrettyä absorptiomaksimia kohti punaista aallonpituusalueita. Kyseiset molekyylit kuitenkin hajosivat glutationin vaikutuksesta, joten niiden käyttö biologisissa systeemeissä on rajattua. [3] Samassa artikkelissa huomattiin, että *orto*-asemaan liitetyt fluori tai kloori pidentävät *cis*-isomeerin elinaikaa huomattavasti.

Substituenttien paikka bentseenirenkaassa vaikuttaa niiden aiheuttamiin ominaisuuksien muutokseen. Substituentit *para*-asemassa vahvistavat yhtä absorptiopiikkiä, eivätkä lisää elinaikaa merkittävästi. Näiden avulla saadaan aikaan molekyyliä, joilla *trans* \rightarrow *cis* sekä *cis* \rightarrow *trans* isomerisaatiot tapahtuvat samalla aallonpituudella. Säteilöittäminen kyseisellä aallonpituudella saa aikaan *trans* \rightarrow *cis* \rightarrow *trans* syklin. Tällaisia molekyyliä kutsutaan push-pull -atsobentseeneiksi. *Para*-asemassa olevat substituentit lisäävät molekyylin pituutta ja siten korostavat fotoisomerisaation vaikutusta molekyylin kokoon. [3, 9]

D. Bléger et al. tutkimuksessa [10] *orto*-asemaan liitetyillä fluoriatomeilla saatiin lisättyä molekyylin elinaikaa jopa 700 päivään. Lisäksi tetra-*orto*-fluorinoidun atsobentseenin *trans* ja *cis* $n \rightarrow \pi^*$ transiitot olivat erillään. Transitioaallonpituuden eroa saatiin vieläkin suuremmaksi *para*-asemaan liitetyillä elektroneja puoleensa vetävillä ryhmillä. Elektroneja luovuttava ryhmä *para*-asemassa *orto*-fluorien lisäksi pienensi aallonpituuseroa. Lisäksi fluoriatomit siirsivät $n \rightarrow \pi^*$ absorptioaallonpituudet näkyvälle alueelle. *Orto*-metoksi ryhmillä saatiin myös siirrettyä absorptiota näkyvälle aallonpituus alueelle [11].

Edeltävissä tutkimuksissa *orto*-substituoinnilla saatiin siirrettyä absorptiota näkyvälle alueelle. Molaariset absorptiot näkyvällä alueella ovat kuitenkin $< 4000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [11]. Z. Ahmed et al. julkaisemassa artikkelissa [4] tutkittiin *orto*-fluoroinnin ja -aminoinnin sekä niiden yhdistämisen vaikutusta molekyylin absorptioon ja elinaikaan. Amiiniryhmä paransi näkyvän valon absorptiota merkittävästi, mutta lyhensi molekyylin elinaikaa verrattuna fluoriatomiin substituenttina. Kun yhdistetään *orto*-fluori ja -amiiniryhmä, saadaan siis molekyyliä, joilla on sekä vahva absorptio näkyvällä alueella, että pitkä elinaika. Tutkimuksessa käytettiin pyrrolidiinia amiinina, mutta huomattiin että piperidiinillä on pienempi lyhentävä vaikutus elinaikaan. Lisäksi substituenttien sijainnilla, eli ovatko ne samassa vai eri renkaassa, on huomattava vaikutus elinaikaan.

2.3. Atsobentseenin sovelluksia

Atsobentseenin valo-ohjattavuus on tehnyt siitä halutun rakenneosan moneen eri sovellukseen materiaalitekniikasta biolääketieteeseen. Useissa sovelluksissa käytetään hyväksi molekyylin pituuden muutosta, kun se muuttuu *trans*-isomeeristä *cis*-isomeeriksi. Tätä voidaan korostaa *para*-asemaan liitetyillä ryhmillä. [9]

Atsobentseeniä sisältävien molekyylien laaja tutkimuskohde on erilaiset makromolekyylit ja polymeerit. Polymeereihin liitetyillä atsobentseenimolekyyleillä saadaan aikaan erilaisia valo-ohjattavia ominaisuuksia. Atsobentseenin sisältävä molekyyli voi olla polymeerin selkärangassa tai sivuketjussa, riippuen halutuista ominaisuuksista. Kun atsobentseeni on osana suurempaa molekyyliä, pieni n. 10% määrä valo-ohjattavaa osuutta riittää muuttamaan koko makromolekyylin ominaisuuksia. On saatu tilanteita, joissa molekyyli on kiinteä kun atsobentseeni on *trans*-muodossa, ja nestemäinen kun atsobentseeni on *cis*-muodossa. Saadaan myös materiaaleja, joiden kokoa voidaan muuttaa. [1, 14, 15]

Atsobentseenin avulla voidaan saada aikaan mekaanista työtä, kun se liitetään esimerkiksi metallipinnalle ja käytetään fotoisomerisaatiota muuttamaan sähkövirtaa kahden elektrodin välillä [1]. Atsobentseenillä päällystettyjä ohutkalvoja saadaan myös taipumaan valolla. Monimutkaisemmilla päällystyksillä eri aallonpituudet taivuttavat kalvoa eri kohdista eri suuntiin yhtä aikaisesti [12]. Nestekiteissä käyttöä varten on tutkittu esimerkiksi atsobentseenillä päällystettyjen kulta nanopartikkeleiden ominaisuuksia [13].

Biologisissa systeemeissä atsobentseeni on joko osana polymeeriä, tai siihen on liitetty jokin biologisesti vaikuttava osa kuten inhibiittori. Sovelluksia on proteiinien kontrolloinnista, DNA:n toimintaan vaikuttamisesta valoaktiivisten lääkkeiden tutkimukseen. Erityisesti biologisissa systeemeissä atsobentseenin absorption siirto punaiselle aallonpituusalueelle on keskeistä, sillä siten niitä voitaisiin käyttää kudoksen läpi vaarattomasti mutta tehokkaasti. [3, 9, 16, 17]

3. MOLEKYyliEN SYNTEESI

3.1. Käytetyt menetelmät

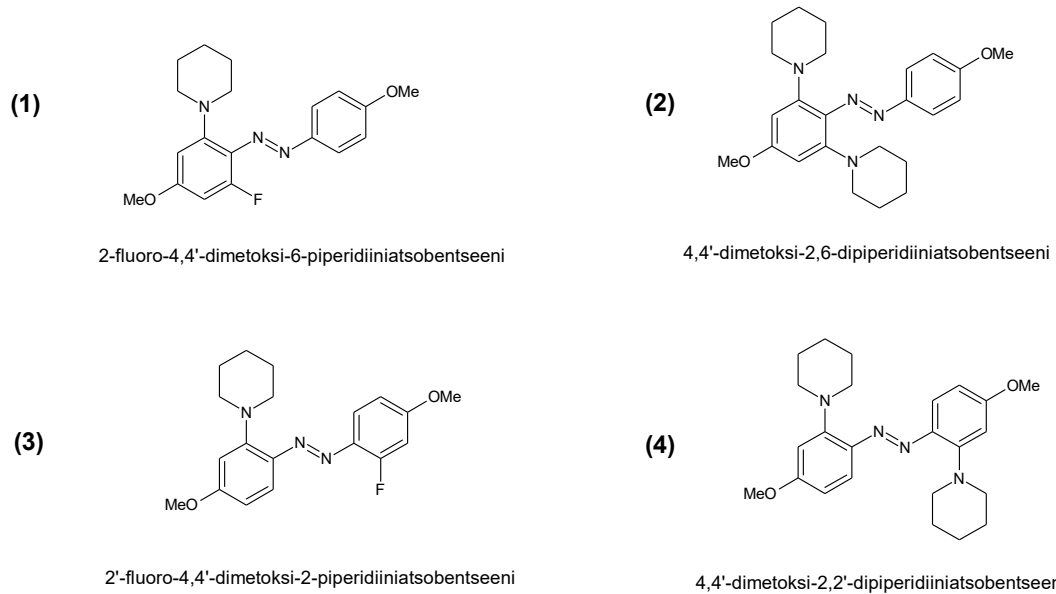
Kokeellisen työn aikana reaktioiden seurantaan ja molekyylien erottamiseen käytettiin ohutlevykromatografiaa (TLC). Ohutlevykromatografiassa TLC-levylle laitetaan tutkittavia aineita tai seoksia pisteinä lähelle levyn alalaitaa. Levy asetetaan ajokammioon, jonka pohjalla on eluenttia eli liuokseen. Eluentin annetaan nousta levyä pitkin ylöspäin, jolloin eri aineet liikkuvat levyllä eri nopeudella. Levy otetaan pois ajokammioista, kun eluentti saavuttaa levyn yläreunan tai on lähellä sitä. UV-valon alla, värjäysliuoksella tai joidenkin aineiden tapauksessa paljain silmin nähdään, kuinka aineet ovat liikkuneet levyllä. Näin kytään erottamaan esimerkiksi mitä aineita seoksessa oli.

Pylväskromatografia on puhdistusmenetelmä, joka perustuu samaan erotusmenetelmään kuin TLC. Pylväskromatografiassa pylvääseen täytetään silica geelin ja käytetyn eluentin seosta. Täytettävän seoksen määrä riippuu puhdistettavan aineen määrästä ja seoksen osien erottuvuudesta. Puhdistettava aine liuotetaan mahdollisimman pieneen määrään liuotinta ja siirretään pylvään päälle. Pylvään läpi valutetaan valittua eluenttia, jonka mukana puhdistettava(t) aine erottuu muista seoksen komponenteista.

