

Sinteza i karakterizacija BODIPY spojeva

Bogomolec, Marko

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:436143>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-05**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Marko Bogomolec

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Marko Bogomolec

Sinteza i karakterizacija BODIPY spojeva

ZAVRŠNI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Irena Škorić

Komentor: dr. sc. Marija Alešković, znanstveni suradnik

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Irena Škorić

prof. dr. sc. Marko Rogošić

dr. sc. Marija Alešković, znanstveni suradnik

Sažetak

Cilj ovog završnog rada bila je priprava spojeva koji će poslužiti kao prekursori u sintezi novih biomolekulskih fluorescentnih indikatora. Tako je pripravljena serija BODIPY spojeva: **1–3**: 4,4-difluor-8-fenil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3*a*,4*a*-diaz-a-s-indacen (**1**), 4,4-difluor-8-(4-hidroksifenil)-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3*a*,4*a*-diaz-a-s-indacen (**2**) i 4,4-difluor-8-fenil-4-bora-3*a*,4*a*-diaz-a-s-indacen (**3**).

Prvi korak u njihovoj sintezi je priprava dipirometana dobro opisanom Lindseyjevom metodom kondenzacije pirola s aromatskim aldehydima uz trifluoroktenu kiselinu kao katalizator. Reakcijom 2,4-dimetilpirola (2,4-DMP-a) i benzaldehida ili 4-hidroksibenzaldehida dobiveni su odgovarajući dipirometani (**4** i **5**). Navedeni dipirometani i 5-fenildipirometan (**6**), koji je prethodno pripravljen u laboratoriju, prevedeni su *in situ* u dipirometene uz DDQ (2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon) kao oksidans, a kompleksiranjem s borovim trifluoridom kao Lewisovom kiselinom dobivene su ciljne molekule **1–3**. Reakcije su provedene u strogo kontroliranim, inernim uvjetima.

Svi sintetizirani spojevi okarakterizirani su spektroskopskim metodama ^1H i ^{13}C -NMR, a konačni spojevi **1–3** dodatno još infracrvenom spektroskopijom te određivanjem tališta.

Ključne riječi: BODIPY, fluorescencija, Lindseyjev pristup, pirol, dipirometan, dipirometen, sintetske modifikacije

Synthesis and characterization of BODIPY compounds

Summary

The aim of this bachelor's thesis was to prepare compounds that would serve as precursors in the synthesis of new biomolecular fluorescent indicators. Thus a series of BODIPY compounds **1–3** was prepared. The first step in their synthesis was the preparation of dipyrromethanes by the well-described Lindsey's condensation of pyrrole with aromatic aldehydes with trifluoroacetic acid serving as a catalyst. The reaction of 2,4-dimethylpyrrole and benzaldehyde or 4-hydroxybenzaldehyde gave the corresponding dipyrromethanes (**4** and **5**). These dipyrromethanes, along with 5-phenyldipyrromethane (**6**) which was previously prepared in the laboratory, were converted *in situ* to respective dipyrromethenes with DDQ (2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone) as an oxidant and subsequent complexation with boron trifluoride as a Lewis acid afforded target molecules **1–3**. Reactions were carried out in strictly controlled conditions.

All synthesized compounds were characterized by ^1H and ^{13}C -NMR spectroscopic methods, and final compounds **1–3** additionally by infrared spectroscopy and melting point determination.

Key words: BODIPY, fluorescence, Lindsey's method, pyrrole, dipyrromethane, dipyrromethene, synthetic modifications

Ovaj rad izrađen je u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju Zavoda za organsku kemiju i biokemiju na Institutu Ruđer Bošković u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost „Fotokemija: Reakcijski mehanizmi i primjene u organskoj sintezi i biologiji (PhotoApp)” (IP-2019-04-8008).

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Škorić na stručnom vodstvu, danim savjetima tokom izrade završnog rada, pruženoj motivaciji za znanstvenim radom na području organske kemije i danoj preporuci za izradu završnog rada na Institutu Ruđer Bošković.

Zahvaljujem komentorici dr. sc. Mariji Alešković na uloženom vremenu, vodstvu tijekom izrade eksperimentalnog dijela završnog rada, savjetima pri pisanju rada i prenesenom znanju.

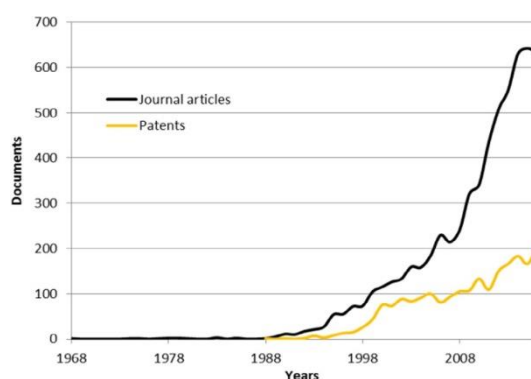
Zahvaljujem i voditelju Laboratorija za sintetsku organsku kemiju dr. sc. Nikoli Basariću na prilici za rad u izvrsnom laboratoriju te svim ostalim djelatnicima laboratorija na vrlo ugodnoj radnoj atmosferi i na svojoj pomoći.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Opći dio.....	2
2.1. Struktura i IUPAC-ova nomenklatura BODIPY spojeva.....	2
2.2. Metode sinteze BODIPY spojeva	3
2.2.1. Lindseyjev pristup	3
2.2.2. MacDonaldova kondenzacija	4
2.2.3. Burgessova metoda.....	4
2.2.4. Bielmannova metoda	5
2.3. Funkcionalizacija BODIPY spojeva	6
2.3.1. Elektrofilska aromatska supstitucija na položajima 2- i 6-	7
2.3.2. Sintetske modifikacije na položajima 3- i 5-.....	8
2.3.2.1. Knoevenagelova reakcija	8
2.3.2.2. Reakcije nukleofilne aromatske supstitucije	9
2.3.2.3. Reakcije katalizirane prijelaznim metalima	10
2.3.3. Modifikacije na položajima 1- i 7-	11
2.3.4. Modifikacije na položaju 8- (<i>mezo</i> -).....	11
2.3.5. Modifikacije na borovu atomu	13
2.4. Fotofizička i spektroskopska svojstva BODIPY spojeva.....	14
3. Rezultati i rasprava	16
3.1. Uvod	16
3.2. Sintaza i spektroskopska karakterizacija dipirometana 4–6	17
3.3. Sintaza i spektroskopska karakterizacija BODIPY spojeva 1–3	23
4. Eksperimentalni dio.....	31
4.1. Opće napomene.....	31
4.2. Sintaza spoja 1	32
4.2.1. Sintaza 5-fenil-1,3,7,9-tetrametildipirometana (4).....	32
4.2.2. Sintaza 4,4-difluor-8-fenil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3 <i>a</i> ,4 <i>a</i> -diazas-indacena (1) ..	33
4.3. Sintaza spoja 2	34
4.3.1. Sintaza 5-(4-hidroksifenil)-1,3,7,9-tetrametildipirometana (5).....	34
4.3.2. Sintaza 4,4-difluor-8-(4-hidroksifenil)-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3 <i>a</i> ,4 <i>a</i> -diazas-indacena (2).....	34
4.4. Sintaza spoja 3	36
4.4.1. Sintaza 4,4-difluor-8-fenil-4-bora-3 <i>a</i> ,4 <i>a</i> -diazas-indacena (3).....	36
5. Zaključak.....	37
6. Popis oznaka, kratica i simbola	38
7. Literatura.....	39
Životopis	43

1. Uvod

Među brojnim vrstama fluorescentnih boja jednu od najzapaženijih skupina čine spojevi koji sadrže 4,4-difluoro-4-bora-3*a*,4*a*-diazas-indacen, poznatiji kao BODIPY (engl. boron-dipyrromethene). Iako su ih proučavajući porfirine slučajno otkrili A. Treibs i F. H. Kreuzer još 1968. g.,¹ njihov potencijal je prepoznat tek 1990-ih godina. Od tada su detaljno istraženi i o njima postoji mnoštvo radova i izdan je velik broj patenata (slika 1).² BODIPY® je zaštićeno ime tvrtke Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, SAD.



Slika 1. Grafički prikaz broja znanstvenih radova i patenata BODIPY spojeva od njihova otkrića prema bazi podataka CAS Scifinder®³

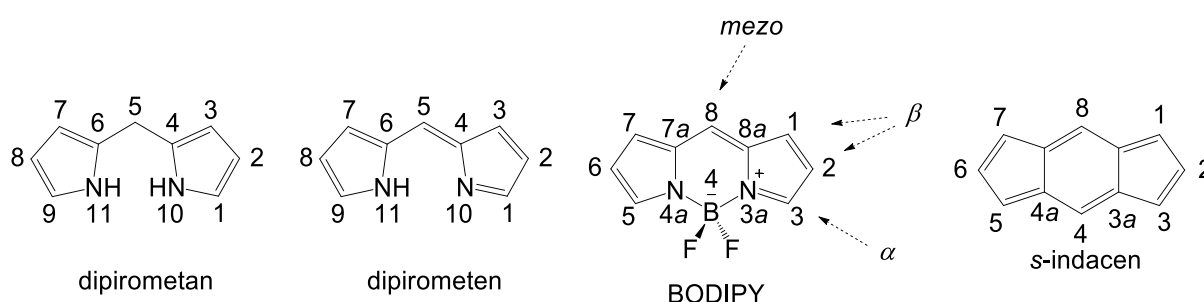
BODIPY spojeve karakteriziraju superiorna fotofizička svojstva poput izrazito visokog fluorescencijskog kvantnog prinosa i molarnih apsorpcijskih koeficijenata te uskih fluorescencijskih emisijskih spektara s oštrim pikovima. Dobro su topljivi u organskim otapalima te im se svojstva slabo mijenjaju s promjenom polarosti medija, stabilni su u otopinama i ne stvaraju agregate. Nadalje, BODIPY spojevi otporni su prema brojnim kemikalijama, stabilni su u fiziološkim vrijednostima pH te nisu otrovni.⁴ Zbog navedenih svojstava pronalaze široku primjenu, ponajviše kao fluorescentni indikatori za npr. pH, metalne ione, biomolekule, redoks potencijal, reaktivne kisikove i dušikove vrste.⁵⁻⁷ Koriste se u molekularnoj biologiji u obilježavanju proteina i oligonukleotida prilikom proučavanja živih stanica fluorescencijskom mikroskopijom^{8,9} te u fotodinamičkoj terapiji.¹⁰

Sa stajališta sintetske organske kemije, BODIPY spojevi vrlo su zanimljivi zbog njihove kemijske robusnosti i podložnosti brojnim funkcionalizacijama. Različitim sintetskim putevima, pametnim dizajnom i naknadnim direktnim modifikacijama na samoj BODIPY jezgri, moguće je vrlo precizno modelirati elektrokemijska, spektroskopska i fotofizička svojstva tih spojeva.¹¹

2. Opći dio

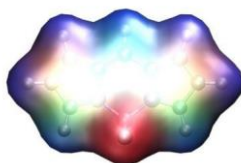
2.1. Struktura i IUPAC-ova nomenklatura BODIPY spojeva

Kao što ime govori, BODIPY (IUPAC: 4,4-difluor-4-bora-3*a*,4*a*-diaz-a-s-indacen) heterociklički fluorofor sastoji se od dvije podjedinice pirola koje su povezane metinskim mostom na položaju 2- i borovim atomom koji je koordinacijski vezan s heteroatomima. Takva struktura analogna je tricikličkom ugljikovom spoju – s-indacenu (shema 1).² Skelet koji čine ugljikovi atomi je planaran, dipolarne je strukture i zbog dušikovih atoma blago polariziran što omogućuje nukleofilne i elektrofilne reakcije na različitim položajima u molekuli.



Shema 1. Strukture dipirometana, dipirometena, „osnovnog“ BODIPY spoja i s-indacena s numeriranim položajima prema IUPAC-u

Zbog velike reaktivnosti nesupstituirane jezgre, „osnovni“ BODIPY spoj nije bio sintetiziran do 2008. godine, čak 40 godina nakon otkrića te klase spojeva.¹² Iako struktura BODIPY spojeva ne slijedi Hückelovo pravilo za aromatičnost, jer je 12 π -elektrona distribuirano na 12 atoma, njihova svojstva su uvelike slična aromatskim π -sustavima zato što koordinacija tetraedarskog borovog atoma, koji ne sudjeluje u delokalizaciji elektrona, drži dipirometenski ligand u rigidnoj, gotovo potpuno planarnoj konformaciji. Rigidnost π -sustava ujedno uzrokuje i visok kvantni prinos fluorescencije, Φ_f , s obzirom na to da je brzina neradijacijske relaksacije vrlo mala.¹³ Na slici 2 prikazana je mapa elektrostatskog potencijala BODIPY jezgre.

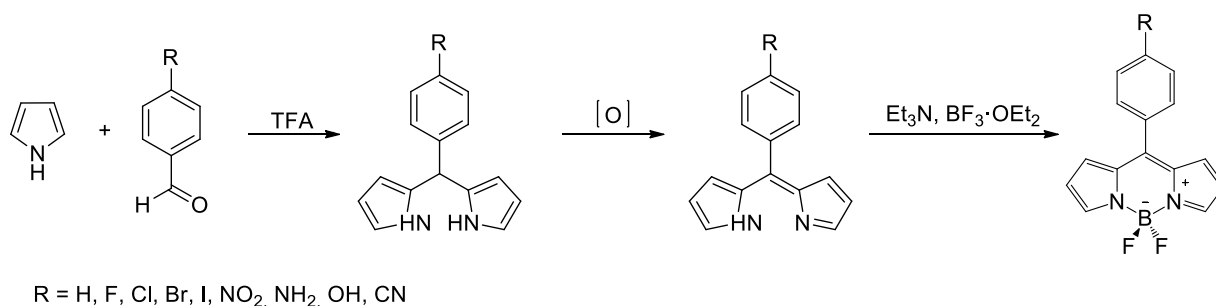


Slika 2. Mapa elektrostatskog potencijala BODIPY jezgre. Plavom je bojom označena manja, a crvenom veća gustoća električnog naboja.¹⁴

2.2. Metode sinteze BODIPY spojeva

2.2.1. Lindseyjev pristup

J. S. Lindsey i suradnici razvili su dva pristupa za funkcionalizaciju BODIPY spojeva koji zaobilaze dugotrajne sinteze derivata pirola.¹⁵ Dobro poznata sinteza porfirina poslužila je kao inspiracija za sintezu borova kompleksa s dipirometenom. Prednost tog sintetskog pristupa je mogućnost korištenja velikog broja derivata benzaldehida čime *mezo*-položaj BODIPY spojeva može odmah imati željenu funkcionalnu skupinu. Također je moguće i postsintetski dodatno modificirati *mezo*-skupinu, a da pritom ne dolazi do znatnih promjena spektroskopskih svojstava.



Shema 2. Sintaza BODIPY spojeva Lindseyjevim pristupom

Kao što je prikazano na shemi 2, najčešći način pripreve BODIPY spojeva počinje kondenzacijom pirola i aldehida u dipirometan, a inicira se dodatkom kiseline, primjerice trifluoroctene kiseline. Potom se nastali dipirometan oksidira *p*-kloranilom (2,3,5,6-tetraklor-1,4-benzokinonom) ili DDQ-om (2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinonom), a zatim se dodaju trietilamin i borov trifluorid-dietil-eterat. Korištenjem 2-supstituiranog pirola umjesto nesupstituiranog, reakcija kondenzacije je otežana nakon nastajanja dimera – dipirometana, kojemu reaktivni α -položaj nije slobodan.¹⁶

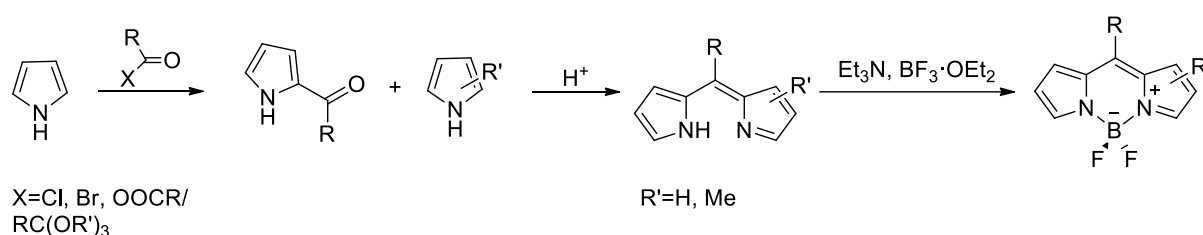
Drugi pristup, tzv. metoda bez otapala,¹⁵ koristi se za pripravu dipirometana koji nemaju supstituente na α i β položajima. U tom slučaju aldehyd se otopi u velikom suvišku pirola (40 ekv. ili više) pri sobnoj temperaturi, te nakon dodatka kiseline vrlo brzo nastaje dipirometan. Ukoliko se nesupstituirani dipirometan ne oksidira u potpunosti s *p*-kloranilom koristi se potentnije oksidacijsko sredstvo – DDQ, pomoću kojeg se oksidacija odvija vrlo brzo i u potpunosti. Ponovno, dodavanjem trietilamina kao baze i borova trifluorida kao Lewisove kiseline nastaje odgovarajući BODIPY spoj.

