

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Jan Bartoň

Bifunkční BODIPY pro optické značení biomolekul

Bifunctional BODIPY for optical labelling of biomolecules

Bakalářská práce

Vedoucí: Doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Petr Cígler, Ph.D.

Květen, 2013

Praha

Projekt byl financován z grantu GAČR číslo P108/12/0640.

Tento dokument byl vysázen programem L^AT_EX 2_ε
<http://www.latex-project.org>.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně, a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 30.5.2013

Podpis

Poděkování

Na prvním místě bych rád poděkoval KSICHTu, bez jehož přičinění bych nestudoval na Přírodovědecké fakultě UK. Velké díky patří mému vedoucímu Honzovi, který mě trpělivě provázel při práci s barvičkami. Díky patří Petrovi a Petrovi, kteří mě svým kritickým pohledem na věc vraceli zpátky na zem.

Děkuji malému a velkému labu za skvělý kolektiv a atmosféru, obzvláště pak malému labu za výdrž s mými začátky práce s barvičkami, které se jen velmi neochotně držely v baňce. . .

Děkuji Sandrovi a Ondrovi, kteří odolávali velkému náporu dotazů a také mi na ně ochotně odpovídali. Obzvláště pak za radu s TLC a jeho zakřivením v času a prostoru. Tímto se také omlouvám velké Soni za její modro-zeleno-oranžový štoff a děkuji, že mě nezpůsobila žádnou fyzickou újmu.

Díky patří mým rodičům, kteří mě vychovali, podporovali v mém snažení a umožnili mi studium. Přítelkyni za podporu nejen při psaní, laborování a za korekturu *češtinu*. Také ŠsŠ za víkendy, při kterých jsem si vždy odpočinul, ač to tak zpravidla nevypadalo.

Velké díky patří mému bratrovi, který ochránil mé duševní zdraví tím, že mě naučil v $\text{L}^{\text{A}}\text{T}_{\text{E}}\text{X}$ u a usnadnil tak vznik této práce.

A Honzovi za mnohé cesty vlakem. . .

Sláb jenom ten,
kdo v sebe ztratil víru,
a malý ten, kdo zná jen malý cíl.
Svatopluk Čech

Abstrakt

V této práci byl připraven ve vodě rozpustný derivát BODIPY s aktivní skupinou umožňující připojení dalších skupin. Cílová aplikace tohoto bifunkčního bioortogonálního derivátu BODIPY je fluorescenční značení biomolekul využitelné v molekulární biologii a biochemii.

Hlavní náplní této práce byla optimalizace syntézy BODIPY jádra a sulfonace BODIPY v polohách 2,6. Bylo zjištěno, že sodná sůl sulfonovaného BODIPY je nevhodná pro další derivatizaci BODIPY z důvodu omezené rozpustnosti v méně polárních rozpouštědlech než methanol. Na základě tohoto zjištění byla připravena ethyldiisopropylamonná sůl sulfonovaného BODIPY, která je velmi dobře rozpustná v polárních i nepolárních rozpouštědlech. Tyto poznatky budou využity při syntéze bifunkčního ve vodě rozpustného derivátu BODIPY. Byl potvrzen potenciál palladnatého komplexu BODIPY pro detekci CO.

Klíčová slova BODIPY, bifunkční, rozpustné ve vodě, fluorescenční sonda, fluorescence, značení proteinů, solubilizace

Abstract

The water-soluble derivate of BODIPY was prepared, which will be further modified in order to prepare bioorthogonal bifunctional BODIPY. Target application of this derivate is fluorescent probe for labelling of biomolecules.

Main goals of this thesis were optimalization of synthesis of BODIPY core and sulfonation to positions 2,6. It was found out that sodium salt of sulfonated BODIPY shows good solubility in water and methanol, but it is poorly soluble in less polar solvents. Based on these findings DIPEA salt of sulfonated BODIPY was prepared, which shows outstanding range of solubility from water to dichlormethane. These findings will be used for synthesis of bifunctional water-soluble BODIPY. Further, the potential of Pd-BODIPY complex for detection of CO was reasserted which will be further investigated.

Keywords BODIPY, bifunctional, water-soluble, fluorescent probe, fluorescence, protein labelling, solubilization

Obsah

1 Úvod	1
1.1 Motivace	1
1.2 Cíle práce	3
I Teoretická část	5
2 Vlastnosti BODIPY	6
2.1 Základní vlastnosti	6
2.2 Rozpustnost ve vodě	7
2.3 Stabilita	8
3 Syntéza BODIPY jádra	9
3.1 Syntéza symetrického BODIPY	9
3.1.1 α,β -nesubstituované BODIPY jádro	9
3.1.2 Příprava z pyrrolů a aldehydů	11
3.1.3 Kondenzace pyrrolů s acylchloridy nebo anhydridy	11
3.1.4 Katalýza POCl ₃	12
3.1.5 Symetricky substituované BODIPY z ketopyrrolu	13
3.2 Příprava nesymetricky substituovaného BODIPY	14
3.3 Modifikace BODIPY jádra	14
3.3.1 Elektrofilní substituce do poloh 2,6	14
3.3.2 Substituce fluoru	16
4 Aplikace BODIPY	17
4.1 Chemie, biochemie, biologie	17

4.2	Medicína	17
4.3	Fyzika, elektronika	18
II	Praktická část	19
5	Použité analytické metody	20
5.1	Všeobecné informace	20
5.2	NMR spektroskopie	20
5.3	Hmotnostní spektrometrie	21
5.4	TLC	21
5.5	UV/VIS - absorpce, fluorescence	21
5.6	Rentgenostrukturní analýza	21
6	Syntéza BODIPY	22
6.1	Syntéza BODIPY jádra	22
6.1.1	Oxidace 4-(chlormethyl)benzalkoholu (I)	22
6.1.2	Syntéza BODIPY jádra (II) z aldehydu	24
6.1.3	Syntéza BODIPY jádra (II) z acylchloridu	24
6.2	Sulfonace BODIPY	26
6.2.1	Sulfonace BODIPY, sodná sůl (IIIa)	26
6.2.2	Sulfonace BODIPY, ethyldiisopropylamonná sůl (IIIb)	27
6.3	Alkylace a komplexace BODIPY	28
6.3.1	Alkylace dimethylaminu nesulfonovaným BODIPY (IV)	28
6.3.2	Komplexace nesulfonovaného BODIPY (V)	29
6.4	Alkylace a komplexace sulfonovaným BODIPY	30
6.4.1	Alkylace dimethylaminu sulfonovaným BODIPY (VIIa)	31
6.4.2	Pokus o komplexaci sulfonovaného BODIPY (VIIIa)	31
6.4.3	Pokus o alkylaci propargylaminu sulfonovaným BODIPY (IXa)	32
7	Diskuze	33
7.1	Syntéza BODIPY jádra	33
7.1.1	Syntéza BODIPY jádra z aldehydu	34

7.1.2	Syntéza BODIPY jádra z benzoylchloridu	35
7.2	Sulfonace BODIPY	36
7.3	Alkylace a komplexace BODIPY	37
8	Závěr	39
III	Přílohy	43
	2D NMR	44
	Rengenostrukturní data	48
	Seznam zkratk	49

1 | Úvod

1.1 Motivace

Rozvoj molekulárních zobrazovacích technik v posledních dvou dekadách vyvolal velkou poptávku po molekulárních senzorech.¹ Běžně dostupnými metodami se stala konfokální mikroskopie, dvoufotonová mikroskopie, epifluorescenční mikroskopie atd.

Poslední desetiletí je intenzivně studována oblast fluorescenčních sond. Sondou rozumíme chemickou látku, jejíž spektrální projev odráží koncentraci nebo proměnu chování analytu. V navrhování fluorescenčních sond vidíme nevyčerpaný potenciál, který vnímáme jako velkou výzvu. Jedná se o syntézu ve vodě rozpustných sond schopných monitorování buněčných procesů. Malé fluorescenční sondy jsou vhodné pro selektivní a bioortogonální (reagující pouze se skupinami, pro které byly navrženy, vůči biomolekulám se obecně chovají inertně) monitorování vybraných molekul, proteinů či fragmentů DNA.

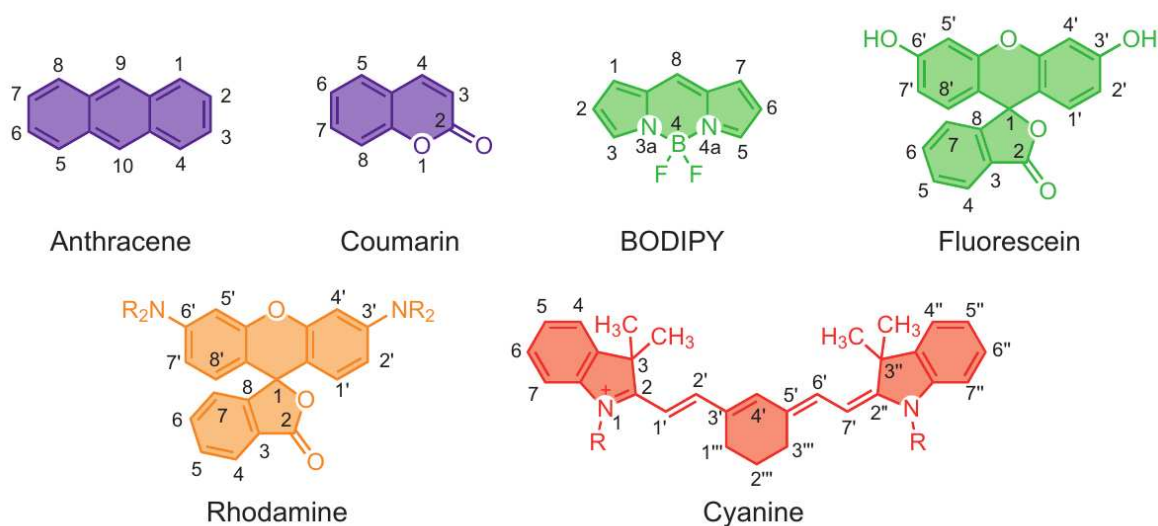
Malé fluorescenční sondy musí splňovat co nejvíce z níže uvedených požadavků:^{2,3}

- rozpustnost ve vodě
- chemoselektivnost
- odolnost proti chemikáliím
- jasnost barvy
- vysoké kvantové výtěžky
- biokompatibilita
- definovaná stechiometrie
- fotochemická stabilita
- stabilita za fyziologických podmínek
- dostatečný rozdíl mezi λ_{abs} a λ_{em} , alespoň 10 – 15 nm
- vhodná vlnová délka λ_{abs} a λ_{em} v rozmezí 600 – 1000 nm

Při výběru 4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenu (BODIPY) mezi ostatními fluorescenčními indikátory (Obrázek 1.1) rozhodovaly především široké možnosti post-syntetické derivatizace BODIPY jádra, laditelnost fluorescenčních charakteristik a kvantových výtěžků.

Nezanedbatelná byla také při této volbě velikost molekuly, absorpce ve vhodné oblasti UV/VIS, ostrý fluorescenční emisní pík, vysoké kvantové výtěžky a vysoká stabilita ve fyziologickém prostředí. Mezi nevýhody patří nižší stabilita v silně kyselém prostředí a zdlouhavá separace produktů při přípravě BODIPY jádra.

Další motivací je fakt, že z literatury je známo pouze několik ve vodě velmi dobře rozpustných derivátů BODIPY. Tyto deriváty využívají rozvětvených oligo etherů nebo sulfonových skupin.⁴⁻⁶ Bioortogonální bifunkční BODIPY deriváty dobře rozpustné ve vodě zatím nebyly v literatuře popsány a představují syntetickou výzvu.



Obrázek 1.1: Přehled běžně používaných fluorescenčních indikátorů.²

1.2 Cíle práce

Z výše uvedených požadavků na fluorescenční sondy vyplynuly následující cíle této práce:

Teoretická část

- Popsat vlastnosti BODIPY s ohledem na syntetické postupy a aplikaci v biologických systémech.
- Shrnout dostupné syntetické přístupy syntézy BODIPY jádra a ukázat možné způsoby zavádění funkčních skupin.
- Vytvořit přehled možných aplikací BODIPY nejen v biologických systémech.

Praktická část

- Optimalizovat syntézu BODIPY jádra, vytvořit efektivní a časově nenáročnou metodu separace produktu.
- Připravit ve vodě rozpustné BODIPY sulfonací BODIPY jádra.
- Derivatizovat sulfonované BODIPY a připravit bioortogonální fluorescenční sondu.
- Změřit fluorescenční vlastnosti připravených BODIPY derivátů.
- Zreprodukovat popsanou syntézu sondy selektivní vůči CO.

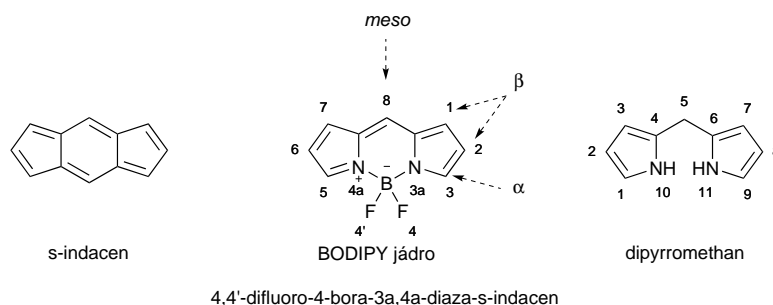
Část I

Teoretická část

2 | Vlastnosti BODIPY

Strukturní motiv 4-bora-3a,4a-diaza-*s*-indacenu, dále jen BODIPY, poprvé náhodou připravili Treibs a Kreuzer v roce 1968.⁷ Jedná se o fluorescenční barviva, která v posledním desetiletí procházejí renesancí. Vzhledem k exponenciálně vzrůstajícímu počtu publikací a připravených sloučenin vznikla potřeba shrnout pokrok v oblasti fluorescenčních indikátorů. V posledních letech bylo publikováno několik přehledných prací,^{1,3} jež obsáhlým způsobem vyjmenovávají připravené sloučeniny.

Vzhledem k vysoké publikační činnosti může být zarážející, že komerčně dostupných je pouze několik desítek derivátů BODIPY (Sigma-Aldrich, Invitrogen). Jedná se zpravidla o monofunkční barviva, derivatizovaná v polohách 1,2,3 (resp. 5,6,7), mající limitované možnosti modifikace.



Obrázek 2.1: Název a číslování BODIPY.

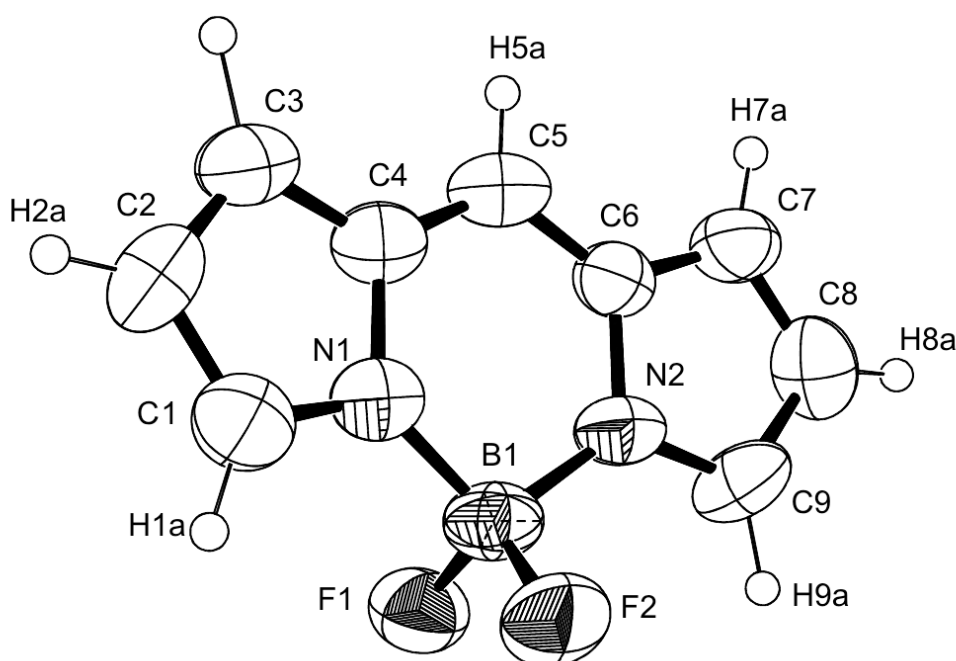
2.1 Základní vlastnosti

BODIPY barvivo se skládá z dipyrromethenového ligandu, který komplexuje disubstituovaný bór, obvykle skupinu BF_2 . Komplexací bóru se systém stává planární, rigidní a nedochází k další tvorbě „*N*-confused“ dipyrrolů.