NMR on lyhenne sanoista nuclear magnetic resonance, eli ydinmagneettinen resonanssi. Se on menetelmä, jossa näytettä säteilytetään suuressa magneettikentässä. Säteilytys aiheuttaa muutoksia ytimien spin-tiloilla, ja ydin emittoi magneettisen signaalin. Saadusta NMR-spektristä voidaan tulkita mitatun alkuaineen määrät eri sitoutumisilla ja geometrioilla, ja näin määrittää näytteen sisältämän aineen rakenne.[18]

3.2. Syntetisoidut molekyylit

Tutkittujen molekyylien rakenteet on esitetty kuvassa 3.1. Molekyylejä on kahden sijasta neljä, sillä synteesien edetessä huomattiin, että kaksi piperidiiniä sisältäviä molekyylejä syntyi joko olosuhteiden johdosta tai sivutuotteina.

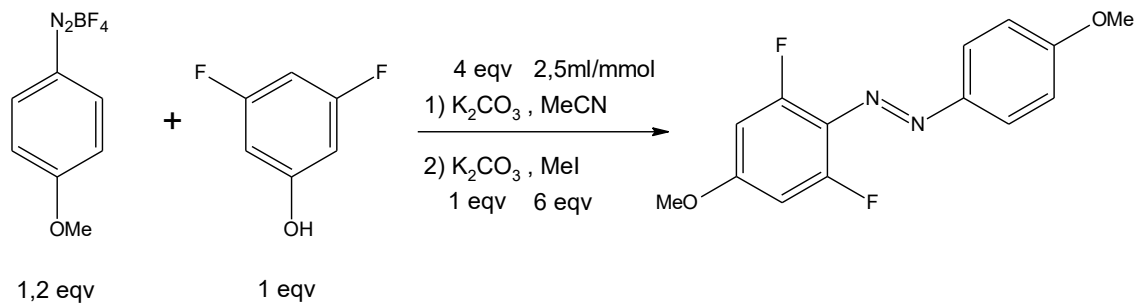


Kuva 3.1 Syntetisoidut molekyylit, viitataan myöhemmin numeroinnin perusteella

Kaikkien molekyylien synteesi aloitettiin difluorinoitujen atsobentseenimolekyylien synteesistä. Näissä synteeseissä saaduista molekyyleistä korvattiin joko toinen tai kummatkin fluoriatomit piperidiinillä. Kaikki molekyylit liukenevat orgaanisiin liuottimiin, mutta eivät veteen. Kuvataan seuraavaksi toteutetut synteesireaktiot.

3.3. Substituentit samassa renkaassa

Synteesi aloitettiin difluorinoidun atsobentseenin synteesistä, joka on kuvattu kuvassa 3.2. Tämän jälkeen korvattiin toinen fluoriatomi piperidiinillä, samassa reaktiossa korvautui osasta molekyyleistä kumpikin fluoriatomi.



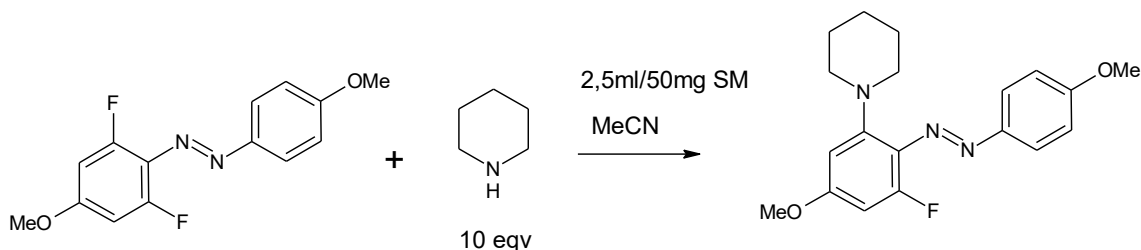
Kuva 3.2 Synteesin ensimmäinen vaihe, reaktio 1

Reaktion 1 ensimmäisessä vaiheessa 3,5-difluorofenoli ja diatsoniumsuola liuotettiin asetonitriiliin sekä lisättiin kaliumkarbonaattia. Reaktio pidettiin huoneen lämpötilassa 30 minuuttia. Tässä vaiheessa muodostuu atsosilta bentseenirenkaiden välille, fenolin hydroksiryhmä ohjaa typen reagoimaan para-asemassa olevaan hiiliatomiin.

Toisessa vaiheessa reaktioseokseen lisättiin kaliumkarbonaattia ja metyylijodidia. Reaktioseosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön yli. Tässä vaiheessa fluorinoidussa renkaassa oleva hydroksiryhmä korvautuu metoksyryhmällä.

Reaktioseos erotettiin käyttäen 50ml etyyliasetaattia, pestiin 50ml:lla vettä 4 kertaa. Käytetty vesi pestiin kerran 20ml:lla etyyliasetaattia, etyyliasetaatti kerättiin yhteen ja kuivattiin käyttäen natriumsulfaattia. Kuivattu etyyliasetaattia haihdutettiin rotavaporissa.

Raakatuote liuotettiin pieneen määrään dikloorimetaania ja puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen 10% etyyliasetaatti: heksaani -seosta. Tuotteen puhtaus varmistettiin NMR:llä, ja sitä käytettiin lähtöaineena seuraavaan reaktioon.



Kuva 3.3 Reaktio 2, tavoitteena molekyyli **1**

Reaktiota 2 yritettiin eri menetelmillä, joista seuraavaksi kuvattu toimi parhaiten. Lähtöaine liuotettiin asetonitriiliin, ja reaktioseokseen lisättiin 10 ekvivalenttia piperidiiniä. Reaktioseosta sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen lisättiin vielä ylimäärä piperidiiniä ja jatkettiin sekoittamista huoneen lämpötilassa 2h.

Reaktio pysäytettiin lisäämällä 75ml etyyliasetaattia, etyyliasetaatista pestiin 2 kertaa 75ml:lla vettä. Käytetty vesi pestiin kerran noin 10ml:lla etyyliasetaattia, etyyliasetaatista kerättiin yhteen ja kuivattiin natriumsulfaatilla. Kuivattu etyyliasetaatista haihdutettiin rotavaporilla. Ohutlevykromatografialla huomattiin, että raakatuote sisältää kahta eri molekyyliä sekä pieniä epäpuhtauksia ja mahdollisia jäämiä piperidiinistä

Raakatuote liuotettiin pieneen määrään dikloorimetaania ja puhdistettiin pylväskromatografialla. Puhdistus aloitettiin 5% etyyliasetaatista: heksaani -liuoksella ja kun ensimmäiseksi eroava osa oli saatu kokonaan, jatkettiin pylvästä 10% etyyliasetaatista: heksaani liuoksella toisen osan erottamiseksi.

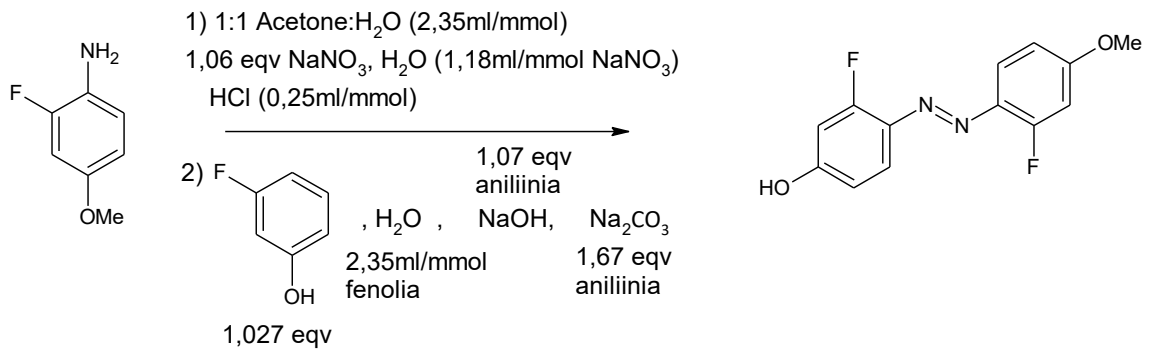
NMR:llä todettiin, että ensimmäisenä eronnut osa oli haluttu molekyyli **1**, ja sivutuotteena erottui molekyyli **2**. Lisäksi todettiin, että molekyylin **1** seassa oli vielä lähtöainetta, joten toistettiin pylväskromatografia molekyylille **1**. Lopputuloksena reaktion saanto oli n. 70%, josta molekyyliä **1** oli n. 58mol-% ja molekyyliä **2** n. 42mol-%.

Molekyylille **1** ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 7,91(\text{d}, J = 9,00 \text{ Hz}, 2\text{H})$, $7,12(\text{d}, J = 9,00 \text{ Hz}, 1\text{H})$, $7,01(\text{d}, J = 9,00 \text{ Hz}, 2\text{H})$, $6,77(\text{d}, J = 9,00 \text{ Hz}, 1\text{H})$, $6,39\text{--}6,30(\text{m}, 3\text{H})$, $6,24\text{--}6,03(\text{m}, 1\text{H})$, $3,89(\text{s}, 3\text{H})$, $3,83(\text{s}, 3\text{H})$, $3,06(\text{t}, J = 6,00 \text{ Hz}, 4\text{H})$, $2,18(\text{s}, 1\text{H})$, $1,75\text{--}1,72(\text{m}, 4\text{H})$, $1,65\text{--}1,61(\text{m}, 6\text{H})$. ^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 161,67$; $160,70$; $159,38$; $155,63$; $152,21$; $148,03$; $124,18$; $122,24$; $114,13$; $113,35$; $199,56$; $94,92(\text{d}, J = 24,75\text{Hz})$; $55,55$; $54,19$; $52,22$; $26,24$; $24,29$. ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3): $\delta = -118,99$, $-122,17(\text{d}, J = 11,28 \text{ Hz})$.