Iako je Lindseyjevim pristupom moguće sintetizirati velik broj kompleksnih BODIPY spojeva, postoje značajni nedostaci poput osjetljivosti dipirometana na svjetlost, zrak i kiseline, nastajanja kondenzacijskih smolastih nusprodukata i često potrebnih brojnih kromatografskih

pročišćavanja reakcijskih smjesa. Zbog navedenih problema, ukupna reakcijska iskorištenja često su vrlo niska.^{5,16}

2.2.2. MacDonaldova kondenzacija

Nadovezujući se na originalni rad Treibsa i Kreuzera,¹ mnoštvo BODIPY spojeva sintetizirano je koristeći sličan pristup, a to je kondenzacija dviju molekula pirola s kiselinskim kloridom, anhidridom ili ortoesterom uz nastajanje dipirometana. Navedena reakcija u literaturi se često navodi pod imenom MacDonaldova kondenzacija, po srodnoj analognoj reakciji u sintezi porfirina (shema 3).¹⁷



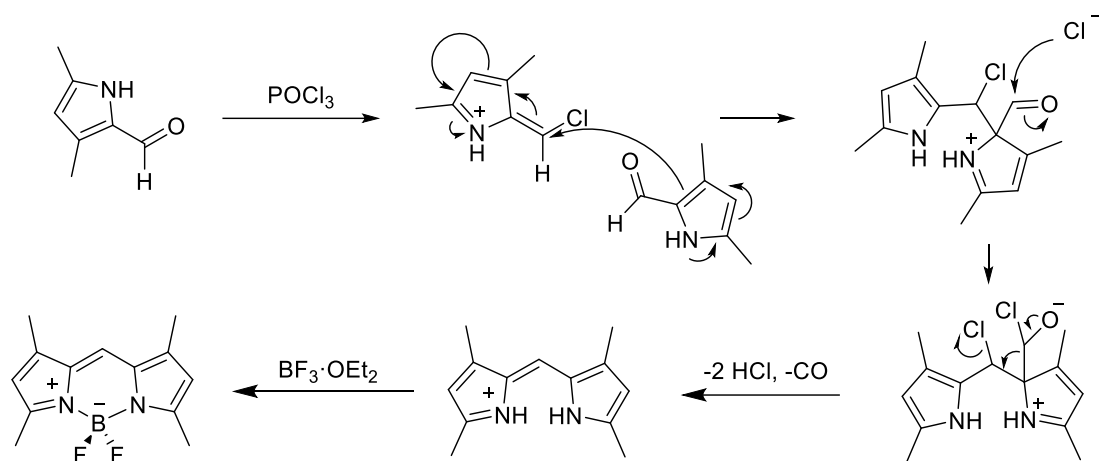
Shema 3. Priprava asimetričnih BODIPY spojeva polazeći od MacDonaldove kondenzacije

Nastali intermedijer, acil-pirol, može dalje reagirati u kiselim uvjetima tvoreći dipirinijevu sol. Prednost tog sintetskog puta je mogućnost sinteze asimetričnih dipirometena jer izolirani acil-pirol može reagirati i s različitim supstituiranim pirolima. Također, korištenjem kiselinskog klorida prilikom kondenzacije pirola nije potreban oksidacijski korak. Kao i u Lindseyjevoj metodi, primjenom trietilamina kao baze i dodatkom borovog trifluorid-dietil-eterata nastaju BODIPY fluorofori.¹⁸

2.2.3. Burgessova metoda

Zanimljivu alternativu prethodnoj sintezi opisali su L. Wu i K. Burgess koji su uvidjeli da nije uvijek potreban drugi ekvivalent pirola jer je fosforil klorid sposoban kondenzirati pirol-2-karbaldehid s njim samim.¹⁹

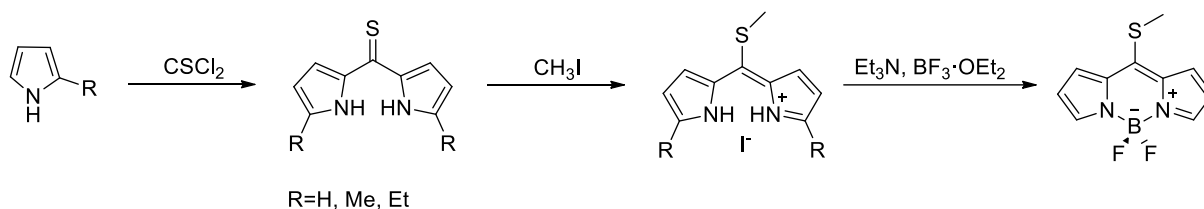
Prema predloženom reakcijskom mehanizmu prikazanom na shemi 4, fosforil-klorid supstituira aldehidni kisikov atom uz tvorbu kloriranog azafulvena koji podliježe napadu drugog pirol-2-karbalhida. Potom slijedi nukleofilni napad kloridnog iona koji je praćen raspadom nestabilnog međuprodukta te nastaje sol dipirometena koja se zatim kompleksira s $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. BODIPY spojevi dobiveni takvom „one-pot“ sintezom ne zahtijevaju dugotrajna čišćenja te su reakcijska iskorištenja često iznimno visoka u usporedbi s ostalim metodama sinteze.⁵



Shema 4. Predloženi pojednostavljeni reakcijski mehanizam Burgessove metode priprave BODIPY spojeva

2.2.4. Bielmannova metoda

Iako je Lindseyjeva metoda praktična za uvođenje funkcijskih skupina na *mezo*-položaj, neke skupine su podložne reakcijama s Lewisovim kiselinama i DDQ-om. Stoga je bilo potrebno pronaći rješenje za sintezu BODIPY spojeva u dobrom reakcijskom iskorištenju pri blažim reakcijskim uvjetima. Zanimljiv pristup prikazan na shemi 5 razvili su Bielmann i suradnici.



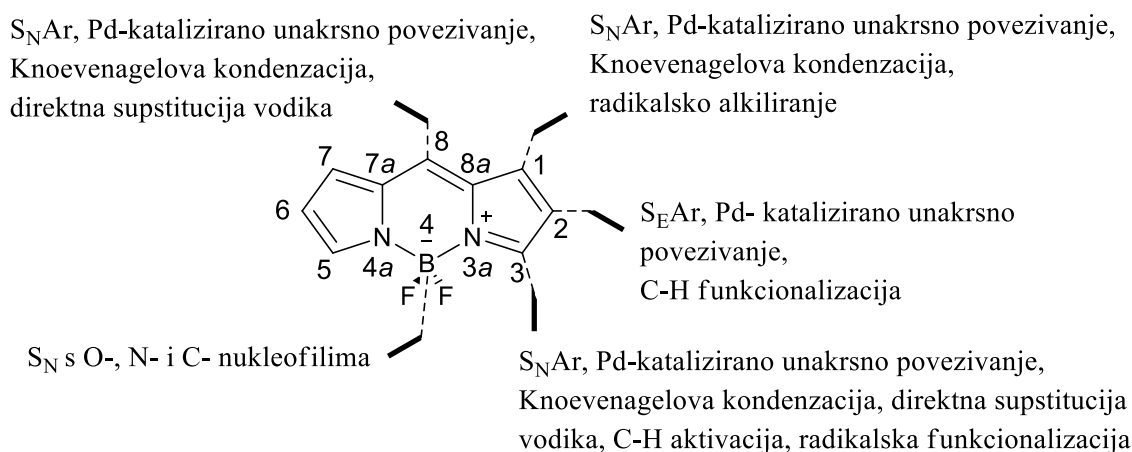
Shema 5. Priprava „Bielmannova“ BODIPY spoja

Naime, reakcijom tiofosgena s pirolom vrlo brzo nastaju tioketoni čak i pri blagim reakcijskim uvjetima, dok istovremeno nisu primijećeni produkti daljnje kondenzacije. Razlog tome može biti smanjena reaktivnost intermedijera zbog induktivne stabilizacije sumpora i stabilnost nastalog tioketona. U prisutnosti elektrofila poput metil-jodida, tioketoni reagiraju dajući dipirometene, vjerojatno u obliku hidrojodida. Ti spojevi nisu stabilni te stoga niti izolirani, provedena je tek njihova karakterizacija u sirovoj reakcijskoj smjesi. Obradom s tercijarnim aminom i kompleksiranjem s borovim trifluorid-dietil-eteratom nastaju odgovarajući izrazito fluorescentni 8-tiometil-BODIPY derivati.²⁰

Ti tzv. „Bielmannovi“ BODIPY spojevi^{20,21}, koriste se kao intermedijeri u brojnim sintezama pripreme *mezo*-funkcionaliziranih BODIPY spojeva reakcijama nukleofilne aromatske supstitucije na sumporovu atomu koje se odvijaju adicijsko-eliminacijskim mehanizmom^{16,21} i Liebeskind-Sröglovim reakcijama unakrsnog povezivanja kataliziranih paladijem pri neutralnim uvjetima.^{22,23}

2.3. Funkcionalizacija BODIPY spojeva

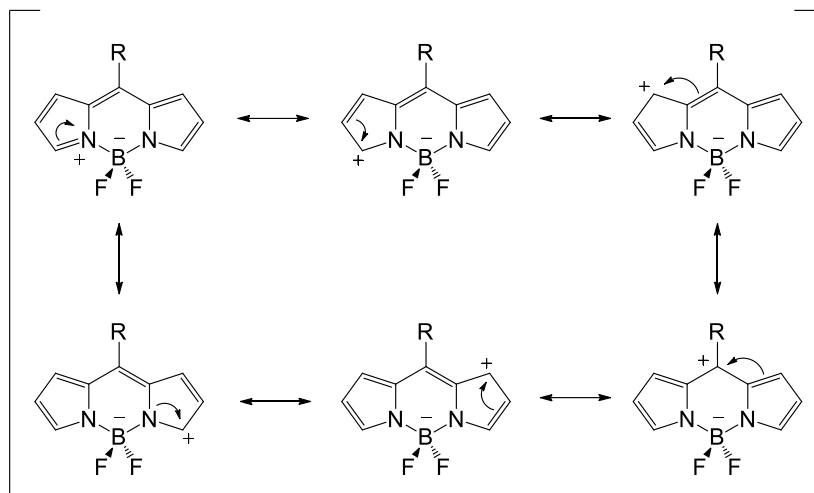
BODIPY spojeve moguće je sintetski modificirati na brojne načine, već prilikom odabira početnih reaktanata ili naknadnim direktnim modifikacijama nakon kompleksiranja dipirometena s $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Funkcionalizirani BODIPY spojevi pokazali su se kao prikladni prekursori za sintezu niza derivata sa željenim fotofizičkim svojstvima. Funkcionalne skupine tako se mogu uvesti na sve položaje: na pirolne ugljikove atome, na *mezo*-ugljik i na sami borov atom kao što je prikazano na shemi 6.¹⁴



Shema 6. Pregled različitih postfunkcionalizacijskih metoda i njihovih preferencijalnih mjesta

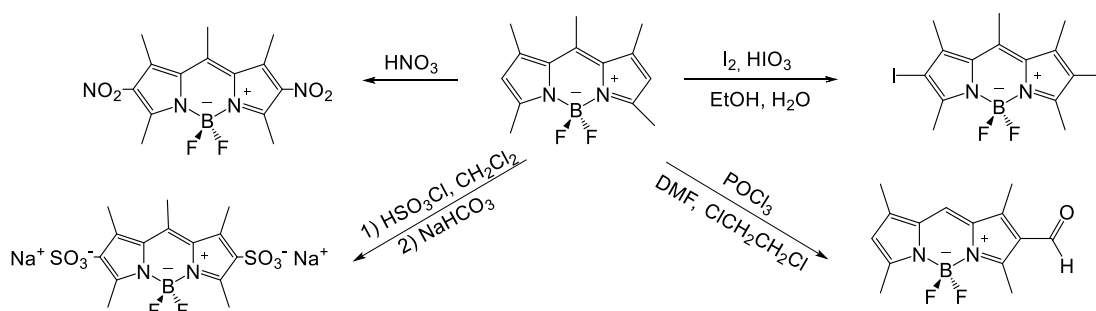
2.3.1. Elektrofилна aromatska supstitucija na položajima 2- i 6-

Već i jednostavnim razmatranjem rezonantnih struktura BODIPY jezgre prikazanim na shemi 7, uočljivo je da se na položajima 2- i 6- ne pojavljuje parcijalni pozitivni naboj te se stoga može pretpostaviti da je na njima najvjerojatnija reakcija supstitucije s elektrofилima.



Shema 7. Rezonancijske strukture BODIPY jezgre

Na taj način moguće je u strukturu uvoditi brojne heteroatomne supstituente koji mogu znatno utjecati na spektroskopska svojstva, a bitno je naglasiti da pritom nema velikog utjecaja na B–F veze.² Ovisno o elektrofилu, kvazi-aromatski sustav se može aktivirati ili deaktivirati za daljnje reakcije S_EAr . Međutim, nisu provedena istraživanja regioselektivnosti tih reakcija za BODIPY spojeve s nesupstituiranim pirolnim jedinicama zbog njihove male stabilnosti.⁴ Primjeri BODIPY derivata dobivenih elektrofилnom aromatskom supstitucijom prikazani su na shemi 8.



Shema 8. Primjeri reakcija $S_{Ar}E$ na položajima 2- i 6-

Sulfonirani spojevi su jedni od rijetkih sintetiziranih BODIPY spojeva koji su topljivi u vodi, a primijećeno je da uvođenje sulfonatnih skupina nema znatan utjecaj na fluorescenciju.²⁴ Reakcijom s dušičnom kiselinom nastaju odgovarajući 2,6-dinitro derivati

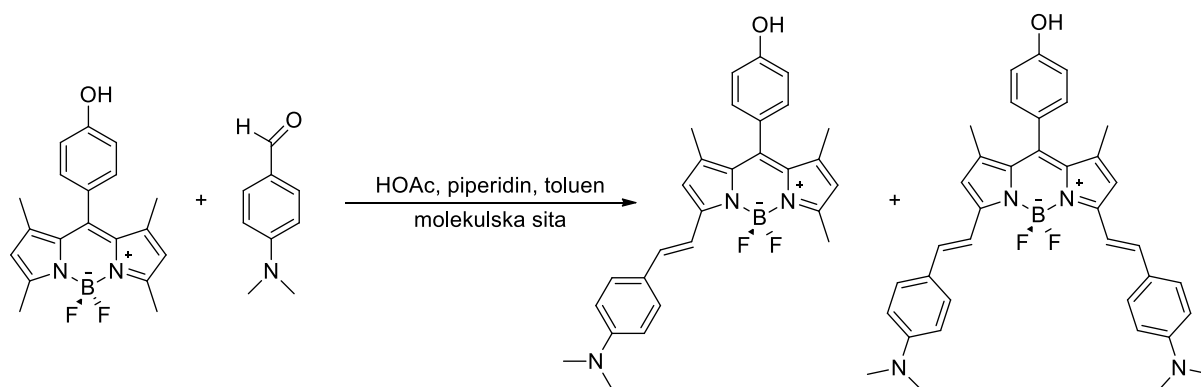
kojima je kvantni prinos fluorescencije drastično smanjen.²⁵ Reakcije halogeniranja na položajima 2- i 6- mogu se provesti i halogeniranjem dipirometana s *N*-halosukcinimidom (NXS) pri blagim reakcijskim uvjetima.²⁶ Uvođenja joda i broma kao supstituenata uzrokuje velike batokromne pomake UV-apsorpcijskih i emisijskih maksimuma i smanjuje kvantne prinose fluorescencije efektom teškog atoma.⁴ Vilsmeier-Haackovom reakcijom moguće je uvesti formilnu skupinu koja može biti od velike koristi tijekom daljnje funkcionalizacije.²⁷

2.3.2. Sintetske modifikacije na položajima 3- i 5-

S obzirom na to da supstituenti na navedenim položajima imaju znatan utjecaj na fotofizička svojstva finalnog BODIPY derivata, razvoj novih sintetskih metoda i reakcija za njihove modifikacije i dalje predstavlja izazov.²⁸

2.3.2.1. Knoevenagelova reakcija

Brojni BODIPY fluorofori s metilnim supstituentima na α -položajima koji su relativno kiseli, mogu se jednostavno sintetizirati kondenzacijskim reakcijama prikladno funkcionaliziranih, komercijalno dostupnih pirola poput 2,4-dimetilpirola ili 3-etil-2,4-dimetilpirola. 3,5-dimetil-BODIPY spojevi podložni su Knoevenagellovoj kondenzacijskoj reakciji s aromatskim aldehydima.²⁹



Shema 9. Primjer Knoevenagelove kondenzacije BODIPY spoja³⁰

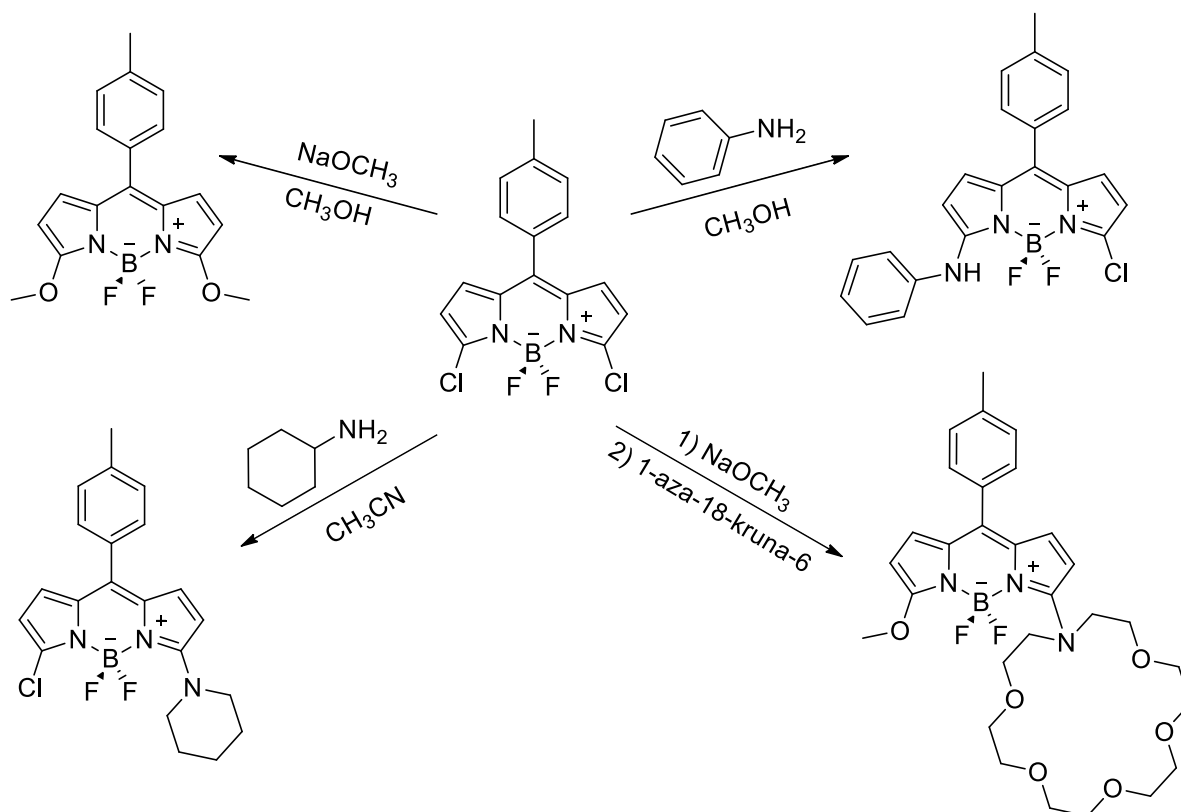
Tim načinom moguće je precizno modificirati fotofizička svojstva sustava. Produljenje konjugiranog π -sustava, npr. uvođenjem arilnih, alkenilnih ili alkilnih supstituenata, uzrokuje velike batokromne pomake, često veće od 100 nm. Ukoliko se koristi derivat benzaldehida s elektron-donirajućim supstituentima dolazi do dodatnog batokromnog pomaka apsorpcijskog i emisijskog spektra, pa su tako uspješno sintetizirani spojevi koji emitiraju čak i u blisko-infracrvenom dijelu spektra.³¹ Knoevenagelova reakcija obično se provodi u bazičnim ili u

puferiranim otopinama i zahtijeva uklanjanje vode iz reakcijske smjese, što se obično postiže Dean-Starkovom aparaturom ili pomoću molekulskih sita. Upravo Knoevenagelovom reakcijom pripremljen je najveći broj BODIPY senzora.^{30,32} Produljena konjugacija može se postići i sintezom derivata s kondenziranim aromatskim prstenom, npr. retro Diels-Alderovom reakcijom.²

