

# Sinteza i fotokemija BODIPY spojeva s fenolnim supstituentom na borovom atomu

---

**Bogomolec, Marko**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:273636>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-22**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Marko Bogomolec

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2022. g.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Marko Bogomolec

*Sinteza i fotokemija BODIPY spojeva s fenolnim supstituentom na borovom atomu*

Diplomski rad

Mentor: prof. dr. sc. Irena Škorić

Komentor: dr. sc. Nikola Basarić

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Irena Škorić, Fakultet kemijskog inženjerstva i  
tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević, Fakultet kemijskog  
inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Prof. dr. sc. Ante Jukić, Fakultet kemijskog inženjerstva i  
tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Izv. prof. dr. sc. Svjetlana Krištafor, Fakultet kemijskog  
inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu (zamjena)

Zagreb, rujan 2022.



Ovaj diplomski rad je izrađen u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju, Zavoda za organsku kemiju i biokemiju, Instituta Ruđer Bošković pod vodstvom dr. sc. Nikole Basarića, komentora diplomskog rada (mentor: prof. dr. sc. Irena Škorić, FKIT), akademske godine 2021/2022. u sklopu HrZZ projekta IP-2019-04-8008: „Fotokemija: Reakcijski mehanizmi i primjene u organskoj sintezi i biologiji (PhotoApp)“.

## Sadržaj

Uvod .....	1
Teorijski dio .....	2
Reakcije na BODIPY jezgri u svrhu modifikacije fotofizičkih svojstava.....	2
Reakcije na borovom atomu BODIPY jezgre .....	7
Fotokemijski reaktivni BODIPY spojevi .....	13
Rezultati i rasprava.....	18
Sinteze spojeva .....	18
Fotofizička karakterizacija spojeva .....	25
Ispitivanje fotokemijske reaktivnosti spojeva .....	30
Eksperimentalni dio.....	38
Opće napomene .....	38
Sinteze spojeva .....	39
UV-Vis i fluorescencijska spektroskopija.....	45
Fotokemija.....	47
Zaključak.....	48
Popis oznaka, kratica i simbola .....	49
Literatura .....	50
Prilozi .....	56
Spektri NMR .....	56
HRMS spektri masa .....	69
HPLC kromatogrami .....	71
UV-Vis spektri .....	75
Fluorescencijski spektri.....	80
Životopis.....	89

## Sažetak

U ovom radu opisana je sinteza i fotokemija novih derivata BODIPY spojeva **2–7** koji su supstituirani na atomu bora s jednim ili dva fenolna supstituenta. Derivati **6** i **7**, imaju jedan, odnosno dva *para*-acetoksimetilfenolna supstituenta. Hipoteza istraživanja bila je da će osvjetljavanjem spojeva **2–7** vidljivim svjetlom doći do heterolize B–O veze i eliminacije fenolata iz kojih bi u slučaju spojeva **6** i **7** naknadnom eliminacijom acetata nastali kinon-metidi (QM). Fotokemijsko nastajanje QM zanimljivo je radi njihove antiproliferativne aktivnosti. Sintetizirani spojevi okarakterizirani su spektroskopijom  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR te spektrometrijom masa. Spektroskopska i fotofizička svojstva spojeva **1–7** ispitana su UV-Vis spektroskopijom i stacionarnom i vremenski razlučenom fluorescencijskom spektroskopijom. Fotokemijska reaktivnost ispitana je osvjetljavanjem otopina spojeva **2–7** u metanolu, a produkti metanolize su izolirani i okarakterizirani spektroskopskim metodama. Izolirani produkti ukazuju da osvjetljavanjem dolazi do heterolize B–O veza. Međutim, nije dokazano nastajanje QM. Fotofizička istraživanja dovedena su u vezu s fotokemijskim ispitivanjima kako bi se utvrdilo ovise li kvantni prinosi fluorescencije i eliminacije fenolnih skupina o fotoinduciranom prijenosu elektrona između fenoksi-supstituenta i BODIPY dijelova molekule.

Ključne riječi: BODIPY spojevi, fotosolvoliza, fotokemija, fotofizika

## Summary

### Synthesis and photochemistry of BODIPY compounds substituted at the boron atom

This thesis features the synthesis and photochemistry of new BODIPY derivatives **2–7**, which are substituted at the boron atom with one or two phenolic substituents. Derivatives **6** and **7**, bear one or two *para*-acetoxymethylphenol substituents, respectively. The hypothesis of the investigation was that the irradiation of **2–7** by visible light would lead to a heterolysis of the B–O bond and elimination of phenolates, which in the case of **6** and **7** would afford quinone methides (QMs) by subsequent elimination of acetate. Photochemical formation of QMs is interesting owing to their antiproliferative activity. The synthesized compounds were characterized by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy and high resolution mass spectrometry. Spectroscopic and photophysical properties of **1–7** were investigated by UV-Vis spectroscopy and stationary and time-resolved fluorescence spectroscopy. The photochemical reactivity was probed by performing irradiations of **2–7** in methanolic solutions whereupon methanolysis products were isolated and characterized by spectroscopic methods. Isolated products indicate that the irradiation leads to the heterolysis of the B-O bonds. However, formation of QMs has not been proved. The photophysical investigation was put in connection with the irradiation studies, probing if the quantum yields of fluorescence and elimination of phenolic groups depend on photoinduced electron transfer between phenoxy substituents and BODIPY.

Key words: BODIPY compounds, photosolvolysis, photochemistry, photophysics

## Zahvale

*Zahvaljujem mentorici prof. dr. Ireni Škorić na stručnom vodstvu tijekom cijelog studija, vjerujem da sam bio u pravim rukama. Drago mi je da ste mi na drugoj godini rekli da u laboratorijima nema mjesta i uputili me na Institut Ruđer Bošković, sada ne mogu ni zamisliti da je bilo drugačije, iako se nadam da ćemo u budućnosti imati prilike surađivati. Hvala na svojoj pomoći uz ispunjavanje dokumentacije, svim danim savjetima i uvijek vrlo ugodnim razgovorima.*

*Zahvaljujem mentoru i voditelju Laboratorija za sintetsku organsku kemiju dr. sc. Nikoli Basariću na prilici za radom tijekom studija i neprocjenjivom iskustvu koje sam stekao. Hvala za sve razgovore, rasprave i savjete, kako kemijske tako i svjetovne. Hvala za svaki put koji ste ostali duže na poslu da bih ja mogao nastaviti raditi. Hvala što ste mi preporučili praksu u Belgiji, takvu odluku teško bih donio sam. Jako sam ponosan što ste mi bili mentor i uvijek ću s ponosom isticati da ste me Vi naučili raditi kemiju.*

*Zahvaljujem prvoj mentorici dr. sc. Mariji Alešković na svojoj brizi tijekom, a posebno nakon izrade Završnog rada. Zahvaljujem mr. sc. Željku Mariniću na svim snimljenim spektrima NMR i uvijek dobroj zezanciji. Hvala i svim ostalim djelatnicima Laboratorija za sintetsku organsku kemiju na dugom druženju.*

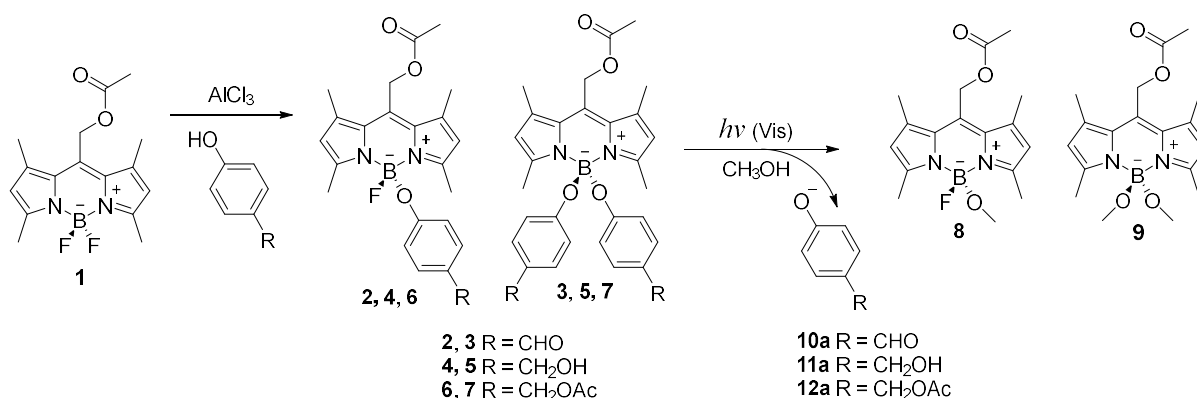
*Posebno hvala prijateljicama i kolegicama Jeleni i Željki na brojnim uspomnama i velikoj podršci tijekom cijelog studija kojeg bih teško završio bez vas.*

*Najviše hvala mojoj dragoj dr. sc. Katarini Zlatić, na svim uspomnama i dobrim i lošim trenutcima koje smo proveli zajedno, u i van laboratorija. Hvala na dolasku u Belgiju i najljepših tri tjedna u mom životu. Hvala što si uvijek bila uz mene.*



## Uvod

BODIPY je komercijalni naziv za klasu heterocikličkih fluorescentnih spojeva IUPAC-ovog naziva 4,4-difluor-4-bora-3*a*,4*a*-diazas-indacen, s iznimnim fotofizičkim svojstvima. Dosadašnjim istraživanjima u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju Instituta Ruđer Bošković pokazano je da je BODIPY spojeve moguće funkcionalizirati s odgovarajućim fenolnim supstuentima koji u fotokemijskim reakcijama stvaraju reaktivne intermedijere, kinon-metide (QM), a za koje se pokazalo da ih karakterizira antiproliferativno djelovanje.<sup>1-3</sup> Međutim, da bi došlo do nastajanja QM iz do sada pripremljenih BODIPY spojeva bilo je potrebno koristiti UV svjetlost jer su se fotokemijske reakcije odvijale iz viših singletnih pobuđenih stanja, a što nije primjenjivo za razvoj fototerapeutika u liječenju karcinoma.<sup>1,2</sup> U okviru diplomskog rada cilj je bio provesti organsku sintezu BODIPY spoja **1** i njegovih derivata **2–7** koji su na borovom atomu supstituirani s fenolnim supstuentima (Shema 1).



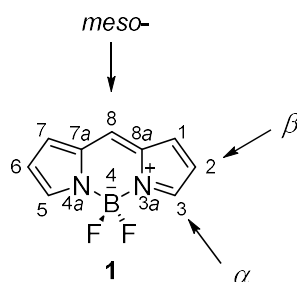
**Shema 1.** Sinteza spojeva **2–7** i njihova očekivana fotokemijska reakcija u kojoj nastaju spojevi **8** i **9**.

Hipoteza istraživanja je da će ti spojevi u fotokemijskim reakcijama heterolize B–O veze, uz pobuđivanje vidljivim svjetlom, stvarati fenolate **10a–12a**. U slučaju fenolata **12a**, očekuje se i sekundarna eliminacija acetata uz nastanak QM. Očekuje se i da će fotokemijskom reakcijom u metanolu nastati spojevi **8** i **9**. Sintetiziranim spojevima ispitana je fotokemijska reaktivnost i određena su im spektroskopska i fotofizička svojstva.

## Teorijski dio

### Reakcije na BODIPY jezgri u svrhu modifikacije fotofizičkih svojstava

Među brojnim klasama fluorescentnih organskih spojeva jednu od zapaženijih čine borovi kompleksi dipirometena, poznatiji kao BODIPY (engl. *boron dipyrromethene*) ili derivati 4,4-difluor-4-bora-3*a*,4*a*-diaz-a-s-indacena prema IUPAC-u. Otkrili su ih A. Treibs i F. H. Kreuzer 1968. godine,<sup>4</sup> a o njima danas postoji vrlo velik broj radova te pronalaze široku primjenu, posebice u molekularnoj biologiji i medicini gdje se koriste kao fluorescentni markeri i fototerapeutici.<sup>5,6</sup>



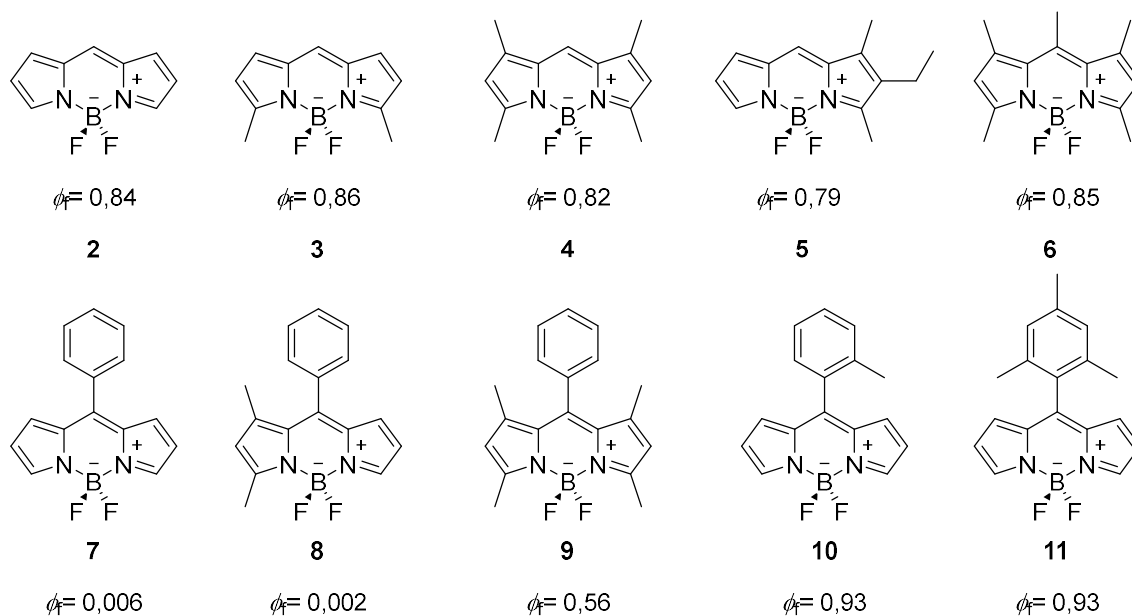
**Slika 1.** Struktura osnovnog BODIPY spoja **1** s položajima numeriranim prema IUPAC-u.<sup>7</sup>

BODIPY spojevi općenito pokazuju kemijsku i fotokemijsku stabilnost, dobru topljivost u većini organskih otapala, malu sklonost samoagregaciji u otopini te stabilnost u fiziološkim uvjetima. Karakteriziraju ih intenzivne i uske apsorpcijske vrpce u vidljivom dijelu elektromagnetskog spektra koje odgovaraju 0-0 prijelazu i populaciji  $S_1$  stanja te manje izraženo rame koje se pripisuje 0-1 vibracijskom prijelazu.<sup>8</sup> Maksimumi apsorpcije,  $\lambda_{\text{aps}}$ , najčešće su u području 470–530 nm i slabo ovise o polarnosti otapala.<sup>9</sup> Vrijednosti molarnih apsorpcijskih koeficijenata su im visoke, u području od 40 000–110 000  $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .<sup>5,10</sup> Većina ima velike iznose kvantnih prinosa fluorescencije, uz vremena života singletnog pobuđenog stanja 1–10 ns te zanemarive procese deaktivacije bez zračenja i populaciju tripletnog pobuđenog stanja.<sup>11</sup>

Velika prednost ove klase spojeva u odnosu na druge golem je broj mogućih sintetskih modifikacija.<sup>7</sup> Vezanjem prikladnih funkcionalnih skupina na BODIPY jezgru njihova kemijska, spektroskopska i fotofizikalna svojstva lako se mogu mijenjati.<sup>5,7</sup> Moguće je uvesti željene supstituente i provoditi reakcije na cijelom kromoforu – pirolnim ugljikovim atomima, *meso*-ugljiku i borovom atomu.

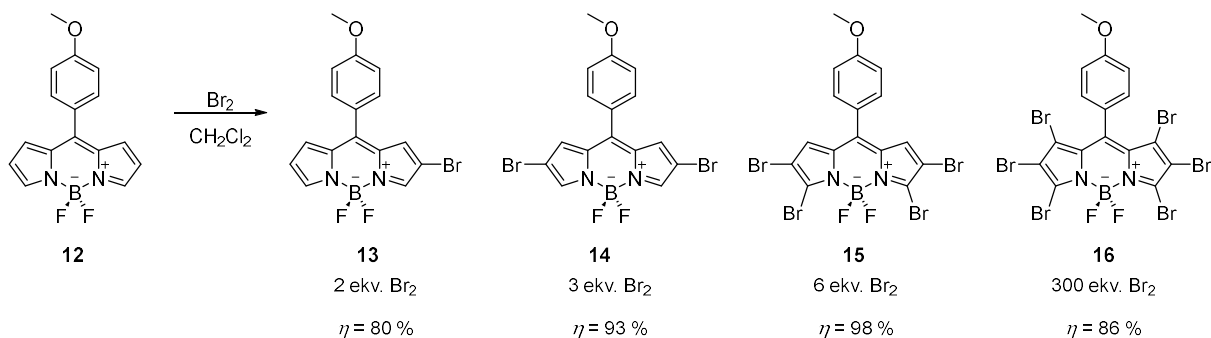
Korištenjem supstituiranih pirola i prikladnih kiselinskih klorida u prvim koracima sinteze pripravlja se alkilirani dipirometeni koji se prevode u BODIPY spojeve. Utjecaj na

spektroskopska svojstva im nije velik, ali su alkilni supstituenti korisni za daljnju funkcionalizaciju.<sup>12</sup> Derivati sa željenim arilnim skupinama na položaju 8- lako se pripravlja odabirom odgovarajućeg aromatskog aldehida prilikom sinteze dipirometana. Supstituenti u *meso*-položaju nemaju značajan utjecaj na valne duljine maksimuma apsorpcije i emisije ali se njima mogu modificirati kvantni prinosi fluorescencije. Ako aromatski prsten dodatno sadrži elektron-donirajuće skupine poput tercijarnih amina ili elektron-odvlačeće kao što su nitro- ili cijano-skupina, omogućuju se dodatni fotofizički procesi u pobuđenom stanju kojima se utječe na fluorescenciju, poput intramolekulskog prijenosa naboja (engl. *intramolecular charge transfer*, ICT).<sup>13-15</sup> Fenilne skupine na *meso*-položaju jako smanjuju kvantne prinose fluorescencije ako im rotacija nije sterički ometana, a što je detaljno istraženo na primjeru fenilnog derivata **7** (Slika 2).<sup>16</sup>



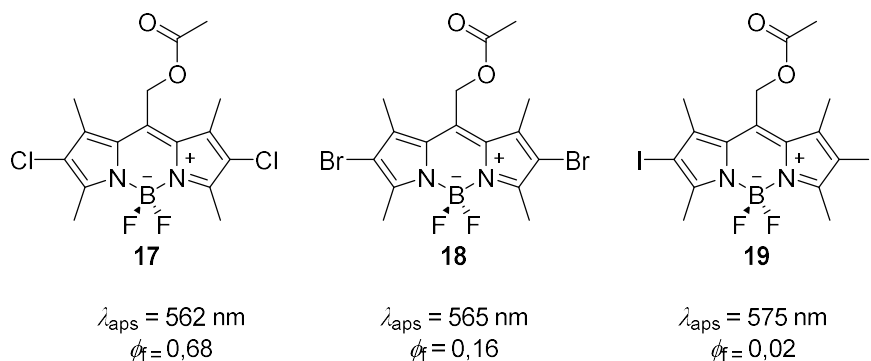
**Slika 2.** Strukture alkiliranih i *meso*-fenilnih derivata BODIPY spojeva i njihovi kvantni prinosi fluorescencije,  $\Phi_f$ .<sup>12,16</sup>

Čest korak u sintezama BODIPY spojeva uvođenje je atoma halogena kao reaktivnih skupina. Halogenirani derivati prikladni su jer omogućuju uvođenje ciljnih funkcijskih skupina u zadnjim koracima sinteze.<sup>17</sup> Opisan je velik broj reakcija halogeniranja: bromiranja s elementarnim bromom,<sup>18</sup> *N*-bromsukcinimidom<sup>19</sup> i  $\text{CuBr}_2$ ,<sup>20</sup> kloriranja s *N*-klorosukcinimidom<sup>21</sup> i  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,<sup>22</sup> jodiranja s  $\text{ICl}_3$ <sup>23</sup> i  $\text{I}_2/\text{HIO}_3$ .<sup>24</sup> Elektroforno halogeniranje spoja **23** prvo se odvija na položajima 2- i 6-, zatim 3- i 5-, a na kraju na položajima 1- i 7- (Shema 2).



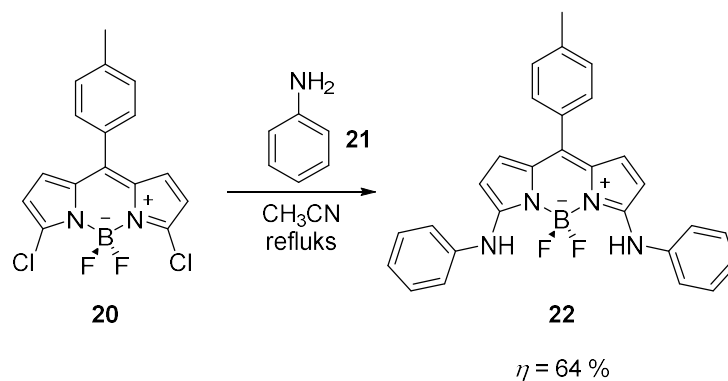
**Shema 2.** Stupnjevito regioselektivno bromiranje spoja **12** s elementarnim bromom.<sup>18</sup>

Prisutnost atoma halogena u strukturi povećava brzinu međusustavnog križanja zbog većeg spinsko-orbitalnog sprežavanja uslijed efekta teškog atoma, a posljedično dolazi i do smanjenja kvantnih prinosa fluorescencije.<sup>11</sup> Prijelazom molekula u tripletno pobuđeno stanje omogućuje se generiranje singletnog kisika, što je glavni uvjet za korištenje BODIPY spojeva u fotodinamičkoj terapiji gdje najveći potencijal pokazuju jodirani derivati.<sup>6</sup> Atomi halogena uzrokuju i batokromne pomake apsorpcijskih i emisijskih spektara, smanjuju molarne apsorpcijske koeficijente te znatno snižavaju kvantne prinose fluorescencije (Slika 3).

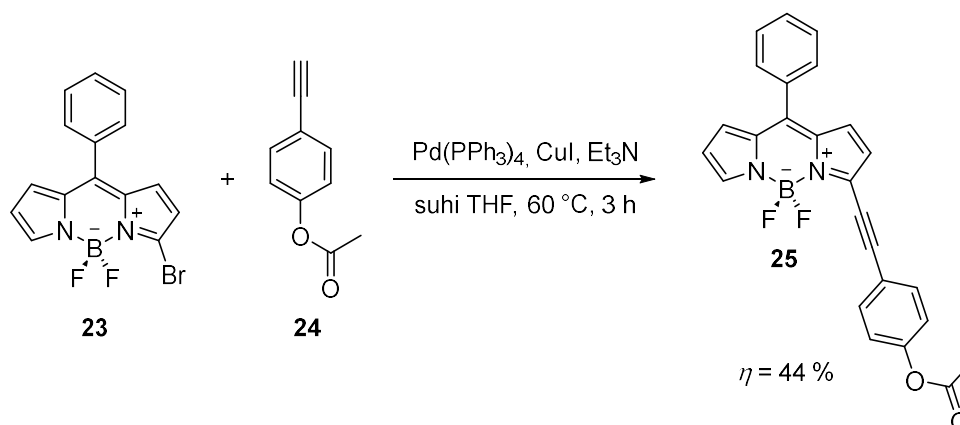


**Slika 3.** Strukture halogeniranih spojeva **17-19** i njihove vrijednosti maksimuma u apsorpcijskom spektru,  $\lambda_{\text{aps}}$  i kvantnog prinosa fluorescencije,  $\Phi_f$ .<sup>25</sup>

Halogenirani derivati BODIPY spojeva mogu se podvrgnuti reakcijama karakterističnima za halogenirane aromatske heterocikle kao što su nukleofilna aromatska supstitucija<sup>26</sup> (Shema 3) i paladijem katalizirane reakcije križnog povezivanja – Suzukijeva, Stilleova, Heckova i Sonogashirina (Shema 4).<sup>3,27,28</sup> Reakcijske uvjete moguće je prilagoditi kako bi se sintetizirali mono- ili disupstituirani derivati. Supstitucijske reakcije mogu se provoditi s ugljikovim, kisikovim i dušikovim nukleofilima.<sup>26</sup>

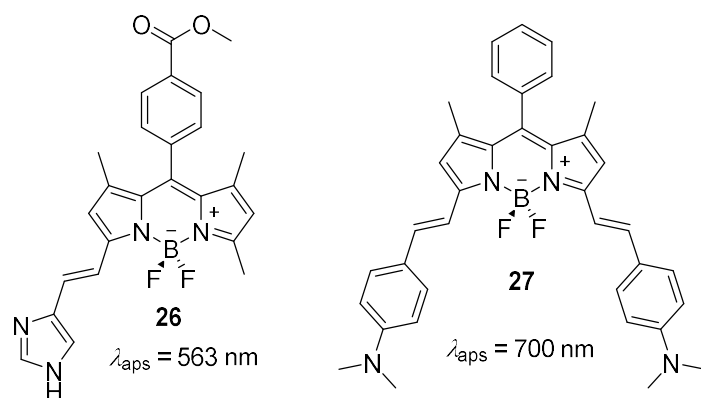


**Shema 3.** Nukleofilna aromatska supstitucija BODIPY spoja **20**.<sup>26</sup>



**Shema 4.** Sonogashirina reakcija BODIPY spoja **23**.<sup>3</sup>

Reakcije križnog povezivanja najčešća su strategija za sintezu BODIPY spojeva koji apsorbiraju u crvenom i blisko-infracrvenom području elektromagnetskog spektra. Najmanji batokromni pomak u apsorpcijskom spektru uzrokuje fenilni, a najveći stilirni supstituent (Slika 4). Ako supstituent sadrži heterociklički dio, batokromni pomaci su još izraženiji.<sup>28,29</sup> Alkenilni derivati češće se pripremaju iz BODIPY spojeva s metilnim skupinama Knoevenagelovim reakcijama s aromatskim aldehydima.<sup>24,30-32</sup> Elektron-donirajući supstituenti na aromatskom aldehydu dodatno pomiču apsorpcijske i emisijske spektre prema većim valnim duljinama, a najveću promjenu uzrokuju dimetilamino-skupine.<sup>33</sup> Konjugacijom slobodnog elektronskog para dušikovog atoma s kromofornim sustavom nastaju fluorofori koji emitiraju u bliskom infracrvenom dijelu spektra (Slika 4) i čiji se apsorpcijski spektri protoniranjem pomiču hipsokromno pa se mogu koristiti kao pH senzori.<sup>30,34</sup>



**Slika 4.** Strukture spojeva **26** i **27** sintetiziranih Knoevenagelovim reakcijama i njihove vrijednosti maksimuma u apsorpcijskom spektru.<sup>30,32</sup>

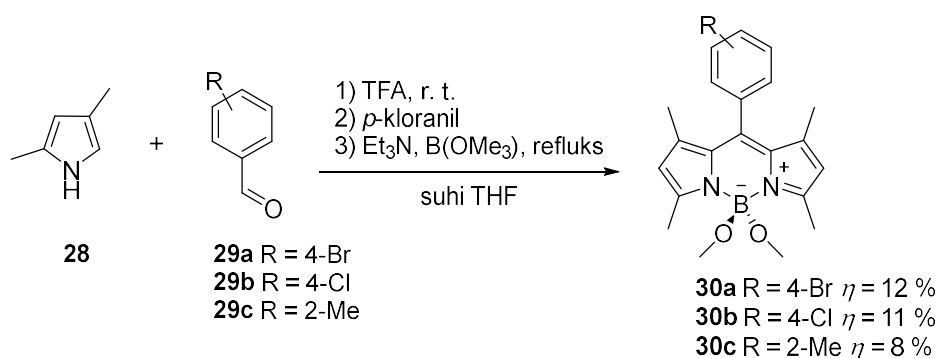
Zanimljiva je činjenica da BODIPY spojeve s alkenilnim supstytutentima karakteriziraju visoki kvantni prinosi fluorescencije i duga vremena života singletnog pobuđenog stanja, iako je poznato da se alkeni vrlo učinkovito deaktiviraju fotokemijskom *E-Z* izomerizacijom.<sup>35</sup> Pobuđivanjem u  $S_1$  kod alkenilnih BODIPY derivata ne dovodi do smanjenja elektronske gustoće između C-atoma dvostruke veze što bi rezultiralo torzijskom relaksacijom na plohi potencijalne energije stanja  $S_1$ .<sup>34</sup>

## Reakcije na borovom atomu BODIPY jezgre

Kako je BODIPY ime za derivate 4,4-difluor-4-bora-3*a*,4*a*-diazas-indacena, podrazumijeva se da su u strukturama za atom bora vezana dva atoma fluora. Međutim, razvijene su reakcije kojima je moguće derivatizirati i položaj 4-, tj. razvijene su reakcije na borovom atomu.<sup>7</sup> Spojeve koji na boru imaju vezan 1 atom fluora u ovom radu tada nazivamo 4-mono-, a kojima su supstituirana oba atoma fluora 4,4-disupstituirani BODIPY spojevi. Iako su modifikacije položaja 4 istražene manje od ostalih položaja na BODIPY jezgri, poznato je da se njima može utjecati na kvantne prinose fluorescencije, kemijsku i fotokemijsku stabilnosti, topljivost te redoks svojstva, a sve bez značajnih utjecaja na valne duljine maksimuma apsorpcije i emisije.<sup>7</sup>

Većina BODIPY spojeva slabo su topljivi u polarnim otapalima, posebice vodi, zato što zbog planarnosti molekula dolazi do njihove agregacije uslijed  $\pi$ - $\pi$  preklapanja.<sup>36</sup> Uvođenjem hidrofilnih, električki nabijenih ili sterički velikih skupina na atom bora, koji je tetraedarske geometrije, učinkovito se može povećati topljivost i smanjiti agregacija.<sup>37</sup>

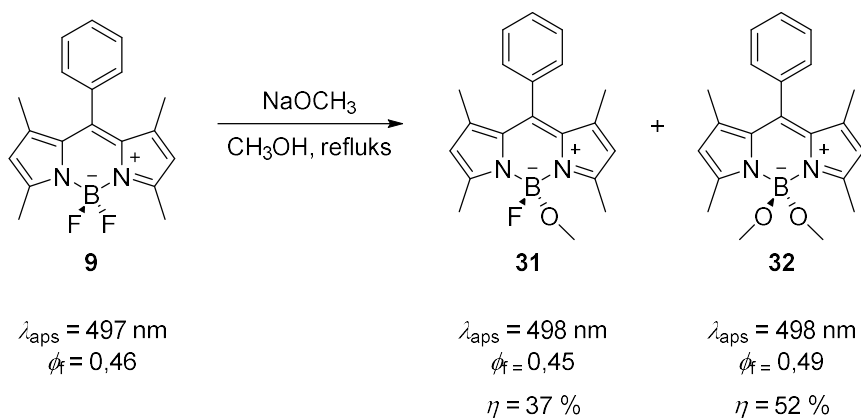
BODIPY spojevi supstituirani na atomu bora mogu se pripremiti već u prvim koracima sinteze. Sintezom odgovarajućih derivata dipirometana iz 2,4-dimetilpirola **28** i aromatskih aldehida **29a–c**, njihovim oksidacijom *p*-kloranilom u dipirometen te tretiranjem trietilaminom i trimetilboratom kao Lewisovom kiselinom, umjesto uobičajenog borovog trifluorida, nastaju 4,4-dimetoksi-BODIPY spojevi **30a–c** (Shema 5).<sup>38</sup>



Shema 5. Sinteza 4,4-dimetoksi-BODIPY spojeva.<sup>38</sup>

Kisikovi nukleofili mogu se vezati za atom bora pri bazičnim reakcijskim uvjetima i često pri visokim temperaturama. Reakcijom spoja **9** s natrijevim metoksidom u metanolu nastaje smjesa spojeva **31** i **32** (Shema 5) koji imaju slična spektroskopska svojstva kao nesupstituirani spoj, ali im se razlikuju oksidacijski i redukcijski potencijali. Zamjenom elektronegativnijeg fluora metoksidnom skupinom oslabljuje se induktivni efekt fluora, a

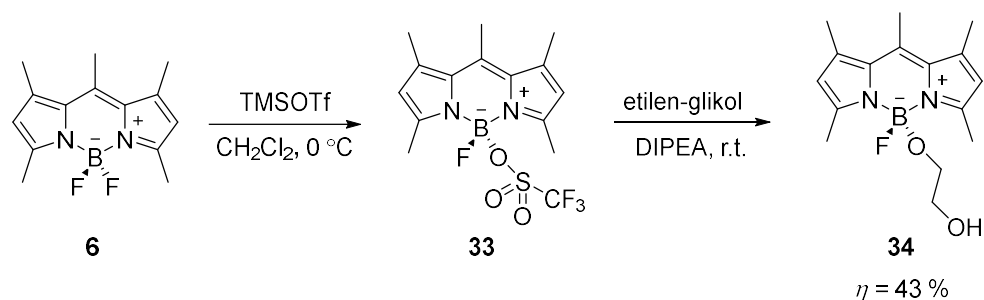
oksidacijski potencijali imaju niže vrijednosti za oko 0,1 V po metoksidnoj skupini. Iz tog razloga reakcije na boru prikladne su za preciznu modifikaciju procesa fotoinduciranog prijenosa elektrona (engl. *photoinduced electron transfer*, PeT).<sup>39</sup>



**Shema 6.** Supstitucija atoma fluora spoja **9** metoksidnom skupinom koristeći  $\text{NaOCH}_3$  kao jaki nukleofil i vrijednosti maksimuma u apsorpcijskom spektru,  $\lambda_{\text{aps}}$  i kvantnog prinosa fluorescencije,  $\Phi_{\text{f}}$ .<sup>39</sup>

Reakcije supstitucije atoma fluora mogu se provoditi i sa sterički velikim nukleofilima, npr. kalijevim *tert*-butoksidom, ali su često ograničene na monosupstituciju i imaju mala reakcijska iskorištenja.<sup>40</sup> Upotrebom većeg broja množinskih ekvivalenata nukleofila u reakciji dolazi do oslobađanja slobodnih dipirometena.<sup>40</sup>

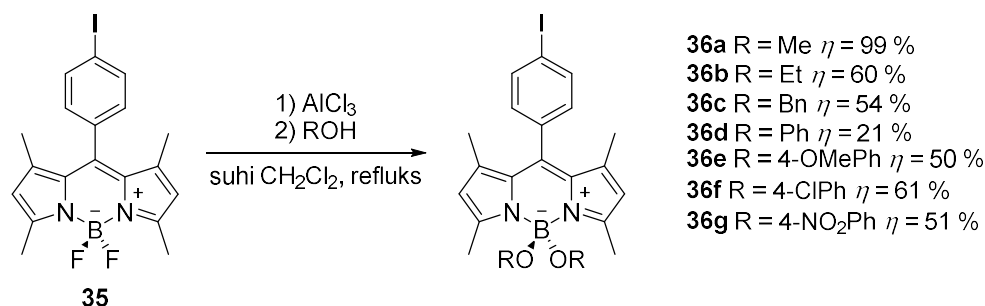
Mazitschek i suradnici razvili su dvostupanjsku *one-pot* metodu sinteze niza derivata 4-alkoksi-BODIPY spojeva. Selektivna monosupstitucija provodi se koristeći trimetilsilil-trifluormetansulfonat (TMSOTf) koji veže fluorid i tvori aktivirani međuprodukt **33** koji reagira s alkoholima (Shema 7). Međuprodukt nije stabilan pri reakcijskim uvjetima i sporo disocira pri čemu nastaje slobodni dipirometen pa je stoga alkohol u reakcijsku smjesu potrebno dodati u odgovarajuće vrijeme.<sup>41</sup>



**Shema 7.** Aktivacija B–F veza spoja **6** s TMSOTf i priprava alkoksi-BODIPY spojeva.<sup>41</sup>

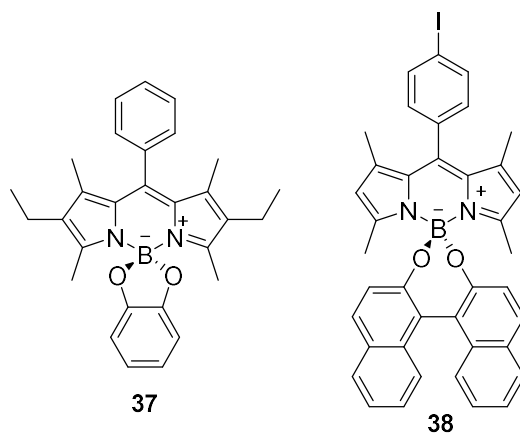


Treća metoda supstitucije, aktivacija B–F veza s  $\text{AlCl}_3$ , pokazala se kao najjednostavnija i kompatibilna s velikim brojem funkcijskih skupina. Reakcijama s alkoholima i fenolnim derivatima s aldehidnim, esterskim ili amino-skupinama pripremljeni su 4,4-dialkoksi i 4,4-diariloksi-BODIPY spojevi (Shema 8).<sup>42</sup>



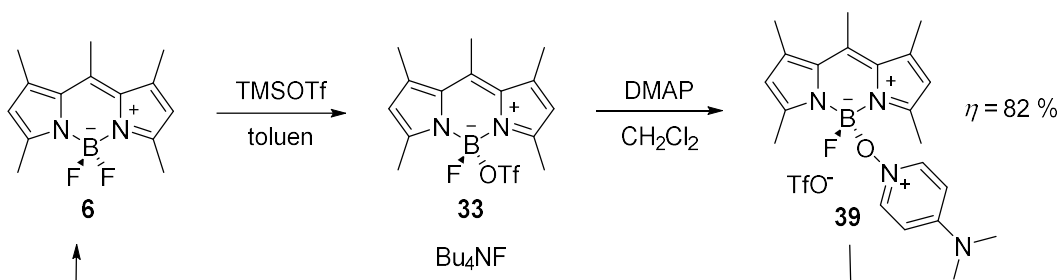
**Shema 8.** Supstitucija atoma fluora alkoholima nakon aktivacije B–F veza spoja **35** s  $\text{AlCl}_3$ .<sup>42</sup>

Ukoliko se za supstituciju koriste dialkoholi ili difenoli poput katehola dolazi do supstitucije oba atoma fluora i nastajanja ciklički supstituiranih derivata. Kateholnom derivatu **37** (slika 5) u potpunosti je ugašena fluorescencija što se pripisuje vrlo učinkovitom PeT procesu s kateholne jedinice na BODIPY kromofor.<sup>43</sup>



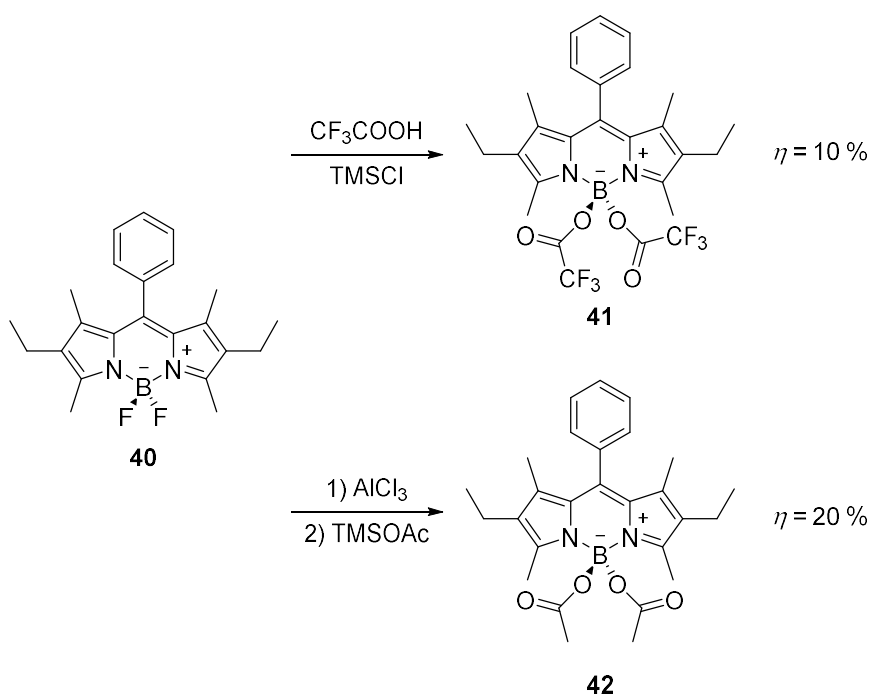
**Slika 5.** Strukture nefluorescentnih ciklički supstituiranih derivata **37** i **38**.<sup>43,44</sup>