Molekyylille **2** ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 7,93(\text{d}, J = 9,00 \text{ Hz}, 2\text{H})$, $7,01(\text{d}, J = 9,00 \text{ Hz}, 2\text{H})$, $6,31(\text{s}, 2\text{H})$, $3,89(\text{s}, 3\text{H})$, $3,84(\text{s}, 3\text{H})$, $2,97(\text{t}, J = 6,00 \text{ Hz}, 8\text{H})$, $1,69\text{--}1,61(\text{m}, 8\text{H})$, $1,54\text{--}1,50(\text{m}, 4\text{H})$. ^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 160,75$; $160,51$; $149,07$; $148,53$; $133,28$; $123,71$; $113,95$; $98,21$; $55,34(\text{d}, J = 20,25 \text{ Hz})$; $54,29$; $29,70$; $26,26$; $24,41$.

3.4. Substituentit eri renkaissa

Molekyylien synteesi aloitettiin atsobentseenin synteesisistä. Kuvassa 3.4 on esitetty ensimmäinen reaktio, jossa saadaan difluoroinoitu atsobentseeni siten että fluoriatomit ovat eri renkaissa.



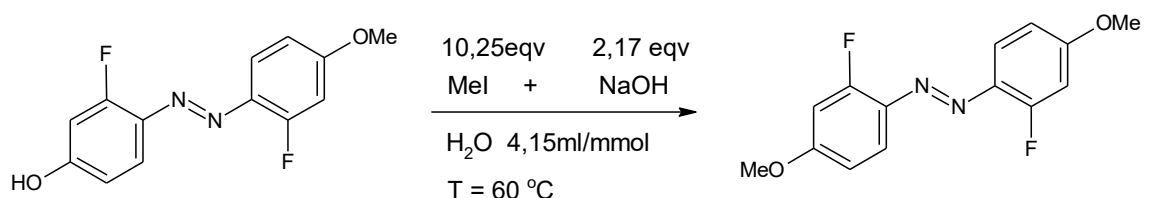
Kuva 3.4 Reaktio 3, difluorinoidun atsobentseenin synteesi

Reaktion aluksi 2-fluoro-4-metoksianiliini liuotettiin asetoni: vesi seokseen, lisättiin väkevää suolahappoa ja jäähdytettiin seos 0 °C lämpötilaan. Lisättiin kylmä T = 0 °C natriumnitriittiliuos reaktioseokseen (A) ja sekoitettiin jäävesihauteessa (T = 0 °C) 15min.

Valmistettiin seos B; 3-fluorofenoli liuotettiin veteen, lisättiin kiinteä natriumhydroksidi ja natriumkarbonaatti sekä jäähdytettiin seos jäävesihauteessa lämpötilaan T = 0 °C. Reaktion toisessa vaihessa lisättiin seos A hitaasti seokseen B, ja sekoitettiin näin saatua reaktioseosta 30min, T = 0 °C.

Reaktio pysäytettiin lisäämällä etyyliasettaattia. Etyyliasettaatti yritettiin pestä vedellä, mutta vesi ja etyyliasettaatti eivät eronneet toisistaan, joten käytettiin brine-liuosta. Pestiin etyyliasettaatti brine-liuoksella kolmesti ja kuivattiin natriumsulfaattilla. Kuiva etyyliasettaatti haihdutettiin rotavaporilla.

Raakatuote puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen aluksi 10%, loppuvaiheessa 20% etyyliasettaatti: heksaani -seosta. 1,0 grammasta aniliinia ja 855mg:sta fenolia saatiin puhdasta atsobentseeniä 1,288g. Toisessa renkaassa on vielä hydroksiryhmä, joka korvataan seuraavalla reaktiolla metoksiyryhmäksi.

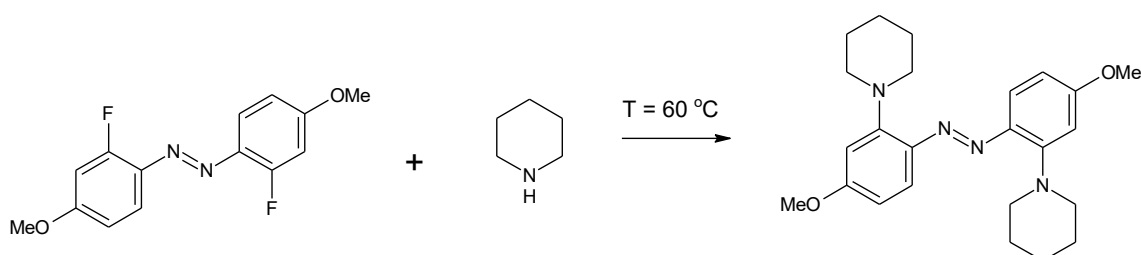


Kuva 3.5 Reaktio 4, molekyylin 3 lähtöaineen valmistamiseksi

Reaktiossa lähtöaine lisättiin veteen, jonne oli liuotettu kiinteä natriumhydroksidi. Seokseen lisättiin metyyljodidi ja sekoitettiin yön yli lämmitettynä. TLC levyllä

huomattiin, että lähtöainetta on vielä runsaasti, joten lisättiin 4 ekvivalenttia metyylijodidia ja sekoitettiin lämmitettynä 4h. Vieläkin huomattiin lähtöainetta olevan reilusti, joten lisättiin 10 ekvivalenttia metyylijodidia ja sekoitettiin lämmitettynä viikonlopun yli.

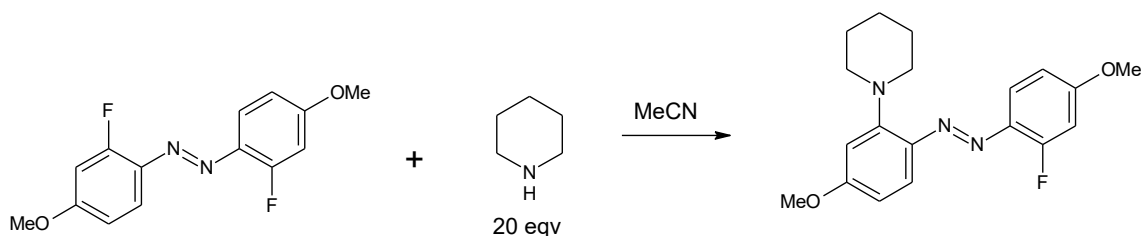
Viikonlopun jälkeen huomattiin, että vesiliuos oli lähes puhdasta, ja reaktioastiassa oli tummahko kiinteä faasi. Lisättiin etyyliasetaattia ja pestiin seos vedellä kaksi kertaa. Etyyliasetaatti kuivattiin natriumsulfaatilla ja haihdutettiin rotavaporilla. Saatu tuote liuotettiin pieneen määrään kloroformia ja puhdistettiin pylväskromatografialla. Huomattiin reaktion saannon olevan miltei 100%, varmistettiin tuotteen puhtaus ja rakenne vielä NMR:llä.



Kuva 3.6 Reaktio 5, tavoitteena molekyyli 3

Reaktiossa 5 tavoitteena oli korvata vain toinen fluoriatomi. Piperidiinin matalan reaktiivisuuden ja aikaisemmin tehdyn reaktion perusteella käytettiin aluksi pelkkää piperidiiniä ilman varsinaista liuotinta. Reaktiossa 40mg lähtöainetta liuotettiin 2ml:aan piperidiiniä ja sekoitettiin lämmitettynä yön yli. Reaktio pysäytettiin lisäämällä etyyliasetaattia, etyyliasetaatti pestiin vedellä kahdesti ja kuivattiin natriumsulfaatilla. Kuiva etyyliasetaatti haihdutettiin rotavaporilla.

Tuotteesta tehdyn NMR:n perusteella huomattiin, ettei se sisällä enää fluoria, vaan kummatkin fluoriatomit korvautuivat piperidiinillä. Reaktion saanto oli kuitenkin erittäin hyvä. Molekyylille 4 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 7,71$ (d, $J = 9,00$ Hz, 2H), 6,59-6,53 (m, 4H), 3,86 (s, 6H), 3,19 (t, $J = 6,00$ Hz, 8H), 1,88-1,81 (m, 8H), 1,68-1,62 (m, 4H). ^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 161,96$; 152,96; 139,42; 118,06; 106,36; 104,27; 55,33; 54,60; 26,32; 24,40. Seuraavassa reaktiossa käytettiin liuotinta ja pienempi määrä piperidiiniä, tavoitteena saada molekyyliä 3.



Kuva 3.7 Reaktio 6, tavoitteena molekyyli 3

Reaktiossa 6 lähtöaine liuotettiin asetonitriiliin ja lisättiin piperidiini seokseen. Sekoitettiin reaktiota huoneen lämpötilassa, ja seurattiin sen etenemistä TLC:llä tunnin

välein. 8h jälkeen vaikutti yhä siltä, ettei tuotetta ole juurikaan muodostunut. Jatkettiin sekoittamista yön yli huoneen lämpötilassa. Aamulla TLC perusteella oli hankala sanoa, onko tuotetta muodostunut vai ei. Lisättiin vielä toinen 20 ekvivalenttia piperidiiniä ja sekoitettiin huoneen lämpötilassa 2h.