Rentgenová struktura krystalu (Obrázek 2.2) nesubstituovaného BODIPY ukazuje planarizaci kondenzovaného šestičlenného cyklu se dvěma pětičlennými pyrrolovými cykly, která

způsobuje silnou delokalizaci π -elektronů. Průměrná délka vazby mezi N_1-C_1 naznačuje charakter dvojné vazby na rozdíl od vazby N_1-C_4 , odpovídající jednoduché vazbě. Delokalizace je oslabena mezi B–N vazbami, kde je také pozorována odchylka od roviny „s-indacenu“ o $4,8^\circ$ ($4,3^\circ$)⁸ a atomy fluoru se mírně liší ve vzdálenosti vazeb od bóru. Dusíkové atomy vytvářejí mírnou polarizaci skeletu, což způsobuje různou reaktivitu reakčních míst, např. dochází k elektrofilní substituci v polohách 2 a 6.⁹

BODIPY jádro se vyznačuje následujícími vlastnostmi: vysoké molární extinkční koeficienty (obvykle oblast od $4-8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), úzké absorpční a emisní píky (pásky) v oblasti 480 – 550 nm, vysoké kvantové výtěžky (obvykle $\Phi_F > 0,60$), dostatečně dlouhé časy doby života fluorescence (τ v řádech ns), malý Stokesův posun (rozmezí 10 – 30 nm). BODIPY skelet vyniká teplotní a fotochemickou stabilitou, odolností vůči samoagregaci a relativní necitlivostí vůči změně pH nebo polaritě.^{1,10-12}



Obrázek 2.2: Rentgenová struktura BODIPY jádra.¹²

2.2 Rozpuštění ve vodě

BODIPY deriváty vykazují dobrou rozpustnost v organických rozpouštědlech, nikoliv však ve vodě. Jádro BODIPY, stejně jako jádra dalších vhodných fluorescenčních sond (Obrázek 1.1), je silně nepolární. Obvykle se pro zvýšení rozpustnosti využívá navázání delších hydrofilních řetězců nebo funkčních skupin. Jedná se například o PEG, *N,N*-bis(2-hydroxyethyl) aminy, sacharidy či nukleotidy. Mezi často používané hydrofilní skupiny patří též estery, aminy a karboxylové popřípadě sulfonové kyseliny, resp. jejich soli.⁴

Nedávno byla provedena studie porovnávající vliv hydrofilních funkčních skupin (aminové, karboxylové, fosfonové, sulfonové, PEG) na rozpustnost při fyziologickém pH.¹³ Vhodným výběrem funkčních skupin BODIPY lze připravit BODIPY pro různé aplikace v buňce (různá prostupnost buněčnými membránami).

2.3 Stabilita

Stabilita BODIPY jádra, respektive dipyrrolů, není v bazickém prostředí omezena. V hydroxidu amonném nebyl pozorován rozklad ani při zvýšené teplotě po několika dnech. V kyselém prostředí není BODIPY jádro stabilní, rozkládá se v přítomnosti silné kyseliny (HCl) po několika minutách, v trichloroctové kyselině během hodin a v dichloroctové kyselině v průběhu dnů. Stabilitu je možné zvýšit vhodnou substitucí 4,4-difluoridu (F-BODIPY), například za 4,4-difenyl (C-BODIPY). V dichloroctové kyselině se 4,4-difluorid BODIPY rozloží za 24 h z 8%, u 4,4-difenyl BODIPY nebyl za stejných podmínek pozorován rozklad.¹⁴

3 | Syntéza BODIPY jádra

Při syntéze BODIPY jádra lze využít dobře prozkoumané chemie porfyrinů.^{15,16} Nesubstituované BODIPY jádro (Obrázek 2.2) se nedařilo dlouho připravit. V roce 2008 bylo zároveň připraveno třemi různými způsoby^{8,9,12} a charakterizováno: $\lambda_{\text{abs}} = 503 \text{ nm}$ a $\lambda_{\text{em}} = 512 \text{ nm}$, $\varepsilon = 5 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\Phi_{\text{F1}} = 90 \%$, $\tau_{\text{F1}} = 7,2 \text{ ns}$, rozklad při teplotě $> 50 \text{ }^\circ\text{C}$. Získané informace byly použity pro zpřesnění teoretických výpočtů. Není známo použití nesubstituovaného BODIPY pro další syntézu, proto jeho syntéza nebude dále probírána.

3.1 Syntéza symetrického BODIPY

Symetrické BODIPY, substituované v poloze 8 (*meso*), je připravitelné kondenzací pyrrolů s aldehydy, anhydridy nebo acylchloridy. Dipyrrromethen je poté převeden na BODIPY pomocí terciární báze (triethylamin, DIPEA) a $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Uhlíky v polohách 3,5 je vhodné substituovat¹⁷ pro vyhnutí se následné polymerizaci. BODIPY s arylovým substituentem v *meso* poloze často vykazuje vyšší stabilitu v porovnání s nesubstituovanými analogy. Všeobecně se jedná o reprodukovatelné „one-pot“ syntézy s dvěma až třemi kroky a vysokými výtěžky (30 – 50 %). Arylový substituent lze velmi dobře využít pro konstruování fluorescenčních sond nebo značek. BODIPY jádro je chemicky odolné vůči oxidaci, redukci a nukleofilní aromatické substituci.

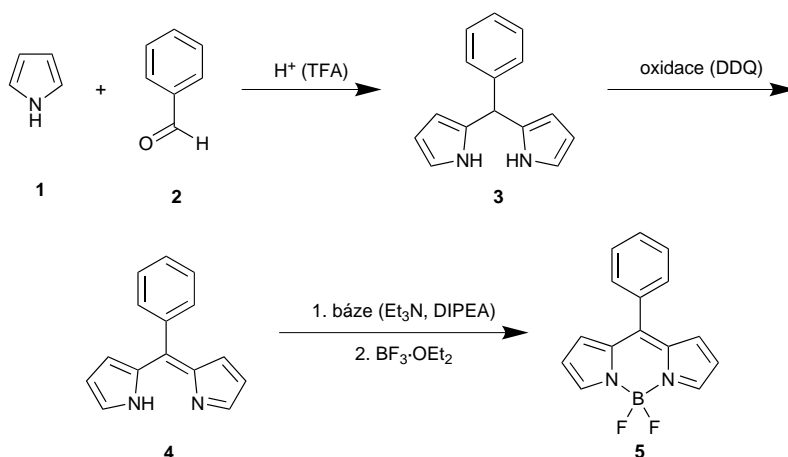
3.1.1 α,β -nesubstituované BODIPY jádro

Speciálním případem je příprava α,β -nesubstituovaného BODIPY z aryl aldehydů (3.1.2). Kondenzace s nesubstituovaným pyrrolem je často prováděna bez rozpouštědla za účelem snížení množství vedlejších produktů. Neméně důležitá je dostupnost pyrrolu a možnost jeho recyklace.^{15,16} Dipyrrromethanový intermediát lze izolovat a po oxidaci DDQ a komplexaci s fluoridem boritým získat prakticky čistý produkt.^{1,3}

Nevýhodou nesubstituovaného pyrrolu je jeho vyšší reaktivita. V důsledku toho vzniká velké množství bočních produktů, které obsahují více kondenzovaných (di)pyrrolových jednotek, jak názorně ukazuje Obrázek 3.1. Optimalizaci reakce a hledání vhodného katalyzátoru

3.1.2 Příprava z pyrrolů a aldehydů

Kysele katalyzovaná (TFA) kondenzace aldehydu **2** s pyrrolem **1** (Obrázek 3.2) vede k získání dipyrromethanu **3**. Následně je dipyrromethan oxidován na nestabilní dipyrromethen **4** pomocí 2,3,5,6-tetrachlor-1,4-benzochinonu (*p*-chloranil) nebo 2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinonu (DDQ). Následuje komplexace fluoridu boritého, která vede ke sloučenině **5** s vysokými výtěžky.³

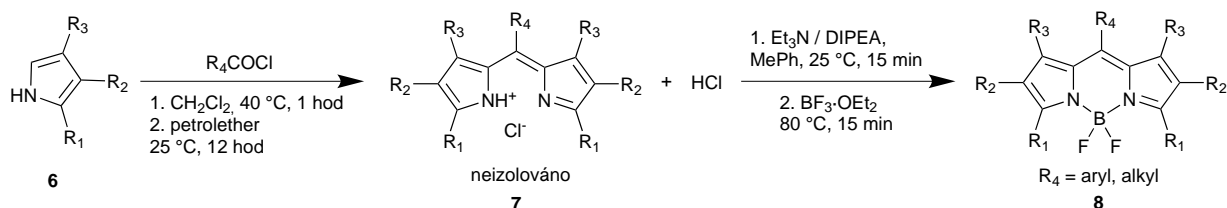


Obrázek 3.2: Kondenzace pyrrolu s aromatickým aldehydem.

Substituovaný pyrrol omezuje boční polymerizační reakce. Pro reakci není nutné jej používat v nadbytku. Při použití DDQ jsou popsány větší výtěžky, *p*-chloranil umožňuje použití mírnějších podmínek. Použití oxidačních činidel způsobuje vznik většího množství vedlejších produktů, jež je nutno odstranit. Zpravidla kvůli větší stabilitě **5** je reakční směs separována až po komplexaci s fluoridem boritým. Reakce využívající alifatických aldehydů nejsou v literatuře popsány, pravděpodobně je reakční intermediát příliš reaktivní.¹

3.1.3 Kondenzace pyrrolů s acylchloridy nebo anhydridy

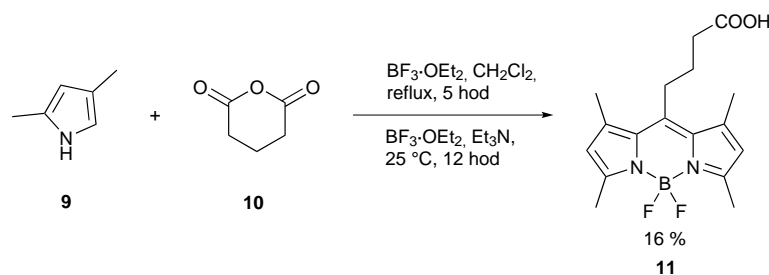
Reakcí různě substituovaného pyrrolu s acylchloridy (Obrázek 3.3) nebo anhydridy (Obrázek 3.4) lze s vysokými výtěžky připravit BODIPY **8** s aryl i alkylsubstituentem v *meso* poloze.³ Je popsána kondenzace pyrrolu s triethyl orthoacetátem se 73% výtěžkem.¹⁸ Reakčním intermediátem je nestabilní dipyrromethenová sůl **7**. S rostoucí délkou (velikostí) uhlíkatých substituentů roste



Obrázek 3.3: Syntéza BODIPY z acylchloridu a pyrrolu.

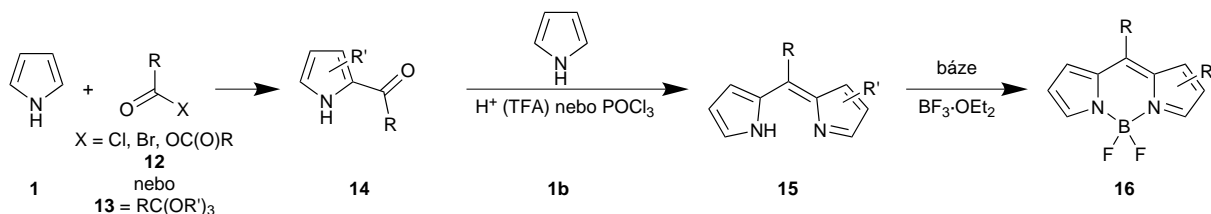
stabilita intermediátů, se kterými lze snadněji zacházet a čistit je. Přesto obvykle nebývají z reakčních směsí izolovány.

Dalším příkladem je reakce anhydridu kyseliny glutarové **10** s disubstituovaným pyrrolem **9**.¹⁹ Výhodou tohoto přístupu je následné využití volné karboxylové kyseliny **11** pro přichycení fluorescenční sondy k cílové molekule.



Obrázek 3.4: Kondenzace pyrrolu s anhydridem kyseliny glutarové.

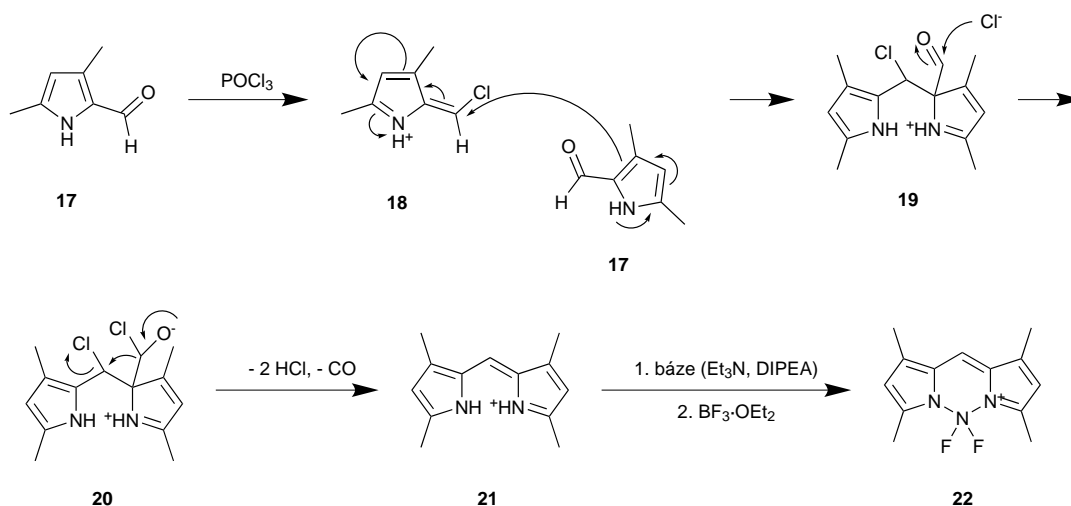
Boens popisuje kondenzaci pyrrolu **1** (Obrázek 3.5)³ víceetapově přes acylpyrrolový intermediát **14**, a jeho následnou kyselé katalyzovanou kondenzací a komplexací za vzniku **15**, resp. **16**.



Obrázek 3.5: Acylace pyrrolu následovaná kondenzací a komplexací.

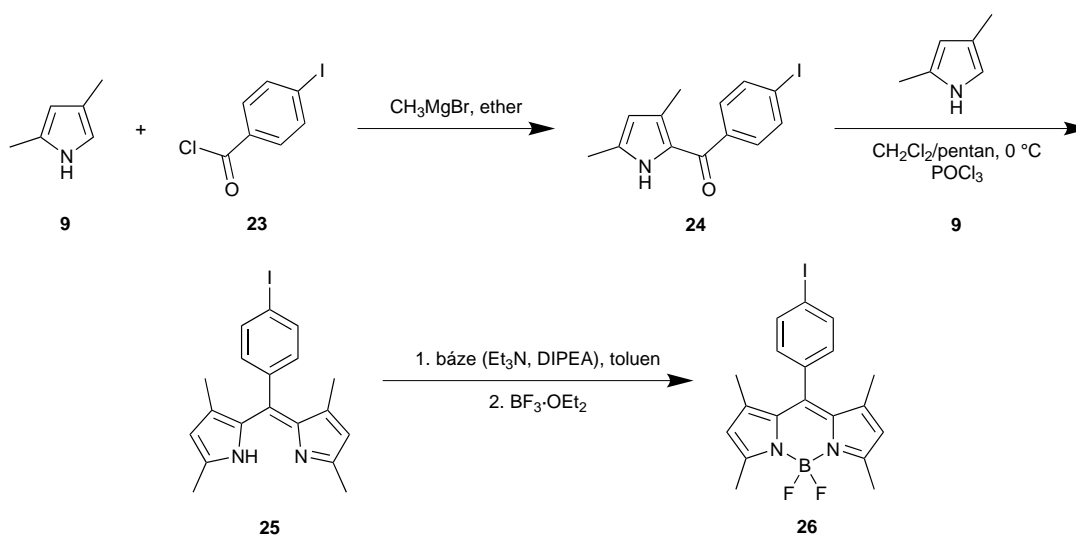
3.1.4 Katalýza POCl_3

Reakci katalyzovanou trichloridem fosforylu (POCl_3) objevili Wu a Burgess²⁰ šťastným řízením osudu, přičemž navrhli následující mechanismus (Obrázek 3.6). Trichlorid fosforylu reaguje s pyrrol-2-karbaldehydem **17** za vzniku chlorovaného azafulvenenu **18**, jenž je napaden druhou molekulou pyrrolu **17**. Vzniká požadovaný dipyrromethenový kation **21**. Dále již syntéza pokračuje obvyklými kroky (**22**). Reakce je neobvyklá a její mechanismus není zatím potvrzen. Takto upravené reakční podmínky umožňují vznik produktu s mnohem většími výtěžky ve srovnání s obvykle používanou syntézou.^{3,20}

Obrázek 3.6: Kondenzace–dekarboxylace pyrrol-2-karbaldehydu.²⁰

3.1.5 Symetricky substituované BODIPY z ketopyrrolu

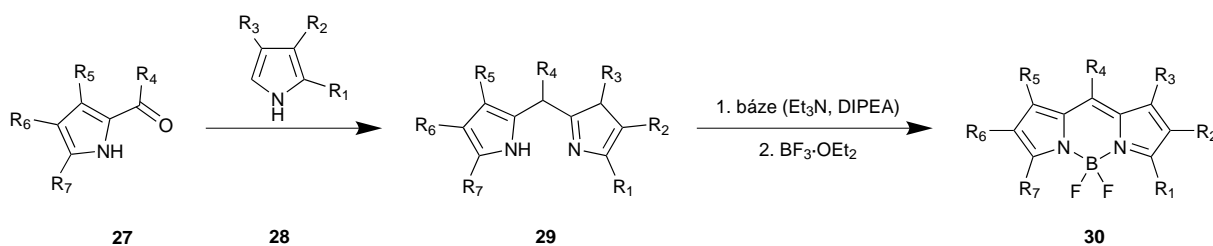
Kondenzací 2-pyrrolyl-aryl(alkyl)-ketonu **24** se (substituovaným) pyrrolem za katalýzy trichloridem fosforu lze připravit nesymetricky i symetricky substituované BODIPY s vysokými výtěžky (Obrázek 3.7). Přibývá reakční krok a separace **24** pyrrolylketonového meziprojektu. Méně stabilní dipyrromethenový meziprodukt **25** je možné separovat, což však vede k nižším výtěžkům.^{1,21}



Obrázek 3.7: Syntéza symetrického BODIPY z ketopyrrolu.

