

# 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:* **2025-02-27**



*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 trifluorocetnu 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 pripremljen 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, inertnim uvjetima.

Svi sintetizirani spojevi okarakterizirani su spektroskopskim metodama  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ -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  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -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.*

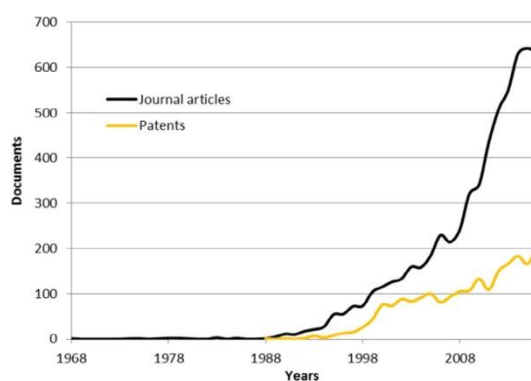
*Zahvaljujem i voditelju Laboratorija za sintetsku organsku kemiju dr. sc. Nikoli Basariću na prilici za rad u izvrsnom laboratoriju te svim ostalim djelatnicima laboratorija na vrlo ugodnoj radnoj atmosferi i na svojoj pomoći.*

## 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. Elektrofилна 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. Sinteza i spektroskopska karakterizacija dipirometana <b>4–6</b> .....	17
3.3. Sinteza i spektroskopska karakterizacija BODIPY spojeva <b>1–3</b> .....	23
4. Eksperimentalni dio.....	31
4.1. Opće napomene.....	31
4.2. Sinteza spoja <b>1</b> .....	32
4.2.1. Sinteza 5-fenil-1,3,7,9-tetrametildipirometana ( <b>4</b> ).....	32
4.2.2. Sinteza 4,4-difluor-8-fenil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3 <i>a</i> ,4 <i>a</i> -diazas-indacena ( <b>1</b> ) ..	33
4.3. Sinteza spoja <b>2</b> .....	34
4.3.1. Sinteza 5-(4-hidroksifenil)-1,3,7,9-tetrametildipirometana ( <b>5</b> ).....	34
4.3.2. Sinteza 4,4-difluor-8-(4-hidroksifenil)-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3 <i>a</i> ,4 <i>a</i> -diazas-indacena ( <b>2</b> ).....	34
4.4. Sinteza spoja <b>3</b> .....	36
4.4.1. Sinteza 4,4-difluor-8-fenil-4-bora-3 <i>a</i> ,4 <i>a</i> -diazas-indacena ( <b>3</b> ).....	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.,<sup>1</sup> 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).<sup>2</sup> 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®<sup>3</sup>

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.<sup>4</sup> Zbog navedenih svojstava pronalaze široku primjenu, ponajviše kao fluorescentni indikatori za npr. pH, metalne ione, biomolekule, redoks potencijal, reaktivne kisikove i dušikove vrste.<sup>5-7</sup> Koriste se u molekularnoj biologiji u obilježavanju proteina i oligonukleotida prilikom proučavanja živih stanica fluorescencijskom mikroskopijom<sup>8,9</sup> te u fotodinamičkoj terapiji.<sup>10</sup>

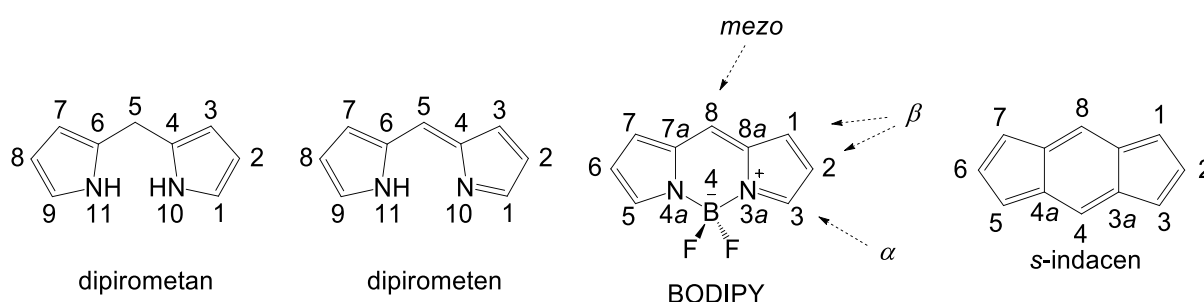
Sa stajališta sintetske organske kemije, BODIPY spojevi vrlo su zanimljivi zbog njihove kemijske robusnosti i podložnosti brojnim funkcionalizacijama. Različitim sintetskim putevima, pametnim dizajnom i naknadnim direktnim modifikacijama na samoj BODIPY jezgri, moguće je vrlo precizno modelirati elektrokemijska,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



## 2. Opći dio

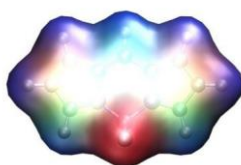
### 2.1. Struktura i IUPAC-ova nomenklatura BODIPY spojeva

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).<sup>2</sup> 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.<sup>12</sup> Iako struktura BODIPY spojeva ne slijedi Hückelovo pravilo za aromatičnost, jer je 12  $\pi$ -elektrona distribuirano na 12 atoma, njihova svojstva su uvelike slična aromatskim  $\pi$ -sustavima zato što koordinacija tetraedarskog borovog atoma, koji ne sudjeluje u delokalizaciji elektrona, drži dipirometenski ligand u rigidnoj, gotovo potpuno planarnoj konformaciji. Rigidnost  $\pi$ -sustava ujedno uzrokuje i visok kvantni prinos fluorescencije,  $\Phi_f$ , s obzirom na to da je brzina neradijacijske relaksacije vrlo mala.<sup>13</sup> Na slici 2 prikazana je mapa elektrostatskog potencijala BODIPY jezgre.

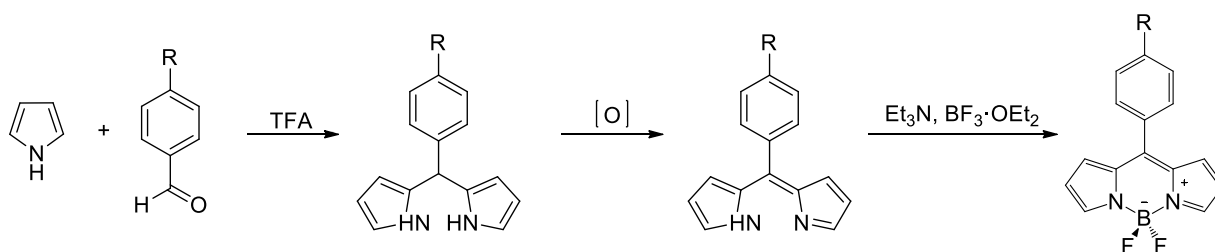


**Slika 2.** Mapa elektrostatskog potencijala BODIPY jezgre. Plavom je bojom označena manja, a crvenom veća gustoća električnog naboja.<sup>14</sup>

## 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.<sup>15</sup> 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.



R = H, F, Cl, Br, I, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, OH, CN

**Shema 2.** Sinteza 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  $\alpha$ -položaj nije slobodan.<sup>16</sup>

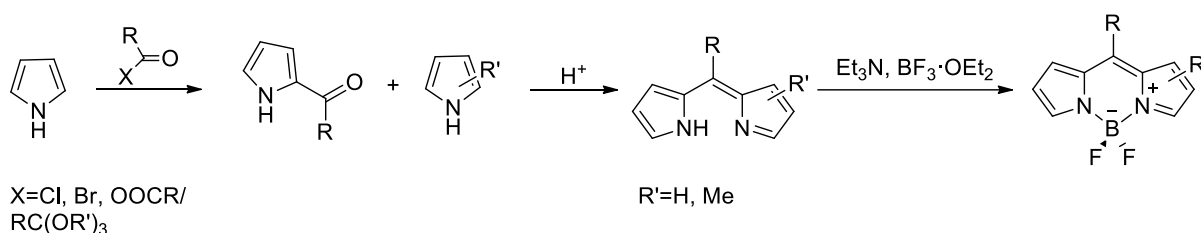
Drugi pristup, tzv. metoda bez otapala,<sup>15</sup> koristi se za pripravu dipirometana koji nemaju supstituente na  $\alpha$  i  $\beta$  položajima. U tom slučaju aldehyd se otopi u velikom suvišku pirola (40 ekv. ili više) pri sobnoj temperaturi, te nakon dodatka kiseline vrlo brzo nastaje dipirometan. 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.<sup>5,16</sup>

### 2.2.2. MacDonalдова kondenzacija

Nadovezujući se na originalni rad Treibsa i Kreuzera,<sup>1</sup> 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 MacDonalдова kondenzacija, po srodnoj analognoj reakciji u sintezi porfirina (shema 3).<sup>17</sup>



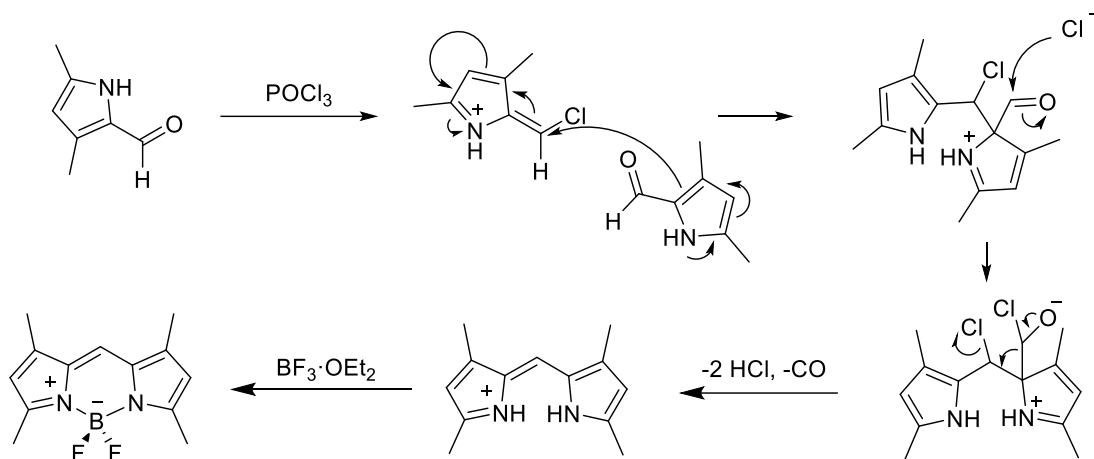
**Shema 3.** Priprava asimetričnih BODIPY spojeva polazeći od MacDonalđove kondenzacije

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.<sup>18</sup>

### 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.<sup>19</sup>

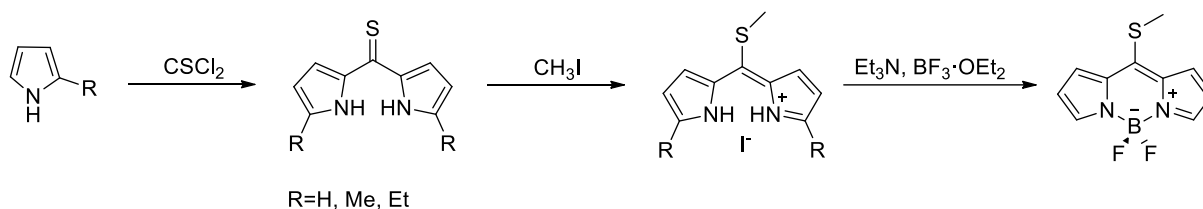
Prema predloženom reakcijskom mehanizmu prikazanom na shemi 4, fosforil-klorid supstituira aldehidni kisikov atom uz tvorbu kloriranog azafulvena koji podliježe napadu drugog pirol-2-karbaldehida. Potom slijedi nukleofilni napad kloridnog iona koji je praćen raspadom nestabilnog međuprodukta te nastaje 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.<sup>5</sup>