Primjer primjene PeT procesa je senzor za fluoridne ione, nefluorescentni kationski adukt **39**, koji reagira s  $\text{F}^-$  ionima dajući jako fluorescentni spoj **6** (Shema 9).<sup>45</sup>



**Shema 9.** Struktura i djelovanje senzora za  $F^-$  ione **39**.<sup>45</sup>

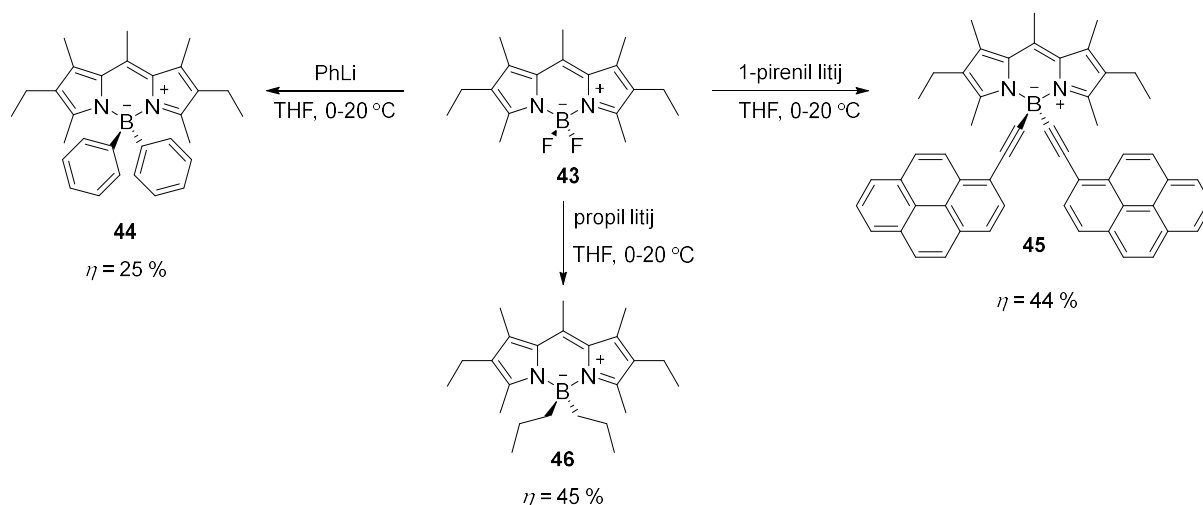
Za atom bora osim alkoholnih mogu se vezati i karboksilne skupine. Supstitucije karboksilnim skupinama se provode koristeći trimetilsilil-karboksilate generirane *in situ* iz karboksilnih kiselina i trimetilsilil-klorida. 4,4-Diacetoksi-BODIPY spojevi pripremljeni su u dobrim iskorištenjima i reakcijama s trimetilsilil-acetatom u prisutstvu  $AlCl_3$  kao Lewisove kiseline.<sup>46</sup> Aciloksi-skupine nalaze se okomito na ravninu koja je definirana s planarnom BODIPY jezgrom pa promjene valnih duljina maksimuma apsorpcije i emisije koje uzrokuju nisu značajne, ali značajno poboljšavaju topljivost u polarnim otapalima.<sup>47</sup>



**Shema 10.** Supstitucija atoma fluora spoja **40** karboksilnim skupinama.<sup>46</sup>

Jaki ugljikovi nukleofili također mogu napasti kiseli borov centar BODIPY spojeva i supstituirati atome fluora. Pomoću jakih ugljikovih nukleofila je dobiven niz spojeva koji na položaju 4- imaju alkilne,<sup>48</sup> arilne<sup>48,49</sup> i alkinilne skupine (Shema 11).<sup>48,50</sup> Organolitijevim

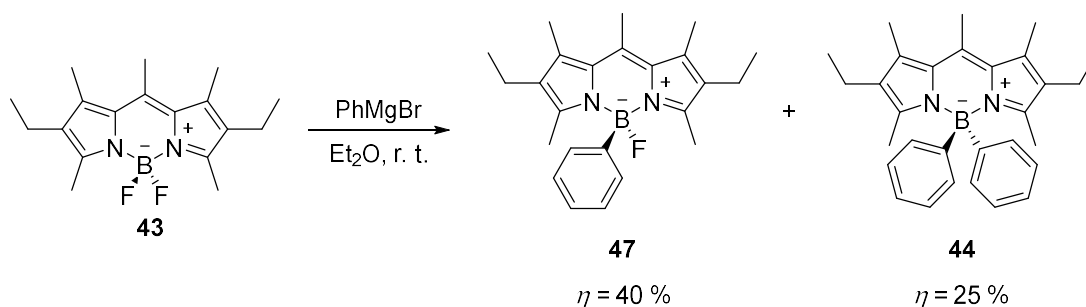
reagensima do supstitucije dolazi učinkovito i pri blagim reakcijskim uvjetima, ali zbog prevelike reaktivnosti ne nastaju monosupstituirani spojevi.<sup>48</sup>



**Shema 11.** Supstitucija atoma fluora spoja **43** organolitijevim reagensima.<sup>48-50</sup>

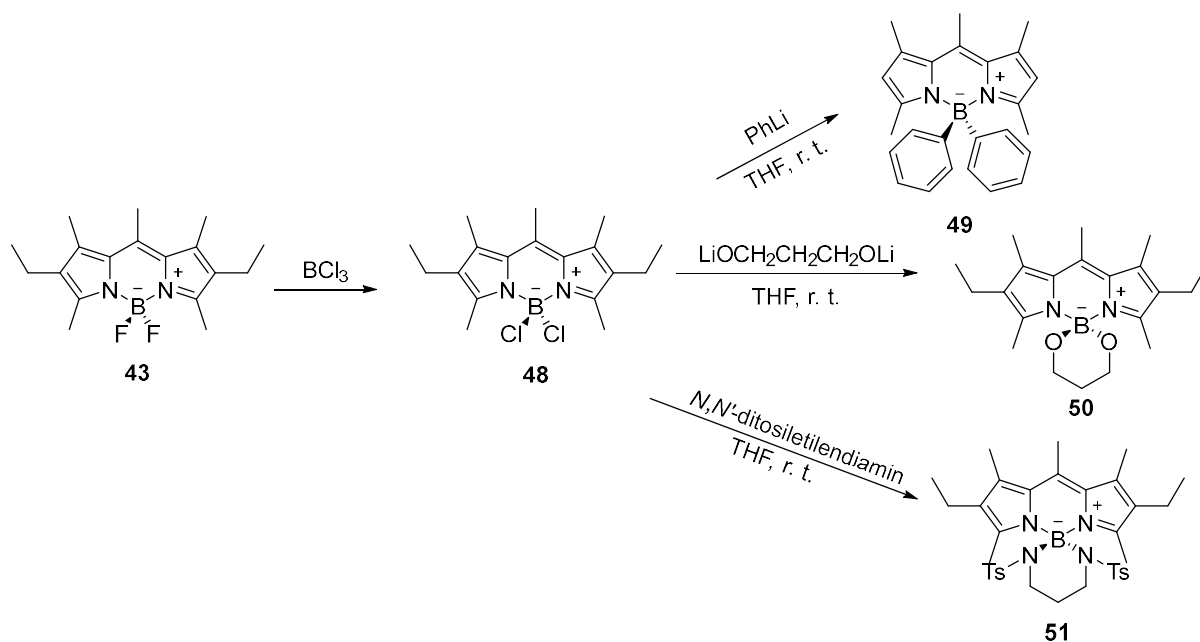
Apsorpcijski spektar disupstituiranog spoja **45** sličan je preklopljenim apsorpcijskim spektrima BODIPY kromofora i pirenilalkina što ukazuje da nema delokalizacije elektrona preko borovog centra. Svjetlosnim pobudama pri valnim duljinama aporpcijske vrpce pirenilalkinilnog fragmenta dolazi do emisije karakteristične za BODIPY fluorofor. Dobro preklapanje vrpce  $S_0 \rightarrow S_2$  apsorpcije BODIPY-ja i emisije pirena omogućuje učinkovit Försterov rezonancijski prijenos energije (engl. *Förster resonance energy transfer*, FRET) s pirena na BODIPY. Na to ukazuje vrlo velika vrijednost Stokesovog pomaka uz pobuđivanje UV svjetlom čime se pobuđuje pirenski dio molekule.<sup>50</sup>

4-Monosupstituirani BODIPY spojevi pripremljeni su s manje reaktivnim Grignardovim reagensima.<sup>49</sup> Reakcijom spoja **43** s fenilmagnezijevim bromidom pri 0 °C nastaje monosupstituirani spoj **47** u iskorištenju od 40 % (Shema 12).<sup>49</sup> Pri većim temperaturama i većim količinama Grignardovih reagenasa iskorištenja monosupstituiranih produkata se drastično smanjuju, a raste udio disupstituiranih.



**Shema 12.** Supstitucija atoma fluora spoja **43** Grignardovim reagensom.<sup>49</sup>

A. Thompson i suradnici opisali su metodu supstitucije atoma fluora koju je moguće provoditi u blagim reakcijskim uvjetima i visokim iskorištenjima.<sup>51,52</sup> Dodatkom borovog triklorida u otopine BODIPY spojeva kvantitativno dolazi do nastanka 4,4-diklor-BODIPY spojeva koji se mogu izolirati u inertnim uvjetima (Shema 13).<sup>51</sup> Kvantni prinosi fluorescencije kloriranih derivata manji su od fluoriranih analoga zbog učinka teškog atoma. Manja jačina B–Cl veza čini ih podložnijima nukleofilnim napadima i omogućuje brze i učinkovite supstitucije s C-, N- ili O-nukleofilima (Shema 13).<sup>53</sup>

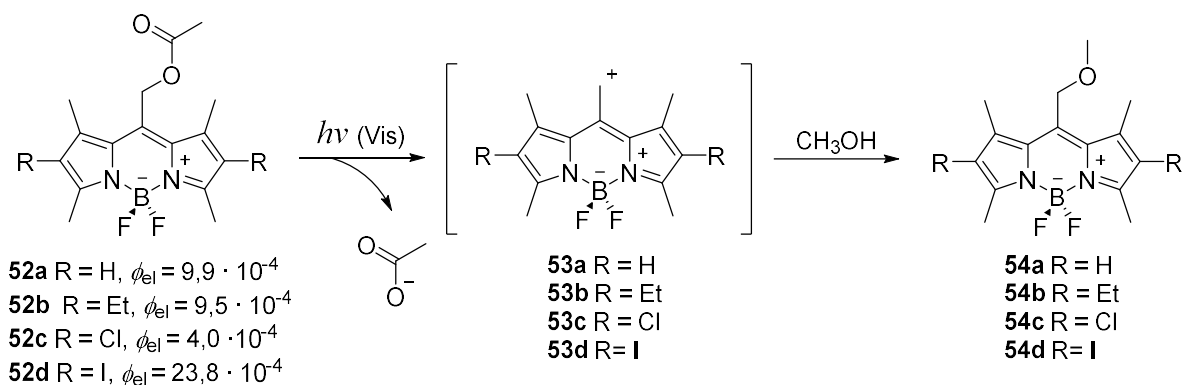


**Shema 13.** Sinteza 4,4-diklor-BODIPY spoja **48** i njegove reakcije s nukleofilima.<sup>51,52,54</sup>

## Fotokemijski reaktivni BODIPY spojevi

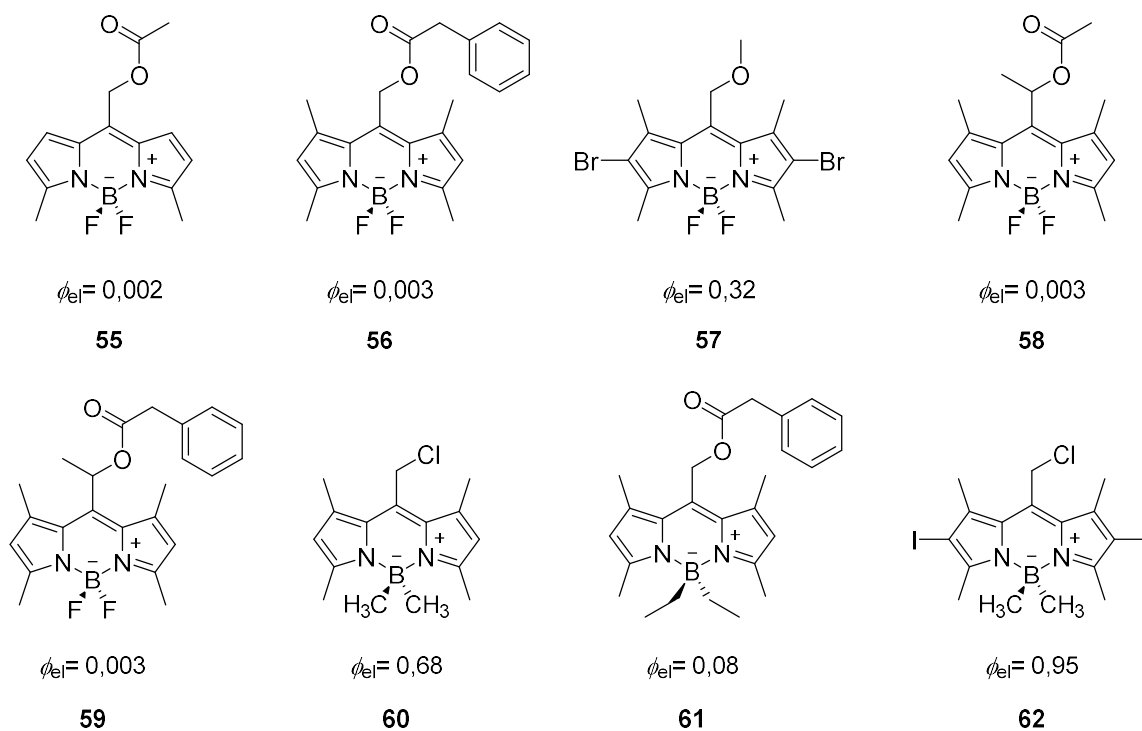
Broj opisanih derivata BODIPY spojeva vrlo je velik, većinu ih karakterizira fotokemijska stabilnost, a primjera koji su fotokemijski reaktivni relativno je malo. A. H. Winter i suradnici, potaknuti računskim istraživanjem,<sup>55</sup> sintetizirali su brojne derivate koji djeluju kao fotouklonjive zaštitne skupine, odnosno fotokavezi (engl. *photocages*).<sup>25,56-59</sup> Fotokavezi primjenu pronalaze u biološkim istraživanjima jer omogućuju manipulaciju aktivnosti kovalentno vezanih supstrata od interesa i njihovo vremenski i prostorno kontrolirano otpuštanje. Dok je odgovarajuća funkcijska skupina biološki aktivnog supstrata vezana za fotokavez, biološka aktivnost mu je onemogućena, a aktivira se otpuštanjem supstrata nakon svjetlosne pobude.<sup>60</sup> Prednost BODIPY fotokaveza u odnosu na većinu organskih kromofora je što se otpuštanje supstrata može potaknuti vidljivim svjetlom koje nije štetno za zdrava tkiva i ima veću moć prodiranja kroz tkivo.<sup>61</sup>

Prema rezultatima istraživanja, fotokemijska eliminacija octene kiseline s metilne skupine na *meso*-položaju iz derivata **52** odvija se fotokemijskom S<sub>N</sub>1 reakcijom u kojoj nastaje karbokationski međuprodukt (Shema 14).<sup>57</sup> Kvantni prinosi eliminacije  $\Phi_{el}$ , tih fotokaveza niži su od često korištenih fotokaveza poput *o*-nitrobenzila<sup>62</sup> i kumarina,<sup>63</sup> ali je učinkovitost eliminacije, koja je definirana kao umnožak kvantnog prinosa eliminacije,  $\Phi_{el}$ , i molarnog apsorpcijskog koeficijenta,  $\epsilon$ , kompenzirana većim  $\epsilon$  za BODIPY kromofor. Najveću učinkovitost fotokemijske reakcije eliminacije pokazuje jodirani derivat **52d** ( $\Phi_{el} = 0,024$ ) što ukazuje da se eliminacija događa iz tripletnog pobuđenog stanja jer je poznato da spoj ima visok kvantni prinos ISC-a.  $\Phi_{ISC} = 0,84 \pm 0,03$ .<sup>25,57</sup>



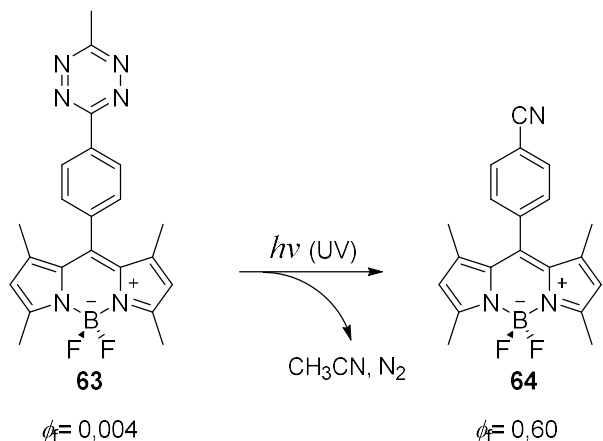
**Shema 14.** Predloženi mehanizam fotokemijske eliminacije dobrih izlaznih skupina s metilne skupine na *meso*-položaju BODIPY kromofora.<sup>57</sup>

Detaljnijim računskim studijama na većem broju različito supstituiranih BODIPY derivata (Slika 6) i analizom njihovih otopina nakon osvjetljavanja potvrđeno je da do eliminacije dolazi i iz singletnog i iz tripletnog pobuđenog stanja.<sup>25</sup> Sintetizirani su i derivati **58** i **59** (Slika 6) na kojima do eliminacije dolazi sa sekundarnog ugljikovog atoma. Očekivalo se da će metilirani derivati **58** i **59** imati veće učinkovitosti eliminacije, ali eksperimentalni podaci pokazuju da metilne skupine na reaktivnom centru nemaju bitan utjecaj.<sup>25</sup> Drugi način stabilizacije karbokationa je povećanje elektronske gustoće na BODIPY jezgri što se može postići supstitucijom atoma fluora. Pretpostavka se pokazala točnom, uvođenje alkilnih supstituenata na borov centar povećava kvantne prinose eliminacije.<sup>56</sup> Metilne skupine na boru povećavaju učinkovitost reakcije eliminacije čak do 30 puta, a efekt sterički velikih skupina je manji jer povećavaju učinkovitost relaksacijskih puteva bez zračenja.<sup>25,56</sup> Učinkovitost eliminacije ovisi i o izlaznoj skupini, a veća je što je  $pK_a$  odgovarajuće konjugirane kiseline manji.<sup>25</sup> Eliminirati se mogu i loše izlazne skupine ako su za kavez vezane reaktivnijim vezama, npr. alkoholi karbonatnim ili amini karbamatnim vezama.<sup>60,64</sup> U skladu sa svim rezultatima sintetiziran je derivat **62** kod kojeg su opisani efekti aditivni i koji ima vrlo visok kvantni prinos eliminacije klorida uz pobuđivanje vidljivim svjetlom,  $\Phi_{el} = 0,95 \pm 0,10$ .<sup>25</sup>



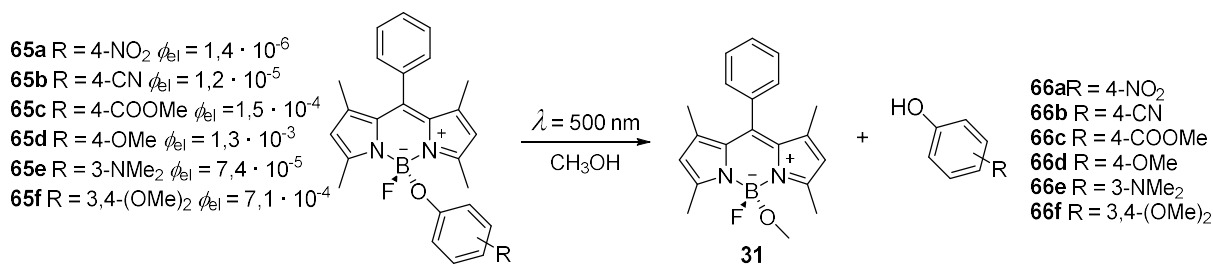
**Slika 6.** Strukture BODIPY fotokaveza i njihove vrijednosti kvantnih prinosa reakcije eliminacije,  $\Phi_{el}$ .<sup>25</sup>

Eliminacijom odlazećih skupina se mogu mijenjati i spektroskopska svojstva samog fluorofora.<sup>65</sup> Promjenom strukture spojeva može se utjecati na procese kao što su PeT, FRET ili intramolekulski prijenos protona u pobuđenom stanju (engl. *excited state intramolecular proton transfer*, ESIPT), a njihovim prikladnim optimiranjem iz nefluorescentnih spojeva mogu nastati fluorescentni produkti.<sup>66,67</sup> Osvjetljavanjem spoja **63** tako dolazi do fotokemijske reakcije u kojoj nastaju fluorescentni nitrilni BODIPY derivat **64**, acetonitril i elementarni dušik.



**Shema 15.** Fotokemijska reakcija spoja **63** kojom nastaje izrazito fluorescentni spoj **64**.<sup>67</sup>

Y. Urano i suradnici primijetili su da kod BODIPY spojeva s fenolnim supstituentima na borovom atomu pobuđivanjem vidljivim svjetlom dolazi do fotoeliminacijskih reakcija fenolnih skupina. Kvantni prinosi fluorescencije tih derivata smanjuju se porastom energije HOMO orbitala fenolnih skupina, a utjecaj supstituenata na boru na valne duljine apsorpcije i emisije te molarne apsorpcijske koeficijente je mali. Smatra se da je smanjenje učinkovitosti fluorescencije posljedica PeT-a s fenolnih skupina na BODIPY kromofor. Pretpostavlja se da nakon pobuđivanja nastaju radikal-kation fenolne skupine i radikal-anion BODIPY fluorofora, a zatim dolazi do solvolize B–O veze.<sup>68</sup>



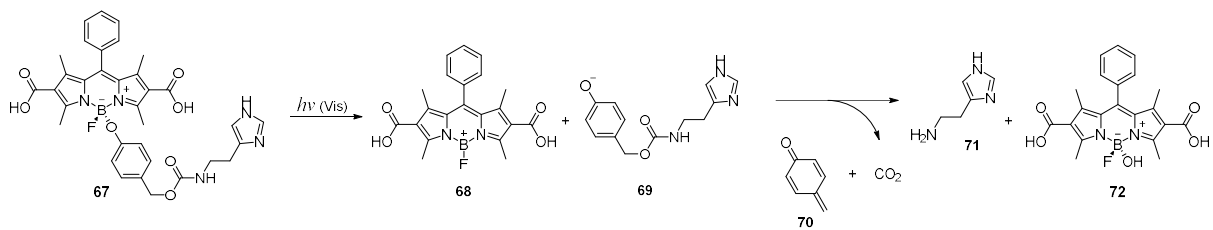
**Shema 16.** Fotokemijske reakcije BODIPY spojeva **65a–f** s fenolnim supstytutentom na borovom atomu.<sup>68</sup>

Dodatno su istraženi parametri koji utječu na eliminaciju fenolnih skupina. Pokazano je da se na učinkovitost PeT-a može utjecati supstitucijom BODIPY jezgre na položajima 2- i 6- ili supstitucijom *para*-položaja fenola.<sup>69</sup> PeT je učinkovitiji ako se na položajima 2- i 6- BODIPY jezgre nalaze elektronegativni supstytutenti i ako su fenoli supstituirani s elektron-donirajućim supstytutentima u *para*-položaju jer se tako smanjuje razlika u energiji HOMO i LUMO orbitala. Učinkovitost eliminacije ovisi i o polarnosti otapala, a veća je u nepolarnim otapalima.<sup>69</sup>

BODIPY spojevi primjenjuju se i u konceptu samouništavajućih sustava (engl. *self-immolative molecules*), najčešće kao prolijekovi, a koje su prvi opisali J. A. Katzenellenbogen i suradnici.<sup>70</sup> Takvi sustavi sastoje se od reaktivnih nosača, uništavajućih poveznica i supstrata. Reaktivni nosači mogu reagirati s kiselinama i bazama, enzimima ili se mogu pobuditi svjetlom i tada otpustiti poveznicu i supstrat. Razlozi za ireverzibilno samouništenje poveznice su rast entropije sustava i nastajanje termodinamički stabilnih produkata.<sup>71</sup> Kao poveznice se najčešće koriste strukture koje sadrže aromatski prsten s elektron-donirajućim skupinom (hidroksi-, amino- ili tiolnom) koja je u *ortho*- ili *para*-konjugaciji s odlazećom skupinom vezanom na benzilni položaj prstena. Prisutnost elektron-donirajućih skupina potrebna je kako bi se smanjila energetska barijera dearomatizacije, a iz njih eliminacijskim reakcijama nastaju reaktivni međuprodukti: kinon-metidi, azakinon-metidi i tiakinon-metidi.<sup>71,72</sup> Uništenjem poveznice dolazi do konačnog oslobađanja supstrata i omogućavanja njegovog biološkog djelovanja.

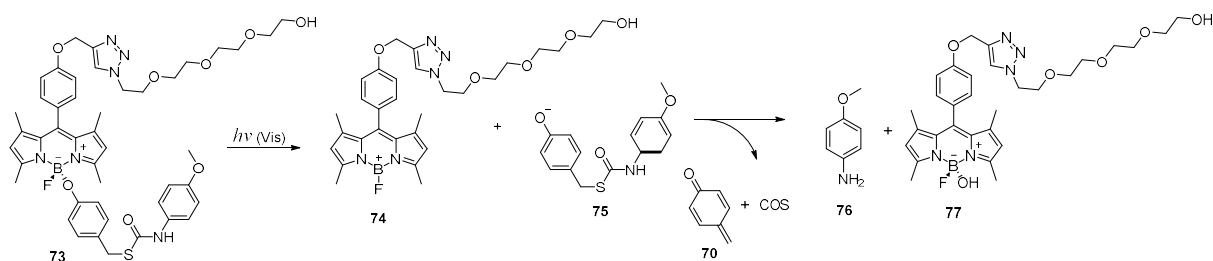
Primjer takvog samouništavajućeg sustava i dobrog molekuskog dizajna je BODIPY derivat **67**. Fluorofor je reaktivni nosač za koji je *para*-hidroksibenziloksikarbonilnom samouništavajućom poveznicom vezan biološki aktivan supstrat histamin. Osvjetljavanjem spoja **67** vidljivim svjetlom u živim stanicama dolazi do otpuštanja derivata fenola **69** koji se zatim raspada na histamin, CO<sub>2</sub> i kinon-metid **70** (Shema 17).<sup>68</sup>





**Shema 17.** Fotokemijska reakcija BODIPY spoja **67** u živim stanicama popraćena eliminacijom histamina **71**.<sup>68</sup>

Derivat **73** koristi se za kontrolirano otpuštanje COS iz kojeg u živim stanicama enzimskim reakcijama nastaje biološki važan H<sub>2</sub>S, a mehanizam otpuštanja je sličan kao i kod spoja **67** (Shema 18).<sup>73</sup>

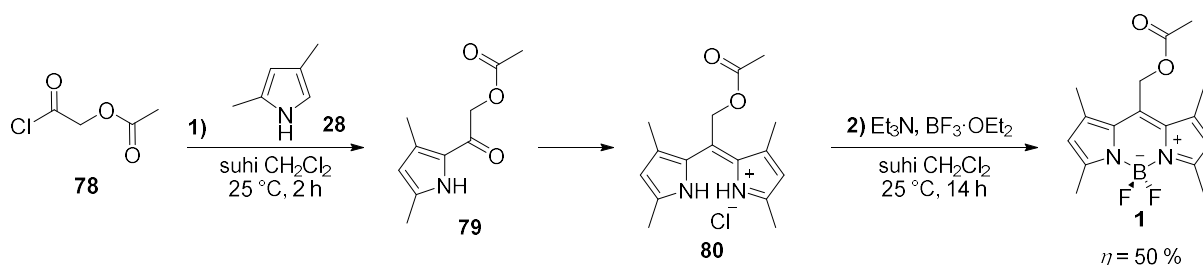


**Shema 18.** Fotokemijska reakcija BODIPY spoja **73** u živim stanicama popraćena otpuštanjem karbonil-sulfida iz kojeg *in vivo* nastaje H<sub>2</sub>S.<sup>73</sup>

## Rezultati i rasprava

### Sinteze spojeva

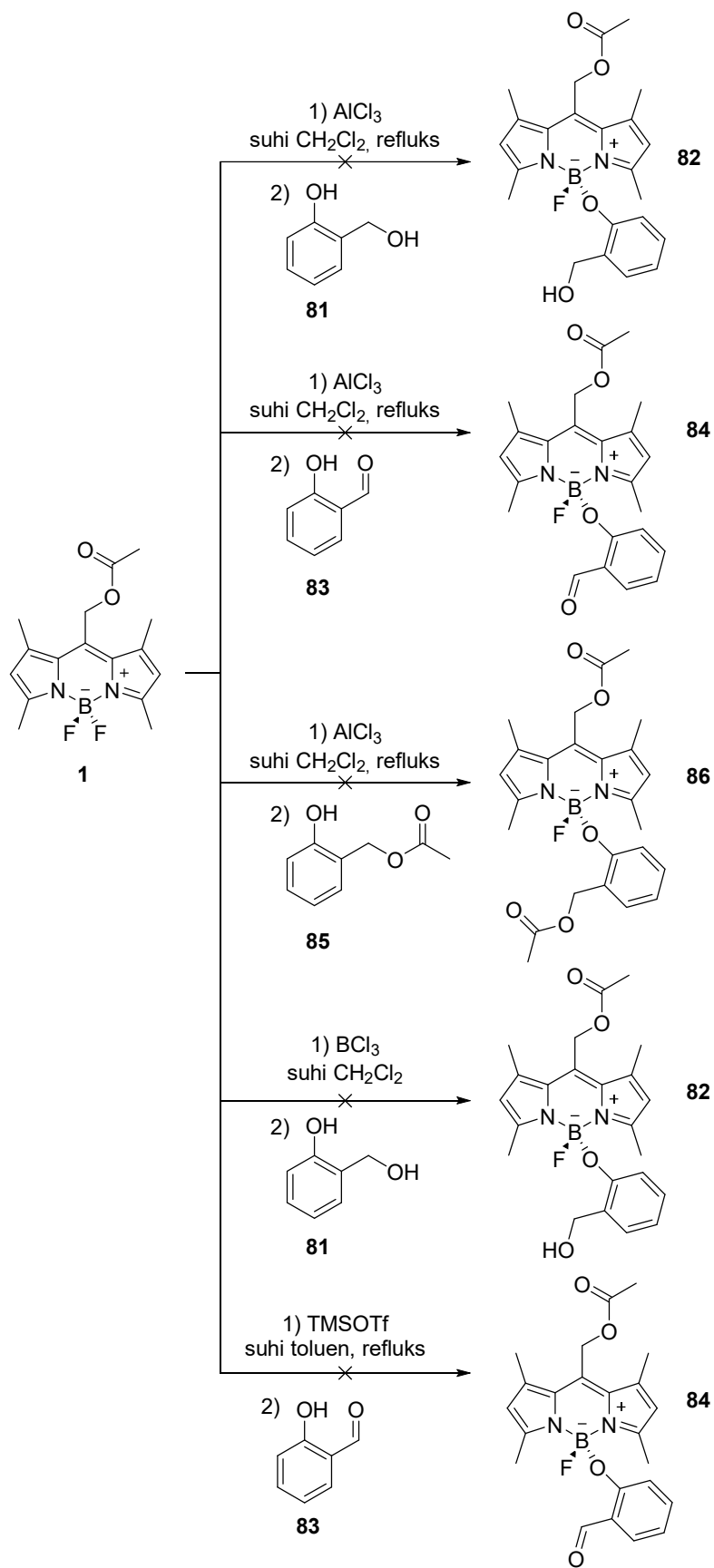
Početni BODIPY spoj **1** pripremljen je iz 2,4-dimetilpirola **28** i acetoksiacetyl-klorida **78** dvostupanjskom „one-pot“ reakcijom (Shema 19). U prvom koraku dolazi do elektrofilne aromatske supstitucije na slobodnom reaktivnijem  $\alpha$ -položaju 2,4-dimetilpirola kiselinskim kloridom pri čemu nakon eliminacije klorida nastaje ketonski derivat **79**. Karbonilna skupina protonira se *in-situ* nastalim HCl-om te postaje podložna nukleofilnom napadu sljedeće molekule 2,4-dimetilpirola. Nakon adicije na karbonilnu skupinu, slijedi dehidratiranje i nastajanje konjugiranog sustava između 2 pirolne podjedinice, odnosno nastaje dipirometen **80**. Sljedeća reakcija je kompleksiranje dipirometena s  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  kao Lewisovom kiselinom u prisutnosti baze uz nastajanje BODIPY spoja. Kako je bazični dipirometen **80** sintetiziran pri kiselim uvjetima nužno ga je deprotonirati kako bi se vezao za Lewisovu kiselinu te se stoga reakcija provodi u suvišku  $\text{Et}_3\text{N}$ , koji ujedno neutralizira i nastali HF.



Shema 19. Sinteza BODIPY spoja **1**.

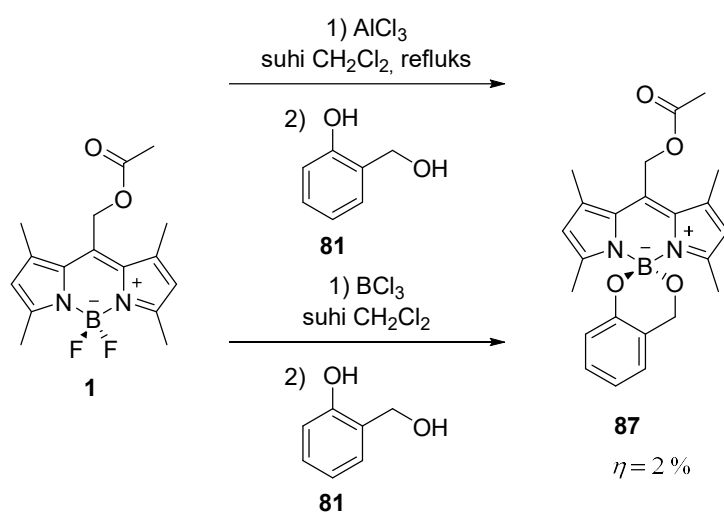
Produkt **1** je okarakteriziran spektroskopijom  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR. U spektru  $^1\text{H}$  NMR spoja **1** vidljivo je 5 signala, singlet intenziteta 2H u aromatskom području koji odgovara protonima vezanim za pirolne prstenove, singlet intenziteta 2H koji odgovara metilenskim protonima, 2 singleta intenziteta 6H koji odgovaraju metilnim skupinama i singlet intenziteta 3H koji odgovara protonima acetilne skupine. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru vidljivo je 10 signala, jako odsjenjeni signal pripada karbonilnom ugljikovom atomu, 5 signala u aromatskom području koji odgovaraju pirolnim ugljicima i *meso*-ugljiku, 1 signal koji odgovara metilenskom ugljiku te 3 signala koji odgovaraju acetilnoj i metilnim skupinama.

Prvotno su pokušane supstitucije atoma fluora BODIPY spoja **1** s derivatima *ortho*-supstituiranih fenola, ali reakcijama nisu nastali željeni produkti (Shema 20).



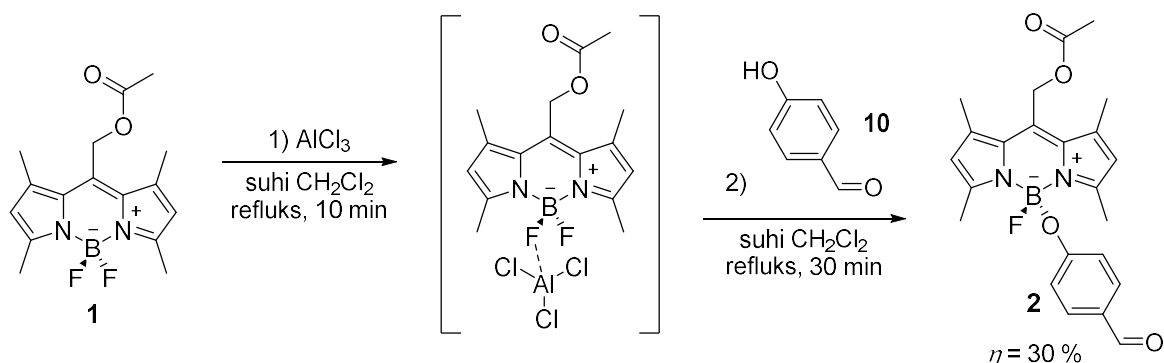
**Shema 20.** Neuspjeli pokušaji sinteze BODIPY spojeva s derivatima *ortho*-supstituranih fenola.

Iz svih pokušanih reakcija s *ortho*-supstituiranim fenolima (Shema 20), BODIPY spojevi izolirani su jedino iz reakcija sa salicilnim alkoholom **81**. Nastali produkti prema spektru  $^1\text{H}$  NMR odgovaraju ciklički supstituiranom spoju **87**, međutim iskorištenje reakcije bilo je vrlo nisko (Shema 21). U spektru  $^1\text{H}$  NMR spoja **87** vidljivo je 5 signala koji odgovaraju BODIPY kromoforu: singlet intenziteta 2H u aromatskom području koji odgovara protonima vezanim za pirolne prstenove, singlet intenziteta 2H koji odgovara metilenskim protonima, 2 singleta intenziteta 6H koji odgovaraju metilnim skupinama i singlet intenziteta 3H koji odgovara protonima acetilne skupine. U aromatskom području vidljiva su još 3 signala: dublet tripleta intenziteta 1H, dublet dubleta intenziteta 1H i multiplet intenziteta 2H.



**Shema 21.** Sinteza ciklički supstituiranog BODIPY spoja **87**.

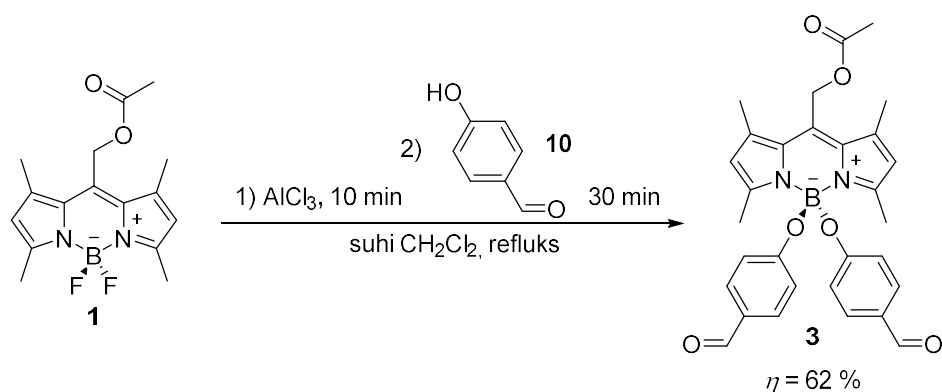
Supstitucija atoma fluora BODIPY spoja **1** uspješno je provedena reakcijom s *para*-supstituiranom derivatom fenola **10** uz  $\text{AlCl}_3$  u diklormetanu. Pretpostavlja se da  $\text{AlCl}_3$  aktivira B–F vezu čineći ju podložnom napadu nukleofila, a tvrdnja je potkrepljena  $^{11}\text{B}$  i  $^{19}\text{F}$  NMR studijama.<sup>42</sup> Vezanje  $\text{AlCl}_3$  termodinamički je povoljna reakcija, a nastali borenijev kation jako je stabiliziran s  $\text{AlCl}_3\text{F}^-$  kao protuionom, ali ne može se izolirati iz reakcijske smjese.<sup>42,74</sup> Sljedeći korak stoga određuje ukupnu brzinu reakcije, a to je nukleofilni napad alkohola na atom bora.<sup>74</sup> Upravo iz ovog razloga reakcije su provedene sa suviškom alkohola. Nastali supstituirani BODIPY **2** (Shema 22) pročišćen je kromatografijom na stupcu deaktiviranog  $\text{Al}_2\text{O}_3$  jer B–O veze nisu stabilne pri nižim pH vrijednostima, pa se spojevi raspadaju na silikagelu.