3.2 Příprava nesymetricky substituovaného BODIPY

Pro nesymetricky substituované BODIPY je nutné předchozí postup (3.1.5) modifikovat: kyselá katalyzovaná kondenzace mezi 2-pyrrolyl-aryl(alkyl)-ketonem **27** a α -nesubstituovaným pyrrolem probíhá za použití pyrrolu **28**, který má jiné substituenty ($R_1 - R_3$) než 2-pyrrolyl-aryl(alkyl)-keton **27** ($R_5 - R_7$) (Obrázek 3.8).²² Poté lze izolovat dipyrromethan a přidávkem terciární báze následované fluoridem boritým se získá výsledný produkt. Výtěžky jsou obecně vysoké, ale snižují se při použití méně reaktivního (elektronově deficitního) α -nesubstituovaného pyrrolu.



Obrázek 3.8: Obecné schéma syntézy asymetrického BODIPY.

3.3 Modifikace BODIPY jádra

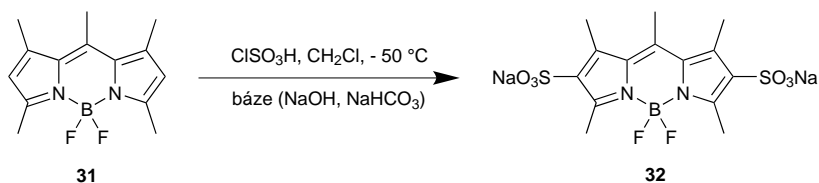
3.3.1 Elektrofilní substituce do poloh 2,6

Sulfonace

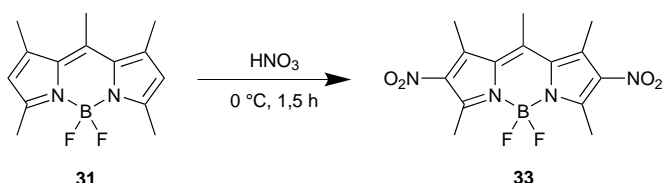
Možnost elektrofilní substituce v nesubstituovaných polohách 2,6 **31** v prostředí chlorsulfonové kyseliny za vzniku sulfonového BODIPY **32** si poprvé uvědomili Treibs a Kreuzer.⁷ Později bylo popsáno několik ve vodě rozpustných derivátů.^{5,23} Reakce byla prováděna v bezvodém prostředí, bez přístupu světla při teplotě $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Obrázek 3.9). Reprodukovatelnost reakce je přinejmenším obtížná, stejně jako separace produktu.⁶ Monosulfonované BODIPY lze připravit reakcí s 1 ekvivalentem chlorsulfonové kyseliny. Zavedení sulfonové skupiny prakticky nemění absorpční a emisní maxima, ani nesnižuje kvantové výtěžky. Dle lit.¹ jsou připravené deriváty silně fluorescenční, rozpustné ve vodě a methanolu a vykazují vyšší stabilitu než jejich prekurzory.

Nitrace

Nitrací kyselinou dusičnou při $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Obrázek 3.10) lze připravit 2,6-dinitro BODIPY **33**. Zavedení nitro skupiny snižuje kvantové výtěžky. Další přípravy nebo použití nejsou známy.²⁴



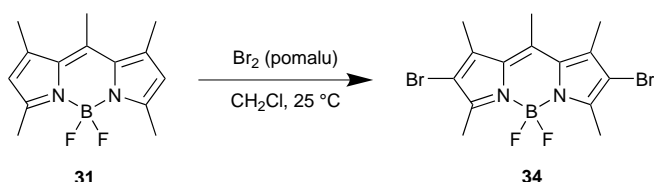
Obrázek 3.9: Sulfonace BODIPY.



Obrázek 3.10: Nitrace BODIPY.

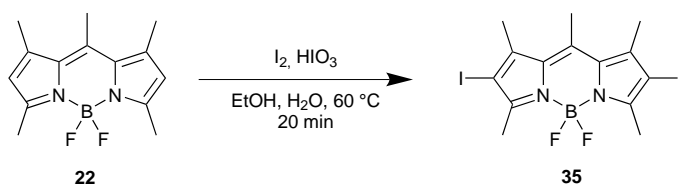
Halogenace

Bromací BODIPY jádra pomocí Br_2 ²⁴ nebo *N*-bromosuccinimidem (NBS)²⁵ lze připravit 2,6-dibrom BODIPY **34** (Obrázek 3.11). Vlivem těžkého atomu přímo na skeletu BODIPY dochází k posunu absorpčních a emisních maxim směrem k vyšším vlnovým délkám a snížení kvantových výtěžků.



Obrázek 3.11: Bromace BODIPY.

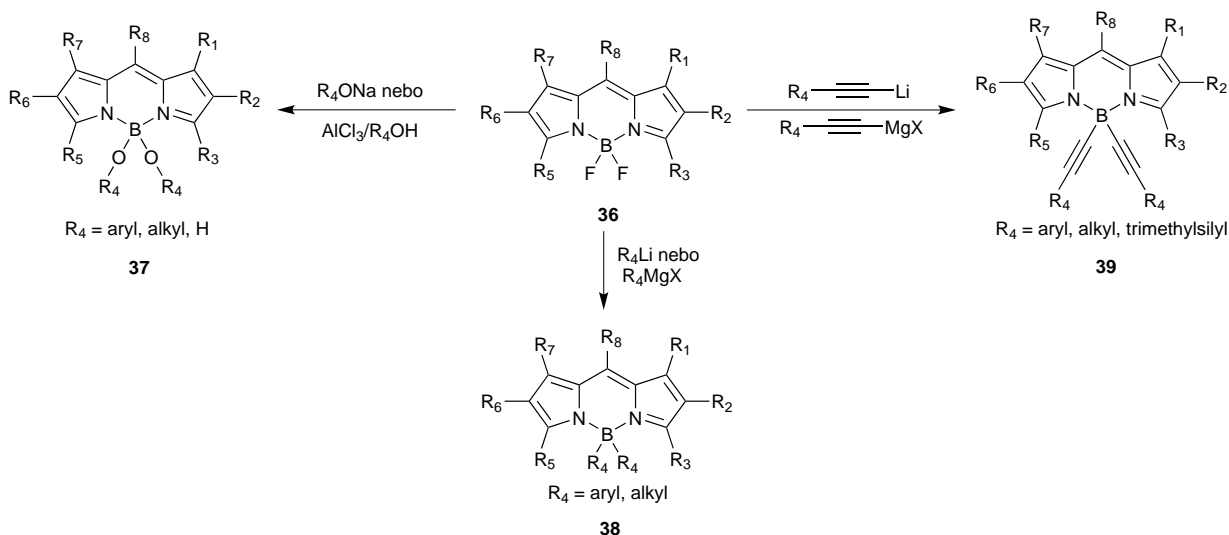
Příprava 2,6-dijod BODIPY **35** je ukázána na Obrázku 3.12.²⁶ Opět dochází k posunu absorpčních i emisních maxim do červené oblasti, ale zároveň i k potlačení fluorescenčních kvantových výtěžků ($\Phi = 0,02$). Byly popsány také 2,6-difluor a 2,6-dichlor BODIPY. Jejich syntéza však není v literatuře uvedena.¹



Obrázek 3.12: Jodace BODIPY.

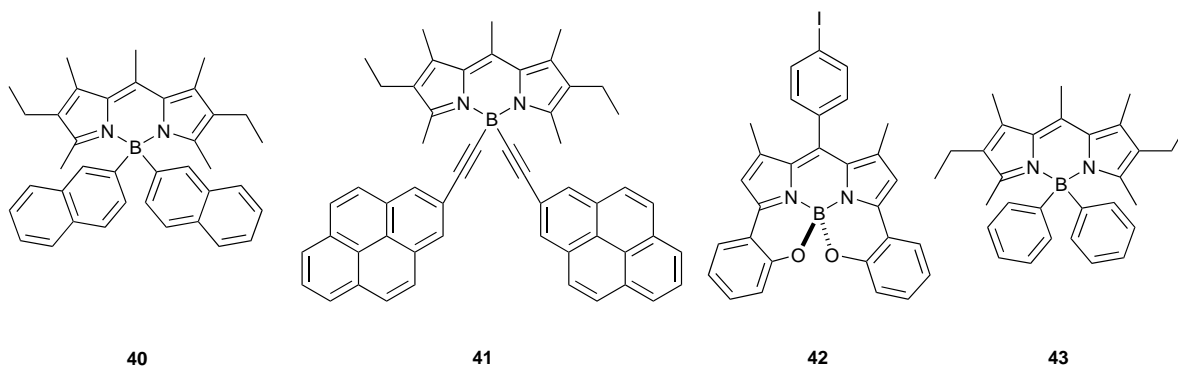
3.3.2 Substituce fluoru

Možnost nahradit dva atomy fluoru (F-BODIPY) (Obrázek 3.13) za alkoxodivové (O-BODIPY) **37**, arylové (C-BODIPY) **38** a ethynylové či ethynylarylové skupiny (E-BODIPY) **39** umožnila přípravu nové skupiny BODIPY barviv.¹⁰



Obrázek 3.13: Možné modifikace na atomu bóru.¹⁰

Tyto substituční reakce umožňují překonat obvyklý problém BODIPY barviv, tj. malý Stokesův posun. Zvětšení Stokesova posunu lze účinně provést substitucí fluoru za aromatické polycykly (Obrázek 3.14). Aromatické substituenty ve sloučeninách **40** – **43** neovlivňují fluorescenční vlastnosti BODIPY, ale zachytávají světlo v blízké UV oblasti. Sloučenina **41** absorbuje ve větší části viditelné oblasti.^{27,28} Toho lze využít například při konstrukci solárních článků. Sloučenina **42** má maxima absorpce a emise posunutá k 650 nm.²⁹ Substitucí fluorů za fenyly u sloučeniny **43** se molekula BODIPY stává stabilnější v kyselém prostředí.^{14,30} Fluoridové atomy lze relativně snadno nahradit hydroxylovými skupinami za přítomnosti silné Lewisovy kyseliny.³¹



Obrázek 3.14: Různé substituce na atomu bóru.

4 | Aplikace BODIPY

Dělení aplikací BODIPY do kategorií je vzhledem k multidisciplinárnosti oblasti velmi obtížné. Pro lepší přehlednost bude text rozčleněn do několika sekcí. Rozdělení aplikací BODIPY je ztěžováno exponenciálně rostoucím počtem publikovaných článků. V posledních pěti letech vzniklo málo přehledných prací zabývajících se pokroky BODIPY barviv ve větší šíři.

4.1 Chemie, biochemie, biologie

Velká skupina aplikací BODIPY je analytická a bioanalytická detekce chemických individuů v okolním prostředí (například vodní toky) nebo v organizmech. Jedná se především o detekci kationtů,³² v menší míře aniontů, malých anorganických molekul, reaktivních forem kyslíku a dusíku či peptidů a proteinů.^{1,33} BODIPY jsou také používány k indikaci pH v buňce a v jednotlivých organelách.¹⁰ Méně časté, ale potenciálně zajímavé použití, je detekce mědi uvolňované v živých buňkách.³⁴ Mezi dobře popsanou oblast patří detekce olova, rtuti a kadmia.³²

V biologii je BODIPY používáno k molekulárnímu zobrazování. Jedná se o oblast se širokou škálou aplikací: sledování pohybu organických molekul, proteinů (protein labelling), fragmentů DNA v buňce či může vystupovat jako fluorescenční značka v substrátu pro enzymy aj.^{10,35}

4.2 Medicína

BODIPY deriváty jsou zapojovány do transportu léčiv, např. připojením na nanočástice SiO₂.³⁶ Další deriváty (obvykle obsahující v polohách 2,6 atomy jódu) generují singletový kyslík.¹⁰ Z oblasti molekulárních zařízení stojí za zmínku molekulové logické hradlo, nemající obdobu v polovodičích, které při excitaci světlem uvolňuje buď singletový kyslík, nebo emituje světlo v závislosti na pH. V kyselejší oblasti (lokalita nádoru) je uvolňován singletový kyslík a zároveň se postižená tkáň jeví jako tmavé místo, na rozdíl od zdravé tkáně, která emituje v blízké infračervené oblasti a poskytuje diagnostickou informaci.

4.3 Fyzika, elektronika

Výhodou BODIPY jako laserového barviva je excitace v oblasti kolem 500 nm, což umožňuje použití argonových laserů. Při léčbě pacientů (ozařování nádorových buněk) jsou vhodné vlnové délky nad 600 nm z důvodu větší prostupnosti tkání.^{9,37} K posunu barvy do červeného spektra je využíváno ICT systémů (intramolekulární přenos náboje), nebo rozšíření π -elektronového systému. Pro získání BODIPY absorbujícího v blízké infračervené oblasti lze aromatický systém rozšířit o bifenyly navázané v polohách 2,3 a 5,6.³⁸

BODIPY bylo použito pro spinově-polarizované kvartetové stavy pro fs-laserovou spektroskopii.^{39,40}

Perspektivními aplikacemi BODIPY v supramolekulární chemii a nanotechnologiích jsou molekulární spínače⁴¹ nebo elektroluminiscenční materiály.⁴²

Při konstrukci molekulárních zařízení v materiálové chemii jsou pro zpracování informací potřebné molekulární dráty, logické obvody, přepínače, paměti, senzory aj. BODIPY zde lze použít pro konstrukci vstupu resp. výstupu informací (excitace fotonem).⁴³

Mezi další aplikace patří solární články s BODIPY vázaným na pevné fázi TiO_2 , které eliminují problémy spojené s radikály v roztoku.⁴⁴ Jsou vyvíjeny „lightharvesting“ systémy v roztoku elektrolytu, jež jsou panchromatické (citlivé na všechny barvy viditelného spektra), ale efektivita systému je zatím nízká.⁴⁵ Zatím nejvyšší dosažená účinná konverze světla solárními články obsahující BODIPY činí 4,7 %.^{*48}

*Maximální dosažená konverze světla DSC (Dye-sensitized) solárních článků je 11,1 %, ⁴⁶ pro solární články na bázi amorfního nebo nanokrystalického křemíku 10,1 %, pro krystalický Si 25 %, pro GaAs 28,3 % a pro GaInP/GaInAs/Ge 34,1 %. ⁴⁷

Část II

Praktická část

5 | Použité analytické metody

5.1 Všeobecné informace

Všechny komerčně dostupné chemikálie a rozpouštědla byly od dodavatelů Sigma-Aldrich, Penta, Merck, Lachema, Fluka, Acros Organics, Linde nebo Chemotrade. Chemikálie nebyly dále čištěny, rozpouštědla byla sušena standardními postupy.⁴⁹ Pro měření NMR spekter byla použita deuterovaná rozpouštědla – CDCl_3 (99,8 % D, Sigma-Aldrich), CD_3OD (99,8 % D, Armar Chemicals), D_2O (99,8 % D, Armar Chemicals).

K odstranění rozpouštědel byla použita rotační vakuová odparka, větší množství vody bylo bez zahřívání odstraněno lyofilizací. Sloupcová chromatografie byla prováděna na silikagelu 60 (63 – 100 μm) (Merck), flash chromatografie byla prováděna na Büchi Sepacore Flash System s jemným silikagelem (40 – 63 μm) (Fluka). Není-li uvedeno jinak, uvedená teplota odpovídá teplotě použité olejové nebo jiné lázně. Inertní atmosféra byla vytvořena výhradně argonem.

5.2 NMR spektroskopie

Spektra nukleární magnetické rezonance jader ^1H , ^{13}C , ^{19}F byla měřena na spektrometrech VNMR300 (rezonanční frekvence jader: ^1H 300 MHz, ^{13}C 75 MHz, ^{19}F 282 MHz) a Bruker AVANCE (III) 600 (rezonanční frekvence jader: ^1H 600 MHz, ^{13}C 151 MHz). Korelační spektra HSQC a HMBC byla měřena na Bruker AVANCE (III) 600.

Hodnoty chemických posunů δ jsou uvedeny v ppm, zaokrouhleny na dvě desetinná místa pro spektra ^1H a jedno desetinné místo pro spektra ^{13}C a ^{19}F . Interakční konstanty J_{HH} v Hz, zaokrouhleny na jedno desetinné místo. Interakční konstanty J_{BF} jsou zaokrouhleny na dvě platné číslice. NMR spektra byla měřena při teplotě 25 °C.

Chemické posuny signálů byly referencovány na interní standardy nebo na píky rozpouštědel (Tabulka 5.1). Multiplicita signálů byla popsána následujícími zkratkami: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), nebi. q (nebinomický kvartet).

Tabulka 5.1: Chemické posuny interních standardů a rozpouštědel.

	TMS	<i>t</i> -BuOH	CHCl ₃	D ₂ O	CD ₃ OD
δ ¹ H [ppm]	0,00	1,25	7,26	4,79	3,31
δ ¹³ C [ppm]	0,00	30,29; 70,36	77,16	–	49,00

5.3 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektra byla naměřena na hmotnostním spektrometru Bruker ESQUIRE 3000. Přístroj je vybaven elektrosprejem („Electrospray Ionization“ – ESI), který slouží jako zdroj iontů, a iontovou pastí („Ion Trap“) umožňující detekci iontů. Vzorky byly rozpuštěny v MeOH, naředěny MeOH nebo MeCN. Spektra byla měřena v pozitivním i negativním módu. Uvedeny jsou pouze signály, které se podařilo interpretovat.