**Shema 4.** Predloženi pojednostavljeni reakcijski mehanizam Burgessove metode pripreme BODIPY spojeva

#### 2.2.4. Biemannova 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 Biemann i suradnici.



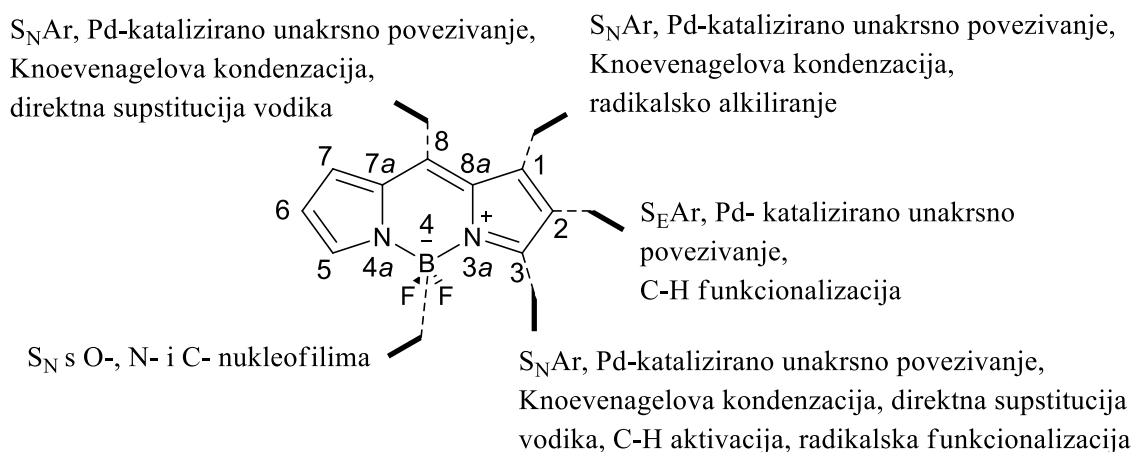
**Shema 5.** Priprava „Biemannova“ BODIPY spoja

Naime, reakcijom tiosfena 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.<sup>20</sup>

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

### 2.3. Funkcionalizacija BODIPY spojeva

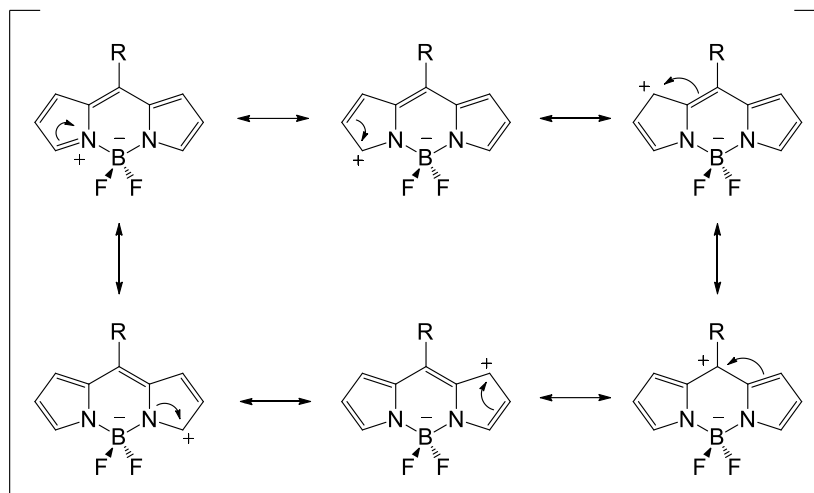
BODIPY spojeve moguće je sintetski modificirati na brojne načine, već prilikom odabira početnih reaktanata ili naknadnim direktnim modifikacijama nakon kompleksiranja dipirometena s  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ . Funkcionalizirani BODIPY spojevi pokazali su se kao prikladni prekursori za sintezu 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.<sup>14</sup>



**Shema 6.** Pregled različitih postfunkcionalizacijskih metoda i njihovih preferencijalnih mjesta

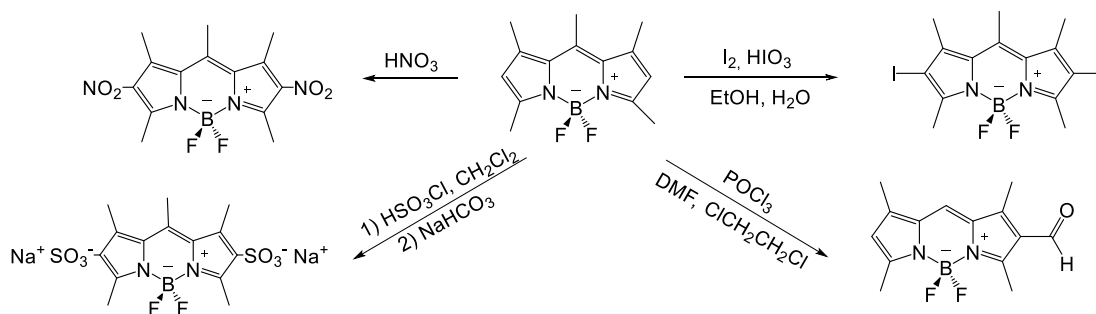
### 2.3.1. Elektrofилна aromatska supstitucija na položajima 2- i 6-

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 elektrofilima.



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.<sup>2</sup> Ovisno o elektrofilu, 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.<sup>4</sup> Primjeri BODIPY derivata dobivenih elektrofilnom aromatskom supstitucijom prikazani su na shemi 8.



Shema 8. Primjeri reakcija  $S_{ArE}$  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.<sup>24</sup> Reakcijom s dušičnom kiselinom nastaju odgovarajući 2,6-dinitro derivati

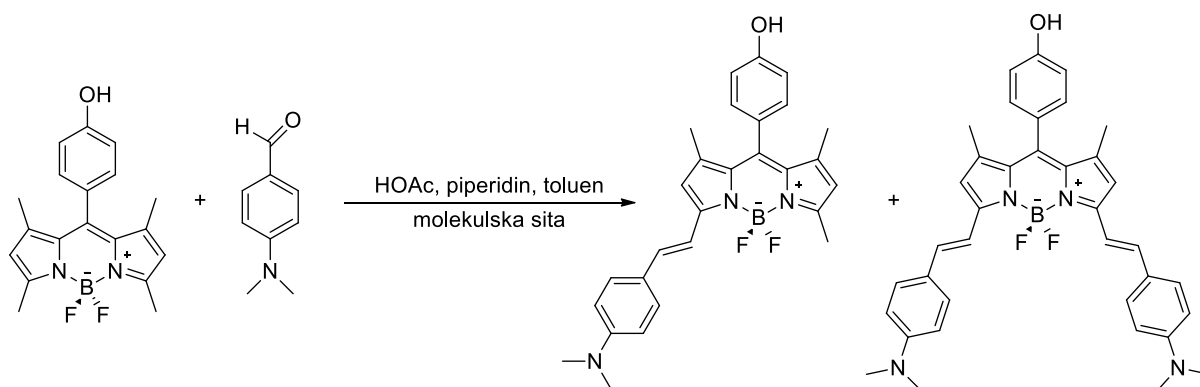
kojima je kvantni prinos fluorescencije drastično smanjen.<sup>25</sup> Reakcije halogeniranja na položajima 2- i 6- mogu se provesti i halogeniranjem dipirometana s *N*-halosukcinimidom (NXS) pri blagim reakcijskim uvjetima.<sup>26</sup> Uvođenja joda i broma kao supstituenata uzrokuje velike batokromne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

### 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.<sup>28</sup>

#### 2.3.2.1. Knoevenagelova reakcija

Brojni BODIPY fluorofori s metilnim supstituentima na  $\alpha$ -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 Knoevenagelovoj kondenzacijskoj reakciji s aromatskim aldehydima.<sup>29</sup>



**Shema 9.** Primjer Knoevenagelove kondenzacije BODIPY spoja<sup>30</sup>

Tim načinom moguće je precizno modificirati fotofizička svojstva sustava. Produljenje konjugiranog  $\pi$ -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.<sup>31</sup> Knoevenagelova reakcija obično se provodi u bazičnim ili u

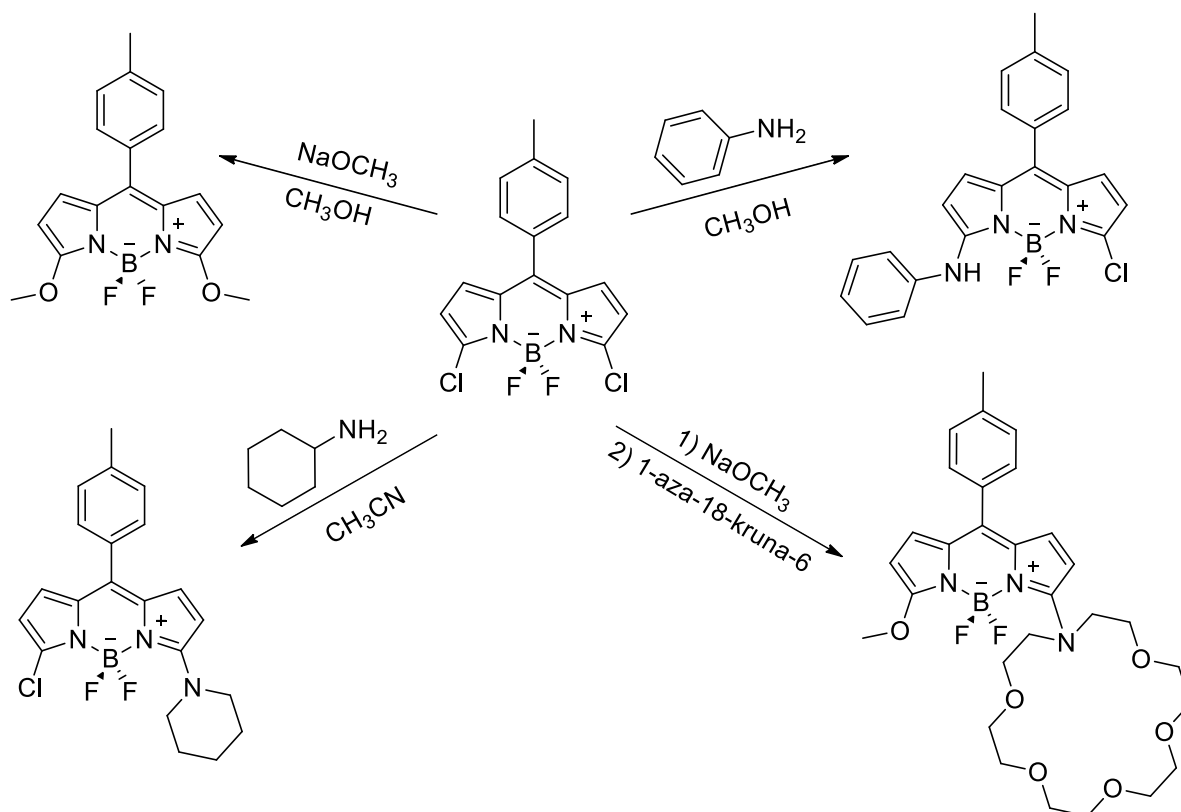
puferiranim otopinama i zahtijeva uklanjanje vode iz reakcijske smjese, što se obično postiže Dean-Starkovom aparaturom ili pomoću molekulskih sita. Upravo Knoevenagelovom reakcijom pripravljen je najveći broj BODIPY senzora.<sup>30,32</sup> Produljena konjugacija može se postići i sintezom derivata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

### 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.<sup>33</sup>

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.<sup>6,26</sup> Dobiveni halogenirani derivat dipirometana zatim se lako može prevesti u BODIPY već opisanim 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.<sup>34</sup> 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.<sup>5</sup>

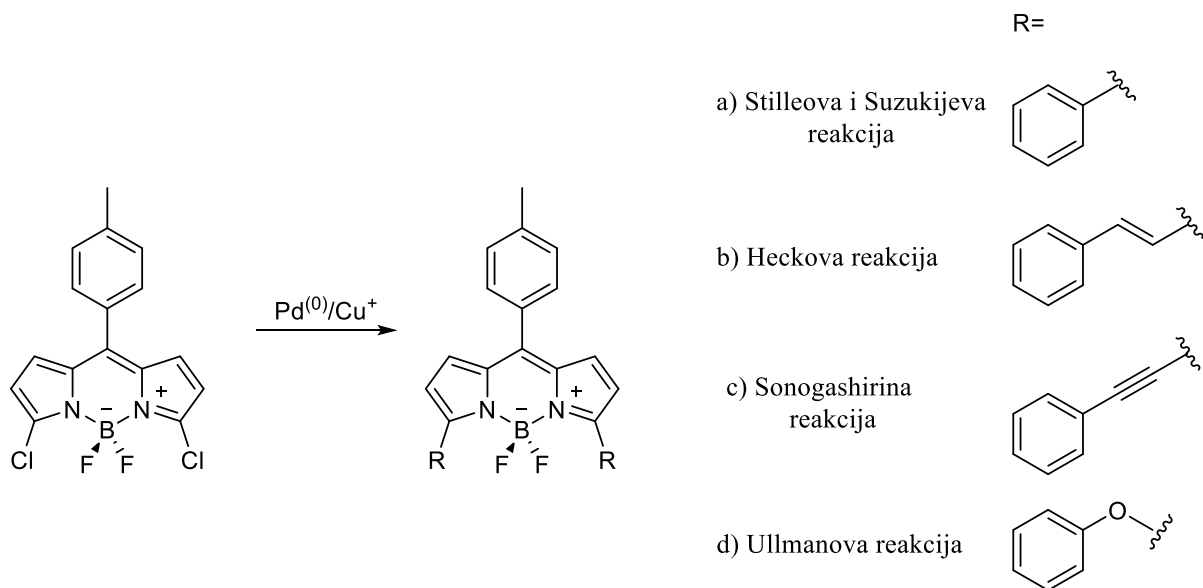




Shema 10. BODIPY spojevi pripravljeni reakcijama  $S_NAr$

### 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.<sup>35,36</sup> Primjeri takvih reakcija su Stilleova, Suzukijeva, Heckova, Buchwald-Hartwigova i Sonogashirina koje su katalizirane paladijem, te Ullmanova eterifikacija katalizirana bakrom.<sup>37</sup>



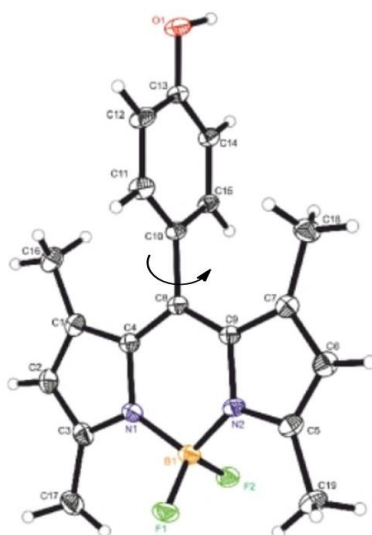
**Shema 11.** Reakcije 3,5-diklor-BODIPY spojeva katalizirane prijelaznim metalima

### 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-.<sup>38</sup>

### 2.3.4. Modifikacije na položaju 8- (*mezo*-)

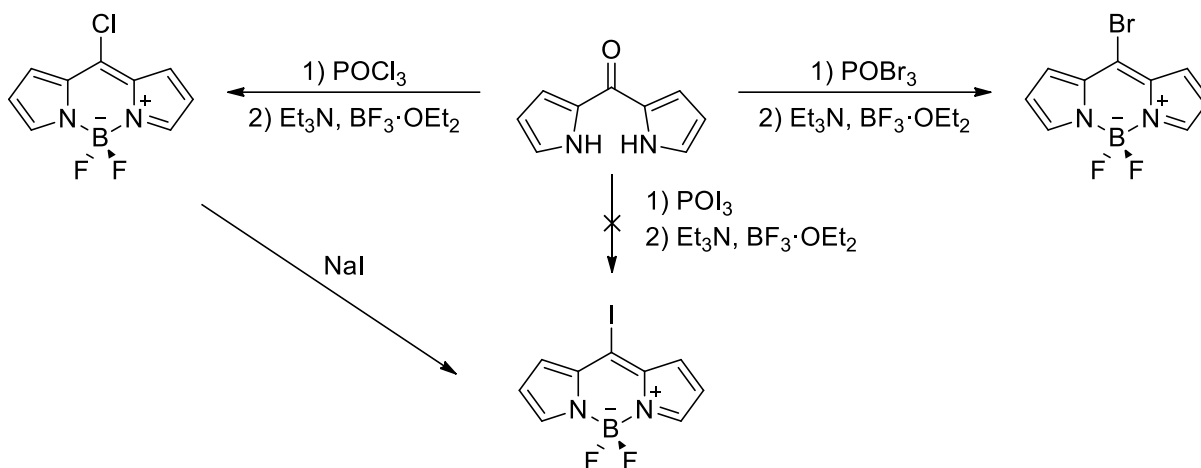
Lindsey *et al.* detaljno su istražili fotofizička svojstva 5-aryl-BODIPY spojeva.<sup>39</sup> Primijetili su da spojevi sa sterički neometanom 5-fenilnom skupinom, koja je u osnovnom stanju gotovo okomita na ravninu BODIPY jezgre, imaju male fluorescencijske kvantne prinose, kratko vrijeme života pobuđenog singletnog stanja,  $\tau$ , 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.<sup>11</sup>



**Slika 3.** Kristalna struktura spoja *mezo*-aril-BODIPY spoja određena rendgenskom strukturnom analizom monokristala<sup>11</sup>

Rotacijska barijera određena je dvama suprotnim efektima: 1) delokalizacijom  $\pi$ -elektrona i 2) steričkim efektima. Pojačana delokalizacija  $\pi$ -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  $\pi$ -sustav distorzijom BODIPY jezgre. Iako općenito elektron-donirajući supstituenti na *mezo*-položaju uzrokuju hipsokromne, a elektron-odvlačeći batokromne pomake apsorpcijskih i emisijskih maksimuma,<sup>40</sup> supstituenti na fenilnoj skupini na njih ne utječu znatno, osim ako se nalaze u *para*-položaju.<sup>5</sup> 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  $H_2O_2$ .<sup>41</sup>

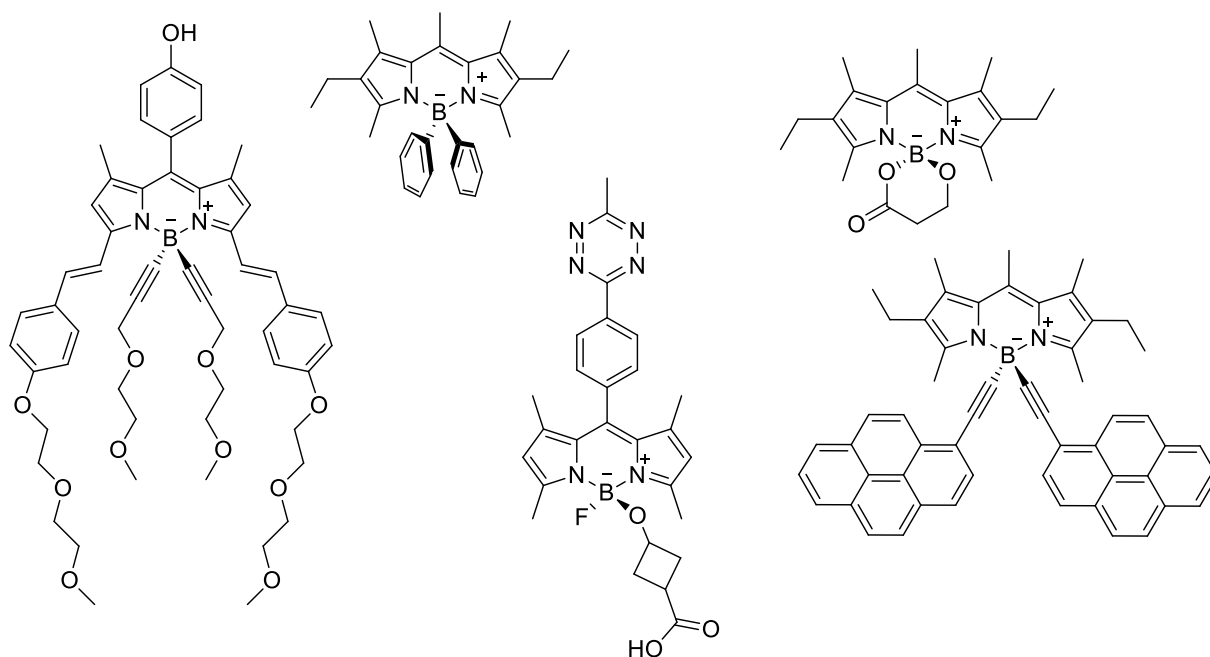


**Shema 12.** Priprava *mezo*-halo-BODIPY spoja

Reakcijom dipirilketona s  $\text{POCl}_3$  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  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{PCl}_3$  i  $\text{PCl}_5$  daju manja reakcijska iskorištenja, praćena nastajanjem sporednih produkata. Sličnim pristupom, koristeći  $\text{POBr}_3$ , mogu se sintetizirati bromirani derivati, a jodirani nastaju izmjenom halogena s  $\text{NaI}$  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.<sup>14</sup>

### 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<sup>42,43</sup> i ujedno smanjuju nespecifično vezanje boje u živim stanicima, dok velike skupine na tetraedarskom borovom atomu otežavaju agregaciju.<sup>44</sup> Koristeći organolitijeve i Grignardove reagense<sup>45</sup> 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<sup>46,47</sup>, u kojima mogu biti akceptori ili donori u rezonancijskom prijenosu energije.<sup>48</sup>



**Shema 13.** Derivati BODIPY spojeva pripremljeni 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,  $\lambda_{\text{abs}}$ , najčešće u području 470 – 530 nm, odnosno u plavom i zelenom dijelu vidljivog dijela elektromagnetskog spektra. U slučajevima gdje je BODIPY jezgra dodatno konjugirana,  $\lambda_{\text{abs}}$  se može pomaknuti do bliskog infracrvenog dijela spektra. Intenzivna obojanost čak i vrlo razrijeđenih otopina posljedica je visokih vrijednosti molarnih apsorpcijskih koeficijenata,  $\epsilon_{\text{max}}$ , koje mogu biti u rasponu od 12 000 – 110 000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. Vrijednosti kvantnih prinosa fluorescencije,  $\Phi_f$ , su karakteristično visoke, uobičajeno između 60 % i 90 %.<sup>2</sup> 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  $\pi$ - $\pi$  preklapanja, ali se može povećati uvođenjem prostorno velikih supstituenata poput adamantana.<sup>49</sup> Vremena života pobuđenog singletnog stanja,  $\tau$ , 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<sub>0</sub> – S<sub>1</sub>. Kod pobuđivanja bilo u stanje S<sub>1</sub> ili S<sub>2</sub>, opaža se jaka fluorescencija iz stanja S<sub>1</sub> što ukazuje na zrcalnu simetriju s najnižom apsorpcijskom vrpcom, dok iz stanja S<sub>2</sub>

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.<sup>50</sup> Fluorescencijski kvantni prinos,  $\Phi_f$ , 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.<sup>51</sup>



**Slika 4.** Otopina BODIPY spoja u  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  osvijetljena UV-svjetlom  $\lambda = 366 \text{ nm}$

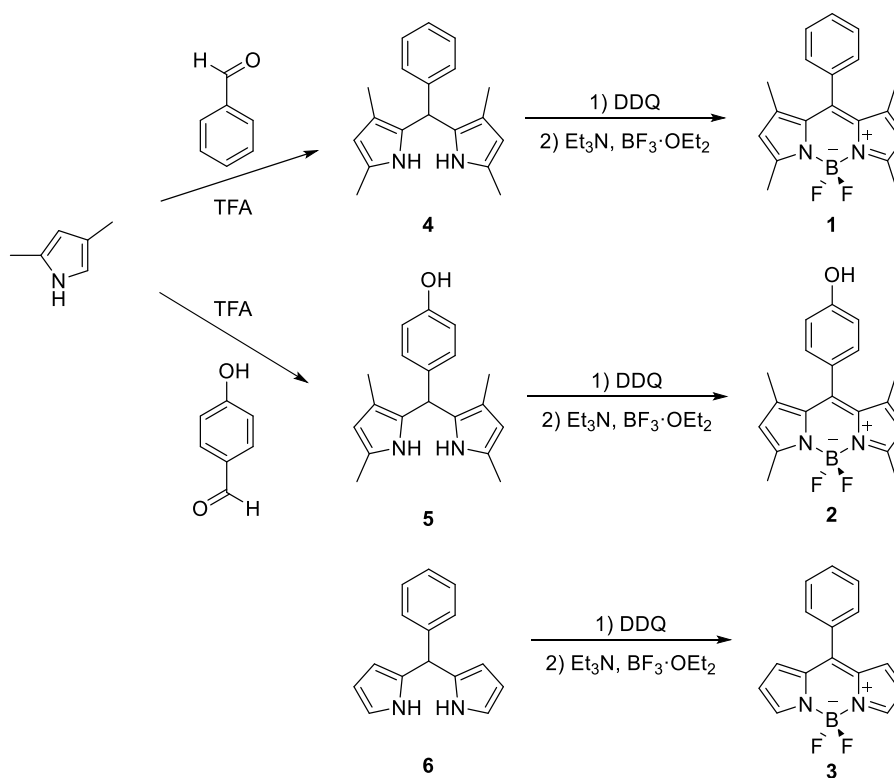
Zbog navedenih svojstava i gotovo neograničenih mogućnosti modifikacija, BODIPY jezgra odličan je izbor kao gradivni sintetski blok prilikom izrade raznih fluorescentnih indikatora, tj. kemosenzora.<sup>5</sup>

### 3. Rezultati i rasprava

#### 3.1. Uvod

BODIPY spojevi prepoznati su kao fluorofori izvanrednih svojstava.<sup>14</sup> 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.<sup>5,6,18,52</sup> 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,  $\Phi_f$ .

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  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  pripravljena tri različita BODIPY spoja.

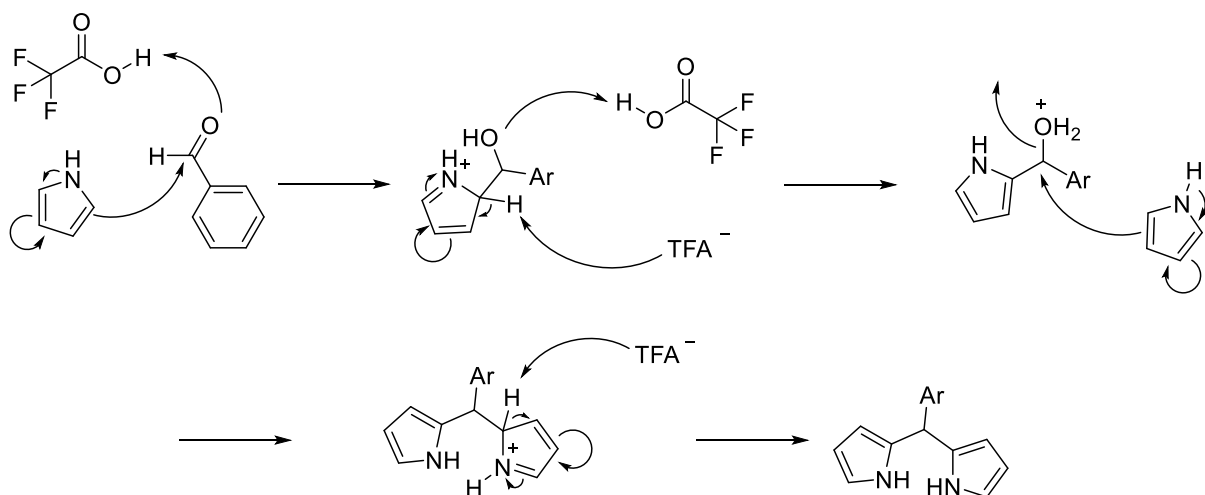


Shema 14. Plan sinteze spojeva 1–3

### 3.2. Sinteza i spektroskopska karakterizacija dipirometana 4–6

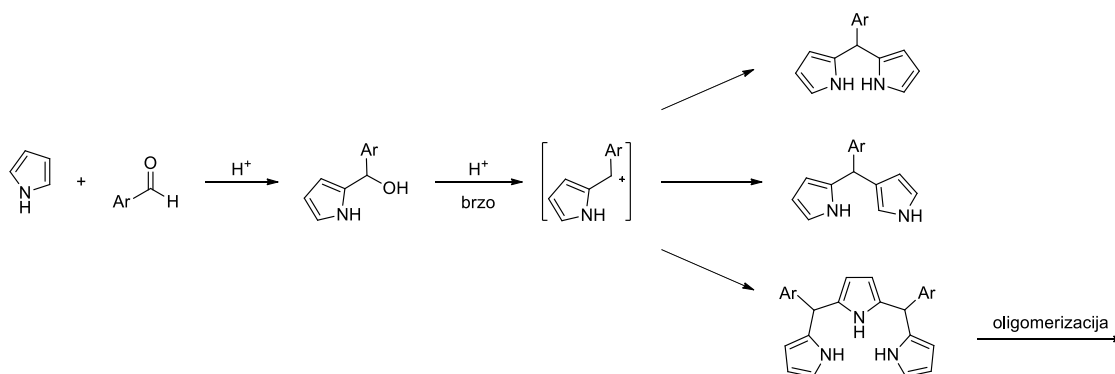
Za sintezu dipirometanskih prekursora odabrana je Lindseyjeva metoda kiselinski katalizirane kondenzacije pirola s aromatskim aldehydima kojom se mogu sintetizirati 5-fenildipirometani sa željenim supstituentima na benzenskom prstenu, ovisno o korištenom aldehydu.

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.



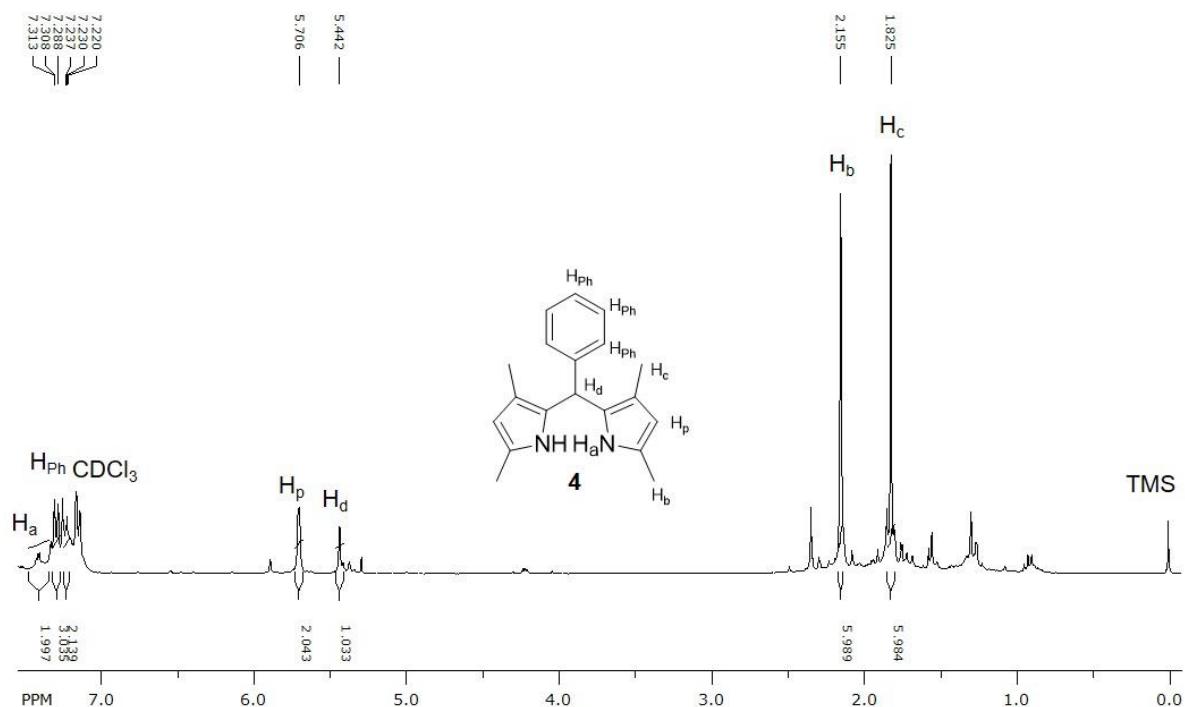
**Shema 16.** Mogući produkti kondenzacije pirola s aromatskim aldehydima



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  $^1\text{H-NMR}$ .

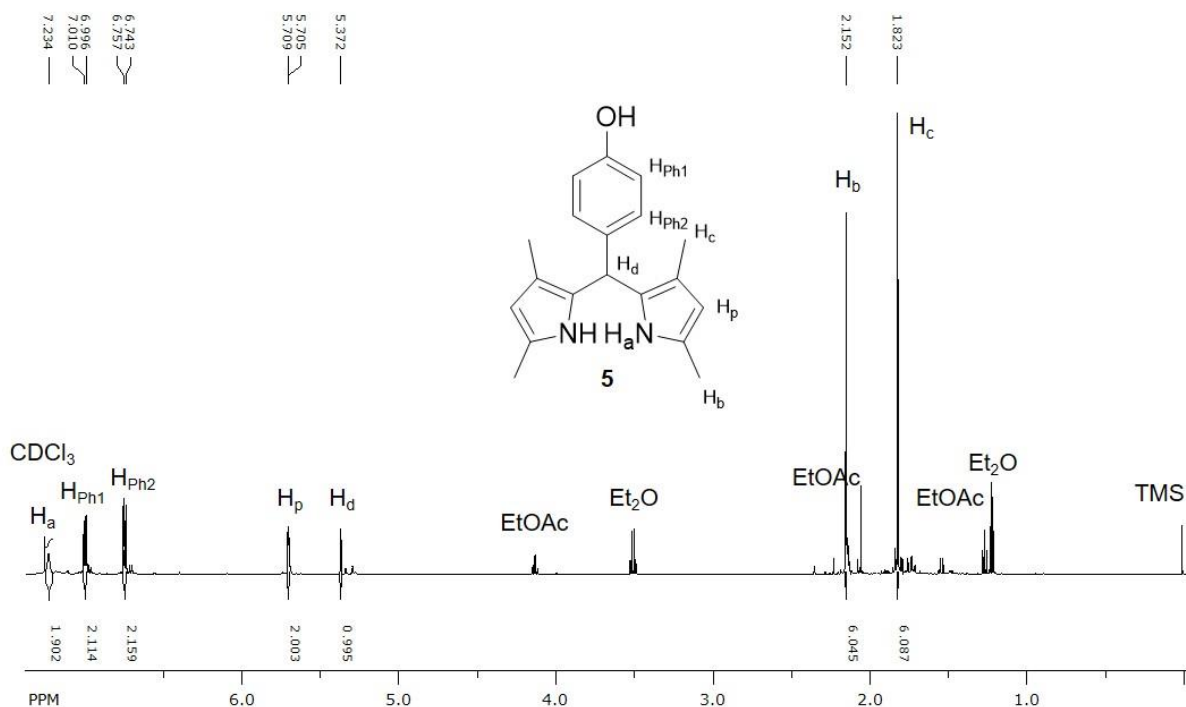
Kako bi se povećala iskorištenja reakcija, za sintezu spojeva **4** i **5** korišten je 2,4-dimetilpirol kojemu je jedan reaktivni  $\alpha$ -položaj blokiran metilnim supstituentom te je tako u reakciji kondenzacije u dipirometan spriječena oligomerizacija. Reakcije su provedene u strogo kontroliranim reakcijskim uvjetima pod inertnom atmosferom  $\text{N}_2$  zbog velike reaktivnosti sterički ometanog dipirometanskog *mezo*-ugljika i sklonosti dipirometana oksidaciji. Kao otapalo korišten je suhi diklormetan (DCM) jer  $\text{H}_2\text{O}$  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  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C-NMR}$ .

U spektru  $^1\text{H-NMR}$  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  $\text{H}_c$  odgovara singlet s integralom 6H pri  $\delta = 1,82$  ppm, dok je proton  $\text{H}_b$  manje zasjenjen jer je bliže dušikovu atomu te je vidljiv također kao singlet s integralom 6H pri  $\delta = 2,16$  ppm. Signal protona  $\text{H}_d$  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  $\text{H}_{\text{Ph}}$  vidljivi su kao multiplet s integralom 5H između  $\delta = 7,31 - 7,22$  ppm, a signal pirolnog protona  $\text{H}_p$  kao singlet s integralom 2H pri  $\delta = 5,71$  ppm. Protonu vezanom za atom dušika,  $\text{H}_a$ , odgovara široki singlet s integralom 2H pri  $\delta = 7,47 - 7,36$  ppm.



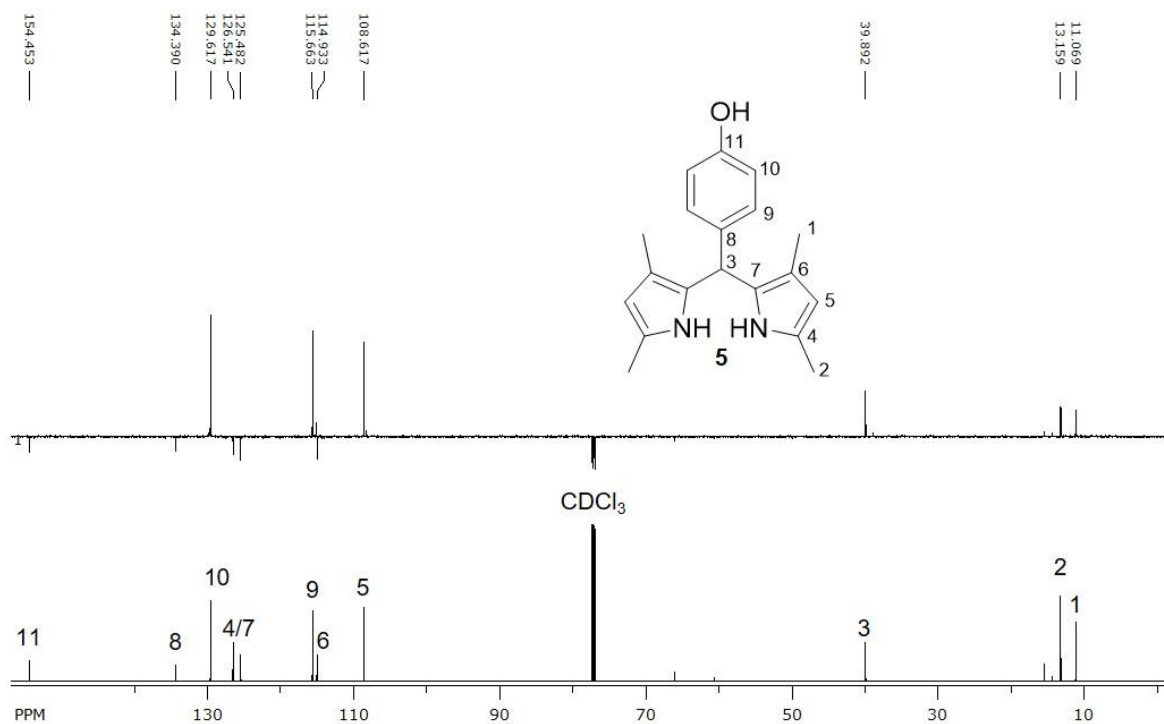
Slika 5. Spektar <sup>1</sup>H-NMR spoja **4** snimljen u CDCl<sub>3</sub>

U spektru <sup>1</sup>H-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<sub>c</sub> s integralom 6H pri  $\delta = 1,82$  ppm i singlet H<sub>b</sub> s integralom 6H pri  $\delta = 2,12$  ppm, a singlet H<sub>d</sub> 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<sub>p</sub>, široki singlet pri  $\delta = 7,25 - 7,22$  ppm s integralom 1H protonu H<sub>a</sub> vezanom za dušikov atom, a fenilni protoni su međusobno spregnuti i vidljivi su kao dublet H<sub>Ph1</sub> s integralom 2H, pri  $\delta = 7,0$  ppm s konstantom sprezanja  $J = 8,4$  Hz i dublet H<sub>Ph2</sub> pri  $\delta = 6,75$ , 2H,  $J = 8,4$  Hz, konstanta sprezanja karakteristična je za *orto*-fenilne protone.<sup>53</sup>



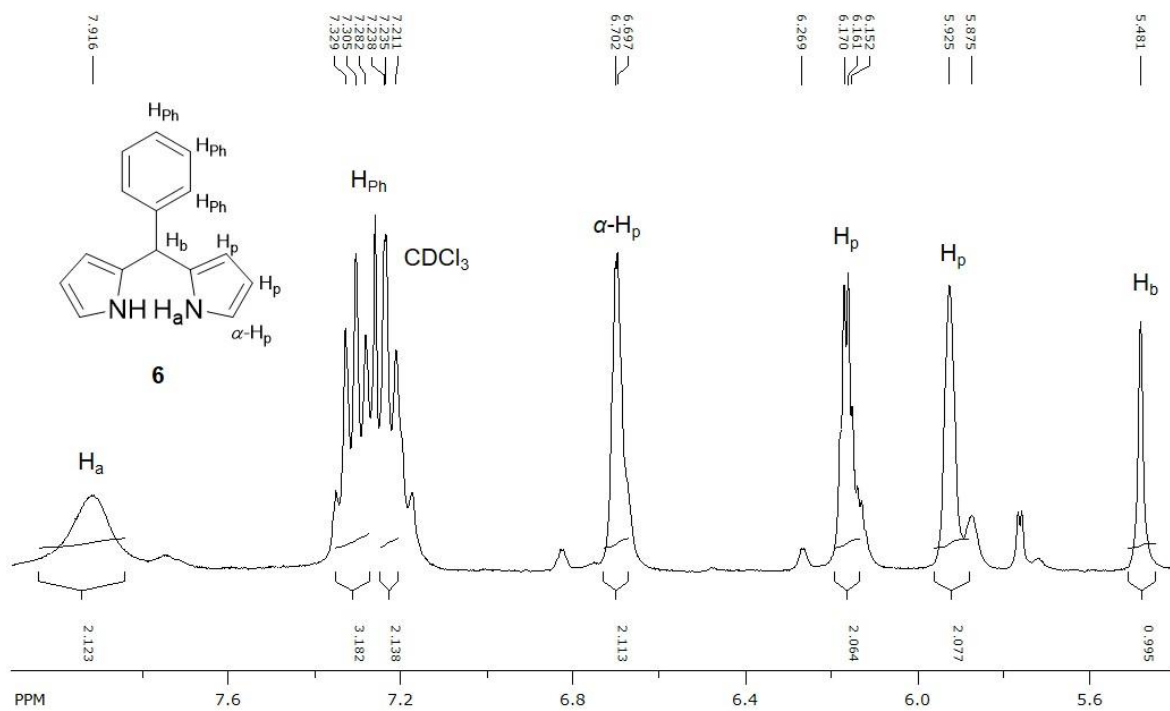
**Slika 6.** Spektar <sup>1</sup>H-NMR spoja **5** snimljen u CDCl<sub>3</sub>

U spektrima <sup>13</sup>C i <sup>13</sup>C 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 C<sub>1</sub> i C<sub>2</sub>. Signal pri  $\delta = 39,9$  ppm asigniran je tercijarnom *mezo*-ugljiku C<sub>3</sub>. Preostali signali su signali aromatskih ugljikovih atoma. Temeljem spektra <sup>13</sup>C APT-NMR pirolnim ugljicima odgovaraju signali C<sub>6</sub> pri  $114,9$  ppm te C<sub>4</sub> i C<sub>7</sub> koji se zbog induktivnog efekta dušika nalaze pri većem kemijskom pomaku,  $\delta = 125,5$  ppm i  $\delta = 126,5$  ppm. Fenilnom ugljiku C<sub>8</sub> odgovara signal pri  $\delta = 134,4$  Hz, dok je signal za ugljik C<sub>11</sub> najmanje zasjenjen i nalazi se pri  $\delta = 154,4$  ppm. Ostali signali odgovaraju metinskim ugljicima. Pirolnom C<sub>5</sub> asigniran je signal pri  $\delta = 108,6$  ppm, a fenilnim ugljicima signal C<sub>9</sub> pri  $\delta = 115,6$  ppm i C<sub>10</sub> pri  $\delta = 129,6$  ppm.



**Slika 7.** Spektar  $^{13}\text{C}$ -NMR spoja **5** snimljen u  $\text{CDCl}_3$

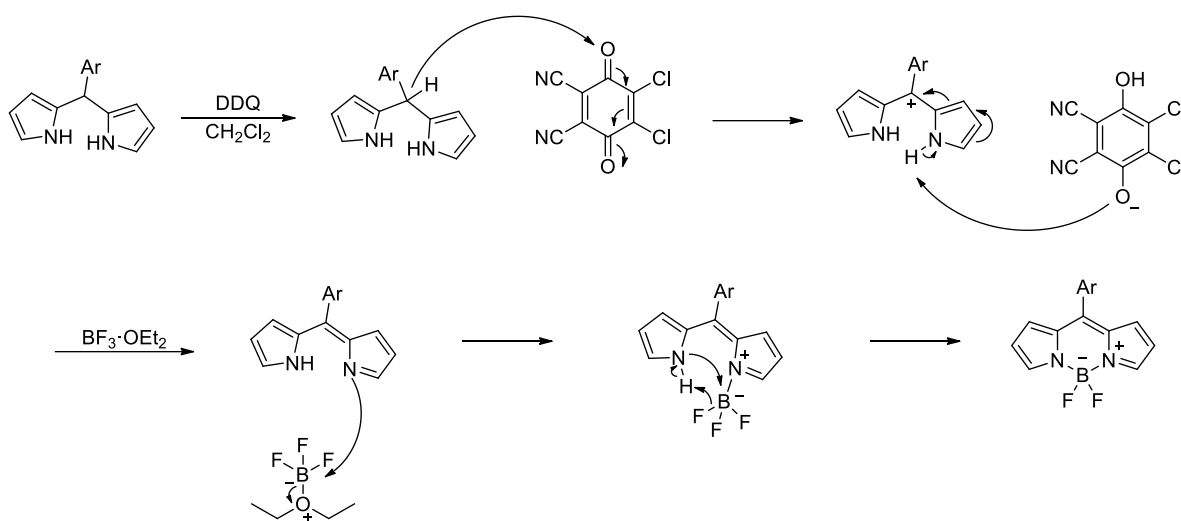
U spektru  $^1\text{H}$ -NMR spoja **6** prikazanom na slici 8 vidljivo je 6 karakterističnih signala. Singlet s integralom 1H pri  $\delta = 5,48$  ppm odgovara *mezo*-protonu  $\text{H}_b$ . U aromatskom dijelu spektra vidljivi su signali pirolnih protona, singlet  $\text{H}_p$  s integralom 2H pri  $\delta = 5,92$  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  $\alpha$ -protonu.<sup>53</sup> Multiplet pri  $\delta = 7,37 - 7,16$  ppm s integralom 5H signal je fenilnih protona  $\text{H}_{\text{Ph}}$ , a široki singlet s integralom 2H pri  $\delta = 8,03 - 7,82$  ppm odgovara protonu  $\text{H}_a$  vezanom za dušik.



Slika 8. Aromatski dio spektra  $^1H$ -NMR spoja **6** snimljen u CDCl<sub>3</sub>

### 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.

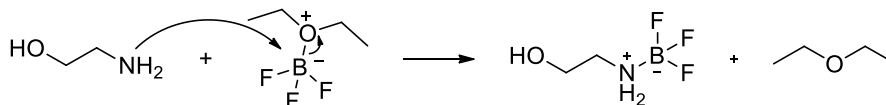


**Shema 17.** Reakcijski mehanizam sinteze BODIPY spojeva oksidacijom dipirometana i naknadnim kompleksiranjem s  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$

Iako je metoda vrlo jednostavna, velik problem predstavljala su mukotrpa 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  $\text{BF}_3$  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  $\text{BF}_3$  tvori kompleksni spoj, dok hidroksilna

skupina poboljšava njegovu topljivost u vodi te dolazi do prijelaza  $\text{BF}_3$  iz organske u vodenu fazu. Mehanizam je prikazan na shemi 18.



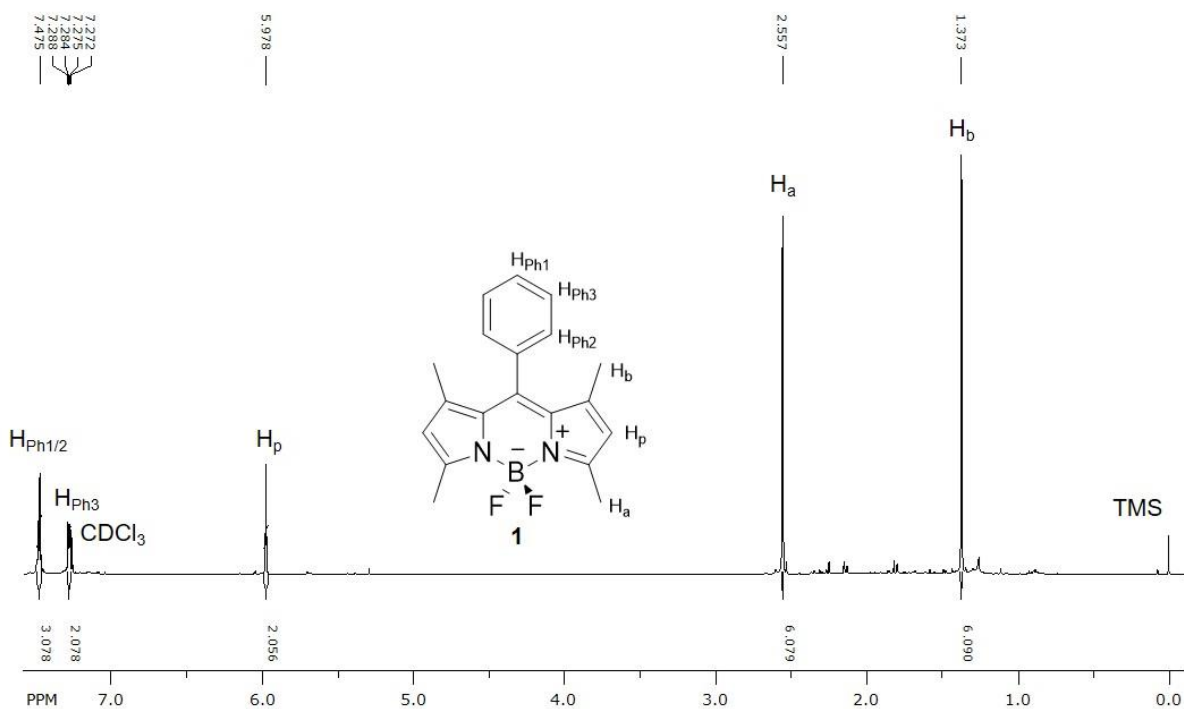
**Shema 18.** Uklanjanje suviška  $\text{BF}_3$  vodenom otopinom monoetanolamina

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

S obzirom na to da je najveći problem pri sintezi spoja **1** predstavljala njena izolacija i uklanjanje suviška  $\text{BF}_3$ , 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  $\eta = 4,4 \%$ .

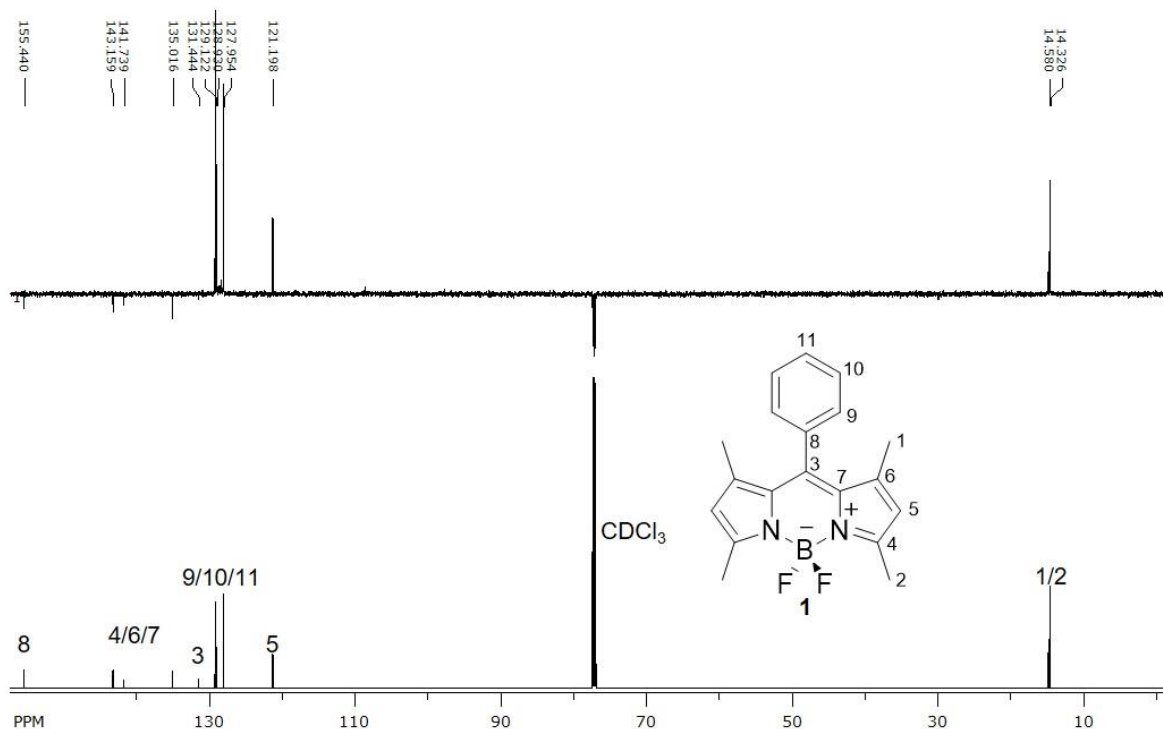
U spektru  $^1\text{H-NMR}$  spoja **1** prikazanom na slici 9 vidljivo je 5 signala. Singlet s integralom 6H na  $\delta = 1,37$  pripada metilnim protonima  $\text{H}_b$  te singlet s integralom 6H pri  $\delta = 2,56$  protonima  $\text{H}_a$ . Singlet s integralom 2H pri  $\delta = 5,98$  je pirolni proton  $\text{H}_p$ . Dublet dubleta s integralom 2H pri  $\delta = 7,28$  ppm i s konstantama sprezanja  $J = 2,1$  Hz, 1,6 Hz pripada protonu  $\text{H}_{\text{Ph}3}$  koji je spregnut 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 <sup>1</sup>H-NMR spoja **1** snimljen u CDCl<sub>3</sub>

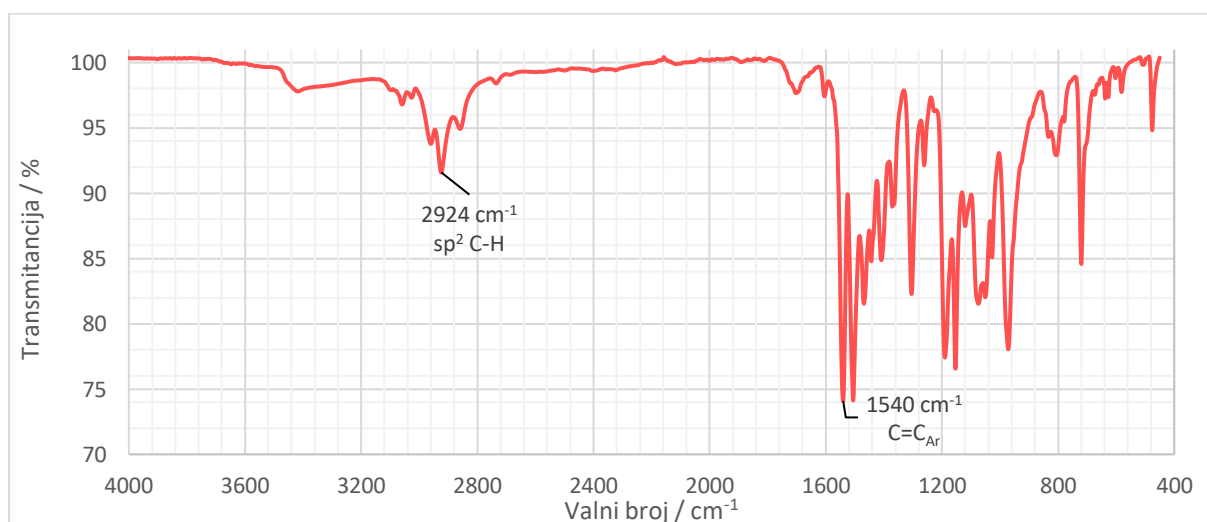
U spektrima <sup>13</sup>C i <sup>13</sup>C APT-NMR spoja **1** prikazanima na slici 10 vidljivo je 11 signala. Signali pri kemijskom pomaku  $\delta = 14,3$  ppm i  $\delta = 14,6$  ppm pripadaju metilnim ugljicima C<sub>1</sub> i C<sub>2</sub>. Signal metinskog pirolnog ugljika C<sub>5</sub> je pri  $\delta = 121,2$  ppm, a signali ostalih pirolnih ugljika C<sub>4</sub>, C<sub>6</sub> i C<sub>7</sub> vidljivi su pri  $\delta = 135,0$  ppm, 141,7 ppm i 143,2 ppm. Temeljem spektra <sup>13</sup>C APT-NMR može se pretpostaviti da signali pri  $\delta = 128,0$  ppm, 128,9 ppm i 129,1 ppm pripadaju fenilnim ugljicima C<sub>9</sub>, C<sub>10</sub> i C<sub>11</sub>. Signal pri  $\delta = 131,4$  ppm odgovara *mezo*-ugljiku C<sub>3</sub>, a najmanje zasjenjen signal pri  $\delta = 155,4$  ppm odgovara kvarternom fenilnom ugljiku C<sub>8</sub>.





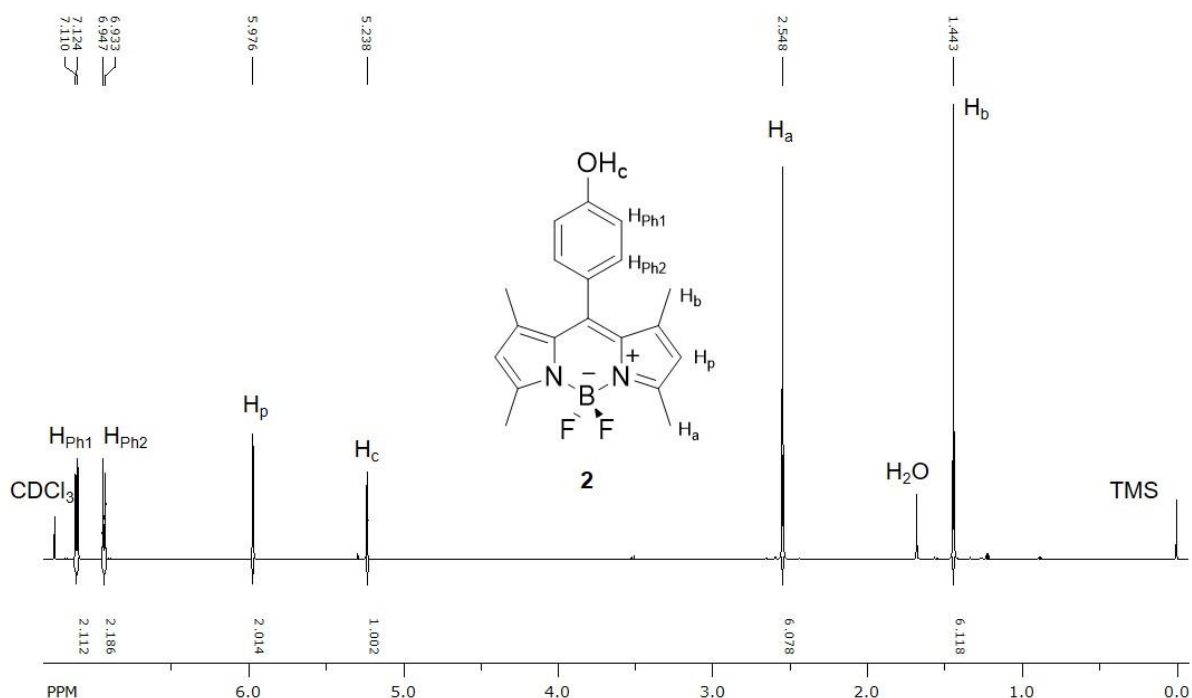
**Slika 10.** Spektar  $^{13}\text{C}$ -NMR spoja **1** snimljen u  $\text{CDCl}_3$

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



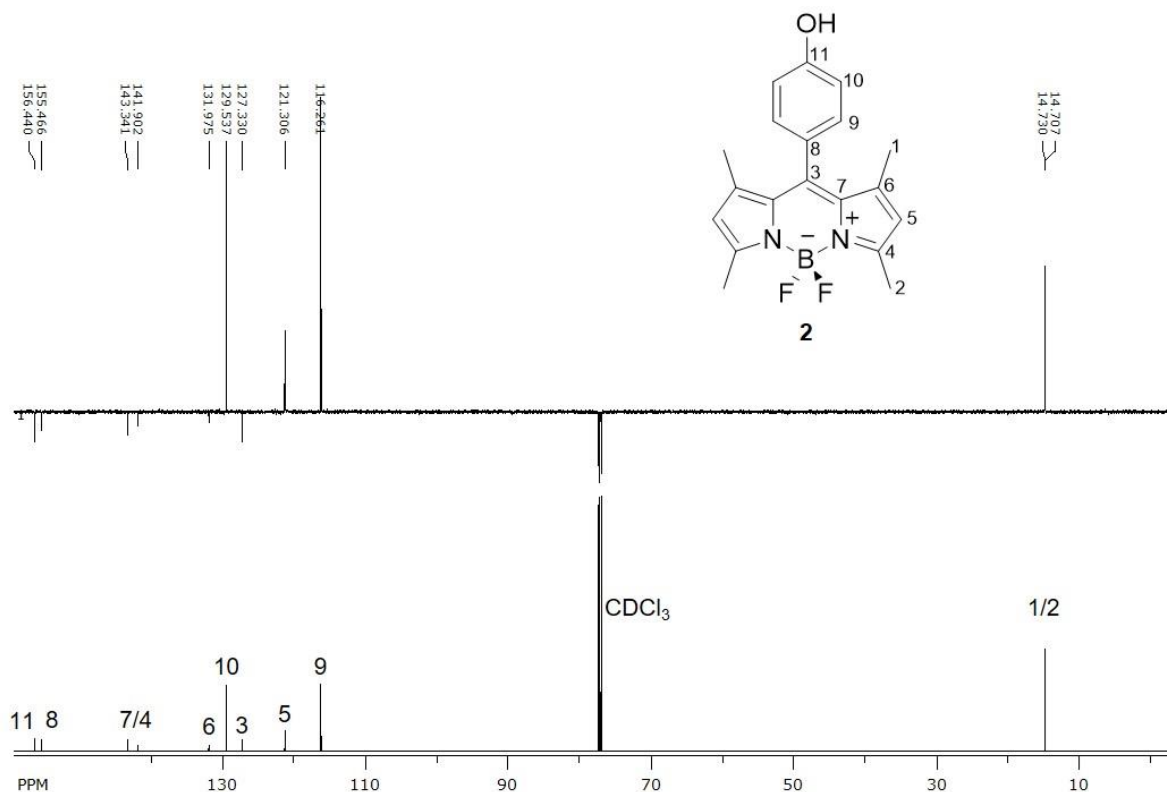
**Slika 11.** IR-spektar spoja **1**

U spektru  $^1\text{H-NMR}$  spoja **2** prikazanom na slici 12 vidljivo je 6 signala. Singlet s integralom 6H pri  $\delta = 1,44$  ppm odgovara protonima  $\text{H}_b$ , a singlet s integralom 6H pri  $\delta = 2,55$  ppm protonima  $\text{H}_a$ . Hidroksilnom protonu  $\text{H}_c$  pripada singlet s integralom 1H pri  $\delta = 5,24$  ppm, pirolnom protonu  $\text{H}_p$  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  $\text{H}_{\text{Ph}1}$ .



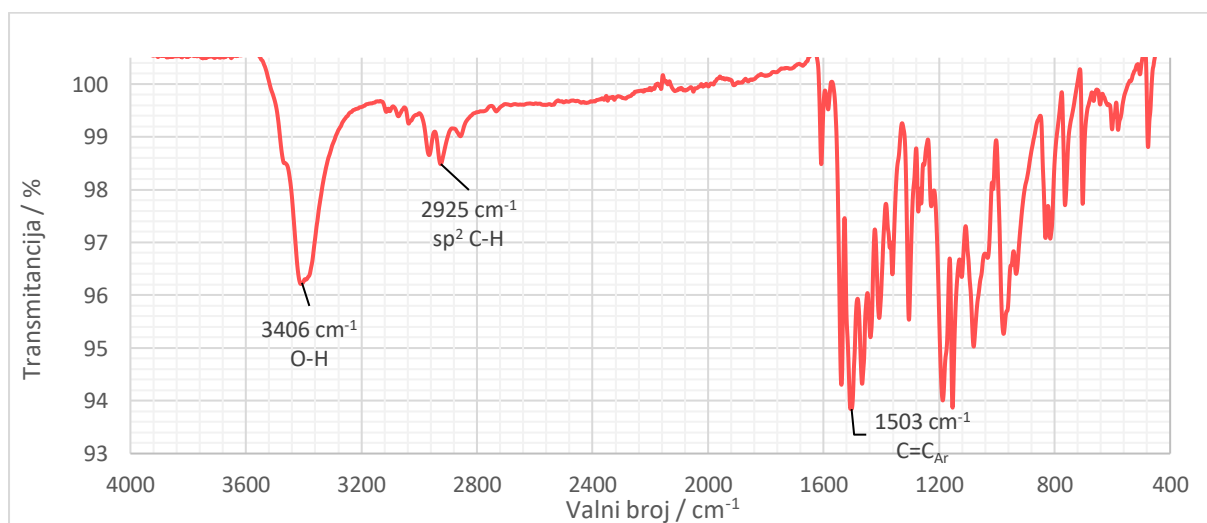
**Slika 12.** Spektar  $^1\text{H-NMR}$  spoja **2** snimljen u  $\text{CDCl}_3$

U  $^{13}\text{C}$  i  $^{13}\text{C}$  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  $\text{C}_1$  i  $\text{C}_2$ . Signal metinskog pirolnog ugljika  $\text{C}_5$  je pri  $\delta = 121,3$  ppm, a signali ostalih pirolnih ugljika  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_6$  i  $\text{C}_7$  su pri  $\delta = 132,0$  ppm,  $141,9$  ppm i  $143,3$  ppm. Temeljem spektra  $^{13}\text{C}$  APT-NMR može se pretpostaviti da signali pri  $\delta = 116,3$  ppm,  $129,5$  ppm i  $156,4$  ppm pripadaju fenilnim ugljicima  $\text{C}_9$ ,  $\text{C}_{10}$  i  $\text{C}_{11}$ . *Mezo*-ugljiku  $\text{C}_3$  pripada signal pri  $\delta = 127,3$  ppm, a signal pri  $\delta = 155,5$  ppm fenilnom ugljiku  $\text{C}_8$ .



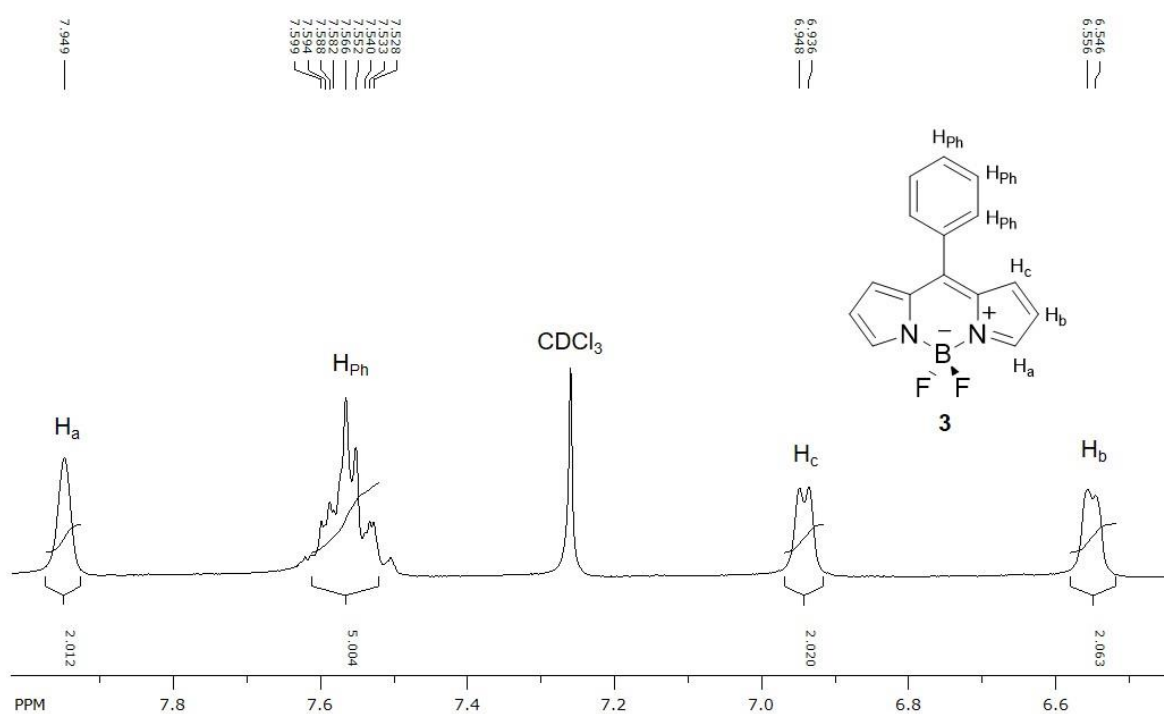
Slika 13. Spektar  $^{13}\text{C}$ -NMR spoja 2 snimljen u  $\text{CDCl}_3$

U IR-spekttru spoja 2 prikazanom na slici 14 vidljiva je široka apsorpcijska vrpca karakteristična za istežanje O–H veze pri  $3406\text{ cm}^{-1}$ , slaba apsorpcijska vrpca pri  $2925\text{ cm}^{-1}$  karakteristična za  $\text{sp}^2$  C–H istežanje i oštra apsorpcijska vrpca pri  $1503\text{ cm}^{-1}$  karakteristična za istežanje aromatske C=C veze.



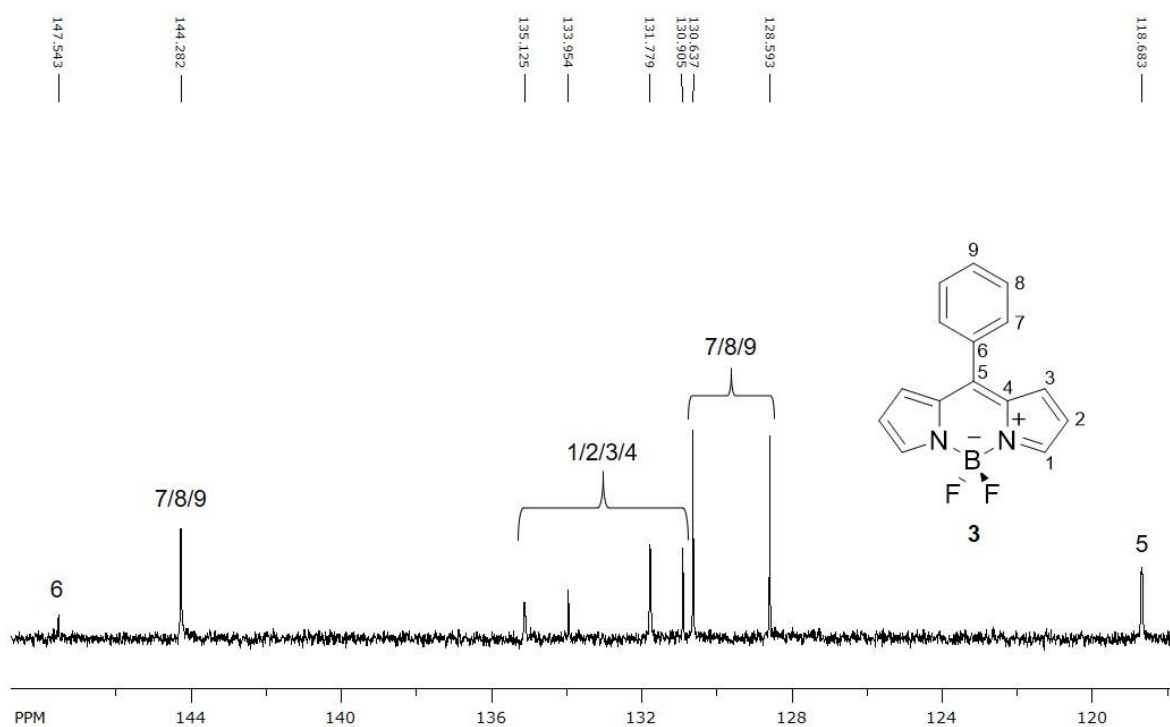
Slika 14. IR-spektar spoja 2

Na slici 15 prikazan je spektar  $^1\text{H-NMR}$  spoja **3** na kojem su vidljiva 4 signala. Multiplet s integralom 5H pri  $\delta = 7,59 - 7,52$  ppm signal je fenilnih protona  $\text{H}_{\text{Ph}}$ . Dublet s integralom 2H pri  $\delta = 6,55$  ppm,  $J = 3,5$  Hz odgovara protonu  $\text{H}_{\text{b}}$ , dublet s integralom 2H pri  $\delta = 6,94$  ppm,  $J = 3,5$  Hz protonu  $\text{H}_{\text{c}}$ , 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  $\text{H}_{\text{a}}$ .



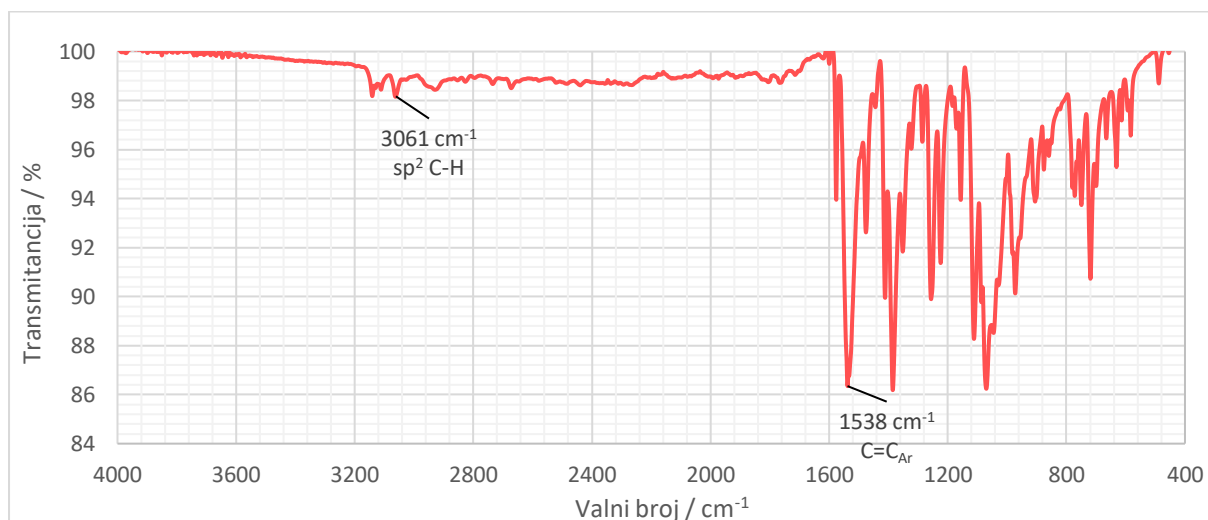
**Slika 15.** Aromatski dio spektra  $^1\text{H-NMR}$  spoja **3** snimljen u  $\text{CDCl}_3$

U spektru  $^{13}\text{C-NMR}$  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  $\text{sp}^2$  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  $\text{C}_5$ , a signal pri najvećem kemijskom pomaku  $\delta = 147,5$  ppm fenilnom ugljiku  $\text{C}_6$ . Pirolnim ugljikovim atomima  $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$  i  $\text{C}_4$  vjerojatno pripadaju signali pri  $\delta = 130,9$  ppm,  $131,8$  ppm,  $134,0$  ppm i  $135,1$  ppm. Odzivi ostalih fenilnih ugljika  $\text{C}_7$ ,  $\text{C}_8$  i  $\text{C}_9$  mogli bi se pripisati signalima pri  $\delta = 128,6$  ppm,  $130,6$  ppm i  $144,3$  ppm.



**Slika 16.** Spektar  $^{13}\text{C}$ -NMR spoja **3** snimljen u  $\text{CDCl}_3$

U IR-spektru spoja **3** prikazanom na slici 17 vidljiva je vrlo slaba apsorpcijska vrpca pri  $3061\text{ cm}^{-1}$ , karakteristična za  $\text{sp}^2$  C–H istežanje. Oštra apsorpcijska vrpca pri  $1538\text{ cm}^{-1}$  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 ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -APT) i infracrvena spektroskopija (IR-ATR). Spektri  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$ -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  $^1\text{H}$  i frekvenciji od 150 MHz i 75 MHz za jezgre  $^{13}\text{C}$ . Spektri NMR snimani su u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, koristeći tetrametilsilan (TMS) kao unutarnji standard, a kalibrirani su prema otapalu ( $\delta = 7,26$  ppm za  $^1\text{H}$  i  $\delta = 77,16$  ppm za  $^{13}\text{C}$ -NMR). Vrijednosti kemijskih pomaka i karakteristične apsorpcijske vrpce IR-zračenja u skladu su s literaturnima.<sup>53</sup> 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  $\mu\text{m}$ ) 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.

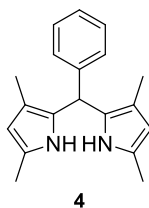
## 4.2. Sinteza spoja 1

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

U dvogrdnoj tikvici od 100 mL otopljen je benzaldehid (0,8 mL, 8,0 mmol) u suhom DCM-u (20 mL) pod inertnom atmosferom N<sub>2</sub> 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 MgSO<sub>4</sub>. 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 <sup>1</sup>H-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, <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 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).

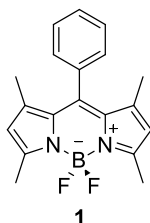
#### 4.2.2. Sinteza 4,4-difluor-8-fenil-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (1)

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 ( $3 \times 20$  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)  $\delta$ /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)  $\delta$ /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.

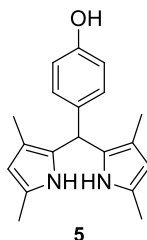


### 4.3. Sinteza spoja 2

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

U dvogroj tikvici od 100 mL suspendiran je 4-hidroksibenzaldehid (1,51 g, 12,4 mmol) u suhom DCM-u (30 mL), pod inertnom atmosferom N<sub>2</sub> 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 MgSO<sub>4</sub>. 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 <sup>1</sup>H-NMR odgovara produktu, spoju 5.

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



Smeđe ulje, <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ /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). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$ /ppm: 154,4, 134,4, 129,6, 126,5, 125,5, 115,6, 114,9, 108,6, 39,9, 13,2, 11,1.

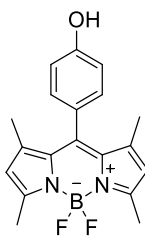
#### 4.3.2. Sinteza 4,4-difluor-8-(4-hidroksifenil)-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (2)

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 N<sub>2</sub> dodan je Et<sub>3</sub>N (12,2 mL, 87,7 mmol) i BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> 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 MgSO<sub>4</sub> 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/Et<sub>2</sub>O (0 – 50 %) kao eluens. Dobiveno je 209 mg narančastih kristala koji prema spektru <sup>1</sup>H-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-3a,4a-diaza-s-indacen (**2**)



**2**

Ukupno reakcijsko iskorištenje,  $\eta = 6,4\%$ ,  $T_t = 222 - 226$  °C, narančasti kristali,  $R_f$  (heksan/Et<sub>2</sub>O, 1:1) = 0,20. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$ /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). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$ /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<sup>-1</sup>: 3406, 2925, 1503.

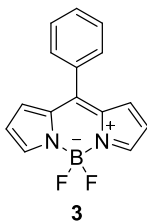
## 4.4. Sinteza spoja 3

### 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 N<sub>2</sub>. 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 N<sub>2</sub> dodan Et<sub>3</sub>N (11,3 mL, 8,1 mmol) i BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (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 MgSO<sub>4</sub>, 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/Et<sub>2</sub>O (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/Et<sub>2</sub>O (20 %)) = 0,34. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ /ppm: 7,95 (široki s, 1H), 7,59 – 7,52 (m, 5H), 6,94 (d, 2H,  $J = 3,5$  Hz), 6,55 (d, 2H,  $J = 3,5$  Hz). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$ /ppm: 147,5, 144,3, 135,1, 134,0, 131,8, 130,9, 130,6, 128,6, 118,7. IR  $\bar{\nu}$ /cm<sup>-1</sup>: 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 kondenzacije 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 pripremljen 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 ciljane molekule **1–3** u ukupnim reakcijskim iskorištenjima od 4 – 10 %. Reakcije su provedene pri suhim i inertnim uvjetima. Temeljem spektara <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>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 BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>, reagensa kojeg je nužno koristiti u suvišku, optimizacijom reakcijskog koraka kompleksiranja u budućnosti bi se mogli izbjeći navedeni problemi.

Pripremljeni različito supstituirani BODIPY spojevi 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

$T_i$  – temperatura taljenja

$\bar{\nu}$  – valni broj

$\Delta \lambda$  – Stokesov pomak

$\delta$  – kemijski pomak

$\varepsilon$  – molarni apsorpcijski koeficijent

$\eta$  – reakcijsko iskorištenje

$\lambda$  – valna duljina

$\tau$  – vrijeme života pobuđenog stanja

$\Phi_f$  – 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'-BF<sub>2</sub> 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.*  $\beta$ -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-dipyrin 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  $\pi$ - $\pi$  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.