**Shema 22.** Sinteza monosupstituiranog BODIPY spoja **2**.

Produkt **2** okarakteriziran je spektroskopijom  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR. U spektru  $^1\text{H}$  NMR spoja **2** vidljivo je 8 signala. 5 signala imaju isti oblik i intenzitet kao kod spoja **1**, ali su kemijski pomaci blago različiti. Razlika je u fenolnom supstituentu na atomu bora pa su vidljiva i 2 dubleta u aromatskom području karakteristični za *para*-supstituirane benzenske prstene i jako odsjenjeni singlet koji odgovara aldehidnom protonu. U  $^{13}\text{C}$  NMR spektru vidljivo je 15 signala. Kvarterni ugljikov atom fenola za koji je vezan atom kisika vidljiv je kao dublet zbog sprege s atomom fluora kroz 4 veze. Signal koji odgovara  $\alpha$ -metilnim skupinama također je vidljiv kao dublet zbog sprege s atomom fluora kroz 4 veze.

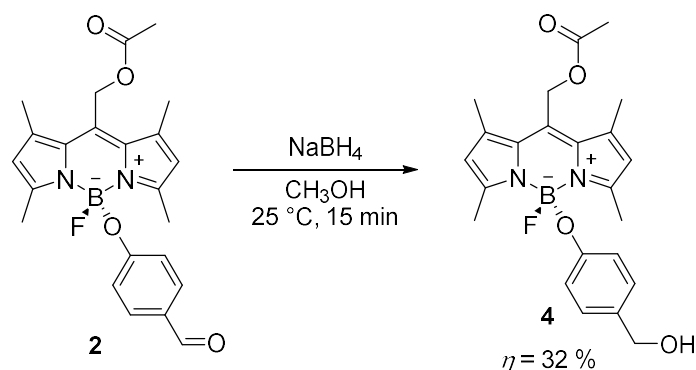
Reakcija supstitucije atoma fluora nije selektivna. Korištenjem samo jednog ekvivalenta fenola u reakcijskoj smjesi nastaje i disupstituirani derivat **3**. Spoj **3** sintetiziran je istom metodom koristeći suvišak fenola (Shema 23) pri čemu u reakcijskoj smjesi nije zaostalo mono-derivata **2**. Produkt **3** je okarakteriziran spektroskopijom  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR. Spektri su slični kao i kod spoja **2**, jedina značajna razlika je u dva puta većem intenzitetu signala koji odgovaraju fenolnom supstituentu u  $^1\text{H}$  NMR spektru. U spektru  $^{13}\text{C}$  NMR vidljivo je 15 signala.



**Shema 23.** Sinteza disupstituiranog BODIPY spoja **3**.

Spoj **2** u strukturi sadrži 2 različite vrste karbonilnih skupina, estersku i reaktivniju aldehidnu skupinu. U sljedećem stupnju potrebno je bilo selektivno reducirati karbonilnu

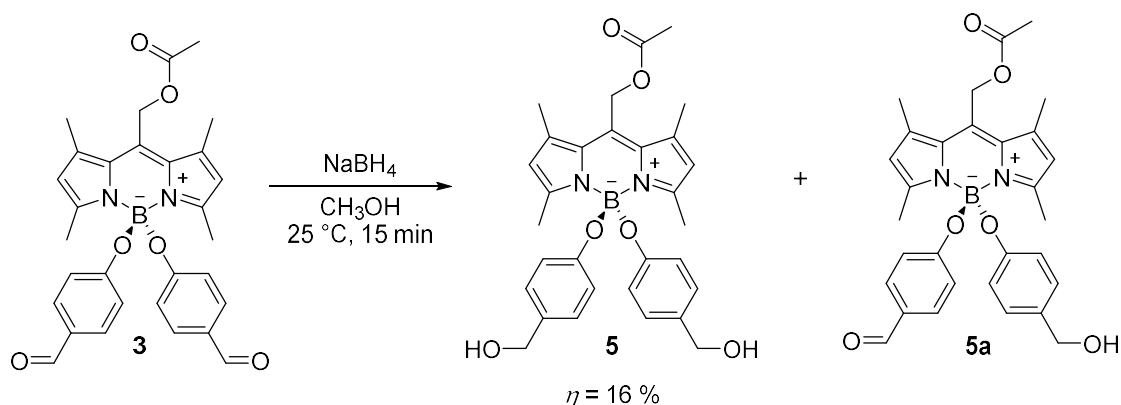
aldehidnu skupinu (Shema 24). Kako bi se izbjegla redukcija estera, kao redukcijski reagens korišten je NaBH<sub>4</sub>. Literaturno je opisana redukcija sličnih BODIPY derivata koji su u *meso*-položaju supstituirani fenilnom skupinom koristeći NaBH<sub>4</sub> u dobrim reakcijskim iskorištenjima.<sup>68,75</sup> Reakcija se odvija nukleofilnim napadom hidridnog aniona na karbonilni ugljikov atom formilne skupine. Metanol je otapalo, a ujedno djeluje i kao izvor protona za protoniranje alkoksida u drugom reakcijskom koraku. Međutim, sinteza spoja **4** redukcijom se pokazala problematičnom. Problem je što je i atom bora podložan nukleofilnom napadu. Kompeticijska reakcija je dekompleksiranje BODIPY spoja pri čemu nastaju dipirometen, odnosno dipirometan. Reakcijska iskorištenja na produktu **4**, odnosno **5** stoga su prilično niska. Sinteza spoja **4** pokušana je i supstitucijom atoma fluora s 4-hidroksibenzilnim alkoholom uz AlCl<sub>3</sub>, međutim nije dobiven očekivani produkt.



**Shema 24.** Redukcija aldehidne karbonilne skupine BODIPY spoja **2**.

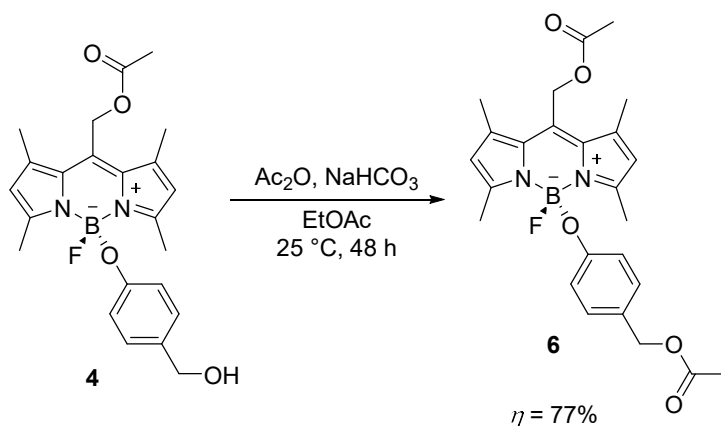
Produkt **4** je okarakteriziran spektroskopijom <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR. Spektar <sup>1</sup>H NMR je sličan spektru spoja **2**, ali umjesto signala aldehidnog protona sadrži znatno zasjenjeniji singlet intenziteta 2H na 4,46 ppm-a koji odgovaraju metilenskim protonima, dok signal hidroksilnog protona nije vidljiv. Spektar <sup>13</sup>C NMR također je sličan spektru spoja **2**, ali ne sadrži jako odsjenjeni signal karbonilne aldehidne skupine na oko 190 ppm-a, već signal koji odgovara benzilnom ugljiku na koji je vezana hidroksilna skupina na oko 65 ppm-a.

Prilikom sinteze disupstituiranog spoja **5** korištena je veća količina NaBH<sub>4</sub>, a uz željeni produkt nastaje i mono-reducirani spoj **5a** u tragovima (Shema 25). Produkt **5** je okarakteriziran spektroskopijom <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR. I ovdje je značajna razlika u spektrima dva puta veći intenzitet signala koji odgovaraju fenolnom supstituentu u usporedbi sa spektrom spoja **4**. U <sup>13</sup>C NMR spektru vidljivo je 15 signala.



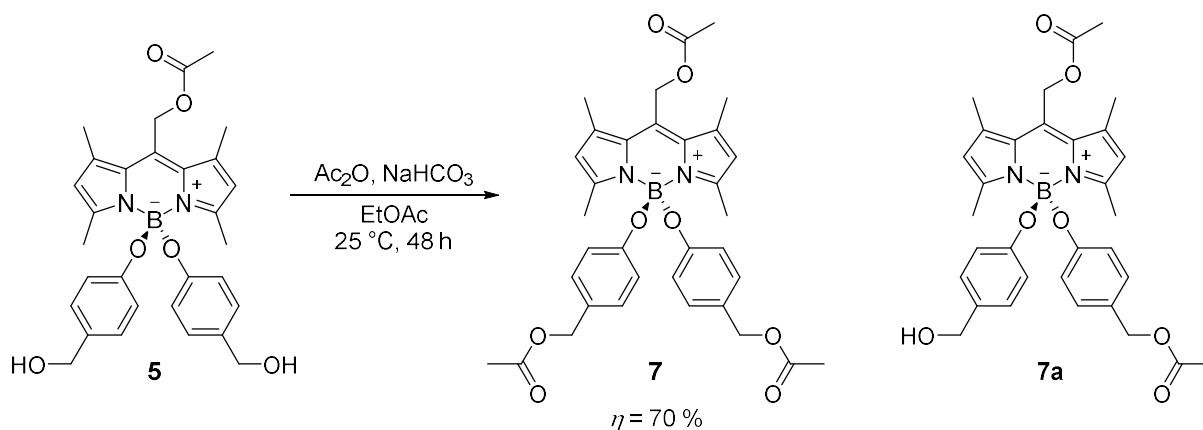
**Shema 25.** Redukcija alhidne karbonilne skupine BODIPY spoja **3**.

Zadnji korak u sintezi ciljnih molekula **6** i **7** je uvođenje dobro odlazeće acetilne skupine kako bi se omogućilo nastajanje kinon-metida u fotokemijskoj reakciji (Shema 1). Zbog osjetljivosti B–O veze na niske pH vrijednosti, acetiliranje je provedeno pri blagim uvjetima, katalizirano koristeći NaHCO<sub>3</sub> kao bazu i acetanhidrid kao acilirajući reagens u etil-acetatu pri sobnoj temperaturi (Shema 26). Produkt **6** je okarakteriziran spektroskopijom <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR. Spektar <sup>1</sup>H NMR sličan je kao kod spoja **4**, a sadrži dodatan singlet intenziteta 3H na 2,03 ppm-a koji odgovara acetilnoj skupini. U <sup>13</sup>C NMR spektru vidljivo je 17 signala.



**Shema 26.** Sintaza ciljnog BODIPY spoja **6**.

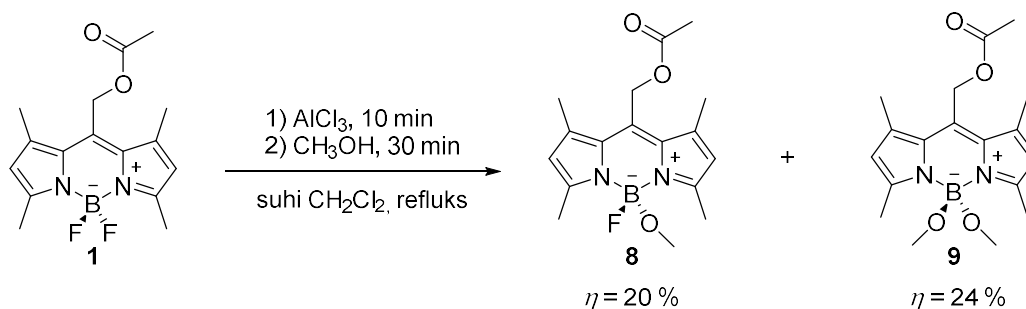
Sinteza disupstituiranog spoja **7** je provedena je s većim količinama reagensa i dužim reakcijskim vremenom, a primijećeno je i nastajanje monoacetiliranog spoja **7a** (Shema 27). U spektru <sup>1</sup>H NMR spoja **7** vidljiv je dodatan signal u usporedbi sa spektrom spoja **5** koji odgovara dvjema acetilnim skupinama. U <sup>13</sup>C NMR spektru vidljivo je 17 signala.



**Shema 27.** Sinteza ciljnog BODIPY spoja **7**.

Drugi način sinteze ciljnih spojeva **6** i **7** mogla bi biti i direktna supstitucija na atomu bora BODIPY spoja s već acetiliranim derivatom fenola.

Kao referentni spojevi sintetizirani su i očekivani fotoprodukti **8** i **9** (Shema 28) Pripravljeni su već opisanom metodom koristeći  $\text{AlCl}_3$  i metanol kao nukleofil,<sup>42</sup> a kako je bila potrebna mala količina spojeva, izolirani su iz jedne reakcijske smjese te sintezu nismo pokušali optimizirati. Produkti **8** i **9** okarakterizirani su spektroskopijom  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR.  $^1\text{H}$  NMR spektri su slični spektru spoja **1**, a sadrže dodatan singlet intenziteta 3, odnosno 6H na oko 2,9 ppm koji odgovara protonima metoksidne skupine vezane na atom bora. Spektri  $^{13}\text{C}$  NMR su također slični spektru spoja **1**, a sadrže 1 signal više na oko 49 ppm-a koji odgovara metoksidnom ugljiku vezanom na atom bora. Kod spoja **8** signali  $\alpha$ -metilnih skupina i metoksi-skupine vidljivi su kao dubleti, kao i kod ostalih monosupstituiranih spojeva zbog sprege s atomom fluora kroz 4 veze.

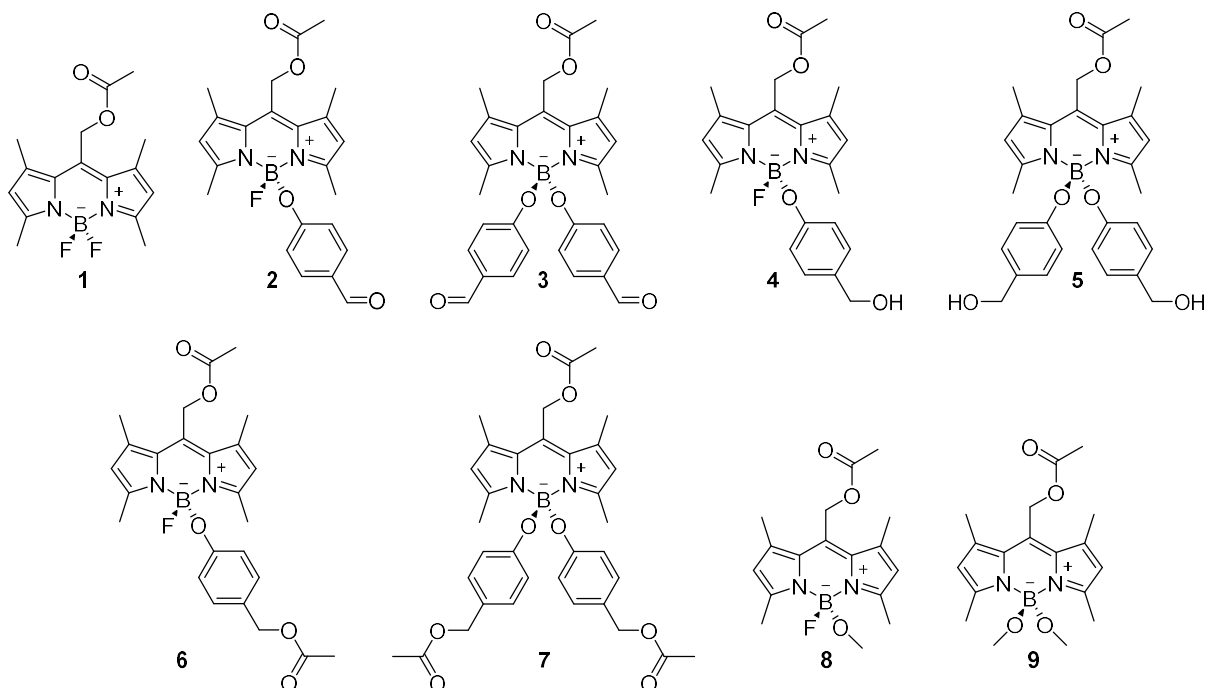


**Shema 28.** Sinteza očekivanih fotoprodukata **8** i **9**.



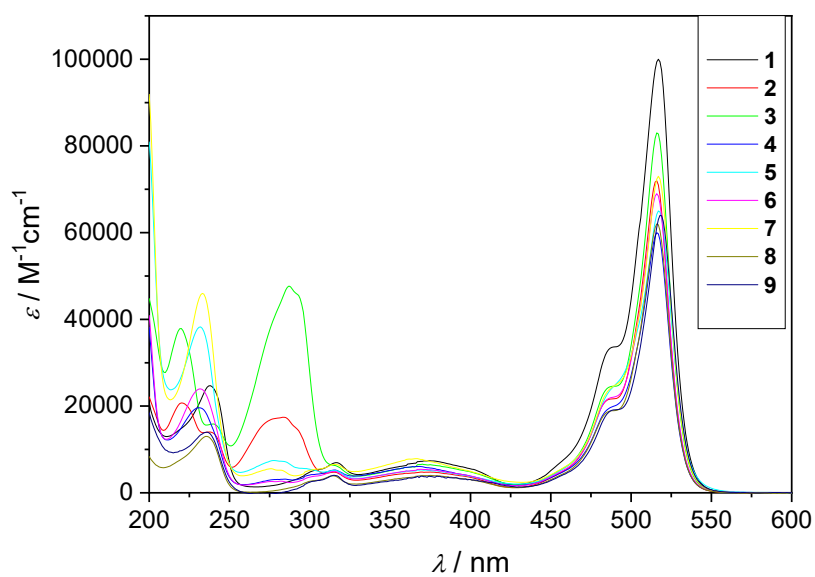
## Fotofizička karakterizacija spojeva

Svim sintetiziranim novim spojevima **2–9** i spoju **1** (Slika 7) snimljeni su UV-Vis spektri u acetonitrilu (Slika 8).



**Slika 7.** Strukture BODIPY spojeva **1–9** za koje je provedena fotofizička karakterizacija

Spojeve karakteriziraju apsorpcijski maksimumi u području od 516–518 nm uz molarne apsorpcijske koeficijente u rasponu od 60 000–100 000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. Svi spojevi pokazuju izrazito jake apsorpcijske vrpce u području 450–550 nm koje odgovara HOMO→LUMO prijelazu karakterističnom za BODIPY spojeve, to jest populaciji S<sub>1</sub> pobuđenog stanja.<sup>32</sup> Vidljive su i izrazito energetski odvojene vrpce u području < 400 nm koje odgovaraju energetskim prijelazima u viša pobuđena singletna stanja.<sup>76</sup> Značajna razlika u apsorpcijskim spektrima uočljiva je kod spojeva **2–7** (u usporedbi sa spojem **1**), kod kojih je vidljiva apsorpcijska vrpca u području 270–290 nm koja odgovara apsorpciji fenola. Promotrimo li im strukturu možemo pretpostaviti da se sastoji od dva zasebna, nekonjugirana kromofora – BODIPY-ja i fenola. Razlika između maksimuma apsorpcije svih spojeva je neznatna, za spojeve **2–8** nalazi se pri 216 nm, a spojeve **1** i **9** pri 217 nm, što je unutar greške mjerenja. Ovi rezultati su očekivani i u skladu s literaturnim navodima<sup>39-42</sup> jer uvođenje supstituenata na borov atom ne uzrokuje značajne promjene konjugiranog sustava pa ne dolazi do značajnih promjena u apsorpcijskim spektrima.



**Slika 8.** Apsorpcijski spektri spojeva **1–9** u acetonitrilu.

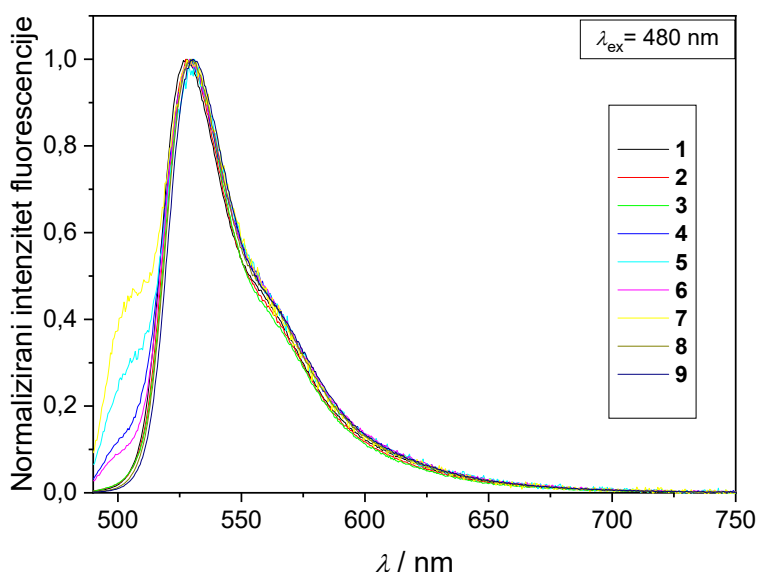
Usporedbama s nesupstituiranim spojem **1** uočljivo je da supstitucija atoma fluora fenolnom ili alkoksidnom skupinom općenito smanjuje molarne apsorpcijske koeficijente u maksimumu apsorpcije (Tablica 1).

**Tablica 1:** Spektroskopska i fotofizička svojstva spojeva 1–9.

spoj	$\lambda_{\text{aps}} / \text{nm}$	$\varepsilon_{\text{max}} / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{em}} / \text{nm}$	$\Delta\bar{\nu} / \text{cm}^{-1}$	$\Phi_{\text{f}}$	$\tau_1$ (ns)	$\tau_2$ (ns)	$k_{\text{f}}$ ( $10^9 \text{ s}^{-1}$ )	$k_{\text{nr}}$ ( $10^8 \text{ s}^{-1}$ )
1	517	$100000 \pm 1000$	528	403	$0,99 \pm 0,04$	$6,7 \pm 0,3$	-	1,5	0,1
2	516	$72000 \pm 5000$	528	440	$0,94 \pm 0,04$	$5,8 \pm 0,2$	-	1,6	1,0
4	516	$60000 \pm 10000$	530	512	$0,18 \pm 0,01$	$0,20 \pm 0,01$ (3 %)	$5,71 \pm 0,06$ (97 %)	0,03	1,5
6	516	$69000 \pm 9000$	529	476	$0,23 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,01$ (3 %)	$5,65 \pm 0,06$ (97 %)	0,04	1,4
8	516	$62000 \pm 11000$	530	512	$0,99 \pm 0,15$	$7 \pm 1$		1,5	0,2
3	516	$83000 \pm 5000$	530	512	$0,96 \pm 0,03$	$6,0 \pm 0,2$		1,6	0,7
5	517	$65000 \pm 5000$	531	510	$0,05 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,01$ (2 %)	$5,19 \pm 0,05$ (98 %)	0,01	1,9
7	517	$73000 \pm 10000$	531	510	$0,04 \pm 0,001$	$0,15 \pm 0,01$ (3 %)	$5,07 \pm 0,01$ (97 %)	0,08	2,0
9	518	$64000 \pm 15000$	530	437	$0,99 \pm 0,15$	$7 \pm 1$		1,4	0,1

$\lambda_{\text{aps}}$  – valna duljina maksimuma apsorpcije,  $\varepsilon_{\text{max}}$  – molarni apsorpcijski koeficijent pri valnoj duljini maksimuma apsorpcije,  $\lambda_{\text{em}}$  – valna duljina maksimuma emisije,  $\Delta\bar{\nu}$  – Stokesov pomak,  $\Phi_{\text{f}}$  – kvantni prinos fluorescencije,  $\tau_1$ ,  $\tau_2$  – vremena života nestajanja pobuđenih stanja,  $k_{\text{f}}$  – konstanta brzine fluorescencije,  $k_{\text{nr}}$  – konstanta brzine deaktivacije bez zračenja.

Valne duljine maksimuma emisije svih spojeva su slične i iznose 528–531 nm. Ekscitacijski i emisijski spektri ispitivanih spojeva u zrcalnom su odnosu, osim kod spojeva **5** i **7** čiji spektri sadrže vrpcu pri 485–510 nm koju trenutno ne možemo objasniti, a Stokesovi pomaci su mali, u rasponu  $400\text{--}515 \text{ cm}^{-1}$  karakterističnom za BODIPY spojeve.<sup>26</sup>



**Slika 9.** Normalizirani fluorescencijski spektri ( $\lambda_{\text{ex}} = 480 \text{ nm}$ ) spojeva **1–9** u acetonitrilu.

Iako su apsorpcijski i emisijski maksimumi spojeva slični, postoje razlike u kvantnim prinosima fluorescencije. Nesupstituirani spoj **1** iznimno je fluorescentan,  $\Phi_f$  mu iznosi čak 0,99. Isti iznos kvantnog prinosa imaju i spojevi **8** i **9** koji za atom bora imaju vezane metoksi-skupine. Kod svih spojeva s fenolnim supstituentom vrijednosti kvantnih prinosa su manje. Kvantni prinosi fluorescencije spojeva **2** i **3** imaju malo manje vrijednosti od nesupstituiranog spoja **1**. Monosupstituirani spojevi **4** i **6** imaju umjerene vrijednosti  $\Phi_f$ , dok su disupstituirani spojevi **5** i **7** jako slabo fluorescentni (Tablica 1). Navedene vrijednosti mogle bi se objasniti fotoinduciranim prijenosom elektrona iz fenolne HOMO orbitale (donor) u BODIPY LUMO orbitalu (akceptor) pri čemu nastaje radikal-kation fenola i radikal-anion BODIPY dijela molekule.<sup>68</sup> Prema vrijednostima  $\Phi_f$  može se uočiti da je PeT učinkovitiji kod disupstituiranih spojeva. Veće vrijednosti  $\Phi_f$  spojeva **2** i **3** u odnosu na ostale spojeve supstituirane derivatima fenola može se objasniti utjecajem elektron-odvlačećih 4-formilnih skupina koje smanjuju gustoću elektrona u benzenskom prstenu i smanjuju učinkovitost PeT-a, to jest povisuju energiju HOMO orbitale fenola.<sup>69</sup> Niže vrijednosti  $\Phi_f$  spojeva **4–7** mogu se objasniti lakšim PeT procesom s fenola koji nema elektron-odvlačeću skupinu pa mu se snižava oksidacijski potencijal.

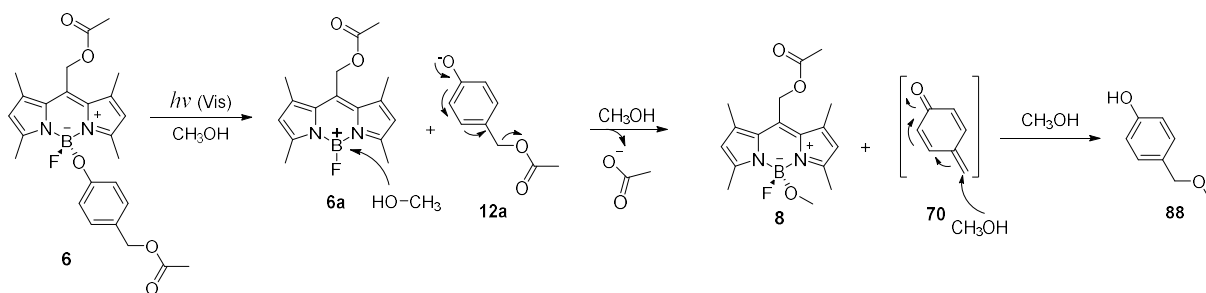
Opadanje intenziteta fluorescencije spojeva **1–3**, **8** i **9** koji imaju visoke kvantne prinose mogu su opisati monoeksponencijalnom kinetikom, a vremena života pobuđenog stanja su im slična, a iznose  $\approx 6\text{--}7 \text{ ns}$  (Tablica 1). Spojevi s izraženim PeT-om imaju znatno drugačiju

kinetiku opadanja fluorescencije koja se opisuje s dva eksponenta i koja ukazuje na dva različita pobuđena stanja. Fluorescentni spojevi imaju velike  $k_f$  i male  $k_{nr}$ . Zanimljivo je za primijetiti da spojeve koje karakterizira niski kvantni prinos fluorescencije imaju značajno smanjene vrijednosti  $k_f$ , dok se vrijednosti  $k_{nr}$  manje razlikuju za sve fenolne spojeve (Tablica 1). Takvo opažanje nije u skladu s pretpostavkom da do deaktivacije iz  $S_1$  dolazi PeT procesom, kao što su predložili Urano i suradnici.<sup>68,69</sup>

Asignacija komponenti vremena nestajanja dvoeksponencijalnog opadanja fluorescencije za sada nije provedena, a za što bi bilo nužno provesti detaljniju fotofizičku studiju uz mjerenja opadanja intenziteta fluorescencije uz detekciju na različitim valnim duljinama te uz pobuđivanje BODIPY dijela molekule ili fenola. Poznato je da učinkovitost PeT-a ovisi i o polarnosti otapala.<sup>77</sup> Kako bi se detaljnije istražio PeT kod spojevima **2–7** trebalo bi snimiti fluorescencijske spektre te opadanje intenziteta fluorescencije u otapalima različite polarnosti.

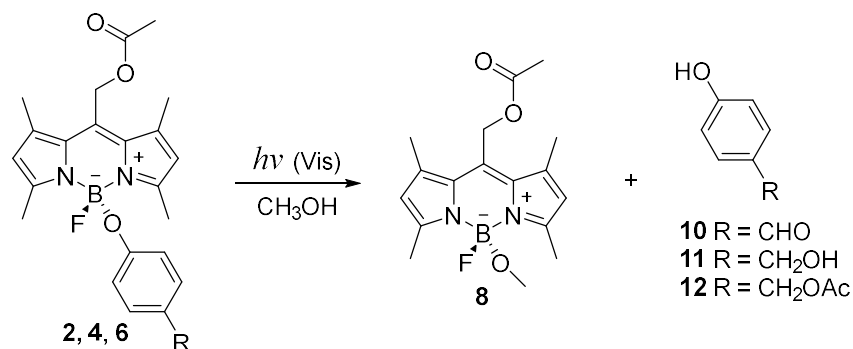
## Ispitivanje fotokemijske reaktivnosti spojeva

Poznato je da pobuđivanjem BODIPY spojeva s fenolnim supstytutentima na atomu bora dolazi do cijepanja B–O veze pri čemu nastaju produkt solvolize BODIPY spoja i fenolni derivati (Shema 16).<sup>68,69</sup> Nadalje, poznato je da je nastajanje QM moguće u baznoj reakciji iz acetoksimetil-fenola, ili potaknuto eliminacijom sililne skupine s fenola.<sup>78,79</sup> U tim uvjetima nastaju fenolati koji u kasnijoj eliminaciji acetata daju *o*-QM<sup>80</sup> ili *p*-QM.<sup>81</sup> Stoga smo željeli provjeriti može li foto-heterolitičko cijepanje fenolnih derivata BODIPY spojeva **6** i **7** potaknuti nastajanje QM (Shema 29). Kako QM reagiraju s nukleofilima, poput metanola, uz nastajanje adukata, detekcija metilnog etera **88** predstavljala bi dokaz pretpostavljenog mehanizma reakcije.



**Shema 29.** Pretpostavljen mehanizam reakcije fotosolvolize BODIPY spoja **6**.

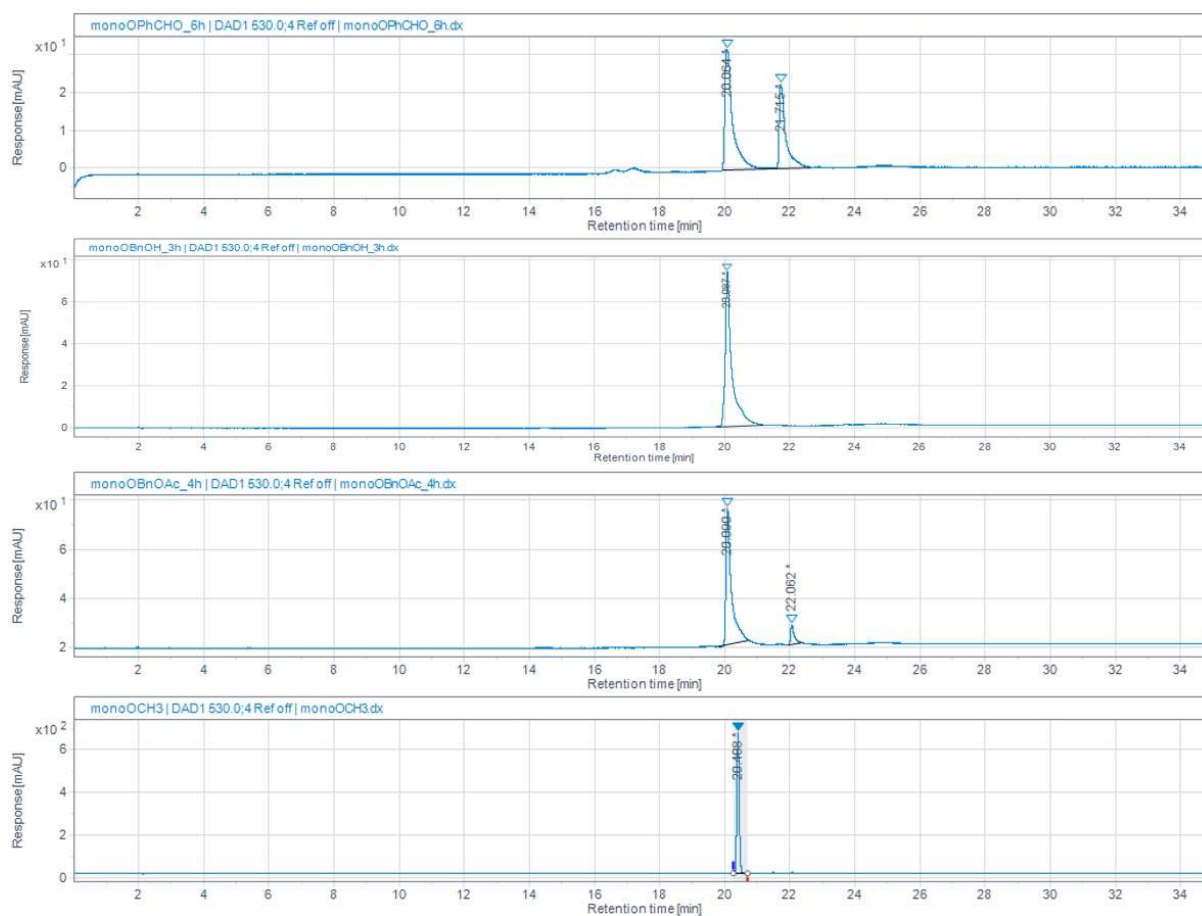
Stoga smo proveli ozračivanja otopina spojeva **2–7** u metanolu. U fotokemijskim reakcijama monosupstituiranih derivata **2**, **4** i **6** nastali su očekivani metoksi-fotoprodukt **8** te fenolni derivati **10–12** (Shema 30), što je utvrđeno analizom ozračenih otopina HPLC-om i NMR spektroskopijom.



**Shema 30.** Fotokemijske reakcije spojeva **2**, **4** i **6** u metanolu.

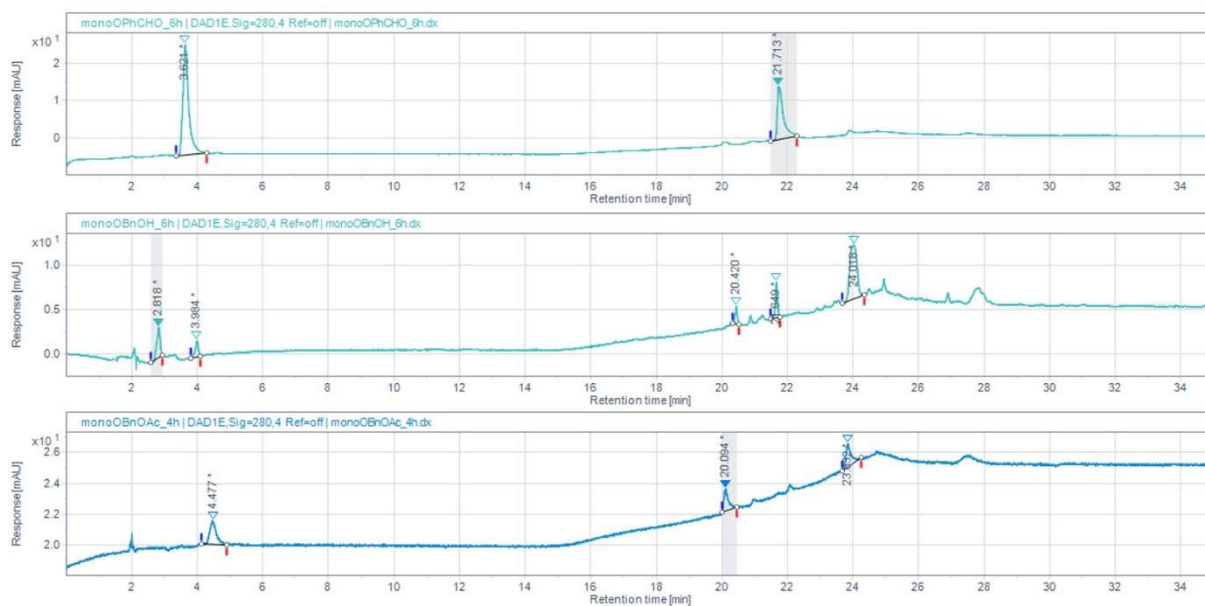
Analizom osvijetljenih otopina monosupstituiranih spojeva **2**, **4** i **6** tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *high-performance liquid chromatography*, HPLC) dobiveni su kromatogrami (detekcija  $\lambda = 530$  nm, Slika 10) u kojima su vidljivi pikovi

koji odgovaraju samim spojevima (**2**  $t_r = 21,7$  min, **4**  $t_r = 20,4$  min, **6**  $t_r = 22,1$  min) i zajednički pik koji ukazuje na nastanak istog fotoprodukta s metoksi-skupinom na borovom atomu (**8**  $t_r = 20,4$  min).



**Slika 10.** Kromatogrami metanolnih otopina spojeva **2**, **4** i **6** nakon osvjetljavanja i referentnog spoja **8**, detekcija  $\lambda = 530$  nm.

Korištenom HPLC metodom nije došlo do razdvajanja pikova fotoprodukta **8** i spoja **4**, ali do zaključka se može doći promatrajući i kromatograme s detekcijom pri  $\lambda = 280$  nm (Slika 11). Uz pikove osvjetljavanih spojeva vidljivi su i pikovi za koje je usporedbom s referentnim spojevima potvrđeno da odgovaraju fenolnim derivatima (**10**  $t_r = 3,6$  min, **11**  $t_r = 2,8$  min, **12** = 4,5 min). Svi kromatogrami osvjetljavanih otopina početnih spojeva **2–7** i referentnih spojeva **10** i **11** nalaze se u Prilozima.

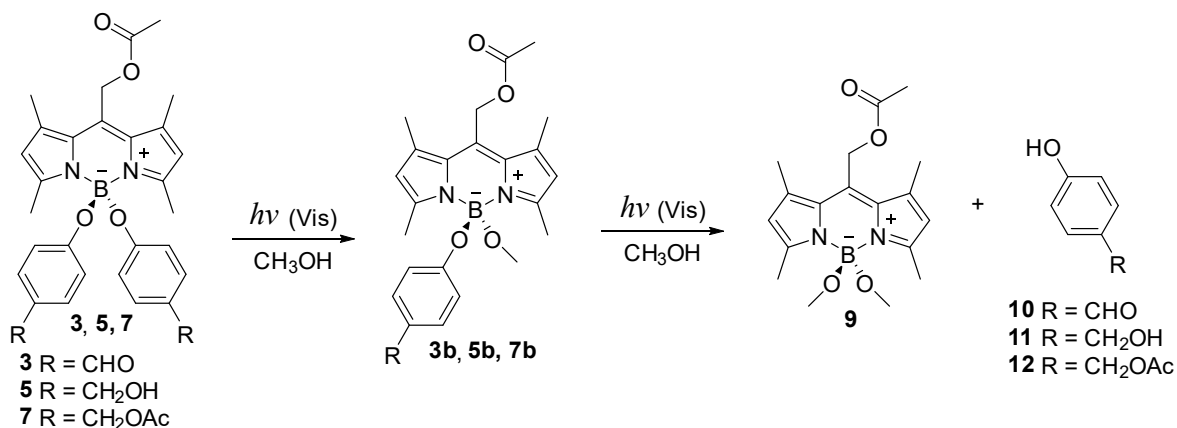


**Slika 11.** Kromatogrami metanolnih otopina spojeva **2**, **4** i **6** nakon osvjjetljavanja, detekcija  $\lambda = 280$  nm).