5.4 TLC

Pro tenkovrstvou chromatografii byly používány hliníkové destičky Merck TLC Silica gell 60 F₂₅₄ obsahující UV-luminofor. Hodnoty R_f jsou uváděny na dvě desetinná místa. Složení mobilní fáze je vždy uvedeno u jednotlivých látek. Pro detekci byla používána UV-lampa MINERALIGHT® ($\lambda_1 = 254$ nm a $\lambda_2 = 366$ nm).

5.5 UV/VIS - absorpce, fluorescence

Sledování průběhu reakce bylo prováděno na UV/VIS spektrofotometru Biochrom Lightwave II. Způsob provádění měření je uveden u příslušné reakce. Fluorescenční měření byla prováděna na přístroji AMINCO-Bowman Series 2 v methanolu.

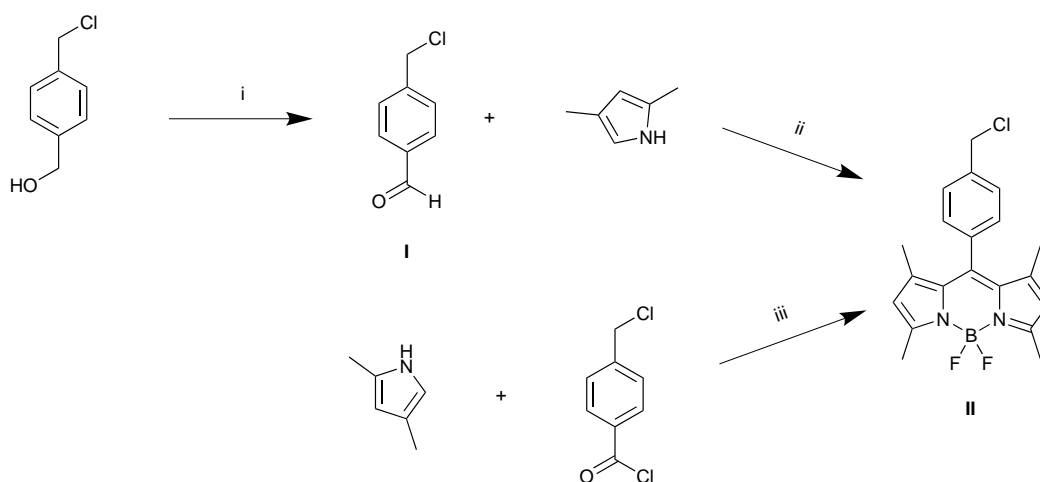
Pro zpracování dat a vytvoření grafů byl použit program Origin 8.1.

5.6 Rentgenostrukturní analýza

Struktura monokrystalu byla naměřena na čtyřkruhovém difraktometru NONIUS KAPPA CCD při 150 K se zdrojem záření Mo-K α ($\lambda = 0,71073$ Å). Krystalová struktura byla vyřešena RNDr. Ivanou Císařovou, CSc. a upřesněna doc. RNDr. Janem Kotkem, PhD. Difrakční data byla analyzována programovým balíkem HKL. Řešení struktury bylo provedeno přímými metodami pomocí programu SHELXS97, vypřesňování struktury metodou nejmenších čtverců na F^2 v programu SHELXL97 a vizualizace struktury v programu Crystal Maker.

6 | Syntéza BODIPY

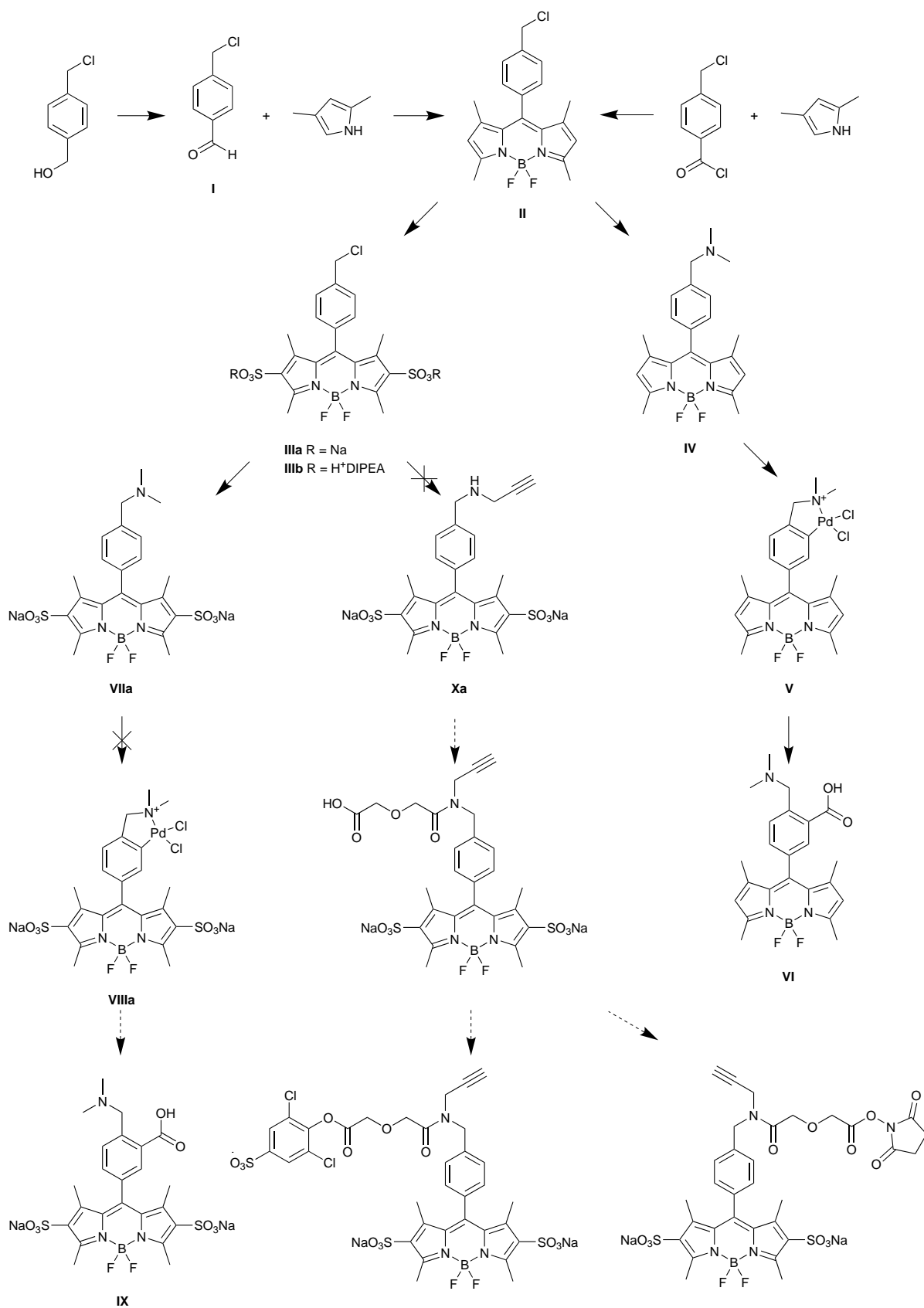
6.1 Syntéza BODIPY jádra



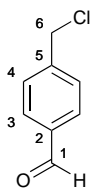
Obrázek 6.1: Reakční podmínky syntézy BODIPY jádra: (i) PCC, CH₂Cl₂, RT, 2 h, (ii) kat. TFA, CH₂Cl₂, RT, 1,5 h, poté Et₃N, 0 °C pak BF₃·OEt₂, RT, 2 h, (iii) CH₂Cl₂, 50 °C, 1,5 h, poté odpařeno, toluen, Et₃N, 0 °C, pak BF₃·OEt₂, 50 °C, 1,5 h.

6.1.1 Oxidace 4-(chlormethyl)benzalkoholu (I)

Reakce byla provedena podle lit.⁵⁰ Do 100 ml baňky s míchadlem bylo vloženo 3,91 g (17,88 μmol, 1,4 ekv.) pyridinium-chlorochromátu (PCC),⁵¹ který byl následně rozpuštěn v 80 ml dichlormethanu. Po 10 minutách byly přidány 2 g (12,77 μmol, 1 ekv.) 4-(chlormethyl)benzalkoholu a reakční směs byla míchána 2,5 hod. Spotřeba reaktantu bylo určeno pomocí TLC destičky. Reakční směs byla převedena do 500ml kádinky a triturována 15 min 300 ml OEt₂. Získaný roztok organického rozpouštědla byl vytřepán vodou (3×200 ml), 5% NaHCO₃ (2×150 ml) a konc. NaCl (2×150). Organická fáze byla vysušena bezv. Na₂SO₄ a odpařena na vakuové odparce. Získaný produkt I byl přečištěn sloupcovou chromatografií na SiO₂ (100 g, HEX:EA, 9:1, R_f (I)= 0,38). Bylo připraveno 1,73 g bílých jehlicovitých krystalů látky I, tj. 88 % teoretického výtěžku.



Obrázek 6.2: Celkové reakční schéma.



TLC: HEX:EA 9:1, $R_f = 0,38$.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 10,02$ (\mathcal{H}^1 , s, 1H); 7,89 (\mathcal{H}^3 , d, $^3J_{\text{HH}} = 6,5$, 2H); 7,56 (\mathcal{H}^4 , d, $^3J_{\text{HH}} = 8,3$, 2H); 4,63 (\mathcal{H}^6 , s, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 191,7$ (\mathcal{C}^1 , s, 1C), 144,0 (\mathcal{C}^5 , s, 1C); 136,3 (\mathcal{C}^2 , s, 1C); 130,3 (\mathcal{C}^3 , s, 2C); 129,3 (\mathcal{C}^4 , s, 2C); 45,4 (\mathcal{C}^6 , s, 1C).

6.1.2 Syntéza BODIPY jádra (II) z aldehydu

Do suché tříhrdlé 2l baňky s míchadlem bylo v protiproudu argonu vsypáno 1,11 g (7,18 μmol , 1 ekv.) 4-(chlormethyl)benzaledehydu. Následně bylo přidáno 1000 ml suchého dichlormethanu společně s 1,36 mg (14,36 μmol , 2 ekv.) 2,4-dimethylpyrrolu. Přes septum bylo vstříknuto katalytické množství trifluoroctové kyseliny (140 μl) a směs byla nechána míchat 3 hodiny. Ve 300 ml suchého dichlormethanu bylo rozpuštěno a přikapáno 1,77 g (7,18 μmol , 1 ekv.) tetrachlor-1,4-benzochinonu a směs byla ponechána 30 min míchat. Následně bylo přikapáno 11 ml ethyldiisopropylaminu. Do reakční směsi ponořen v ledové lázni bylo v průběhu 15 min pomalu přikapáno 15 ml roztoku fluoridu boritého v diethyletheru. Po 1,5 h byla reakční směs vytřepána vodou (3 \times 1000 ml) a konc. NaCl (1 \times 1000 ml).^{*} Organická fáze byla vysušena bezv. MgSO_4 a odpařena. Odparek byl opakovaně čistěn sloupcovou chromatografií na SiO_2 (400 g, DCM:HEX, 1:2, R_f (II) = 0,22). Bylo připraveno 0,73 g oranžového prášku látky II, tj. 27 % teoretického výtěžku.

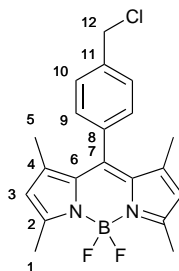
6.1.3 Syntéza BODIPY jádra (II) z acylchloridu

Reakce byla provedena podle modifikovaného postupu v lit.⁵² Tříhrdlá 500ml baňka vysušená v sušárně byla vybavena magnetickým míchadlem, přikapávačkou, zpětným chladičem a septem. Přes septum byla zavedena inertní atmosféra a Hamiltonka s dlouhou jehlou pro vzorkování. Aparatura byla zakryta alobalem. Do baňky bylo přidáno 140 ml (celkově 150 ml) suchého dichlormethanu, 4,2 g (44,7 mmol, 2,1 ekv.) 2,4-dimethylpyrrolu. Následně bylo v 5 ml suchého dichlormethanu rozpuštěno 3,84 g (20,3 mmol, 1 ekv.) 4-(chlormethyl)benzoyl chloridu a přikapáno do reakční směsi.

^{*}Obvyklé metody čištění skla nebyly účinné. Proto bylo sklo ponecháno dva dny v lázni hydroxidu sodného a manganistanu draselného, vyloučený burel byl odlit a do lázně byla přidána koncentrovaná kyselina chlorovodíková s peroxidem vodíku. Po 30 min bylo sklo omyto destilovanou vodou.

Poté byla reakční směs zahřívána v olejové lázni na 50 °C po dobu 3 h a nechána ochladnout na laboratorní teplotu. Reakční směs byla převedena do 500ml jednohrdlé baňky a zahuštěna na rotační vakuové odparce do zbytku 10 – 20 ml dichlormethanu. Poté byla reakční směs převedena zpět do tříhrdlé baňky (z důvodu spektrofotometrického sledování průběhu reakce) a byla zavedena inertní atmosféra. Do reakční baňky bylo přidáno 200 ml suchého toluenu a následně bylo přidáno přikapávačkou 17 ml (121,9 mmol, 6 ekv.) triethylaminu. Reakční směs byla ochlazena ledem a nechána míchat 15 min, poté bylo přikapávačkou přidáno 20 ml (162,5 mmol, 8 ekv.) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ve 30 ml suchého toluenu v průběhu 15 minut. Reakční baňka byla ponořena do olejové lázně o teplotě 50 °C po dobu 1,5 hod. Reakční směs byla ponechána ochladnout na laboratorní teplotu a rozpouštědla byla odpařena na vakuové odparce.

Získaná tmavá olejovitá směs byla rozpuštěna ve 200 ml dichlormethanu a převedena do 500ml děličky. Organická vrstva byla protřepána destilovanou vodou (3 × 200 ml) a vysušena bezv. Na_2SO_4 . Odparek byl předčištěn filtrací SiO_2 na fritě, poté byl vysrážen čistý produkt. Odparek byl rozpuštěn v 500ml baňce v 10 ml dichlormethanu, bylo přidáno 100 ml hexanu a poté 50 ml methanolu. Roztok byl zakoncentrován na vakuové odparce a ponechán krystalovat. Následně byl zfiltrován za zisku čistého produktu, zbylý roztok organických rozpouštědel byl dále čištěn sloupcovou chromatografií na SiO_2 (200 g, DCM:HEX, 1:2, R_f (II) = 0,22). Bylo připraveno 1,91 g oranžového prášku látky II, tj. 26 % teoretického výtěžku.



TLC: DCM:HEX 1:2, $R_f = 0,22$; DCM:HEX 2:1, $R_f = 0,70$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,52$ (H^{10} , d, $^3J_{\text{HH}} = 7,6$, 2H); $7,29$ (H^9 , d, $^3J_{\text{HH}} = 7,7$, 2H); $5,98$ (H^3 , s, 2H); $4,66$ (H^{12} , s, 2H); $2,55$ (H^1 , s, 6H); $1,38$ (H^5 , s, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): $\delta = 155,8$ (C^2 , s, 2C); $143,2$ (C^4 , s, 2C); $141,1$ (C^7 , s, 1C); $138,7$ (C^{11} , s, 1C); $135,2$ (C^8 , s, 1C); $131,5$ (C^6 , s, 2C); $129,4$ (C^{10} , s, 2C); $128,6$ (C^9 , s, 2C); $121,5$ (C^3 , s, 2C); $45,8$ (C^{12} , s, 1C); $14,7$ (C^1 , s, 2C); $14,6$ (C^5 , s, 2C).

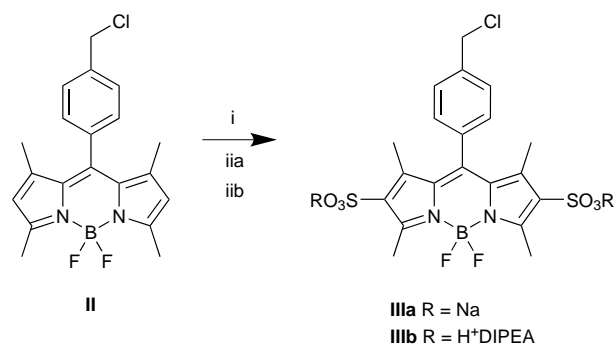
$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, CDCl_3): $\delta = -146,3$ (nebi. q, $^1J_{\text{BF}} = 33$).

MS (ESI): (+) $373,2$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$; $395,1$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$; $411,0$ [$\text{M} + \text{K}$] $^+$; $767,2$ [$2\text{M} + \text{Na}$] $^+$, vy-počteno $373,2$; $395,1$; $411,1$; $767,3$.

Spektrofotometrické sledování reakce bylo prováděno následovně: Hamiltonkou bylo přes septum odebráno 100 μl z reakční směsi, vstříknuto do 4ml vialky se 4 ml methanolu a promícháno. Z vialky bylo Hamiltonkou odebráno 25 μl , vstříknuto do křemenné kyvety a doplněno 3 ml methanolu. Poté bylo změřeno absorpční spektrum od 200 do 700 nm. První dvě hodiny byly

vzorky odebrány v 5 min intervalech, poté jednu hodinu v 10 min intervalech, následujících 9 hodin v 30 min intervalech. Při komplexaci byly vzorky odebrány v 10 min intervalech.

6.2 Sulfonace BODIPY

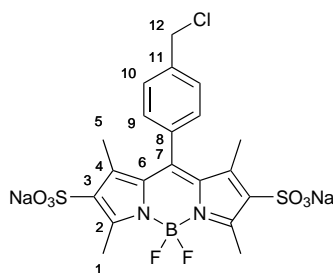


Obrázek 6.3: Reakční podmínky sulfonace BODIPY jádra: (i) BHT, ClSO₃H, CH₂Cl₂, -40 °C, 1 h, (ii a) promytí CH₂Cl₂, pak nasyceným roztokem NaHCO₃ (ii b) promytí CH₂Cl₂, pak roztokem CH₂Cl₂ s 2 ekv. DIPEA.