2.3.2.2. Reakcije nukleofilne aromatske supstitucije

Iako je najčešća metoda uvođenja supstituenata na položaje 3- i 5- *de novo* sinteza iz supstituiranih pirola, razvijene su nove metode kojima je moguće postići isti cilj. Manja raspodjela negativnog naboja na položajima 3- i 5- čine halogene supstituente na tim položajima vrlo podložnima reakcijama nukleofilne aromatske supstitucije. Za nukleofilnu supstituciju potrebna je dobra odlazeća skupina, stoga su N. Boens i W. Dehaen razvili metodu sinteze 3,5-dihalo-BODIPY spojeva na temelju već spomenute Lindseyjeve metode.³³

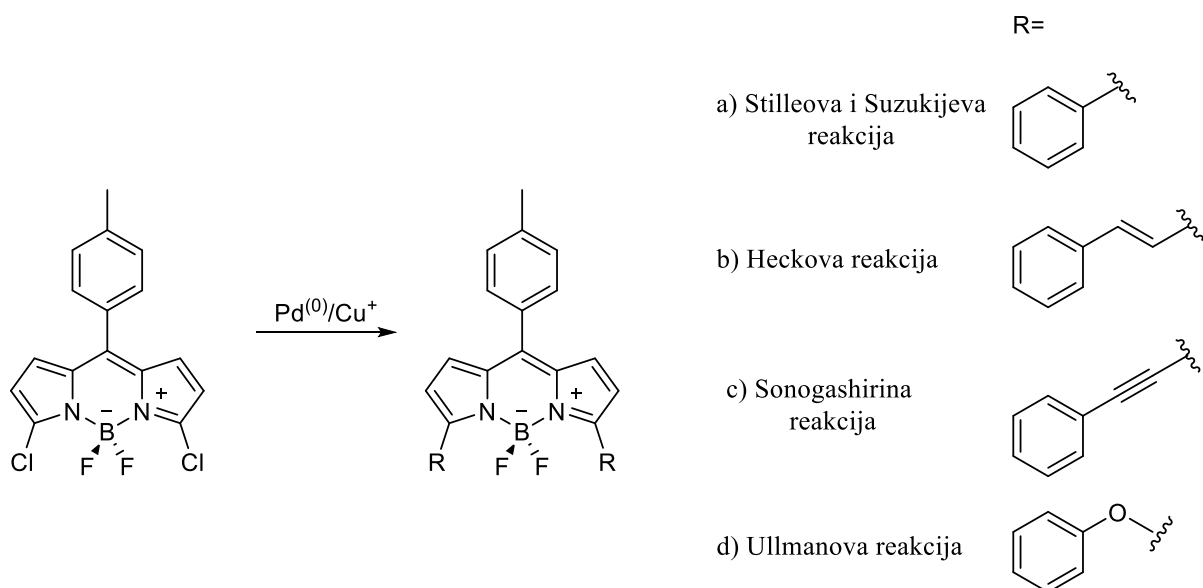
Kako su reakcije halogeniranja BODIPY spojeva vjerojatnije na položajima 2- i 6-, za njihovo uvođenje na položaje 3- i 5- potrebne su druge sintetske strategije. Halogeniranje je moguće ako su položaji 2- i 6- već supstituirani ili, kako su pokazali Boens i Dehaen, visoko regioselektivnom elektrofilnom aromatskom supstitucijom dipirometana s NXS.^{6,26} Dobiveni halogenirani derivat dipirometana zatim se lako može prevesti u BODIPY već opisanom postupkom kompleksiranja s $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Tako su iz 3,5-dihalo-BODIPY prekursora sintetizirani razni derivati s C-, O-, N-, S-, Se- i Te- nukleofilima.³⁴ Stoga se reakcijama $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$, u odličnim reakcijskim iskorištenjima, mogu sintetizirati i simetrični i asimetrični, heterosupstituirani BODIPY spojevi koje bi inače bilo teško sintetizirati drugim sintetskim putevima. Uvedeni supstituenti na položajima 3- i 5- uzrokuju pomake apsorpcijskih i emisijskih spektara i mijenjaju kvantne prinose fluorescencije.⁵



Shema 10. BODIPY spojevi pripravljeni reakcijama S_NAr

2.3.2.3. Reakcije katalizirane prijelaznim metalima

3,5-dihalo-BODIPY spojeve moguće je dodatno modificirati raznim reakcijama unakrsnog povezivanja uz nastajanje novih C–C veza, a katalizirane su prijelaznim metalima. Za njihov razvoj R. F. Heck, E. Negishi i A. Suzuki dobili su Nobelovu nagradu 2010. g.^{35,36} Primjeri takvih reakcija su Stilleova, Suzukijeva, Heckova, Buchwald-Hartwigova i Sonogashirina koje su katalizirane paladijem, te Ullmanova eterifikacija katalizirana bakrom.³⁷



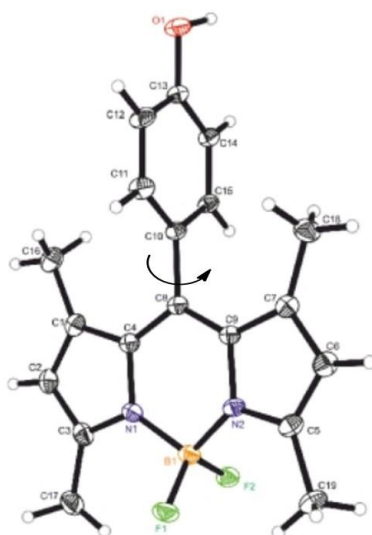
Shema 11. Reakcije 3,5-diklor-BODIPY spojeva katalizirane prijelaznim metalima

2.3.3. Modifikacije na položajima 1- i 7-

Reakcije supstitucija na položajima 1- i 7-, te promjene koje uzrokuju u spektralnim svojstvima spojeva, za sada su najmanje istražene. Položaji 1- i 7- su siromašni elektronima poput položaja 3-, 5- i 8-, stoga se očekuje da pokazuju sličnu reaktivnost. Sintetizirani halo-derivati mogu se dalje modificirati reakcijama nukleofilne supstitucije i reakcijama kataliziranim prijelaznim metalima, slično kao i derivati sa supstituentima na položajima 3- i 5-, iako su nešto manje reaktivni. Također, primijećeno je da su batokromni pomaci uzrokovani produljenjem konjugacije slabiji nego kada su supstituenti na položajima 3- i 5-.³⁸

2.3.4. Modifikacije na položaju 8- (mezo-)

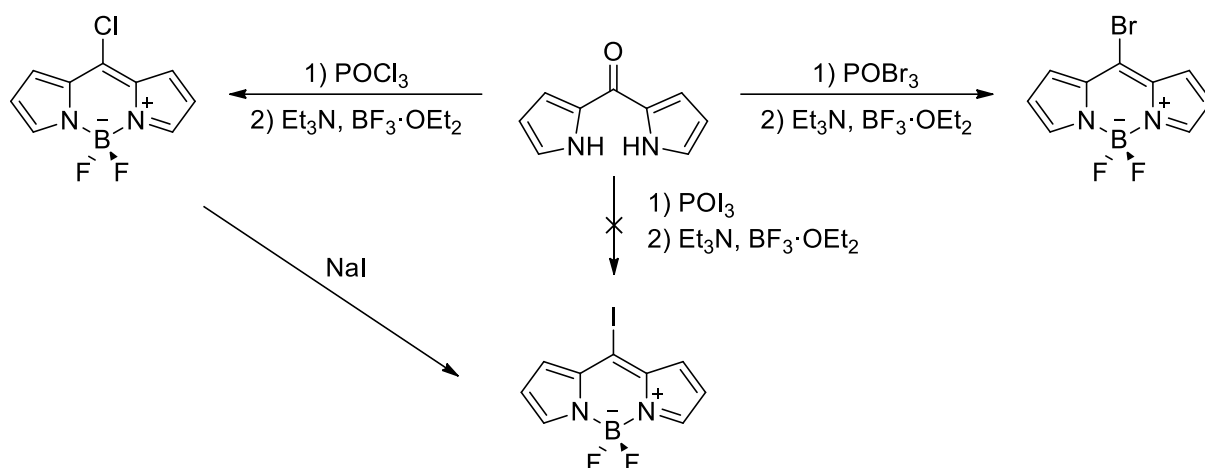
Lindsey *et al.* detaljno su istražili fotofizička svojstva 5-aryl-BODIPY spojeva.³⁹ Primijetili su da spojevi sa sterički neometanom 5-fenilnom skupinom, koja je u osnovnom stanju gotovo okomita na ravninu BODIPY jezgre, imaju male fluorescencijske kvantne prinose, kratko vrijeme života pobuđenog singletnog stanja, τ , i da u osnovno stanje primarno prelaze neradijacijskom unutarnjom konverzijom. Fotofizičkim istraživanjima i teorijskim računima uvidjeli su da molekule iz pobuđenog stanja mogu prijeći u stanje niže energije rotacijom fenilne skupine, prilikom čega dolazi i do konformacijskih promjena BODIPY jezgre.¹¹



Slika 3. Kristalna struktura spoja *mezo*-aril-BODIPY spoja određena rendgenskom strukturnom analizom monokristala¹¹

Rotacijska barijera određena je dvama suprotnim efektima: 1) delokalizacijom π -elektrona i 2) steričkim efektima. Pojačana delokalizacija π -elektrona BODIPY jezgre i arilnog prstena tijekom rotacije uzrokuje stabilizaciju sustava, dok steričke smetnje supstituenata prisutnih na fenilnoj skupini ili na položajima 1- i 7- destabiliziraju π -sustav distorzijom BODIPY jezgre. Iako općenito elektron-donirajući supstituenti na *mezo*-položaju uzrokuju hipsokromne, a elektron-odvlačeći batokromne pomake apsorpcijskih i emisijskih maksimuma,⁴⁰ supstituenti na fenilnoj skupini na njih ne utječu znatno, osim ako se nalaze u *para*-položaju.⁵ Navedeno opisuje vrlo važnu ulogu rotacije arilnog prstena u upravljanju fotofizičkim svojstvima tih širokoupotrebljivanih fluorescentnih boja.

Položaj 8- vrlo se jednostavno može derivatizirati i odabirom prikladno supstituiranih pirola i benzaldehida ili acilnih derivata za kondenzaciju. U literaturi su opisane i postfunkcionalizacijske metode. Osim supstitucijom već spomenutog „Bielmannova“ BODIPY spoja, koji se zapravo ponaša kao pseudohalogen, naknadne supstitucijske modifikacije također je moguće provesti i na *mezo*-halo derivatima. W. Dehaen i suradnici prvi su predložili njihovu sintezu deoksigenativnom supstitucijom dipirilketona, koji se može lako dobiti reakcijom dipiriltioketona s H_2O_2 .⁴¹

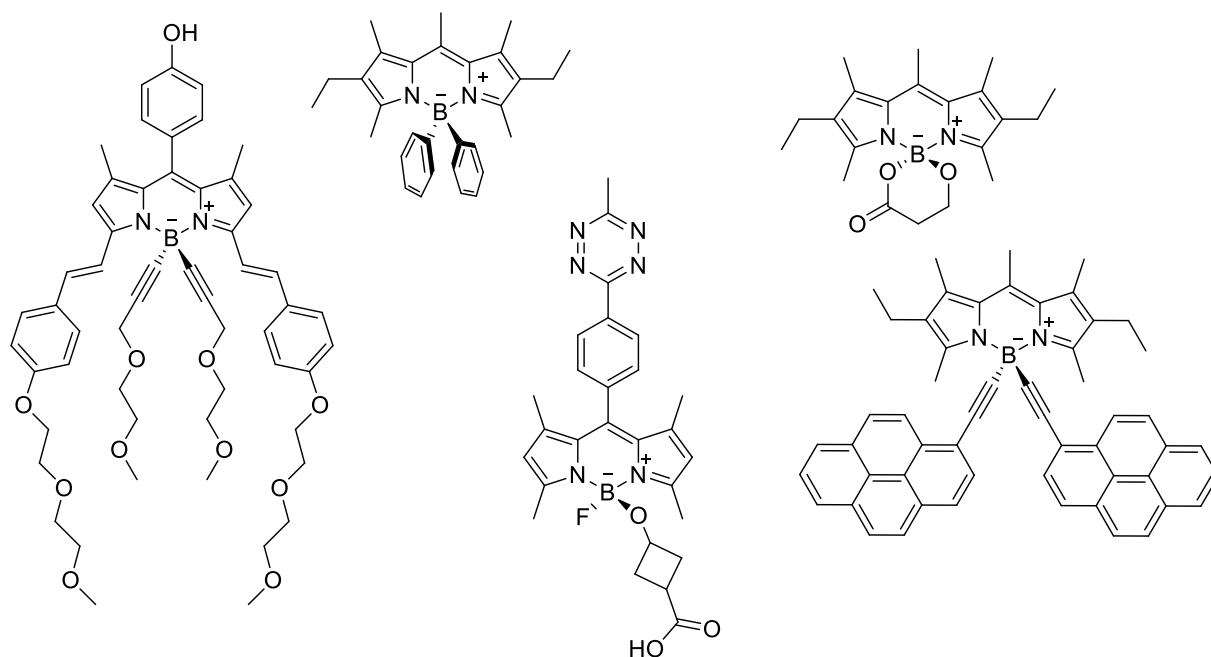


Shema 12. Priprava *mezo*-halo-BODIPY spoja

Reakcijom dipirilketona s POCl_3 vrlo brzo nastaje sol dipirometana, te deprotoniranjem *in situ* i kompleksiranjem dolazi do nastajanja isključivo *mezo*-klor-BODIPY spoja, bez nusprodukata. Ostali halogenirajući reagensi poput SOCl_2 , PCl_3 i PCl_5 daju manja reakcijska iskorištenja, praćena nastajanjem sporednih produkata. Sličnim pristupom, koristeći POBr_3 , mogu se sintetizirati bromirani derivati, a jodirani nastaju izmjenom halogena s NaI u acetonu. *Mezo*-halo-BODIPY spojevi vrlo su korisni prekursori za sintezu kompleksnijih spojeva reakcijama $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ s N-, O- i S- nukleofilima i reakcijama kataliziranim prijelaznim metalima.¹⁴

2.3.5. Modifikacije na borovu atomu

Atome fluora vezane za borov atom moguće je supstituirati s jakim kisikovim nukleofilima u bazičnim uvjetima. Tako alkoksi skupine poboljšavaju topljivost BODIPY spojeva u vodi^{42,43} i ujedno smanjuju nespecifično vezanje boje u živim stanicima, dok velike skupine na tetraedarskom borovom atomu otežavaju agregaciju.⁴⁴ Koristeći organolitijeve i Grignardove reagense⁴⁵ pripremljen je niz 4,4-dialkinil-BODIPY spojeva. Navedeni derivati mogu biti sastavni dio dimera, oligomera, polimernih i supramolekularnih struktura koje se koriste u organskim solarnim ćelijama^{46,47}, u kojima mogu biti akceptori ili donori u rezonancijskom prijenosu energije.⁴⁸



Shema 13. Derivati BODIPY spojeva pripravljeni supstitucijskim reakcijama s jakim nukleofilima

2.4. Fotofizička i spektroskopska svojstva BODIPY spojeva

Osnovna fotofizička svojstva BODIPY spojeva uvelike ovise o prisutnim supstituentima, o njihovu broju i položaju te o vrsti funkcionalnih skupina povezanih preko *mezo*-položaja. BODIPY spojevi intenzivno su obojeni i uglavnom imaju uske apsorpcijske vrpce s maksimumom apsorpcije, λ_{abs} , najčešće u području 470 – 530 nm, odnosno u plavom i zelenom dijelu vidljivog dijela elektromagnetskog spektra. U slučajevima gdje je BODIPY jezgra dodatno konjugirana, λ_{abs} se može pomaknuti do bliskog infracrvenog dijela spektra. Intenzivna obojanost čak i vrlo razrijeđenih otopina posljedica je visokih vrijednosti molarnih apsorpcijskih koeficijenata, ϵ_{max} , koje mogu biti u rasponu od 12 000 – 110 000 M⁻¹ cm⁻¹. Vrijednosti kvantnih prinosa fluorescencije, Φ_f , su karakteristično visoke, uobičajeno između 60 % i 90 %.² Dobro su topljivi u organskim otapalima i nisu skloni agregaciji, polarnost otapala vrlo slabo utječe na apsorpcijske spektre uzrokujući pomake apsorpcijskih i emisijskih maksimuma za manje od 10 nm. U krutom stanju fluorescencija je vrlo slaba, zbog planarnosti i π - π preklapanja, ali se može povećati uvođenjem prostorno velikih supstituenata poput adamantana.⁴⁹ Vremena života pobuđenog singletnog stanja, τ , kreću se između 1 – 10 ns, dok je nastajanje tripletnog stanja zanemarivo u spojevima koji nisu supstituirani teškim elementima. Apsorpcijski spektri snimljeni u otopinama ili plastičnim filmovima pokazuju izražene prijelaze $S_0 - S_1$. Kod pobuđivanja bilo u stanje S_1 ili S_2 , opaža se jaka fluorescencija iz stanja S_1 što ukazuje na zrcalnu simetriju s najnižom apsorpcijskom vrpcom, dok iz stanja S_2

nije primijećena fluorescencija, već dolazi do kvantitativne interne konverzije u S_1 . Stokesov pomak između najniže apsorpcijske i emisijske energetske vrpce je kao i u većini organskih boja poprilično nizak, $\Delta \lambda \approx 600 \text{ cm}^{-1}$ i ukazuje na neznatnu promjenu strukture prateći prijelaz iz stanja S_0 u S_1 i vibracijsku relaksaciju.⁵⁰ Fluorescencijski kvantni prinos, Φ_f , ovisi o strukturi te raste sa svakom strukturnom modifikacijom koja uzrokuje manju konformacijsku fleksibilnost. Pri najčešćim eksperimentalnim uvjetima, opadanje intenziteta fluorescencije precizno se može opisati kinetikom prvog reda.⁵¹