Prema spektrima <sup>1</sup>H NMR snimljenim nakon osvjjetljavanja sa sigurnošću se može utvrditi sastav smjesa. Analizom spektra <sup>1</sup>H NMR osvjjetljenje otopine spoja **2** utvrđeno je da se u reakcijskoj smjesi nalazi početni spoj **2**, fotoprodukt **8** i 4-hidroksibenzaldehid **10**. U otopinama preostalih monosupstituiranih spojeva **4** i **6** osim početnih spojeva i fotoprodukta **8** prisutni su 4-hidroksibenzilni alkohol **11** i 4-hidroksibenzil-acetat **12**. Ukoliko bi došlo do nastanka vrlo reaktivnog QM-a **12a** on bi reagirao s metanolom pri čemu bi nastao spoj **88**, koji nije detektiran u spektru NMR nakon osvjjetljavanja te ne možemo tvrditi da dolazi do nastanka QM-a. Za potpunu potvrdu trebalo bi usporediti kromatogram referentnog spoja **88**. Spektri <sup>1</sup>H NMR osvjjetljenih otopina spojeva **4** i **6** nalaze se u Prilozima.

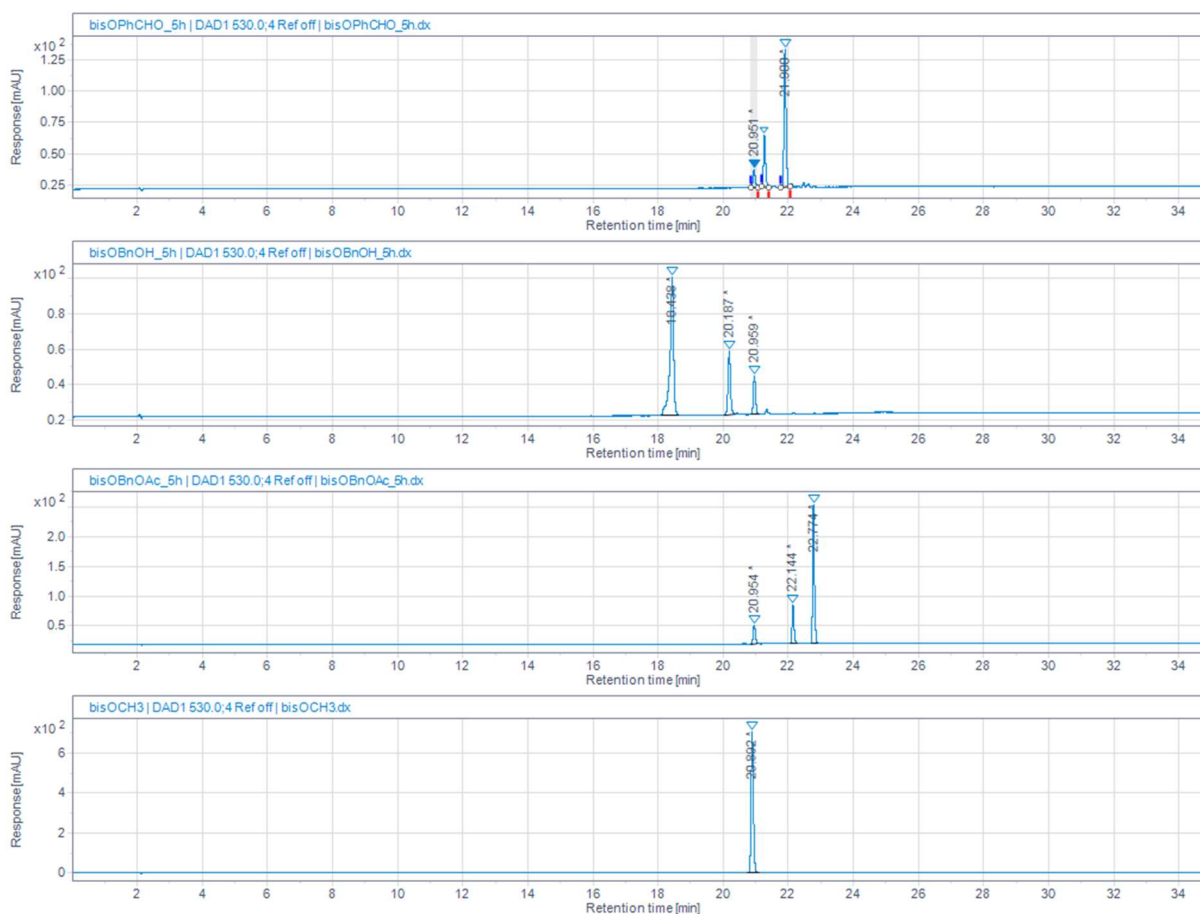
Za očekivati je da će tijekom osvjjetljavanja otopina disupstituiranih spojeva **3**, **5** i **7** do konačnog fotoprodukta **9** doći stupnjevitom reakcijom u kojoj će prvo doći do supstitucije jedne, a potom i druge fenolne skupine (Shema 31).





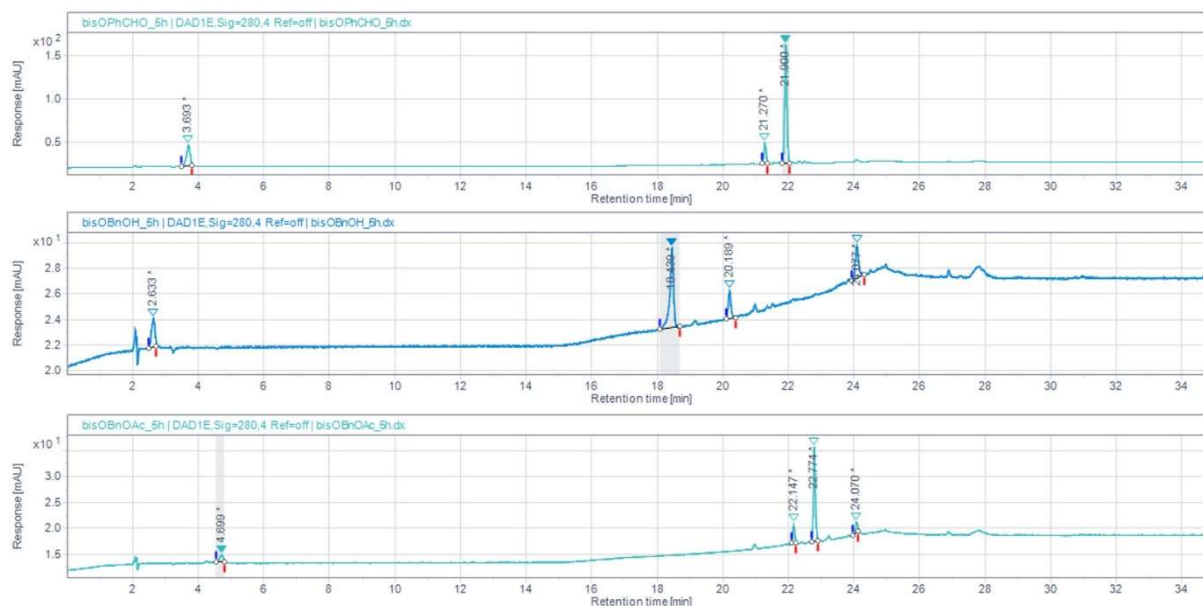
**Shema 31.** Fotokemijske reakcije spojeva **3**, **5** i **7** u metanolu.

U kromatogramima otopina disupstituiranih spojeva **3**, **5** i **7** (detekcija  $\lambda = 530$  nm, Slika 13) vidljivi su pikovi koji odgovaraju početnim spojevima (**3**  $t_r = 21,9$  min, **5**  $t_r = 18,4$ , **7**  $t_r = 22,8$  min) i zajednički pik koji ukazuje na nastanak istog fotoprodukta u svim otopinama (**9**  $t_r = 21,0$  min). Treći pikovi prema pretpostavci odgovarali bi monosupstituiranim spojevima **3b**, **5b** i **7b** (**3b**  $t_r = 21,3$  min, **5b**  $t_r = 20,2$ , **7b**  $t_r = 22,1$  min)



**Slika 13.** Kromatogrami metanolnih otopina spojeva **2**, **4** i **6** nakon 5 h osvjetljavanja i referentnog spoja **9**, detekcija  $\lambda = 530$  nm.

U kromatogramima s detekcijom pri  $\lambda = 280$  nm vidljivi su pikovi koji odgovaraju fenolnim derivatima (**10**  $t_r = 3,7$  min, **11**  $t_r = 2,6$  min, **12** = 4,7 min).



**Slika 14.** Kromatogrami metanolnih otopina spojeva **3**, **5** i **7** nakon 5 h osvjetljavanja, detekcija  $\lambda = 280$  nm.

Analizom spektra  $^1\text{H}$  NMR otopine spoja **3** nakon osvjetljavanja utvrđeno je da se u reakcijskoj smjesi nalazi početni spoj **3**, fotoproducti **3b** i **9** te 4-hidroksibenzaldehid **10**. U otopinama preostalih monosupstituiranih spojeva **4** i **6** osim početnih spojeva i fotoproducta **5b**, **7b** i **9** prisutni su 4-hidroksibenzilni alkohol **11** i 4-hidroksibenzil-acetat **12**.

Konverzije spojeva u fotoproducte u različitim vremenskim intervalima izračunate su prema omjeru površina ispod pikova u kromatogramu, a konačne konverzije prema spektrima NMR smjesa nakon osvjetljavanja (Tablica 2). Prema izračunatim konverzijama može se reći da su reakcije eliminacije učinkovitije kod spojeva koji imaju fenolne supstituente s elektron-donirajućom skupinom, gdje je za očekivati izraženiji PeT proces.

**Tablica 2.** Konverzije spojeva 2–7 u fotoprodukte tijekom i nakon osvjetljavanja vidljivim svjetlom.

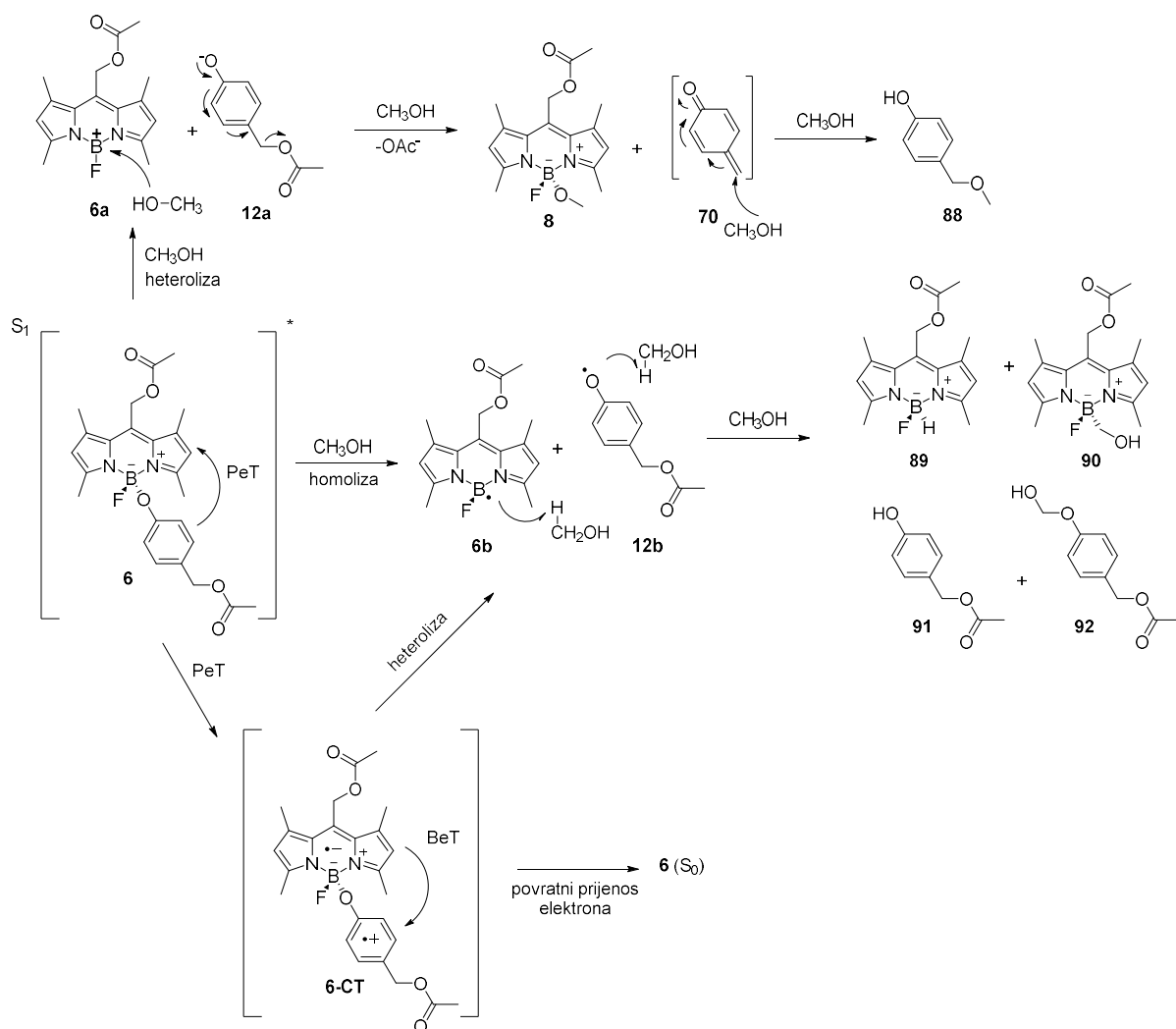
Spoj	Trajanje osvjetljavanja / h	Konverzija u fotoprodukt <b>8</b> / %	Spoj	Trajanje osvjetljavanja / h	Konverzija u fotoprodukt / %	
					<b>3b/5b/7b</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	1	14	<b>3</b>	2	2	11
	2	29		5	9	25
	4	47		16	33	32
	6	66	<b>5</b>	2	2	9
<b>4</b>	78	5		11	21	
<b>6</b>	1	31	<b>7</b>	16	27	29
	2	62		2	2	8
	3	80	5	11	21	
	4	97	16	25	46	

Za fotokemijsku reakciju BODIPY spoja **6** mogu se pretpostaviti 3 reakcijska mehanizma. Vjerojatan način kojim dolazi do deaktivacije iz  $S_1$  stanja molekule **6** je heterolitičko cijepanje B–O veze kojim bi nastali BODIPY borenijev kation **6a** i fenolatni anion **12a**. Nukleofilnim napadom metanola na borenijev kation **6a** nastaje produkt **8** koji je uistinu i izoliran iz fotokemijskih reakcija. Iz fenolalnog aniona **12a** očekuje se da može doći do eliminacije dobre odlazeće acetilne skupine i nastajanja QM **70**, u skladu s poznatim reakcijama nastajanja QM iz literature.<sup>82</sup> Kako su QM vrlo reaktivni intermedijeri, reagiraju s metanolom kao nukleofilom prilikom čega bi nastao metilni eter **88** (Shema 32, gore).<sup>1</sup> Međutim, spoj **88** nije detektiran.

Drugi pretpostavljeni mehanizam fotokemijske deaktivacije spoja **6** ( $S_1$ ) mogla bi biti homoliza B–O veze kojom nastaju BODIPY radikal centriran na borovom atomu **1b** i fenoksilni radikal **12b**. Energija homolitičkog cijepanja O–H veze je velika te je stoga iz nastalih radikala veća vjerojatnost reakcije oduzimanja vodika s ugljika nego što je to s hidroksilne skupine metanola. Tako su očekivani fotoprodukti u slučaju homolitičkog cijepanja BODIPY spojevi **89** i **90** te derivati fenola **91** i **92** (Shema 32, sredina). Međutim, niti jedan od navedenih produkata nije detektiran, što sugerira da se homolitičko cijepanje vjerojatno ne događa.

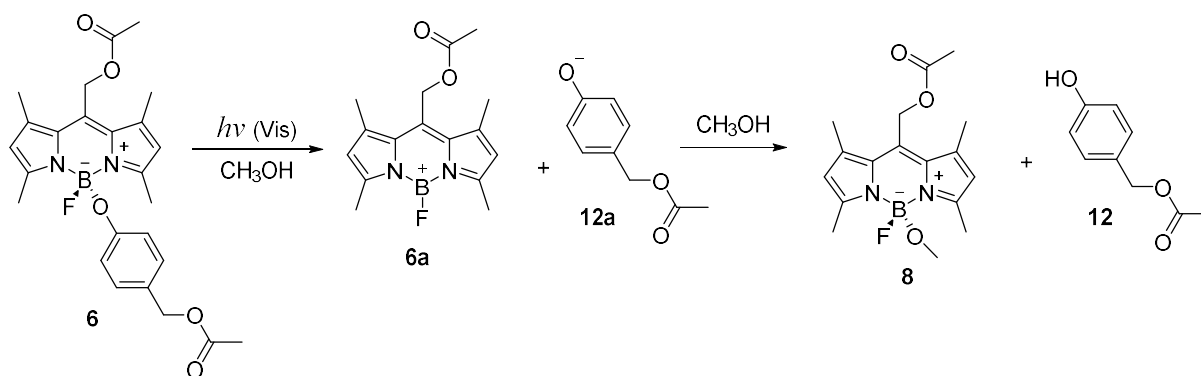
Mjerenja fluorescencije i literaturni navodi sugeriraju da kod BODIPY spojeva s fenolnim supstituentom dolazi do PeT-a s fenolnog dijela na BODIPY.<sup>68,69</sup> Time nastaje stanje s prijenosom naboja (engl. *charge-transfer state*, CT) s radikal-kationom na fenolu te radikal-

anionom na BODIPY dijelu molekule **6-CT**. Heterolizom CT stanja dobio bi se isti radikalski par kao i u slučaju homolitičke reakcije. Kako nisu primijećeni produkti koji bi se očekivali od radikalskih intermedijera, ovaj mehanizam heterolize je malo vjerojatan. Međutim, PeT se vrlo vjerojatno događa kao kompetitivni proces heterolizi, ali ne vodi do nastanka produkata jer potom slijedi povratni prijelaz elektrona (engl. *back electron transfer*, BeT) kojim se regenerira osnovno stanje molekule **6** (Shema 32, dolje).



**Shema 32.** Pretpostavljeni mehanizmi fotokemijske deaktivacije BODIPY spoja **6** u metanolu.

Temeljem potvrđenih reakcijskih produkata **8** i **12** možemo zaključiti da je najvjerojatniji mehanizam fotokemijske reakcije heterolitičko cijepanje B–O veze kojeg slijedi nukleofilni napad metanola na BODIPY borenijev kation **6a** i protoniranja fenolata **12a** (Shema 33).



**Shema 33.** Utvrđeni pojednostavljeni mehanizam fotokemijske reakcije spoja **6** u metanolu.

Do nastanka QM **70** iz fenolatnog aniona **12a** ne dolazi vjerojatno zato što je protoniranje fenolata brže od eliminacije acetilne skupine. Tvrdnju bi mogli dodatno potkrijepiti provođenjem fotokemijskih reakcija u aprotičnim otapalima u kojima ne bi moglo doći do protoniranja fenolata **12a**, a poželjno i u nepolarnim otapalima kako bi se smanjio utjecaj PeT-a. Takvi reakcijski uvjeti bez prisutnosti vode mogli bi biti prisutni ukoliko se spojevi **2–7** vežu u hidrofobne šupljine proteina pri čemu bi fotokemijsko pobuđivanje vidljivim svjetlom moglo dovesti do alkiliranja proteina, a navedena serija spojeva time može imati potencijal u razvoju fluorescentnih obilježivača za proteine ili u razvoju fototerapeutika.

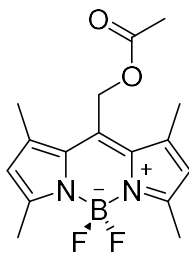
## Ekperimentalni dio

### Opće napomene

Za identifikaciju sintetiziranih spojeva i određivanje njihove čistoće u okviru ovog rada korištene su spektroskopske –  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR i analitičke metode – HPLC i masena spektrometrija visoke djelotvornosti (engl. *high-performance mass spectrometry*, HRMS). Spektri NMR snimljeni su na spektrometrima Bruker AV-600 i AV-300, 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 kao unutarnji standard, a  $^{13}\text{C}$  spektri kalibrirani su prema  $\text{CDCl}_3$ . Uzorci su analizirani MALDI TOF/TOF spektrometrijom masa koristeći pozitivnu ionizaciju. Za snimanje MALDI tehnologijom mala količina uzorka je pomiješana s CHCA matricom i nakapana na pločicu. Tališta novih spojeva određena su Köflerovim aparatom i nisu korigirana. Reakcijska iskorištenja odnose se na izolirane, čiste spojeve. Tijek reakcija praćen je TLC-om koristeći odgovarajuće sustave otapala, a detekcija je izvršena korištenjem UV svjetla valne duljine 254 i 365 nm. Kromatografska odjeljivanja provedena su na kromatografskim kolonama punjenim silikagelom (Merck 63 – 200  $\mu\text{m}$ ) i  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (akt. II i IV) uz odgovarajući sustav otapala. Korištena su komercijalno dostupna otapala ili su pročišćena destilacijom. Bezvodna otapala sušena su iznad molekulskih sita (4 Å). Za sintezu su korištene kupovne kemikalije koje nisu dodatno pročišćavane.

## Sinteze spojeva

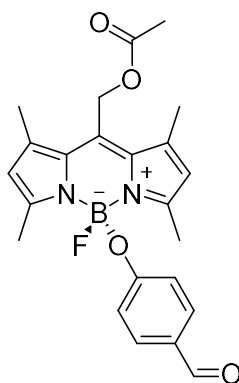
### Sinteza 4,4-difluor-8-metilacetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (1)<sup>83</sup>



U dvogrloj tikvici s okruglim dnom (100 mL) otopljen je 2,4-dimetilpirol (2,6 g, 0,027 mol, 2,1 ekv.) u suhom diklormetanu (30 mL) pod atmosferom N<sub>2</sub>. U otopinu je dokapan acetoksiacetyl-klorid (1,39 mL, 0,013 mol) i reakcijska smjesa miješana je pri sobnoj temperaturi 2 h. Zatim su štrcaljkom dokapani Et<sub>3</sub>N (9,1 mL, 0,065 mol, 5 ekv.) i BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (9,8 mL, 0,078 mol, 6 ekv.) i miješanje je nastavljeno pri sobnoj temperaturi još 14 h. Nakon ukupno 16 h miješanja, reakcijska smjesa je adsorbirana na silikagel i pročišćena kromatografijom na stupcu silikagela uz heksan/EtOAc (1:1, v:v) kao eluens. Izoliran je spoj **1** (2,098 g,  $\eta$  = 50 %) u obliku narančastih kristala.

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6,08 (s, 2H), 5,29 (s, 2H), 2,53 (s, 6H), 2,35 (s, 6H), 2,13 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170,7, 156,8, 141,6, 133,5, 132,8, 122,5, 58,0, 20,7, 15,8, 14,8.

### Sinteza 4-fluor-4-(4-formilfenoksi)-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (2)

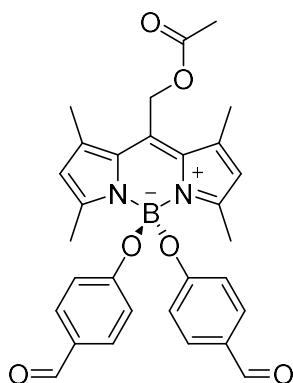


U tikvici s okruglim dnom (100 mL) otopljen je spoj **1** (700 mg, 2,19 mmol) u suhom diklormetanu (20 mL) pod atmosferom N<sub>2</sub>. U otopinu je dodan AlCl<sub>3</sub> (292 mg, 2,19 mmol, 1 ekv.) te je reakcijska smjesa zagrijavana pri temperaturi vrenja 10 min. Zatim je dodan 4-hidroksibenzaldehid (401 mg, 3,28 mmol, 1,5 ekv.) te je smjesa zagrijavana pri temperaturi vrenja još 30 min. Nakon hlađenja do sobne temperature otapalo je djelomično uklonjeno na rotacionom uparivaču. Reakcijska smjesa je potom filtrirana preko stupca Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (akt. IV) uz

etil-acetat kao eluens. Spoj **2** (277 mg,  $\eta = 30\%$ ) u obliku narančastih kristala izoliran je iz pročišćene smjese kromatografijom na stupcu  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (akt. II) uz diklormetan kao eluens.

$T_f = 155\text{--}157\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 9,75 (s, 1H), 7,60 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,57 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 6,05 (s, 2H), 5,38 (s, 2H), 2,46 (s, 6H), 2,40 (s, 6H), 2,17 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta/\text{ppm}$ : 191,0, 170,6, 162,2 (d,  $^4J_{\text{C-F}} = 9,1$  Hz), 157,2, 142,2, 133,8, 133,0, 132,1, 129,1, 123,1, 118,2, 58,0, 20,8, 16,0, 15,1 (d,  $^4J_{\text{C-F}} = 1,3$  Hz); HRMS (MALDI TOF/TOF): teor.  $m/z$  za  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{BFN}_2\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{K}]^+$ : 461,1450; eksp.  $m/z$ : 461,1460.

**Sinteza 4,4-bis(4-formilfenoksi)-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (3)**

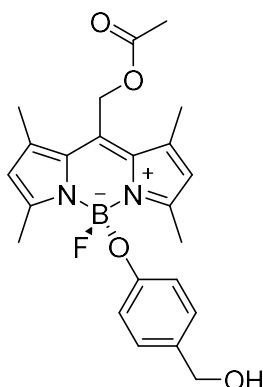


U tikvici s okruglim dnom (100 mL) otopljen je spoj **1** (300 mg, 0,94 mmol) u suhom diklormetanu (30 mL) pod atmosferom  $\text{N}_2$ . U otopinu je dodan  $\text{AlCl}_3$  (276 mg, 2,07 mmol, 2,2 ekv.) te je reakcijska smjesa zagrijavana pri temperaturi vrenja 10 min. Zatim je dodan 4-hidroksibenzaldehid (574 mg, 4,70 mmol, 5 ekv.) te je smjesa zagrijavana pri temperaturi vrenja još 30 min. Nakon hlađenja do sobne temperature otapalo je djelomično uklonjeno na rotacionom uparivaču. Reakcijska smjesa je potom filtrirana preko stupca  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (akt. IV) uz etil-acetat kao eluens. Iz pročišćene smjese kromatografijom na stupcu  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (akt. II) uz diklormetan kao eluens izoliran je spoj **3** (306 mg,  $\eta = 62\%$ ) u obliku narančastih kristala.

$T_f = 230\text{--}231\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,76 (s, 2H), 7,61 (d,  $J = 8,7$  Hz, 4H), 6,64 (d,  $J = 8,7$  Hz, 4H), 6,03 (s, 2H), 5,45 (s, 2H), 2,45 (s, 6H), 2,43 (s, 6H), 2,20 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  191,0, 170,6, 162,1, 157,7, 142,7, 134,2, 133,3, 132,1, 129,3, 123,7, 118,6, 57,9, 20,8, 16,1, 15,3; HRMS (MALDI TOF/TOF): teor.  $m/z$  za  $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{BN}_2\text{O}_6$   $[\text{M}+\text{K}]^+$ : 563,1756; eksp.  $m/z$ : 563,1750.



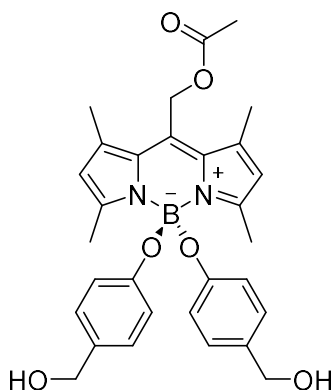
**Sinteza 4-fluor-4-[4-hidroksimetil(fenoksi)]-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (4)**



U tikvici s okruglim dnom (250 mL) otopljen je spoj **2** (100 mg, 0,24 mmol) u metanolu (100 mL). U otopinu je dokapana suspenzija NaBH<sub>4</sub> (15 mg, 0,40 mmol, 1,7 ekv.) u metanolu (2 mL) te je reakcijska smjesa miješana 15 min pri sobnoj temperaturi. Reakcija je prekinuta dodatkom acetona (2 mL, 0,027 mol, 112 ekv.) te je otapalo uklonjeno na rotacionom uparivaču. Reakcijska smjesa pročišćena je kromatografijom na stupcu Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (akt. II) uz diklormetan/etil-acetat (1:1, v:v) kao eluens. Izoliran je spoj **4** (32 mg,  $\eta$  = 32 %) u obliku narančastih kristala.

$T_f$  = 147–149 °C; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,02 (d,  $J$  = 8,5 Hz, 2H), 6,44 (d,  $J$  = 8,5 Hz, 2H), 6,01 (s, 2H), 5,34 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 2,47 (s, 6H), 2,36 (s, 6H), 2,14 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170,7, 157,2, 156,0 (d, <sup>4</sup> $J_{C-F}$  = 9,1 Hz), 141,7, 133,52, 133,0, 132,0, 128,8, 122,9, 118,0, 65,4, 58,1, 20,8, 15,92, 15,1 (d, <sup>4</sup> $J_{C-F}$  = 1,6 Hz); HRMS (MALDI TOF/TOF): teor.  $m/z$  za C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 447,1867; eksp.  $m/z$ : 447,1877.

**Sinteza 4,4-bis[4-hidroksimetil(fenoksi)]-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (5)**

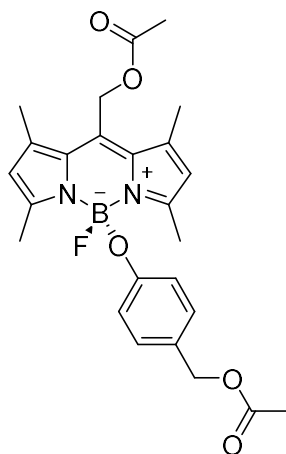


U tikvici s okruglim dnom (250 mL) suspendiran je spoj **3** (100 mg, 0,19 mmol) u metanolu (100 mL). U otopinu je dokapana suspenzija NaBH<sub>4</sub> (19 mg, 0,50 mmol, 2,6 ekv.) u metanolu

(2 mL) te je reakcijska smjesa miješana 15 min pri sobnoj temperaturi. Reakcija je prekinuta dodatkom acetona (3 mL, 0,027 mol, 212 ekv.) te je otapalo uklonjeno na rotacionom uparivaču. Reakcijska smjesa pročišćena je kromatografijom na stupcu Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (akt. II) uz diklormetan/CH<sub>3</sub>OH (1 vol. %) kao eluens. Izoliran je spoj **5** (16 mg,  $\eta$  = 16 %) u obliku narančastih kristala.

$T_f$  = 99–102 °C; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,03 (d,  $J$  = 8,5 Hz, 4H), 6,51 (d,  $J$  = 8,5 Hz, 4H), 5,97 (s, 2H), 5,38 (s, 2H), 4,47 (s, 4H), 2,48 (s, 6H), 2,38 (s, 6H), 2,17 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170,7, 157,5, 156,2, 141,6, 133,7, 133,4, 132,0, 128,6, 123,2, 118,4, 65,3, 58,1, 20,8, 16,0, 15,3; HRMS (MALDI TOF/TOF): teor.  $m/z$  za C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>BN<sub>2</sub>O<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 529,2510; eksp.  $m/z$ : 529,2521.

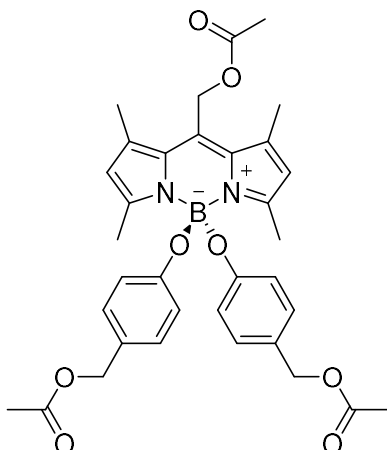
**Sinteza**      **4-[4-acetoksimetil(fenoksi)]-4-fluor-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (6)**



U tikvici s okruglim dnom (50 mL) otopljen je spoj **4** (175 mg, 0,41 mmol) u etil-acetatu (7 mL). U otopinu su zatim dodani NaHCO<sub>3</sub> (69 mg, 0,82 mmol, 2 ekv.) i acetanhidrid (0,58 mL, 6,15 mmol, 15 ekv.) te je reakcijska smjesa miješana 2 dana pri sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa zatim je razrijeđena s etil-acetatom (50 mL), oprana zas. otopinom NaHCO<sub>3</sub> (3 × 30 mL) i zas. otopinom NaCl (30 mL). Organska faza osušena je pomoću MgSO<sub>4</sub>, filtrirana preko filter papira te je otapalo uklonjeno na rotacionom uparivaču. Upareni ostatak pročišćen je kromatografijom na stupcu Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (akt. II) uz heksan/diklormetan (3:7, v:v) kao eluens. Izoliran je spoj **6** (147 mg,  $\eta$  = 77 %) u obliku narančastih kristala.

$T_f$  = 160–161 °C; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,05 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 2H), 6,46 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 2H), 6,03 (s, 2H), 5,36 (s, 2H), 4,92 (s, 2H), 2,47 (s, 6H), 2,38 (s, 6H), 2,16 (s, 3H), 2,03 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  171,2, 170,7, 157,2, 156,4 (d, <sup>4</sup> $J_{C-F}$  = 9,1 Hz), 141,7, 133,5, 133,0, 130,1, 126,8, 122,9, 117,9, 66,5, 58,1, 21,2, 20,8, 15,9, 15,1 (d, <sup>4</sup> $J_{C-F}$  = 1,6 Hz).

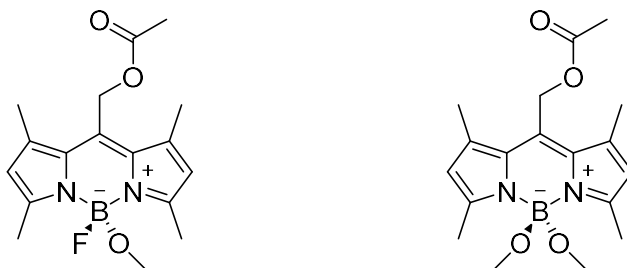
**Sinteza 4,4-bis[4-acetoksimetil(fenoksi)]-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (7)**



U tikvici s okruglim dnom (50 mL) otopljen je spoj **5** (64 mg, 0,12 mmol) u etil-acetatu (5 mL). U otopinu su zatim dodani NaHCO<sub>3</sub> (50 mg, 0,60 mmol, 5 ekv.) i acetanhidrid (0,34 mL, 3,6 mmol, 30 ekv.) te je reakcijska smjesa miješana 2 dana pri sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa zatim je razrijeđena s etil-acetatom (50 mL), oprana zas. otopinom NaHCO<sub>3</sub> (3 × 30 mL) i zas. otopinom NaCl (30 mL). Organska faza osušena je pomoću MgSO<sub>4</sub>, filtrirana preko filter papira te je otapalo uklonjeno na rotacionom uparivaču. Upareni ostatak pročišćen je kromatografijom na stupcu Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (akt. II) uz kao eluens. Izoliran je spoj **7** (52 mg,  $\eta$  = 70 %) u obliku narančastih kristala.

$T_f$  = 102–105 °C; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,04 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 4H), 6,52 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 4H), 5,99 (s, 2H), 5,40 (s, 2H), 4,92 (s, 4H), 2,48 (s, 6H), 2,39 (s, 6H), 2,18 (s, 3H), 2,03 (s, 6H); <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  171,2, 170,6, 157,6, 156,6, 141,8, 133,8, 133,4, 130,0, 126,8, 123,4, 118,4, 66,6, 58,1, 21,2, 20,8, 16,1, 15,4.

**Sinteza 4-fluor-4-metoksi-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (8) i 4,4-dimetoksi-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena (9)**



U tikvici s okruglim dnom (100 mL) otopljen je spoj **1** (100 mg, 0,31 mmol) u suhom diklormetanu (10 mL) pod atmosferom N<sub>2</sub>. U otopinu je dodan AlCl<sub>3</sub> (412 mg, 0,31 mmol, 1 ekv.) te je reakcijska smjesa zagrijavana pri temperaturi vrenja 10 min. Zatim je dodan CH<sub>3</sub>OH

(30  $\mu$ L, 0,70 mmol, 2,3 ekv.) te je smjesa zagrijavana pri temperaturi vrenja još 30 min. Nakon hlađenja do sobne temperature otapalo je uklonjeno na rotacionom uparivaču. Reakcijska smjesa je potom filtrirana preko stupca  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (akt. IV) uz etil-acetat/ $\text{CH}_3\text{OH}$  (5 % vol.) kao eluens. Spojevi **8** (20 mg,  $\eta = 20$  %) i **9** (26 mg,  $\eta = 24$  %) u obliku narančastih kristala izolirani su iz pročišćene smjese kromatografijom na stupcu  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (akt. II) uz diklormetan/etil-acetat (0 – 50 % vol.) kao eluens.

**8**:  $T_f = 153\text{--}154$  °C;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6,08 (s, 2H), 5,30 (s, 2H), 2,90 (s, 3H), 2,53 (s, 6H), 2,36 (s, 6H), 2,14 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170,8, 156,9, 140,7, 133,5, 133,3, 122,4, 58,2, 49,3 (d,  $^4J_{\text{C-F}} = 6,5$  Hz), 20,8, 15,8, 14,9 (d,  $^4J_{\text{C-F}} = 2,4$  Hz).

**9**:  $T_f = 102\text{--}105$  °C;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6,07 (s, 2H), 5,30 (s, 2H), 2,86 (s, 6H), 2,51 (s, 6H), 2,35 (s, 3H), 2,15 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170,9, 157,0, 140,7, 134,3, 133,1, 122,2, 77,4, 77,0, 58,5, 49,2, 20,8, 15,9, 14,8.

## UV-Vis i fluorescencijska spektroskopija

UV-Vis spektri snimljeni su sa spektrofotometrom PG T80/T80+. Mjerenja su provedena u acetonitrilnim otopinama spojeva ( $c \approx 10^{-5}$  M) pri temperaturi od 25 °C u kivetama dimenzija  $10 \times 10$  mm.

Fotofizička svojstva spojeva određena su stacionarnom i vremenski razlučenom fluorescencijskom spektroskopijom koristeći Edinburgh Instruments FS5 spektrofluorimetar. Emisijski fluorescencijski spektri snimljeni su u rasponu od 485–750 nm u intervalima od 0,5 nm uz vrijeme sakupljanja fluorescencije u svakom intervalu od 0,1 s. Pobuda svjetlom bila je valnih duljina 470, 480 i 490 nm te uz širinu pukotine koja odgovara propusnosti vrpce od 1,3 nm (spojevi 4–7), 1,1 nm (spojevi 1 i 2) i 1,0 nm (spojevi 8 i 9). Ekscitacijski fluorescencijski spektri snimljeni su u rasponu od 250 – 540 nm u intervalima od 0,5 nm, emisija je detektirana pri valnim duljinama 550 i 570 nm, a širina pukotine odgovarala je propusnosti vrpce od 1,3 nm (spojevi 4–7), 1,1 nm (spojevi 1 i 2) i 1,0 nm (spojevi 8 i 9). Spektri su korigirani zbog fluktuacija u intenzitetu svjetlosne pobude i transmitancije optike. Za određivanje relativnih kvantnih prinosa fluorescencije,  $\Phi_f$ , korištene su otopine spojeva u acetonitrilu s  $A < 0,1$  pri valnoj duljini pobude, a prikazane vrijednosti su aritmetička sredina 3 mjerenja pri različitim valnim duljinama ekscitacije (470, 480 i 490 nm). Prije snimanja fluorescencijskih spektara otopine su propuhivane s argonom 15 min. Kao fluorescencijski standard korištena je otopina Rodamina B u CH<sub>3</sub>OH ( $\Phi_f = 0,66$ ).<sup>84</sup> Sva mjerenja provedena su u kvarcnim kivetama dimenzija  $10 \times 10$  mm pri temperaturi od 25 °C.

Kvantni prinosi fluorescencije izračunati su prema jednadžbi:  $\Phi_f = \Phi_R \cdot \frac{I}{I_R} \cdot \frac{A_R}{A} \cdot \left(\frac{n_D}{n_D^R}\right)^2$ , gdje su:  $\Phi_f$  – kvantni prinos fluorescencije,  $\Phi_R$  – kvantni prinos fluorescencije Rodamina B,  $I$  – intenzitet fluorescencije (vrijednost integrala emisijskog spektra),  $I_R$  – intenzitet fluorescencije Rodamina B,  $A_R$  – apsorbanacija otopine Rodamina B pri valnoj duljini pobude,  $A$  – apsorbanacija otopine pri valnoj duljini pobude,  $n_D$  – indeks loma otapala (CH<sub>3</sub>CN) i  $n_D^R$  – indeks loma otapala u kojem je otopljen standard (CH<sub>3</sub>OH).

Mjerenje opadanja intenziteta fluorescencije provedeno je tehnikom vremenski koreliranog brojanja pojedinačnih fotona (engl. *time-correlated single photon counting*, TC-SPC) koristeći Edinburgh Instruments FS5 spektrofluorimetar. Pulsirajuća laserska dioda korištena je za pobuđivanje molekula svjetlom valne duljine 562 nm, a trajanje pulsa bilo je 1,5 ns. Mjerenje je provedeno u 1023 kanala s vremenskim inkrementom od  $\approx 0,02$  ns po kanalu.

Mjerenja su provođena do detekcije 1000 fotona u maksimumu pri valnoj duljini 530 nm. Funkcija odziva instrumenta (engl. *instrument response function*, IRF) snimljena je koristeći suspenziju silikagela u vodi. Parametri fitanja (vremena života,  $t$ , i pred-eksponencijalni faktori,  $\alpha$ ) određeni su minimiziranjem reducirane kvadratne *hi* vrijednosti,  $\chi^2$ . Opadanja intenziteta fluorescencije su fitana prema izrazu sume eksponencijala:  $F(t) = \alpha_1 e^{-\frac{t}{\tau_1}} + \alpha_2 e^{-\frac{t}{\tau_2}} + \alpha_3 e^{-\frac{t}{\tau_3}} + \dots$ , gdje su:  $t$  – vrijeme detekcije fluorescencije,  $\tau$  – vrijeme života pobuđenog stanja. Za opadanja intenziteta fluorescencije koja su se mogla opisati monoeksponencijalno konstante brzine fluorescencije,  $k_f$ , i deaktivacije bez zračenja,  $k_{nr}$ , izračunate su prema jednadžbama:  $k_f = \frac{\Phi_f}{\tau}$  i  $k_{nr} = \frac{1-\Phi_f}{\tau}$ .

## Fotokemija

Ispitivanja fotokemijske reaktivnosti provedena su osvjetljavanjem metanolnih otopina spojeva ( $c \approx 10^{-4}$  M) u Luzchem fotokemijskom reaktoru opremljenom s 8 lampi koje zrače u vidljivom dijelu spektra. Nastajanje fotokemijskih produkata praćeno je HPLC-om Agilent 1260 Infinity II opremljenim s DAD detektorom i kolonom Phenomenex Luna 3u C18 100A, a kromatogrami su detektirani pri  $\lambda = 500$  nm i  $\lambda = 280$  nm. Za analizu su u različitim vremenskim intervalima uzimani alikvoti otopina volumena 0,1 mL koji su razrijeđeni s još 1 mL metanola. Mobilna faza bila je smjesa CH<sub>3</sub>OH i H<sub>2</sub>O (1:1, 10 min), CH<sub>3</sub>OH (0→100 %, 20 min) i CH<sub>3</sub>OH (10 min). Brzina protoka bila je 0,8 mL min<sup>-1</sup>, a injektirani volumen otopine 10 μL. Nakon osvjetljavanja otopinama je uklonjeno otapalo pri sniženom tlaku te su im snimljeni spektri <sup>1</sup>H NMR. Referentni kromatogrami dobiveni su analizom otopina sintetiziranih spojeva **2–9** i komercijalno dostupnih spojeva **10** i **11**.

## Zaključak

Uspješno je provedena sinteza novih BODIPY spojeva s fenolnim supstituentom na atomu bora: 4-fluor-4-(4-formilfenoksi)- i 4,4-bis(4-formilfenoksi)-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena **2** ( $\eta = 30\%$ ) i **3** ( $\eta = 62\%$ ), 4-fluor-4-[4-hidroksimetil(fenoksi)]- i 4,4-bis[4-hidroksimetil(fenoksi)]-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena **4** ( $\eta = 32\%$ ) i **5** ( $\eta = 16\%$ ) te 4-[4-acetoksimetil(fenoksi)]-4-fluor- i 4,4-bis[4-acetoksimetil(fenoksi)]-8-metil-acetat-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacena **6** ( $\eta = 77\%$ ) i **7** ( $\eta = 70\%$ ). Svi novi spojevi okarakterizirani su spektroskopskim metodama te spektrometrijom masa.

Novim spojevima ispitana su spektroskopska i fotofizička svojstva. Izmjereni su apsorpcijski spektri u acetonitrilu, kao modelu polarnog otapala u kojem su spojevi topljivi. Maksimumi u apsorpcijskom spektru kreću se u području  $\lambda_{\text{aps}} = 516\text{--}518\text{ nm}$ , dok su molarni apsorpcijski koeficijenti  $\epsilon_{\text{max}}$  u maksimumima u rasponu od  $62\,000\text{--}83\,000\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ . Spojevima su također izmjereni fluorescencijski spektri u acetonitrilu te određeni kvantni prinosi fluorescencije  $\Phi_f$  koji se kreću u rasponu od 0,04 do 0,94. Metodom TC-SPC određena su i vremena života singletnog pobuđenog stanja koja se kreću u rasponu 0,11–6,85 ns. Za spojeve **4–7** primijećeno je da se opadanje intenziteta fluorescencije opisuje kao dvoeksponenijalna funkcija što bi se moglo povezati s PeT procesom.

Ispitivanjem fotokemijske reaktivnosti ozračivanjem otopina spojeva u metanolu i identifikacijom dobivenih produkata tehnikama NMR i HPLC dobiveni su rezultati koji ne ukazuju na očekivani nastanak QM u reakcijama. Najvjerojatniji mehanizam fotokemijske reakcije stoga je heterolitičko cijepanje B–O veze kojim nastaju BODIPY borenijev kation **1a** i fenolatni anion **12a**, a koji u sljedećem reakcijskom koraku reagiraju s metanolom i protoniraju se dajući konačne produkte BODIPY **8** i derivat fenola **12**.

Heterolitičke reakcije cijepanja spojeva **6** i **7** kojima nastaju elektrofilne vrste kao što je borenijev kation **1a**, mogle bi naći primjenu u medicini i biologiji za fluorescentno obilježavanje proteina ili u razvoju fototerapeutika.



## Popis oznaka, kratica i simbola

$A$  – apsorbancija

BeT – engl. *back electron transfer*, povratni prijelaz elektrona

BODIPY – engl. *boron dipyrromethene*, borov dipirometen

ESIPT – engl. *excited state intramolecular proton transfer*, prijenos protona u pobuđenom stanju

FRET - engl. *Förster resonance energy transfer*, Försterov rezonancijski prijenos energije

HOMO – engl. *highest occupied molecular orbital*, najviša popunjena molekulska orbitala

HPLC – engl. *high performance liquid chromatography*, tekućinska kromatografije visoke djelotvornosti

ICT – engl. *intramolecular charge transfer*, intramolekularni prijenos naboja

IRF – engl. *instrument response function*, funkcija odziva instrumenta

ISC – engl. *intersystem crossing*, međusustavno križanje

LUMO – engl. *lowest unoccupied molecular orbital*, najniža nepopunjena molekulska orbitala

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

*o*- – *ortho*- položaj

*p*- – *para*- položaj

PeT – engl. *photo induced electron transfer*, fotoinducirani prijenos elektrona

QM – kinon-metid

$S_0$  – osnovno singletno stanje

$S_1$  – prvo pobuđeno singletno stanje

$S_2$  – drugo pobuđeno singletno stanje

TC-SPC – engl. *time-correlated single photon counting*, vremenski korelirano brojanje pojedinačnih fotona

TLC – engl. *thin-layer chromatography*, tankoslojna kromatografija

UV-Vis – engl. *ultraviolet-visible*, ultraljubičasto-vidljivo

$\lambda$  – valna duljina

$\epsilon$  – molarni apsorpcijski koeficijent

$\Phi_{el}$  – kvantni prinos reakcije eliminacije

$\Phi_f$  – kvantni prinos fluorescencije

$\Phi_{ISC}$  – kvantni prinos međusustavnog križanja

$\Delta\bar{\nu}$  – Stokesov pomak

$\tau$  – vrijeme života pobuđenog stanja

## Literatura

1. Basarić, N. *et al.* Wavelength dependent photochemistry of BODIPY-phenols and their applications in fluorescent labeling of proteins. *Org. Biomol. Chem.* **19**, 4891–4903 (2021).
2. Zlatić, K. *et al.* Labeling of Proteins by BODIPY-Quinone Methides Utilizing Anti-Kasha Photochemistry. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **12**, 347–351 (2020).
3. Zlatić, K., Bogomolec, M., Cindrić, M., Uzelac, L. & Basarić, N. Synthesis, photophysical properties, anti-Kasha photochemical reactivity and biological activity of vinyl- and alkynyl-BODIPY derivatives. *Tetrahedron* 132995, In Press (2022).
4. Treibs, A. & Kreuzer, F. -H. Difluorboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethenen. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **718**, 208–223 (1968).
5. Boens, N., Leen, V. & Dehaen, W. Fluorescent indicators based on BODIPY. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 1130–1172 (2012).
6. Kamkaew, A. *et al.* BODIPY dyes in photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.* **42**, 77–88 (2013).
7. 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).
8. Wang, H., Fronczek, F. R., Vicente, M. G. H. & Smith, K. M. Functionalization of 3,5,8-trichlorinated BODIPY dyes. *J. Org. Chem.* **79**, 10342–10352 (2014).
9. Ulrich, G., Ziesel, R. & Harriman, A. The chemistry of fluorescent bodipy dyes: Versatility unsurpassed. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **47**, 1184–1201 (2008).
10. Loudet, A. & Burgess, K. BODIPY Dyes and Their Derivatives: Syntheses and Spectroscopic Properties. *Chem. Rev.* **107**, 4891–4932 (2007).
11. Rohand, T. *et al.* Photophysics of 3,5-diphenoxy substituted BODIPY dyes in solution. *Photochem. Photobiol. Sci.* **6**, 1061–1066 (2007).
12. de J. Gómez-Infante, A. *et al.* Synthesis, Properties, and Functionalization of Nonsymmetric 8-MethylthioBODIPYs. *European J. Org. Chem.* **2016**, 5009–5023 (2016).
13. Radunz, S. *et al.* Temperature- And Structural-Dependent Optical Properties and Photophysics of BODIPY Dyes. *J. Phys. Chem. A* **124**, 1787–1797 (2020).
14. 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).
15. 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).
16. Kee, H. L. *et al.* Structural control of the photodynamics of boron-dipyrin complexes. *J. Phys. Chem. B* **109**, 20433–20443 (2005).
17. Verbelen, B., Leen, V., Wang, L., Boens, N. & Dehaen, W. Direct palladium-catalysed C–H arylation of BODIPY dyes at the 3- and 3,5-positions. *Chem. Commun.* **48**, 9129

- (2012).
18. Jiao, L. *et al.* Regioselective Stepwise Bromination of Boron Dipyrromethene (BODIPY) Dyes. *J. Org. Chem.* **76**, 9988–9996 (2011).
  19. Hayashi, Y., Yamaguchi, S., Cha, W. Y., Kim, D. & Shinokubo, H. Synthesis of Directly Connected BODIPY Oligomers through Suzuki - Miyaura Coupling. *Org. Lett.* **13**, 2992–2995 (2011).
  20. Wang, G., Huang, C., Hu, Z., Zhang, W. & Zhang, Y. An Efficient and Convenient Bromination of BODIPY Derivatives with Copper (II) Bromide. *Synthesis (Stuttg.)*. **44**, 104–110 (2011).
  21. Duran-Sampedro, G. *et al.* Chlorinated BODIPYs: Surprisingly Efficient and Highly Photostable Laser Dyes. *European J. Org. Chem.* **2012**, 6335–6350 (2012).
  22. Zhou, X. *et al.* Highly Regioselective  $\alpha$ -Chlorination of the BODIPY Chromophore with Copper(II) Chloride. *Org. Lett.* **17**, 4632–4635 (2015).
  23. Bonardi, L., Ulrich, G. & Ziessel, R. Tailoring the Properties of Boron - Dipyrromethene Dyes with Acetylenic Functions at the 2, 6, 8 and 4-B Substitution Positions. *Org. Lett.* **10**, 2183–2186 (2008).
  24. 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).
  25. Slanina, T. *et al.* In Search of the Perfect Photocage: Structure-Reactivity Relationships in meso-Methyl BODIPY Photoremovable Protecting Groups. *J. Am. Chem. Soc.* **139**, 15168–15175 (2017).
  26. Rohand, T., Baruah, M., Qin, W., Boens, N. & Dehaen, W. Functionalisation of fluorescent BODIPY dyes by nucleophilic substitution. *Chem. Commun.* 266–268 (2006).
  27. 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.* **20**, 4658–4663 (2006).
  28. Jiao, L. *et al.* Long wavelength red fluorescent dyes from 3,5-diiodo-BODIPYs. *Org. Biomol. Chem.* **8**, 2517–2519 (2010).
  29. Merkes, J. M. *et al.* Tuning Optical Properties of BODIPY Dyes by Pyrrole Conjugation for Photoacoustic Imaging. *Adv. Opt. Mater.* **8**, 1–9 (2020).
  30. Deniz, E. *et al.* Bidirectional switching of near IR emitting boradiazaindacene fluorophores. *Org. Lett.* **10**, 3401–3403 (2008).
  31. Tao, J. *et al.* Tuning the photo-physical properties of BODIPY dyes: Effects of 1, 3, 5, 7- substitution on their optical and electrochemical behaviours. *Dye. Pigment.* **168**, 166–174 (2019).
  32. Boens, N. *et al.* Rational design, synthesis, and spectroscopic and photophysical properties of a visible-light-excitable, ratiometric, fluorescent near-neutral pH indicator based on BODIPY. *Chem. - A Eur. J.* **17**, 10924–10934 (2011).
  33. Rurack, K., Kollmannsberger, M. & Daub, J. A highly efficient sensor molecule emitting in the near infrared (NIR): 3,5-distyryl-8-(p-dimethylaminophenyl)-difluoroboradiaz-

- s-indacene. *New J. Chem.* **25**, 289–292 (2001).
34. Baruah, M. *et al.* Solvent and pH dependent fluorescent properties of a dimethylaminostyryl borondipyrromethene dye in solution. *J. Phys. Chem. A* **110**, 5998–6009 (2006).
  35. Studies, J. *et al.* Photoisomerization Dynamics of Stilbenes. *Chem. Rev.* **91**, 415–436 (1991).
  36. 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).
  37. Romieu, A. *et al.* The first comparative study of the ability of different hydrophilic groups to water-solubilise fluorescent BODIPY dyes. *New J. Chem.* **37**, 1016–1027 (2013).
  38. Liu, K. M., Tsai, M. S., Jan, M. S., Chau, C. M. & Wang, W. J. Convenient one-pot procedure for synthesizing 4,4'-dimethoxy- boradiaza-s-indacene dyes and their application to cell labeling. *Tetrahedron* **67**, 7919–7922 (2011).
  39. Gabe, Y., Ueno, T. & Urano, Y. Tunable design strategy for fluorescence probes based on 4-substituted BODIPY chromophore: improvement of highly sensitive fluorescence probe for nitric oxide. *Anal. Bioanal. Chem.* **386**, 621–626 (2006).
  40. Smithen, D. A. *et al.* Use of F-BODIPYs as a protection strategy for dipyrrens: Optimization of BF<sub>2</sub> removal. *J. Org. Chem.* **77**, 3439–3453 (2012).
  41. Courtis, A. M. *et al.* Monoalkoxy BODIPYs-A fluorophore class for bioimaging. *Bioconjug. Chem.* **25**, 1043–1051 (2014).
  42. Tahtaoui, C. *et al.* Convenient Method To Access New 4,4-Dialkoxy- and 4,4-Diaryloxy-diaza-s-indacene Dyes: Synthesis and Spectroscopic Evaluation. *J. Org. Chem.* **72**, 269–272 (2006).
  43. Shaban Ragab, S., Swaminathan, S., Deniz, E., Captain, B. & Raymo, F. M. Fluorescence photoactivation by ligand exchange around the boron center of a BODIPY chromophore. *Org. Lett.* **15**, 3154–3157 (2013).
  44. Tahtaoui, C. *et al.* Convenient Method To Access New 4,4-Dialkoxy- and 4,4-Diaryloxy-diaza-s-indacene Dyes: Synthesis and Spectroscopic Evaluation y Ves.mely@pharma.u-strasbg.fr BODIPY-labeled pirenzepine derivatives to investigate their binding to GFP-labeled muscari. *J. Org. Chem.* **72**, 269–272 (2007).
  45. Hudnall, T. W. & Gabbai, F. P. A BODIPY boronium cation for the sensing of fluoride ions. *Chem. Commun.* 4596–4597 (2008).
  46. Durán-Sampedro, G. *et al.* Carboxylates versus fluorines: Boosting the emission properties of commercial BODIPYs in liquid and solid media. *Adv. Funct. Mater.* **23**, 4195–4205 (2013).
  47. Manzano, H. *et al.* Unprecedented J-Aggregated Dyes in Pure Organic Solvents. *Adv. Funct. Mater.* **26**, 2756–2769 (2016).
  48. 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).

49. Goze, C. *et al.* Synthesis and Photophysical Properties of Borondipyrromethene Dyes Bearing Aryl Substituents at the Boron Center. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 10231–10239 (2006).
50. Goze, C., Ulrich, G. & Ziessel, R. Tetrahedral Boron Chemistry for the Preparation of Highly Efficient “Cascatelle” Devices. *J. Org. Chem.* **72**, 313–322 (2007).
51. Lundrigan, T., Crawford, S. M., Cameron, T. S. & Thompson, A. Cl-BODIPYs: A BODIPY class enabling facile B-substitution. *Chem. Commun.* **48**, 1003–1005 (2012).
52. Lundrigan, T. & Thompson, A. Conversion of F -BODIPYs to Cl -BODIPYs: Enhancing the reactivity of F -BODIPYs. *J. Org. Chem.* **78**, 757–761 (2013).
53. Groves, B. R. *et al.* Synthesis and characterisation of the unsubstituted dipyrin and 4,4-dichloro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene: improved synthesis and functionalisation of the simplest BODIPY framework. *Chem. Commun.* **49**, 816–818 (2013).
54. Ray, C. *et al.* N-BODIPYs Come into Play: Smart Dyes for Photonic Materials. *Chem. - A Eur. J.* **23**, 9383–9390 (2017).
55. Buck, A. T., Beck, C. L. & Winter, A. H. Inverted substrate preferences for photochemical heterolysis arise from conical intersection control. *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 8933–8940 (2014).
56. Peterson, J. A. *et al.* Direct Photorelease of Alcohols from Boron-Alkylated BODIPY Photocages. *J. Org. Chem.* **85**, 5712–5717 (2020).
57. Goswami, P. P. *et al.* BODIPY-Derived Photoremovable Protecting Groups Unmasked with Green Light. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 3783–3786 (2015).
58. Wang, D. *et al.* Visible Light Excitation of BODIPYs Enables Dehydrogenative Enamination at Their  $\alpha$ -Positions with Aliphatic Amines. *J. Org. Chem.* **85**, 8360–8370 (2020).
59. Kand, D. *et al.* Water-Soluble BODIPY Photocages with Tunable Cellular Localization. *J. Am. Chem. Soc.* **142**, 4970–4974 (2020).
60. Peterson, J. A. *et al.* Family of BODIPY Photocages Cleaved by Single Photons of Visible/Near-Infrared Light. *J. Am. Chem. Soc.* **140**, 7343–7346 (2018).
61. Kand, D. *et al.* Organelle-Targeted BODIPY Photocages: Visible-Light-Mediated Subcellular Photorelease. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **58**, 4659–4663 (2019).
62. Barltrop, J. A. & Schofield, P. Photosensitive Protecting Groups. *Tetrahedron Lett.* **3**, 697–699 (1962).
63. Tang, S. *et al.* Spacer-Mediated Control of Coumarin Uncaging for Photocaged Thymidine. *J. Org. Chem.* **85**, 2945–2955 (2020).
64. Sitkowska, K. *et al.* Red-light-sensitive BODIPY photoprotecting groups for amines and their biological application in controlling heart rhythm. *Chem. Commun.* **56**, 5480–5483 (2020).
65. Zhang, Y., Zheng, Y., Meana, Y. & Raymo, F. M. BODIPYs with Photoactivatable Fluorescence. *Chem. - A Eur. J.* **27**, 11257–11267 (2021).
66. Jang, Y., Kim, T. Il, Kim, H., Choi, Y. & Kim, Y. Photoactivatable BODIPY Platform:

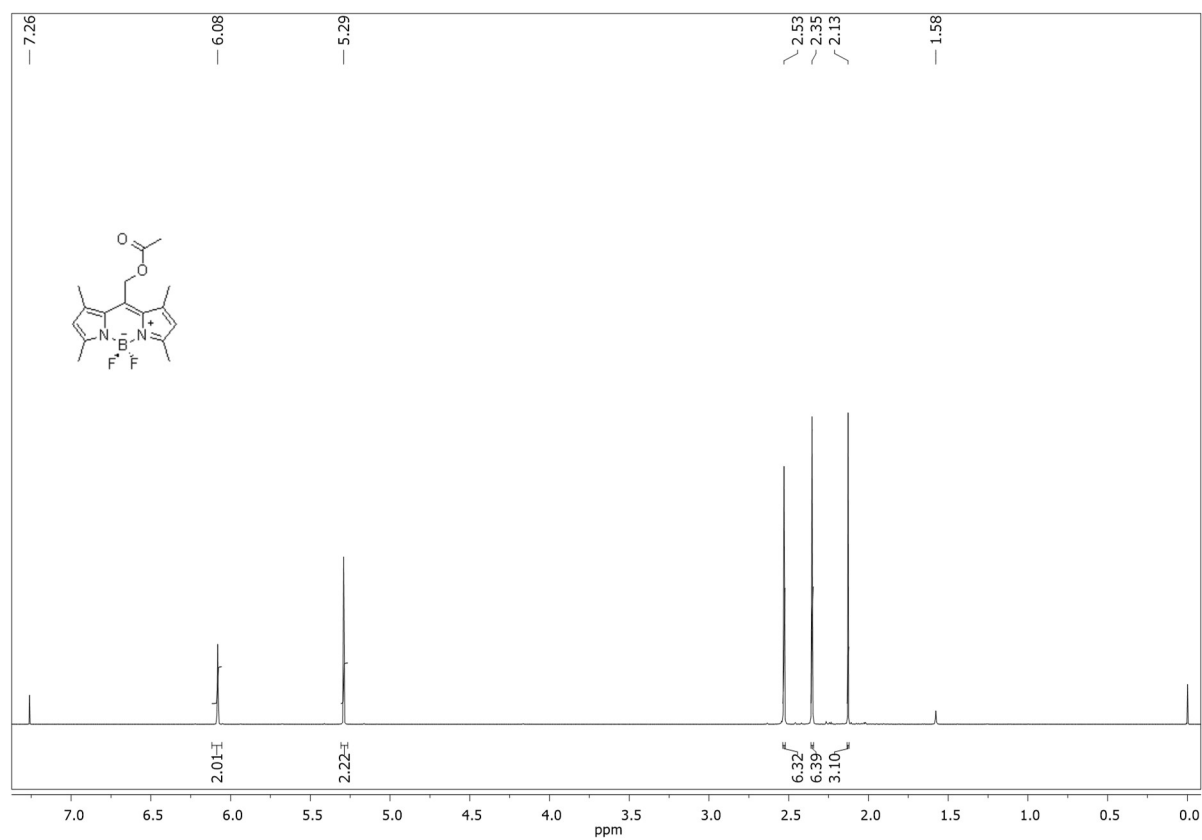
- Light-Triggered Anticancer Drug Release and Fluorescence Monitoring. *ACS Appl. Bio Mater.* **2**, 2567–2572 (2019).
67. Loredó, A. *et al.* Tetrazine as a general phototrigger to turn on fluorophores. *Chem. Sci.* **11**, 4410–4415 (2020).
  68. Umeda, N. *et al.* Boron dipyrromethene as a fluorescent caging group for single-photon uncaging with long-wavelength visible light. *ACS Chem. Biol.* **9**, 2242–2246 (2014).
  69. Kawatani, M., Kamiya, M., Takahashi, H. & Urano, Y. Factors affecting the uncaging efficiency of 500 nm light-activatable BODIPY caging group. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **28**, 1–5 (2018).
  70. Carl, P. L., Chakravarty, P. K. & Katzenellenbogen, J. A. A Novel Connector Linkage Applicable in Prodrug Design. *J. Med. Chem.* **24**, 479–480 (1981).
  71. Gavriel, A. G., Sambrook, M. R., Russell, A. T. & Hayes, W. Recent advances in self-immolative linkers and their applications in polymeric reporting systems. *Polym. Chem.* **13**, 3188–3269 (2022).
  72. Gnaim, S. & Shabat, D. Quinone-methide species, a gateway to functional molecular systems: From self-immolative dendrimers to long-wavelength fluorescent dyes. *Acc. Chem. Res.* **47**, 2970–2984 (2014).
  73. Sharma, A. K. *et al.* Visible-Light-Triggered Uncaging of Carbonyl Sulfide for Hydrogen Sulfide (H<sub>2</sub>S) Release. *Org. Lett.* **19**, 4822–4825 (2017).
  74. Nguyen, A. L., Bobadova-parvanova, P., Hop, M., Fronczek, F. R. & Smith, K. M. Synthesis and Reactivity of 4,4-Dialkoxy-BODIPYs: An Experimental and Computational Study. *Inorg. Chem.* **54**, 3228–3236 (2015).
  75. Amamoto, T. *et al.* Spatiotemporal activation of molecules within cells using silica nanoparticles responsive to blue-green light. *J. Mater. Chem. B* **3**, 7427–7433 (2015).
  76. Fron, E. *et al.* Synthesis and photophysical characterization of chalcogen substituted BODIPY dyes. *New J. Chem.* **33**, 1490–1496 (2009).
  77. Sunahara, H., Urano, Y., Kojima, H. & Nagano, T. Design and synthesis of a library of BODIPY-based environmental polarity sensors utilizing photoinduced electron-transfer-controlled fluorescence ON/OFF switching. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 5597–5604 (2007).
  78. Zeng, Q. & Rokita, S. E. Tandem quinone methide generation for cross-linking DNA. *J. Org. Chem.* **61**, 9080–9081 (1996).
  79. Pande, P. *et al.* Alkylation of Nucleic Acids by a Model Quinone Methide. *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 6773–6779 (1999).
  80. Chiang, Y., Kresge, A. J. & Zhu, Y. Kinetics and mechanisms of hydration of o-Quinone methides in aqueous solution [10]. *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 9854–9855 (2000).
  81. Chiang, Y., Kresge, A. J. & Zhu, Y. Flash Photolytic Generation and Study of p-Quinone Methide in Aqueous Solution . An Estimate of Rate and Equilibrium Constants for Heterolysis of the Carbon-Bromine Bond in p-Hydroxybenzyl Bromide. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 6349–6356 (2002).
  82. Weinert, E. E. *et al.* Substituents on Quinone Methides Strongly Modulate Formation and Stability of Their Nucleophilic Adducts. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 11940–11947

(2006).

83. Krumova, K., Cosa, G., Chem, H. A. & Ed, I. Bodipy Dyes with Tunable Redox Potentials and Functional Groups for Further Tethering: Preparation, Electrochemical, and Spectroscopic Characterization. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 17560–17569 (2010).
84. Boens, N. *et al.* Fluorescence Lifetime Standards for Time and Frequency Domain Fluorescence Spectroscopy. *Anal. Chem.* **79**, 2137–2149 (2007).

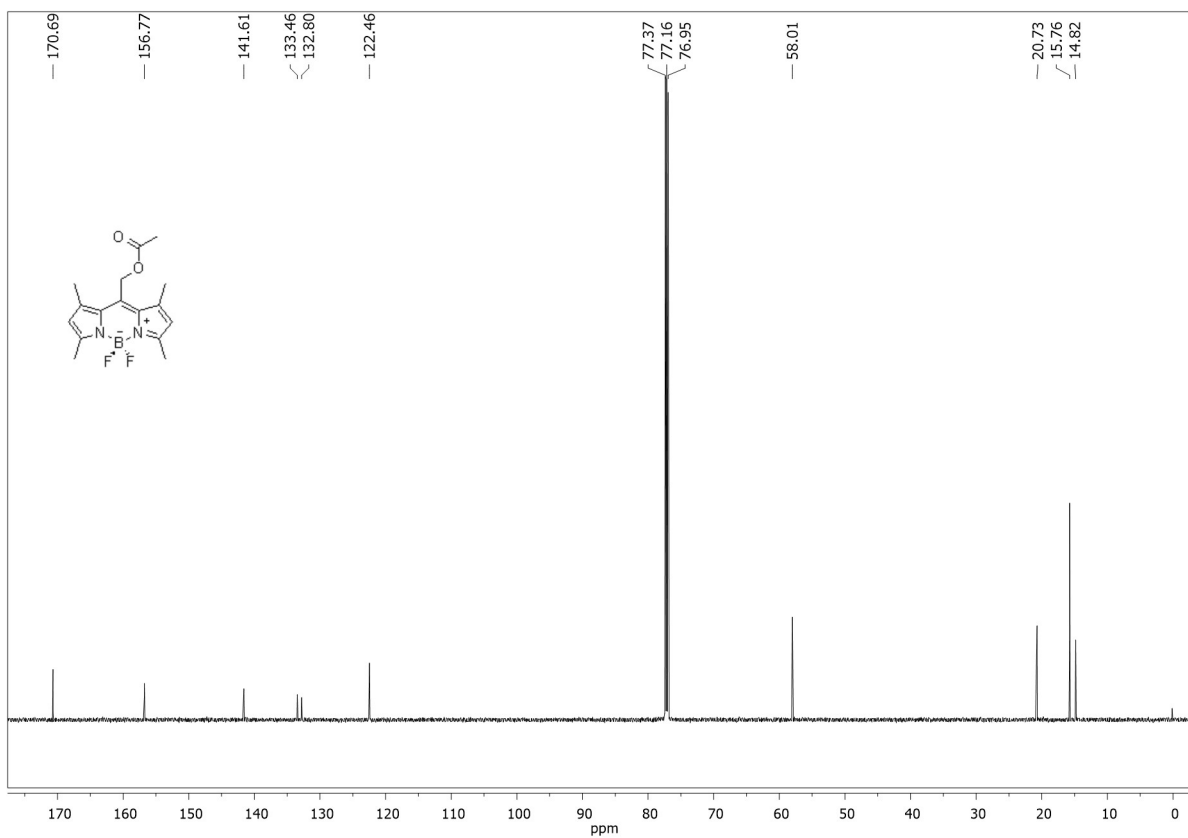
## Prilozi

### Spektri NMR

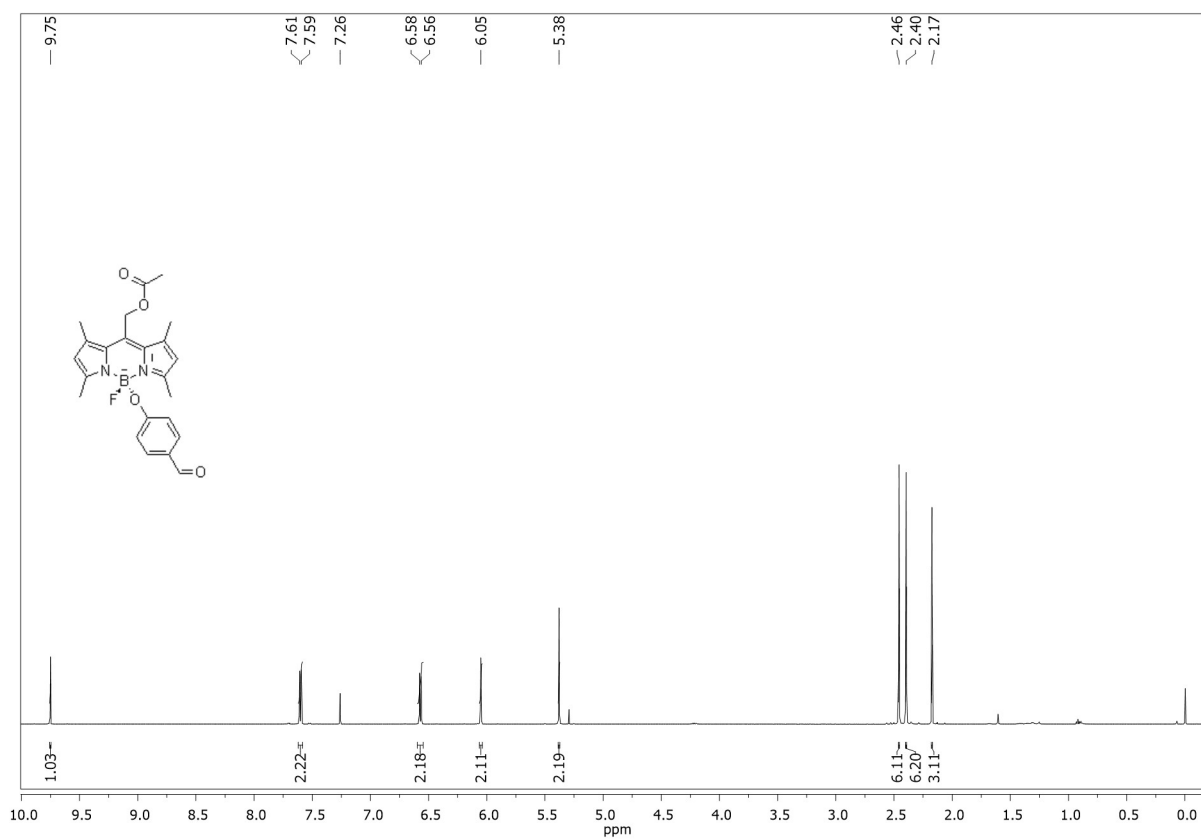


Slika 15. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja **1** snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.

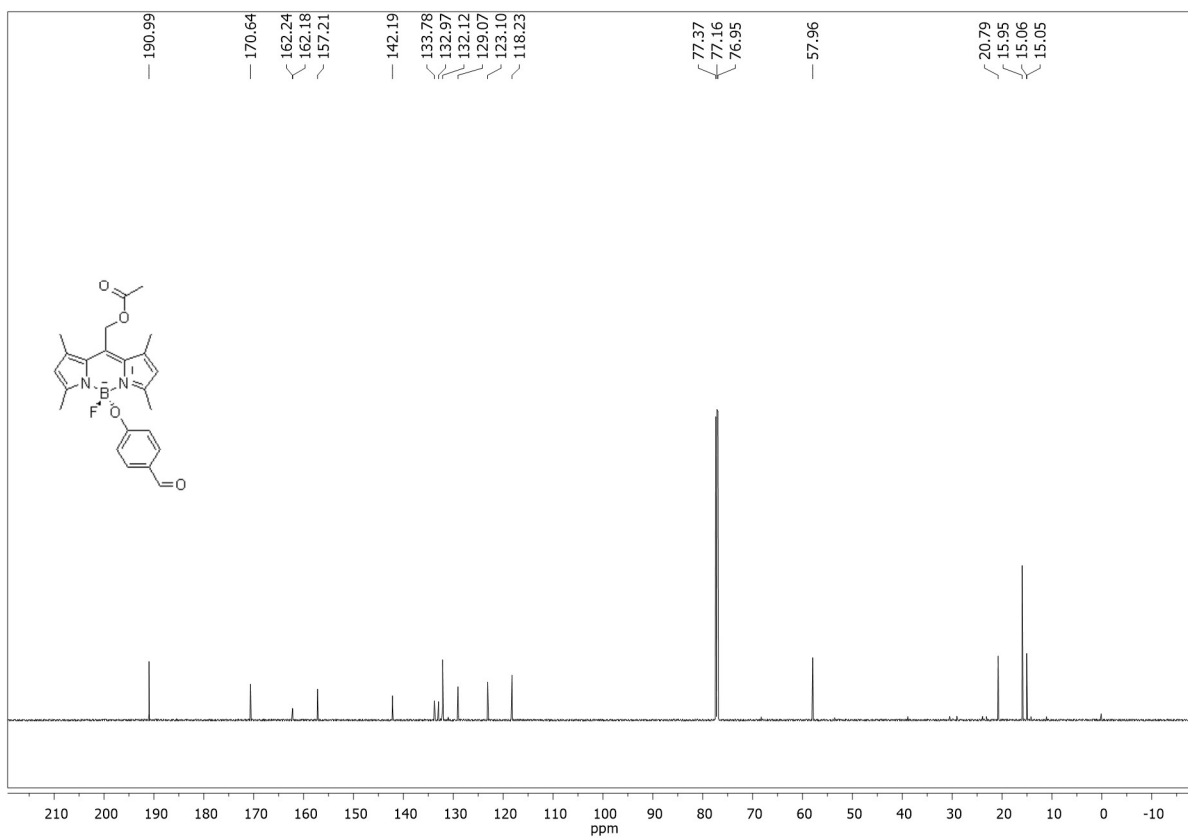




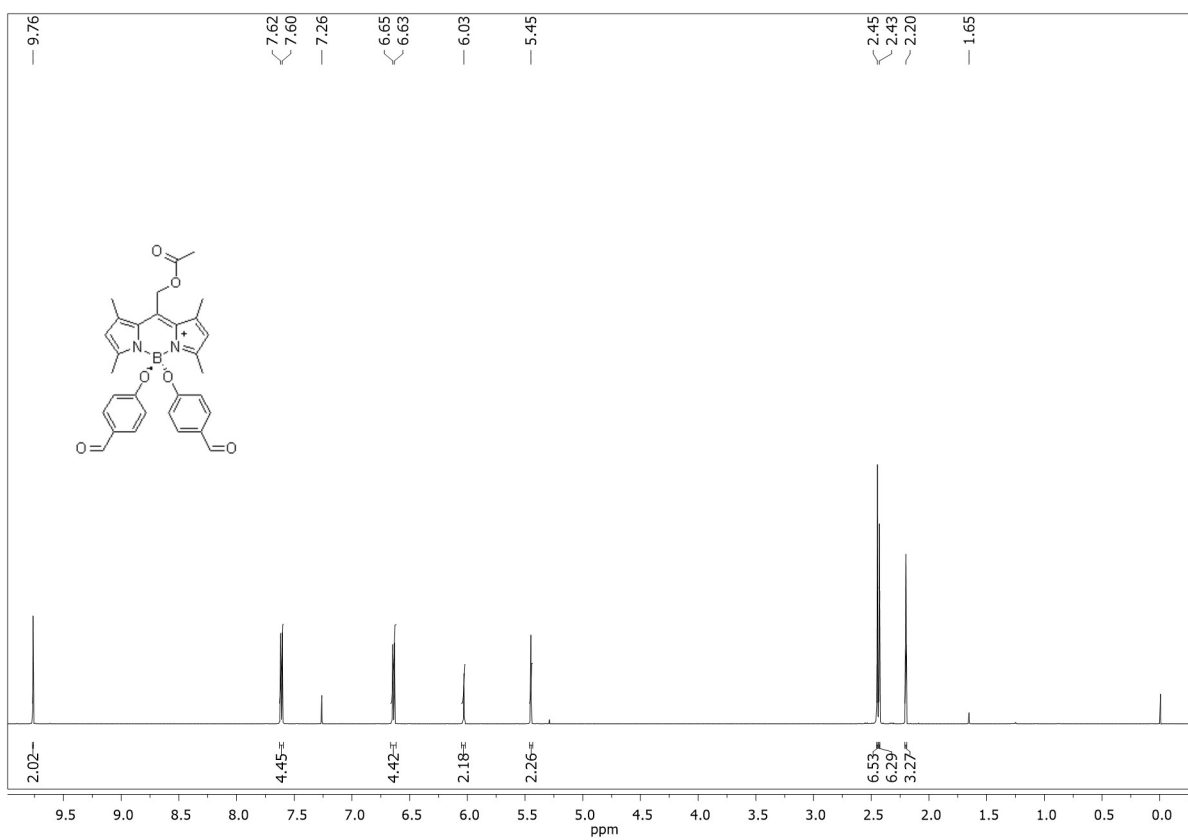
Slika 16. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja 1 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.