6.2.1 Sulfonace BODIPY, sodná sůl (IIIa)

Do 50ml Schlenkovy zkumavky bylo vloženo míchadlo, 293 mg (1,33 mmol, 1 ekv.) 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluenu (BHT). Bylo odváženo 503 mg (1,35 mmol, 1 ekv.) látky **II** a kvantitativně převedeno do Schlenkovy zkumavky v cca 5 ml dichlormethanu. Schlenkova zkumavka byla vybavena příkapávačkou a aparatura byla připojena k olejové pumpě po dobu 1 h. Poté byla zavedena inertní atmosféra a aparatura byla zakryta alobalem. Příkapávačkou bylo přidáno 12 ml suchého dichlormethanu a reakční směs byla ochlazená na -40 °C v acetonitrilové lázni se suchým ledem. Bylo připraveno 100 ml 0,10M roztoku chlorsulfonové kyseliny v bezvodém dichlormethanu. Do příkapávačky bylo převedeno 28,5 ml (3,10 mmol, 2,3 ekv.) 0,11M chlorsulfonové kyseliny a v průběhu 40 min příkapáno do reakční směsi. Reakční směs byla nechána ohřát na laboratorní teplotu a ponechána 30 min míchat. Produkt se vyloučil jako jemná oranžová suspenze a byl přefiltrován v inertní atmosféře přes fritu. Poté byl rozpuštěn nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a přefiltrován do baňky.

K produktu rozpuštěnému ve vodě byl přidán nadbytek acetonu a vysrážený hydrogenuhličitan sodný odfiltrován. Aceton byl odpařen na rotační vakuová odparce, voda byla odpařena lyofilizací. Hydrogenuhličitan sodný se nepodařilo zcela odstranit. Bylo připraveno 778 mg oranžového prášku látky s hydrogenuhličitanem sodným **IIIa**, tj. 60 – 80 % teoretického výtěžku.



TLC: EA:MeOH 2:1, $R_f = 0,44$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O): $\delta = 7,65$ (\mathcal{H}^{10} , d, $^3J_{\text{HH}} = 7,9$, 2H); $7,27$ (\mathcal{H}^9 , d, $^3J_{\text{HH}} = 7,9$, 2H); $4,76$ (\mathcal{H}^{12} , s, 2H); $2,75$ (\mathcal{H}^1 , s, 6H); $1,62$ (\mathcal{H}^5 , s, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, D_2O): $\delta = 156,0$ (\mathcal{C}^2 , s, 2C); $147,0$ (\mathcal{C}^7 , s, 1C); $144,5$ (\mathcal{C}^4 , s, 2C); $140,5$ (\mathcal{C}^{11} , s, 1C); $134,1$ (\mathcal{C}^8 , s, 1C); $133,3$ (\mathcal{C}^3 , s, 2C); $131,2$ (\mathcal{C}^6 , s, 2C); $130,6$ (\mathcal{C}^{10} , s, 2C); $128,8$ (\mathcal{C}^9 , s, 2C); $46,3$ (\mathcal{C}^{12} , s, 1C); $14,2$ (\mathcal{C}^1 , s, 2C); $13,4$ (\mathcal{C}^5 , s, 2C).

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, D_2O): $\delta = -143,8$ (nebi. q, $^1J_{\text{BF}} = 32$).

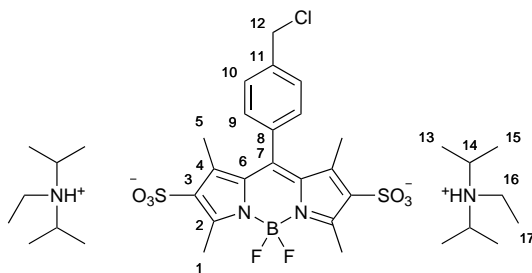
MS (ESI): (–) 553,4 [$\text{M} + \text{Na}$] $^-$; 265,2 [M] $^{2-}$, vypočteno 553,0; 265,0.

6.2.2 Sulfonace BODIPY, ethyldiisopropylamonná sůl (IIIb)

Do 50ml Schlenkovy zkumavky bylo vloženo míchadlo, 295 mg (1,34 mmol, 1 ekv.) 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluenu (BHT). Bylo odváženo 509 mg (1,36 mmol, 1 ekv.) látky **II** a kvantitativně převedeno do Schlenkovy zkumavky v cca 5 ml dichlormethanu. Zkumavka byla vybavena přikapávačkou a aparatura byla připojena k olejové pumpě po dobu 2 h. Poté byla zavedena inertní atmosféra a aparatura byla zakryta alobalem. Přikapávačkou bylo přidáno 12 ml suchého dichlormethanu a reakční směs byla ochlazená na -40 °C v acetonitrilové lázni suchým ledem. Bylo připraveno 100 ml 0,11M roztoku chlorsulfonové kyseliny v bezvodém dichlormethanu. Do přikapávačky bylo převedeno 29 ml (2,93 mmol, 2,15 ekv.) 0,10M chlorsulfonové kyseliny, v průběhu 20 min bylo přikapáno do reakční směsi. Reakční směs byla poté nechána ohřát na laboratorní teplotu a ponechána 1 h míchat.

Produkt se vyloučil jako jemná suspenze a byl přefiltrován v inertní atmosféře přes fritu. Následně byl na fritě promyt 40 ml suchého dichlormethanu. Poté byl neutralizován promytím 50 ml roztoku 0,5 ml (2,73 mmol, 2 ekv.) ethyldiisopropylaminu v dichlormethanu (produkt se částečně rozpustil). Produkt byl poté kvantitativně převeden 50 ml suchého methanolu do baňky.

Rozpouštědlo bylo odpařeno, poté byl odparek několikrát rozpuštěn v dichlormethanu a odpařen na rotační vakuové odparce. Odparek byl čištěn flash chromatografií na SiO_2 (40 g, MeOH:EA, 5:95 \rightarrow 30:70). Bylo připraveno 746 mg oranžového prášku látky **IIIb**, tj. 69 % teoretického výtěžku.



TLC: EA:MeOH 2:1, $R_f = 0,44$, EA:MeOH 5:1, $R_f = 0,19$.

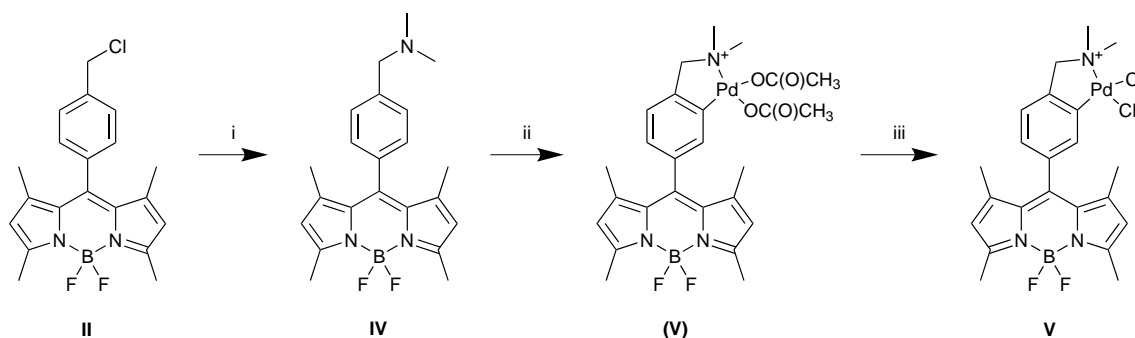
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOD): $\delta = 7,67$ (\mathcal{H}^{10} , d, $^3J_{\text{HH}} = 7,4$, 2H); 7,38 (\mathcal{H}^9 , d, $^3J_{\text{HH}} = 7,6$, 2H); 4,77 (\mathcal{H}^{12} , s, 2H); 3,80 – 3,60 (\mathcal{H}^{14} , m, $^3J_{\text{HH}} = 10,0$, 4H); 3,26 – 3,13 (\mathcal{H}^{16} , m, $^3J_{\text{HH}} = 7,5$, 4H); 2,79 (\mathcal{H}^1 , s, 6H); 1,68 (\mathcal{H}^5 , s, 6H); 1,36 (\mathcal{H}^{13} a \mathcal{H}^{15} a \mathcal{H}^{17} , d, $^3J_{\text{HH}} = 6,4$, 30H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, MeOD): $\delta = 156,8$ (\mathcal{C}^2 , s, 2C); 146,2 (\mathcal{C}^7 , s, 1C); 143,3 (\mathcal{C}^4 , s, 2C); 141,5 (\mathcal{C}^{11} , s, 1C); 136,2 (\mathcal{C}^3 , s, 2C); 135,8 (\mathcal{C}^8 , s, 1C); 131,6 (\mathcal{C}^6 , s, 2C); 131,0 (\mathcal{C}^{10} , s, 2C); 129,7 (\mathcal{C}^9 , s, 2C); 55,9 (\mathcal{C}^{14} , s, 4C); 46,1 (\mathcal{C}^{12} , s, 1C); 43,1 (\mathcal{C}^{16} , s, 2C); 18,7 (\mathcal{C}^{13} nebo \mathcal{C}^{15} , s, 4C); 17,3 (\mathcal{C}^{13} nebo \mathcal{C}^{15} , s, 4C); 14,5 (\mathcal{C}^1 , s, 2C); 13,5 (\mathcal{C}^5 , s, 2C); 13,2 (\mathcal{C}^{17} , s, 2C).

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, MeOD): $\delta = -141,3$ (nebi. q, $^1J_{\text{BF}} = 32$).

MS (ESI): (–) 531,5 [$\text{M} + \text{Na}$] $^-$; 265,3 [M] $^{2-}$, vypočteno 531,1; 265,0.

6.3 Alkylace a komplexace BODIPY

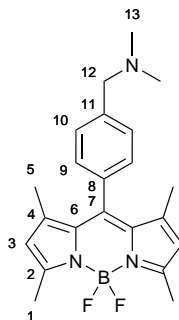


Obrázek 6.4: Reakční podmínky alkylace a komplexace BODIPY: (i) KI, K_2CO_3 , CH_3CN , $(\text{CH}_3)\text{NH}$, 90 °C, 1 h, (ii) $\text{Pd}(\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3)_2$, benzen, 60 °C, 15 h, (iii) LiCl, aceton, RT, 4 h.

6.3.1 Alkylace dimethylaminu nesulfonovaným BODIPY (IV)

Reakce byla provedena dle postupu v literatuře,⁵² který byl modifikován. Do 50ml suché slzovité baňky s míchadlem bylo vloženo 397 mg (1,07 mmol, 1 ekv.) **II**, 294 mg (2,13 mmol, 2 ekv.) uhlíčitanu draselného a 354 mg (2,13 mmol, 2 ekv.) jodidu draselného. Poté bylo přidáno 8 ml acetonitrilu a 2,8 ml (21,31 mmol, 20 ekv.) 40% vodného dimethylaminu. Baňka byla vybavena

chladičem a ponořena do olejové lázně na 90 °C po dobu 1 h. Reakční směs byla nechána ochladnout na laboratorní teplotu, poté byla převedena do děličky a zředěna 60 ml dichlormethanu. Reakční směs byla vytřepána vodou (2×40 ml) a konc. NaCl (1×40 ml). Organická fáze byla vysušena bezv. Na₂SO₄ a odpařena na rotační vakuové odparce. Odparek byl čištěn sloupcovou chromatografií na SiO₂ (100 g, CH₂Cl₂:MeOH:triethylamin, 96,5:3:0,5, *R_f* (IV) = 0,53). Bylo připraveno 330 mg oranžového prášku látky IV, tj. 81 % teoretického výtěžku.



TLC: CHCl₃:EA:MeOH:triethylamin 66,5:30:3:0,5, *R_f* = 0,58.

¹H-NMR (300 MHz, MeOD): δ = 7,46 (*H*¹⁰, d, ³*J*_{HH} = 7,8, 2H); 7,24 (*H*⁹, d, ³*J*_{HH} = 7,9, 2H); 5,97 (*H*³, s, 2H); 3,55 (*H*¹², s, 2H); 2,55 (*H*¹, s, 6H); 2,29 (*H*¹³, s, 6H); 1,38 (*H*⁵, s, 6H).

¹³C-NMR (75 MHz, MeOD): δ = 155,5 (*C*², s, 2C); 143,2 (*Ar*, s); 141,8 (*Ar*, s); 139,2 (*Ar*, s); 134,2 (*Ar*, s); 131,6 (*C*¹⁰, s, 2C); 130,2 (*C*⁹, s, 2C); 128,1 (*Ar*, s); 121,3 (*Ar*, s); 64,0 (*C*¹³, s, 2C); 45,2 (*C*¹², s, 1C), 14,7 (*C*¹, s, 2C); 14,5 (*C*⁵, s, 2C).

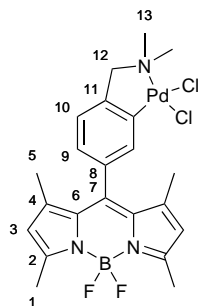
¹⁹F-NMR (282 MHz, MeOD): δ = -146,3 (nebi. q, ¹*J*_{BF} = 33).

MS (ESI): (-) 382,2 [M + H]⁻; vypočteno 382,2.

6.3.2 Komplexace nesulfonovaného BODIPY (V)

Reakce byla provedena podle modifikovaného postupu.⁵² Do 50ml suché slzovité baňky s míchadlem a chladičem bylo vloženo 311 mg (0,82 mmol, 1 ekv.) IV a 184 mg (0,82 mmol, 1 ekv.) octanu palladnatého. Poté byla zavedena inertní atmosféra, aparatura byla zakryta alobalem a bylo přidáno 15 ml benzenu. Reakční směs byla vložena na 1 min do ultrazvuku. Poté byla ponořena v olejové lázni na 60 °C po dobu 15 h. Reakční směs byla nechána ochladnout. Do reakční směsi byl přidán nadbytek hexanu (cca 30 ml) a vyloučený prášek byl zfiltrován. Bylo získáno 335 mg meziprojektu, tj. 68 % teoretického výtěžku.

Z meziprojektu bylo odebráno 100 mg, které byly vloženy do 25 ml baňky s míchadlem. Byla zavedena inertní atmosféra, aparatura zakryta alobalem a meziprojekt byl rozpuštěn v cca 15 ml acetonu nasyceného chloridem lithným. Směs byla míchána za laboratorní teploty po dobu 4 h, poté byl aceton odpařen na rotační vakuové odparce. Odparek byl rozpuštěn v dichlormethanu (10 ml) a přefiltrován přes jemnou fritu. Frita byla propláchnuta 50 ml dichlormethanu a organická rozpouštědla byla odpařena. Bylo získáno 89 mg látky V, tj. 97 % teoretického výtěžku.

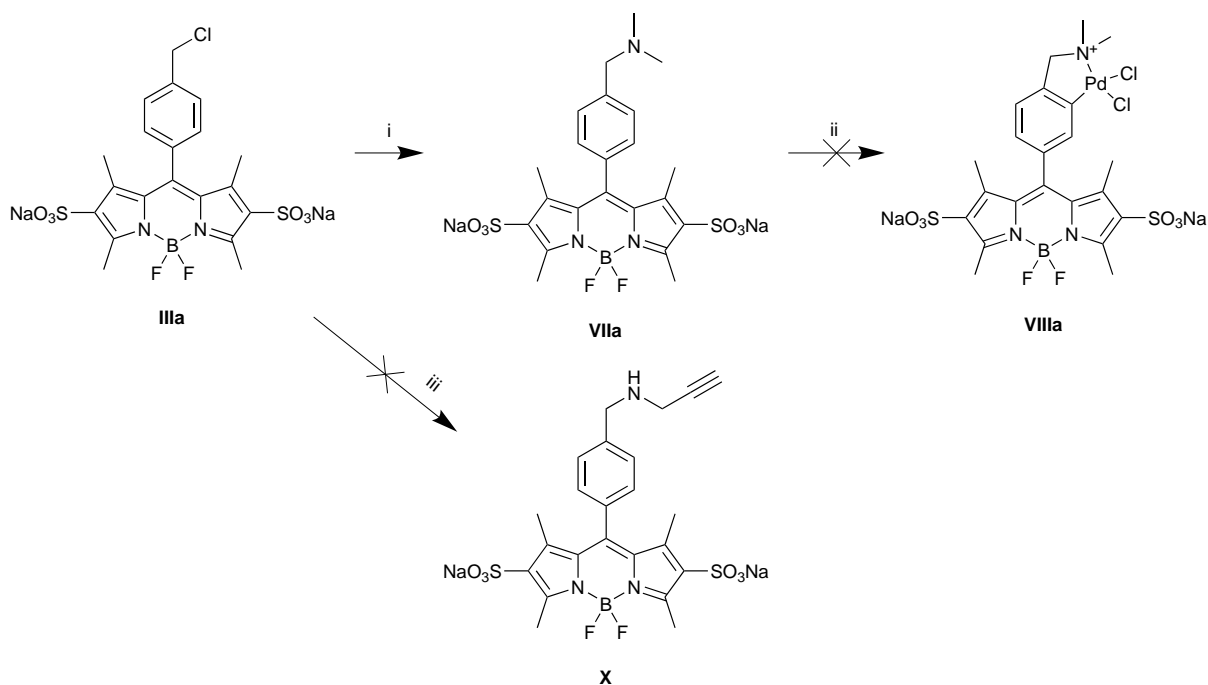


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,03$ (*Ar*, s, 1H); 6,96 (*Ar*, d, $^3J_{\text{HH}} = 7,6$, 1H); 6,86 (*Ar*, d, $^3J_{\text{HH}} = 7,2$, 1H); 5,96 (\mathcal{H}^3 , s, 2H); 3,97 (\mathcal{H}^{12} , s, 2H); 2,83 (\mathcal{H}^1 , s, 6H); \mathcal{H}^{13} , 2,53 (s, 6H); \mathcal{H}^5 , 1,46 (s, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 155,0$ (*Ar*, s); 147,8 (*Ar*, s); 144,1 (*Ar*, s); 143,5 (*Ar*, s); 142,9 (*Ar*, s); 131,8 (*Ar*, s); 131,7 (*Ar*, s), 131,5 (*Ar*, s), 124,2 (*Ar*, s); 121,9 (*Ar*, s); 121,1 (*Ar*, s); 73,2 (\mathcal{C}^{12} , s, 1C); 53,0 (\mathcal{C}^{13} , s, 2C); 14,7 (\mathcal{C}^1 a \mathcal{C}^5 , s, 4C).