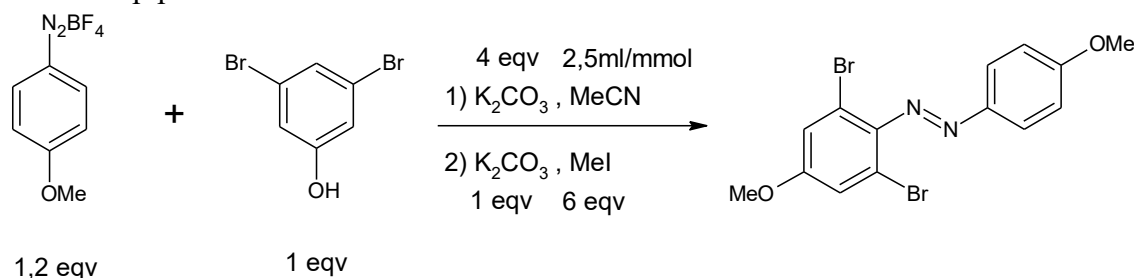
TLC-levyllä ei yhäkään näkynyt eroa, mutta pysäytettiin reaktio lisäämällä etyyliasetaattia. Pestiin etyyliasetaatti vedellä kahdesti ja kuivattiin natrium sulfaattilla. Tehtiin TLC lähtöaineesta ja kuivasta etyyliasetaatista. Huomattiin ettei aineiden välillä ole juurikaan eroa, mutta reaktiotuotteen väri on punainen, kun lähtöaine on kellertävä.

Tehtiin puhdistamattomasta tuotteesta NMR näyte, jonka perusteella huomattiin, että tuotetta on muodostunut. Tuote ei kuitenkaan ollut puhdasta, vaan lähtöainetta oli epäpuhtautena. Liuotettiin tuote kloroformiin puhdistusta varten. Puhdistettiin tuote pylväskromatografialla käyttäen 5% etyyliasetaatti: heksaani -seosta, pylvästä ajaessa huomattiin ensimmäisenä tulevan pieni vaaleampi keltainen osa. Lähtöaineen ja oletetun tuotteen värieron perusteella pidettiin ensin tullut keltainen osa ja tämän jälkeen saatu punainen osa erillään. Tehtiin punaisesta osasta NMR näyte, ja todettiin että se on puhdasta ja haluttua tuotetta.

Molekyylille **3** ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 7,82-7,72$ (m, 2H), 6,79-6,74 (m, 2H), 6,58-6,51 (m, 2H), 3,87 (s, 3H), 3,86 (s, 3H), 3,21 (t, $J = 6,00$ Hz, 4H), 1,86-1,78 (m, 4H), 1,66-1,62 (m, 2H). ^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 162,77$; 162,55; 162,25; 162,21; 159,15; 153,30; 139,34; 135,49 (d, $J = 6,75$ Hz); 118,74 (d, $J = 2,25$ Hz); 118,46; 110,65; 110,62; 106,47; 104,18; 101,71; 55,78; 55,38; 54,52; 29,68; 26,31; 24,37. ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3): $\delta = -122,17$, $-122,20$.

3.5. Bromi-substituentti

Työssä syntetisoitiin tahattomasti molekyyli, jossa oli bromiatomi fluoriatomin sijasta. Synteesi on kuvattu kuvassa 3.8 ja kuvassa 3.9 on reaktio, jossa toinen bromiatomi korvattiin piperidiinillä.

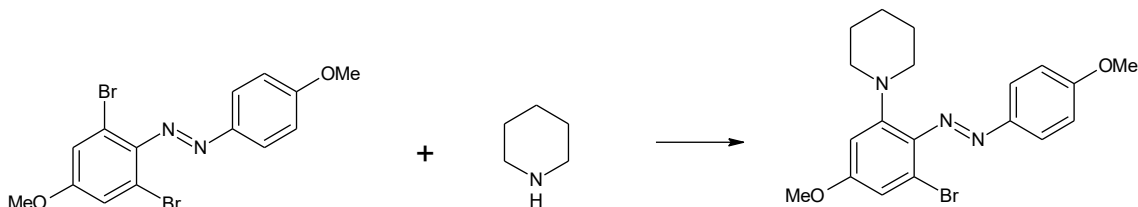


Kuva 3.8 Reaktio 7, dibromi-substituoidun atsobentseenin synteesi

Reaktion ensimmäisessä vaiheessa 3,5-dibromofenoli ja diatsoniumsuola liuotettiin asetonitriiliin sekä lisättiin kaliumkarbonaatti. Reaktio pidettiin huoneen lämpötilassa

30 minuuttia. Toisessa vaiheessa reaktioseokseen lisättiin kaliumkarbonaattia ja metyylijodidia. Reaktioseosta sekoitettiin huoneen lämpötilassa yön yli.

Reaktioseos erotettiin käyttäen 50ml etyyliasetaattia, pestiin 50ml:lla vettä 4 kertaa. Käytetty vesi pestiin kerran 20ml:lla etyyliasetaattia, etyyliasetaatti kerättiin yhteen ja kuivattiin käyttäen natriumsulfaattia. Kuivattu etyyliasetaattia haihdutettiin rotavaporissa. Raakatuote liuotettiin pieneen määrään dikloorimetaania ja puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen 10% etyyliasetaatti: heksaani -seosta.



Kuva 3.9 Reaktio 8, piperidiinin vaihto bromin tilalle, tuotteena molekyyli 5.

Reaktiossa lähtöaine liuotettiin 10 eqv piperidiiniä, ja sekoitettiin huoneen lämpötilassa 2h. TLC-levyllä reaktio ei ollut edennyt, joten lisättiin 10eqv piperidiiniä ja lämmitettiin 60 °C 2h. TLC-levyllä ei vielä näkynyt reaktiota, joten lisättiin 1,8ml piperidiiniä ja sekoitettiin yön yli 60 °C lämpötilassa.

Raakatuote erotettiin etyyliasetaatilla ja pestiin vedellä kolmesti. Etyyliasetaatti kuivattiin natriumsulfaatilla, ja kuiva etyyliasetaatti haihdutettiin rotavaporilla. Tuote liuotettiin pieneen määrään dikloorimetaania ja puhdistettiin pylväskromatografialla käyttäen 10% etyyliasetaatti: heksaani seosta. 40mg:sta lähtöainetta saatiin puhdasta molekyyliä 5 19mg.

Molekyyylille 5 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 7,96$ (d, $J = 9,00$ Hz, 2H), 7,04-7,00 (m, 3H), 6,84 (d, $J = 3,00$ Hz, 1H), 6,72-6,69 (m, 1H), 6,58 (d, $J = 3,00$ Hz, 1H), 6,27 (d, $J = 3,00$ Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,76 (d, $J = 3,00$ Hz, 2H), 2,91 (t, $J = 6,00$ Hz, 5H), 1,59-1,43 (m, 10H). ^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3 , TMS): $\delta = 162,11$; 159,54; 148,60; 124,44; 122,96; 114,19; 112,81; 111,16; 105,63; 105,35; 55,57 (d, $J = 6,75\text{Hz}$); 55,35; 53,42; 51,87; 26,05; 25,94; 24,15; 24,03.

4. SPEKTROSKOOPPINEN KARAKTERISOINTI

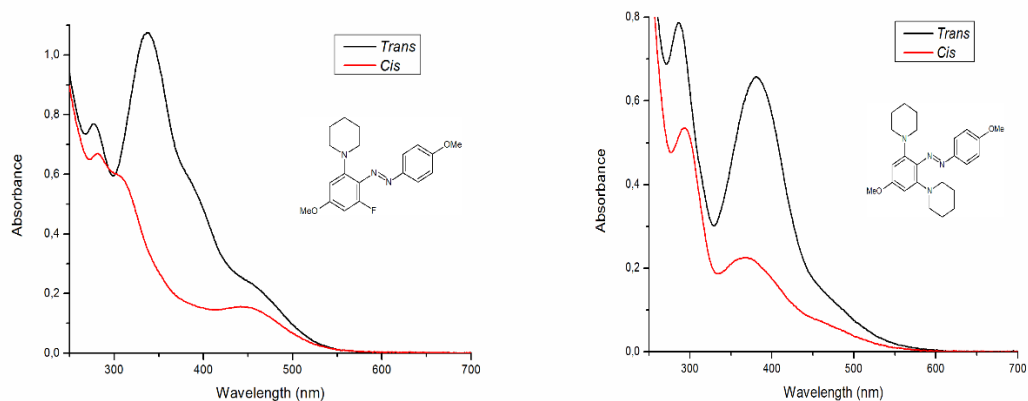
4.1. Absorptiospektrit

Karakterisoinnissa määritettiin syntetisoitujen molekyylien absorptiomaksimit, molaariset absorptiokertoimet sekä *cis*-isomeerin elinajat. Molaarinen absorptiokerroin ϵ saadaan Lambert-Beerin laista

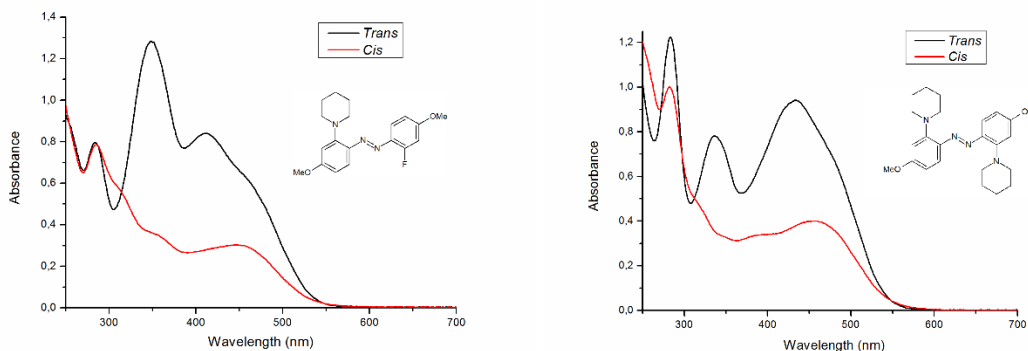
$$A = \epsilon cl$$

jossa A on absorbanssi, c on liuoksen konsentraatio ja l valon liuoksessa kulkema matka. Jokaisesta molekyylistä valmistettiin asetonitriililiuos, siten että absorbanssi on lähellä aluetta 0,8-1,0. Liuosten konsentraatiot olivat välillä 49-77 μM .

Mittaukset suoritettiin Cary 60 UV-vis-spektrofotometrillä, jolla mitattiin jokaiselle molekyyylille absorptiospektrit. *Trans*-spektri saatiin, kun näytteiden annettiin olla pimeässä tai niitä lämmitettiin termisen relaksaation nopeuttamiseksi. *Cis*-spektriä varten näytteitä säteilytettiin 420nm aallonpituudella n. 40mW teholla minuutin ajan, jolloin *cis*-spektri ei enää muuttunut. Molekyyliä **1** (kuva 4.1 vasemmalla) säteilytettiin 375nm aallonpituudella, koska absorptio on huomattavasti heikompi 420nm kohdalla.



Kuva 4.1 Molekyylien **1** (vasemmalla) ja **2** (oikealla) *trans*- ja *cis*-isomeerien absorptiospektrit



Kuva 4.2 Molekyylien **3** (vasemmalla) ja **4** (oikealla) *trans*- ja *cis*-isomeerien absorptiospektrit

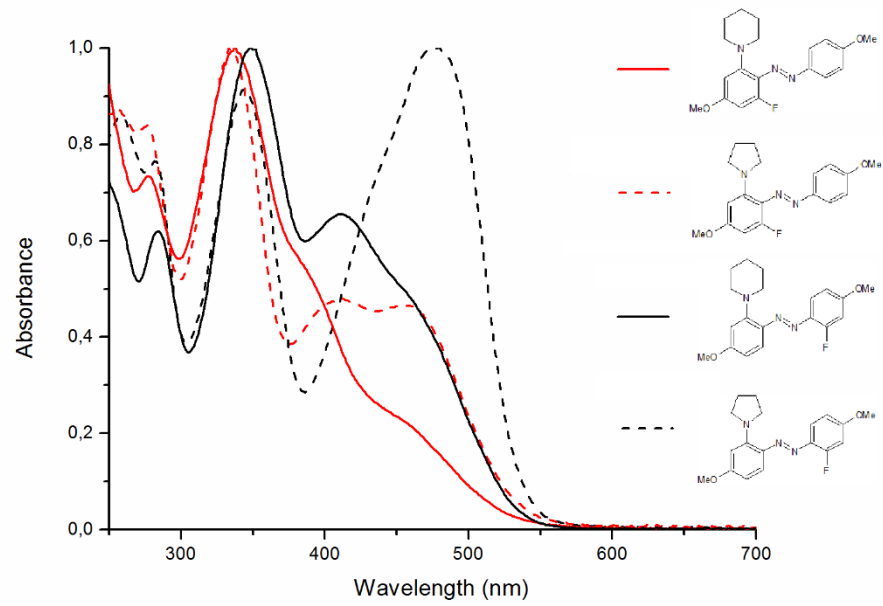
Huomattavaa saaduissa spektreissä on, että *cis*-tilan spektrit ovat fotostationääriseen tilaan spektrijä, sillä *cis*-isomeeri absorboi myös viritusaallonpituutta. *Cis*-isomeerin osuutta ei arvioitu, mutta artikkelissa [4] vastaavien molekyylien tapauksessa osuus oli 62-80%. Kuvista 4.1 ja 4.2 huomataan, että kun substituentit ovat samassa renkaassa, absorptiomaksimi on lyhyemmällä aallonpituuksilla. Lisäksi kaksi piperidiiniä sisältävien molekyylien absorptio on pidemmällä aallonpituuksilla kuin fluori- ja piperidiini substituoidulla molekyyllillä. Kaikkien molekyylien tapauksessa *cis* ja *trans* $n \rightarrow \pi^*$ transition aallonpituudet menevät päällekkäin.

Jokaisesta spektristä saatiin molekyylien absorptiomaksimien aallonpituudet, ja laskettiin molaariset absorptiokertoimet näille aallonpituuksille. Jokaisella molekyyllillä on absorptiopiikki noin 285nm kohdalla, tätä ei käsitellä eikä mainita seuraavassa taulukossa.

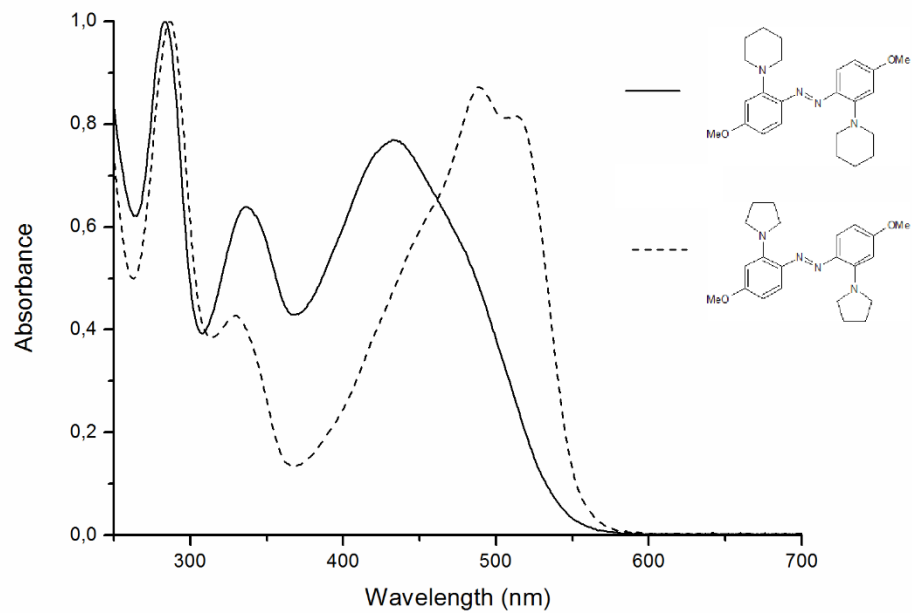
Taulukko 4.1 Molekyylien absorptiomaksimien aallonpituudet λ_{max} (nm) sekä molaariset absorptiokertoimet ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$)

Molekyyli	λ_{max} (nm)	ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$)
1	337	15930
2	380	13480
3	349/411	16610/10890
4	336/434	10110/12160

Molekyylin **1** sekä molekyylien **3** ja **4** ensimmäiset absorptiomaksimit ovat UV-alueella. Tästä huolimatta molekyyli **1** absorboi valoa 500nm aallonpituuteen saakka. Molekyylin **2** absorptio on vahvin näkyvän valon ja UV-alueen rajalla. Molekyyleillä **3** ja **4** absorptio on vahvaa sinisillä aallonpituuksilla, mutta maksimit ovat lyhyemmällä aallonpituuksilla kuin pyrrolidiini-amiinilla substituoiduilla molekyyleillä [4]. Kuvassa 4.3 nähdään vertailu aikaisempien ja työssä syntetisoitujen molekyylien välillä.



Kuva 4.3 Vertailu normalisoiduissa *trans*-absorptiospektreissä, kun amiini muuttuu molekyyileissä, joissa on fluoria



Kuva 4.4 Normalisoitujen *trans*-absorptiospektrien vertailu kaksi eri amiiniryhmää sisältävien atsobentseenimolekyylien välillä

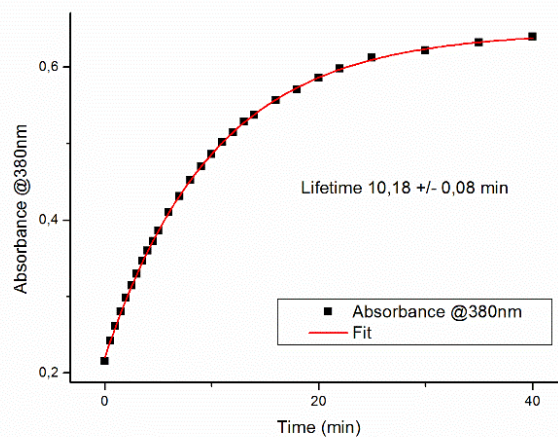
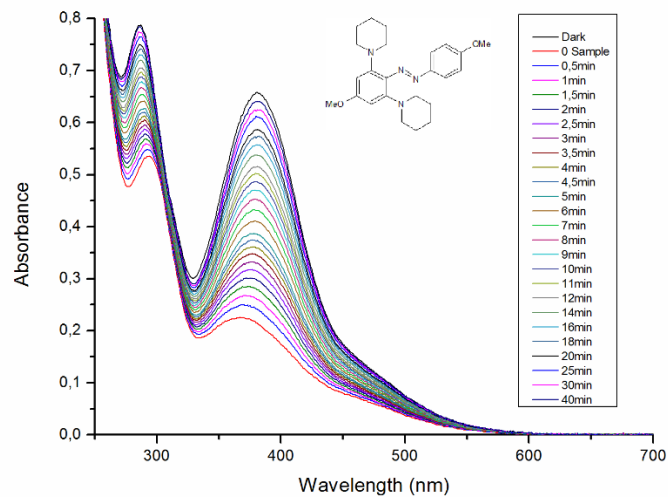
Kuvista huomataan, että $\pi \rightarrow \pi^*$ transition aallonpituus ei juuri muutu, kun amiini muuttuu pyrrolidiinista piperidiiniksi. $n \rightarrow \pi^*$ transition aallonpituus on selvästi pidempi molekyyllillä, jossa amiinina on pyrrolidiini. Substituenttien sijoittaminen eri renkaaseen vahvistaa absorptiota hieman pidemmillä aallonpituuksilla, mutta absorptio lähenee nolaa samoilla aallonpituuksilla.

4.2. Elinajan määrittäminen

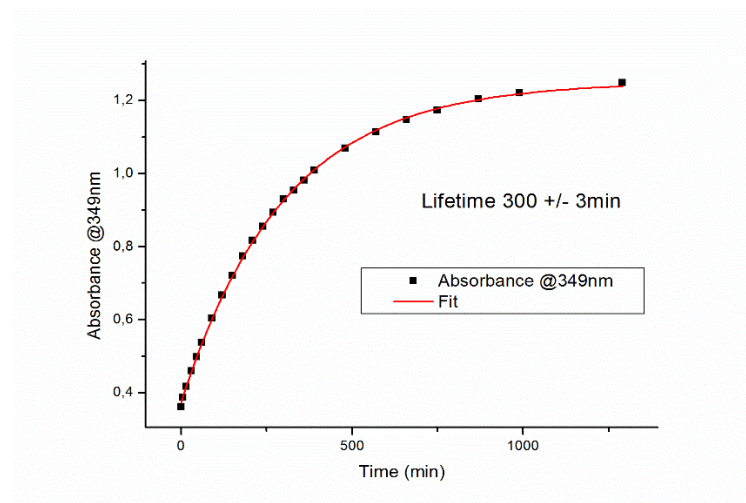
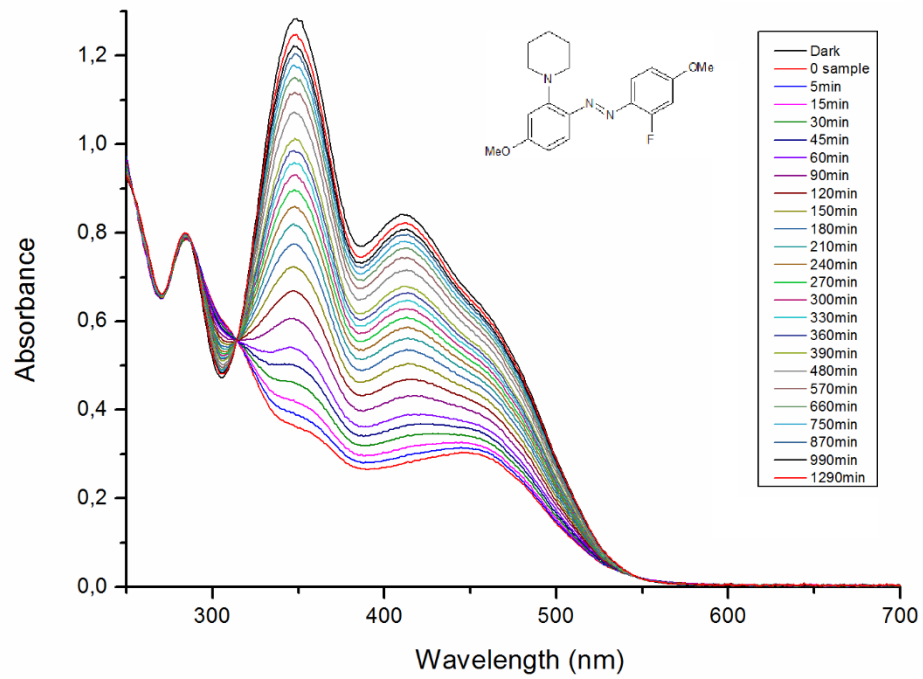
Molekyylien elinajan määrittäminen UV-vis spektrien avulla. Näytettä säteilytettiin samalla aallonpituudella kuin spektrien määrittämisessä, ja spektrit mitattiin tarvittavin aikaväleillä uudelleen. Valittiin aallonpituus, jolla muutos oli suurinta, ja piirrettiin tämän aallonpituuden absorptiospektrin ajan funktiona. Tästä määritettiin elinajan τ Origin 8 ohjelmalla eksponentiaalisen hajoamisen

$$A = A_0 e^{-t/\tau}$$

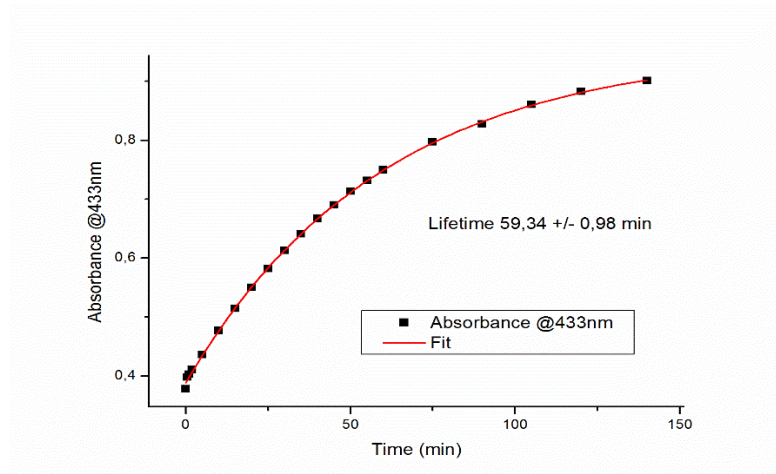
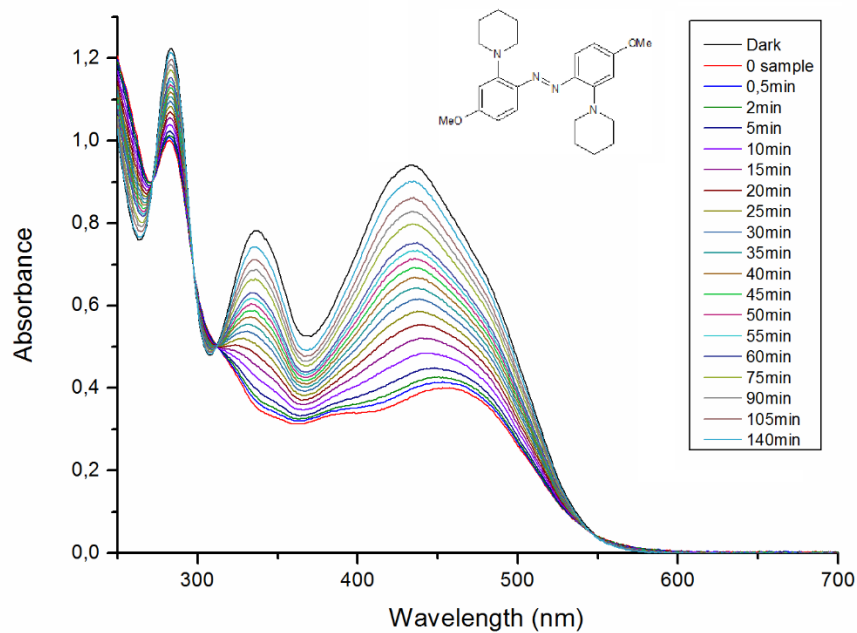
sovitteella. Molekyylien 2, 3 ja 4 elinajat määritettiin 49-77 μM asetonitriiliuoksessa huoneen lämpötilassa 25 °C. Kuvissa 4.5-4.7 näkyy ensin, kuinka absorptiospektri palautuu *trans*-tilan spektriin säteilytyksen jälkeen, ja tämän alla kyseiselle molekyylille tehty elinajan sovite.



Kuva 4.5 Molekyylin 2 absorptiospektri eri mittausajoilla (yllä) sekä elinajakuvaaja (alla)



Kuva 4.6 Molekyylin 3 absorptiospektri (yllä) eri mittausajoilla sekä elinaikakuvaaja (alla)



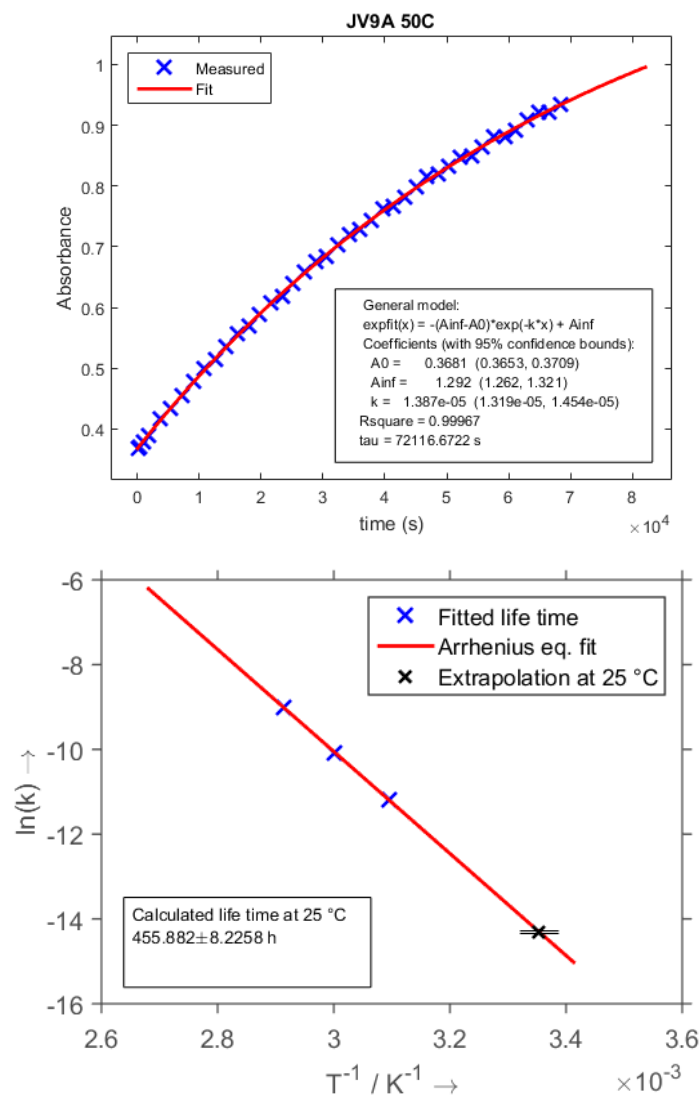
Kuva 4.7 Molekyylin **4** absorptiospektri (yllä) eri mittausajoilla sekä elinaikakuvaaja (alla)

Molekyylin **2-4** elinajat saatiin määritettyä luotettavasti huoneenlämpötilassa. Saadut elinajat ovat merkittävästi pidempiä kuin vastaavilla pyrrolidiini-substituoiduilla molekyyleillä. Pyrrolidiinin tapauksessa molekyylä **2** vastaava rakenne oli epävakaa ja se hajosi jo puhdistusvaiheessa, kun molekyylin **2** elinaika on 10,18min. Molekyylin **4** elinajaksi saatiin 59,34min, kun vastaavan rakenteen elinaika oli pyrrolidiini amiinilla 1,2s [4].

Molekyylille **3** saatu elinaika 300min on merkittävästi pidempi kuin jos amiinina on pyrrolidiini, jolloin elinaika on 258s. Kuitenkin jos molekyylissä on vain yksi piperidiini substituenttina ilman fluoria, on sen elinaika yli 9h [4].

Molekyylin **1** tapauksessa elinajan mittaus huoneen lämpötilassa olisi oletettavasti erittäin pitkä, joten mitattiin elinajat kolmessa lämpötilassa 50 °C, 60 °C ja

70 °C. Saatujen tulosten avulla redusointiin elinaika huoneen lämpötilaan Arrheniuksen yhtälön avulla. Kuvassa 4.8 on ensin elinajansovite 50 °C lämpötilassa, jonka jälkeen huoneen lämpötilaan redusoinnin kuvaaja.

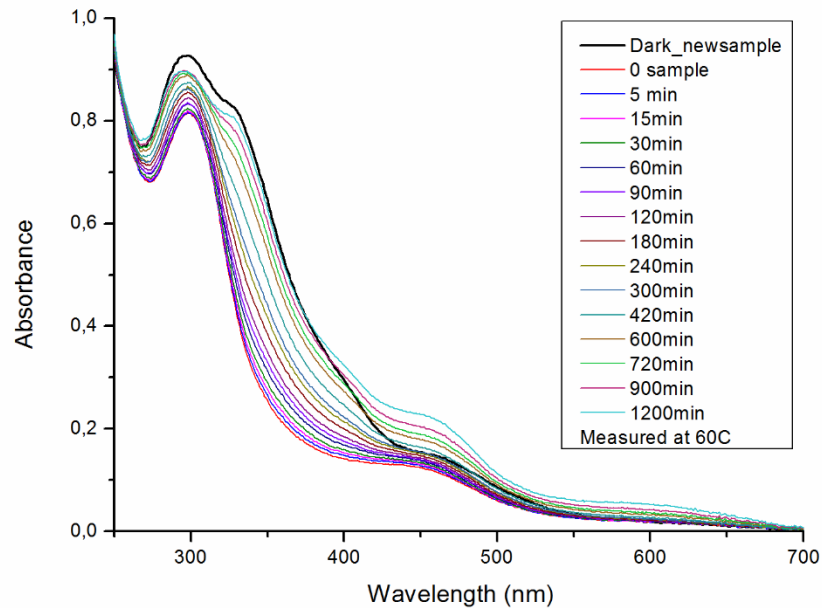


Kuva 4.8 Molekyylin **1** elinajan sovite lämpötilassa 50 °C (yllä) ja huoneen lämpötilaan redusoinnin kuvaaja (alla)

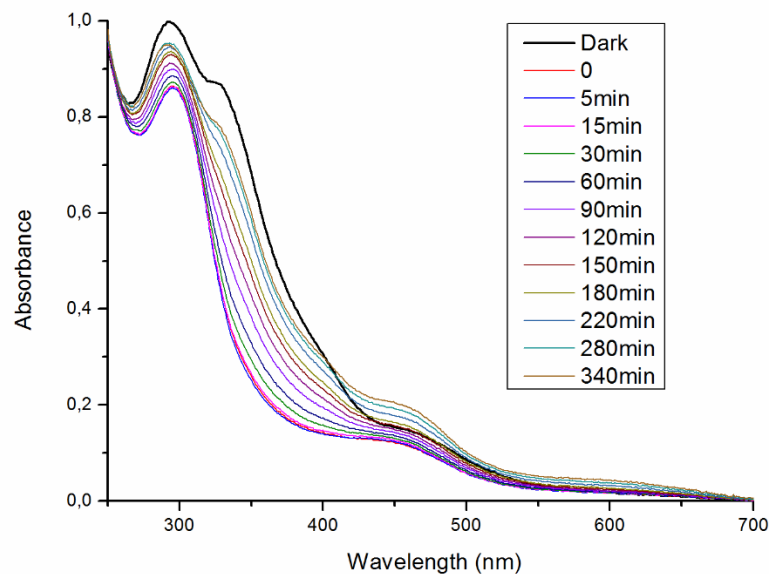
Kuvasta huomataan, että sekä yksittäisen lämpötilan mittausta, että ekstrapolointi huoneen lämpötilaan antaa erinomaisen sovituksen. Molekyylin **1** elinaika 445h on yli kuusinkertainen verrattuna vastaavaan rakenteeseen, jossa amiinina on pyrrolidiini ($\tau = 72\text{h}$). Elinaika on samaa luokkaa kuin molekyylillä, jossa on kaksi fluoriatomia samassa renkaassa, joten piperidiini amiinina ei tässä rakenteessa lyhennä elinaikaa merkittävästi. Absorptio siirtyy näkyvän valon aluetta kohti, vaikka maksimi on lyhyemmällä aallonpituudella kuin ilman amiinia. [4]

4.3. Bromisubstituoitu molekyyli

Molekyylille 5 yritettiin suorittaa elinajan mittaus kolmessa lämpötilassa: 50 °C, 60 °C ja 70 °C. Näytettä säteilytettiin 375nm aallonpituudella 1 minuutti, jonka jälkeen mitattiin 0-näyte. Kuvasta 4.10 näkyy ensimmäinen mittaus lämpötilassa 60 °C ja toinen mittaus lämpötilassa 70 °C samalla näytteellä kuvassa 4.8.

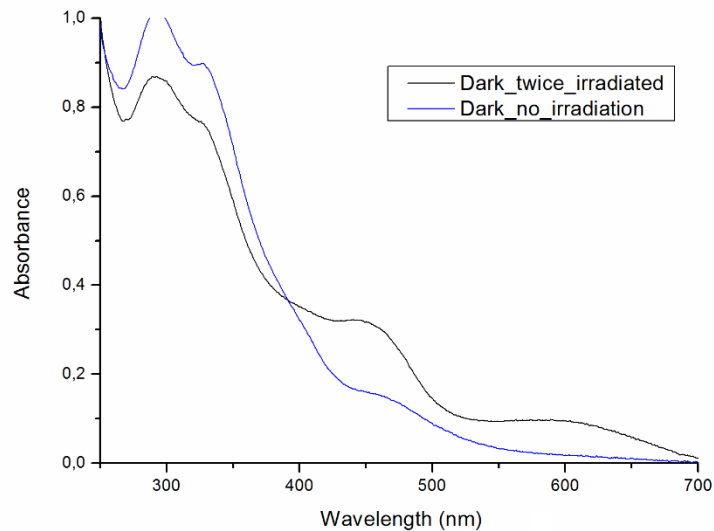


Kuva 4.9 Molekyylin 5 absorptiospektri, kun näytettä ei ole säteilytetty aiemmin



Kuva 4.10 Molekyylin 5 absorptiospektri 70 °C lämpötilassa, kun näytettä oli säteilytetty kerran aiemmin.

Kuvista huomataan, että molekyyli ei palaudu alkuperäiseen tilaansa säteilytyksen jälkeen. Molekyyli kuitenkin palautuu kohti jotain tilaa, jolla on selvä absorptio koko näkyvän valon aallonpituusalueella. Kuvassa 4.11 on kaksi *trans*-spektriä samasta näytteestä, ennen säteilytystä sekä kahden säteilytyksen jälkeen.



Kuva 4.11 Saman näytteen kaksi *trans*-spektriä, sininen viiva uudesta näytteestä ja musta viiva kahden säteilytyksen jälkeen

Molekyylille **5** ei voida suoritettujen mittausten avulla määrittää elinaikaa, sillä se ei palaudu lyhyiden säteilytysten jälkeen samaan tilaan kuin aluksi. Tila, johon molekyyli palaa säteilytyksen jälkeen, vaikuttaa kuitenkin stabiililta. Mittaukset suoritettiin neljän vuorokauden aikana, ja toisen säteilytyksen jälkeinen tila pysyi stabiilina.

Bromin on huomattu aiheuttavan halogeenisitoutumista molekyylien välillä [19], tämä voi olla mahdollinen selitys miksei molekyyli palautunut alkuperäiseen tilaansa. Säteilytyksen jälkeisessä *cis*-tilassa *orto*-asemassa oleva bromiatomi voi joutua lähelle typpiä ja aiheuttaa halogeenisitoutumista. [20]

5. YHTEENVETO

Atsobentseeni on valo-aktiivinen molekyyli, jolla on lukuisia eri sovelluksia monilla eri tieteenaloilla. Sovellukset vaativat molekyyliä erilaisia ominaisuuksia, joihin voidaan vaikuttaa siihen liitettävillä substituenteilla. Tehty työ perustuu artikkeliin [4], ja sen tavoitteena oli syntetisoida molekyyliä, jolla on absorptiota näkyvän valon alueella ja pitkä elinaika. Artikkelin perusteella syntetisoitiin 4 molekyyliä, jotka karakterisoitiin. Lisäksi syntetisoitiin yksi molekyyli, jonka ominaisuudet olivat odottamattomia ja jätettiin pienemmälle käsittelylle.

Taulukossa 5.1 on saadut tulokset ja vertailu vastaaviin rakenteisiin edeltävässä tutkimuksessa. Vertailu rakenteissa amiinina on pyrrolidiini, kun tutkituissa molekyyliä amiini on piperidiini. Molekyylin **2** tapauksessa vertailurakenne oli epästabili.

Taulukko 5.1 Molekyylien absorptiomaksimit λ_{max} (nm), molaariset absorptiokertoimet ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$) sekä elinajat τ

Molekyyli	λ_{max} (nm)	ϵ ($M^{-1}cm^{-1}$)	τ
1	337	15930	445,9 ± 8,2 h
1 vertailu	335/411/454	16739/8006/7792	72 ± 8 h
2	380	13480	10,2 ± 0,1 min
2 vertailu	-	-	-
3	349/411	16610/10890	300 ± 3 min
3 vertailu	344/479	13777/15042	258 ± 30 s
4	336/434	10110/12160	59,3 ± 1,0 min
4 vertailu	488/514	3701/3456	1.21 ± 0.01 s

Absorptio on pyrrolidiinin tapauksessa sekä vahvempi, että hieman pidemmällä aallonpituuksilla kuin piperidiinin tapauksessa. Työssä syntetisoitujen molekyylien elinajat ovat kuitenkin moninkertaisia verrattuna aiempiin.

Bromiatomi fluoriatomin tilalla luo säteilyttäessä molekyyliä uuden tilan, joten sen karakterisointi työn puitteissa ei onnistunut. Molekyyliä on kuitenkin absorptiota koko näkyvän valon aallonpituudella, sekä pitkä *cis* → *trans* relaksaatioaika.

Työssä todettiin edeltävässä artikkelissa kuvatun menetelmän toimivuus eri amiinilla sekä halogeenilla. Huomattiin, että piperidiini vaatii pidemmät reaktioajat, samoin kuin jos halogeenina on fluorin sijasta bromi. Työtä voi olla helppo laajentaa eri amiineille ja mahdollisesti eri halogeeneille. Lisäksi bromi-substituoidun molekyylin laaja absorptio sekä säteilyttämisellä aiheutettu reaktio tai muutos rakenteessa on

mielenkiintoinen ominaisuus, jossa voisi olla aihetta jatkotutkimukselle. Tetra-*orto*-substituoidut molekyylit voisivat antaa lisää mahdollisuuksia ominaisuuksien kontrollointiin, jos tetra-orto-halogenoituun rakenteeseen on mahdollista vaihtaa amiineja selektiivisesti halogeeniatomien tilalle.

LÄHTEET

- [1] M. Russew, S. Hecht, Photoswitches: From molecules to materials, *Advanced Materials*, Vol. 22, Iss. 31, 2010, pp. 3348-3360.
- [2] H.M.D. Bandara, S.C. Burdette, Photoisomerization in different classes of azobenzene, *Chemical Society Reviews*, Vol. 41, Iss. 5, 2012, pp. 189-1825.
- [3] M.X. Dong, A. Babalhavaeji, S. Samanta, A.A. Beharry, G.A. Woolley, Red-Shifting Azobenzene Photoswitches for in Vivo Use, *Accounts of Chemical Research*, Vol. 48, Iss. 10, 2015, pp. 2662-2670.
- [4] Z. Ahmed, A. Siiskonen, M. Virkki, A. Priimagi, Controlling azobenzene photoswitching through combined ortho-fluorination and -amination, *CHEMICAL COMMUNICATIONS*, Vol. 53, Iss. 93, 2017, pp. 12520-12523.
- [5] S. Samanta, A.A. Beharry, O. Sadovski, T.M. McCormick, A. Babalhavaeji, V. Tropepe, G.A. Woolley, Photoswitching Azo compounds in vivo with red light, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 135, Iss. 26, 2013, pp. 9777-9784.
- [6] W. Philipp, W. Si, Light-Switchable Azobenzene-Containing Macromolecules: From UV to Near Infrared, *Macromolecular Rapid Communications*, Vol. 39, Iss. 1, 2018, pp. 1700220.
- [7] C. Knie, M. Utecht, F. Zhao, H. Kulla, S. Kovalenko, A.M. Brouwer, P. Saalfrank, S. Hecht, D. Bléger, Ortho-Fluoroazobenzenes: Visible Light Switches with Very Long-Lived Z Isomers, *Chemistry - A European Journal*, Vol. 20, Iss. 50, 2014, pp. 16492-16501.
- [8] O.S. Bushuyev, A. Miho, S. Atsushi, C.J. Barrett, Shape-Shifting Azo Dye Polymers: Towards Sunlight-Driven Molecular Devices, *Macromolecular Rapid Communications*, Vol. 39, Iss. 1, 2018, pp. 1700253.
- [9] R.J. Mart, R.K. Allemann, Azobenzene photocontrol of peptides and proteins, *Chemical Communications*, Vol. 52, Iss. 83, 2016, pp. 12262-12277.
- [10] D. Bléger, J. Schwarz, A.M. Brouwer, S. Hecht, O-fluoroazobenzenes as readily synthesized photoswitches offering nearly quantitative two-way isomerization with visible light, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 134, Iss. 51, 2012, pp. 20597-20600.
- [11] A.A. Beharry, O. Sadovski, G.A. Woolley, Azobenzene photoswitching without ultraviolet light, *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 133, Iss. 49, 2011, pp. 19684-19687.
- [12] O.S. Bushuyev, A. Miho, S. Atsushi, C.J. Barrett, Shape-Shifting Azo Dye Polymers: Towards Sunlight-Driven Molecular Devices, *Macromolecular Rapid Communications*, Vol. 39, Iss. 1, 2018, pp. 1700253.

- [13] Y.R. Aralapura, M.L. Rahman, M.M. Yusoff, S. Kular, Photo-induced characteristics of azobenzene based gold nanoparticles, *Micro and Nano Letters*, Vol. 12, Iss. 3, 2017, pp. 201-204.
- [14] W. Philipp, W. Si, Light-Switchable Azobenzene-Containing Macromolecules: From UV to Near Infrared, *Macromolecular Rapid Communications*, Vol. 39, Iss. 1, 2018, pp. 1700220.
- [15] G. Xue, K. Chen, G. Shen, Z. Wang, Q. Zhang, J. Cai, Y. Li, Phase-separation and photoresponse in binary azobenzene-containing polymer vesicles, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol. 436, 2013, pp. 1007-1012.
- [16] M. Deiana, Z. Pokladek, K. Matczyszyn, P. Mlynarz, M. Buckle, M. Samoc, Effective control of the intrinsic DNA morphology by photosensitive polyamines, *Journal of Materials Chemistry B*, Vol. 5, Iss. 5, 2017, pp. 1028-1038.
- [17] S. Santer, Remote control of soft nano-objects by light using azobenzene containing surfactants, *Journal of Physics D: Applied Physics*, Vol. 51, Iss. 1, 2018, pp. 013002.
- [18] *Organic Structure Determination Using 2-D NMR Spectroscopy - A Problem-Based Approach (2nd Edition)*, Elsevier, .
- [19] O.S. Bushuyev, D. Tan, C.J. Barrett, T. Friscic, Fluorinated azobenzenes with highly strained geometries for halogen bond-driven self-assembly in the solid state, *CrystEngComm*, Vol. 17, Iss. 1, 2015, pp. 73-80.
- [20] Henkilökohtaiden tiedonanto, Zafar Ahmed, 27.4.2018