Slika 4. Otopina BODIPY spoja u CH_2Cl_2 osvijetljena UV-svjetlom $\lambda = 366 \text{ nm}$

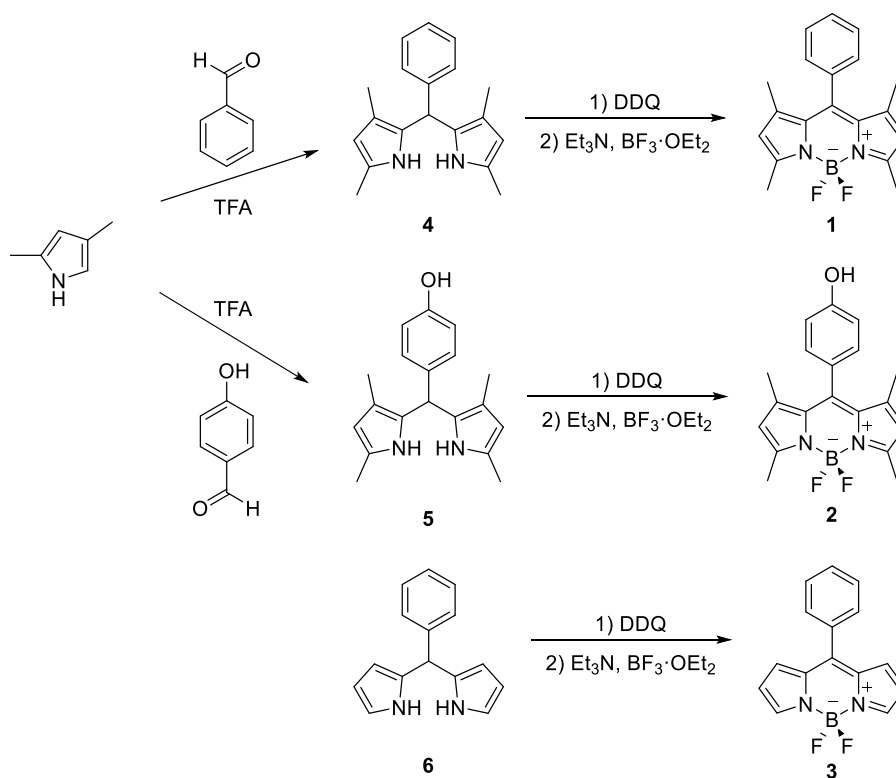
Zbog navedenih svojstava i gotovo neograničenih mogućnosti modifikacija, BODIPY jezgra odličan je izbor kao gradivni sintetski blok prilikom izrade raznih fluorescentnih indikatora, tj. kemosenzora.⁵

3. Rezultati i rasprava

3.1. Uvod

BODIPY spojevi prepoznati su kao fluorofori izvanrednih svojstava.¹⁴ Zbog brojnih mogućnosti sinteze i strukturnih modifikacija, moguće je vrlo precizno prilagoditi spektroskopska i fotofizička svojstva tih spojeva ovisno o željenoj primjeni. Najčešće se koriste kao fluorescentni biomarkeri u molekularnoj biologiji za obilježavanje proteina i DNK, a zatim kao fluorescentni indikatori i laserske boje.^{5,6,18,52} Broj parametara koje je potrebno zajednički i istovremeno modificirati je velik. Nužno je da indikator izaziva visoko selektivni fluorescentni signal za analit, bez kompeticije ili reakcije sa drugim tvarima. Bitan kriterij je i otpornost prema kemikalijama te stabilnost i neotrovnost u fiziološkim uvjetima. Poželjna je što je moguće intenzivnija fluorescencija koja zahtijeva velike vrijednosti molarog apsorpcijskog koeficijenta $\epsilon(\lambda)$ na valnoj duljini ekscitacije i visoke kvantne prinose fluorescencije, Φ_f .

U svrhu daljnjeg istraživanja i modifikacija na BODIPY jezgri radi pripreme biomolekulskog indikatora, u laboratoriju su Lindseyjevom metodom kondenzacije pirola i aromatskog aldehida, te naknadnom oksidacijom DDQ-om i kompleksiranjem s $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ pripremljena tri različita BODIPY spoja.

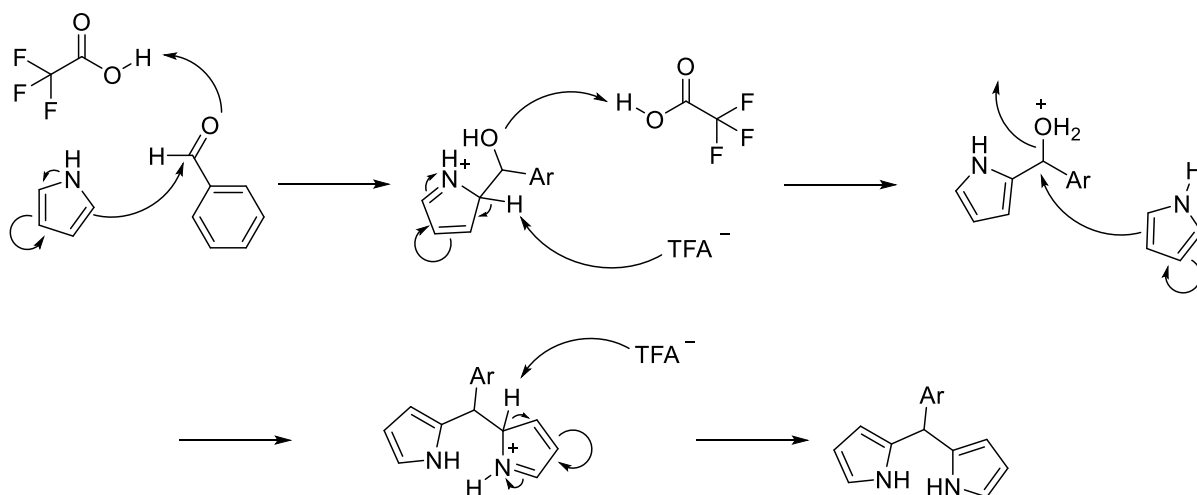


Shema 14. Plan sinteze spojeva 1–3

3.2. Sinteza i spektroskopska karakterizacija dipirometana 4–6

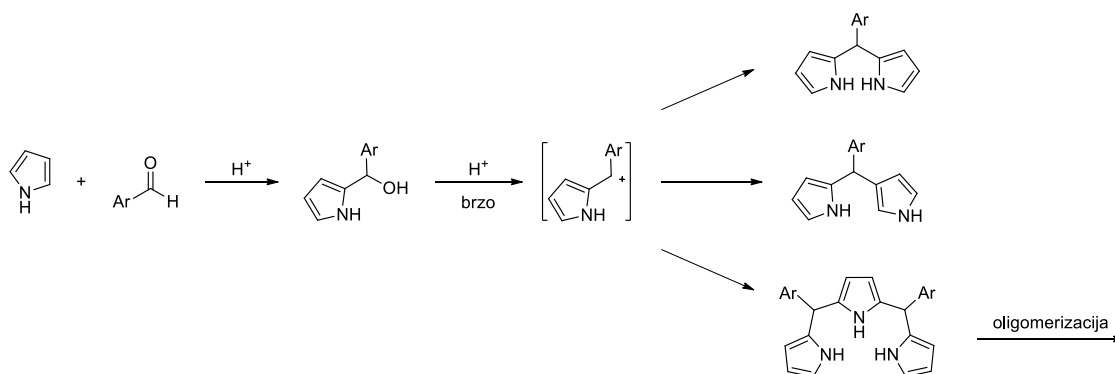
Za sintezu dipirometanskih prekursora odabrana je Lindseyjeva metoda kiselinski katalizirane kondenzacije pirola s aromatskim aldehydima kojom se mogu sintetizirati 5-fenildipirometani sa željenim supstituentima na benzenskom prstenu, ovisno o korištenom aldehidu.

Reakcija započinje dodatkom trifluoroctene kiseline (TFA) koja djeluje kao katalizator te dolazi do protoniranja karbonilne skupine benzaldehida. Prilikom nukleofilnog napada pirola na karbonilni C atom benzaldehida i dehidratacije nastalog međuprodukta nastaje vrlo reaktivni karbokation koji je sklon daljnjoj oligomerizaciji. Pojednostavljeni reakcijski mehanizam prikazan je na shemi 15.



Shema 15. Pojednostavljeni reakcijski mehanizam Lindseyjeve sinteze dipirometana

Ukoliko se koristi aldehyd s elektron-donirajućim supstituentima, dolazi do stabilizacije nastalog karbokationa mezomernim efektom. Mogući produkti kondenzacije prikazani su na shemi 16.

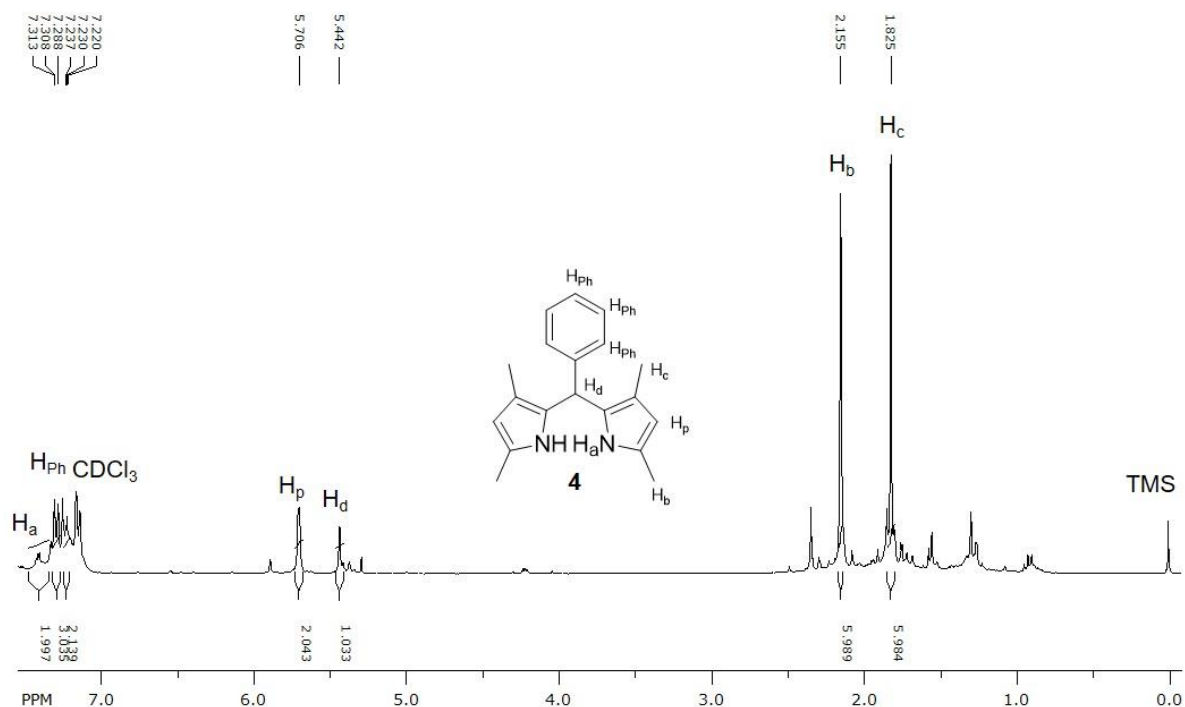


Shema 16. Mogući produkti kondenzacije pirola s aromatskim aldehydima

Spoj **6** prethodno je pripravljen u laboratoriju Lindseyjevom metodom bez otapala u velikom suvišku pirola te je nakon izolacije dodatno rekromatografiran. Produkt je okarakteriziran spektroskopijom ^1H -NMR.

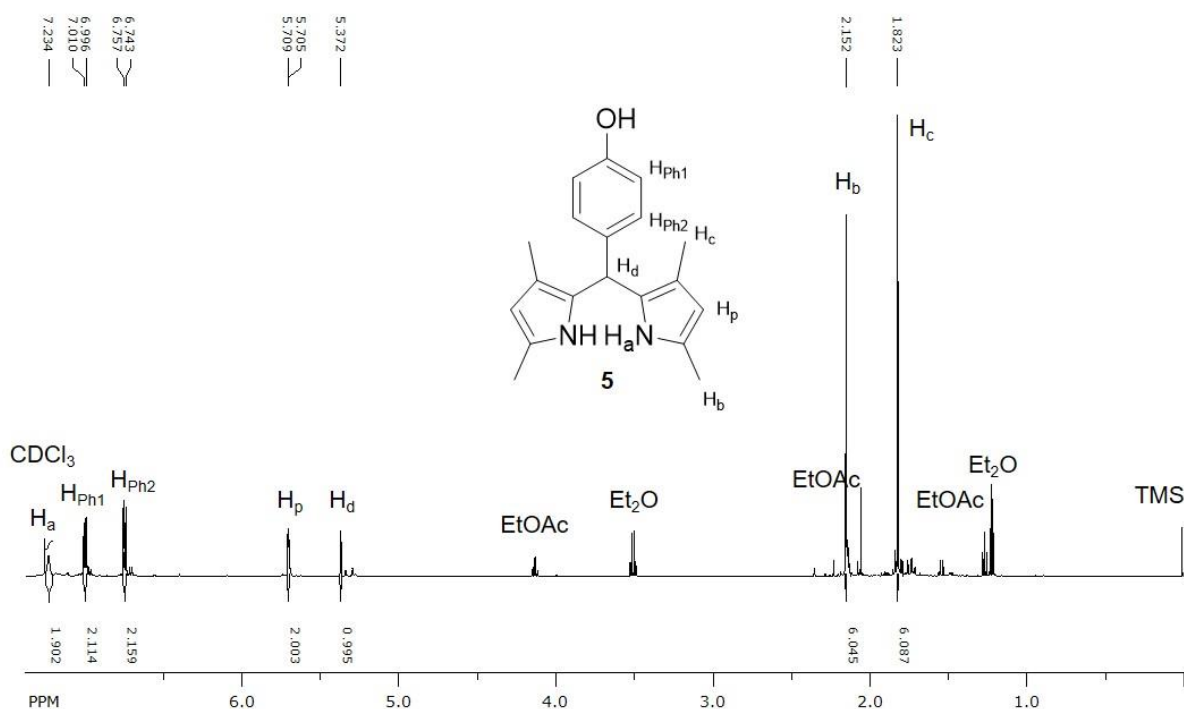
Kako bi se povećala iskorištenja reakcija, za sintezu spojeva **4** i **5** korišten je 2,4-dimetilpirol kojemu je jedan reaktivni α -položaj blokiran metilnim supstituentom te je tako u reakciji kondenzacije u dipirometan spriječena oligomerizacija. Reakcije su provedene u strogo kontroliranim reakcijskim uvjetima pod inertnom atmosferom N_2 zbog velike reaktivnosti sterički ometanog dipirometanskog *mezo*-ugljika i sklonosti dipirometana oksidaciji. Kao otapalo korišten je suhi diklormetan (DCM) jer H_2O čak i u tragovima smanjuje reakcijska iskorištenja. Dobivene dipirometane poželjno je što prije kromatografirati i čuvati na hladnom kako bi se spriječilo daljnje nastajanje smolastih nusprodukata. Čisti produkti dobiveni su višestrukim kromatografskim pročišćavanjem. Nastajanje produkata potvrđeno je temeljem spektara ^1H i ^{13}C -NMR.

U spektru ^1H -NMR spoja **4** prikazanom na slici 5 vidljivo je 8 signala zbog simetrične strukture molekule. Signali koji odgovaraju metilnim protonima nalaze se u desnom dijelu spektra pri nižim kemijskim pomacima. Protonu H_c odgovara singlet s integralom 6H pri $\delta = 1,82$ ppm, dok je proton H_b manje zasjenjen jer je bliže dušikovu atomu te je vidljiv također kao singlet s integralom 6H pri $\delta = 2,16$ ppm. Signal protona H_d vidljiv je kao singlet s integralom 1H pri $\delta = 5,44$ ppm, a svi ostali signali nalaze se u aromatskom dijelu spektra. Signali fenilnih protona H_{Ph} vidljivi su kao multiplet s integralom 5H između $\delta = 7,31 - 7,22$ ppm, a signal pirolnog protona H_p kao singlet s integralom 2H pri $\delta = 5,71$ ppm. Protonu vezanom za atom dušika, H_a , odgovara široki singlet s integralom 2H pri $\delta = 7,47 - 7,36$ ppm.



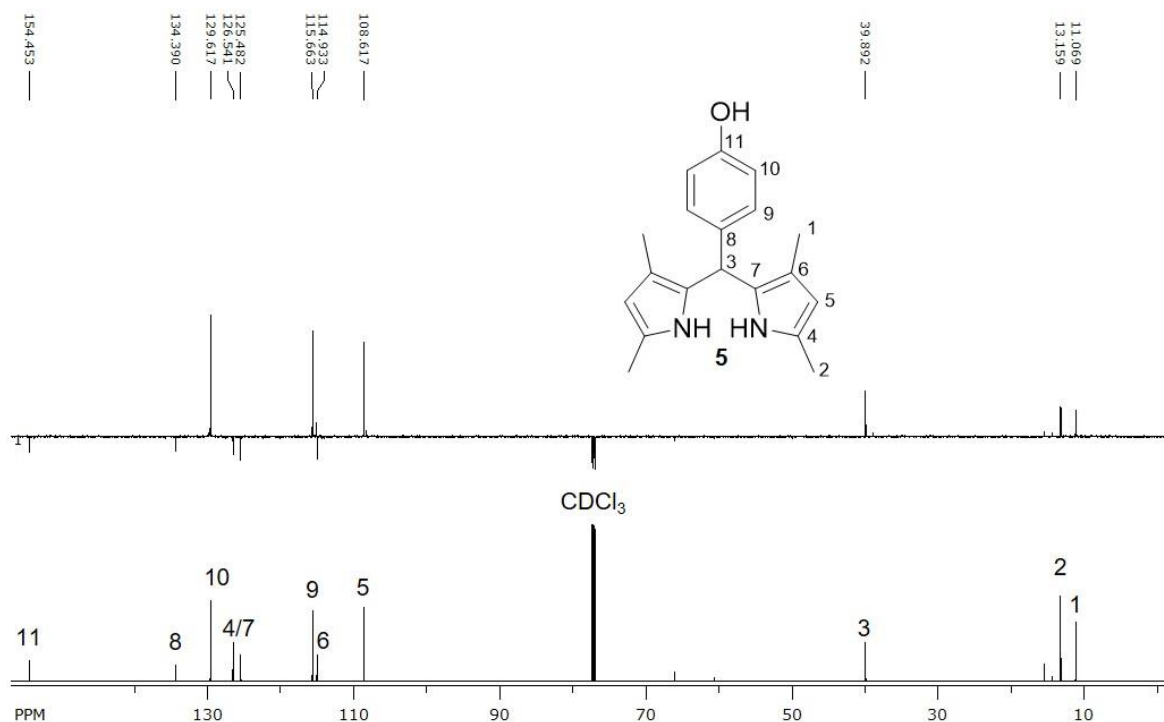
Slika 5. Spektar 1H -NMR spoja **4** snimljen u $CDCl_3$

U spektru 1H -NMR spoja **5** prikazanom na slici 6 vidljivo je 7 signala koji odgovaraju spoju i signali zaostalih otapala nakon obrade reakcijske smjese. Metilnim protonima asignirani su singlet H_c s integralom 6H pri $\delta = 1,82$ ppm i singlet H_b s integralom 6H pri $\delta = 2,12$ ppm, a singlet H_d pri $\delta = 5,37$ ppm s integralom 1H asigniran je *mezo*-protonu. Ostali signali nalaze se u aromatskom dijelu spektra. Dublet na $\delta = 5,77$ s integralom 2H i s konstantom sprezanja $J = 2,6$ Hz odgovara pirolnom protonu H_p , široki singlet pri $\delta = 7,25 - 7,22$ ppm s integralom 1H protonu H_a vezanom za dušikov atom, a fenilni protoni su međusobno spregnuti i vidljivi su kao dublet H_{Ph1} s integralom 2H, pri $\delta = 7,0$ ppm s konstantom sprezanja $J = 8,4$ Hz i dublet H_{Ph2} pri $\delta = 6,75$, 2H, $J = 8,4$ Hz, konstanta sprezanja karakteristična je za *orto*-fenilne protone.⁵³



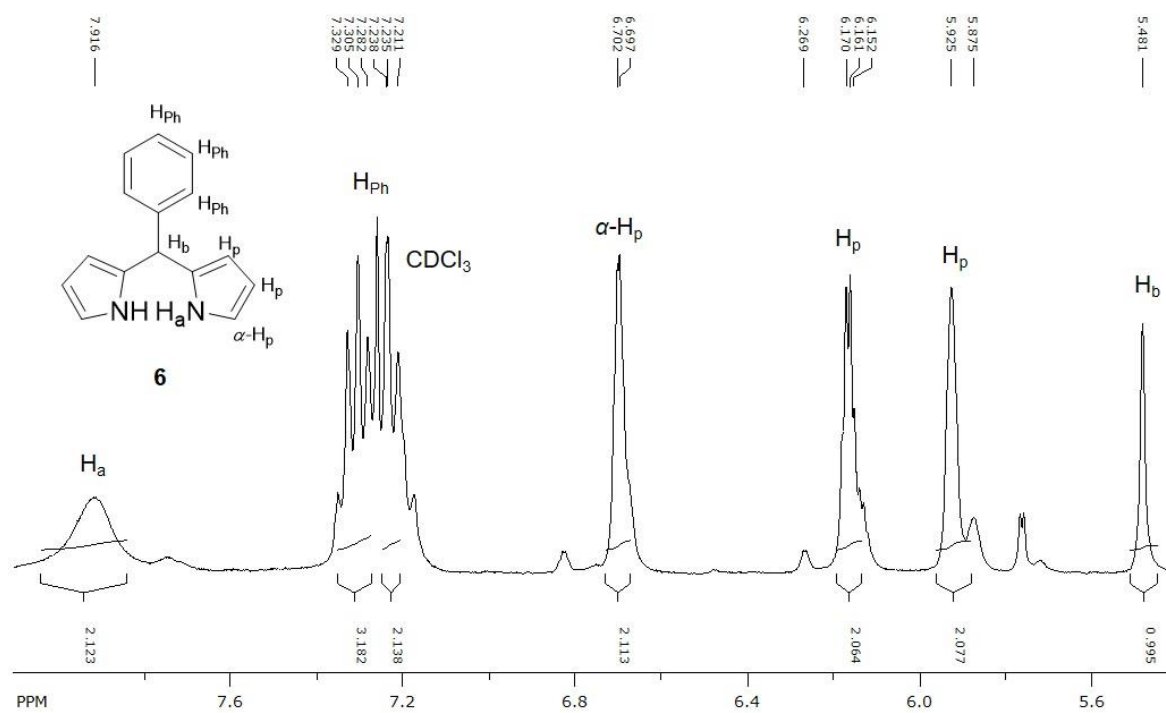
Slika 6. Spektar ¹H-NMR spoja **5** snimljen u CDCl₃

U spektrima ¹³C i ¹³C APT-NMR spoja **5** prikazanima na slici 7 vidljivo je 11 signala koji odgovaraju spoju te signali zaostalih otapala. Signali pri kemijskom pomaku $\delta = 11,1$ ppm i 13,2 ppm odgovaraju metilnim ugljicima C₁ i C₂. Signal pri $\delta = 39,9$ ppm asigniran je tercijarnom *mezo*-ugljiku C₃. Preostali signali su signali aromatskih ugljikovih atoma. Temeljem spektra ¹³C APT-NMR pirolnim ugljicima odgovaraju signali C₆ pri 114,9 ppm te C₄ i C₇ koji se zbog induktivnog efekta dušika nalaze pri većem kemijskom pomaku, $\delta = 125,5$ ppm i $\delta = 126,5$ ppm. Fenilnom ugljiku C₈ odgovara signal pri $\delta = 134,4$ Hz, dok je signal za ugljik C₁₁ najmanje zasjenjen i nalazi se pri $\delta = 154,4$ ppm. Ostali signali odgovaraju metinskim ugljicima. Pirolnom C₅ asigniran je signal pri $\delta = 108,6$ ppm, a fenilnim ugljicima signal C₉ pri $\delta = 115,6$ ppm i C₁₀ pri $\delta = 129,6$ ppm.



Slika 7. Spektar ^{13}C -NMR spoja 5 snimljen u CDCl_3

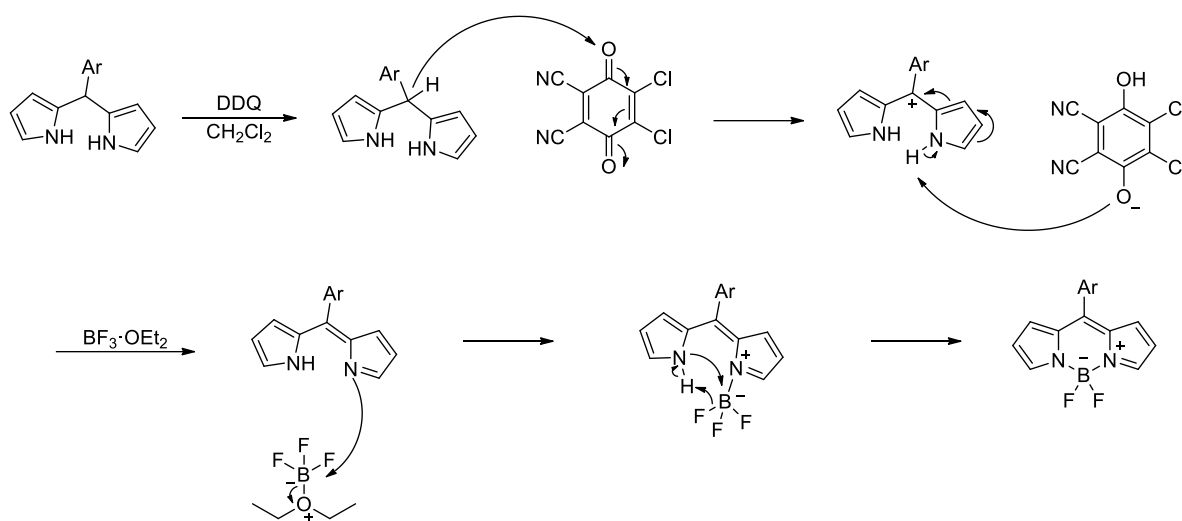
U spektru ^1H -NMR spoja 6 prikazanom na slici 8 vidljivo je 6 karakterističnih signala. Singlet s integralom 1H pri $\delta = 5,48$ ppm odgovara *mezo*-protonu H_b . U aromatskom dijelu spektra vidljivi su signali pirolnih protona, singlet H_b s integralom 2H pri $\delta = 5,92$ ppm, multiplet pri $\delta = 6,19 - 6,12$ ppm i dublet na $\delta = 6,70$ ppm, s konstantom sprezanja $J = 1,3$ Hz koja odgovara α -protonu.⁵³ Multiplet pri $\delta = 7,37 - 7,16$ ppm s integralom 5H signal je fenilnih protona H_{ph} , a široki singlet s integralom 2H pri $\delta = 8,03 - 7,82$ ppm odgovara protonu H_a vezanom za dušik.



Slika 8. Aromatski dio spektra 1H -NMR spoja **6** snimljen u CDCl₃

3.3. Sinteza i spektroskopska karakterizacija BODIPY spojeva 1–3

Pretvorba dipirometanskih prekursora u odgovarajuće BODIPY spojeve prilično je jednostavna. Korištenjem DDQ-a kao oksidansa u ekvivalentnom omjeru dolazi do oksidacije dipirometana u dipirometen. Nakon odvajanja nastalog hidrokinona filtracijom, kompleksiranjem s $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ u prisutnosti tercijarnog amina kao baze nastaju BODIPY spojevi. Reakcija se prekine dodatkom vodene otopine NaOH te se produkti pročiste kolonskom kromatografijom. Reakcijski mehanizam prikazan je na shemi 17.

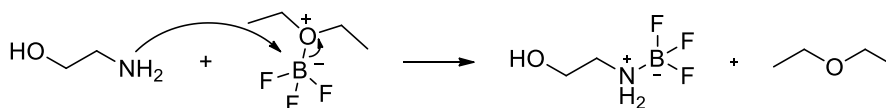


Shema 17. Reakcijski mehanizam sinteze BODIPY spojeva oksidacijom dipirometana i naknadnim kompleksiranjem s $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$

Iako je metoda vrlo jednostavna, velik problem predstavljala su mukotrpna čišćenja reakcijskih smjesa i izolacije konačnih produkata **1–3** zadovoljavajuće čistoće koja je nužna za daljnja fotofizička istraživanja i naknadne modifikacije kako bi se sintetizirali biološki indikatori.

Prilikom sinteze spoja **1**, nakon kromatografije koju je vrlo praktično pratiti tankoslojnom kromatografijom (TLC-om) jer produkt intenzivno fluoresciraju pod UV-svjetlom valne duljine $\lambda = 366 \text{ nm}$, dobiveni produkt nažalost nije u potpunosti izoliran u obliku kristala. Prema spektru $^1\text{H-NMR}$ smjesa je i dalje sadržavala znatne količine suvišnog $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Smjesa je zatim čišćena miješanjem s koncentriranijom vodenom otopinom NaOH, ali ponovno nije uklonjen suvišak BF_3 te je dobiven produkt u obliku ulja. Smjesa je zatim obrađena 30 %-tnom vodenom otopinom monoetanolamina (MEA). Naime, slobodni elektronski par MEA nukleofilnim napadom s BF_3 tvori kompleksni spoj, dok hidroksilna

skupina poboljšava njegovu topljivost u vodi te dolazi do prijelaza BF_3 iz organske u vodenu fazu. Mehanizam je prikazan na shemi 18.



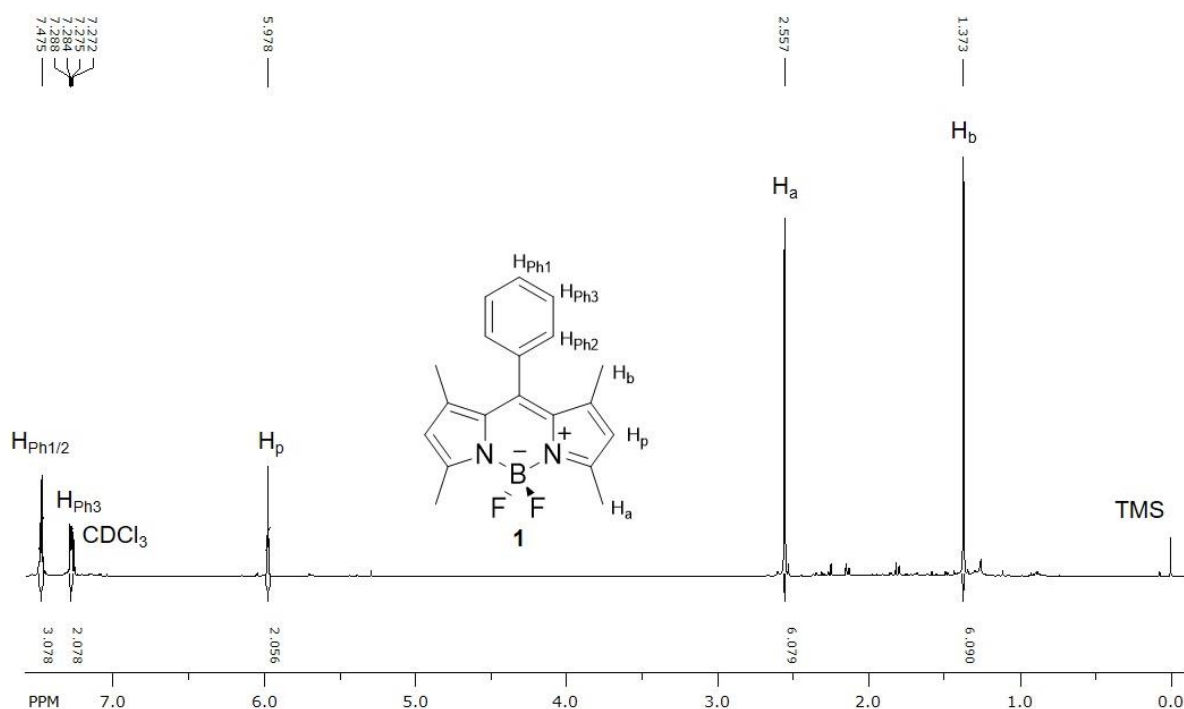
Shema 18. Uklanjanje suviška BF_3 vodenom otopinom monoetanolamina

Nakon čišćenja spoja tom metodom i rekromatografije uspješno je izoliran uljasti produkt koji stajanjem kristalizira te je prema spektru ^1H -NMR visoke čistoće, a ukupno reakcijsko iskorištenje iznosi $\eta = 10,1 \%$.

S obzirom na to da je najveći problem pri sintezi spoja **1** predstavljala njegoa izolacija i uklanjanje suviška BF_3 , nakon što je sintetiziran spoj **2**, tankoslojnom je kromatografijom detaljno istražen odgovarajući sustav otapala kako bi se poboljšala izolacija spoja kolonskom kromatografijom. Reakcijska smjesa adsorbirana je na silikagel i kao takva nanešena na kromatografsku kolonu. Nakon dugotrajnog ispiranja nepolarnim otapalom, postupno je povećan udio polarnog otapala te je uspješno izoliran čisti spoj **2** u obliku narančasto-crvenih kristala, a ukupno reakcijsko iskorištenje iznosi $\eta = 6,4 \%$.

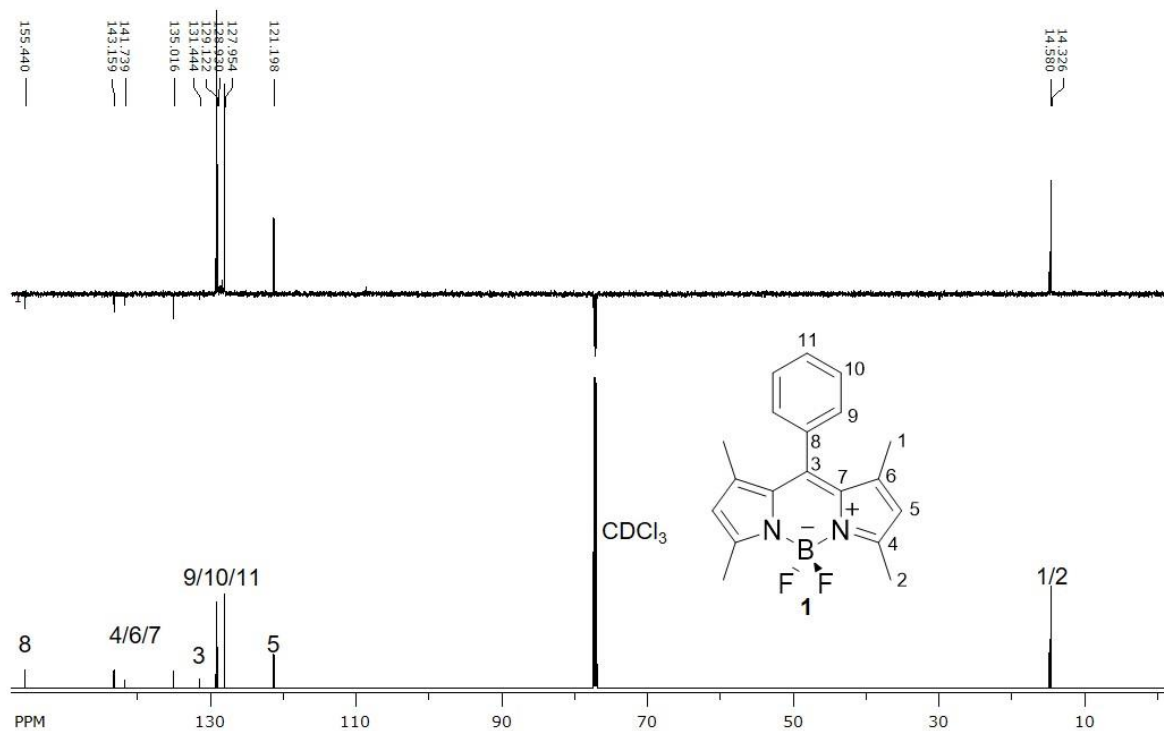
Reakcijska smjesa spoja **3** nakon oksidacije i kompleksiranja dipirometana **6** također je sadržavala velik udio nečistoća. Dodatnim čišćenjima i rekromatografijama suhim pakiranjem, uspješno je izoliran spoj **3** u obliku crvenih kristala, a ukupno reakcijsko iskorištenje iznosi $\eta = 4,4 \%$.

U spektru ^1H -NMR spoja **1** prikazanom na slici 9 vidljivo je 5 signala. Singlet s integralom 6H na $\delta = 1,37$ pripada metilnim protonima H_b te singlet s integralom 6H pri $\delta = 2,56$ protonima H_a . Singlet s integralom 2H pri $\delta = 5,98$ je pirolni proton H_p . Dublet dubleta s integralom 2H pri $\delta = 7,28$ ppm i s konstantama sprežanja $J = 2,1$ Hz, 1,6 Hz pripada protonu $\text{H}_{\text{Ph}3}$ koji je sprežnut s protonima $\text{H}_{\text{Ph}1}$ i $\text{H}_{\text{Ph}2}$ koji su vidljivi kao multiplet s integralom 3H pri $\delta = 7,51 - 7,41$ ppm.



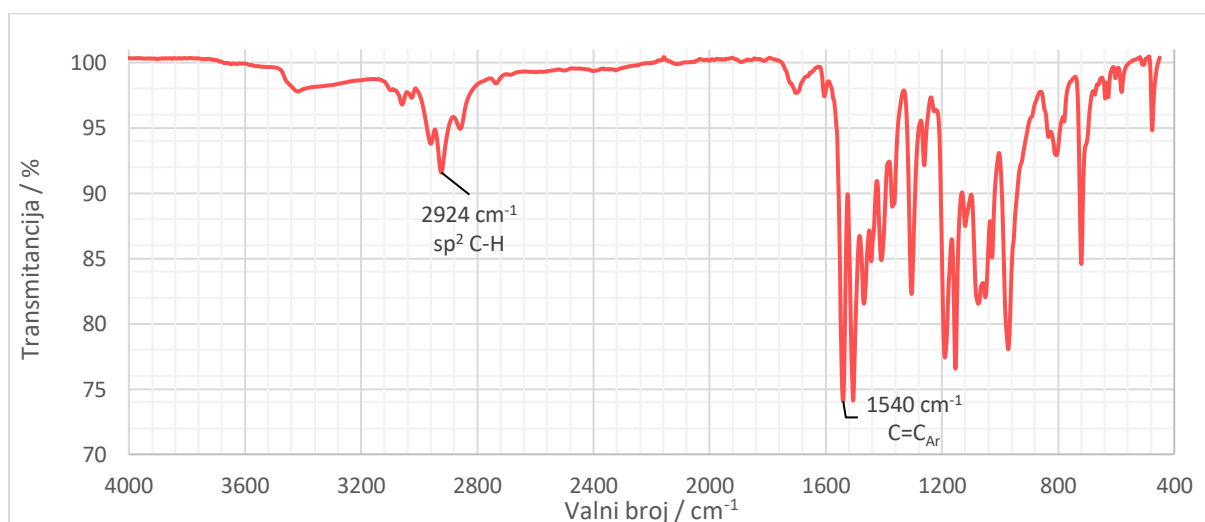
Slika 9. Spektar 1H -NMR spoja **1** snimljen u $CDCl_3$

U spektrima ^{13}C i ^{13}C APT-NMR spoja **1** prikazanima na slici 10 vidljivo je 11 signala. Signali pri kemijskom pomaku $\delta = 14,3$ ppm i $\delta = 14,6$ ppm pripadaju metilnim ugljicima C_1 i C_2 . Signal metinskog pirolnog ugljika C_5 je pri $\delta = 121,2$ ppm, a signali ostalih pirolnih ugljika C_4 , C_6 i C_7 vidljivi su pri $\delta = 135,0$ ppm, $141,7$ ppm i $143,2$ ppm. Temeljem spektra ^{13}C APT-NMR može se pretpostaviti da signali pri $\delta = 128,0$ ppm, $128,9$ ppm i $129,1$ ppm pripadaju fenilnim ugljicima C_9 , C_{10} i C_{11} . Signal pri $\delta = 131,4$ ppm odgovara *mezo*-ugljiku C_3 , a najmanje zasjenjen signal pri $\delta = 155,4$ ppm odgovara kvarternom fenilnom ugljiku C_8 .



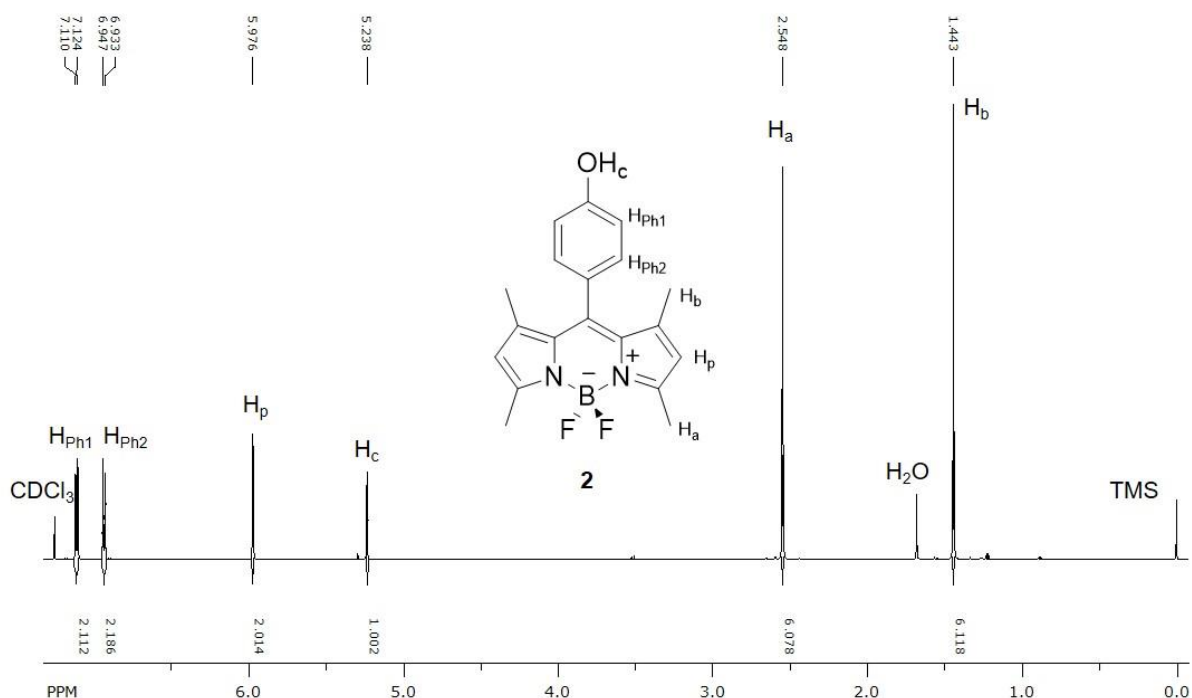
Slika 10. Spektar ^{13}C -NMR spoja **1** snimljen u CDCl_3

U IR-spekttru spoja **1** prikazanom na slici 11 vidljiva je apsorpcijska vrpca karakteristična za istežanje sp^2 C–H veze pri 2924 cm^{-1} i oštra vrpca pri 1540 cm^{-1} karakteristična za istežanje aromatske C=C veze.



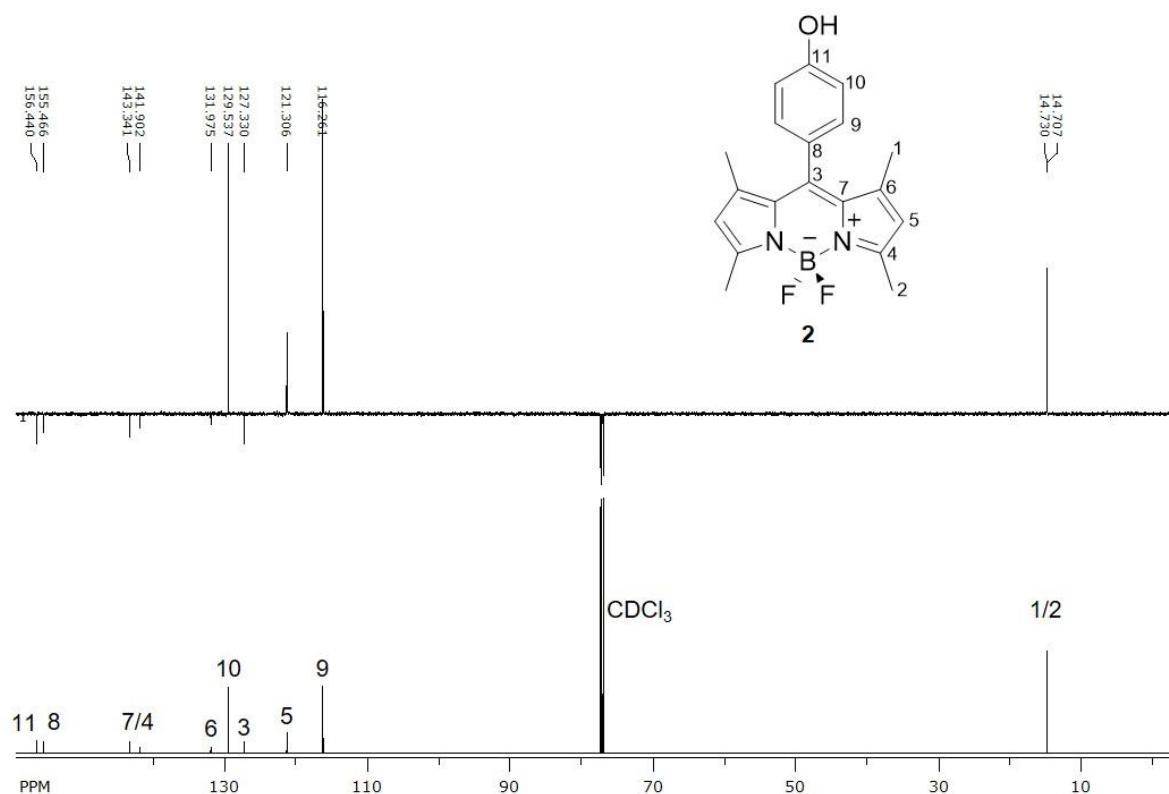
Slika 11. IR-spektar spoja **1**

U spektru ^1H -NMR spoja **2** prikazanom na slici 12 vidljivo je 6 signala. Singlet s integralom 6H pri $\delta = 1,44$ ppm odgovara protonima H_b , a singlet s integralom 6H pri $\delta = 2,55$ ppm protonima H_a . Hidroksilnom protonu H_c pripada singlet s integralom 1H pri $\delta = 5,24$ ppm, pirolnom protonu H_p singlet s integralom 1H pri $\delta = 5,98$ ppm, dublet s integralom 2H pri $\delta = 6,94$ ppm, $J = 8,4$ Hz odgovara fenilnom protonu $\text{H}_{\text{Ph}2}$, a dublet s integralom 2H pri nešto većoj vrijednosti kemijskih pomaka zbog blizine hidroksilne skupine, $\delta = 7,12$ ppm, $J = 8,4$ Hz, pripada protonu $\text{H}_{\text{Ph}1}$.



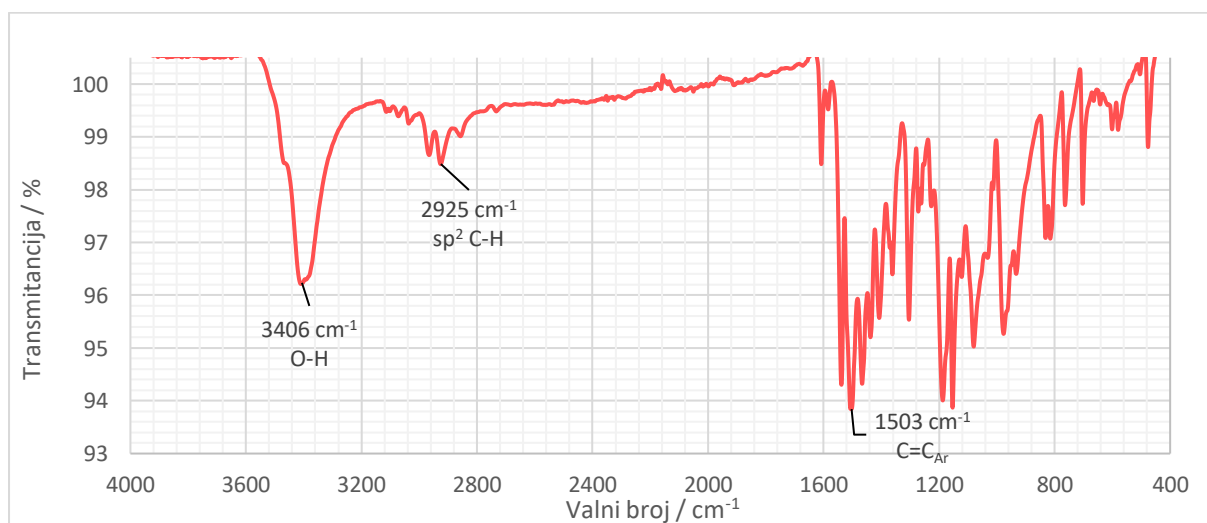
Slika 12. Spektar ^1H -NMR spoja **2** snimljen u CDCl_3

U ^{13}C i ^{13}C APT-NMR spektrima spoja **2** prikazanima na slici 13 vidljivo je 11 karakterističnih signala. Signali pri kemijskom pomaku $\delta = 14,71$ ppm i $\delta = 14,73$ ppm pripadaju metilnim ugljicima C_1 i C_2 . Signal metinskog pirolnog ugljika C_5 je pri $\delta = 121,3$ ppm, a signali ostalih pirolnih ugljika C_4 , C_6 i C_7 su pri $\delta = 132,0$ ppm, $141,9$ ppm i $143,3$ ppm. Temeljem spektra ^{13}C APT-NMR može se pretpostaviti da signali pri $\delta = 116,3$ ppm, $129,5$ ppm i $156,4$ ppm pripadaju fenilnim ugljicima C_9 , C_{10} i C_{11} . Mezo-ugljiku C_3 pripada signal pri $\delta = 127,3$ ppm, a signal pri $\delta = 155,5$ ppm fenilnom ugljiku C_8 .



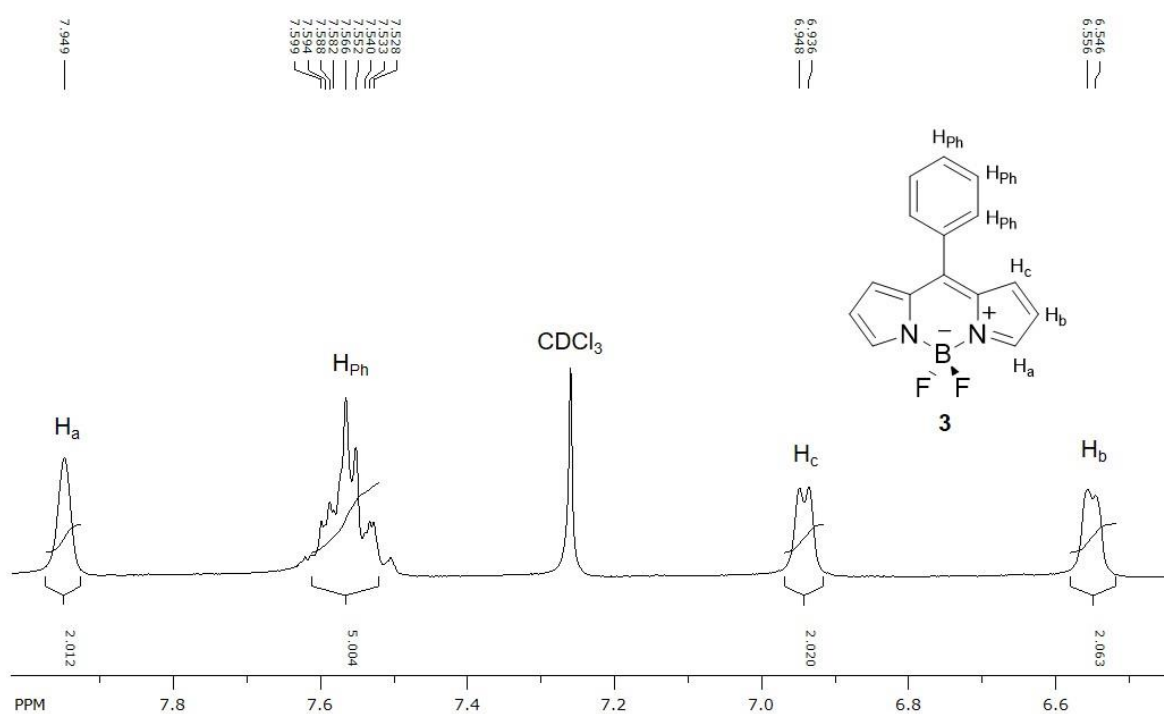
Slika 13. Spektar ¹³C-NMR spoja 2 snimljen u CDCl₃

U IR-spekttru spoja 2 prikazanom na slici 14 vidljiva je široka apsorpcijska vrpca karakteristična za istezanje O–H veze pri 3406 cm⁻¹, slaba apsorpcijska vrpca pri 2925 cm⁻¹ karakteristična za sp² C–H istezanje i oštra apsorpcijska vrpca pri 1503 cm⁻¹ karakteristična za istezanje aromatske C=C veze.



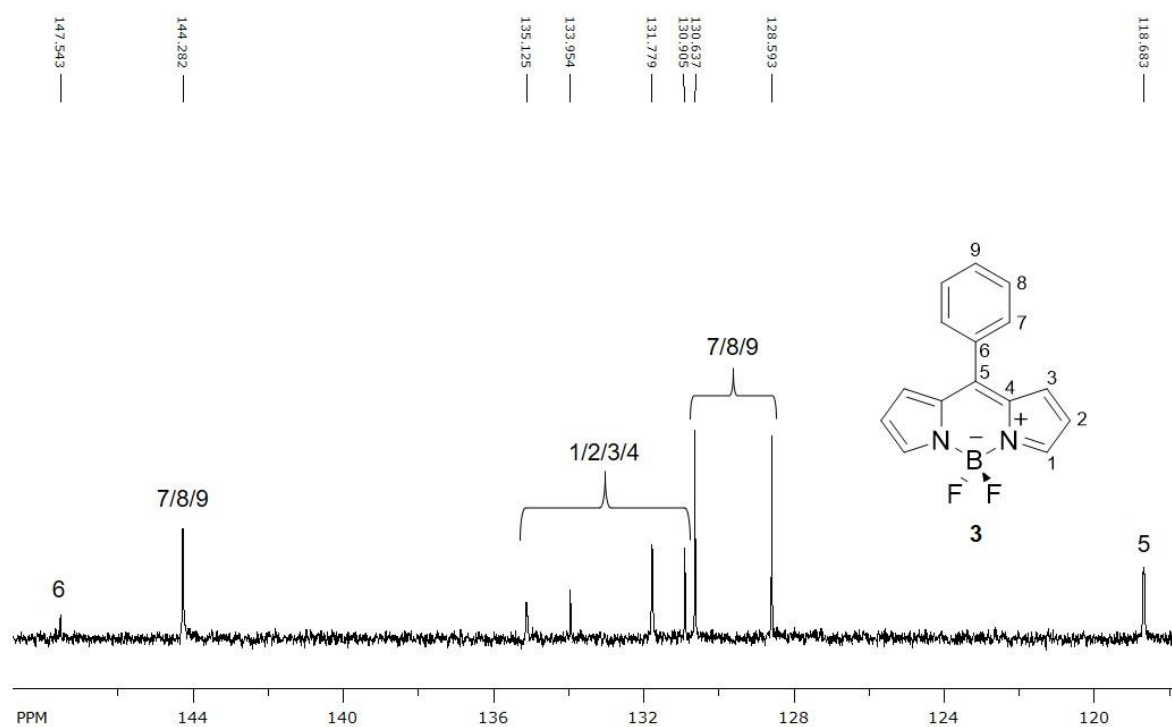
Slika 14. IR-spektar spoja 2

Na slici 15 prikazan je spektar ^1H -NMR spoja **3** na kojem su vidljiva 4 signala. Multiplet s integralom 5H pri $\delta = 7,59 - 7,52$ ppm signal je fenilnih protona H_{Ph} . Dublet s integralom 2H pri $\delta = 6,55$ ppm, $J = 3,5$ Hz odgovara protonu H_{b} , dublet s integralom 2H pri $\delta = 6,94$ ppm, $J = 3,5$ Hz protonu H_{c} , dok se za singlet s integralom 2H koji je pri najvećoj vrijednosti kemijskog pomaka zbog induktivnog efekta dušikova atoma, $\delta = 7,95$ ppm, može pretpostaviti da odgovara protonu H_{a} .



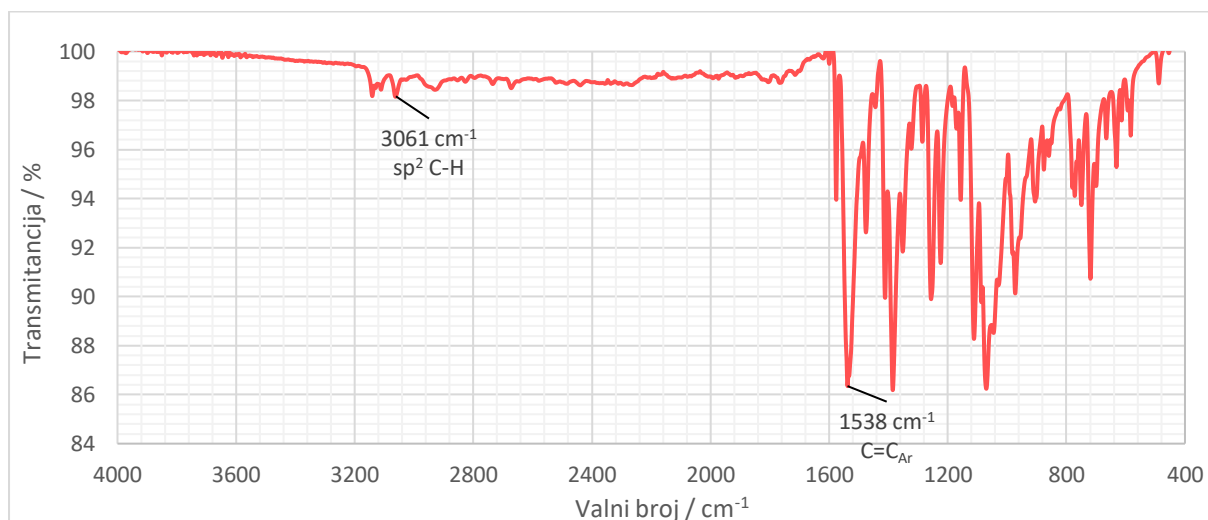
Slika 15. Aromatski dio spektra ^1H -NMR spoja **3** snimljen u CDCl_3

U spektru ^{13}C -NMR spoja **3** prikazanom na slici 16 vidljivo je 9 signala koji se svi nalaze u aromatskom dijelu spektra u području kemijskih pomaka od $\delta = 115$ ppm do $\delta = 150$ ppm. Kako su svi ugljikovi atomi u spoju sp^2 hibridizirani i nemaju vezane funkcionalne skupine, njihove kemijske okoline su vrlo slične te se stoga signalima ne mogu s velikom sigurnošću pripisati odgovarajući ugljikovi atomi. Signal pri kemijskom pomaku $\delta = 118,7$ ppm odgovara *mezo*-ugljiku C_5 , a signal pri najvećem kemijskom pomaku $\delta = 147,5$ ppm fenilnom ugljiku C_6 . Pirolnim ugljikovim atomima C_1 , C_2 , C_3 i C_4 vjerojatno pripadaju signali pri $\delta = 130,9$ ppm, $131,8$ ppm, $134,0$ ppm i $135,1$ ppm. Odzivi ostalih fenilnih ugljika C_7 , C_8 i C_9 mogli bi se pripisati signalima pri $\delta = 128,6$ ppm, $130,6$ ppm i $144,3$ ppm.



Slika 16. Spektar ^{13}C -NMR spoja **3** snimljen u CDCl_3

U IR-spekttru spoja **3** prikazanom na slici 17 vidljiva je vrlo slaba apsorpcijska vrpca pri 3061 cm^{-1} , karakteristična za sp^2 C–H istežanje. Oštra apsorpcijska vrpca pri 1538 cm^{-1} karakteristična je za istežanje aromatske C=C veze.



Slika 17. IR-spektar spoja **3**

4. Eksperimentalni dio

4.1. Opće napomene

Za identifikaciju sintetiziranih spojeva u okviru ovog završnog rada i određivanje njihove čistoće korištene su spektroskopske metode: nuklearna magnetska rezonancija (^1H , ^{13}C , ^{13}C -APT) i infracrvena spektroskopija (IR-ATR). Spektri ^1H i ^{13}C -NMR snimljeni su na spektrometrima Bruker AV-600 i AV-300 na Institutu Ruđer Bošković, koji rade na frekvenciji od 600 MHz i 300 MHz za jezgre ^1H i frekvenciji od 150 MHz i 75 MHz za jezgre ^{13}C . Spektri NMR snimani su u CDCl_3 kao otapalu, koristeći tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard, a kalibrirani su prema otapalu ($\delta = 7,26$ ppm za ^1H i $\delta = 77,16$ ppm za ^{13}C -NMR). Vrijednosti kemijskih pomaka i karakteristične apsorpcijske vrpce IR-zračenja u skladu su s literaturnima.⁵³ Za potpunu asignaciju signala potrebno je snimiti i 2D spektre NMR. IR-spektri snimljeni su na instrumentu Perkin-Elmer IR.

Tališta su određena na Köflerovu aparatu i nisu korigirana.

Čistoća pojedinih spojeva utvrđena je tankoslojnom kromatografijom (TLC-om) i dana je njihova R_f -vrijednost u određenom razvijaču.

Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silikagelom (Merck 63-200 μm) uz odgovarajući sustav otapala.

Korištena su kupovna otapala ili pročišćena dvostrukom destilacijom. U nekim koracima korištena su otapala sušena iznad molekulskih sita i granula KOH. Pirol, 2,4-DMP, benzaldehid, 4-hidroksibenzaldehid i borov trifluorid-dietil-eterat su kupovne kemikalije.

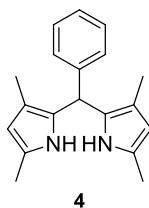
4.2. Sinteza spoja 1

4.2.1. Sinteza 5-fenil-1,3,7,9-tetrametildipirometana (4)

U dvogroloj tikvici od 100 mL otopljen je benzaldehid (0,8 mL, 8,0 mmol) u suhom DCM-u (20 mL) pod inertnom atmosferom N₂ te uz zaštitu od svjetla. Zatim je u reakcijsku smjesu dodan 2,4-dimetilpirol (2,1 mL, 20,0 mmol) i TFA u malim obrocima (1 mL, 1,3 mmol) pri čemu dolazi do burne, egzotermne reakcije i promjene boje otopine iz svijetlo-žute u crveno-smeđu. Reakcijska smjesa je potom miješana 2,5 h pri sobnoj temperaturi. Reakcija je zaustavljena dodatkom vodene otopine NaOH (20mL, 0,1 M). Vodeni i organski sloj su odijeljeni, a vodeni sloj je neutraliziran s HCl (4 M) i ekstrahiran s DCM-om (3 × 20 mL). Skupljeni organski ekstrakti sušeni su iznad bezvodnog MgSO₄. Sušilo je odfiltrirano preko filter-papira, a filtrat je uparen do suha pod sniženim tlakom na rotacijskom uparivaču te je dobiveno 3,49 g smeđe, uljaste tekućine.

Istim postupkom dobiveno je dodatnih 3,24 g spoja **4**, ukupno 6,73 g iz obje šarže, koji je zatim pročišćen kromatografijom na koloni punjenoj silikagelom uz DCM kao eluens. Izolirano je 5,73 g smeđe uljaste smjese koja prema spektru ¹H-NMR sadrži željeni produkt i početni 2,4-DMP u omjeru 3:2. Radi bolje karakterizacije dobivenog spoja **4** iz odvage 120 mg dobivene smjese uspješno su rekromatografijom uklonjeni nusprodukti i početni 2,4-DMP na koloni punjenoj silikagelom uz heksan/DCM (0 – 50 %) kao eluens te je dobiveno 50 mg analitički čistog spoja **4**.

5-fenil-1,3,7,9-tetrametildipirometan (4)



Smeđe ulje, ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm: 7,47 – 7,36 (široki s, 1H), 7,31 – 7,22 (m, 5H), 5,71 (s, 2H), 5,44 (s, 1H), 2,16 (s, 6H), 1,82 (s, 6H).

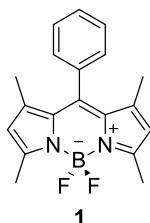
4.2.2. Sinteza 4,4-difluor-8-fenil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (1)

2,90 g smjese koja sadrži spoj **4** ($\approx 1,74$ g, $\approx 6,3$ mmol) i DDQ (2,75 g, 12,1 mmol) suspendirani su u suhom DCM-u (20 mL) u tikvici s okruglim dnom od 100 mL. Reakcijska smjesa je miješana zaštićena od svjetla na magnetskoj miješalici pod inertnom atmosferom N_2 pri sobnoj temperaturi 3 h. Potom je reakcijska smjesa filtrirana preko filter-papira i filtrat je uparen do suha pri sniženom tlaku na rotacijskom uparivaču. Dobiveno je 2,02 g smeđe uljaste tekućine koja je bez pročišćavanja korištena u sljedećem reakcijskom koraku.

Dobivena sirova smjesa otopljena je DCM-u (20 mL) u dvogrloj tikvici od 100 mL. Pod atmosferom N_2 te uz zaštitu od svjetla, uz stalno miješanje na magnetskoj miješalici štrcaljkom je dodan trietilamin (13,2 mL, 94,6 mmol) i $BF_3 \cdot OEt_2$ (11,8 mL, 94,6 mmol) u malim obrocima. Smjesa je miješana pri sobnoj temperaturi preko noći. Sljedeći dan u reakcijskoj smjesi bila je vidljiva izrazita fluorescencija. Dodana je vodena otopina NaOH (20 mL, 0,1 M) te je smjesa miješana 1 h pri sobnoj temperaturi. Organski i vodeni sloj su odijeljeni, a vodeni je ekstrahiran DCM-om (3×20 mL). Kombinirani organski slojevi sušeni su iznad bezvodnog $MgSO_4$ i nakon sušenja filtrirani preko filter-papira te je otapalo otpareno pri sniženom tlaku na rotacijskom uparivaču. Dobiveno je 1,78 g tamno-crvenog ulja koje prema spektru 1H -NMR sadrži produkt **1** i suvišak $BF_3 \cdot OEt_2$.

Analitički čist uzorak dobiven je rekromatografijama 840 mg pročišćene sirove smjese metodom suhog pakiranja na stupcu silikagela uz smjesu otapala heksan/ Et_2O (0 – 25 %) kao eluens. Dobiveno je 170 mg narančasto-crvenog ulja koje stajanjem kristalizira i sadrži iznimno mali udio nečistoća.

4,4-difluor-8-fenil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen (1)



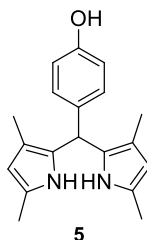
Ukupno reakcijsko iskorištenje $\eta = 10,1$ %, narančasto-crveni kristali, R_f (DCM) = 0,91. 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7,51 – 7,41 (m, 3H), 7,28 (dd, 2H, $J = 2,1$ Hz, $J = 1,6$ Hz), 5,98 (s, 2H), 2,56 (s, 6H), 1,37 (s, 6H). ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm : 155,4, 143,2, 141,7, 135,0, 131,4, 129,1, 128,9, 128,0, 121,2, 14,6, 14,3. IR $\bar{\nu}/cm^{-1}$: 2924, 1540.

4.3. Sinteza spoja 2

4.3.1. Sinteza 5-(4-hidroksifenil)-1,3,7,9-tetrametildipirometana (5)

U dvogroloj tikvici od 100 mL suspendiran je 4-hidroksibenzaldehid (1,51 g, 12,4 mmol) u suhom DCM-u (30 mL), pod inertnom atmosferom N₂ i uz zaštitu od svjetla. Potom su u reakcijsku smjesu dodani 2,4-DMP (3 mL, 29,1 mmol) i TFA (0,1 mL, 1 mmol) u malim obrocima pri čemu dolazi do burne, egzotermne reakcije i promjene boje iz svijetlo-žute u tamno-smeđu. Reakcijska smjesa je miješana 2,5 h pri sobnoj temperaturi. Reakcija je prekinuta dodatkom vodene otopine NaOH (20 mL, 0,1 M). Organski i vodeni sloj zatim su odijeljeni, a vodeni sloj je neutraliziran s HCl (4 M) i ekstrahiran s s EtOAc (3 × 25 ml). Kombinirani organski ekstrakti oprani su s vodom (30 mL) i sušeni iznad bezvodnog MgSO₄. Sušilo je filtrirano preko filter-papira i filtrat je uparen do suha na rotacijskom uparivaču pri sniženom tlaku te je dobiveno 3,33 g smeđe uljaste tekućine. Spojeni ekstrakti pročišćeni su kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela uz smjesu otapala DCM/EtOAc (0 – 20 %) kao eluens. Dobiveno je 2,09 g smeđeg ulja koje prema spektru ¹H-NMR odgovara produktu, spoju 5.

5-(4-hidroksifenil)-1,3,7,9-tetrametildipirometan (5)



Smeđe ulje, ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 7,25 – 7,22 (široki s, 1H), 7,00 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 6,75 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 5,77 (d, 2H, J = 2,6 Hz), 5,37 (s, 1H), 2,12 (s, 6H), 1,82 (s, 6H). ¹³C-NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 154,4, 134,4, 129,6, 126,5, 125,5, 115,6, 114,9, 108,6, 39,9, 13,2, 11,1.

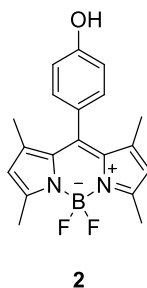
4.3.2. Sinteza 4,4-difluor-8-(4-hidroksifenil)-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (2)

U tikvici s okruglim dnom od 200 mL suspendirani su spoj 2 (2,09 g, 8,8 mmol) i DDQ (2,99 g, 13,2 mmol) u toluenu (50 mL). Suspenzija je miješana na magnetskoj miješalici pri temperaturi refluksa 1 h. Reakcijska smjesa je potom filtrirana preko filter-papira i otapalo je

otpareno na rotacijskom uparivaču pri sniženom tlaku. Dobiveno je 1,96 g tamno-smeđeg ulja koje je bez pročišćavanja korišteno u sljedećem reakcijskom koraku.

Upareni uljasti ostatak suspendiran je u toluenu (35 mL) u ultrazvučnoj kupelji. Pod inertnom atmosferom N₂ dodan je Et₃N (12,2 mL, 87,7 mmol) i BF₃·OEt₂ u malim obročima (11 mL, 87,7 mmol) uz stalno miješanje na magnetskoj miješalici. Reakcijska smjesa je grijana preko noći pri 70 °C. U ohlađenu smjesu nakon miješanja dodana je vodena otopina NaOH (30 mL, 1 M) te su odijeljeni organski i vodeni sloj. Vodeni sloj je neutraliziran s HCl (4 M) i ekstrahiran s EtOAc (3 × 30 mL). Kombinirani organski ekstrakti sušeni su iznad bezvodnog MgSO₄ i filtrirani preko filter-papira i potom upareni na rotacijskom uparivaču pri sniženom tlaku. Sirova reakcijska smjesa nanešena je na stupac silikagela metodom suhog pakiranja i pročišćena uz smjesu otapala heksan/Et₂O (0 – 50 %) kao eluens. Dobiveno je 209 mg narančastih kristala koji prema spektru ¹H-NMR odgovaraju produktu, spoju **2**, te 68 mg crvenog ulja s malim udjelom nečistoća.

4,4-difluor-8-(4-hidroksifenil)-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3*a*,4*a*-diazas-indacen (**2**)



Ukupno reakcijsko iskorištenje, η = 6,4%, T_f = 222 – 226 °C, narančasti kristali, R_f (heksan/Et₂O, 1:1) = 0,20. ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7,12 (d, 2H, 8,4 Hz), 6,94 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 5,98 (s, 1H), 5,24 (s, 1H), 2,55 (s, 6H), 1,44 (s, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 156,4, 155,5, 143,3, 141,9, 132,0, 129,5, 127,3, 121,3, 116,3, 14,73, 14,71. IR $\bar{\nu}$ /cm⁻¹: 3406, 2925, 1503.

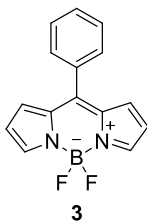
4.4. Sinteza spoja 3

4.4.1. Sinteza 4,4-difluor-8-fenil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (3)

Spoj 6 (1,12 g, 5,4 mmol) otopljen je u tikvici s okruglim dnom od 200 mL u suhom DCM (35 mL) te je dodan DDQ (2,45 g, 10,8 mmol) i reakcijska smjesa je miješana 3 h pri sobnoj temperaturi pod inertnom atmosferom N₂. Reakcijska smjesa je potom profiltrirana preko filter-papira te je otapalo otpareno na rotacijskom uparivaču pri sniženom tlaku. Dobiveno je 1,15 g tamno-crvenog ulja koje je bez pročišćavanja korišteno u sljedećem reakcijskom koraku.

Upareni ostatak otopljen je u suhom DCM-u (35 mL) te mu je pod atmosferom N₂ dodan Et₃N (11,3 mL, 8,1 mmol) i BF₃·OEt₂ (10,2 mL, 8,1 mmol) u malim obrocima pri čemu dolazi do burne reakcije. Reakcijska smjesa miješana je preko noći pri sobnoj temperaturi. Sljedeći dan u tikvicu je dodana vodena otopina NaOH (40 mL, 1 M) te je reakcijska smjesa miješana 1 h. Odijeljeni su vodeni i organski sloj, a vodeni sloj je neutraliziran s HCl (4 M) i ekstrahiran s DCM (3 × 20 mL). Kombinirani organski ekstrakti sušeni su iznad bezvodnog MgSO₄, filtrirani preko filter-papira te je filtrat uparen do suha na rotacijskom uparivaču pri sniženom tlaku. Dobiveno tamno-crveno ulje kromatografirano je na stupcu silikagela na koji je nanešeno suhim pakiranjem i eluirano sa smjesom otapala heksan/Et₂O (0 – 20%). Dobiveno je 64 mg crvenih kristala koji su na osnovu snimljenih spektara NMR identificirani kao produkt, spoj 3.

4,4-difluor-8-fenil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen (3)



Ukupno reakcijsko iskorištenje, $\eta = 4,4\%$, $T_f = 102 - 103\text{ }^{\circ}\text{C}$, crveni kristali, R_f (heksan/Et₂O (20 %)) = 0,34. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 7,95 (široki s, 1H), 7,59 – 7,52 (m, 5H), 6,94 (d, 2H, $J = 3,5\text{ Hz}$), 6,55 (d, 2H, $J = 3,5\text{ Hz}$). ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 147,5, 144,3, 135,1, 134,0, 131,8, 130,9, 130,6, 128,6, 118,7. IR $\bar{\nu}$ /cm⁻¹: 3061, 1538.

5. Zaključak

U ovom završnom radu Lindseyjevim pristupom pripravljena je serija BODIPY spojeva **1–3**: 4,4-difluor-8-fenil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3*a*,4*a*-diazas-indacen (**1**), 4,4-difluor-8-(4-hidroksifenil)-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3*a*,4*a*-diazas-indacen (**2**) i 4,4-difluor-8-fenil-4-bora-3*a*,4*a*-diazas-indacen (**3**). Prvi korak u njihovoj sintezi je priprava dipirometana metodom kondezacije pirola s aromatskim aldehydima uz trifluoroctenu kiselinu kao katalizator pri sobnoj temperaturi. Reakcijom 2,4-dimetilpirola i benzaldehida ili 4-hidroksibenzaldehida dobiveni su odgovarajući 5-fenil-1,3,7,9-tetrametildipirometan (**4**) i 5-(4-hidroksifenil)-1,3,7,9-tetrametildipirometan (**5**). Navedeni dipirometani i 5-fenildipirometan (**6**), koji je prethodno pripravljen u laboratoriju, prevedeni su *in situ* u dipirometene uz 2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon kao oksidans, a kompleksiranjem s borovim trifluoridom kao Lewisovom kiselinom dobivene su ciljne molekule **1–3** u ukupnim reakcijskim iskorištenjima od 4 – 10 %. Reakcije su provedene pri suhim i inertnim uvjetima. Temeljem spektara ^1H i ^{13}C -NMR potvrđeno je dobivanje BODIPY spojeva **1–3**, koji su dodatno okarakterizirani infracrvenom spektroskopijom te određivanjem tališta.

Odabrani pristup sinteze BODIPY spojeva korištenjem različito supstituiranih derivata pirola i benzaldehida dobro je istražen. Tako je korištenjem supstituiranih pirola smanjena mogućnost nastajanja oligomera, međutim reakcijska iskorištenja su i dalje niska, a dugotrajne izolacije čistih spojeva velik su nedostatak. S obzirom na to da je najveći problem bio uklanjanje $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ reagensa kojeg je nužno koristiti u suvišku, optimizacijom reakcijskog koraka kompleksiranja u budućnosti bi se mogli izbjeći navedeni problemi.

Pripravljene različito supstituirane BODIPY spojeve poslužit će kao prekursori u sintezi novih biomolekulskih fluorescentnih indikatora.

6. Popis oznaka, kratica i simbola

APT – test vezanog protona

ATR – oslabljena totalna refleksija

BODIPY – borov dipirometen

DCM – diklormetan

DDQ – 2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon

2,4-DMP – 2,4-dimetilpirol

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

IR –infracrveno

MEA – monoetanolamin

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

NXS – *N*-halosukcinimid

S_EAr – elektrofilna aromatska supstitucija

S_NAr – nukleofilna aromatska supstitucija

TFA – trifluoroctena kiselina

TLC – tankoslojna kromatografija

TMS – tetrametilsilan

UV – ultraljubičasto

J – konstanta sprezanja

R_f – faktor razlučivanja

T_t – temperatura taljenja

$\bar{\nu}$ – valni broj

$\Delta \lambda$ – Stokesov pomak

δ – kemijski pomak

ε – molarni apsorpcijski koeficijent

η – reakcijsko iskorištenje

λ – valna duljina

τ – vrijeme života pobuđenog stanja

Φ_f – kvantni prinos fluorescencije

7. Literatura

1. Treibs, A. & Kreuzer, F. -H. Difluorboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethenen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **718**, 208–223 (1968).
2. Ulrich, G., Ziessel, R. & Harriman, A. The chemistry of fluorescent bodipy dyes: Versatility unsurpassed. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **47**, 1184–1201 (2008).
3. Bertrand, B. *et al.* Metal-based BODIPY derivatives as multimodal tools for life sciences. *Coord. Chem. Rev.* **358**, 108–124 (2018).
4. Loudet, A. & Burgess, K. BODIPY dyes and their derivatives: Syntheses and spectroscopic properties. *Chem. Rev.* **107**, 4891–4932 (2007).
5. Boens, N., Leen, V. & Dehaen, W. Fluorescent indicators based on BODIPY. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 1130–1172 (2012).
6. Baruah, M., Qin, W., Basarić, N., De Borggraeve, W. M. & Boens, N. BODIPY-based hydroxyaryl derivatives as fluorescent pH probes. *J. Org. Chem.* **70**, 4152–4157 (2005).
7. Vegesna, G. K. *et al.* Highly water-soluble BODIPY-based fluorescent probe for sensitive and selective detection of nitric oxide in living cells. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **5**, 4107–4112 (2013).
8. Ni, Y. & Wu, J. Far-red and near infrared BODIPY dyes: Synthesis and applications for fluorescent pH probes and bio-imaging. *Org. Biomol. Chem.* **12**, 3774–3791 (2014).
9. Kowada, T., Maeda, H. & Kikuchi, K. BODIPY-based probes for the fluorescence imaging of biomolecules in living cells. *Chem. Soc. Rev.* **44**, 4953–4972 (2015).
10. Kamkaew, A. *et al.* BODIPY dyes in photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.* **42**, 77–88 (2013).
11. Radunz, S. *et al.* Temperature- And Structure-Dependent Optical Properties and Photophysics of BODIPY Dyes. *J. Phys. Chem. A* **124**, 1787–1797 (2020).
12. Schmitt, A., Hinkeldey, B., Wild, M. & Jung, G. Synthesis of the core compound of the BODIPY dye class: 4,4'-difluoro-4-bora-(3a,4a)-diazas-indacene. *J. Fluoresc.* **19**, 755–758 (2009).
13. Lu, H., MacK, J., Yang, Y. & Shen, Z. Structural modification strategies for the rational design of red/NIR region BODIPYs. *Chem. Soc. Rev.* **43**, 4778–4823 (2014).
14. Boens, N., Verbelen, B., Ortiz, M. J., Jiao, L. & Dehaen, W. Synthesis of BODIPY dyes through postfunctionalization of the boron dipyrromethene core. *Coord. Chem. Rev.* **399**, (2019).

15. Wagner, R. W. & Lindsey, J. S. Boron-dipyrromethene dyes for incorporation in synthetic multi-pigment light-harvesting arrays. *Pure Appl. Chem.* **68**, 1373–1380 (1996).
16. Clarke, R. G. & Hall, M. J. *Recent developments in the synthesis of the BODIPY dyes. Advances in Heterocyclic Chemistry* vol. 128 (Elsevier Inc., 2019), Newcastle University.
17. Wood, T. E. & Thompson, A. Advances in the chemistry of dipyrins and their complexes. *Chem. Rev.* **107**, 1831–1861 (2007).
18. Leen, V. *Synthesis and application of reactive BODIPY dyes. Doctoral Thesis* (2010), Faculty of Science, KU Leuven.
19. Wu, L. & Burgess, K. A New Synthesis of Symmetric Boraindacene (BODIPY) Dyes. *Chem. Commun.* 4933–4935 (2008).
20. Goud, T. V., Tutar, A. & Biellmann, J. F. Synthesis of 8-heteroatom-substituted 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene dyes (BODIPY). *Tetrahedron* **62**, 5084–5091 (2006).
21. de J. Gómez-Infante, A. *et al.* Synthesis, Properties, and Functionalization of Nonsymmetric 8-MethylthioBODIPYs. *European J. Org. Chem.* **2016**, 5009–5023 (2016).
22. Peña-Cabrera, E. *et al.* Simple, general, and efficient synthesis of meso-substituted borondipyrromethenes from a single platform. *Org. Lett.* **9**, 3985–3988 (2007).
23. Prokopcová, H. & Kappe, C. O. The Liebeskind-Srogl C-C cross-coupling reaction. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **48**, 2276–2286 (2009).
24. Worries, H. J. *et al.* A novel water-soluble fluorescent probe: Synthesis, luminescence and biological properties of the sodium salt of the 4-sulfonato-3,3',5,5'-tetramethyl-2,2'-pyrromethen-1,1'-BF₂ complex. *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas* **104**, 288–291 (1985).
25. Esnal, I. *et al.* Nitro and amino BODIPYS: Crucial substituents to modulate their photonic behavior. *RSC Adv.* **3**, 1547–1556 (2013).
26. Leen, V. *et al.* A versatile, modular synthesis of monofunctionalized BODIPY dyes. *Chem. Commun.* 4515–4517 (2009)
27. Jiao, L. *et al.* β -formyl-BODIPYs from the Vilsmeier-Haack reaction. *J. Org. Chem.* **74**, 7525–7528 (2009).
28. Donnelly, J. L. *et al.* Exploring the Relationship between BODIPY Structure and Spectroscopic Properties to Design Fluorophores for Bioimaging. *Chem. - A Eur. J.* **26**,

- 863–872 (2020).
29. Deniz, E. *et al.* Bidirectional switching of near IR emitting boradiazaindacene fluorophores. *Org. Lett.* **10**, 3401–3403 (2008).
 30. Zhu, S. *et al.* Controlled Knoevenagel reactions of methyl groups of 1,3,5,7-tetramethyl BODIPY dyes for unique BODIPY dyes. *RSC Adv.* **2**, 404–407 (2012).
 31. Rurack, K., Kollmannsberger, M. & Daub, J. A highly efficient sensor molecule emitting in the near infrared (NIR): 3,5-distyryl-8-(p-dimethylaminophenyl)-difluoroboradiazaindacene. *New J. Chem.* **25**, 289–292 (2001).
 32. Ekmekci, Z., Yilmaz, M. D. & Akkaya, E. U. A monostyryl-boradiazaindacene (BODIPY) derivative as colorimetric and fluorescent probe for cyanide ions. *Org. Lett.* **10**, 461–464 (2008).
 33. Rohand, T., Baruah, M., Qin, W., Boens, N. & Dehaen, W. Functionalisation of fluorescent BODIPY dyes by nucleophilic substitution. *Chem. Commun.* 266–268 (2006).
 34. Lakshmi, V., Rajeswara Rao, M. & Ravikanth, M. Halogenated boron-dipyrromethenes: Synthesis, properties and applications. *Org. Biomol. Chem.* **13**, 2501–2517 (2015).
 35. Rohand, T., Qin, W., Boens, N. & Dehaen, W. Palladium-catalyzed coupling reactions for the functionalization of BODIPY dyes with fluorescence spanning the visible spectrum. *European J. Org. Chem.* 4658–4663 (2006).
 36. Alnoman, R. B., Stachelek, P., Knight, J. G., Harriman, A. & Waddell, P. G. Synthesis of 2-aminoBODIPYs by palladium catalysed amination. *Org. Biomol. Chem.* **15**, 7643–7653 (2017).
 37. Leen, V., Leemans, T., Boens, N. & Dehaen, W. 2- and 3-monohalogenated BODIPY dyes and their functionalized analogues: Synthesis and spectroscopy. *European J. Org. Chem.* 4386–4396 (2011).
 38. Leen, V. *et al.* 1,7-disubstituted boron dipyrromethene (BODIPY) dyes: Synthesis and spectroscopic properties. *J. Org. Chem.* **76**, 8168–8176 (2011).
 39. Kee, H. L. *et al.* Structural control of the photodynamics of boron-dipyrroin complexes. *J. Phys. Chem. B* **109**, 20433–20443 (2005).
 40. Strandheim, K. O. *Synthesis and Characterization of BODIPY Dyes for Optoelectronic Applications. Master's Thesis* (2019), Faculty of Natural Sciences, Norwegian University of Science and Technology.
 41. Leen, V., Yuan, P., Wang, L., Boens, N. & Dehaen, W. Synthesis of meso -halogenated

- BODIPYs and access to meso -substituted analogues. *Org. Lett.* **14**, 6150–6153 (2012).
42. Bodio, E. & Goze, C. Investigation of B-F substitution on BODIPY and aza-BODIPY dyes: Development of B-O and B-C BODIPYs. *Dye. Pigment.* **160**, 700–710 (2019).
 43. Niu, S. L., Ulrich, G., Retailleau, P., Harrowfield, J. & Ziessel, R. New insights into the solubilization of Bodipy dyes. *Tetrahedron Lett.* **50**, 3840–3844 (2009).
 44. Kumaresan, D., Thummel, R. P., Bura, T., Ulrich, G. & Ziessel, R. Color tuning in new metal-free organic sensitizers (Bodipys) for dye-sensitized solar cells. *Chem. - A Eur. J.* **15**, 6335–6339 (2009).
 45. Ulrich, G., Goze, C., Goeb, S., Retailleau, P. & Ziessel, R. New fluorescent aryl- or ethynylaryl-boron-substituted indacenes as promising dyes. *New J. Chem.* **30**, 982–986 (2006).
 46. Nagai, A., Kokado, K., Miyake, J. & Chujo, Y. Highly luminescent nanoparticles: Self-assembly of well-defined block copolymers by π - π stacked BODIPY dyes as only a driving force. *Macromolecules* **42**, 5446–5452 (2009).
 47. Ziessel, R., Ulrich, G., Haefele, A. & Harriman, A. An artificial light-harvesting array constructed from multiple bodipy dyes. *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 11330–11344 (2013).
 48. Goze, C., Ulrich, G., Ziessel, R., Hart, C. & Cheme, S. Tetrahedral Boron Chemistry for the Preparation of Highly Efficient “ Cascatelle ” Devices. 313–322 (2007).
 49. Vu, T. T. *et al.* Understanding the spectroscopic properties and aggregation process of a new emitting boron dipyrromethene (BODIPY). *J. Phys. Chem. C* **117**, 5373–5385 (2013).
 50. Benniston, A. C. & Copley, G. Lighting the way ahead with boron dipyrromethene (Bodipy) dyes. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11**, 4124–4131 (2009).
 51. Qin, W., Baruah, M., Stefan, A., Van Der Auweraer, M. & Boens, N. Photophysical properties of BODIPY-derived hydroxyaryl fluorescent pH probes in solution. *ChemPhysChem* **6**, 2343–2351 (2005).
 52. Zlatić, K. *et al.* Labeling of Proteins by BODIPY-Quinone Methides Utilizing Anti-Kasha Photochemistry. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **12**, 347–351 (2020).
 53. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S. & Vyvyan, J. R. *Introduction to Spectroscopy*. (Cengage Learning, 2015).

Životopis

████████████████████ Osnovnu školu završio sam 2012. godine i upisao jezičnu XVIII. gimnaziju u Zagrebu. Maturirao sam 2016. godine i upisao preddiplomski studij na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, smjer Kemija i inženjerstvo materijala. 2017. godine mijenjam smjer i upisujem preddiplomski studij Primijenjene kemije na istom fakultetu. Stručnu praksu odradio sam u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu pod mentorstvom dr. sc. Nikole Basarića.