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, CDCl_3): $\delta = -146,7$ (nebi. q, $^1J_{\text{BF}} = 31$).

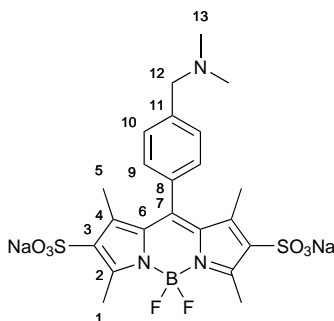
6.4 Alkylace a komplexace sulfonovaným BODIPY



Obrázek 6.5: Reakční podmínky alkylace a komplexace sulfonovaným BODIPY: (i) KI, K_2CO_3 , CH_3CN s 10% MeOH, $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$, RT °C, 5 h. (ii) $\text{Pd}(\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3)_2$, acetonitril, 60 °C, 15 h, (iii) KI, K_2CO_3 , DMF, propargylamin, RT/50 °C, 5 h.

6.4.1 Alkylace dimethylaminu sulfonovaným BODIPY (VIIa)

Reakce byla provedena podle postupu **IV**, který byl modifikován. Do 50ml baňky bylo naváženo 99,4 mg (172,35 μmol) **IIIa**, 57 mg (345 μmol , 2 ekv.) KI, 48 mg (345 μmol , 2 ekv.) K_2CO_3 a vloženo míchadlo. Do baňky bylo přidáno 18 ml acetonitrilu a 0,45 ml (3,45 μmol , 20 ekv., 40% vodný roztok) $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$. Reakční směs byla zakryta alobalem a sonifikována po dobu jedné minuty. Následně byla reakční směs vložena pod inertní atmosféru. Pro nízkou rozpustnost reaktantu bylo přidáno 5 ml methanolu. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě 5 h. Rozpouštědlo bylo odpařeno na rotační vakuové odparce, odparek byl rozpuštěn a nasorbován na 0,5 g SiO_2 (50 g, EA:MeOH, 1:2, R_f (**VIIa**)=0,46; EA:MeOH, 2:1, R_f (**VIIa**)=0,06). Produkt byl odpařen na rotační vakuové odparce se ziskem 56 mg ve formě oranžového prášku, tj. 56 % teoretického výtěžku.



TLC: EA:MeOH 2:1, $R_f = 0,45$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOD): $\delta = 7,79$ (\mathcal{H}^{10} , d, $^3J_{\text{HH}} = 7,8$, 2H); $7,54$ (\mathcal{H}^9 , d, $^3J_{\text{HH}} = 7,6$, 2H); $4,49$ (\mathcal{H}^{12} , s, 2H); $2,93$ (\mathcal{H}^{13} , s, 6H); $2,81$ (\mathcal{H}^1 , s, 6H); $1,68$ (\mathcal{H}^5 , s, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, MeOD): $\delta = 157,1$ (\mathcal{C}^2 , s, 2C); $145,3$ (\mathcal{C}^7 nebo \mathcal{C}^7 , s, 2C); $143,1$ (\mathcal{C}^4 , s, 2C); $137,9$ (\mathcal{C}^8 , s, 2C); $136,1$ (\mathcal{C}^3 , s, 2C); $133,4$ (\mathcal{C}^{10} , s, 2C); $132,8$ (\mathcal{C}^{11} nebo \mathcal{C}^7 , s, 2C); $131,5$ (\mathcal{C}^6 , s, 2C); $130,5$ (\mathcal{C}^9 , s, 2C); $61,6$ (\mathcal{C}^{12} , s, 2C); $43,0$ (\mathcal{C}^{13} , s, 2C); $14,5$ (\mathcal{C}^1 , s, 2C); $13,6$ (\mathcal{C}^5 , s, 2C).

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, MeOD): $\delta = -140,4$ (nebi. q, $^1J_{\text{BF}} = 32$).

MS (ESI): (–) 269,2 $[\text{M}]^{2-}$; 538,5 $[\text{M} + \text{Na}]^-$, 561,1 $[\text{M} + \text{Na}]^-$, vypočteno 269,6; 539,1; 562,1.

6.4.2 Pokus o komplexaci sulfonovaného BODIPY (VIIIa)

Reakce byla provedena podle modifikovaného postupu.⁵² Do 25ml suché slzovité baňky s míchadlem a chladičem bylo vloženo 26 mg (0,044 mmol, 1 ekv.) **IV** a 10 mg (0,044 mmol, 1 ekv.) octanu palladnatého. Poté byla zavedena inertní atmosféra, aparatura byla zakryta alobalem a byly přidány 3 ml suchého acetonitrilu (reaktant se rozpustil pouze částečně). Reakční směs byla vložena na 1 min do ultrazvuku. Poté byla ponořena v olejové lázni na 60 °C po dobu 15 h. Reakční směs byla nechána ochladnout. V reakční směsi se vyloučilo větší množství palladia,

proto byl přidán methanol a reakční směs byla odpařena. K odparku byl přidán nasycený roztok acetonu s chloridem litným, z důvodu velmi špatné rozpustnosti byl přidán methanol a směs byla ponechána míchat 5 h. Reakční směs byla odpařena.

Podle ^1H NMR nebyl připraven produkt **VIIIa**, ale **V**.

6.4.3 Pokus o alkylaci propargylaminu sulfonovaným BODIPY (IXa)

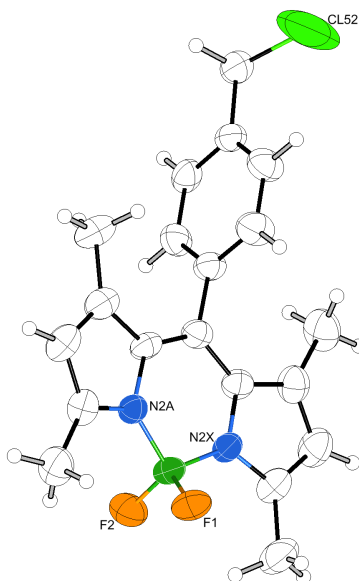
Reakce byla provedena podle postupu použitým při syntéze **IV**, jenž byl modifikován. Do 4ml vialky se septem bylo naváženo 25 mg (0,043 μmol) **IIIa**, 15 mg (0,087 μmol , 2 ekv.) KI, 12 mg (0,087 μmol , 2 ekv.) K_2CO_3 a vloženo míchadlo. Do vialky byly přidány 2 ml suchého dimethylformamidu a 30 μl (0,303 μmol , 7 ekv.) propargylaminu. Reakční směs byla zakryta alobalem a vložena pod inertní atmosféru. Reakční směs byla míchána při RT po dobu 5 h. Rozpouštědlo bylo odpařeno na olejové pumpě. Dle TLC z oparku vznikl produkt stejné polariry jako látka **VIIa**. Odparek byl separován flash chromatografií na SiO_2 , analyzován ^1H a ^{19}F NMR.

Přítomnost jediného BODIPY derivátu byla prokázána ^{19}F NMR, produkt **IXa** se však ani s pomocí ^1H a ^{13}C NMR nepodařilo identifikovat. Reakce byla provedena analogicky s acetoni-
trilem a methanolem, k odpaření byla použita rotační vakuová odparka. Reakce byly provedeny také při 50 °C.

7 | Diskuze

7.1 Syntéza BODIPY jádra

Pro syntézu BODIPY jádra byly vybrány dvě syntetické cesty. První syntetická cesta pomocí 4-(chlormethyl)benzaldehydu **I** byla nahrazena kondenzací acylchloridu. Důvodem byla vysoká časová náročnost reakce a separace, velké objemy rozpouštědel a obtížná reprodukovatelnost. Struktura látky **II** byla potvrzena NMR spektroskopií (Obrázek 1, Obrázek 2) a MS spektrometrií. Dále byl získán monokrystal, ze kterého byla rentgenostrukturní analýzou určena struktura (Obrázek 7.1). Byla změřena fluorescenční spektra $\lambda_{\text{ex}} = 468 \text{ nm}$ a $\lambda_{\text{em}} = 515 \text{ nm}$, Obrázek 7.4.



Obrázek 7.1: Molekulová struktura látky BODIPY jádra **II**. Atom Cl je disorderovaný ve dvou polohách; na obrázku je znázorněna populovanější z nich.

Při syntéze BODIPY je vhodné nevystavovat reakční směsi a produkty ve formě roztoku slunečnímu světlu. Produkty v nerozseparované reakční směsi mají tendenci se degradovat nebo polymerizovat, tudíž byly skladovány v lednici. Rozpad produktů ve formě prášku nebo krystalů za laboratorní teploty a na slunečním světle nebyl pozorován.

7.1.1 Syntéza BODIPY jádra z aldehydu

Oxidace komerčně dostupného 4-(chlormethyl)benzylalkoholu na 4-(chlormethyl)benzaldehyd **I** byla provedena dle lit.⁵⁰ s vysokými výtěžky, reakce a separace byly dobře reprodukovatelné. Oproti tomu reprodukovatelnost kyselé katalyzované kondenzace aldehydu s 2,4-dimethylpyrrolem za vzniku **II** byla obtížná. Reakce byla prováděna ve velkém objemu (1 – 2 l), aby bylo zabráněno kondenzaci pyrrolu na oligopyrroly (Obrázek 3.1). Tato cesta nepřinesla kýžené ovoce, cca 80 % hmotnosti odparku po reakci (10 – 15 g) byl odpad o velké molekulové hmotnosti (domněnka ověřena MS). Separace byla původně prováděna chromatografií na SiO₂. Byla také vyzkoušena reakce s použitím tetrahydrofuranu místo dichlormethanu, zvýšení výtěžku nebo zlepšení separace nebylo pozorováno.

Chromatografie na SiO₂

Výhodou je účinná separace, snadné přizpůsobení větším množstvím separované látky (sorpce na SiO₂). Nevýhodou je vysoká časová náročnost (několik dnů), nutnost opakované chromatografie a velké objemy rozpouštědel.*

Filtrace přes SiO₂ na fritě

Výhodou je rychlé snížení hmotnosti odparku, oligopyrroly zůstávají nasorbované na SiO₂. Filtrace z principu nepřinese čistý produkt, ale výrazně zjednoduší následnou separaci.

Flash chromatografie na SiO₂

Výhodou je použití jemnějšího silikagelu, který má výrazně vyšší účinnost separace, kterou lze provést jen za 10 – 20 min. Nevýhodou jsou vyšší pořizovací náklady. Přístroj byl dostupný pouze v pozdější fázi syntézy. Pro nanášení nebyla používána smyčka (lze nanést pouze malé množství látky), ale předkolona s nasorbovanou látkou do SiO₂. Druhým způsobem nanášení bylo rozpuštění látky v polárním rozpouštědle, jež bylo následně převrstveno nepolárním rozpouštědlem.

Soxhletův extraktor

Výhodou je uživatelská nenáročnost separace, odparek (olejovitý) byl nasorbován na SiO₂, poté nechán 2 – 3 dny promývat hexanem. Zároveň dochází k extrakci dalších dvou látek, které lze snadno odstranit chromatografií.

Destilace pomocí vyšší teploty

Při destilaci rozpouštědel na topném hnízdě byla pozorována destilace produktu v čisté podobě. Separace nebyla prováděna z důvodu možného rozkladu produktu. Destilaci by bylo možné účinně provádět v uspořádání velké baňky s vymrazovacím prstem.

Destilace pomocí Kugelrohu (160 °C)

Dochází k separaci lehčích produktů, tj. hlavně BODIPY a částečně „*N*-confused” dipyrro-

*Při použití topného hnízda k recyklaci rozpouštědla je možné provádět chromatografii kontinuálně s 10 l rozpouštědel.

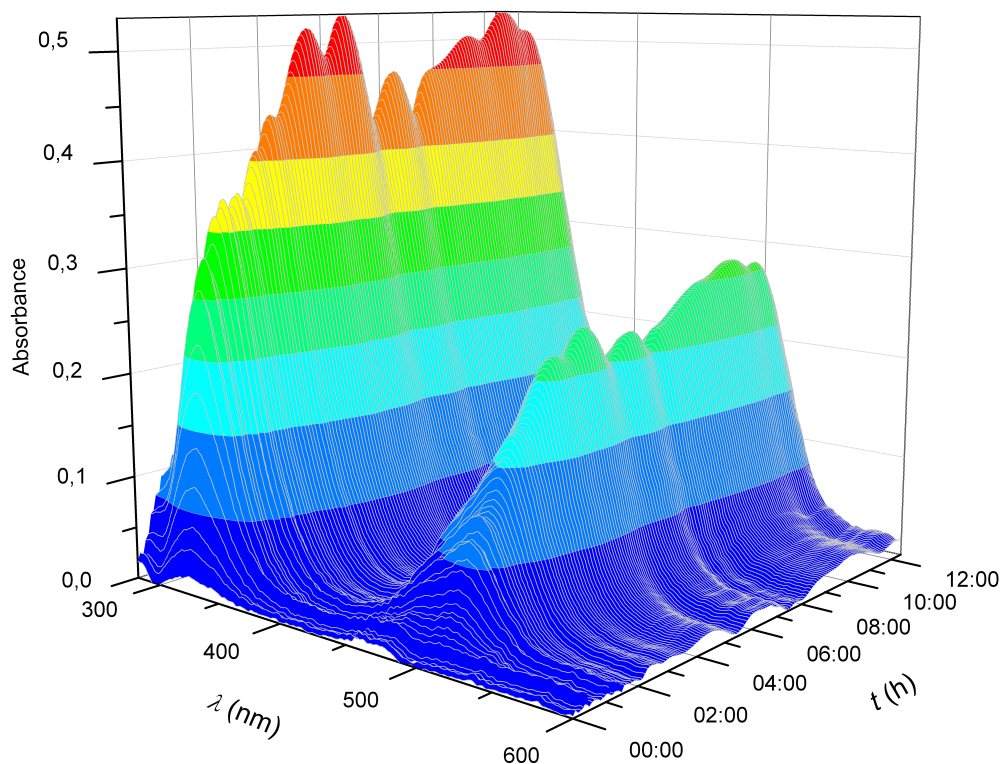
methanů od oligopyrrolů. Nevýhodou je malá baňka (malý povrch), která neumožňuje efektivně separovat větší množství (2 – 3 g). Pro účinnější destilaci je nutné směs zahřívat na 160 °C alespoň půl dne za použití olejové pumpy.

Krystalizace

Předčištěním odparku na fritě s SiO₂ byly po odpaření a následném rozpuštění odparku získány drobné krystalky, podmínky se v tomto případě nepodařilo zopakovat. Z reakční směsi se nepodařilo efektivně vykrystalizovat ani produkt, ani nečistoty.

Nejefektivnějším způsobem separace byla filtrace přes SiO₂ na fritě nebo pomocí Soxhletova extraktoru, následovaná (flash) chromatografií.

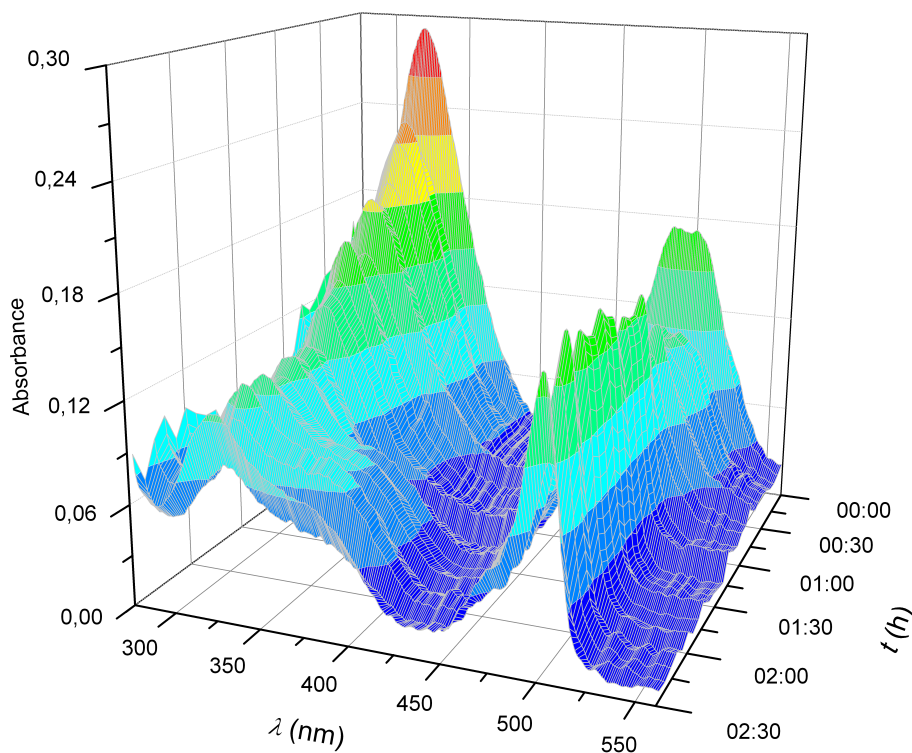
7.1.2 Syntéza BODIPY jádra z benzoylchloridu



Obrázek 7.2: Spektrofotometrické sledování průběhu kondenzace pyrrolu s benzoylchloridem při 50 °C. Pík při 505 nm odpovídá vznikajícímu dipyrromethenovému meziprojektu, po 4 h je nárůst koncentrace minimální.