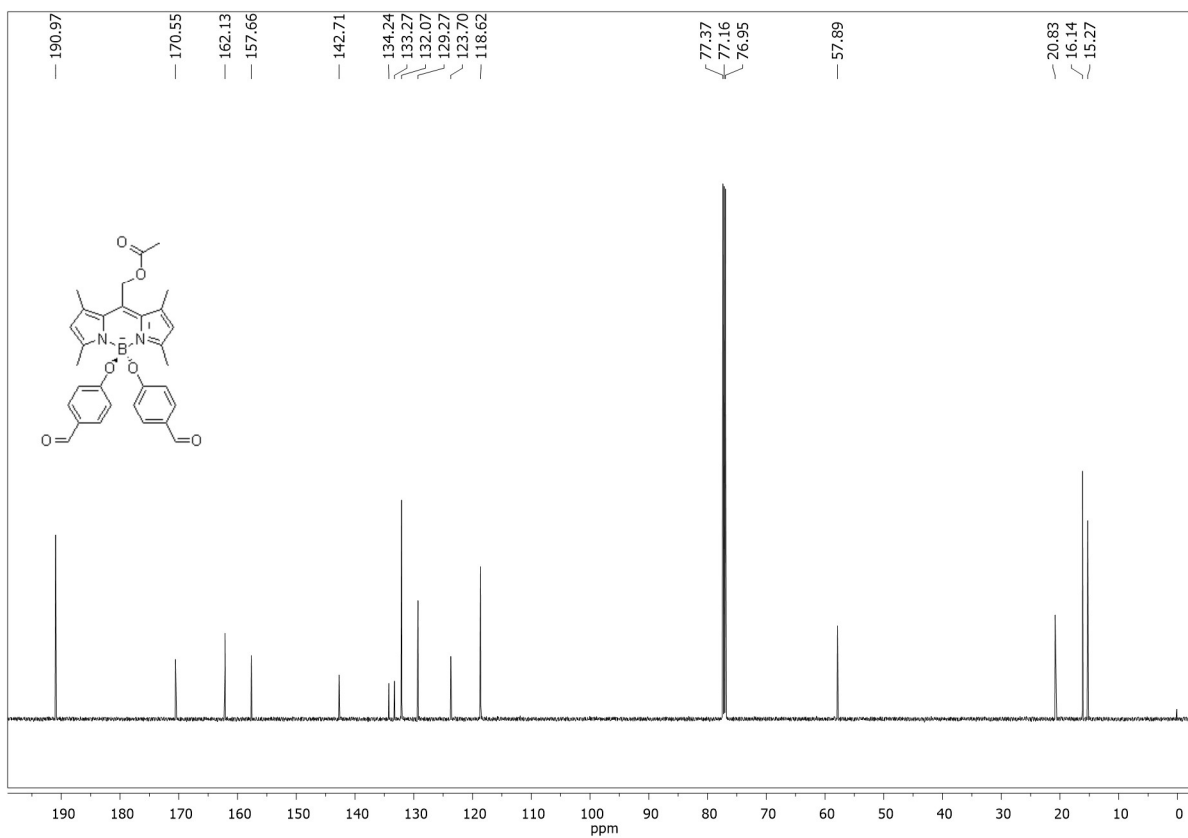
Slika 17. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja 2 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.



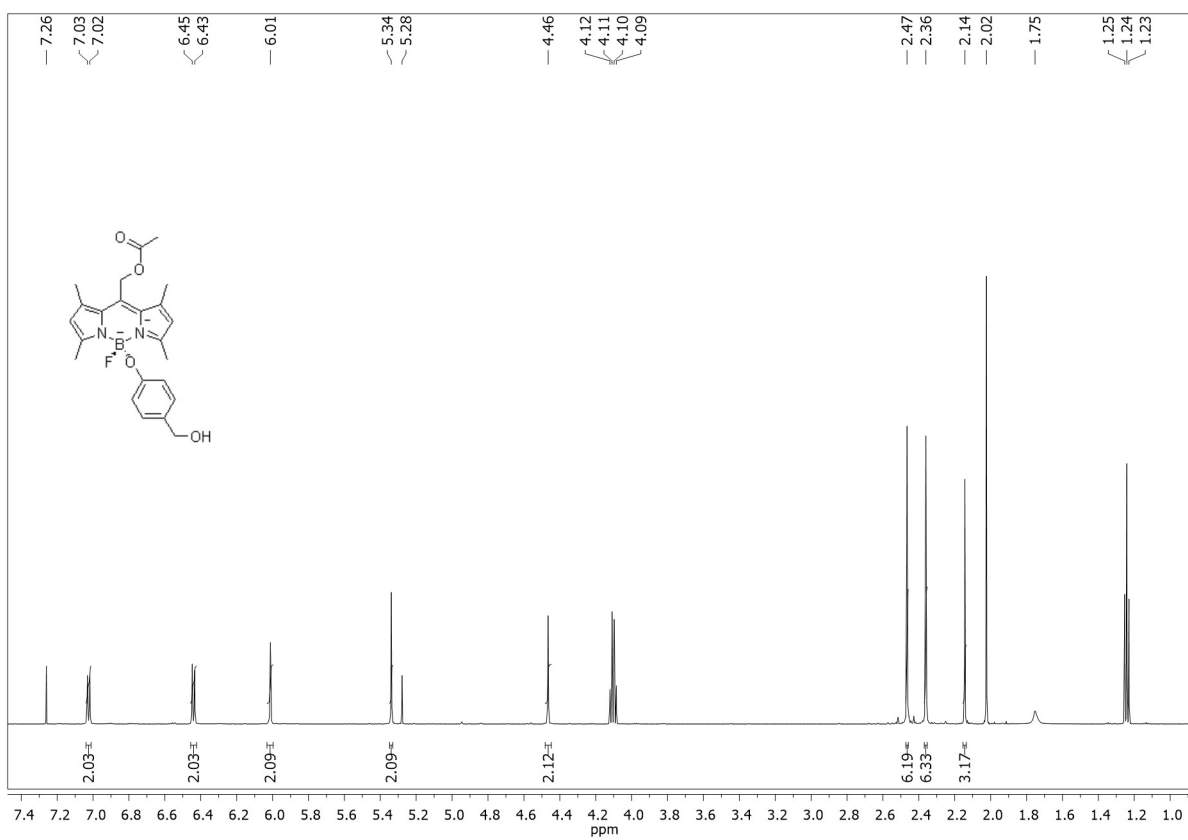
Slika 18. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja **2** snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.



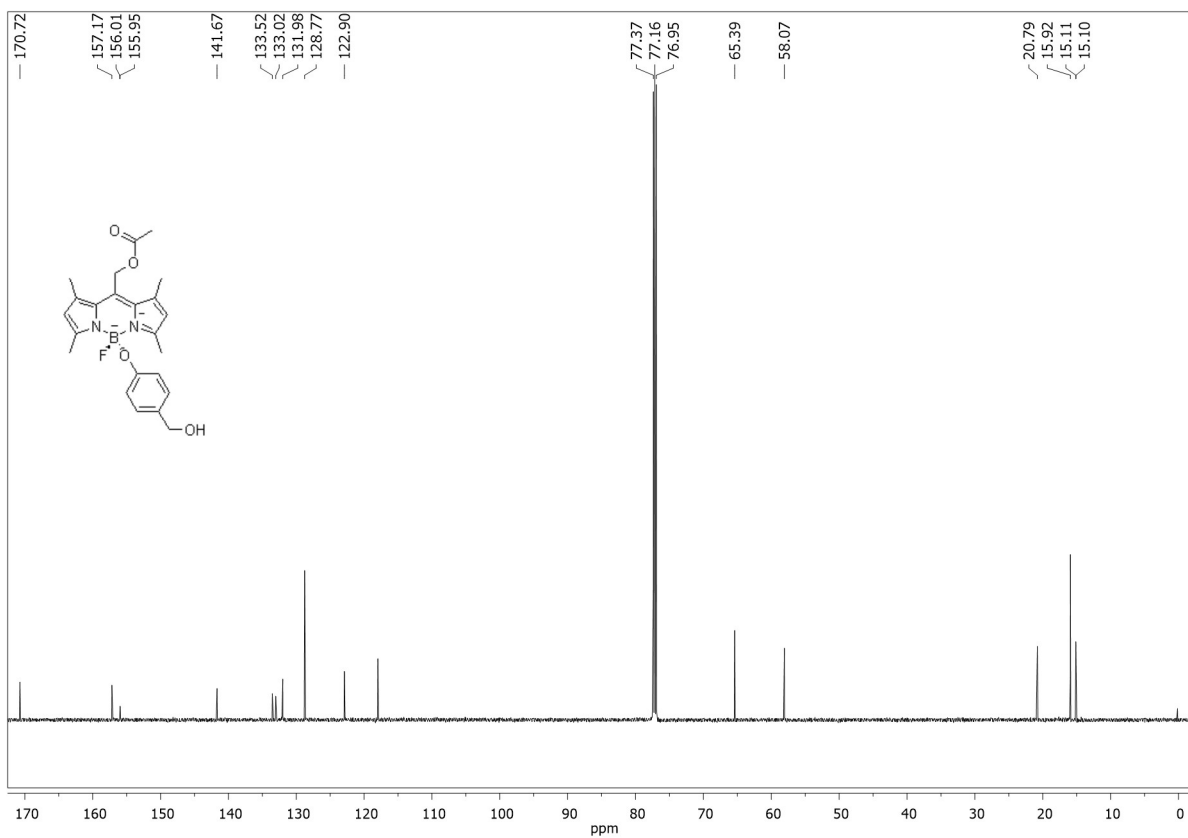
Slika 19. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja **3** snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.



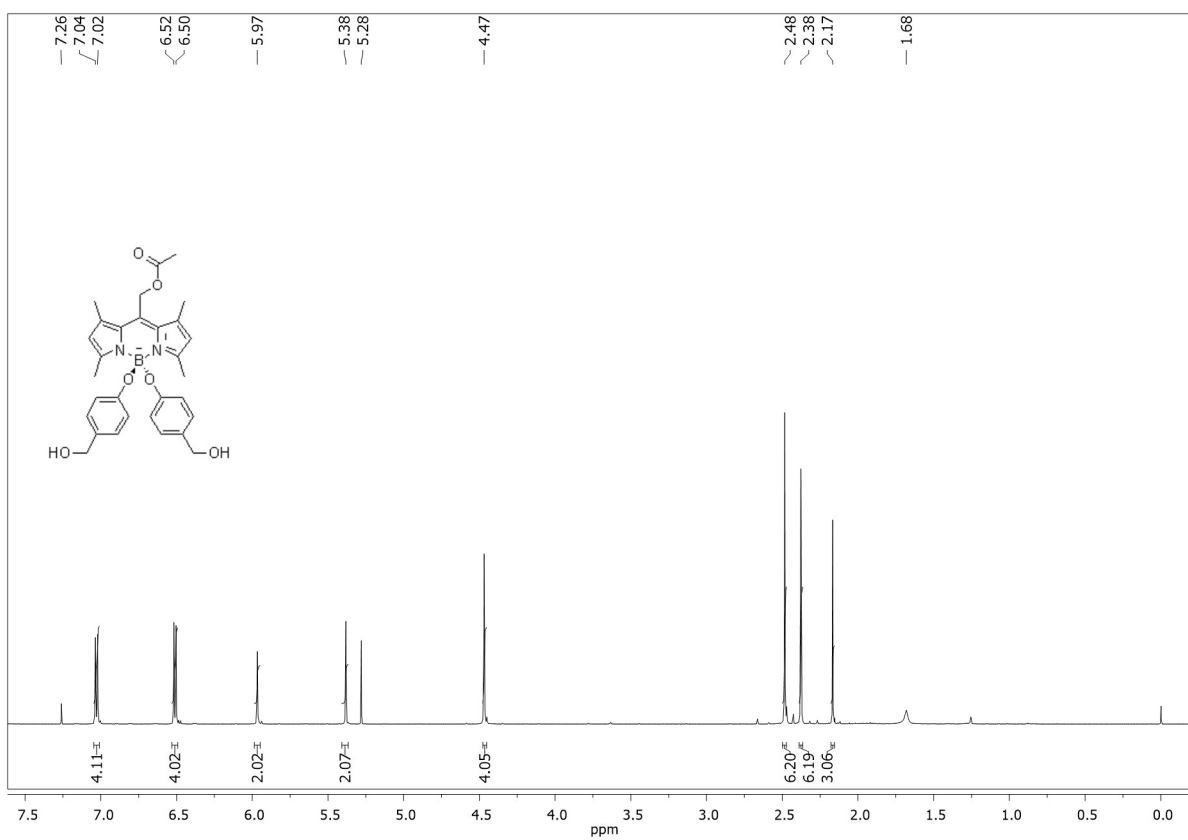
Slika 20. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja 3 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.



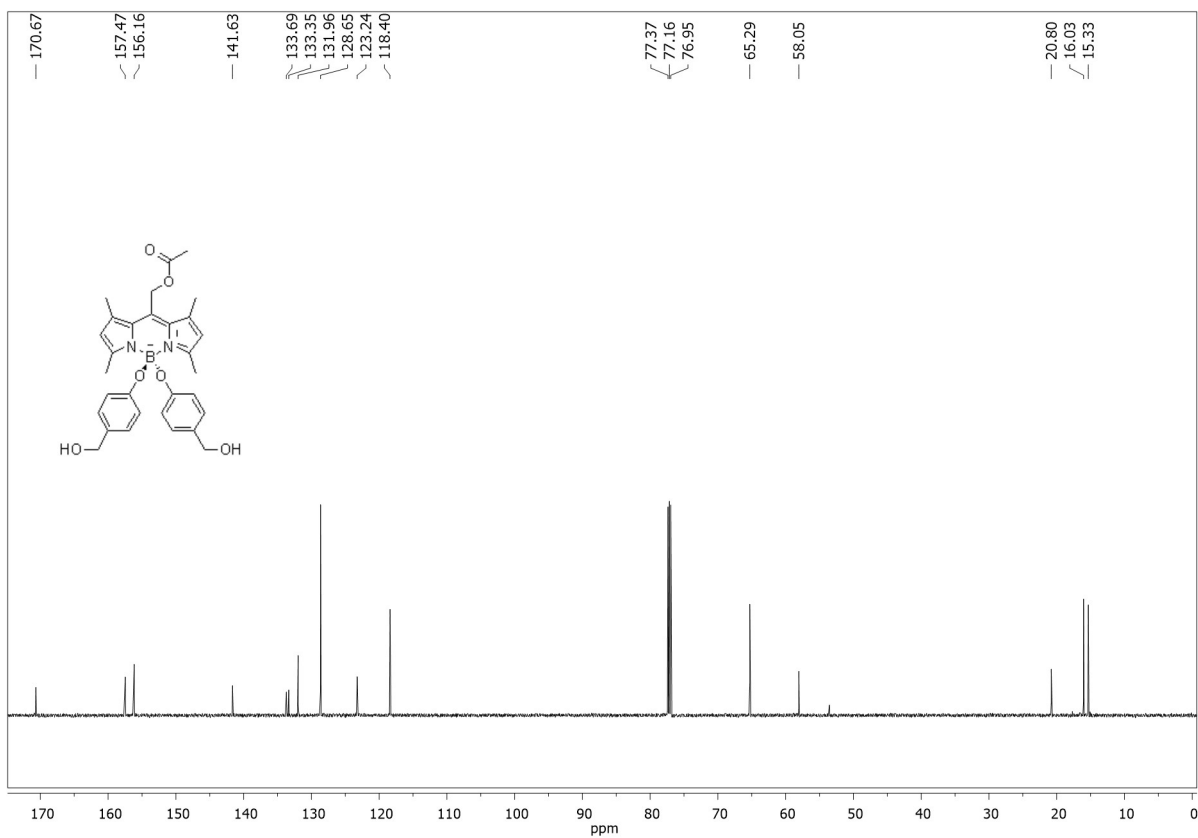
Slika 21. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja 4 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.



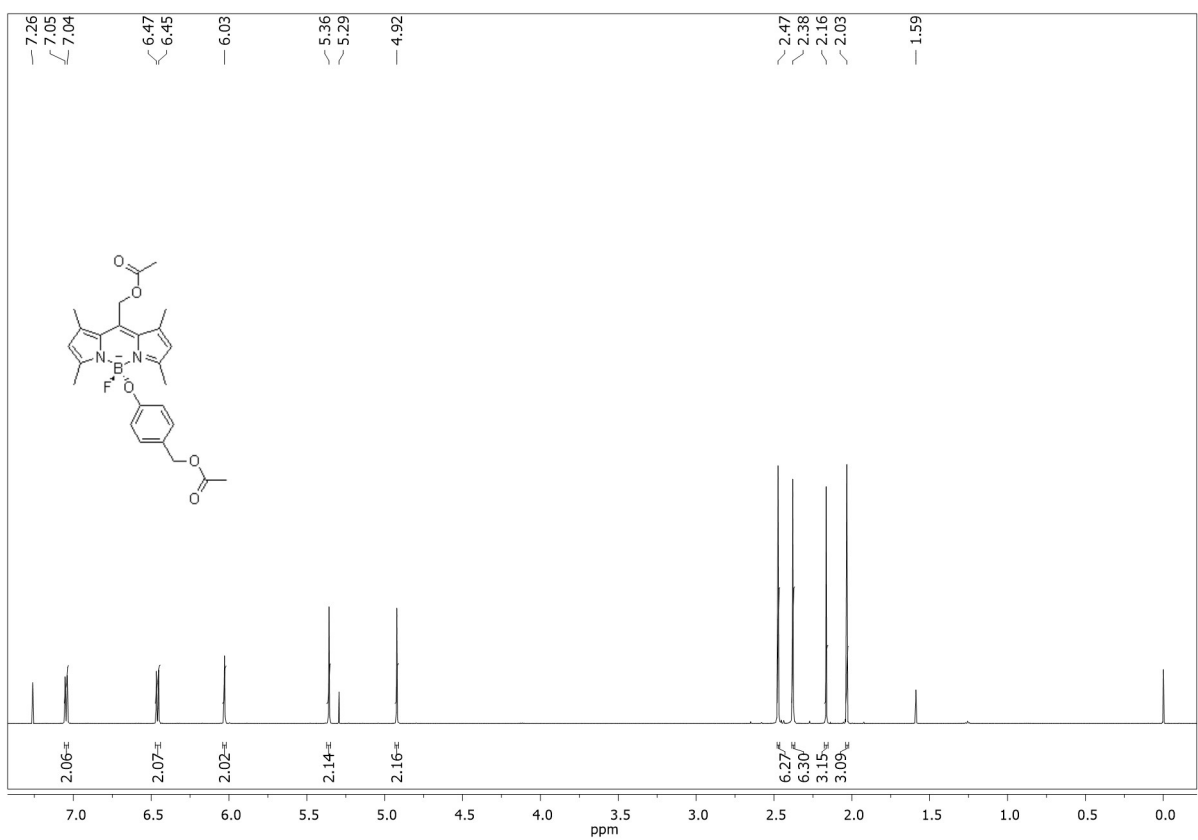
Slika 22. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja 4 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.



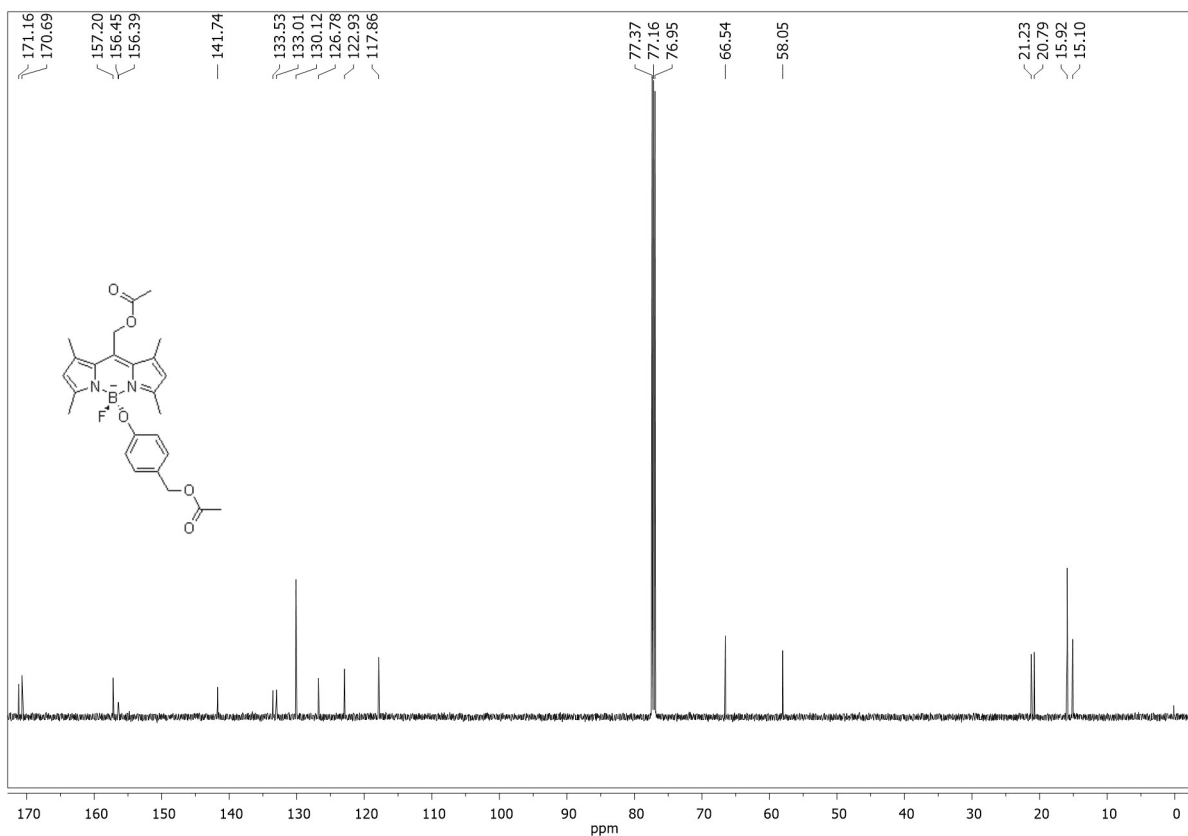
Slika 23. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja 5 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.



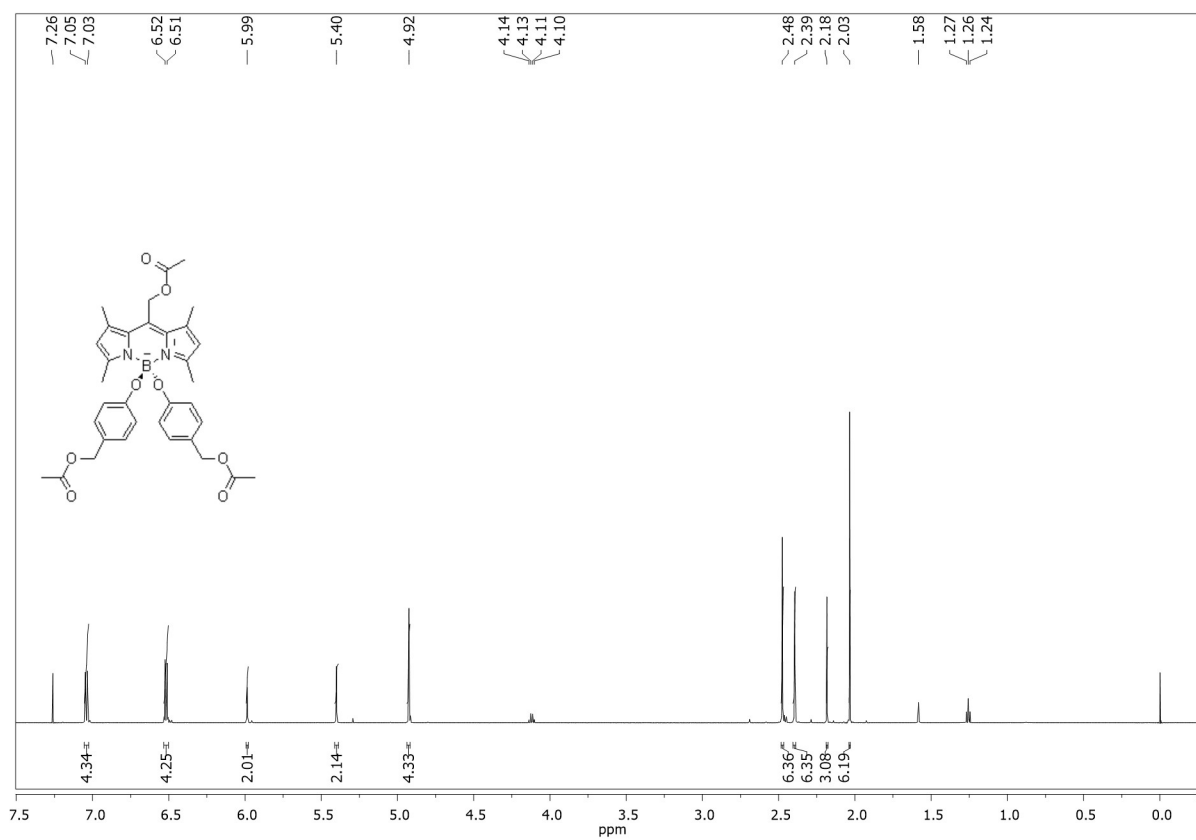
Slika 24. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja 5 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.



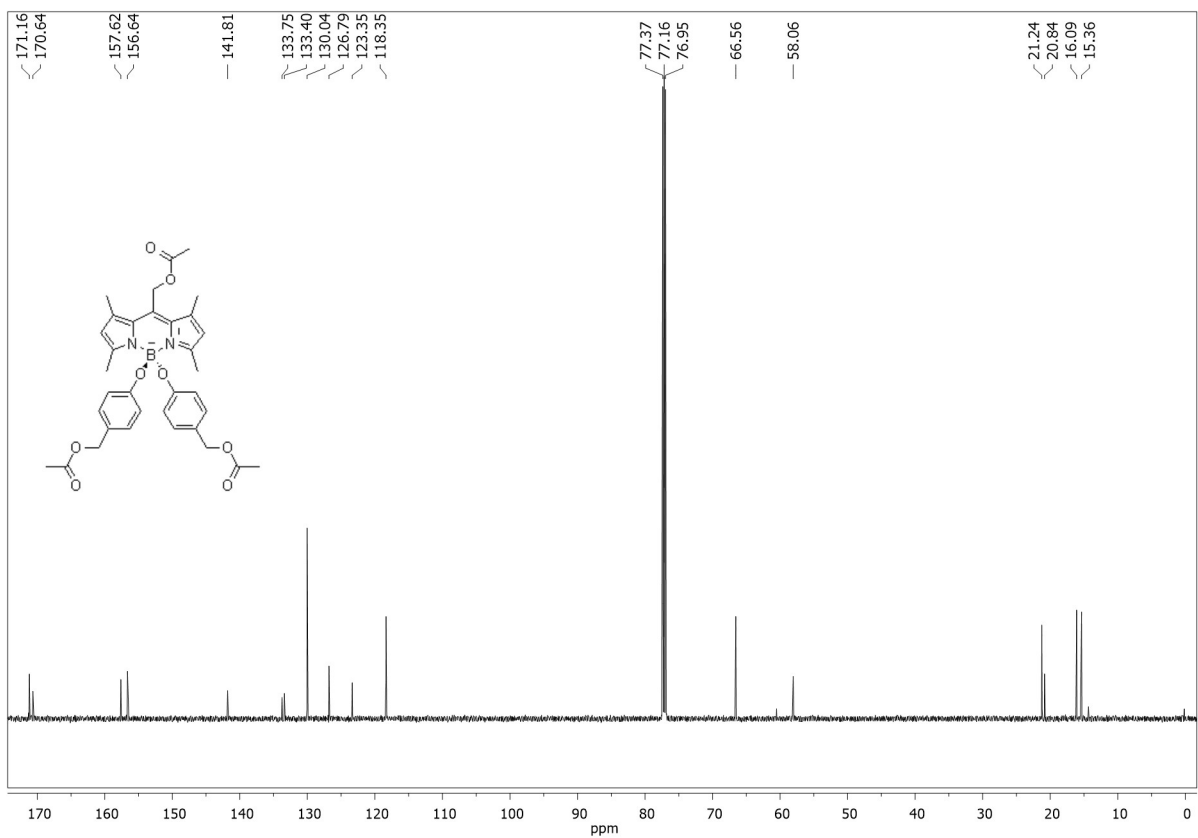
Slika 25. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja 6 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.



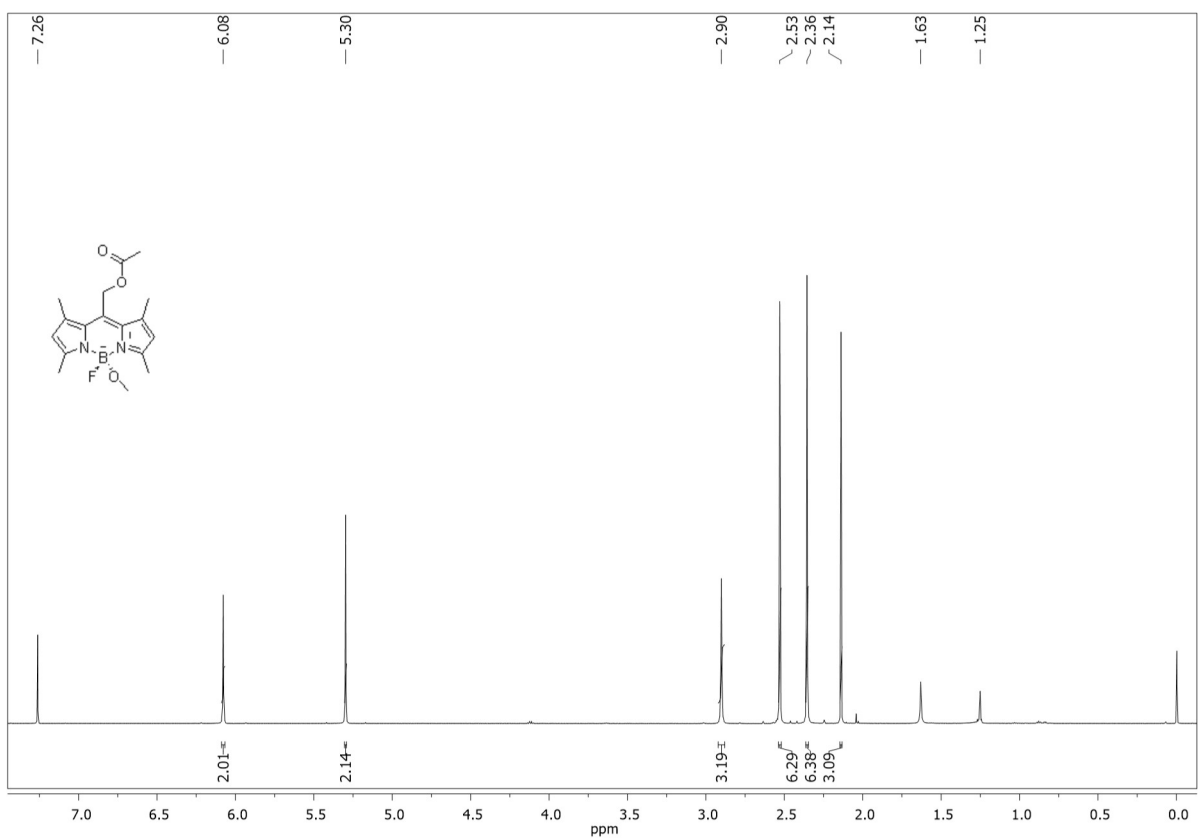
Slika 26. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja 6 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.



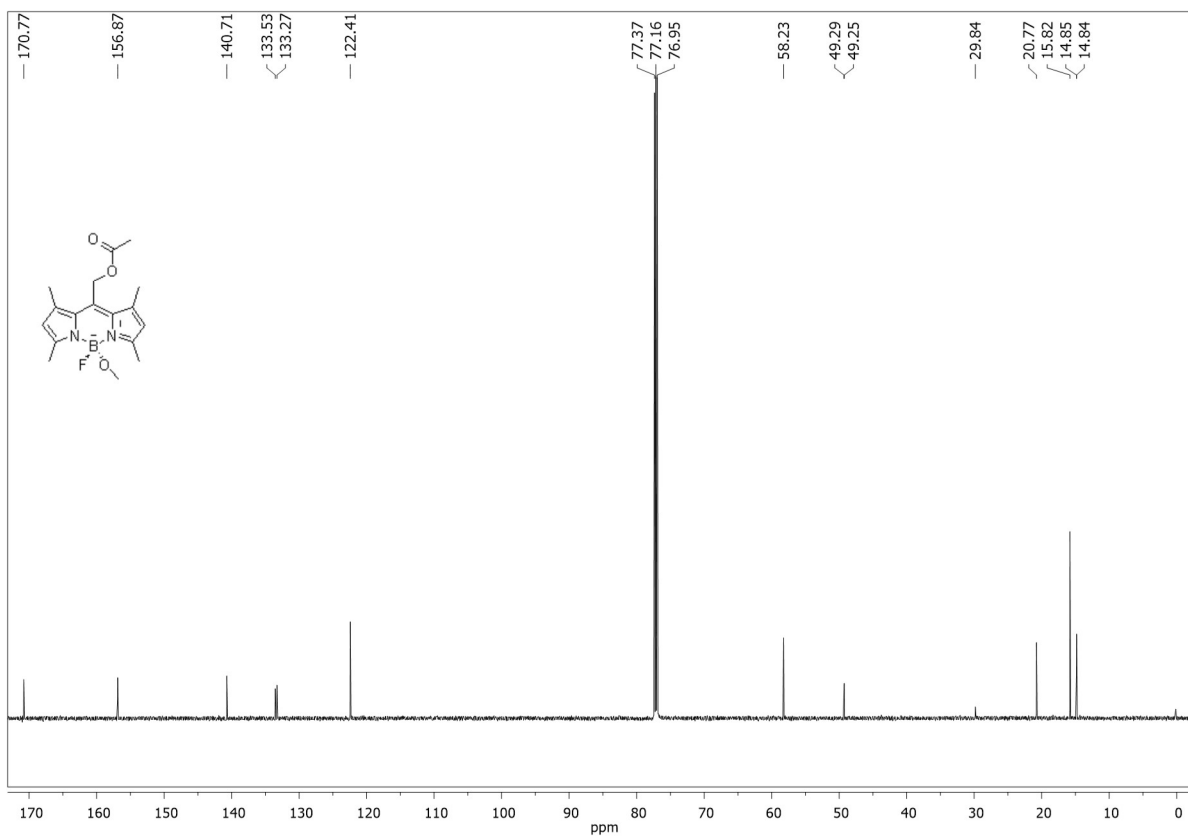
Slika 27. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja 7 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.



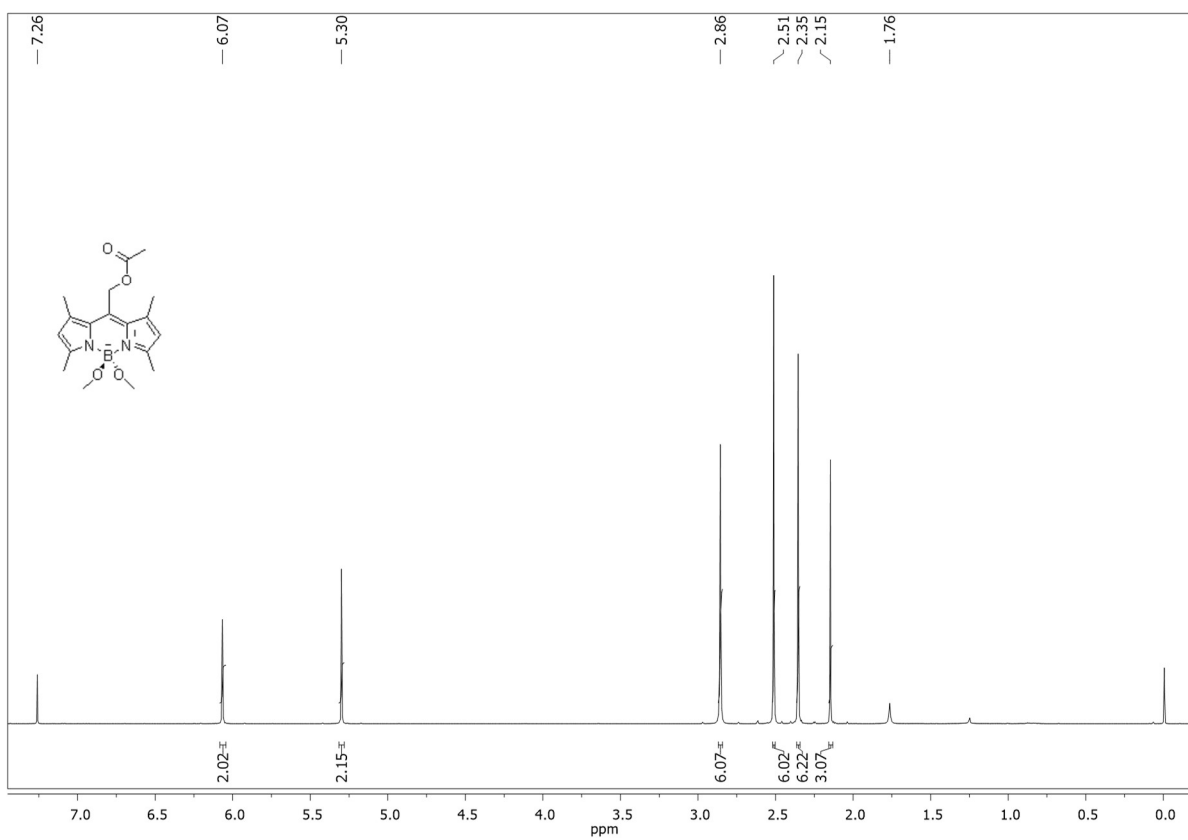
Slika 28. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja 7 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.



Slika 29. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja 8 snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.

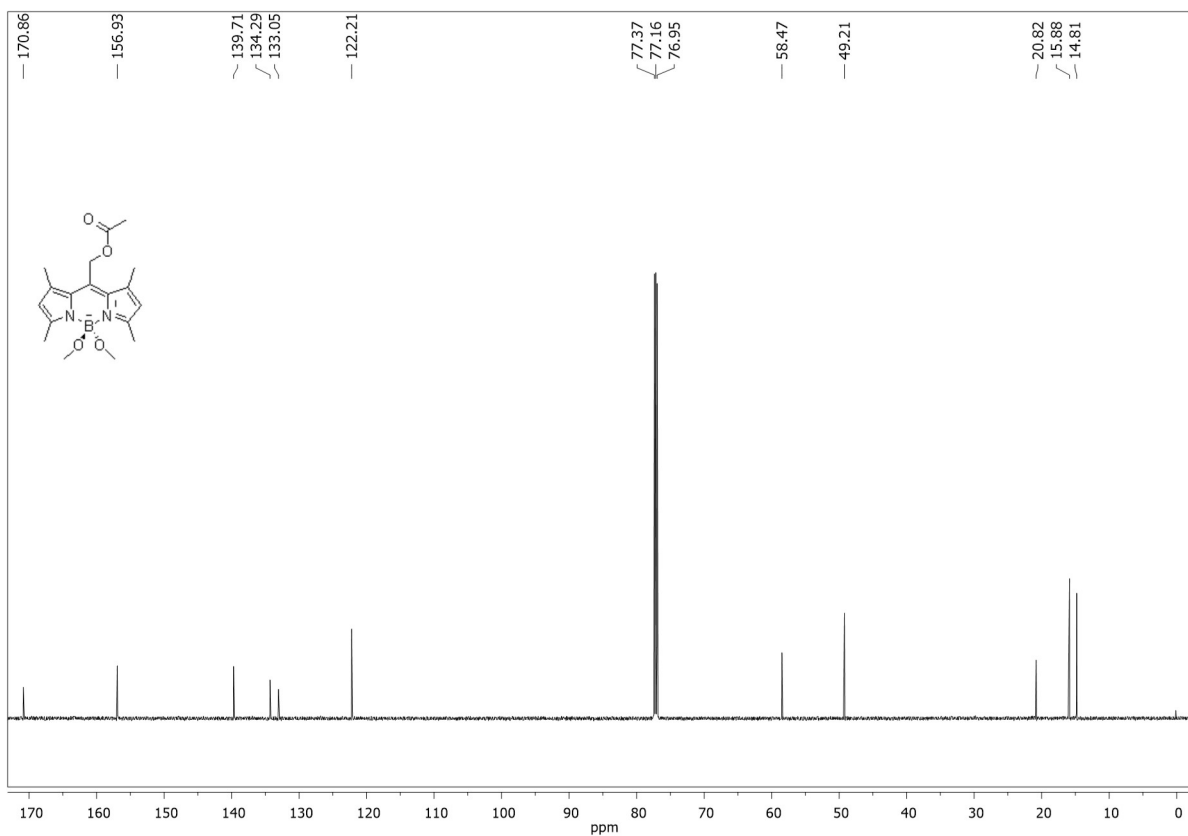


Slika 30. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja **8** snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.

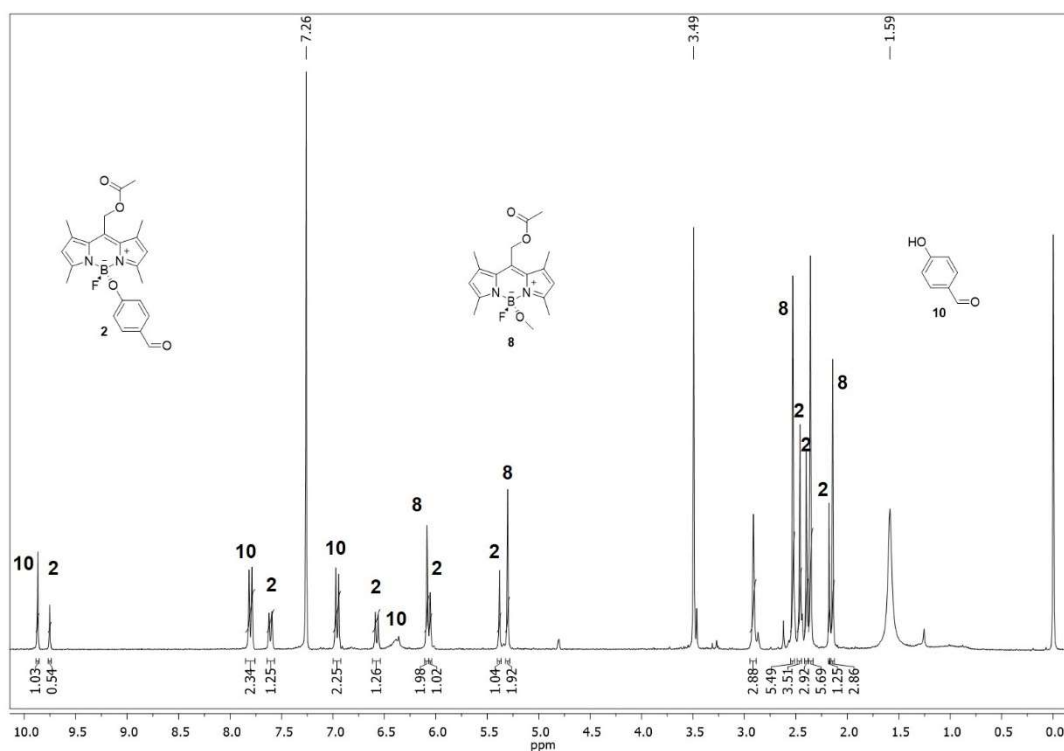


Slika 31. Spektar  $^1\text{H}$  NMR spoja **9** snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 600 MHz.

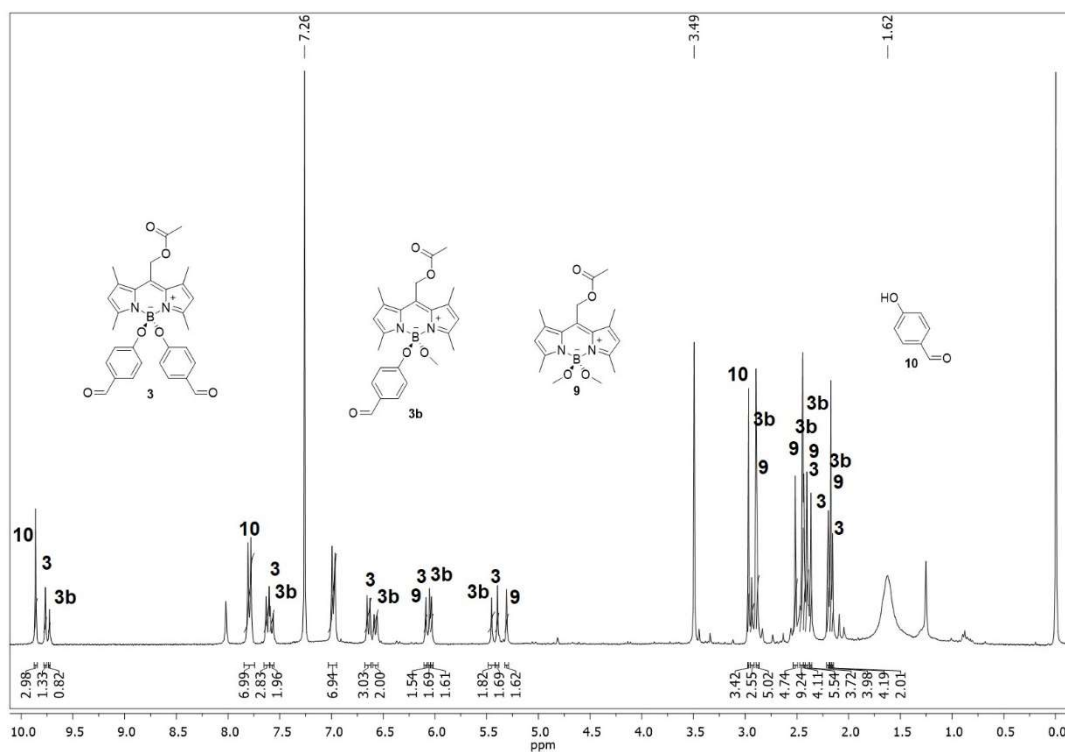




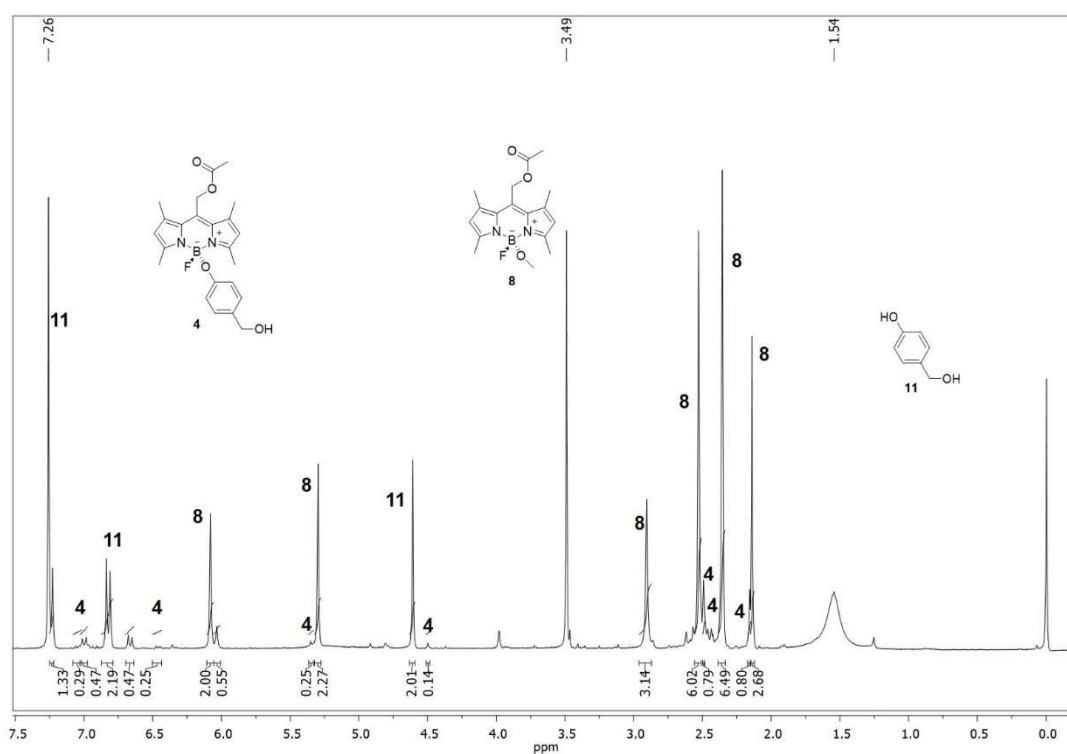
Slika 32. Spektar  $^{13}\text{C}$  NMR spoja **9** snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 150 MHz.



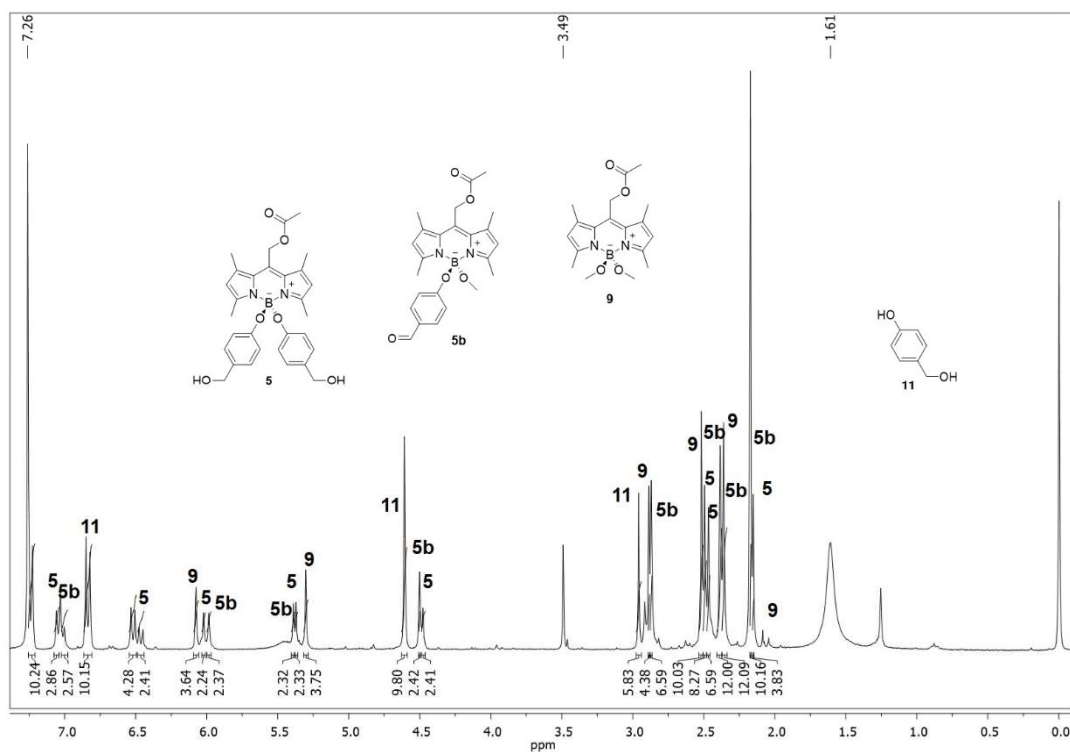
Slika 33. Spektar  $^1\text{H}$  NMR otopine spoja **2** nakon osvjetljavanja vidljivim svjetlom u metanolu, snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 300 MHz.



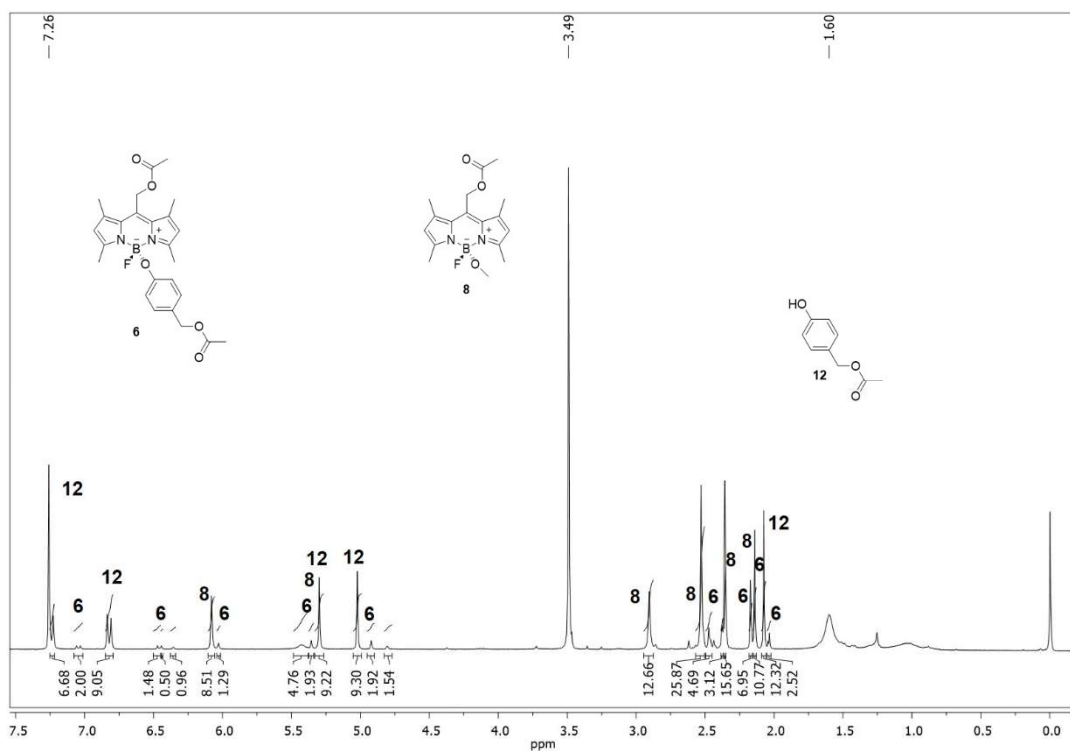
**Slika 34.** Spektar  $^1\text{H}$  NMR otopine spoja **3** nakon osvjetljavanja vidljivim svjetlom u metanolu, snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 300 MHz.



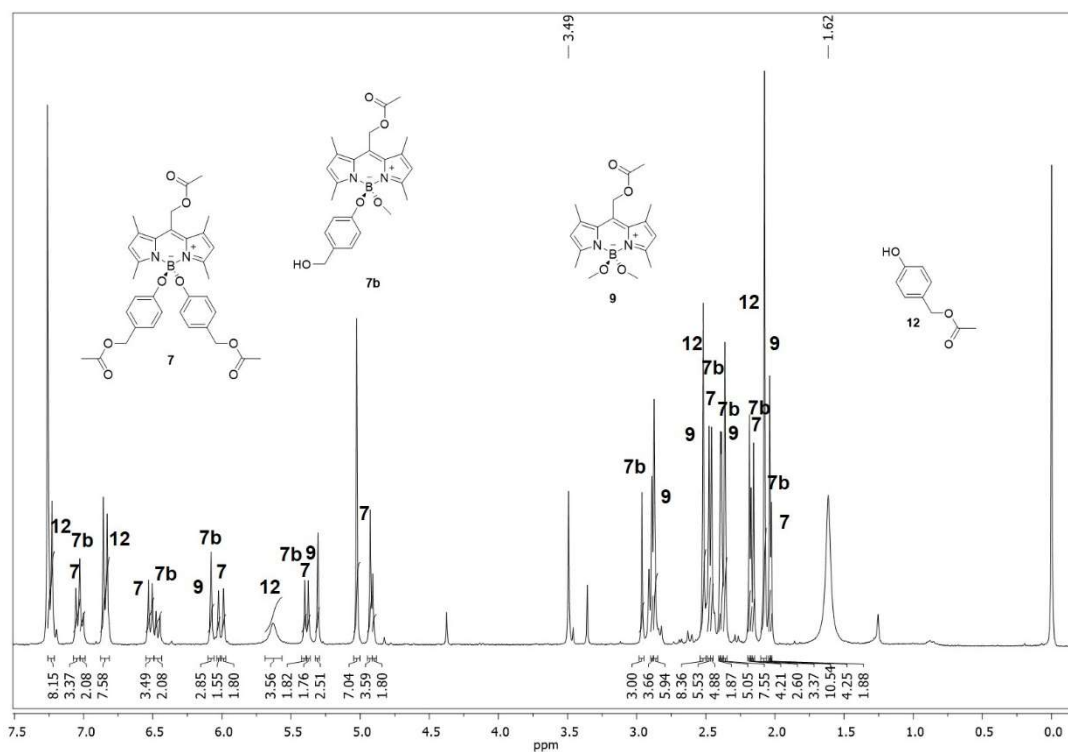
**Slika 35.** Spektar  $^1\text{H}$  NMR otopine spoja **4** nakon osvjetljavanja vidljivim svjetlom u metanolu, snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 300 MHz.



**Slika 36.** Spektar  $^1\text{H}$  NMR otopine spoja **5** nakon osvjetljavanja vidljivim svjetlom u metanolu, snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 300 MHz.

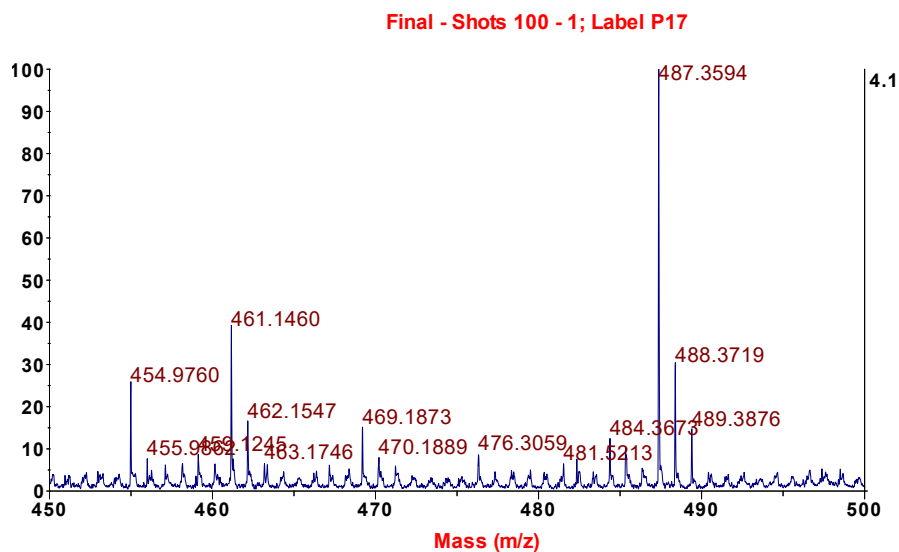


**Slika 37.** Spektar  $^1\text{H}$  NMR otopine spoja **6** nakon osvjetljavanja vidljivim svjetlom u metanolu, snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 300 MHz.

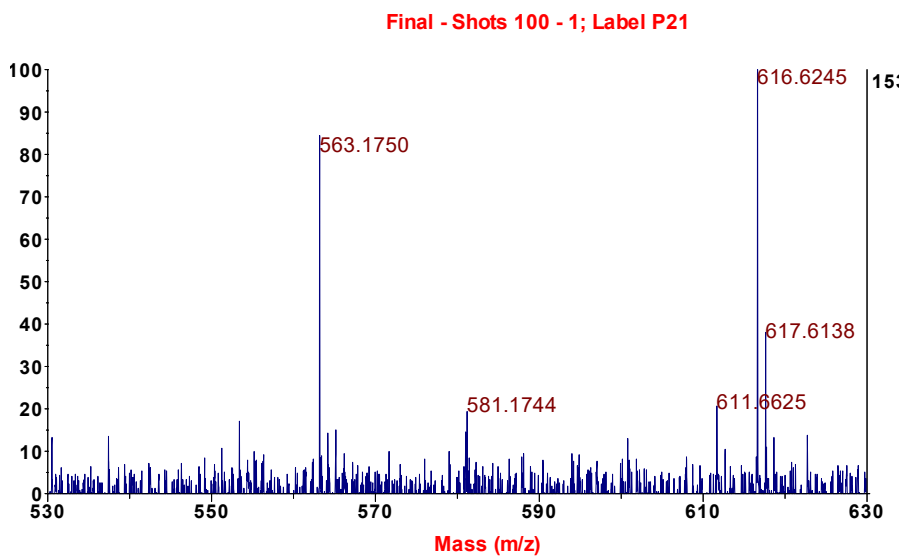


**Slika 38.** Spektar  $^1\text{H}$  NMR otopine spoja **7** nakon osvjetljavanja vidljivim svjetlom u metanolu, snimljen u  $\text{CDCl}_3$  kao otapalu, 300 MHz.

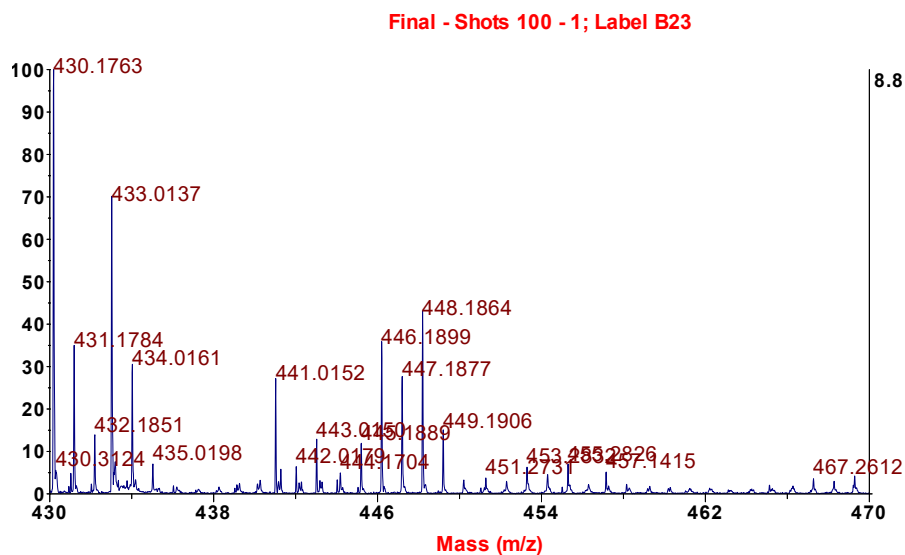
## HRMS spektri masa



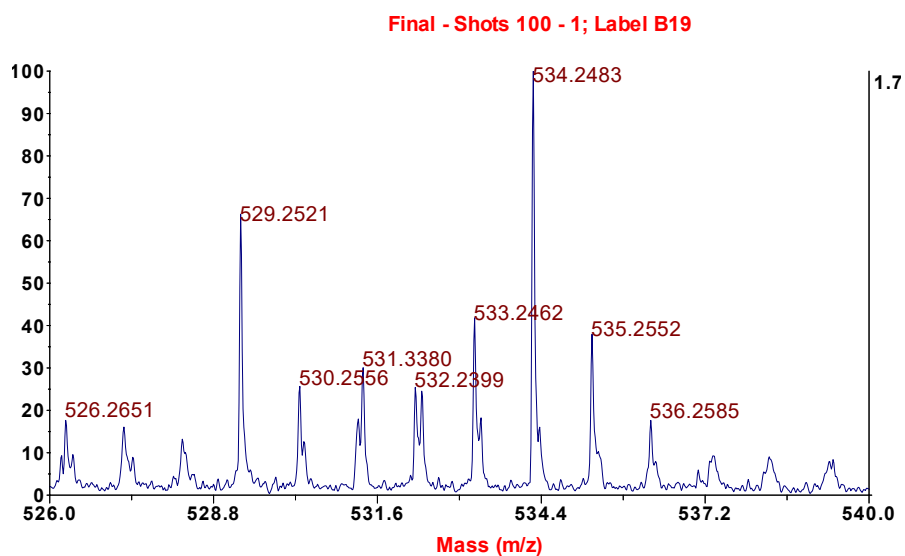
**Slika 39.** Spektar masa uzorka spoja **2** u području  $m/z$  450–500. Molekulska formula:  $C_{23}H_{24}BFN_2O_4$ , teorijska monoizotopna masa  $[M+K]^+$ : 461,1450.



**Slika 40.** Spektar masa uzorka spoja **3** u području  $m/z$  530–630. Molekulska formula:  $C_{30}H_{29}BN_2O_6$ , teorijska monoizotopna masa  $[M+K]^+$ : 563,1756,

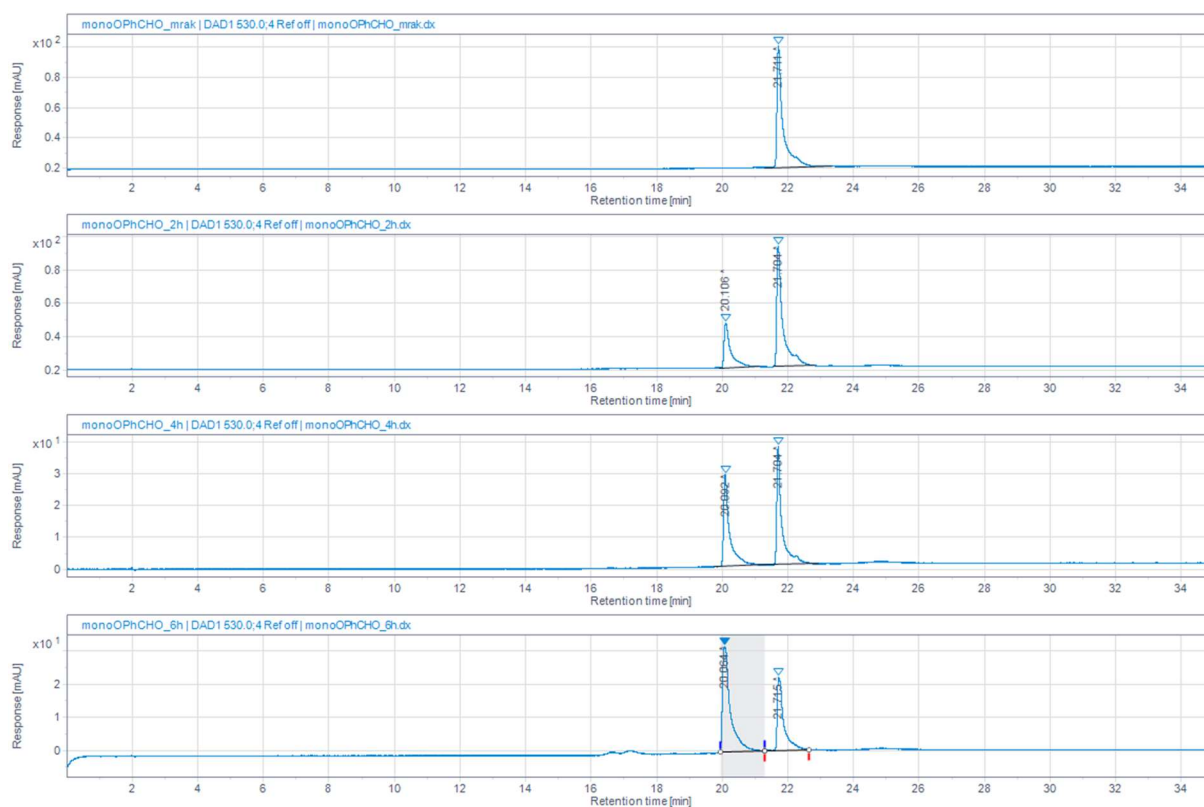


**Slika 41.** Spektar masa uzorka spoja **4** u području  $m/z$  430–470. Molekulska formula:  $C_{23}H_{26}BFN_2O_4$ , teorijska monoizotopna masa  $[M+Na]^+$ : 447,1867.

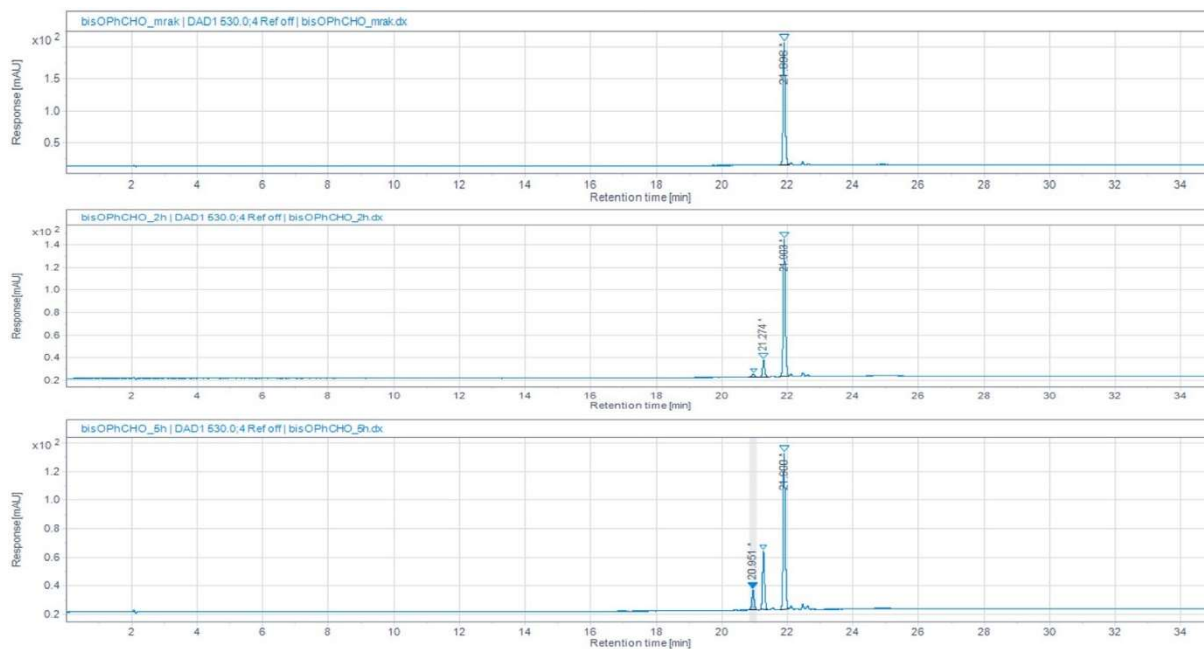


**Slika 42.** Spektar masa uzorka spoja **5** u području  $m/z$  526–540. Molekulska formula:  $C_{30}H_{33}BN_2O_6$ , teorijska monoizotopna masa  $[M+H]^+$ : 529,2510.

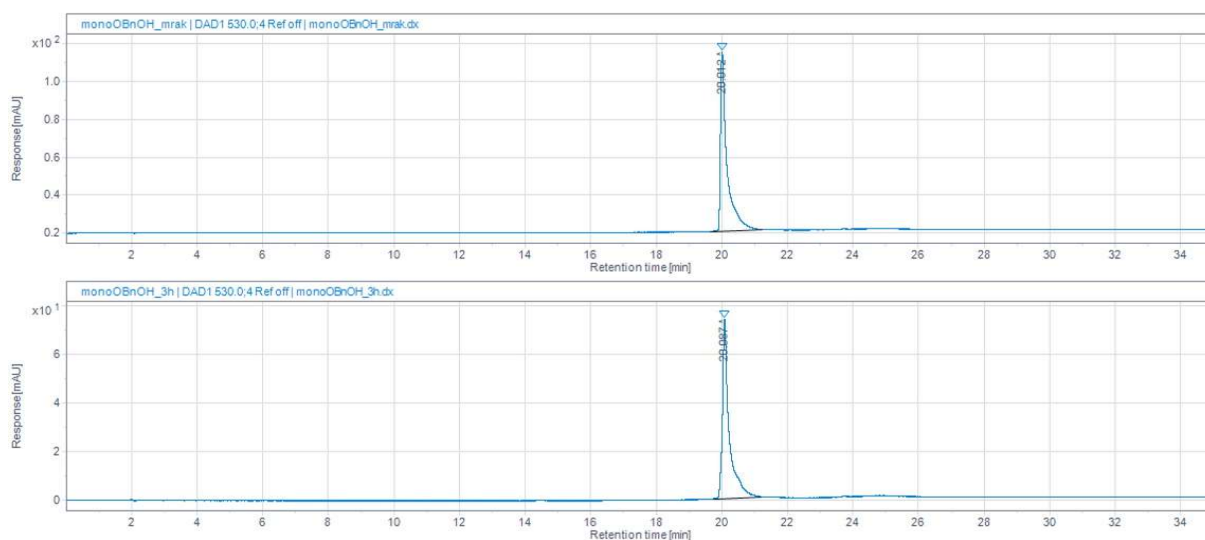
## HPLC kromatogrami



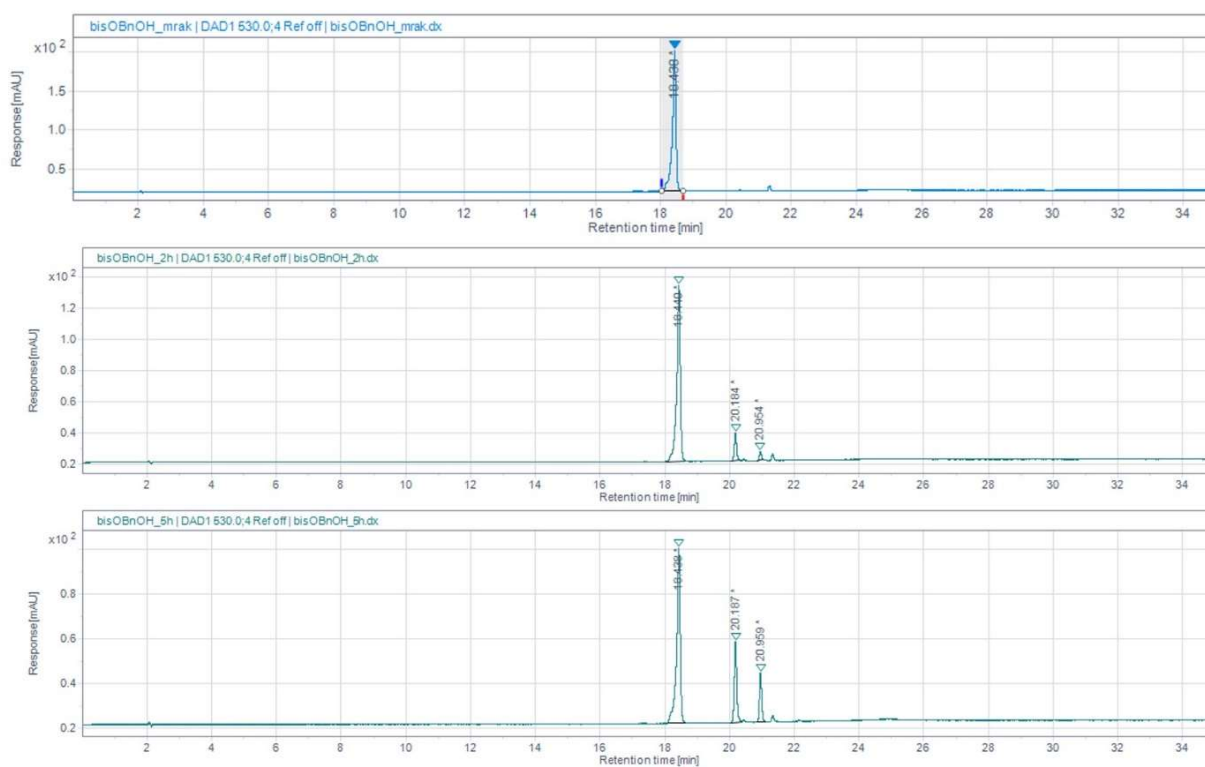
**Slika 43.** Kromatogrami otopine spoja 2 u metanolu prije i nakon 2, 4 i 5 h osvjetljavanja, detekcija  $\lambda = 530$  nm.



**Slika 44.** Kromatogrami otopine spoja 3 u metanolu prije i nakon 2 i 5 h osvjetljavanja, detekcija  $\lambda = 530$  nm.

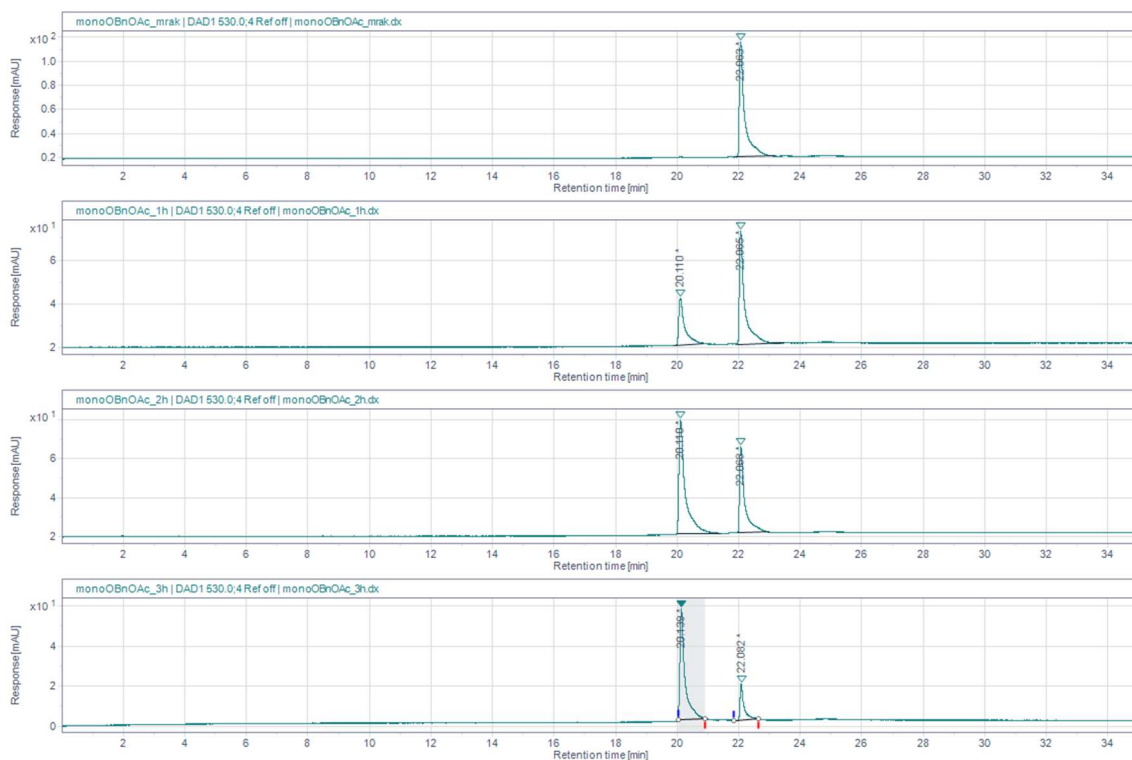


**Slika 45.** Kromatogrami otopine spoja **4** u metanolu prije i nakon 3 h osvjetljavanja, detekcija  $\lambda = 530$  nm.

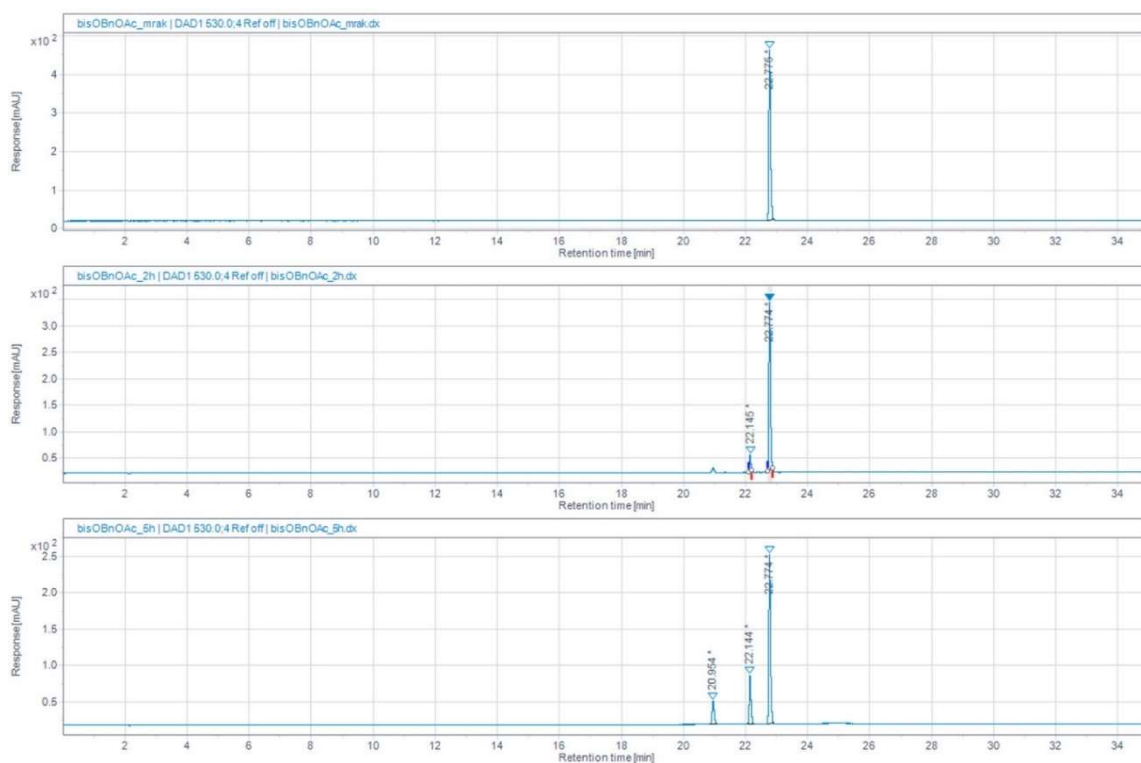


**Slika 46.** Kromatogrami otopine spoja **5** u metanolu prije i nakon 2 i 5 h osvjetljavanja, detekcija  $\lambda = 530$  nm.

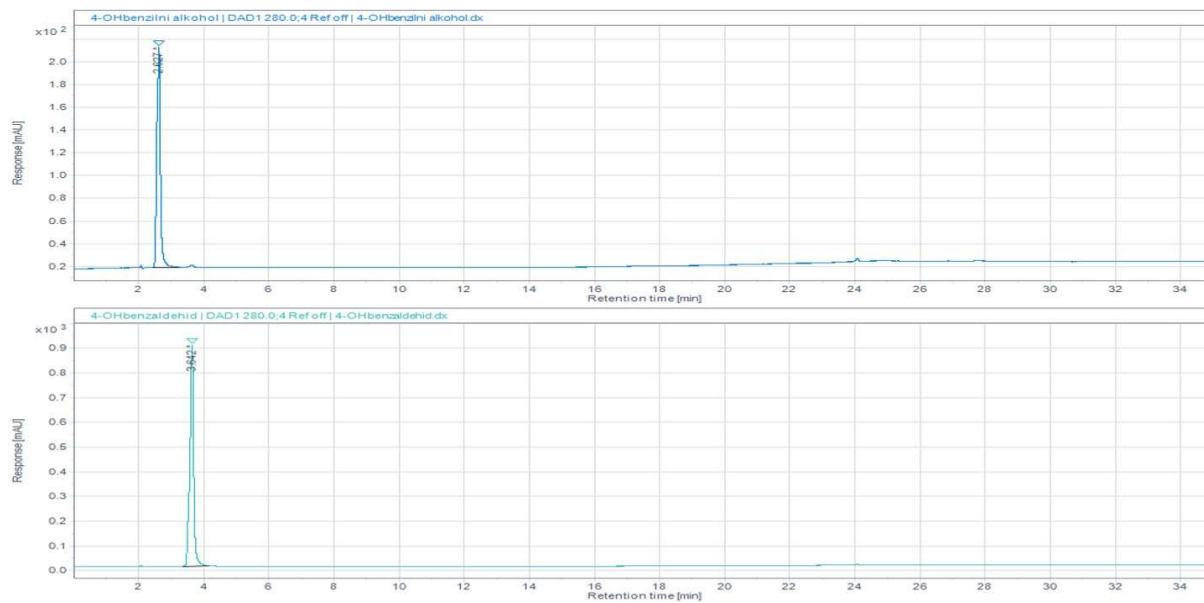




**Slika 47.** Kromatogrami otopine spoja **6** u metanolu prije i nakon 1, 2 i 3 h osvjetljavanja, detekcija  $\lambda = 530$  nm.

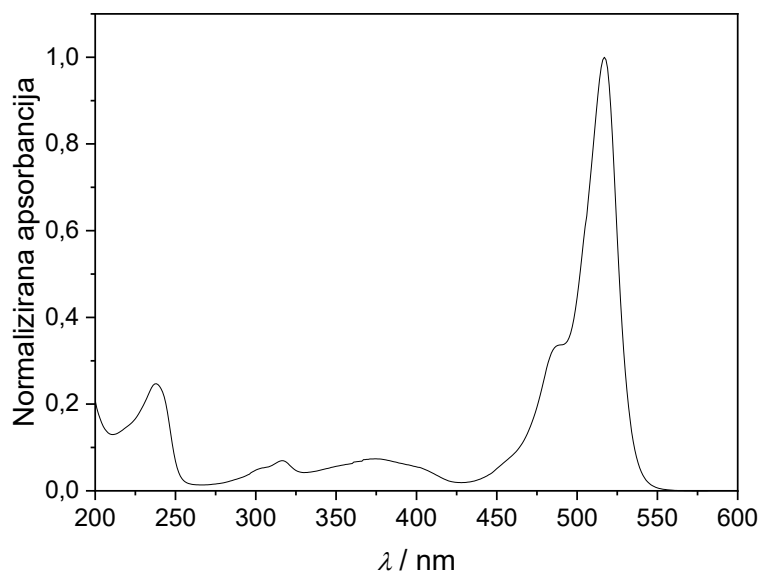


**Slika 48.** Kromatogrami otopine spoja **7** u metanolu prije i nakon 2 i 5 h osvjetljavanja, detekcija  $\lambda = 530$  nm.

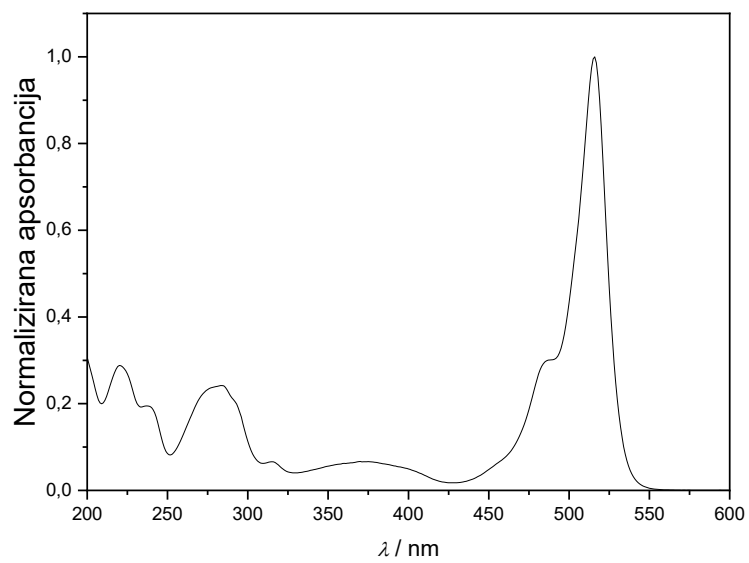


Slika 49. Kromatogrami referentnih spojeva **10** i **11**, detekcija  $\lambda = 530$  nm.

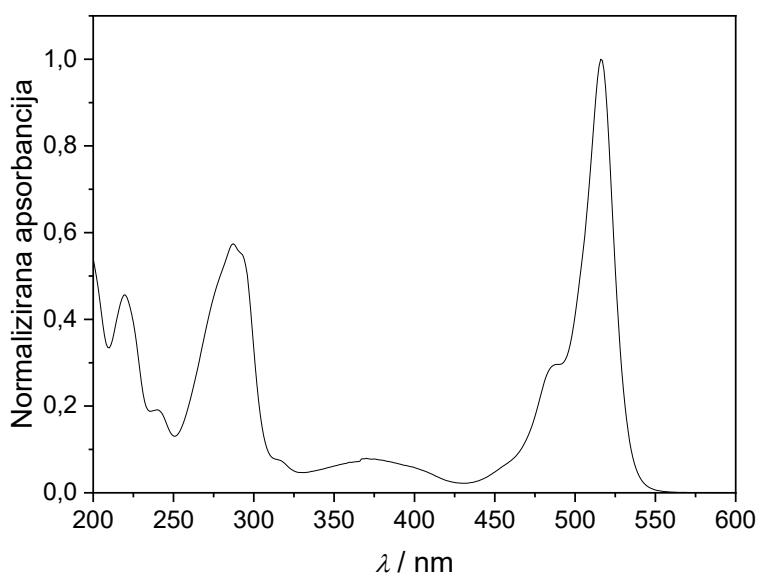
## UV-Vis spektri



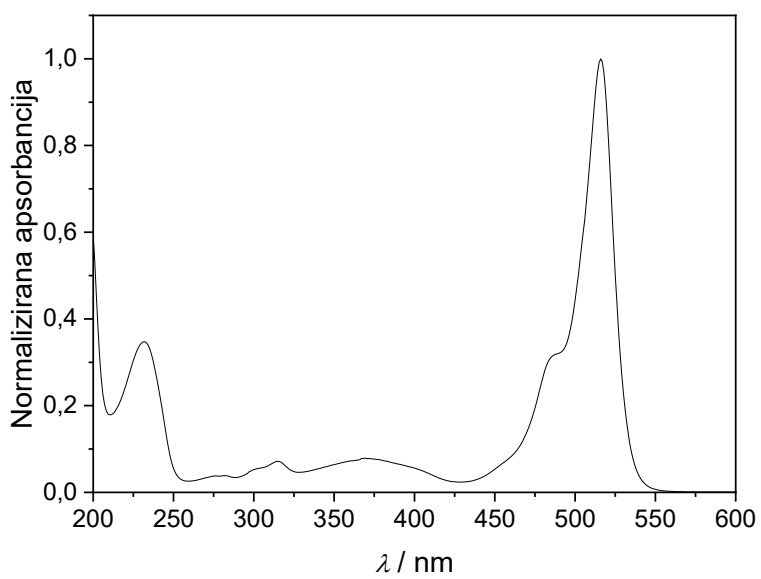
**Slika 50.** UV-Vis spektar spoja **1** u acetonitrilu.



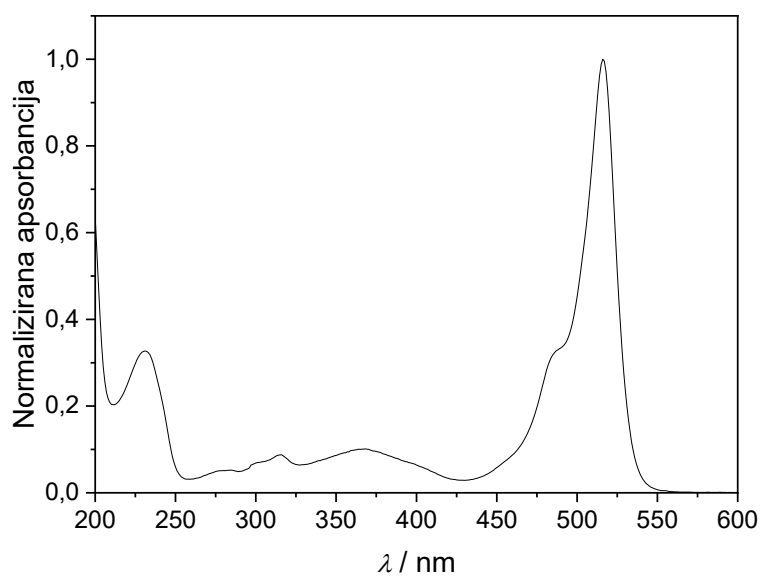
**Slika 51.** UV-Vis spektar spoja **2** u acetonitrilu.



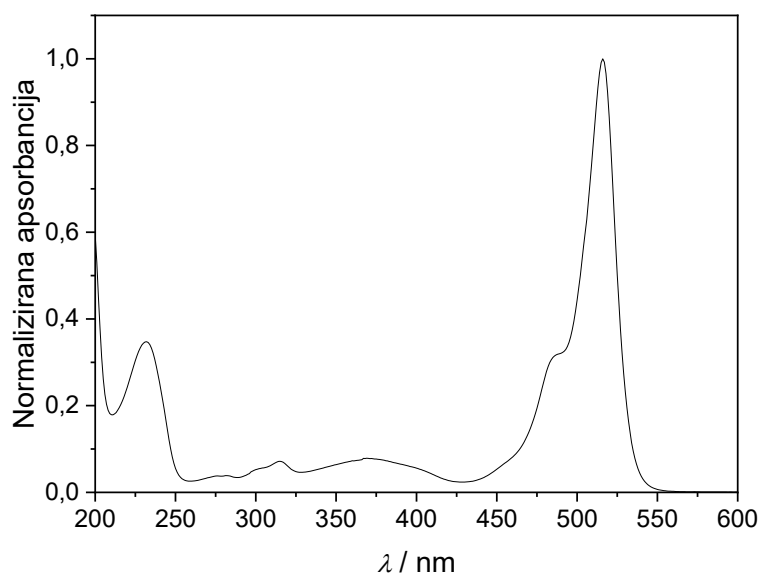
**Slika 52.** UV-Vis spektar spoja **3** u acetonitrilu.



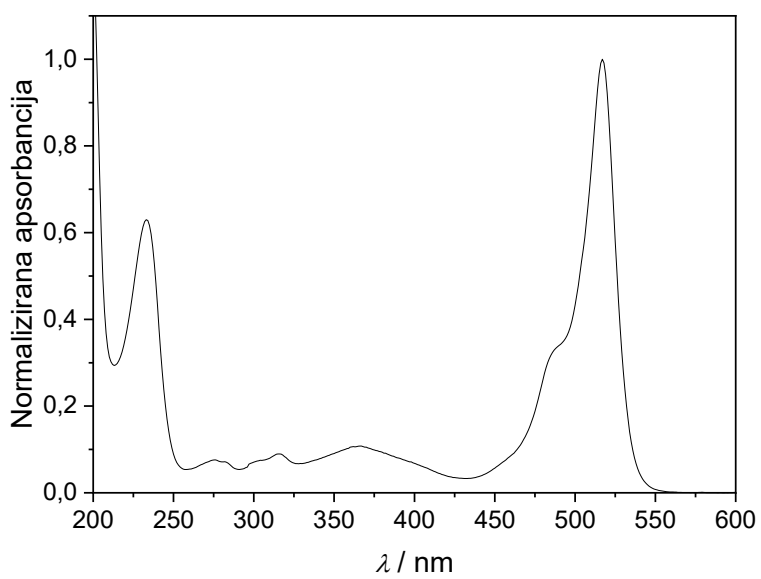
**Slika 53.** UV-Vis spektar spoja **4** u acetonitrilu.



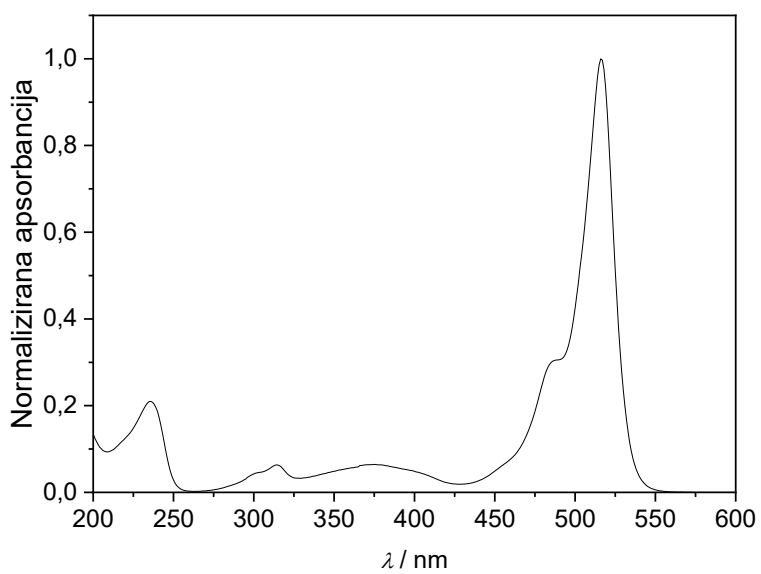
**Slika 54.** UV-Vis spektar spoja **5** u acetonitrilu.



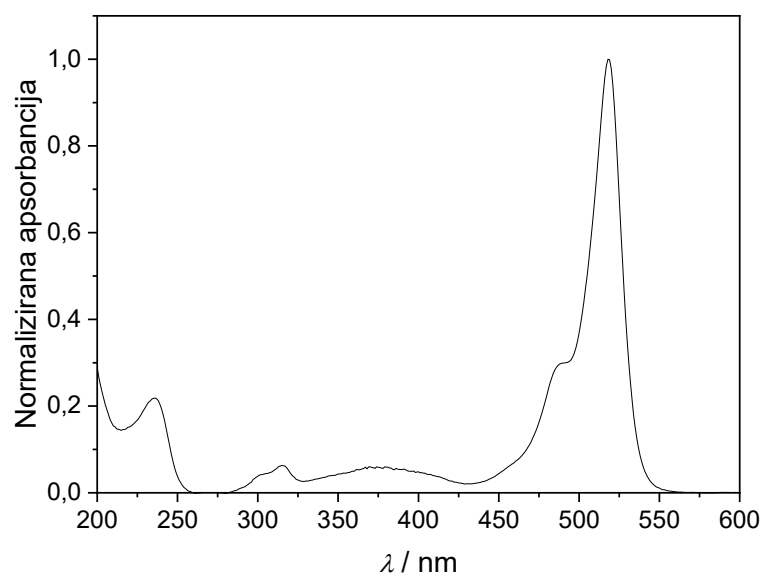
**Slika 55.** UV-Vis spektar spoja **6** u acetonitrilu.



**Slika 56.** UV-Vis spektar spoja **7** u acetonitrilu.

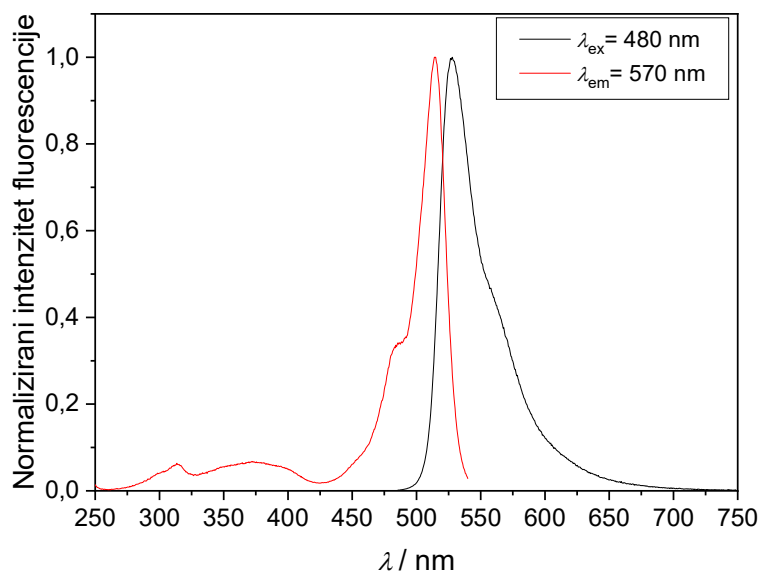


**Slika 57.** UV-Vis spektar spoja **8** u acetonitrilu.

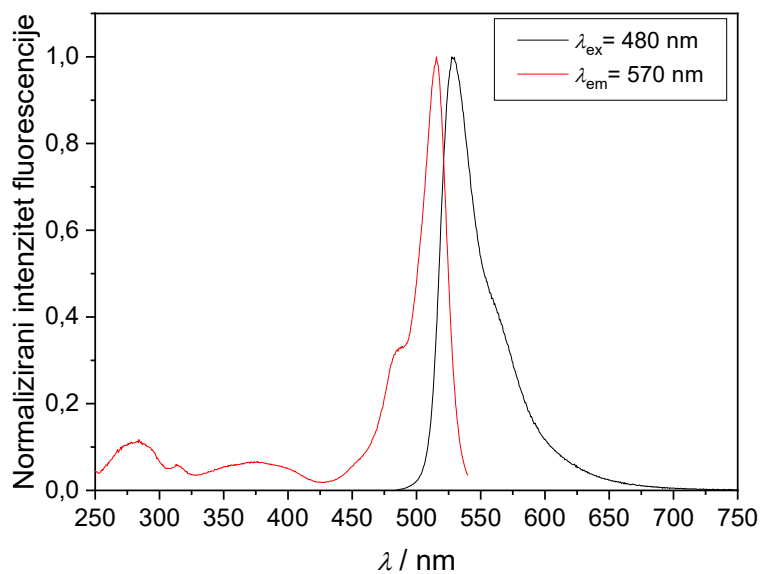


**Slika 58.** UV-Vis spektar spoja **9** u acetonitrilu.

## Fluorescencijski spektri

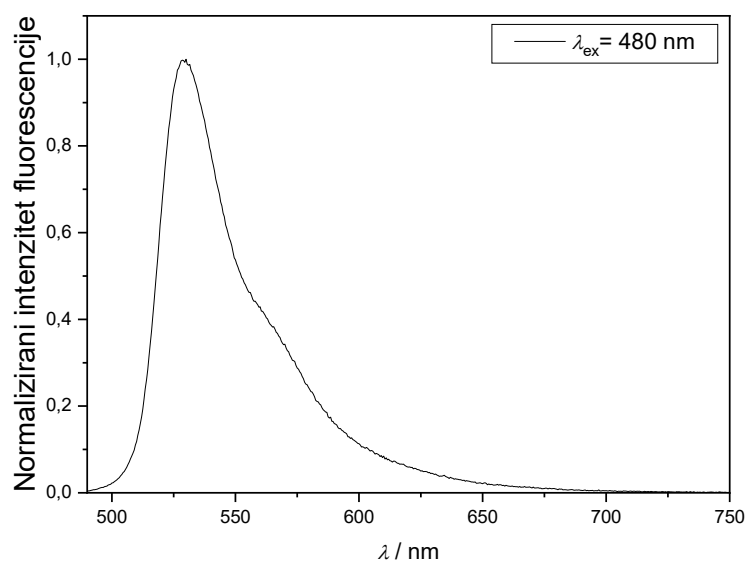


Slika 59. Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **1** u acetonitrilu.

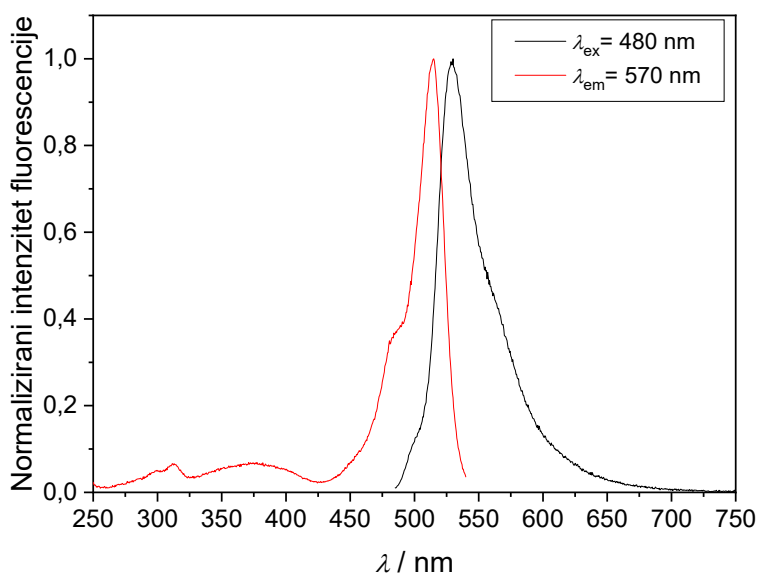


Slika 60. Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **2** u acetonitrilu.

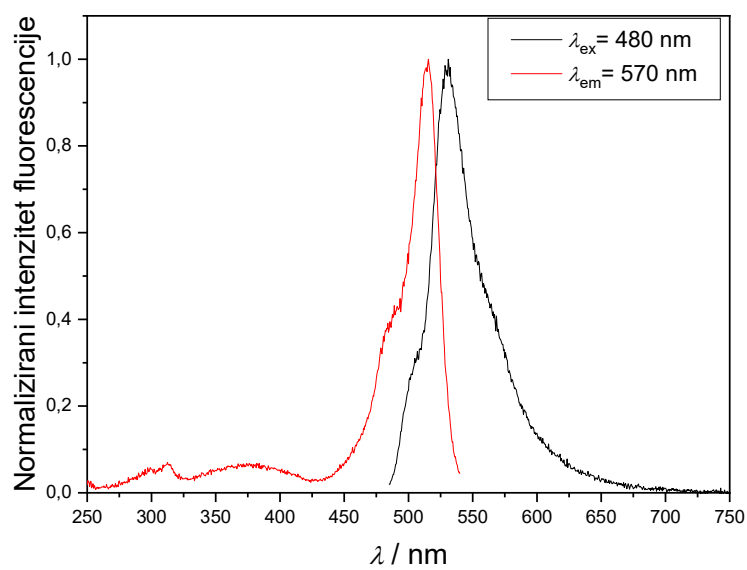




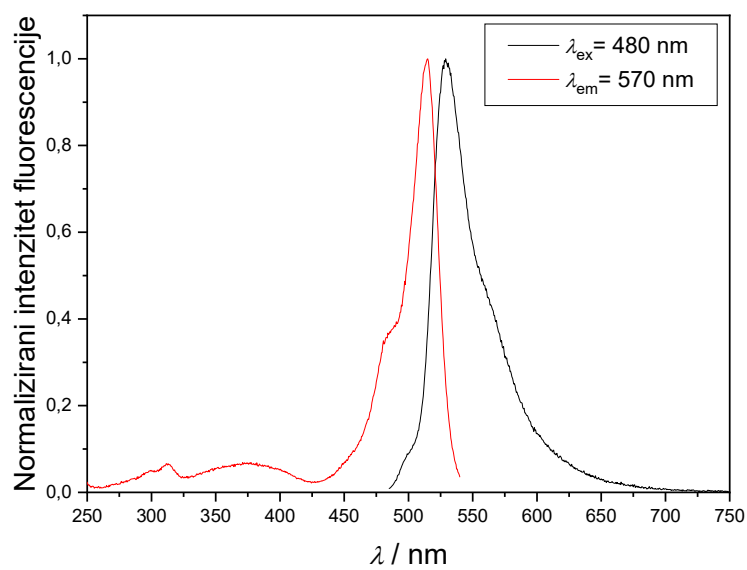
**Slika 61.** Emisijski spektar spoja **3** u acetonitrilu.



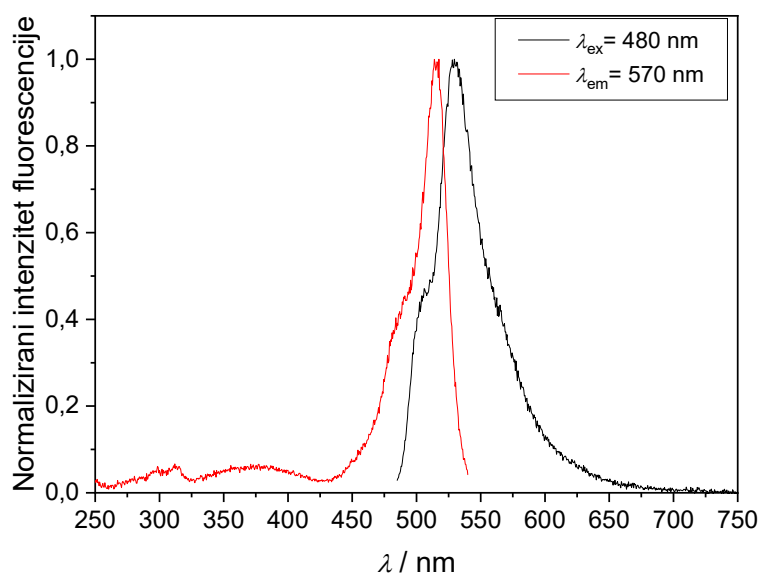
**Slika 62.** Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **4** u acetonitrilu.



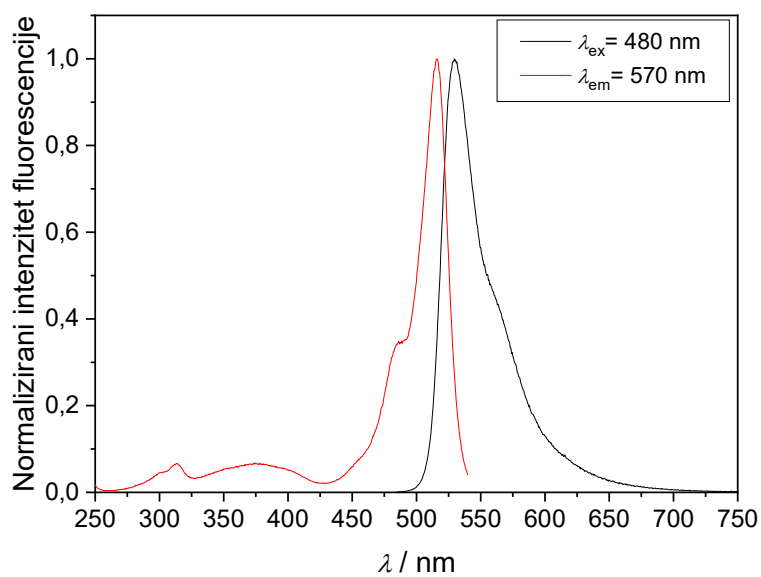
**Slika 63.** Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **5** u acetonitrilu.



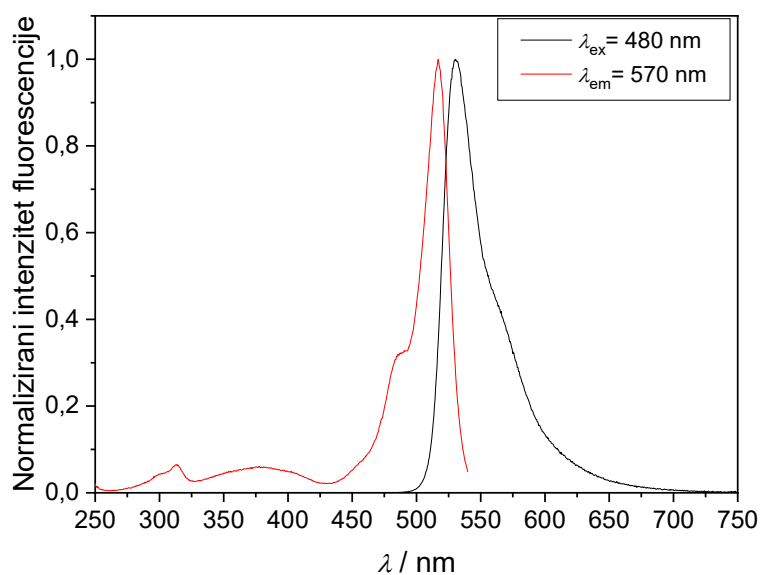
**Slika 64.** Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **6** u acetonitrilu.



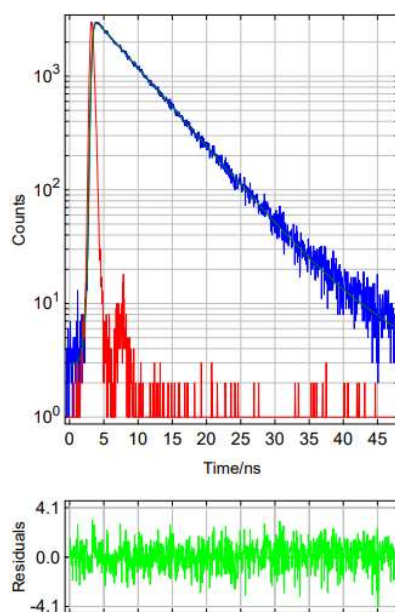
**Slika 65.** Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **7** u acetonitrilu.



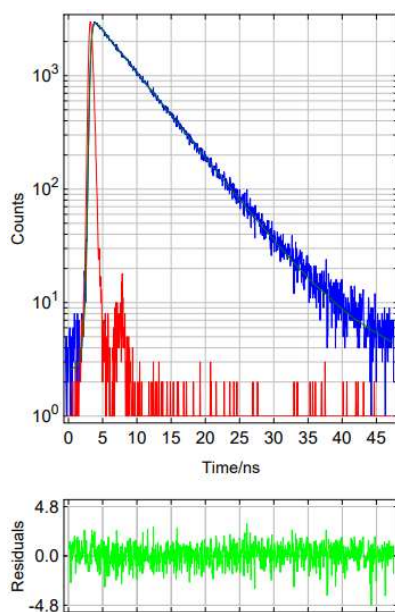
**Slika 66.** Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **8** u acetonitrilu.



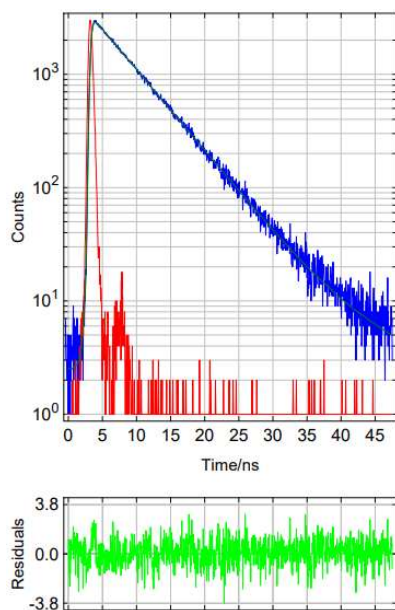
**Slika 67.** Ekscitacijski i emisijski spektar spoja **9** u acetonitrilu.



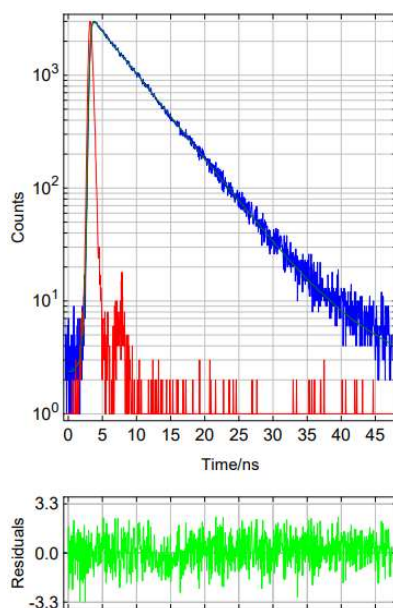
**Slika 68.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **1** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu monoeksponencijalnog opadanja (dolje).



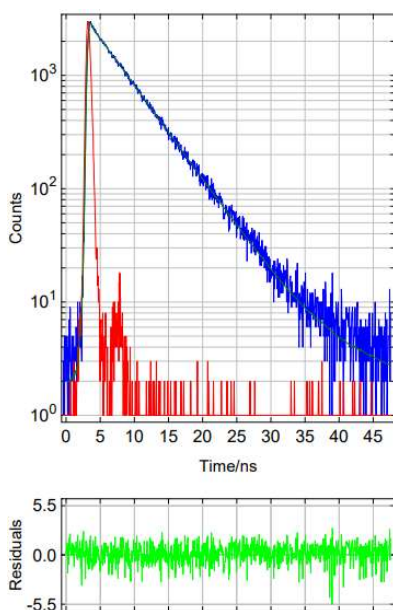
**Slika 69.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **2** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu monoeksponencijalnog opadanja (dolje).



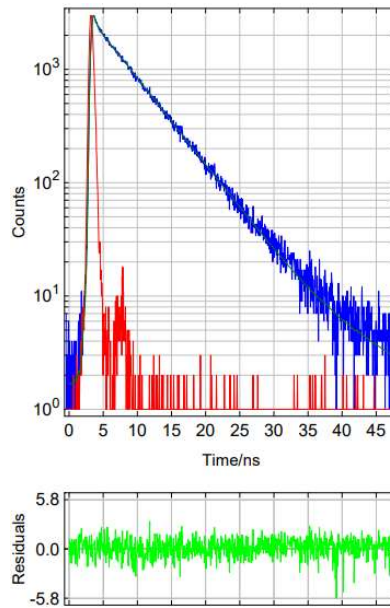
**Slika 70.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **3** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu monoeksponencijalnog opadanja (dolje).



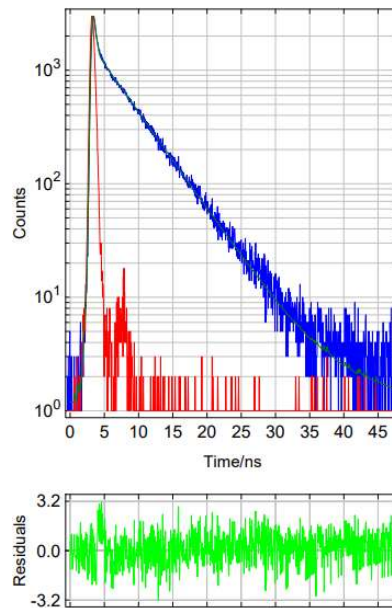
**Slika 71.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **4** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu dvoeksponencijalnog opadanja (dolje).



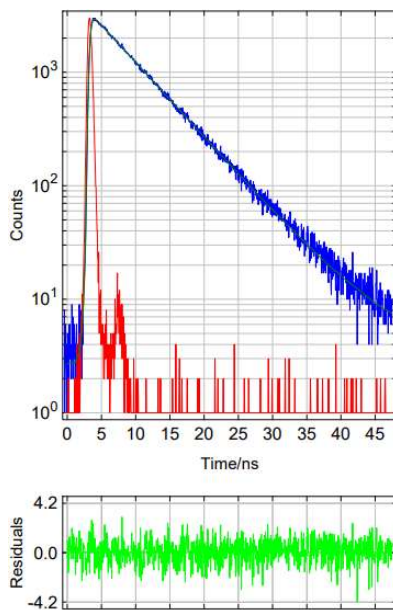
**Slika 72.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **5** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu dvoeksponencijalnog opadanja (dolje).



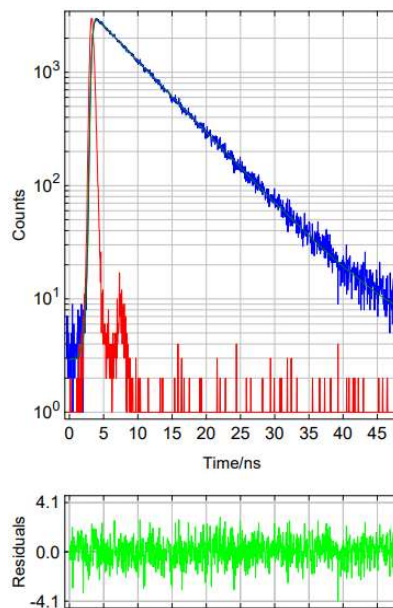
**Slika 73.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **6** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu dvoeksponecijalnog opadanja (dolje).



**Slika 74.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **7** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu dvoeksponecijalnog opadanja (dolje).



**Slika 75.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **8** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu monoeksponencijalnog opadanja (dolje).



**Slika 76.** Opadanja intenziteta fluorescencije spoja **9** u acetonitrilu dobiven tehnikom TC-SPC uz pobudu pri  $\lambda = 450$  nm i detekciju emisije pri  $\lambda = 530$  nm (gore), razlika eksperimentalnih podataka i računskim utočnjavanjem prema modelu monoeksponencijalnog opadanja (dolje).



## Životopis

████████████████████ Osnovnu školu završio sam 2012. godine i upisao jezičnu XVIII. gimnaziju u Zagrebu. Maturirao sam 2016. godine, a 2017. godine upisao sam preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu sam odradio u Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju Zavoda za organsku kemiju i biokemiju Instituta Ruđer Bošković pod mentorstvom dr. sc. Nikole Basarića. Preddiplomski studij završio sam obranom završnog rada pod mentorstvom prof. dr. sc. Irene Škorić i komentorstvom dr. sc. Marije Alešković u srpnju 2020. godine te iste godine upisao diplomski studij Primijenjena kemija, modul Primijenjena organska kemija. U Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju bavio sam se znanstvenim radom tokom cijelog diplomskog studija. Dobitnik sam Rektorove nagrade za individualni znanstveni rad pod naslovom „Sinteza fotokemijskih reaktivnih BODIPY spojeva s potencijalnom primjenom u liječenju karcinoma“ u akademskoj godini 2020./2021. Sudjelovao sam na XIV. susretu mladih kemijskih inženjera 2022. s posterskim priopćenjem pod naslovom „Sinteza fotokemijski reaktivnih etinilfenolnih BODIPY spojeva s potencijalnom primjenom za liječenje karcinoma“. Jedan sam od koautora znanstvenog rada naslova „Synthesis, photophysical properties, anti-Kasha photochemical reactivity and biological activity of vinyl- and alkynyl-BODIPY derivatives“ objavljenog u časopisu *Tetrahedron*. U zadnjem semestru diplomskog studija bio sam na Erasmus+ stručnoj praksi u periodu od 30. 5. – 9. 9. 2022. u Laboratory for organic synthesis (professor Wim Dehaen, head of department), KU Leuven, Faculty of Science, Department of Chemistry, Belgium, gdje sam se bavio supramolekularnom kemijom, točnije sintezom heterocikličkih analoga pilar[n]arena.