Reakce byla provedena podle modifikovaného postupu v lit.⁵² Výhodou bylo zkrácení celkového reakčního času, snížení hmotnosti vedlejších produktů před separací přibližně o 50 %, relativně vysoké výtěžky **II** (27 %), snadná a účinná separace. Separace byla optimalizována následujícím způsobem: filtrací přes SiO₂ na fritě a krystalizací ze směsi CH₂Cl₂:MeOH:HEX (cca 60 % hmotnosti produktu). Zbylý roztok byl separován flash chromatografií na SiO₂. Bylo provedeno spektrofotometrické sledování průběhu kondenzace 2,4-dimethylpyrrolu se

4-(chlormethyl)benzoyl chloridem (Obrázek 7.2) a následné komplexace etherátem fluoridu boritého (Obrázek 7.3). Bylo navrženo prodloužení času kondezace na 4 h při teplotě 50 °C a komplexace po dobu 1,5 h při téže teplotě. Zahříváním a úpravou reakčního času byl snížen podíl hmotnosti vedlejších produktů, což dále zjednodušilo separaci. V důsledku ztrát při manipulaci bylo dosaženo pouze průměrného výtěžku. Při dalším provedení reakce lze očekávat navýšení výtěžku o 5 – 10 %.



Obrázek 7.3: Spektrofotometrické sledování průběhu komplexace fluoridu boritého při 50 °C.

7.2 Sulfonace BODIPY

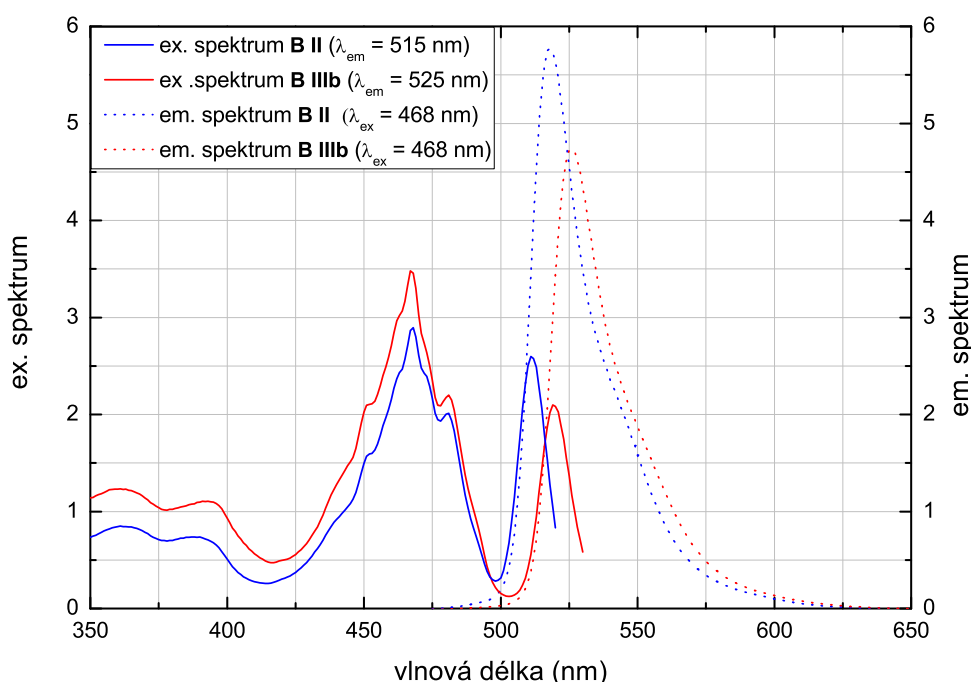
Reakce je popsána^{5,6} nebo zmíněna v lit.,^{1,10} a vždy je doprovázena poznámkou o nutnosti optimalizace a špatné reprodukovatelnosti reakce. Byly vyzkoušeny různé podmínky: –10 až –78 °C, 1 – 5 ekv ClSO₃H, reakční čas od 0,5 do 4 h, sulfonace následovaná neutralizací propargylaminem a jeho alkylací (–20 °C nebo RT) aj. Reakce byla vždy prováděna v inertní atmosféře a bez přístupu světla (alobal). Neúspěch reakce byl provázen dvěma pozorovatelnými změnami v reakční nádobě – rozpad reaktantu způsobený vlhkostí a černání stěn baňky. Domnívám se, že se jednalo o terminaci radikálů reaktantu (domněnka na základě pozorování). Samotné reakci proto předchází 1 – 2 h sušení aparatury na olejové vývěvě se všemi reaktanty, a přidání zhášecí radikálů BHT, který eliminoval vylučování černého produktu na stěně baňky. V rámci optimalizace syntézy bude dále snižováno množství BHT z 1 ekv. a bude zkoumán vliv na výtěžek.

Sodná sůl

Na základě optimalizovaných podmínek bylo připraveno sulfonované BODIPY **IIIa**, neutralizované nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Látka **IIIa** je velmi dobře rozpustná ve vodě a methanolu, dobře rozpustná v DMF, obtížně rozpustná v acetonu a acetonitrilu, nerozpustná v dichlormethanu. Odpařování vody a její mírné zahřátí na rotační vakuové odparce urychlilo nežádoucí hydrolýzu chlormethylové skupiny na hydroxymethylovou. Pro eliminaci tohoto procesu byla voda odstraněna lyofilizací. V případě opakování této reakce bude použit roztok hydrogenuhličitanu sodného v methanolu ve známém příbytku.

Ethyldiisopropylamonná sůl

Příprava **IIIb** byla provedena jako u **IIIa**, k neutralizaci byla použita DIPEA. Připravená látka je dle očekávání dobře rozpustná ve vodě, methanolu i dichlormethanu, v hexanu nerozpustná. Produkt byl separován flash chromatografií na SiO₂ ve vysoké čistotě, hydrolýza chlormethylové skupiny nebyla pozorována (Obrázek 3, Obrázek 4). Fluorescenční spektra byla změřena $\lambda_{\text{ex}} = 468 \text{ nm}$ a $\lambda_{\text{em}} = 525 \text{ nm}$ (Obrázek 7.4).



Obrázek 7.4: Excitační a emisní spektra látek **II** a **IIIb** měřená v methanolu.

7.3 Alkylace a komplexace BODIPY

Následující reakce byly prováděny s **IIIa**. Vzhledem k nízké rozpustnosti, která komplikuje provedení následujících reakcí vedoucích k produktům **VIII** a **X**, budou analogické reakce provedeny s **IIIb**.

Alkylace nesulfonovaného BODIPY dimethylaminem

Příprava **II** byla provedena dle lit.,⁵² za vzniku **IV** s dobrými výtěžky. Reakce nebyla dále optimalizována.

Alkylace sulfonovaného BODIPY dimethylaminem

Příprava **VIIa** z **3a** byla komplikována velmi nízkou rozpustností reaktantu v acetonitrilu. Byla zkoušena různá rozpouštědla (DMF, MeOH) za RT a 50 °C. Kvantitativní konverze reakce bylo dosaženo přidávkem 10 – 15 % methanolu pro zvýšení rozpustnosti bez nutnosti zahřívání reakce.

Alkylace sulfonovaného BODIPY propargylaminem

Příprava **Xa** z **3a** byla zkoušena v různých suchých rozpouštědlech (DMF, MeCN, MeCN s 10 – 15 % MeOH, MeOH) za RT a 50 °C. Podle TLC vznikl v reakční směsi produkt stejné polaritě jako v případě **VIIa**, který byl izolován, ale navázání propargylaminové skupiny (látky **Xa**) nebylo prokázáno ¹H ani ¹³C NMR spektroskopii ani MS spektrometrií.

Komplexace nesulfonovaného BODIPY

Reakce byla provedena dle lit.,⁵² látku **V** po reakci nebylo možné čistit, protože vzniklý komplex není stálý a na SiO₂ dochází k jeho rozpadu za vzniku **VI**. Látka **VI** je charakterizována v lit.⁵² Produkt **V** je dobře rozpustný v dichlormethanu, obtížně v acetonu a methanolu, ve vodě nerozpustný. Ačkoliv nebylo pozorováno rozpouštění látky **V** ve vodě, pokud došlo k rozpadu komplexu **V** na **VI**, byl pozorován nárůst intenzity emise ($\lambda_{em} = 505$ nm) o dva řády. Tato informace je motivací pro přípravu látky **IX**, pro kterou lze předpokládat podobné chování, avšak s vysokou rozpustností ve vodě.

Komplexace sulfonovaného BODIPY

Příprava **VIIIa** byla provedena obdobným způsobem jako pro **V** v prostředí acetonitrilu. Vznik komplexu **VIIIa** nebyl prokázán, dle ¹H NMR spekter vznikla látka **V**. Dále bude zkoumáno, za jakých podmínek probíhá vratná reakce sulfonové skupiny.

Literatura

- [1] A. Loudet and K. Burgess, *Chemical Reviews*, 2007, **107**, 4891–4932.
- [2] J. Chan, S. C. Dodani and C. J. Chang, *Nature Chemistry*, 2012, **4**, 973–984.
- [3] N. Boens, V. Leen and W. Dehaen, *Chemical Society Reviews*, 2012, **41**, 1130–1172.
- [4] S. Zhu, J. Zhang, G. Vegesna, F.-T. Luo, S. A. Green and H. Liu, *Organic Letters*, 2011, **13**, 438–441.
- [5] L. Li, J. Han, B. Nguyen and K. Burgess, *The Journal of Organic Chemistry*, 2008, **73**, 1963–1970.
- [6] R. Sauer, A. Turshatov, S. Balushev and K. Landfester, *Macromolecules*, 2012, **45**, 3787–3796.
- [7] A. Treibs and F. H. Kreuzer, *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 1968, **718**, 208–223.
- [8] I. J. Arroyo, R. Hu, G. Merino, B. Z. Tang and E. Peña-Cabrera, *The Journal of Organic Chemistry*, 2009, **74**, 5719–5722.
- [9] A. Schmitt, B. Hinkeldey, M. Wild and G. Jung, *Journal of Fluorescence*, 2009, **19**, 755–758.
- [10] G. Ulrich, R. Ziessel and A. Harriman, *Angewandte Chemie International Edition*, 2008, **47**, 1184–1201.
- [11] T. K. Uppal, *Ph.D. thesis*, Louisiana State University, 2012.
- [12] K. Tram, H. Yan, H. A. Jenkins, S. Vassiliev and D. Bruce, *Dyes and Pigments*, 2009, **82**, 392–395.
- [13] A. Romieu, C. Massif, S. Rihn, G. Ulrich, R. Ziessel and P.-Y. Renard, *New Journal of Chemistry*, 2013, **37**, 1016–1027.
- [14] L. Yang, R. Simionescu, A. Lough and H. Yan, *Dyes and Pigments*, 2011, **91**, 264–267.
- [15] D. T. Gryko, D. Gryko and C.-H. Lee, *Chemical Society Reviews*, 2012, **41**, 3780–3789.

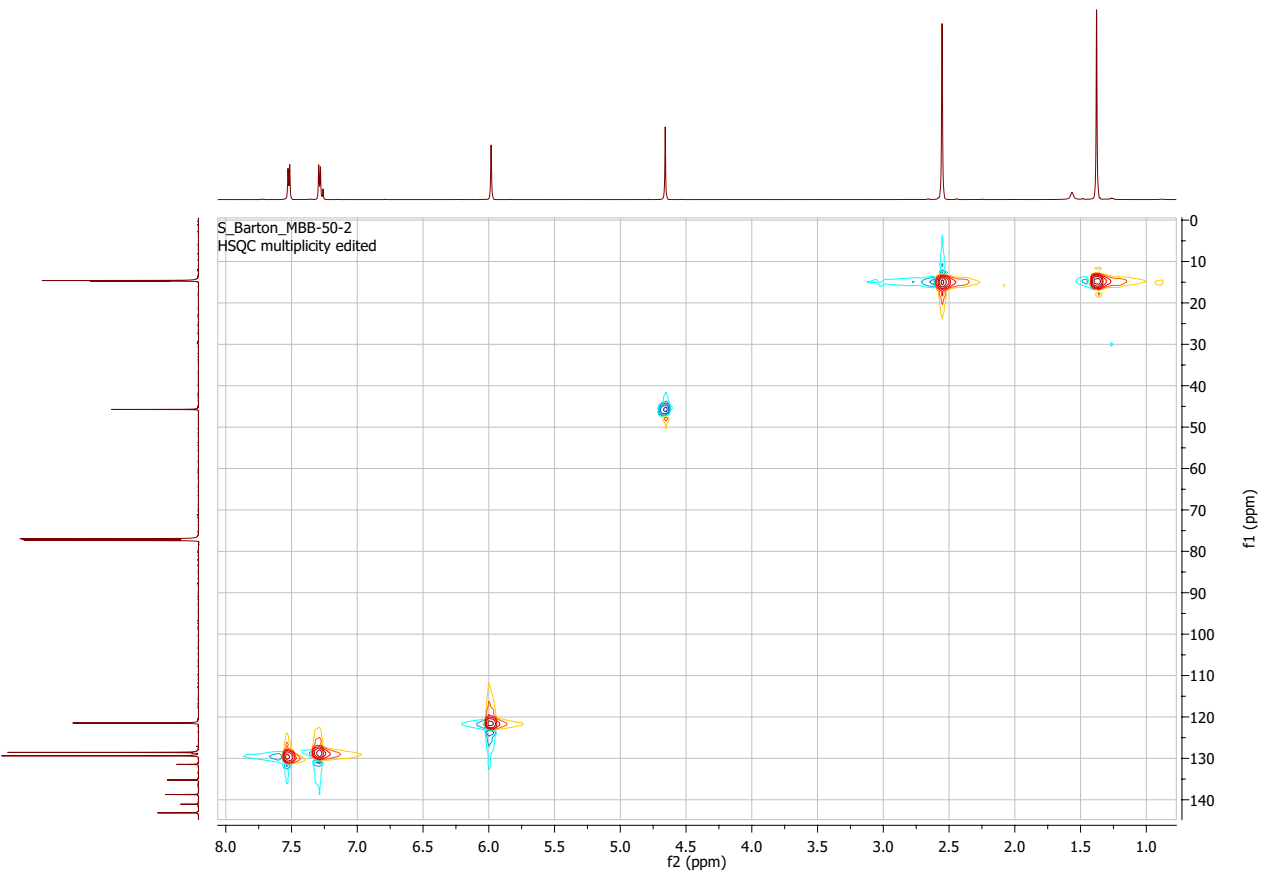
- [16] J. K. Laha, S. Dhanalekshmi, M. Taniguchi, A. Ambroise and J. S. Lindsey, *Organic Process Research & Development*, 2003, **7**, 799–812.
- [17] T. V. Goud, A. Tutar and J.-F. Biellmann, *Tetrahedron*, 2006, **62**, 5084–5091.
- [18] V. P. Yakubovskiy, M. P. Shandura and Y. P. Kovtun, *European Journal of Organic Chemistry*, 2009, **2009**, 3237–3243.
- [19] Z. Li, E. Mintzer and R. Bittman, *The Journal of Organic Chemistry*, 2006, **71**, 1718–1721.
- [20] L. Wu and K. Burgess, *Chemical Communications*, 2008, 4933–4935.
- [21] Y.-C. Lin, *M.Sc. thesis*, Durham University, 2010.
- [22] T. E. Wood and A. Thompson, *Chemical Reviews*, 2007, **107**, 1831–1861.
- [23] J. H. Boyer, A. M. Haag, G. Sathyamoorthi, M.-L. Soong, K. Thangaraj and T. G. Pavlopoulos, *Heteroatom Chemistry*, 1993, **4**, 39–49.
- [24] M. Shah, K. Thangaraj, M.-L. Soong, L. T. Wolford, J. H. Boyer, I. R. Politzer and T. G. Pavlopoulos, *Heteroatom Chemistry*, 1990, **1**, 389–399.
- [25] Y. Hayashi, S. Yamaguchi, W. Y. Cha, D. Kim and H. Shinokubo, *Organic Letters*, 2011, **13**, 2992–2995.
- [26] T. Yogo, Y. Urano, Y. Ishitsuka, F. Maniwa and T. Nagano, *Journal of the American Chemical Society*, 2005, **127**, 12162–12163.
- [27] G. Ulrich, C. Goze, M. Guardigli, A. Roda and R. Ziessel, *Angewandte Chemie*, 2005, **117**, 3760–3764.
- [28] C. Goze, G. Ulrich and R. Ziessel, *The Journal of Organic Chemistry*, 2007, **72**, 313–322.
- [29] H. Kim, A. Burghart, M. B. Welch, J. Reibenspies and K. Burgess, *Chemical Communications*, 1999, 1889–1890.
- [30] C. Goze, G. Ulrich, L. J. Mallon, B. D. Allen, A. Harriman and R. Ziessel, *Journal of the American Chemical Society*, 2006, **128**, 10231–10239.
- [31] C. Tahtaoui, C. Thomas, F. Rohmer, P. Klotz, G. Duportail, Y. Mély, D. Bonnet and M. Hibert, *The Journal of Organic Chemistry*, 2007, **72**, 269–272.
- [32] H. N. Kim, W. X. Ren, J. S. Kim and J. Yoon, *Chemical Society Reviews*, 2012, **41**, 3210–3244.
- [33] Y. Gabe, Y. Urano, K. Kikuchi, H. Kojima and T. Nagano, *Journal of the American Chemical Society*, 2004, **126**, 3357–3367.
- [34] D. W. Domaille, L. Zeng and C. J. Chang, *Journal of the American Chemical Society*, 2010, **132**, 1194–1195.

- [35] J. Karolin, L. B.-A. Johansson, L. Strandberg and T. Ny, *Journal of the American Chemical Society*, 1994, **116**, 7801–7806.
- [36] C. McCusker, J. B. Carroll and V. M. Rotello, *Chemical Communications*, 2005, 996–998.
- [37] D. Zhang, V. Martin, I. Garcia-Moreno, A. Costela, M. E. Perez-Ojeda and Y. Xiao, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2011, **13**, 13026–13033.
- [38] Y. Hayashi, N. Obata, M. Tamaru, S. Yamaguchi, Y. Matsuo, A. Saeki, S. Seki, Y. Kureishi, S. Saito, S. Yamaguchi and H. Shinokubo, *Organic Letters*, 2012, **14**, 866–869.
- [39] R. Ziessel, G. Ulrich and A. Harriman, *New Journal of Chemistry*, 2007, **31**, 496–501.
- [40] K. Kanemoto, A. Fukunaga, M. Yasui, D. Kosumi, H. Hashimoto, H. Tamekuni, Y. Kawahara, Y. Takemoto, J. Takeuchi, Y. Miura and Y. Teki, *RSC Advances*, 2012, **2**, 5150–5153.
- [41] K. Rurack, M. Kollmannsberger and J. Daub, *Angewandte Chemie International Edition*, 2001, **40**, 385–387.
- [42] L. Bonardi, H. Kanaan, F. Camerel, P. Jolinat, P. Retailleau and R. Ziessel, *Advanced Functional Materials*, 2008, **18**, 401–413.
- [43] R. K. Lammi, R. W. Wagner, A. Ambroise, J. R. Diers, D. F. Bocian, D. Holten and J. S. Lindsey, *The Journal of Physical Chemistry*, 2001, **105**, 5341–5352.
- [44] S. Kolemen, Y. Cakmak, S. Erten-Ela, Y. Altay, J. Brendel, M. Thelakkat and E. U. Akkaya, *Organic Letters*, 2010, **12**, 3812–3815.
- [45] S. Kolemen, O. A. Bozdemir, Y. Cakmak, G. Barin, S. Erten-Ela, M. Marszalek, J.-H. Yum, S. M. Zakeeruddin, M. K. Nazeeruddin, M. Gratzel and E. U. Akkaya, *Chemical Science*, 2011, **2**, 949–954.
- [46] A. Hagfeldt, G. Boschloo, L. Sun, L. Kloo and H. Pettersson, *Chemical Reviews*, 2010, **110**, 6595–6663.
- [47] M. A. Green, K. Emery, Y. Hishikawa, W. Warta and E. D. Dunlop, *Progress in Photovoltaics: Research and Applications*, 2012, **20**, 12–20.
- [48] T. Bura, N. Leclerc, S. Fall, P. L ev eque, T. Heiser, P. Retailleau, S. Rihn, A. Mirloup and R. Ziessel, *Journal of the American Chemical Society*, 2012, **134**, 17404–17407.
- [49] W. L. Armarego and C. L. L. Chai, in *Purification of Laboratory Chemicals (Fifth Edition)*, Butterworth-Heinemann, Oxford, Fifth Edition edn., 2003.
- [50] R. Fiammengo, K. Musilek and A. J aschke, *Journal of the American Chemical Society*, 2005, **127**, 9271–9276.
- [51] E. Corey and J. Suggs, *Tetrahedron Letters*, 1975, **16**, 2647–2650.
- [52] B. W. Michel, A. R. Lippert and C. J. Chang, *Journal of the American Chemical Society*, 2012, **134**, 15668–15671.

Část III

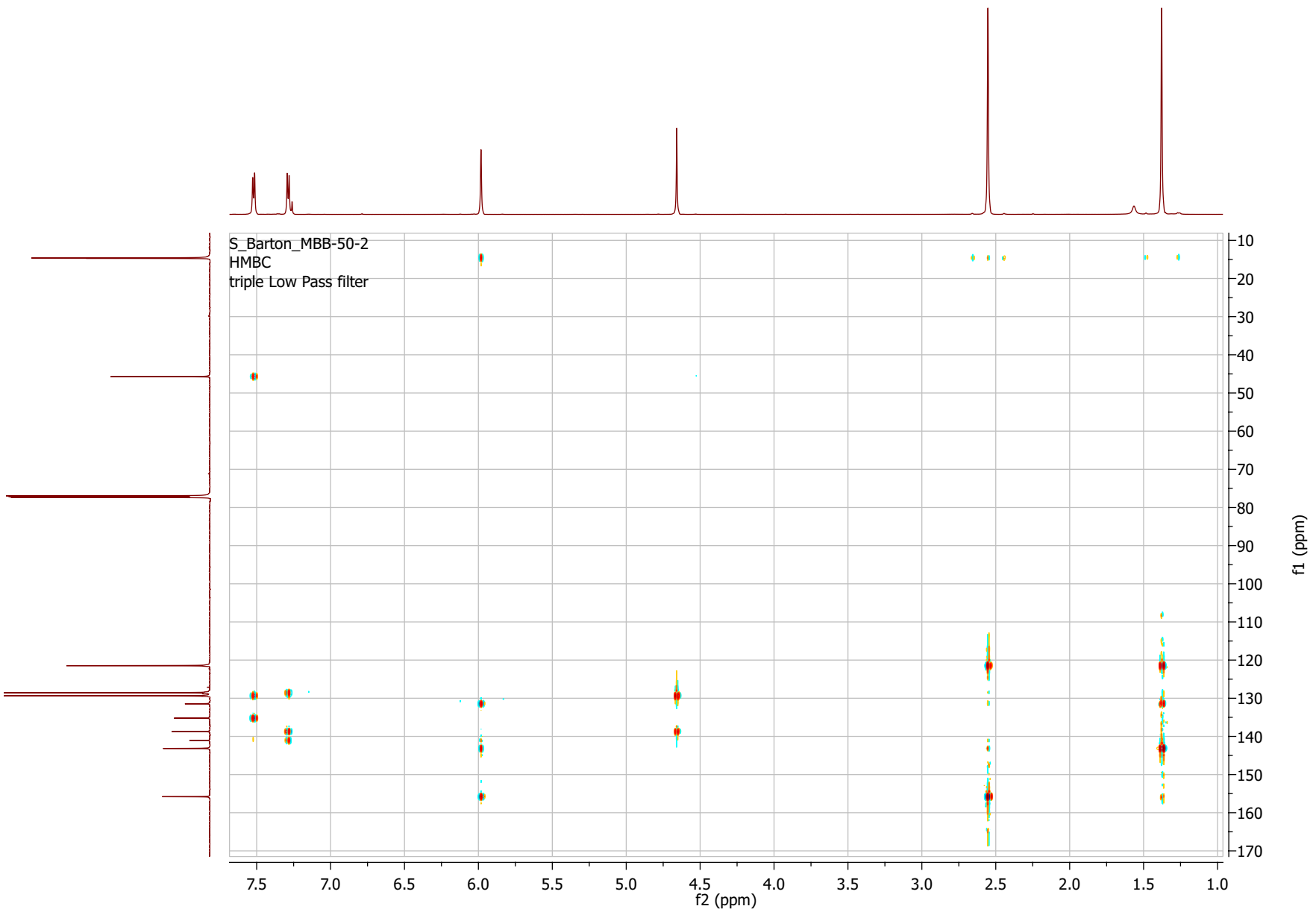
Přílohy

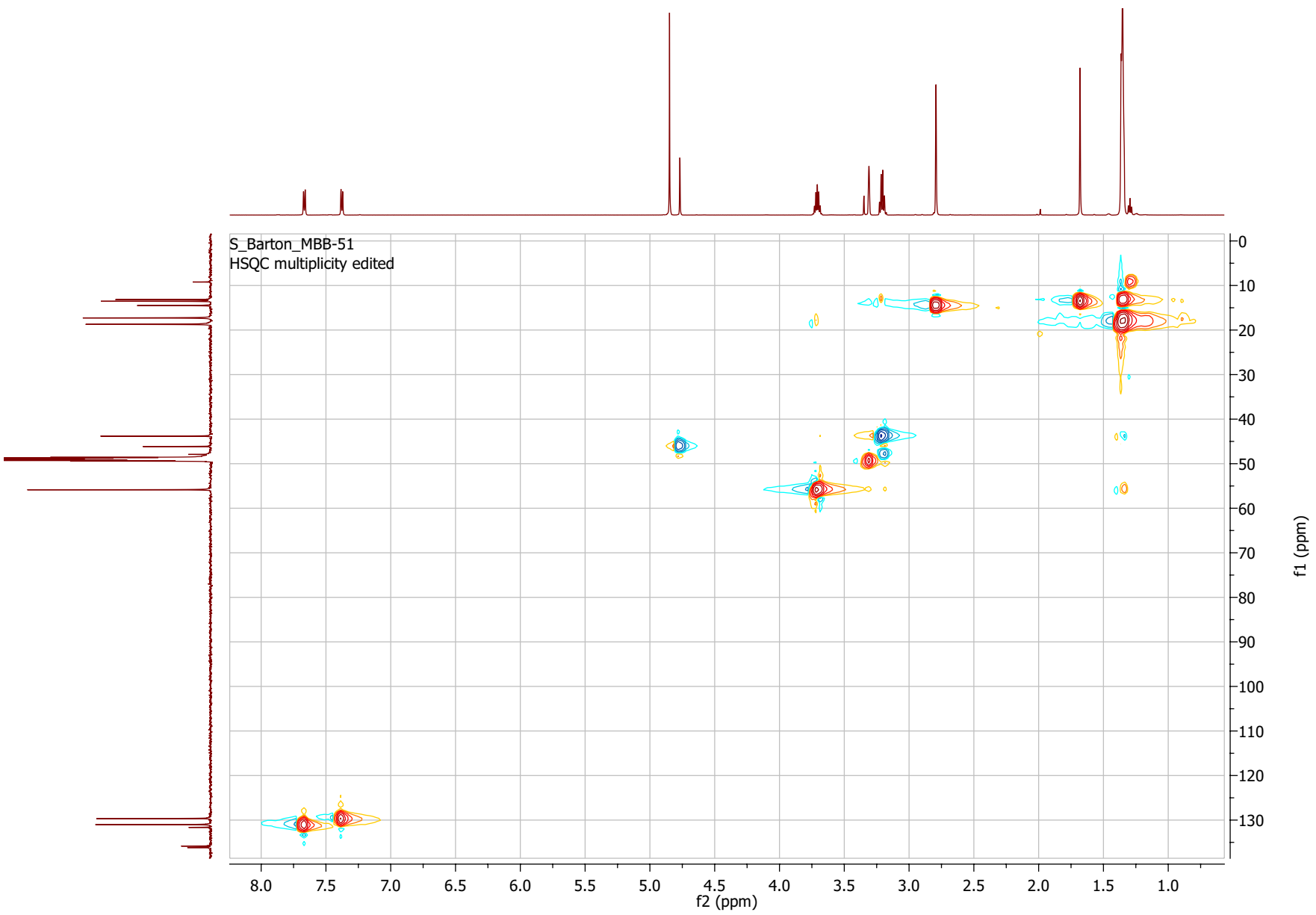
2D NMR



Obrázek 1: HSQC spektra BODIPY II.

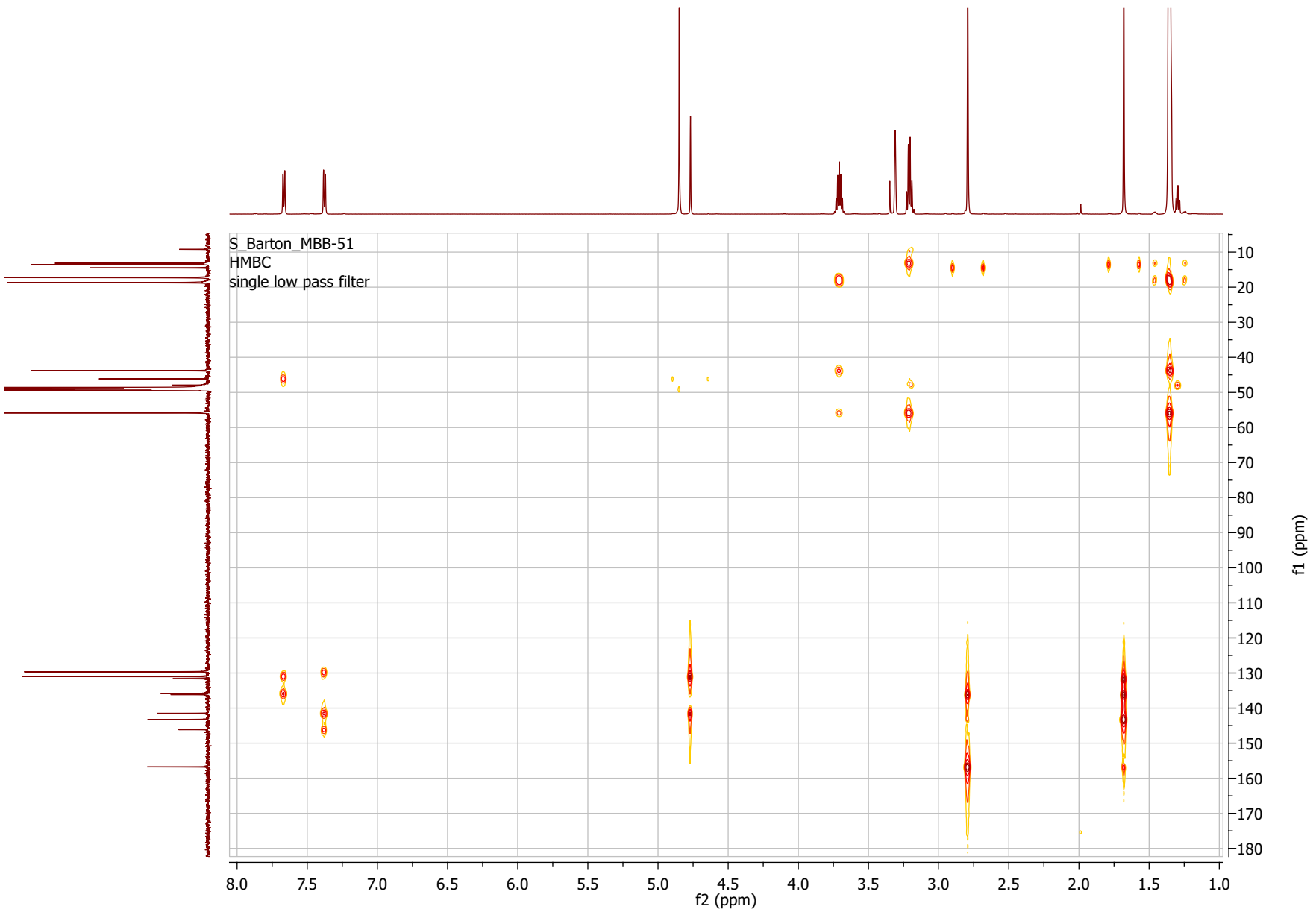
Obrázek 2: HMBC spektra BODIPY II.





Obrázek 3: HSQC spektra sulfonovaného BODIPY IIIb.

Obrázek 4: HMBC spektra sulfonovaného BODIPY IIIb.



Rengenostrukturní data

Tabulka 1: Krystalografické parametry látky **II**.

Látka	II
Vzorec	$C_{20}H_{20}BClF_2N_2$
M_r	372,65
Tvar, barva	prizma, oranžovo-červené
Rozměry (mm)	0,27 0,37 0,53
Krystalová soustava	jednoklonná
Prostorová grupa	$P2_1$
a (Å)	8,7446(6)
b (Å)	8,9986(5)
a (Å)	11,5351(7)
α (°)	90,00
β (°)	94,195(2)
γ (°)	90,00
V (Å ³)	905,26(10)
Z	2
D_{calc} g·cm ⁻³	1.367
μ (mm ⁻¹)	0,236
T (K)	150
Total refl.	4150
Obsd. refl. ($I > 2\sigma(I)$)	3848
GOF on F^2	1,027
R; wR ($I > 2\sigma(I)$)	0,0308; 0,0769
R; wR	0,0349; 0,0794

Seznam zkratek

- BHT – 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluen nebo 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylfenol
- BODIPY – 4-bora-3a,4a-diaza-*s*-indacen
- DCM – dichlormethan
- DDQ – 2,3-dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (dichlordikyanobenzochinon)
- DIPEA – *N*-ethyl-diisopropylamin
- DMF – dimethylformamid
- EA – ethylacetát
- EtOH – ethanol
- HEX – hexan
- MeCN – acetonitril
- MeOH – methanol
- MS – hmotnostní spektrometrie
- NIR – blízké infračervené záření
- NMR – nukleární magnetická rezonance
- PCC – pyridinium-chlorochromát
- PEG – polyethylenglykol
- RT – laboratorní teplota
- TFA – trifluoroctová kyselina
- THF – tetrahydrofuran
- TLC – tenkovrstvá chromatografie
- TMS – tetramethylsilan
- UV-VIS – spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti