

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Organické zlúčeniny bóru ako fluorescenčné biosondy

Diana Briestenská

Bakalárska práca

2018

University of Pardubice
Faculty of Chemical-Technology

Organoboron compounds as fluorescence bioprobes

Diana Briestenská

Bachelor thesis

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Diana Briestenská**
Osobní číslo: **C15108**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Organické sloučeniny boru jako fluorescenční biosondy**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proveďte literární rešerši shrnující organické sloučeniny boru z hlediska jejich použitelnosti jako fluorofory pro značení biomolekul.
2. V samostatné kapitole rešerše shrňte co je známo o fluorescenčních boron ketiminátech.
3. Připravte alespoň tři boron ketimináty různě substituované na atomu boru.
4. Připravené sloučeniny charakterizujte dostupnými metodami.
5. Proveďte předběžný průzkum jejich luminiscenčních vlastností.
6. Získané výsledky vyhodnoťte a sepište závěrečnou zprávu.

Rozsah grafických prací:
Rozsah pracovní zprávy:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:
Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Petr Šimůnek, Ph.D.**
Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2018**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedláček, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

Prehlasujem:

Túto prácu som vypracovala samostatne. Všetky literárne pramene a informácie, ktoré som v práci využila, sú uvedené v zozname použitej literatúry.

Bola som zoznámená s tým, že sa na moju prácu vzťahujú práva a povinnosti vyplývajúce zo zákona č. 121/2000 Zb., autorský zákon, hlavne zo skutočností, že Univerzita Pardubice má právo na uzatvorenie licenčnej zmluvy o použití tejto práce ako školského diela podľa § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tým, že pokiaľ dôjde k použitiu tejto práce mnou alebo bude poskytnutá licencia o použití inému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávnená odo mňa požadovať primeraný príspevok na úhradu nákladov, ktoré na vytvorení diela vynaložila, a to podľa okolností až do ich skutočnej výšky.

Súhlasím s prezenčným sprístupnením svojej práce v Univerzitnej knižnici.

V Pardubiciach dňa 1. 7. 2018

Diana Briestenská

Pod'akovanie

Rada by som pod'akovala v prvom rade svojmu vedúcemu bakalárskej práce, doc. Ing. Petrovi Šimůnkovi, Ph.D., za odborné vedenie práce a vytvorenie príjemného prostredia v laboratóriu, cenné rady, ktoré mi venoval pri riešení danej problematiky, ale aj za čas, láskavosť a trpezlivosť pri konzultáciách.

Ďalej by som chcela pod'akovať svojej rodine a priateľom, ktorí ma po celú dobu podporujú v mojom štúdiu.

ANOTÁCIA

Predkladaná bakalárska práca sa zaoberá organickými zlúčeninami bóru, s využitím ako fluorescenčné biosondy. V úvode práce sú opísané základné princípy luminiscencie. Ďalšia časť práce je zameraná na popis zlúčenín vykazujúcich fluorescenciu v tuhom stave a ich potencionálne využitie v praxi. Predmetom experimentálnej časti je príprava piatich rôznych oxazaborínov s BF_2 a BPh_2 fragmentom. Tieto zlúčeniny boli charakterizované NMR spektroskopiou, hmotnostnou spektrometriou s vysokým rozlíšením a UV-Vis spektroskopiou. U pripravených oxazaborínov boli predbežne preštudované aj fluorescenčné vlastnosti.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Fluorescencia, heterocykly bóru, oxazaboríny, bioimaging, ACQ/AIE efekt, biosondy

NÁZOV

Organické zlúčeniny bóru ako fluorescenčné biosondy

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with organoboron compounds, with use as fluorescence bioprobes. In the introduction the basic principles of luminescence are described. The next part of the thesis is focused on the description of compounds showing fluorescence in a solid state and their potential use in practice. The subject of the experimental part is the preparation of five different oxazaborines with BF_2 and BPh_2 fragment. Their characterization was done by means of NMR spectroscopy, high resolution mass spectrometry and UV-Vis spectroscopy. Preliminary fluorescent properties of the prepared oxazaborines were investigated.

KEYWORDS

fluorescence, boron heterocycles, oxazaborines, bioimaging, ACQ/AIE effect, bioprobes

TITLE

Organoboron compounds as fluorescence bioprobes

Obsah

| | |
|---|----|
| Úvod..... | 10 |
| Fluorescenčné farbivá | 13 |
| Optické sondy na zobrazovanie biomolekúl..... | 16 |
| Fluorescenčný mikroskop..... | 18 |
| Heterocykly obsahujúce atóm bóru | 21 |
| Rozdelenie bórových heterocyklov | 21 |
| Komplexy s enaminonmi..... | 22 |
| Komplexy s heterocyklickým dusíkom | 23 |
| Komplexy salicylaldimínov a príbuzných molekúl..... | 24 |
| Štruktúra a vlastnosti boron ketiminátov | 24 |
| Štruktúra boron ketiminátov | 24 |
| Luminiscenčné vlastnosti | 25 |
| Elektronické vlastnosti | 26 |
| Aplikácie bórových heterocyklov v bioimagingu..... | 27 |
| Ciele práce | 30 |
| Experimentálna časť | 31 |
| Použité zariadenia a analýzy | 31 |
| Syntézy pripravených látok..... | 32 |
| Všeobecný postup prípravy 2',4'-dimethoxybifenyl-4-amínu (2b) | 32 |
| Všeobecný postup prípravy enaminonov | 33 |
| (2Z)-3-[(2,4-dimethoxyfenyl)amino]-1-fenylbut-2-en-1-on..... | 33 |
| (2Z)-3-[(2,4-dimethoxyfenyl)amino]-1,3-difenylprop-2-en-1-on | 34 |
| Postup prípravy (2Z)-3-{[4-(2,4-dimethoxyfenyl)fenyl]amino}-1-fenylbut-2-en-1-onu (3c)..... | 34 |
| Syntézy pripravených oxazaborínov | 35 |
| Všeobecný postup prípravy BF ₂ derivátov (4a,b) | 35 |
| 6-Fenyl-2,2-difluor-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-4-methyl-1,3,2λ ⁴ -oxazaborín | 36 |
| 4,6-Difenyl-2,2-difluor-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-1,3,2λ ⁴ -oxazaborín | 37 |
| Postup prípravy 6-fenyl-2,2-difluor-3-(4-(2,4-dimethoxyfenyl)fenyl)-1,3,2λ ⁴ -oxazaborínu (4c) | 38 |
| Všeobecný postup prípravy BPh ₂ derivátov (5a,b) | 39 |
| 2,2,6-Trifenyl-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-4-methyl-1,3,2λ ⁴ -oxazaborin | 39 |
| 2,2,4,6-Tetrafenyl-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-1,3,2λ ⁴ -oxazaborin..... | 40 |

| | |
|--|----|
| Výsledky a diskusia | 41 |
| Syntéza a štruktúra východzích enaminonov | 41 |
| Syntéza a štruktúra oxazaborínov | 45 |
| Luminiscenčné vlastnosti pripravených oxazaborínov | 55 |
| UV-Vis spektrá enaminonov a oxazaborínov | 59 |
| Elektrochemické štúdie oxazaborínov 4a,c | 59 |
| Záver | 62 |
| Literatúra..... | 63 |

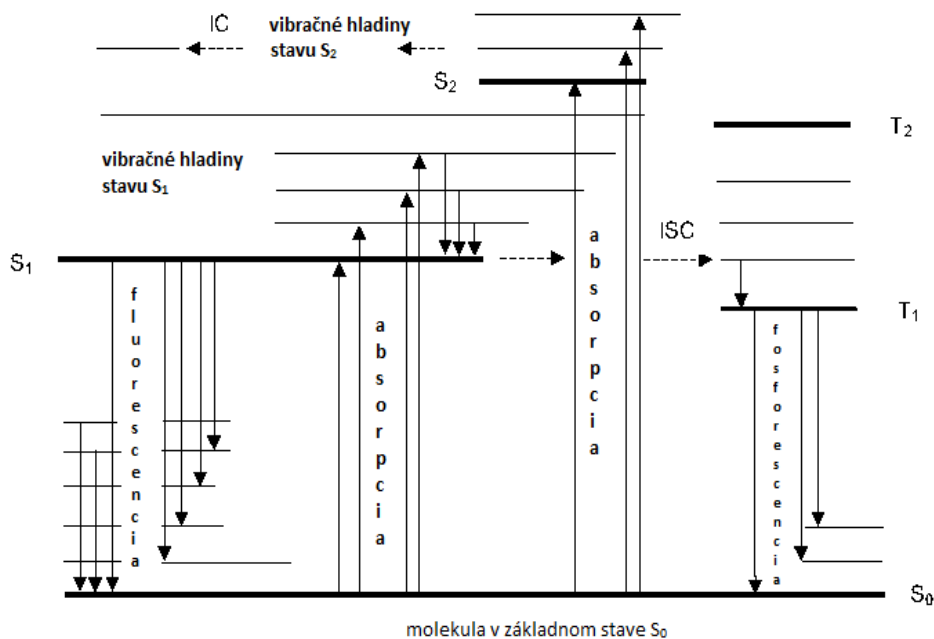
Úvod

Luminiscencia predstavuje schopnosť látok vydávať za určitých podmienok studené žiarenie, prípadne ide o schopnosť tento jav v iných látkach vyvolať.^[1]

Luminiscencia látok môže byť vyvolaná pohltanou svetelnou energiou (*fotoluminiscencia*), energiou chemickej reakcie prebiehajúcej v látke (*chemiluminiscencia*), energiou uvoľňovanou biologickými pochodmi (*bioluminiscencia*), elektrickým poľom (*elektroluminiscencia*) a podobne.^[2]

Fotoluminiscencia (fluorescencia, popr. fosforescencia), predstavuje druh emisie žiarenia časticou, pri ktorom bola častica vopred excitovaná absorpciou žiarivej energie zo základného do excitovaného elektrónového stavu. Najčastejšie používané primárne žiarenie predstavuje elektromagnetické žiarenie z ultrafialovej oblasti. Pretože energeticky bohatý excitovaný stav je nestabilný, molekuly sa rýchlo vracajú späť do stabilného základného stavu. Deaktivácia môže prebiehať buď žiarivým alebo nežiarivým mechanizmom, popr. ich kombináciou.

Excitačné a deexcitačné pomery je možné ukázať na schematickom diagrame (Obrázok 1 **Jablonskiho diagram**).^[3]



Obrázok 1 Jablonskiho diagram

Prevzaté z literatúry^[3]

S_0 – základný singletový stav, S_1 – prvý excitovaný singletový stav, S_2 – druhý excitovaný singletový stav T_1 – prvý excitovaný tripletový stav, T_2 – druhý excitovaný tripletový stav **IC** (interná konverzia) – nežiarivý prechod medzi stavmi s rovnakou spinovou multiplicitou **ISC** (medzisystémový prechod) - nežiarivý prechod medzi stavmi s rozdielnou spinovou multiplicitou

U dvojatómovej molekuly so singletovým základným elektrónovým stavom S_0 , dochádza po absorpcii svetla z UV-Vis oblasti k preskoku elektrónov zo základných energetických stavov do vyšších energetických stavov S_1 popr. S_2 . Pri deaktivácii sa uplatňujú rýchle vnútorné konverzie a vibračné deaktivácie, ktorými sa molekula dostáva do stavu S_1 s najnižšou vibračnou podhladinou. Odtiaľ molekula prechádza do základného stavu S_0 . Deexcitácia nastáva vyžiareníím fotónu, tzv. fluorescenciou. Pri tomto prechode sa elektróny z excitovaných hladín vracajú do základného stavu bez zmeny spinu, ide o spinovo dovolený žiarivý prechod.^[3]

V prípade, že môže dochádzať k absorpcii svetla, má molekula okrem základnej a vzbudenej singletovej hladiny S_0 a S_1 aj tripletovú hladinu T , ktorá energeticky leží medzi nimi a pretína hladinu S_1 . Z najnižšej vibračnej hladiny singletového stavu S_1 , môže dochádzať k prechodu elektrónov tzv. medzisystémovým prechodom (ISC), do vibračných podhladin tripletového stavu T_1 . Návrat molekuly z tejto hladiny do základného stavu zapríčiňuje emitovanie fosforescenčného žiarenia. V systéme sa nachádzajú dva elektróny s rovnakým spinom a v súlade s Pauliho vylučovacím princípom musí elektrón zmeniť

spin. Tento pochod je málo pravdepodobný, označovaný aj ako spinovo zakázaný a doba po ktorú trvá je dlhšia ako u fluorescencie (viac než 10^{-8} s). Preto je fosforescenciu možné pozorovať aj po prerušení excitácie.^[3,4]

Pri fluorescenčnej emisii prechádza molekula z excitovanej singletovej hladiny do základnej, rovnako singletovej hladiny. Fosforescenčná emisija je prechod z excitovanej tripletovej hladiny do základnej.^[4]

V prípade, že atómy sú zo základného elektrónového stavu absorpciou energie prevedené do vzbuđeného stavu a pri spätnom prechode do základného stavu reemisiou žiarenia o rovnakej energii akú absorbovali, hovoríme o rezonančnej luminiscencii. V iných prípadoch môže dochádzať k situácií kedy vzbuđený atóm vyžiari svetlo dlhšej vlnovej dĺžky, teda menšej energie, než absorboval.

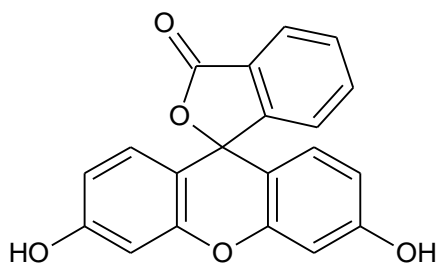
Tento návrat je do istej miery sprevádzaný nežiarivými pochodmi, pri ktorých sa časť absorbovanej energie mení na energiu tepelnú.

Senzitovaná fluorescencia vzniká ak sú atómy určitého prvku prevedené do excitovaného stavu a pri zrážkach predávajú časť absorbovanej energie atómom iného prvku, ktoré potom vyžiaria vlastnú fluorescenciu.^[1]

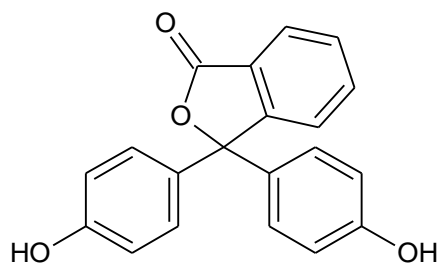
Fluorescencia predstavuje veľmi rýchly proces so životnosťou v rozmedzí 10^{-10} až 10^{-8} s. Je možné ju očakávať v molekulách, ktoré majú rozsiahly systém konjugovaných dvojitých väzieb.^[3] Alifatické zlúčeniny fluoreskujú len ojedinele. Najväčší počet fluoreskujúcich organických látok sú cyklické aromatické zlúčeniny alebo heterocyklické zlúčeniny s konjugovanými dvojitými väzbami, ktoré majú symetrickú, nepohyblivú, planárnu molekulu, schopné existovať v izomérnych alebo tautomérnych formách. Väčší počet kondenzovaných kruhov a chromoforov v molekule aromatickej zlúčeniny obvykle posúva zafarbenie k červenej časti spektra.^[1]

Jednotlivé substituenty však môžu podstatne meniť schopnosť fluorescencie. Na fluoreskujúcej štruktúre sa vyskytuje zväčša aspoň jedna elektrónovo-donorová skupina, ktorá fluorescenciu podporuje (napr. $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{NHCH}_3$). Naopak elektrónovo-akceptorové skupiny (napr. $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{CHO}$, $-\text{COOH}$, halogenidy) fluorescenciu znižujú alebo znemožňujú.^[2]

Fluoreskujúce štruktúry bývajú koplanárne vzhľadom na chromofor, a zrušenie koplanárnosti často vedie k strate schopnosti fluoreskovať. Typickým príkladom môže byť porovnanie štruktúry fluoresceínu (**Obrázok 2**) s fenolftaleínom (**Obrázok 3**).^[2]



Obrázok 2



Obrázok 3

Uzavretie kruhu v štruktúre fluoresceínu zapríčiňuje zvýšenú planárnosť, rigiditu a podstatnou mierou znižuje vnútorné vibrácie. V dôsledku toho sa fluoresceín vyznačuje silnou fluorescenčnou aktivitou.^[2] Fenolftaleín túto schopnosť nemá, pretože v jeho excitovanom stave dochádza k strate energie v dôsledku vibrácie benzénových kruhov (vnútorná konverzia), čo je v prípade fluoresceínu znemožnené vďaka existencii éterového mostíka medzi dvoma aromatickými kruhmi.^[5]

Fluorescenčné metódy sú založené na využití sekundárnych emisných spektier molekúl v UV oblasti a viditeľnej oblasti žiarenia. Vznik spektier je založený na žiarivej deaktivácii molekúl, ktoré boli vopred excitované absorpciou žiarenia v danej spektrálnej oblasti. Fotoluminiscenčné spektrá úzko súvisia so spektrami absorpčnými, pretože sa jedná v podstate o obrátený dej.^[3]

V početných vibračných a rotačných stavoch poskytujú molekuly zlúčenín pásové spektrá. Na základe energie budiaceho žiarenia je možné rozlíšiť dva typy pásových spektier; excitačné a emisné.

Excitačné spektrum popisuje závislosť toku žiarenia meraného pri konštantnej vlnovej dĺžke fluorescencie na vlnovej dĺžke excitujúceho žiarenia. Poloha pásov zodpovedá polohe v absorpčnom spektre molekuly.

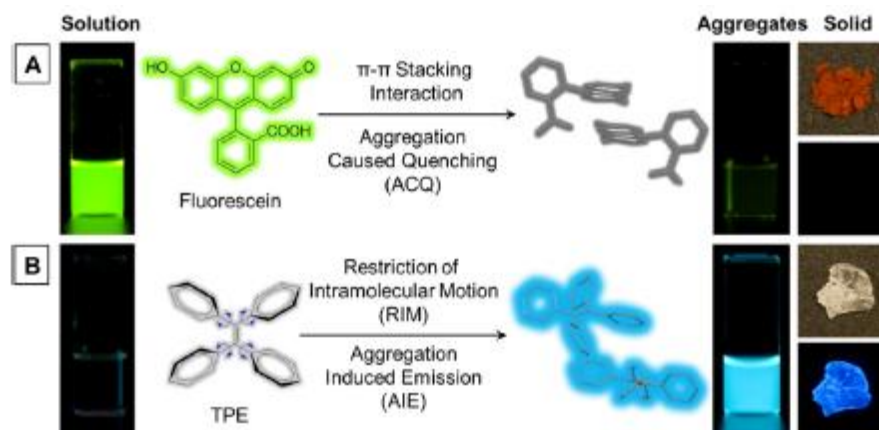
Emisné spektrum je závislosť toku žiarenia na vlnovej dĺžke fluorescencie, pri konštantnej energii budiaceho žiarenia.^[4]

Fluorescenčné farbivá

Fluorescenčné farbivá v pevnom stave si pritiahli v dnešnej dobe veľkú pozornosť, vďaka ich potencionálnemu využitiu ako diódy (OLED), lasery, polovodičové fluorescenčné snímače, biosondy a pod. Vo všeobecnosti konvenčné fluorescenčné materiály vykazujú silnú fluorescenciu v zriedených roztokoch avšak v pevnom stave je táto fluorescencia

zahasená z dôvodu agregácie chromofóru.^[6] Agregácia chromofóru má vo všeobecnosti dva účinky na luminiscenčné procesy. V jednom prípade môže ísť o spomínané zahasenie v dôsledku agregácie alebo v opačnom prípade, o emisiu vyvolanú agregáciou. Fluorofóry je z tohto hľadiska možné rozdeliť na dve skupiny; konvenčné a nekonvenčné.^[7]

Konvenčné fluorofóry, ako napr. fluoresceín (**Obrázok 2**), vyžaruje ako vodný roztok jasne zelené svetlo. Táto fluorescencia je však znížená tvorbou agregátov vplyvom prídavku ďalšieho rozpúšťadla. Plochá polycyklická aromatická štruktúra fluoresceínu umožňuje zhlukovanie molekúl do agregátov. Tvorba agregátov vedie k tomu, že svetelná emisia fluoresceínu je úplne zahasená. π - π Interakcia medzi molekulami rozpustenej látky vyvoláva vznik delokalizovaných excitónov a excimérov.^[8] Tieto procesy sú známe ako zahasenie spôsobené agregáciou; jav označovaný ako ACQ efekt (**Obrázok 4 Zahasenie vyvolané agregáciou a agregáciou vyvolané emisné účinky**). Práve ACQ efekt bráni aplikácií fluorescenčných materiálov v mnohých aspektoch.



Obrázok 4 Zahasenie vyvolané agregáciou a agregáciou vyvolané emisné účinky
Prevzaté z literatúry^[9]

V roku 2001, Tang a kol. opísal prvýkrát unikátne fluorescenčné farbivá, vykazujúce agregáciou vyvolané emisné účinky (AIE), ktoré sú opakom ACQ účinku bežných chromofórov, čím bolo prekonané zahasenie v dôsledku agregácie.^[6] Od tej doby sa venuje veľké úsilie do prípravy nových farebných zlúčenín s AIE vlastnosťami.^[9] Fluorescencia luminogénov AIE môže byť spustená obmedzením intramolekulárných pohybov, čo zahŕňa obmedzenie intramolekulárnej rotácie a obmedzenie intramolekulárných vibrácií.^[7] Agregovaná emisia predstavuje jedinečný fotofyzikálny jav, využitý v pokročilých aplikáciách v optoelektronike, ako chemosenzory a na bioimaging. Len obmedzený počet

organických zlúčenín s AIE účinkom bolo do dnešnej doby ohlásených, preto je veľký záujem tieto látky skúmať a syntetizovať. V porovnaní s konvenčnými farbivami, poskytujú materiály s AIE efektom množstvo výhod ako vynikajúcu stabilitu, vysoký pomer signálu k šumu, jednoduchú funkcionalizáciu a pod.^[9]

Optické sondy na zobrazovanie biomolekúl

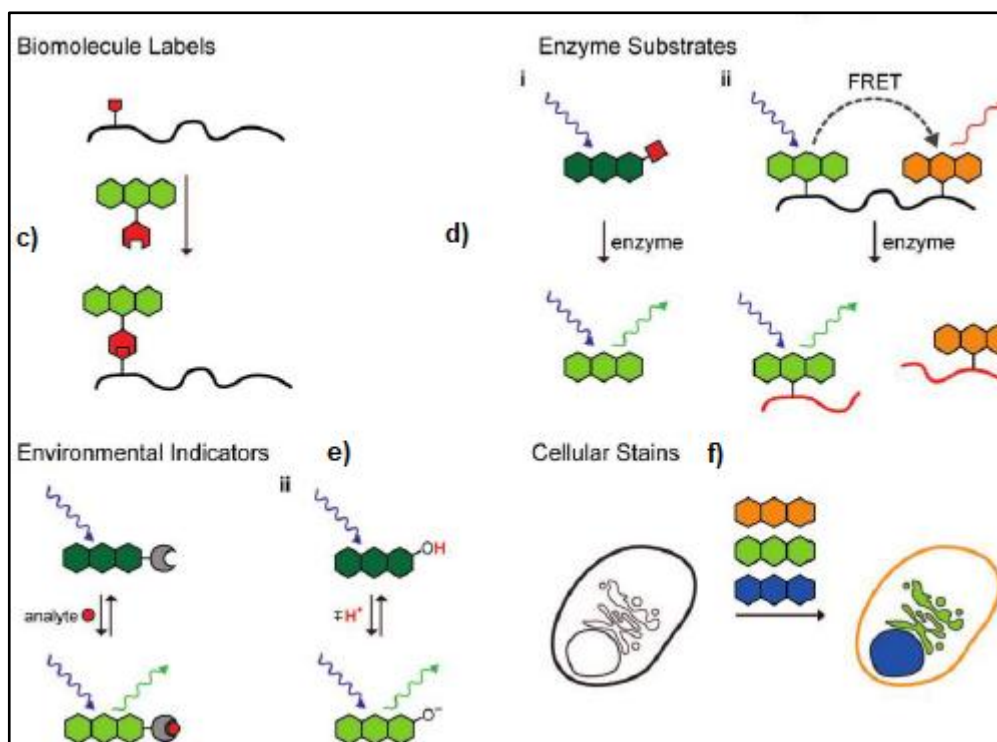
Komplexné intracelulárne prostredie buniek pozostáva z veľkého množstva molekúl, ktorých skúmanie môže priniesť množstvo informácií. Dôležité je, aby boli zobrazované len biologicky relevantné molekuly, bez toho aby sa zasahovalo do bežných bunkových procesov. Na tento účel sa používajú fluorescenčné sondy.^[10]

Fluorescenčné sondy, ktoré môžu selektívne osvetľovať jednotlivé organely, čím umožňujú sledovať biologické procesy v intracelulárnom prostredí, majú v dnešnej dobe veľký dopyt.^[9]

Vzhľadom na vývoji sond a technológií v oblasti optického biomolekulárneho zobrazovania existujú určité prístupy zobrazovania štruktúr v živých systémoch. Vo všeobecnosti boli použité dva hlavné prístupy. V jednom je podstatou naviazanie malej luminiscenčnej molekuly na konkrétny cieľ, zatiaľ čo druhý prístup predstavuje hybridné systémy, ktorých fotoaktívne časti sú naviazané na molekuly, prípadne makromolekuly, ktoré rozpoznávajú daný cieľ.^[11] AIEgény majú jednoduchú molekulárnu štruktúru, vysokú luminiscenčnú účinnosť, výbornú fotostabilitu a dobrú biokompatibilitu. Tieto výhody umožňujú ich použitie v biomedicínskych aplikáciách a klinických vyšetreniach.^[7] Perspektívu predstavuje zobrazovanie štruktúr spojených s určitými chorobnými stavmi, vrátane rakoviny. Zobrazovanie týchto štruktúr v živých bunkách by umožnilo pochopiť mechanizmy ich funkcie a tiež poskytlo základ pre nové lekárske diagnostické metódy.^[11]

V porovnaní s molekulárnymi sondami ACQ, majú nanoagregáty AIE vyššiu fotostabilitu a môžu byť ľahšie zavedené do buniek prostredníctvom endocytózy, čím umožnia sledovanie dynamických životných procesov. Ultrafialové svetlo, ktoré je zvyčajne na excitáciu fluorogénov AIE potrebné, je pre bunky škodlivé a môže zmeniť bunkové správanie, dokonca bunky zabíjať. Vývoj sa preto zameril na fluorogény AIE s dvojfotónovou alebo multifotónovou absorpčnou schopnosťou, tak že dva alebo viaceré (viditeľné alebo blízke infračervené) fotóny s nízkou energiou môžu byť použité ako excitačné svetlo.^[12]

Existuje množstvo spôsobov využitia fluorofórov, ako napr. na označovanie biomolekúl, enzýmové substráty, environmentálne indikátory, prípadne zobrazovanie bunkových organel (Obrázok 5 **Biologické aplikácie**). Využitie jednotlivého fluorofóru v danej oblasti je dané jeho špecifickými vlastnosťami (napr. reaktivita, stabilita, pKa, lipofilita atď.).^[13]



Obrázok 5 Biologické aplikácie

Prevzaté z literatúry^[13]

- c) označenie molekuly reakciou medzi dvomi funkčnými skupinami
- d) enzýmové substráty i) enzýmom katalyzované odstránenie blokujúcej skupiny ii) enzým katalyzuje štiepenie značenej molekuly
- e) environmentálne indikátory i) väzba analytu vyvolá zmenu fluorescence ii) protonácia fluorofóru vyvolá zmenu fluorescence
- f) zafarbenie subcelulárnych domén odlišnými fluorofórmami

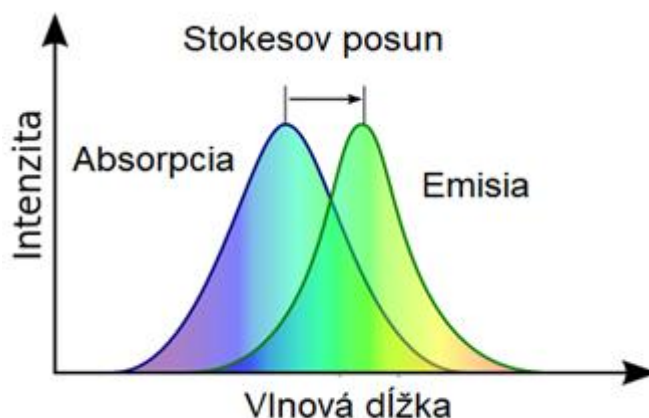
Jedným z najdôležitejších typov fluorescenčných farbív, sú luminiscenčné organoboronové komplexy obsahujúce N, O- a N, N- chromofóry využívane ako OLED, biomolekulárne sondy, snímače atď.^[6]

Na pozorovanie daných fluorescenčných javov slúži fluorescenčný mikroskop, ktorého princíp fungovania a jednotlivé súčasti sú opísané v nasledujúcej kapitole.

Fluorescenčný mikroskop

Fluorescenčný mikroskop resp. svetelný mikroskop predstavuje zariadenie, slúžiace na detekciu a pozorovanie fluoreskujúcich látok. Optický mikroskop využíva fluorescenciu k zobrazeniu organických i anorganických štruktúr.

Tento typ mikroskopu je využívaný na snímanie vzoriek, ktoré vykazujú fluorescenciu. Princíp fungovania je založený na osvetlení vzorky fluorescenčným svetlom (UV žiarenie), kedy elektróny absorbujú energiu a následne sú excitované do vyššej energetickej hladiny. Tento stav je nestabilný a dochádza k vyžiareniu fotónu. Tým sa molekuly zbavia prebytočnej energie a vrátia sa späť do základného stavu. Behom fluorescencie sa však časť energie stratí, preto platí, že emitovaný fotón má vždy nižšiu energiu a vyššiu vlnovú dĺžku než pôvodný absorbovaný fotón. Emisné spektrum je preto voči excitačnému posunuté do vyšších vlnových dĺžok čo označuje jav, nazývaný Stokesov posun (Obrázok 6 Stokesov posun).^[14]



Obrázok 6 Stokesov posun

Prevzaté z literatúry^[15]

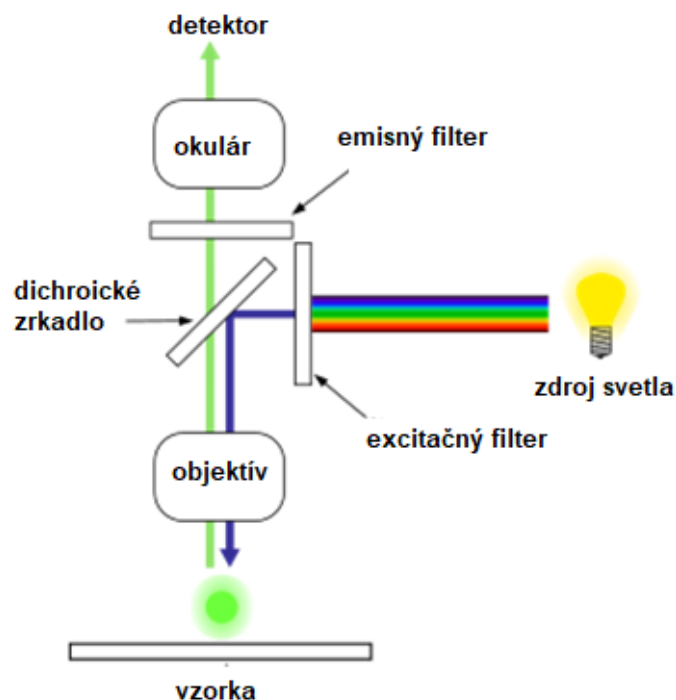
Konštrukcia mikroskopu pozostáva zo zdroju svetla, systému niekoľkých filtrov, zrkadla, objektívu, okuláru a detektoru (Obrázok 7 **Konštrukcia fluorescenčného mikroskopu**).

Ako zdroj svetla sú najčastejšie používané výbojky, ortuťová prípadne xenónová. Ide o silný zdroj, z ktorého je možné odfiltrovať úzke rozmedzie vlnových dĺžok, pričom takto filtrovaný zväzok je stále dostatočne silný aby bol schopný excitovať vzorku. V pokročilých mikroskopoch sa ako zdroj svetla používajú lasery, argónový, hélium-neónový.

Ďalšou súčasťou je systém niekoľkých filtrov; excitačný filter a emisný filter. Spoločne zaisťujú aby bolo zo svetelného zdroja vybrané svetlo s požadovanými vlastnosťami, predovšetkým vhodnou intenzitou a vlnovou dĺžkou. Toto svetlo dopadne na vzorku, vyvolá fluorescenčné svetlo (neznečistené svetlom zo zdroja), ktoré následne dopadne na detektor.^[14] Excitačné filtre umožňujú selekciu vlnovej dĺžky svetla z prichádzajúceho zdroja, emisné zabezpečujú odfiltrovanie nežiaducich zložiek žiarenia, ktoré prichádzajú zo vzorky. Svetlo dopadajúce na vzorku vyvolá excitáciu elektrónov a následne vyžiarenie svetla. Dichroické zrkadlo odstraňuje nežiaduce excitačné žiarenie o vysokej intenzite a prepúšťa emitované žiarenie.^[16]

Objektív je umiestnený tak, že ním prechádza okrem fluorescenčného signálu zo vzorky aj excitačné svetlo zo zdroja. Objektív teda pracuje ako zväčšovacia optika ale aj ako kondenzor, sústreďujúci lúče zo zdroja do vzorky.

Na sledovanie fluorescenčného signálu slúži detektor. V praxi tieto mikroskopy obsahujú často zabudovanú CCD kameru alebo fotonásobič schopný zosilniť prichádzajúci signál.^[14]



Obrázok 7 Konštrukcia fluorescenčného mikroskopu

Prevzaté z literatúry^[17]

Jeden z prvých fluorescenčných mikroskopov bol zostrojený v roku 1908 Augustom Köhlerom a Henrym Siedentopom, ktorých mikroskop bol schopný excitovať vzorku v ultrafialovej oblasti čím sa im podarilo pozorovať fluorescenciu DNA v jadre.^[18]

Do dnešnej doby prešli fluorescenčné mikroskopy značným vývojom a vznikli nové, dokonalejšie typy týchto zariadení. Zlepšovanie sa sústredilo hlavne na zvyšovanie kontrastu pozorovanej štruktúry nad čiernym pozadím.^[16]

Vzhľadom na tieto možnosti sa fluorescenčné zobrazovanie stalo predmetom záujmu najmä v oblasti bunkovej a molekulárnej biológie. Počas posledných rokov organickí chemici vymysleli množstvo fluorescenčných sond, ktoré slúžia ako prostriedky na označovanie rôznych biologických štruktúr. Dostupné fluorofóry umožňujú zobrazovanie bunkových, subcelulárnych a molekulárnych zložiek aj hlboko v tkanivách. Zelené fluorescenčné proteíny (GFP) a ich varianty zasa umožnili molekulárnym biológom geneticky vyznačovať proteínové zložky v živých systémoch.^[16]

Stále však existuje množstvo ďalších oblastí kde tieto typy zobrazovacích sond chýbajú.

Heterocykly obsahujúce atóm bóru

Rozdelenie bórových heterocyklov

Heterocyklické zlúčeniny bóru (pokiaľ odhliadneme od karboránov) môžeme rozdeliť do troch veľkých skupín, v závislosti na heteroatómoch, ku ktorým je bór komplexovaný: OBO, OBN, NBN heterocykly. Celá problematika je značne rozsiahla; ďalšie delenie môže byť podľa veľkosti kruhu a pod. Heterocyklické zlúčeniny bóru sa tiež môžu deliť podľa valencie na B(III) a B(IV). Tetravalentné zlúčeniny sú stabilnejšie.

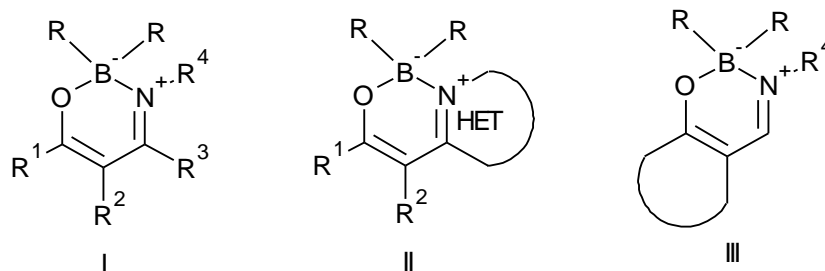
Pravdepodobne najznámejšie koordinačné zlúčeniny bóru sú BODIPY, ktoré patria medzi NBN heterocykly. V súčasnej dobe je v databáze WOS pod týmto kľúčovým slovom registrovaných celkom 5303 odkazov (údaj z 27. 6. 2018). Tieto zlúčeniny sú predmetom rady rozsiahlych prehľadných článkov^[19,20,21] a to z rôznych hľadísk. Preto v ďalšom texte budú zmienené len z hľadiska aplikácie v bioimagingu a to len najvýznamnejšie alebo ilustratívne príklady.

OBO Heterocykly, rovnako nazývané boron diketonáty sú predmetom rozsiahleho review^[22], preto v tejto práci budú ďalej uvedené len v súvislosti s ich aplikáciou, ako senzory pre bioimaging.

V poslednej dobe nadobúdajú stále väčšiu pozornosť boron ketimináty a boron diimináty.

Vzhľadom k zameraniu tejto bakalárskej práce sa táto kapitola bude zaoberať len šesťčlennými OBN heterocyklami, taktiež v literatúre často nazývanými boron ketimináty.

V literatúre je možné nájsť radu spôsobov, ako OBN cheláty klasifikovať, niekedy veľmi podrobných (viď. napr. review^[23]). Zjednodušene je možné ich rozdeliť do troch skupín (Obrázok 8 **Rozdelenie šesťčlenných OBN heterocyklov**): komplexy s enamionmi (I), komplexy kde dusík pochádza z heterocyklu (II) a komplexy salicylaldiminov a príbuzných molekúl (III).



Obrázok 8: Rozdelenie šesťčlenných OBN heterocyklov

Ďalšou možnosťou, ako tieto cheláty klasifikovať, je substitúcia na atóme bóru. Najrozšírenejšími sú BF_2 cheláty, nasledované BPh_2 derivátmi. V literatúre je možné nájsť aj pár príkladov bis(pentafluorfenyl)boron ketiminátov (viď. napr.^[24,25]).

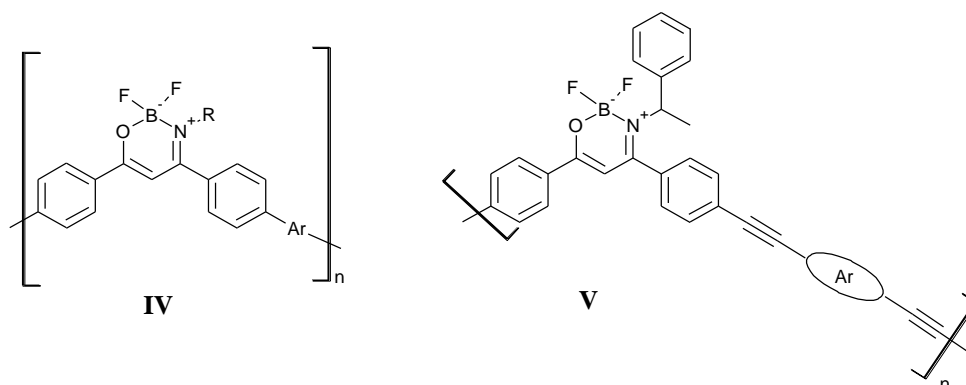
Komplexy s enamionmi

Komplexy enamionov s bórom (BF_2 aj BPh_2) prvýkrát popísal asi Balaban a spolupracovníci.^[26]

Spočiatku tieto zlúčeniny nevzbudzovali veľkú pozornosť a boli prípadne vnímané skôr ako intermediáty pre organickú syntézu.^[25] Až neskôr začal postupný rozmach pri štúdiu týchto zlúčenín z hľadiska materiálovej organickej chémie (pre prehľad viď. napr.^[27]). Začali sa objavovať prvé detailné štúdie ohľadne štruktúry a vlastností týchto zlúčenín zahŕňajúcich spektrálne, kryštalografické, elektrochemické a výpočtové metódy. Rozsiahlu štruktúrnu štúdiu publikoval Gardinier.^[28] Pripravené zlúčeniny boli študované pomocou NMR, X-ray, elektrochémie, elektrónovej a luminiscenčnej spektroskopie a rovnako boli vykonané aj teoretické štúdie. Bolo zistené, že vlastnosti pripravených zlúčenín je možné dobre kontrolovať pomocou elektronických efektov skupín viazaných k centrálnemu OBN jadrú.^[29]

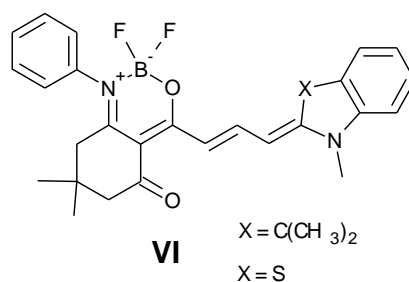
Komplexy enamionov našli uplatnenie aj v oblasti chémie polymérov. Chujo a spolupracovníci pripravili polyméry, ktoré v sebe obsahovali boron ketiminátové štruktúrne jednotky.^[30] Pripravené polyméry **IV** vykazovali silnú emisiu ako v roztoku tak aj v tuhej fáze. Farbu emitovaného žiarenia bolo možné ovplyvňovať substitúciou na dusíkovom atóme. Podobné, silne fluoreskujúce polyméry **IV** s vysokými Stokesovými posunmi a kvantovými výťažkami pripravili a študovali Zhu a spolupracovníci.^[31] Pripravené polyméry boli chirálne. Matsumura a spolupracovníci pripravili fluorescentné poly(boron ketimináty) substituované na atóme bóru pentafluórfenylovými skupinami.^[25]

Pripravené polyméry vykazovali dobré optické vlastnosti (veľké Stokesové posuny a kvantové výťažky) porovnateľné s poly(boron diketonátmi).



Wang a spolupracovníci^[32] pripravili Suzukiho polymeráciou sériu polymérov na báze boron ketiminátov, ktoré vykazovali AIE vlastnosti. Ich farebné vlastnosti bolo možné ladiť substitúciou.

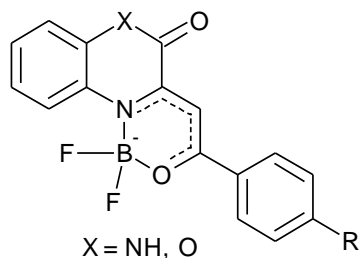
Zyabrev a spolupracovníci^[33] študovali spektrálne vlastnosti niekoľkých merocyaninových farbív, napr. **VI**. Heterocyklický bórový skelet tu pôsobil ako akceptor, zatiaľ čo koncové heterocykly ako donory. Pripravené zlúčeniny vykazovali fluorescenciu v roztoku. Autori sa rovnako venovali porovnaniu oxazaborínov s analogickými dioxaborínmi. Prišli k záveru, že náhrada kyslíku za skupinu NPh vedie k bathochromnému posunu a zvýšeniu fluorescenčného kvantového výťažku.



Komplexy s heterocyklickým dusíkom

Po prvýkrát sa v literatúre objavujú pravdepodobne v práci.^[34]

Pripravené zlúčeniny **VII** vykazovali intenzívnu žlto-zelenú fluorescenciu. Ako elektrón-donorné tak aj elektrón-akceptórne substituenty spôsobovali bathochromný posun ako u absorpčného tak aj emisného maxima.



VII

V súčasnej dobe sú známe komplexy s radou heterocyklických systémov, napr. s chinolínmi, pyrazínmi, benzothiazolmi, pyrimidínmi či pyridínmi.^[35-38]

Komplexy salicylaldimínov a príbuzných molekúl

Komplexy salicylaldimínov našli v literatúre označenie boranily. Tento termín po prvýkrát použil pravdepodobne Ziessel a spolupracovníci^[39], ktorí publikovali ľahkú syntézu zlúčenín **VIII** sekvenciou uvedenou v **Schéme 1**.

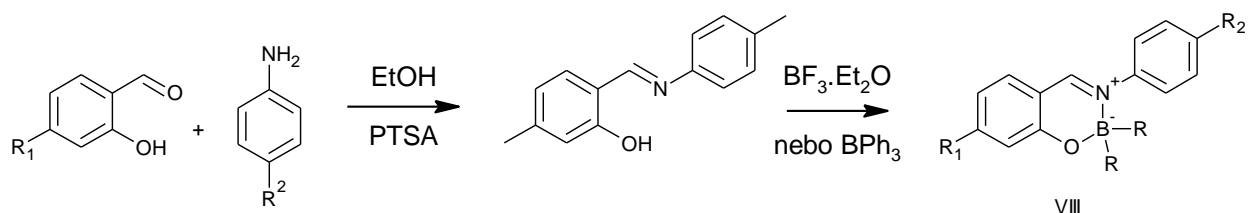


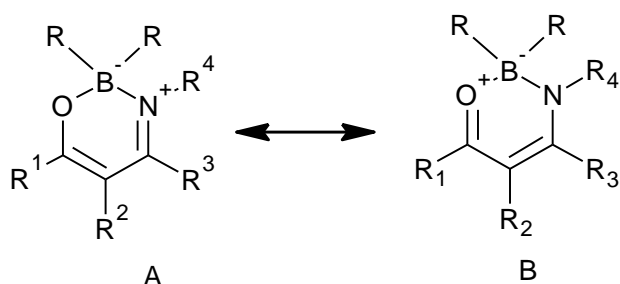
Schéma 1

Následne bolo o tomto type zlúčenín publikovaná rada prác (viď. napr. lit.^[40-42]).

Štruktúra a vlastnosti boron ketiminátov

Štruktúra boron ketiminátov

V princípe môžeme pre cheláty OBN napísať dve rezonančné štruktúry, A a B (**Obrázok 9**):



Obrázok 9

Zo štruktúrnych dát (NMR, X-ray) vyplýva, že enol-imino forma (A) je viac prispievajúca.^[43]

Väzba B–N je skôr datívna, čo vyplýva z analýzy väzbových dĺžok B–N a B–O u rôznych bórových chelátov aj NMR dát^[44] a to ako v roztoku tak aj v tuhej fáze.

Samotný šesťčlenný OBN heterocyklus obvykle, avšak nie vždy, zaujíma neplanárnu obáľkovú konformáciu, čo vedie k tomu, že substituenty na atóme bóru môžu byť axiálne a ekvatoriálne. To je ilustrované **Schémmami 5–7** v časti Výsledky a diskusia.

Medzi jednotlivými konformáciami môže existovať rovnováha, ako bolo preukázané pomocou dynamickej NMR spektroskopie.^[43]

Luminiscenčné vlastnosti

Jednoduché boron ketimináty vykazujú luminiscenciu, ktorá leží v oblasti UV a je teda nepozorovateľná okom.^[45] Zavedenie heterocyklického substituentu spôsobilo, že výsledné difluórboron ketimináty vykazovali intenzívnu žltu-zelenú fluorescenciu, so Stokesovými posunmi okolo 50 nm.^[34] Ako elektrón-donorné, tak aj elektrón-akceptórne substituenty spôsobovali bathochromný posun ako u absorpčného tak aj emisného maxima. Rovnaký vplyv mala aj zmena substitúcie na bóre (BF₂ na BPh₂). Kvantové výťažky fluorescencie boli u BPh₂ derivátov zrovnateľné alebo aj vyššie. Niektoré deriváty na báze pyrazínu vykazovali solvatochromnú luminiscenciu.^[46] Farebné vlastnosti emisného žiarenia je možné ladiť substitúciou jednotlivých molekúl.

Bathochromný posun bol pozorovaný aj pri prechode od diketonátu ku ketoiminátu.^[47]

Všeobecnou vlastnosťou boron ketiminátov je, že vykazujú intenzívnu fluorescenciu v pevnej fáze, zatiaľ čo v roztoku fluoreskujú len slabo.^[22] Rada z nich sú AIEgény (viď. napr. lit.^[48])

Elektronické vlastnosti

Na základe elektrochemických štúdií je možné konštatovať, že cheláty sú slabými elektrón-akceptormi. V porovnaní s ostatnými typmi chelátov ležia boron ketimináty uprostred, medzi diketonátmi a diiminátmi. Dobrou správou z hľadiska materiálovej chémie je skutočnosť, že elektronické vlastnosti je možné ovplyvňovať substituentami a tým aj ladiť vlastnosti zlúčenín. Z výpočtov vyplýva, že najväčší vplyv má zmena substituentov na uhlíkovej periférii chelátového kruhu.^[28]

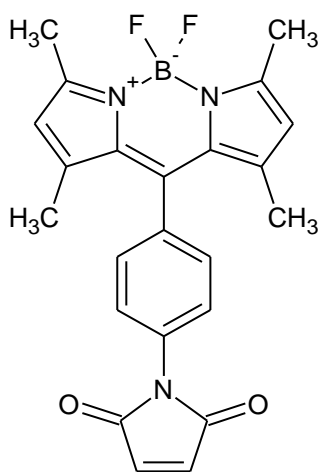
Elektronické spektrá sú ovplyvnené aj substitúciou na atóme bóru. Z porovnania elektronických spektier oxazaborínov na báze pyrazínu vyplynulo, že BPh₂ komplexy majú v porovnaní s BF₂ analógmi červený posun absorpčných maxím a nižšie absorpčné koeficienty.^[46]

V prípade komplexov s heterocyklickým atómom bóru hrá rolu aj prítomnosť či neprítomnosť kondenzovaného systému a aj spôsob kondenzácie ako ukázal Ośmiałowski a kol.^[49] na prípade chinolinových a isochinolinových komplexov, kde boli fotofyzikálne vlastnosti od seba značne odlišné. Isochinolinové deriváty sa v tomto ohľade ukázali horšie.

Aplikácie bórových heterocyklov v bioimagingu

V posledných rokoch zaujali luminiscenčné organoborónové polyméry osobitný záujem vďaka svojim vynikajúcim vlastnostiam ako pokročilé funkčné materiály pre optické a biologické aplikácie.^[32]

V oblasti medicíny, ktorá sa zaoberá organickými fluorescenčnými zlúčeninami na molekulárne zobrazovanie, predstavujú jednu z možností BODIPY (vid'. Obrázok 10 **BODIPY 499/508 maleimid (D-20350)**) Malá zmena v štruktúre týchto fluorofórov alebo konjugácia s rôznymi zlúčeninami, umožňuje zmenu ich fluorescenčných vlastností čo umožňuje detekciu rôznych cieľov, vrátane biomolekúl (napr. proteíny, hormóny, DNA, RNA).^[50] Vďaka svojim pozoruhodným fotofyzikálnym a fotochemickým vlastnostiam sa používajú v rôznych oblastiach. Väčšina z nich ale vykazuje emisiu len v zriedených roztokoch a ich luminiscencia je zahasená v dôsledku agregácie, ktorá obmedzuje ich využitie v optoelektronických aplikáciách.^[51]

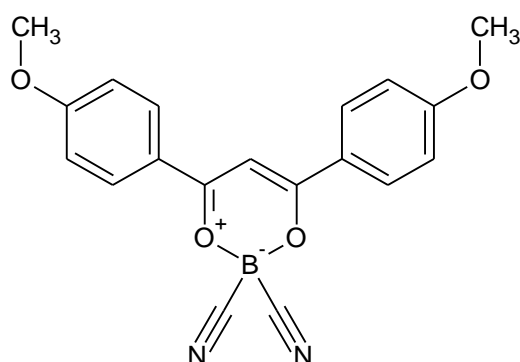


Obrázok 10

Organoborónové komplexy na báze pyridínov sú dôležité analógy BODIPY. Tieto komplexy vykazujú silnú fluorescenciu a vysokú stabilitu v roztoku. Organoborónové komplexy na báze pyridínov, predovšetkým tie s nesymetrickou štruktúrou predstavujú ďalšiu skupinu emisných organických zlúčenín v pevnom stave.^[51]

BODIPY a deriváty diketonátu bóru sa využívajú ako fluorescenčné senzory na detekciu biologických thiolov, rôznych kovových iónov v roztoku a v živých bunkách. Z dôvodu zlepšenia fotofyzikálnych vlastností derivátov diketonátov bóru boli pripravené ďalšie

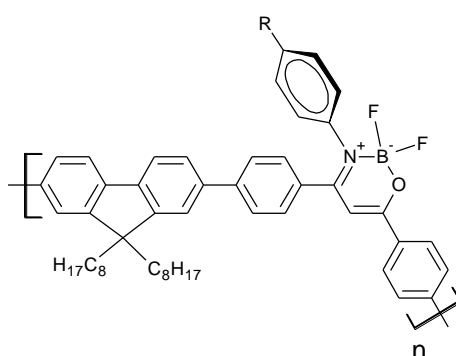
farbivá. Jedným z nich sú dikyanoboron diketonáty (**Obrázok 11**), ktoré vykazujú pomerne vysoké molárne absorpčné koeficienty a veľké červené posuny.^[52]



Obrázok 11

Konjugované polymérne nanočastice (CPN) predstavujú ďalšiu dôležitú triedu materiálov, ktoré majú výrazné luminiscenčné vlastnosti použiteľné pre bioimaging, v nádorovej terapii. Získané polyméry na báze ketoiminátu bóru (**Obrázok 12 Chemická štruktúra konjugovaných polymérov**), môžu vykazovať zjavné správanie AIE v zmesiach THF/voda. AIE-aktívne konjugované polyméry vykazujú nízku cytotoxicitu, vynikajúcu fotostabilitu, vysoké kvantové výtťažky a silnú fluorescenciu, ktorá je žiadúca pre biologické aplikácie.^[52]

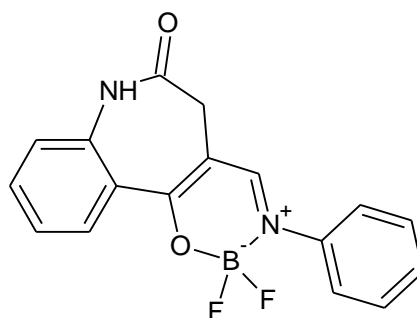
Pripravené konjugované polymérne nanočastice (CPN), boli vďaka svojim vlastnostiam úspešne použité na zobrazovanie rakovinových buniek.^[32]



Obrázok 12 Chemická štruktúra konjugovaných polymérov

Ako protinádorové liečivá sa v priebehu desaťročia používali inhibítory proteinkináz. Vzhľadom na ich povzbudivé výsledky sa neustále hľadajú nové chemické látky, ktoré by pôsobili týmto účinkom. Na základe prác od Xia a kol. a Gardinier a kol., boli navrhnuté

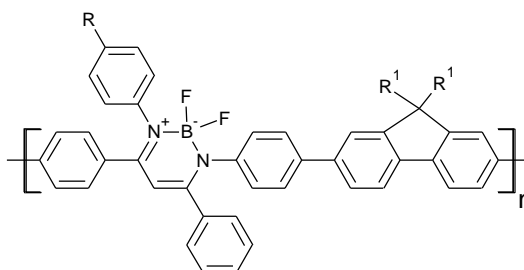
d'alsie zlúčeniny ako potencionálny inhibítory, zahŕňajúce fluorescenčné difluorborónové zoskupenie (**Obrázok 13**).^[53]



Obrázok 13

Peroxid vodíka (H_2O_2) je typ reaktívneho kyslíka, ktorý je endogénne produkovaný v energetickom metabolizme a je zodpovedný za rôzne fyziologické procesy. Jeho nadbytok však môže viesť k poškodeniu buniek čo vyvoláva patologické problémy ako je diabetes, kardiovaskulárne choroby, rakovina atď.^[54]

Nahradením atómov kyslíka v diketónatovej štruktúre za atómy dusíka vedie k vzniku ketoiminátových a diiminátových štruktúr. Vďaka svojim AIE vlastnostiam boli použité ako chemosenzory na báze polyméru, práve na detekciu H_2O_2 (**Obrázok 14 Štruktúra boron diiminátového polyméru**).^[54]



Obrázok 14 Štruktúra boron diiminátového polyméru

Ciele práce

Inšpiráciou pre túto bakalársku prácu bola práca slovinských autorov^[55], ktorí študovali borondiketonáty substituované 3,5-dimethoxyfenylskupinou. Pripravené zlúčeniny vykazovali zaujímavé vlastnosti (AIE, mechanochromia, CIE atď.). Zaujímalo nás, aké budú vlastnosti oxazaborínov, pokiaľ budú methoxyskupiny v alternujúcich polohách voči kladne nabitému dusíku, tj. v polohách 2- a 4-. Cieľom práce je teda pripraviť a charakterizovať sériu oxazaborínov obsahujúcich 2,4-dimethoxyfenylskupinu a predbežne posúdiť ich luminiscenčné vlastnosti.

Experimentálna časť

Použité zariadenia a analýzy

NMR spektra boli merané na prístrojoch Bruker AVANCE III s frekvenciou 400,13 MHz (^1H) a 100,61 MHz (^{13}C), 376,5 MHz (^{19}F), 128,4 MHz (^{11}B) a Bruker Ascend™ s frekvenciou 500,13 MHz (^1H) a 125,78 MHz (^{13}C). NMR spektra boli merané v deuteriochloroforme (CDCl_3). ^1H NMR spektra boli kalibrované v CDCl_3 na interný tetramethylsilán ($\delta = 0,00$). Uhlíkové chemické posuny boli kalibrované k stredovému signálu multipletu rozpúšťadla $\delta = 77,23$ (CDCl_3). Uhlíkové NMR spektra boli merané štandardným spôsobom so širokopásmovým dekaplinkom protónov. Fluorové NMR spektra boli merané so širokopásmovým dekaplinkom protónov a kalibrované na α,α,α -trifluortoluén ako sekundárny štandard ($\delta = -63,9$). Bórové spektra boli kalibrované na trimethoxyboran ($\delta = 18,1$). Vzhľad signálov je vyjadrený nasledovne: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), kv (kvintet), m (multiplet). Pokiaľ sa jedná o rozšírený signál, je doplnený písmenami br.

Body topenia boli stanovené na Koflerovom bloku a neboli korigované.

Hmotnostné spektra boli merané s použitím ionizačnej techniky MALDI na hmotnostnom spektrometre s vysokým rozlíšením LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Nemecko), vybaveným dusíkovým UV laserom (337 nm, 60 Hz). Detektor LTQ Orbitrap pracoval v móde v normálnom hmotnostnom rozmedzí (m/z 50 — 2000). Ako matrica bola použitá 2,5-dihydroxybenzoová kyselina (DHB).

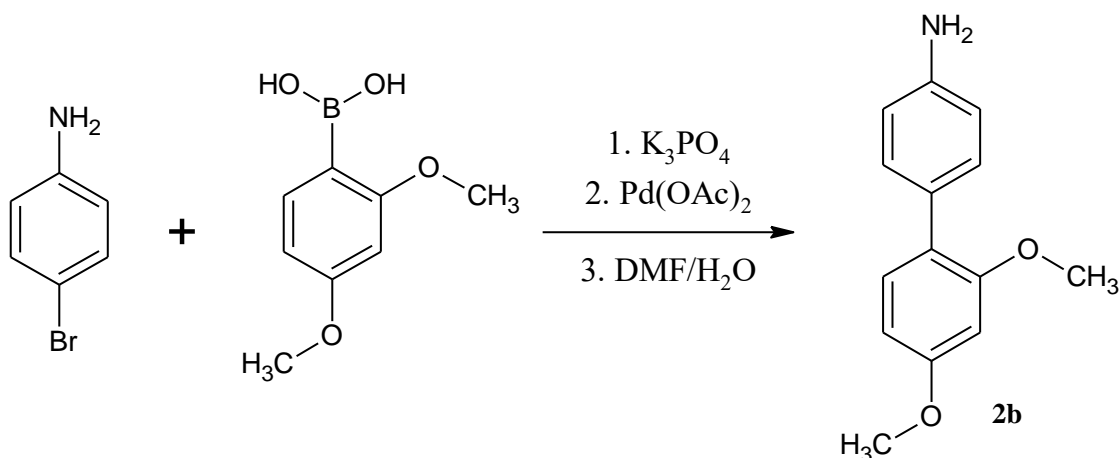
Elektrochemické merania boli vykonané v bezvodom acetonitrile obsahujúcom 0,1 M tetrabutylamonium hexafluorofosfát (Bu_4NPF_6) (od Sigma-Aldrich), ako základný elektrolyt. Ako meracie techniky boli použité: cyklická voltametria a voltametria s rotačnou diskovou elektródou. Trojelektrodové usporiadanie bolo tvorené: pracovnou elektródou zo skleneného uhlíka a priemeru 3 mm, ako referenčná elektróda bola použitá nasýtená kalomelová elektróda s mostíkom naplneným základným elektrolytom, pomocná elektróda bola tvorená platinovým plieškom. Voltametrické merania boli vykonané na prístroji PGSTAT 128 N (AUTOLAB, Metrohm Autolab B.V., Utrecht, Nizozemí) ovládané pomocou softwaru NOVA 1.1.

Rozpúšťadla a činidlá použité v tejto práci boli komerčné a neboli ďalej upravované.

Enaminon **3a** bol pripravený postupom uvedeným v lit.^[56]

Syntézy pripravených látok

Všeobecný postup prípravy 2',4'-dimethoxybifenyl-4-amínu (2b)



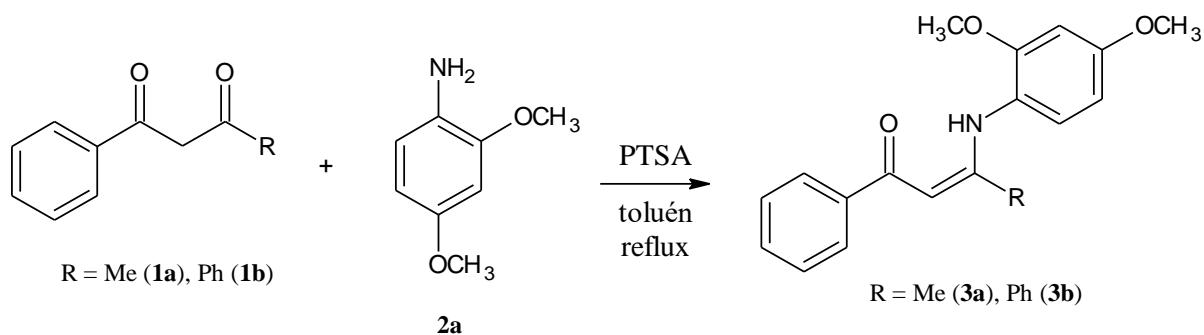
Syntéza bola vykonaná metódou podľa literatúry.^[57]

V 50 ml banke opatrenej spätným chladičom, bolo v zmesi 16,2 ml DMF a 7,6 ml destilovanej vody, rozpustené 516 mg (1 mmol) brómanilínu, 819 mg (1,5 mmol) fenylborónovej kyseliny, 1273,5 mg (2 mmol) K₃PO₄ a 6,9 mg (0,01 mmol) Pd(OAc)₂. Zmes bola do ďalšieho dňa zahrievaná na 90 °C. Po ukončení reakcie bola zmes naliata do 100 ml vody a extrahovaná 2-krát ethylacetátom. Organická vrstva bola premytá striedavo 3-krát vodou/soľankou a následne vysušená Na₂SO₄. Látka **2b** bola izolovaná chromatograficky.

Var 20 h; stĺpcová chromatografia (silikagel, DCM:AcOEt, 20:1); výťažok: 0,54 g (67 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ = 7,31–7,30 (m, 2H); 7,21–7,19 (m, 1H); 6,73–6,71 (m, 2H); 6,54–6,53 (m, 2H); 3,84 (s, 3H); 3,79 (s, 3H); 3,67 (brs, 2H) ppm.

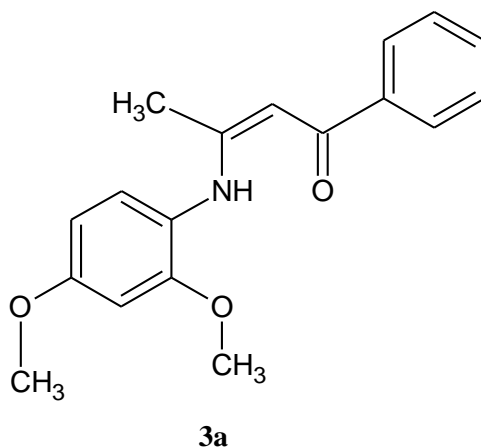
Všeobecný postup prípravy enamínov



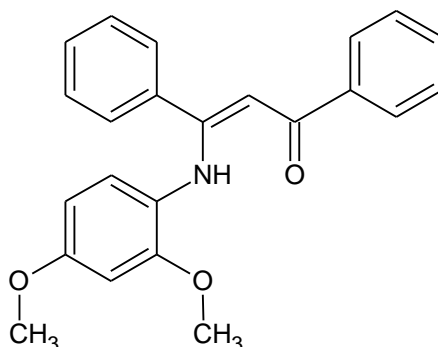
V 100 ml banke opatrenej spätným chladičom bolo zmiešané 0,77 g (5 mmol) 2,4-dimethoxyanilínu, 5 mmol 1,3-diketónu, 50 mg kyseliny *p*-toluénsulfonovej a 20 ml toluénu. Zmes bola zahrievaná 20 h k varu pričom reakčná voda bola azeotropicky oddestilovaná. Po ukončení reakcie bolo rozpúšťadlo odparené na vákuovej odparke. Kryštalické látky enamínov boli izolované chromatograficky.

Uvedeným postupom boli pripravené nasledujúce látky **3a,b**.

(*Z*)-3-[(2,4-dimethoxyfenyl)amino]-1-fenylbut-2-en-1-on



(2Z)-3-[(2,4-dimethoxyphenyl)amino]-1,3-diphenylprop-2-en-1-on



3b

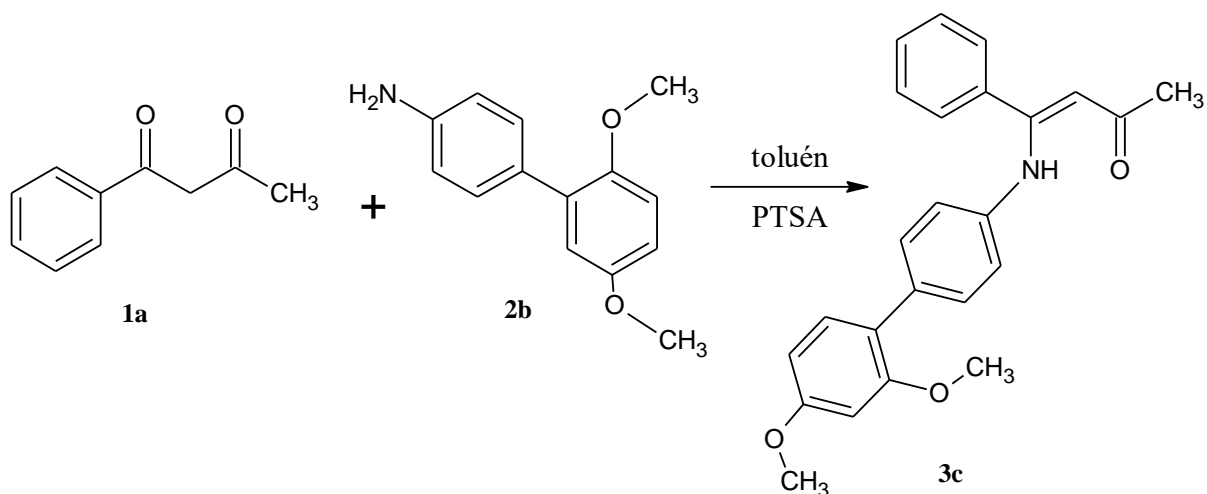
Var 20 h; stĺpcová chromatografia (silikagel, DCM:AcOEt, 20:1); výťažok: 1,15 g (64 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 12,69 (brs, 1H); 7,98–7,95 (m, 2H); 7,49–7,29 (m, 8H); 6,42 (d, J = 2,7 Hz, 1H); 6,39 (d, J = 8,8 Hz, 1H); 6,13 (dd, J = 8,8 Hz, 2,6 Hz, 1H); 6,04 (s, 1H); 3,83 (s, 3H); 3,71 (s, 3H) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ = 189,3; 162,0; 157,6; 153,0; 140,4; 136,5; 131,1; 129,6; 128,5; 128,4; 128,3; 127,4; 125,0; 122,1; 103,7; 99,0; 96,4; 55,9; 55,6ppm.

HRMS: zlúčenina $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ vyžaduje $[\text{M}+\text{H}]^+$ 360,15942; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 382,14136; $[\text{M}+\text{K}]^+$ 398,11530; nájdené $[\text{M}+\text{H}]^+$ 360,15946; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 382,14157; $[\text{M}+\text{K}]^+$ 398,11557.

Postup prípravy (2Z)-3-[[4-(2,4-dimethoxyfenyl)fenyl]amino]-1-fenylbut-2-en-1-onu (3c)



Zlúčenina **3c** bola pripravená analogickým postupom ako zlúčeniny **3a,b**.

Do 50 ml banky bolo predložené 0,38 g (2,36 mmol) benzoylacetonu (**1a**), 0,54 g zlúčeniny **2b**, 10 ml toluénu a 50 mg *p*-toluénsulfonovej kyseliny. Zmes bola zahrievaná 18 h pod spätným chladičom na teplotu 130 °C. Po ukončení reakcie bolo rozpúšťadlo odparené na vákuovej odparke. Kryštály látky boli izolované pomocou stĺpcovej chromatografie. Bolo získané 0,62 g (70 %) zlúčeniny **3c**. Bod topenia látky bol 148 – 151,6 °C.

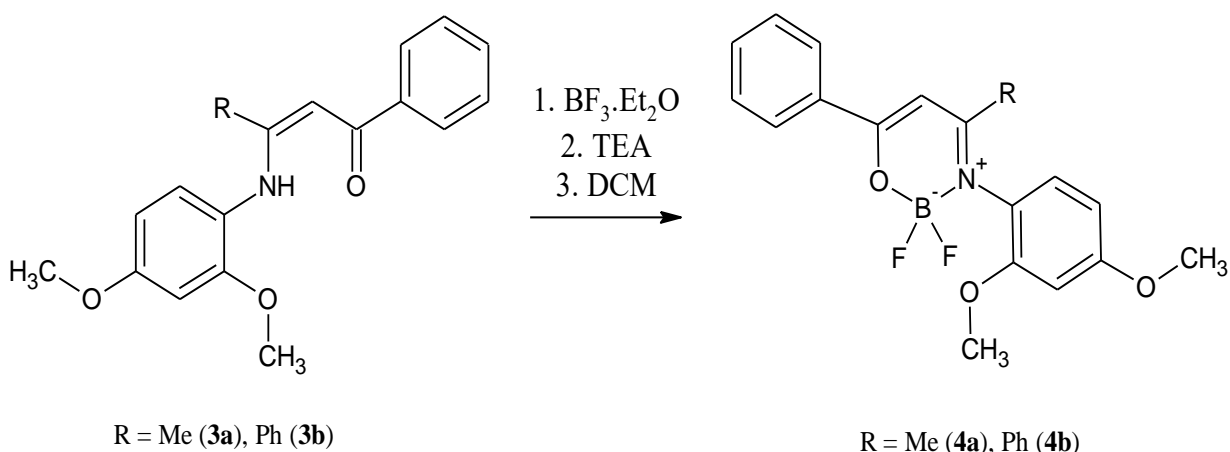
^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ = 13,15 (brs, 1H); 7,94–7,92 (m, 2H); 7,53–7,51 (m, 2H); 7,46–7,44 (m, 3H); 7,26–7,25 (m, 1H); 7,21–7,19 (m, 2H); 6,59–6,57 (m, 2H); 5,92 (s, 1H); 3,86 (s, 3H); 3,83 (s, 3H)ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ = 188,8; 162,5; 160,7; 157,6; 140,3; 137,1; 136,0; 131,3; 131,1; 130,3; 128,5; 127,3; 124,3; 122,7; 104,9; 99,2; 94,5; 55,8; 55,7; 20,8 ppm.

HRMS: zlúčenina $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ vyžaduje $[\text{M}+\text{H}]^+$ 374,17507; nájdené $[\text{M}+\text{H}]^+$ 374,17578.

Syntézy pripravených oxazaborínov

Všeobecný postup prípravy BF_2 derivátov (**4a,b**)

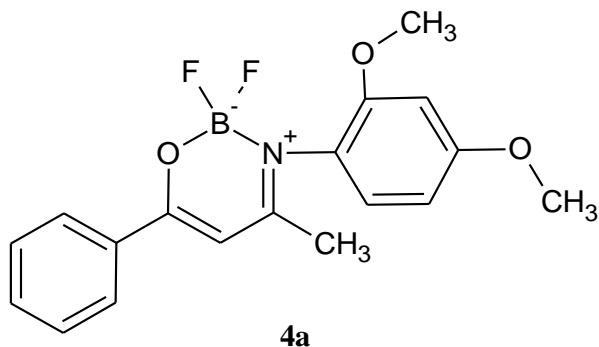


V 20 ml CH_2Cl_2 bolo rozpustené 3,2 mmol enaminonu **3a,b** a bolo pridané 0,9 ml (6,4 mmol) TEA. Banka bola opatrená septom a prepláchnutá prúdom argónu. Roztok bol miešaný a po kvapkách bolo pridané 1,6 ml (3,2 mmol) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Zmes bola miešaná za laboratórnej teploty do ďalšieho dňa. Po ukončení reakcie bola zmes odparená za vákuu,

odparok bol rozpustený v dichlórmetáne a premytý vodou. Organická vrstva bola vysušená bezvodým síranom sodným a odparená. Odparok bol podrobený stĺpcovej chromatografii (vid'. detaily u jednotlivých zlúčenín).

Týmto postupom boli pripravené zlúčeniny uvedené nižšie (**4a,b**)

6-Fenyl-2,2-difluor-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-4-methyl-1,3,2λ4-oxazaborín



Miešané za laboratórnej teploty 24 h; stĺpcová chromatografia (silikagel, DCM:AcOEt, 20:1); bod topenia 176 – 177 °C.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8,01–7,99 (m, 2H); 7,68–7,58 (m, 2H); 7,56–7,53 (m, 1H); 7,49–7,46 (m, 2H); 7,28–7,25 (m, 3H); 6,60–6,57 (m, 2H); 6,23 (s, 1H); 3,86 (s, 3H); 3,82 (s, 3H); 2,17 (s, 3H) ppm.

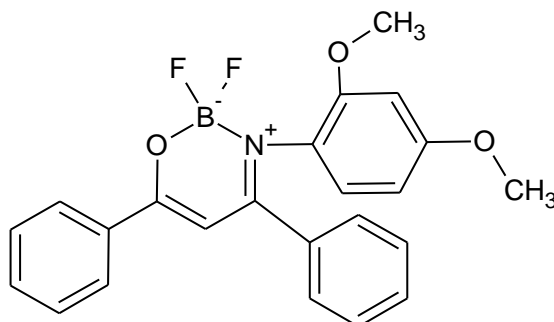
^{19}F NMR (376,5 MHz, CDCl_3) δ = –135,9 (q, $^1J(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 13,5$ Hz) ppm.

^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3) δ = 0,77 (t, $^1J(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 14,7$ Hz) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ = 172,0; 170,9; 160,8; 157,7; 138,6; 138,2; 132,6; 131,5; 130,5; 128,9; 127,7; 125,8; 122,6; 105,0; 99,2; 95,9; 55,7; 55,6; 22,3 ppm.

HRMS: zlúčenina $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{BF}_2\text{NO}_3$ vyžaduje $[\text{M}]^+$ 421,16553; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 444,15530; nájdené $[\text{M}]^+$ 421,16639; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 444,15634.

4,6-Difenyl-2,2-difluor-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-1,3,2λ⁴-oxazaborín



4b

Miešané za laboratórnej teploty 24 h; stĺpcová chromatografia (silikagel, DCM:AcOEt, 40:1); výťažok: 0,82 g (63 %); bod topenia 212 – 213 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,05–8,03 (m, 2H); 7,56–7,52 (m, 1H); 7,49–7,44 (m, 3H); 7,347,23 (m, 5H); 6,48 (dd, J = 8,7 Hz; 2,6 Hz, 1H); 6,36 (s, 1H); 6,18 (d, J = 2,6 Hz, 1H); 3,75 (s, 3H); 3,41 (s, 3H) ppm.

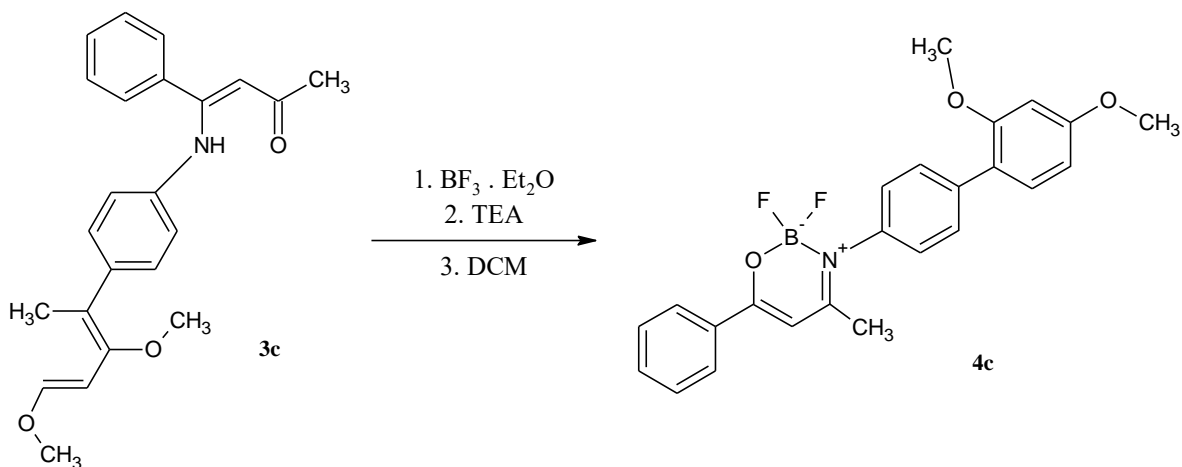
¹⁹F NMR (376,5 MHz, CDCl₃) δ = –130,4 (dq, ²J(¹⁹F, ¹⁹F) = 92 Hz; ¹J(¹⁹F, ¹¹B) = 19,5 Hz); –142,6 (dq, ²J(¹⁹F, ¹⁹F) = 92,2 Hz; ¹J(¹⁹F, ¹¹B) = 8,8 Hz) ppm.

¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ = 0,94 (dd, ¹J(¹⁹F, ¹¹B) = 19,7 Hz; 9,3 Hz) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 172,4; 171,8; 160,4; 153,6; 135,8; 133,5; 132,7; 130,4; 128,9; 128,5; 128,1; 128,0; 127,8; 122,7; 104,4; 99,5; 96,5; 55,6; 55,4 ppm.

HRMS: zlúčenina C₂₃H₂₀BF₂NO₃ vyžaduje [M+Na]⁺ 430,13965; [M+K]⁺ 446,11359; nájdené [M+Na]⁺ 430,14006; [M+K]⁺ 446,11408.

Postup prípravy 6-fenyl-2,2-difluor-3-(4-(2,4-dimethoxyfenyl)fenyl)-1,3,2λ4-oxazaborínu (4c)



V 10 ml CH_2Cl_2 bolo rozpustené 1,5 mmol enaminonu **3c** a bolo pridané 0,422 ml TEA. Roztok bol miešaný a po kvapkách bolo pridané 0,75 ml $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Zmes bola miešaná za laboratórnej teploty do ďalšieho dňa. Po ukončení reakcie bola zmes odparená, odparok bol rozpustený v dichlórmetáne a extrahovaný vodou. Organická vrstva bola oddelená, vysušená bezvodým síranom sodným a odparená na vákuovej odparke. Produkt bol izolovaný chromatograficky.

Miešané za laboratórnej teploty 24 h; stĺpcová chromatografia (silikagel, CH_2Cl_2); výt'azok 0,51g (81 %); bod topenia 205 – 209,6 °C.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 8,01–7,99 (m, 2H); 7,68–7,58 (m, 2H); 7,56–7,53 (m, 1H); 7,49–7,46 (m, 2H); 7,28–7,25 (m, 3H); 6,60–6,57 (m, 2H); 6,23 (s, 1H); 3,86 (s, 3H); 3,82 (s, 3H); 2,17 (s, 3H) ppm.

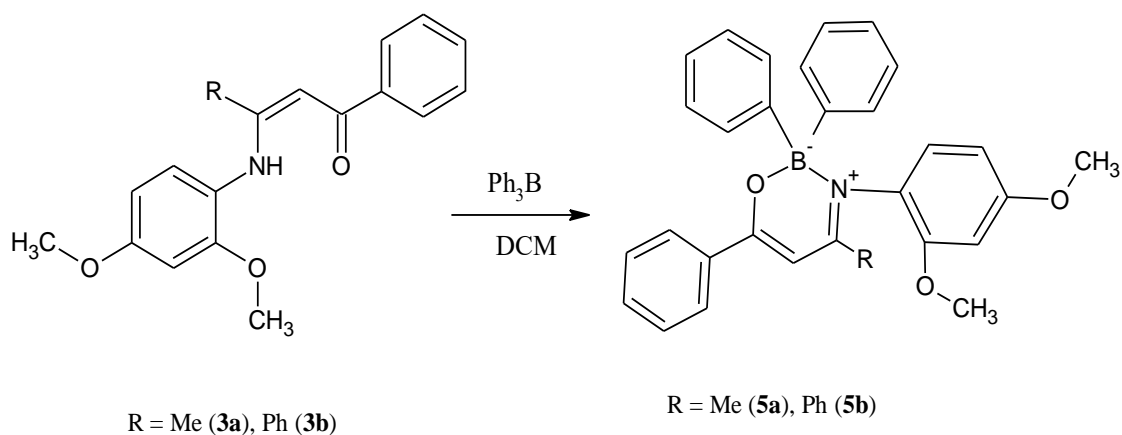
^{19}F NMR (376,5 MHz, CDCl_3) δ = –135,9 (q, $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 13,5$ Hz) ppm.

^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3) δ = 0,77 (t, $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 14,7$ Hz) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ = 172,0; 170,9; 160,8; 157,7; 138,6; 138,2; 132,6; 131,5; 130,5; 128,9; 127,7; 125,8; 122,6; 105,0; 99,2; 95,9; 55,7; 55,6; 22,3 ppm.

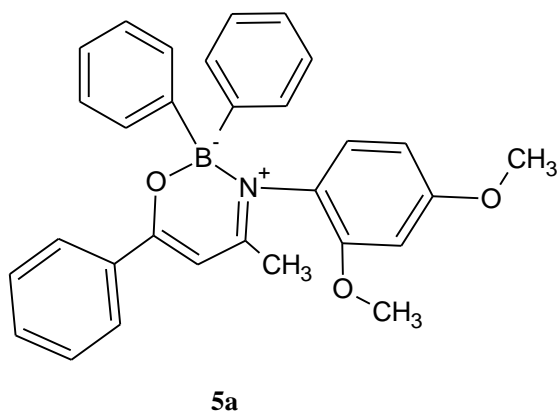
HRMS: zlúčenina $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{BF}_2\text{NO}_3$ vyžaduje $[\text{M}]^+$ 421,16553; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 444,15530; nájdené $[\text{M}]^+$ 421,16639; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 444,15634.

Všeobecný postup prípravy BPh₂ derivátov (5a,b)



V 50 ml banke opatrenej chladičom bolo rozpustené 2 mmol enaminonu **3a,b** v 20 ml CH₂Cl₂. Následne bolo pridané 0,6 g (2,5 mmol) trifenylobóranu a zmes bola 4 – 7 dní miešaná za laboratórnej teploty. Produkt bol izolovaný chromatograficky a následne podrobený ďalšiemu čisteniu.

2,2,6-Trifenyyl-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-4-methyl-1,3,2λ⁴-oxazaborin



Miešané za laboratórnej teploty 7 dní; stĺpcová chromatografia (silikagel, DCM:AcOEt, 20:1); výťažok: 0,57 g (62 %); bod topenia 174 – 177,5 °C.

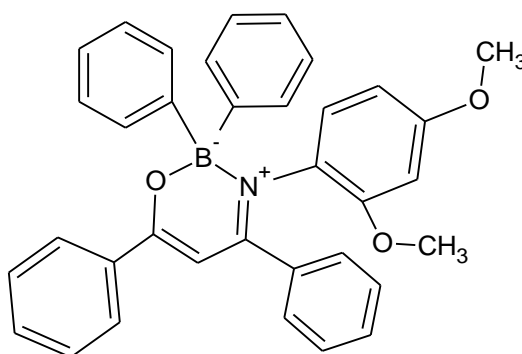
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,92–7,90 (m, 2H); 7,56–7,54 (m, 2H); 7,45–7,42 (m, 1H); 7,40–7,36 (m, 2H); 7,28–7,19 (m, 5H); 7,02–6,98 (m, 4H); 6,23 (dd, J = 8,7 Hz; 2,5 Hz, 1H); 6,14 (d, J = 2,7 Hz, 1H); 6,08 (s, 1H); 3,69 (s, 3H); 3,40 (s, 3H); 2,07 (s, 3H) ppm.

^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3) $\delta = 5,40$ (br) ppm.

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) $\delta = 171,4; 171,2; 159,6; 154,2; 135,0; 133,9; 133,6; 131,6; 131,5; 128,5; 127,9; 127,6; 127,0; 126,2; 125,94; 125,89; 125,6; 103,9; 99,3; 96,6; 55,6$ (br); 22,1 ppm.

HRMS: zlúčenina $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{BNO}_3$ vyžaduje $[\text{M}+\text{H}]^+$ 462,22350; nájdené $[\text{M}+\text{H}]^+$ 462,22405.

2,2,4,6-Tetrafenyl-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-1,3,2λ4-oxazaborin



5b

Miešané za laboratórnej teploty 4 dni; stĺpcová chromatografia (silikagel, $\text{DCM}:\text{AcOEt}$, 20:1); výťažok: 0,5 g (48 %); bod topenia 189 – 191,5 °C.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) $\delta = 8,01\text{--}7,99$ (m, 2H); 7,73–7,71 (m, 2H); 7,48–7,46 (m, 3H); 7,42–7,38 (m, 2H); 7,33–7,20 (m, 8H); 7,06–7,00 (m, 4H); 6,27 (s, 1H); 6,07 (dd, $J = 8,9$ Hz; 2,6 Hz, 1H); 5,84 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H); 3,58 (s, 3H); 3,27 (s, 3H) ppm.

^{11}B NMR (128 MHz, CDCl_3) $\delta = 5,8$ (br) ppm.

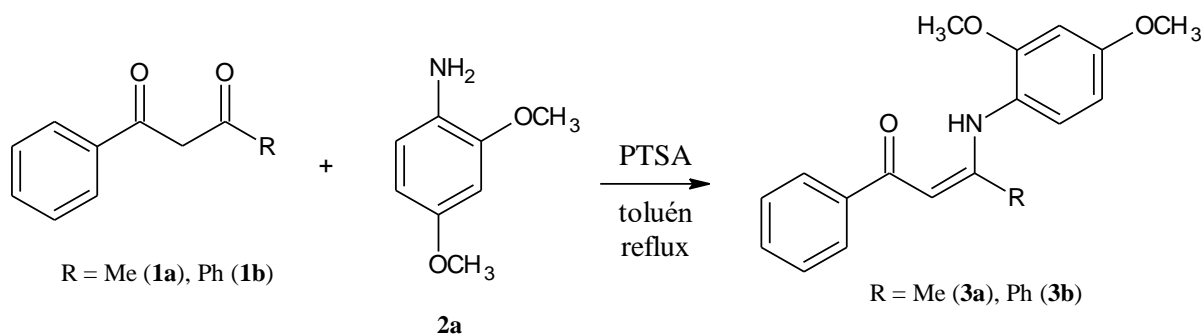
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) $\delta = 173,4; 170,8; 159,1; 153,6; 137,4; 134,9; 134,2; 133,5; 132,0; 130,0; 129,3; 128,7; 128,6; 127,9; 127,2; 127,0; 126,3; 126,2; 125,8; 103,4; 98,7; 98,6; 55,3; 55,0$ ppm.

HRMS: zlúčenina $\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{BNO}_3$ vyžaduje $[\text{M}+\text{H}]^+$ 524,23915; nájdené $[\text{M}+\text{H}]^+$ 524,24011.

Výsledky a diskusia

Syntéza a štruktúra východzích enamínov

Východiskové enamínony **3a,b** boli pripravené kondenzáciou benzoylacetónu (**1a**) resp. dibenzoylmethánu (**1b**) s 2,4-dimethoxyanilínom (**2a**). Dibenzoylmethán reagoval podstatne pomalšie (porovnanie reakčných časov) čo je možné pripísať nižšej reaktivite benzoylového karbonylu v porovnaní s acetylovým. Rovnakými dôvodmi môžeme vysvetliť aj regioselektivitu reakcie benzoylacetónu. Všetko je znázornené **Rovnicou 1**.



Rovnica 1: Syntéza enamínov **3a,b**. (64%)

Pre zistenie vplyvu rozšírenia konjugovaného systému fenylovým spacerom, bol syntetizovaný aj enamín **3c**. Potrebný derivát bifenyly bol pripravený Suzukiho cross-couplingom medzi 4-brómanilínom a fenyloborónovou kyselinou. Pripravený aminobifenyl potom reagoval s benzoylacetónom za vzniku **3c** za rovnakých podmienok ako v prípade **3a**. Všetko je znázornené **Schérou 2**.

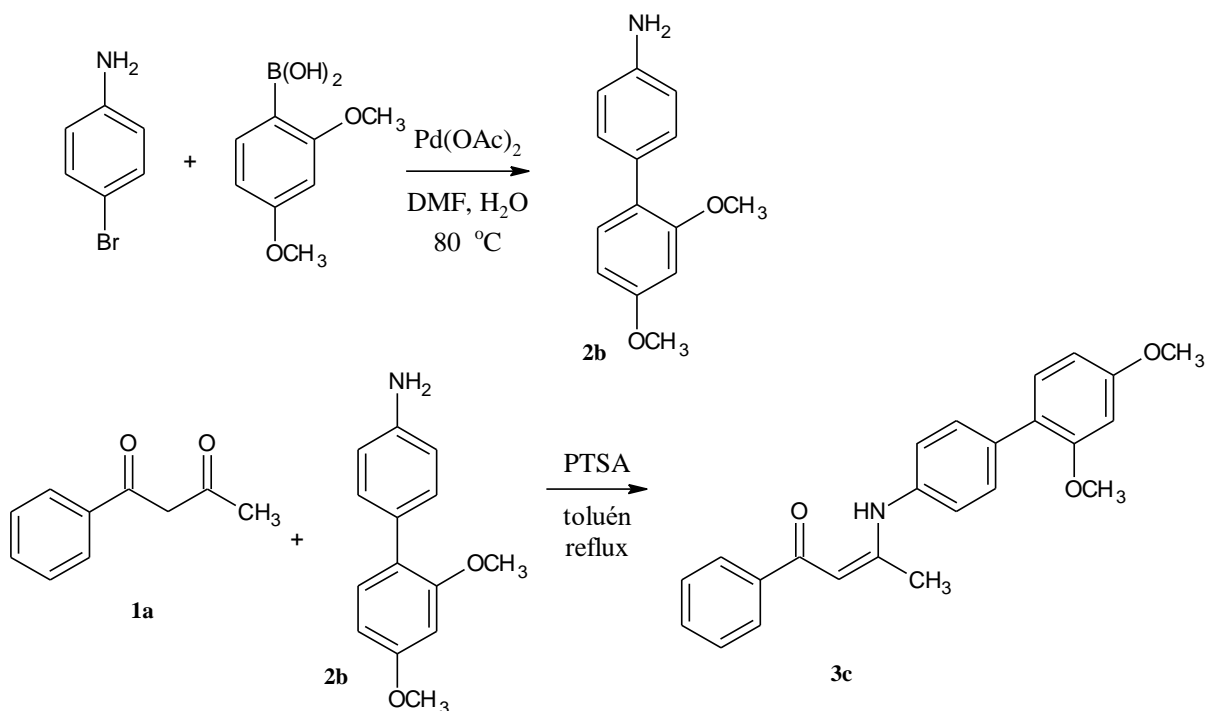


Schéma 2: Syntéza enaminonu 3c

Pripravené enaminony boli charakterizované pomocou NMR spektroskopie. Enaminony v princípe môžu existovať v troch tautomérnych formách (Schéma 3). Poloha rovnováhy je daná štruktúrnymi faktormi ako aj rozpúšťadlom alebo skupenstvom. Ak máme charakterizovať správne oxazaboríny, ktoré z enaminonu budú vznikať, potom je dôležité určiť, v akej tautomérnej forme sa daný enaminon vyskytuje.

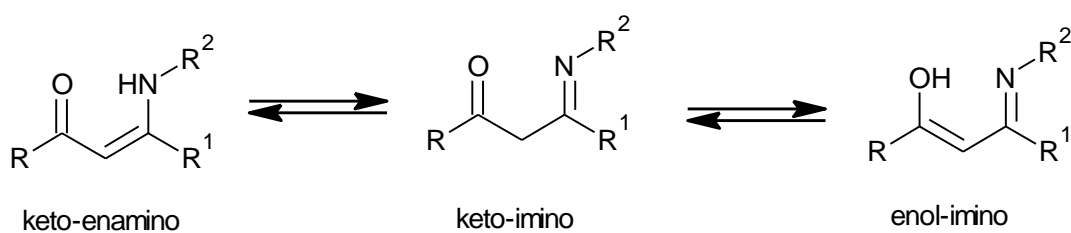
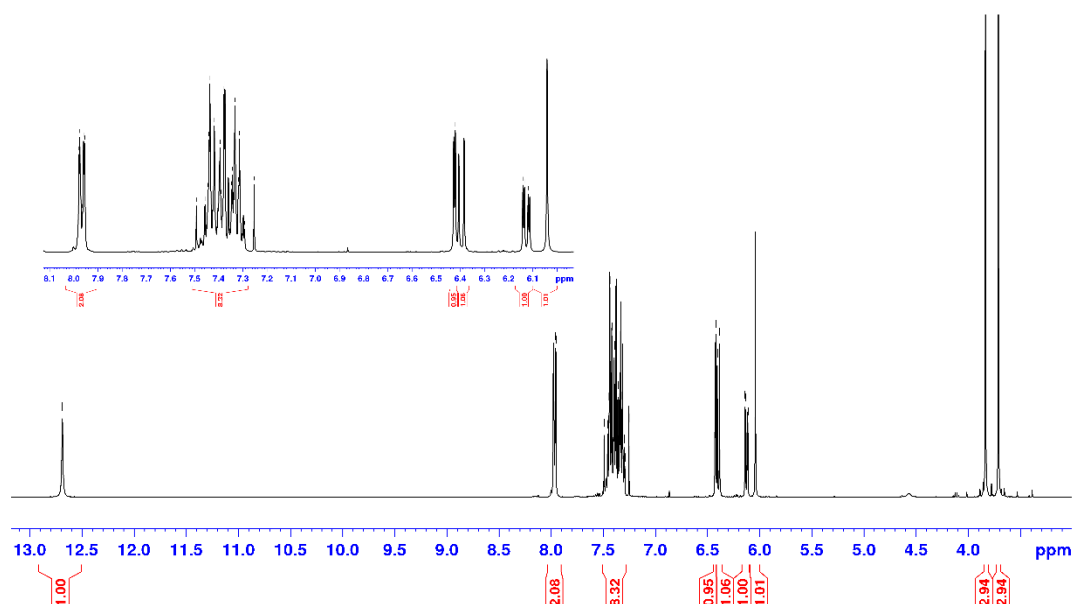


Schéma 3: Tautoméne formy enaminonov

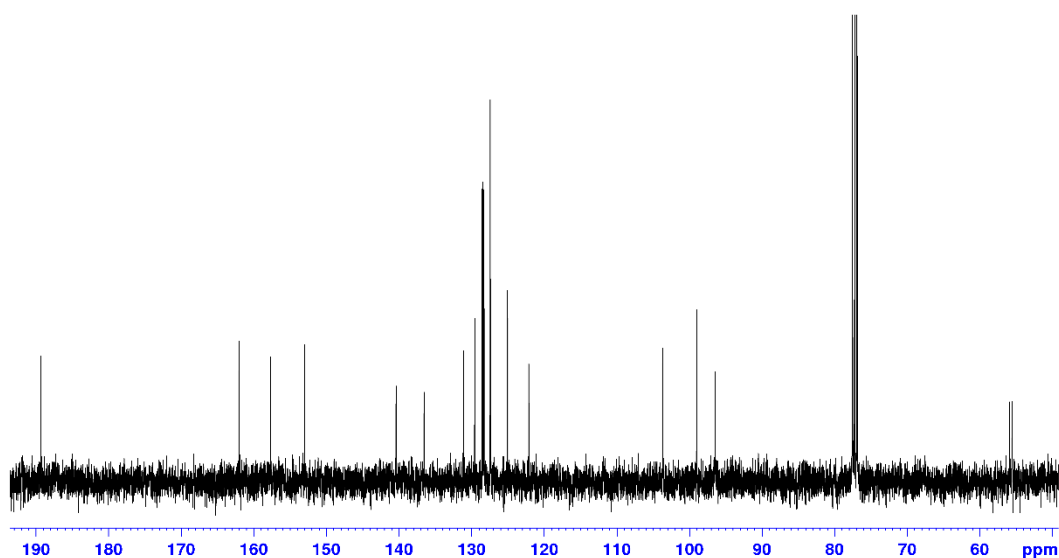
Na **Obrázku 15** je protónové NMR spektrum enaminonu **3b**.



Obrázok 15: 400 MHz ¹H NMR spektrum enaminonu **3b** v CDCl₃

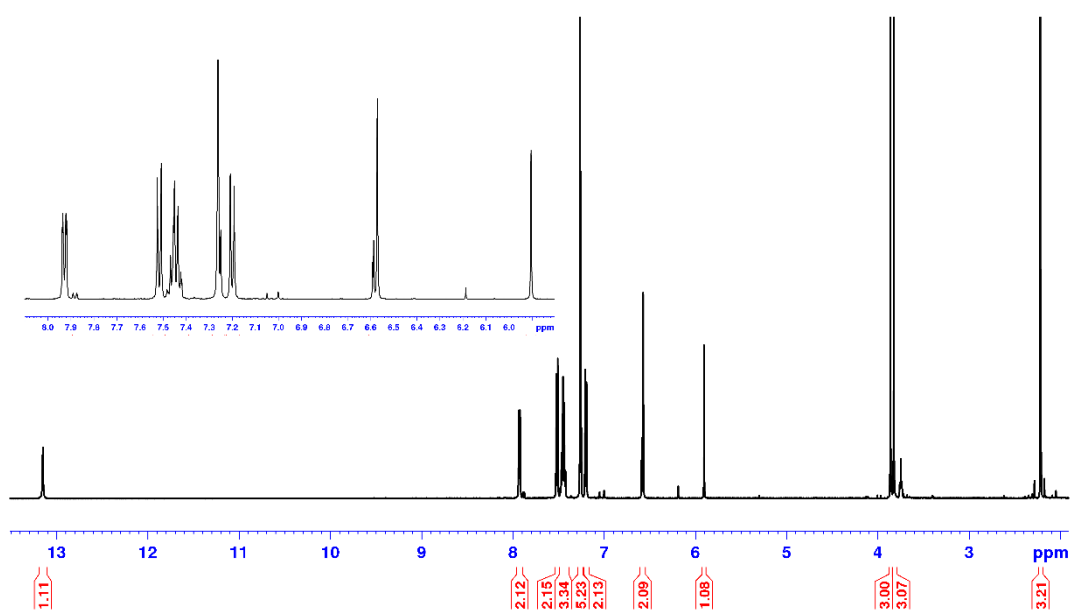
Z pomerne vysokého chemického posunu NH protónu je zrejmé, že sa zúčastňuje intramolekulárnej vodíkovej väzby N–H···O=C so susedným karbonylovým uhlíkom. Prítomnosť singletu s chemickým posunom cca 6 ppm potvrdzuje tautométnu formu enamino, lebo tento signál odpovedá olefinickému protónu =CH. Zo spektra rovnako jasne vyčnieva prítomnosť 1,2,4-trisubstituovaného benzénového jadra, ktoré je vďaka značne zvýšenej elektrónovej hustote, spôsobenej dvoma donornými methoxyskupinami, značne tienené čo sa prejavuje nízkymi hodnotami chemických posunov (6–6,5 ppm), tj. na úplnej hranici aromatickej oblasti. Na opačnom konci aromatickej oblasti ležia signály ortho protónov benzoylskupiny, čo je možné vysvetliť elektrónakceptorným charakterom karbonylovej skupiny.

Na **Obrázku 16** je uhlíkové NMR spektrum enaminonu **3b**. Asi najdôležitejší údaj, ktorý z neho vyplýva je prítomnosť signálu s chemickým posunom cca 190 ppm. To vypovedá o prítomnosti karbonylovej skupiny, čím je doplnený a potvrdený záver vytvorený na základe protónového spektra, totiž že enaminon **3b** existuje vo svojej forme enamino-keto. Neskôr bude táto informácia hrať rolu pri určení štruktúry vznikajúceho oxazaborínu.



Obrázok 16: 100 MHz ^{13}C NMR spektrum enaminonu **3b** v CDCl_3 .

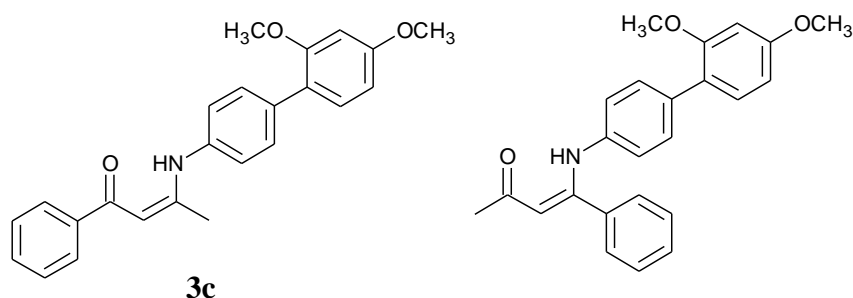
Na Obrázku 17 je protónové NMR spektrum enaminonu **3c**.



Obrázok 17: 500 MHz ^1H NMR spektrum enaminonu **3c** merané v CDCl_3

Zo spektra sú zrejme podobné rysy ako tie, ktoré boli zmienené u enaminonu **3b**. Zo spektra na Obrázku 17 môžeme určiť ešte jednu dôležitú vec a síce regioselektivitu vyššie zmienenej reakcie. Nesymetrické β -diketóny môžu v princípe tvoriť dva izoméne enaminony, ktoré sú pre prípad benzoylacetonu a amínu **2b** uvedené na Obrázku 18. Izoméry sa líšia typom karbonylovej skupiny. Keďže zo spektra na Obrázku 17 vyplýva,

že v molekule je prítomná benzoylskupina, je zrejme, že štruktúra **3c** v **Schéme 2** je správne. Regioselektivitu je možné vysvetliť rozdielnou reaktivitou karbonylových skupín, kedy benzoylový karbonyl je vďaka konjugácii so susedným benzénovým jadrom menej aktívny voči nukleofilom. To tiež vysvetľuje zhoršenú reaktivitu dibenzoylmethánu pri syntéze **3b**.



Obrázok 18: Možné regioizoméry enaminonu **3c**

Syntéza a štruktúra oxazaborínov

Pripravené enaminony boli podrobené reakcii s príslušnými zlúčeninami trivalentného bóru za vzniku odpovedajúcich OBN chelátov. Na reakciu bol použitý éterát fluoridu boritého a trifenyloboran. Syntéza prebieha za miernych podmienok v roztoku dichlormethánu. V prípade reakcie s fluoridom boritým je nevyhnutná prítomnosť báze, ktorá viaže vznikajúci fluorovodík. Pre prípad BF₂ chelátov **4** bol ako báza použitý triethylamín. Syntéza BPh₂ derivátov **5** prítomnosť báze nevyžaduje, lebo vedľajším produktom je benzén. Súhrnne je syntéza oxazaborínov znázornená **Schéma 4**.

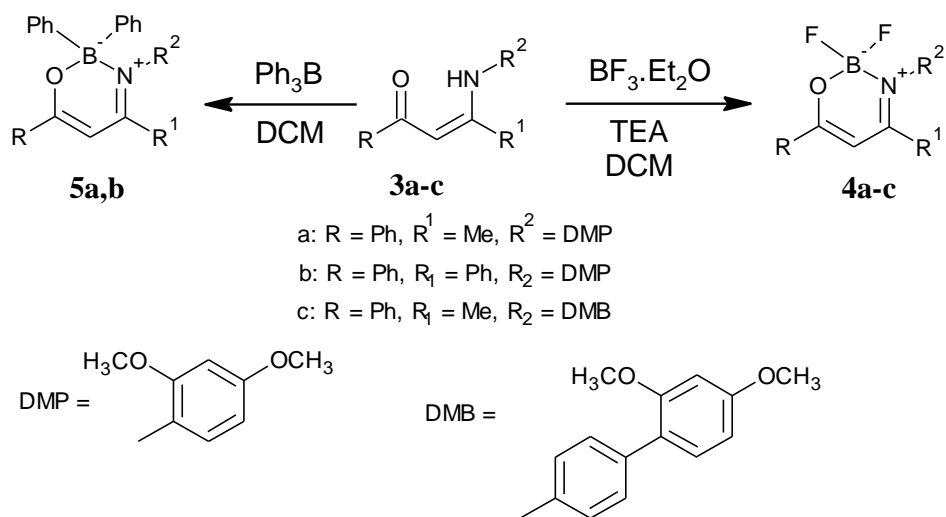
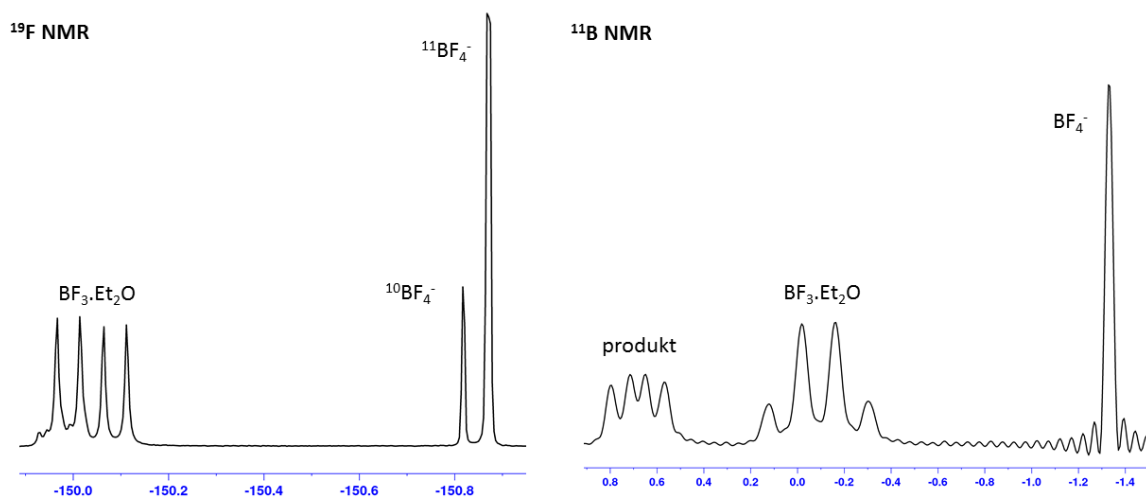


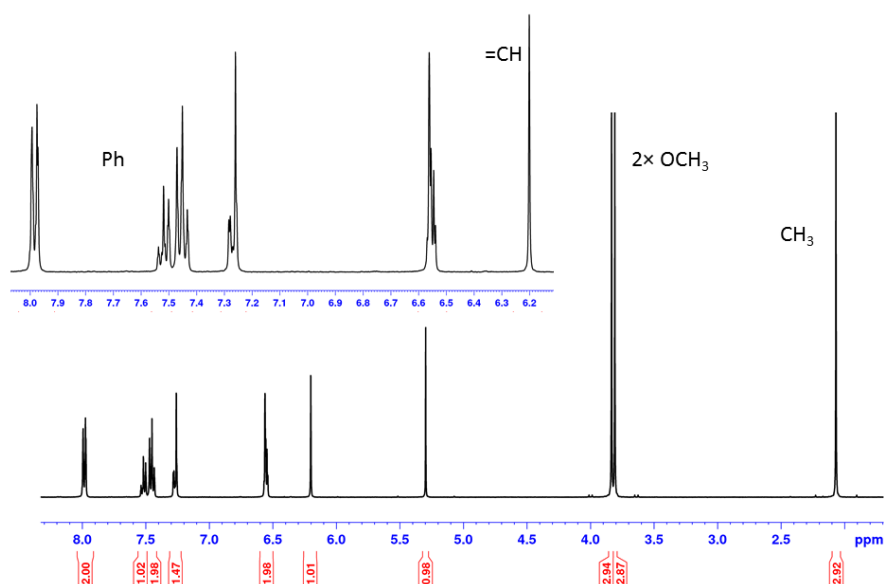
Schéma 4: Syntéza oxazaborínov

Analýzou surovej reakčnej zmesi pomocou ¹⁹F a ¹¹B NMR spektroskopie bolo zistené, že miesto očakávaného triethylammoniumfluoridu sa v nej vyskytuje anión BF₄⁻ a nezreagovaný étherát (**Obrázok 19**). Vznik tetrafluorborátového aniónu je možné vysvetliť reakciou vznikajúceho fluoridu s BF₃. Získané výsledky sú v súlade s protónovým NMR spektrom.



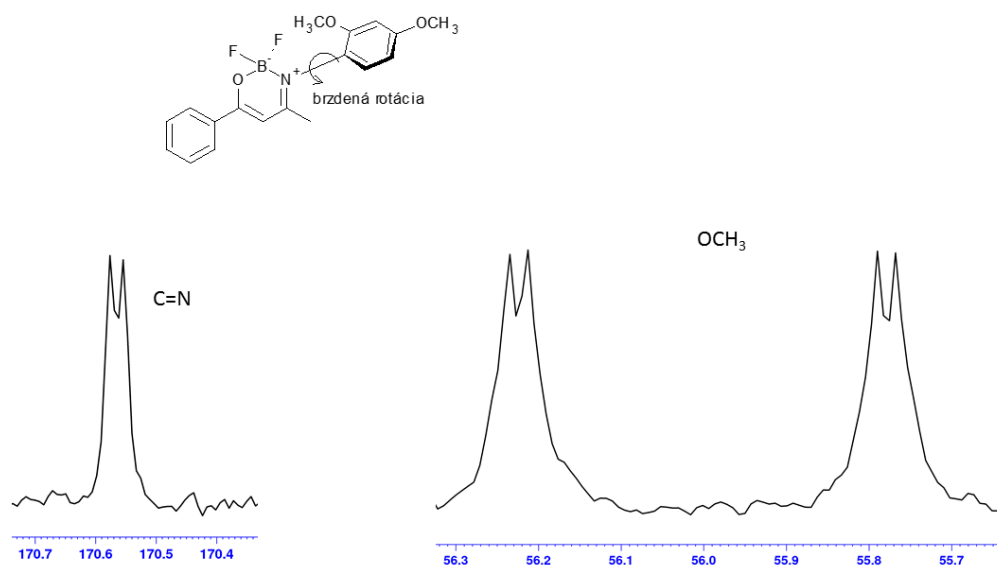
Obrázok 19: NMR analýza surovej reakčnej zmesi zo syntézy **4a**

Na **Obrázku 20** sú interpretované protónové NMR spektrá oxazaborínov **4a–c** po prečistení.



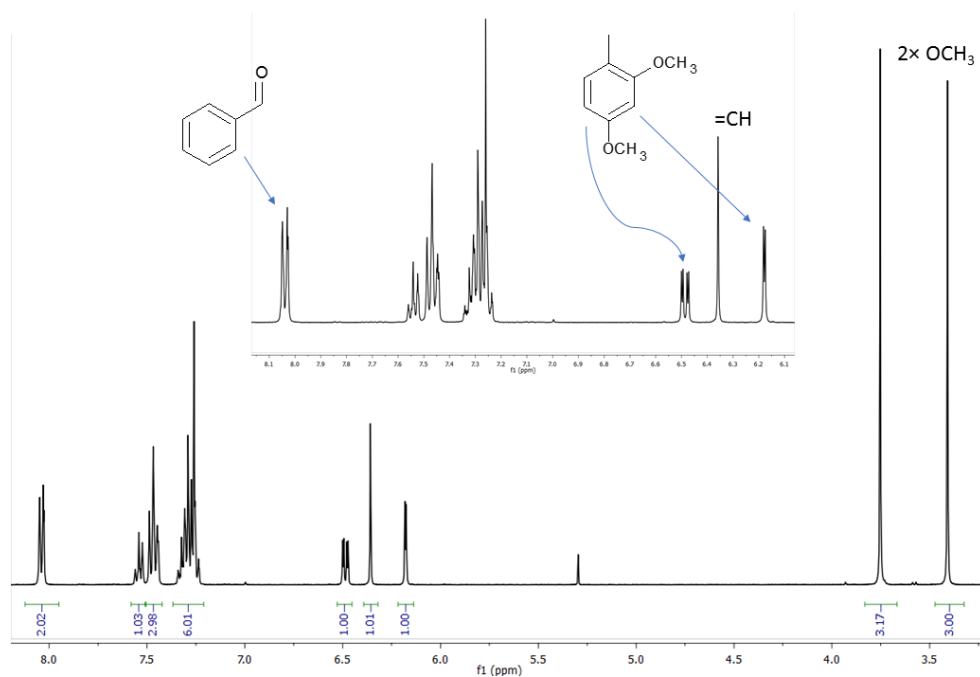
Obrázok 20: ^1H NMR spektrum oxazaborínu **4a-c** merané pri 400 MHz v CDCl_3

Veľmi zaujímavý výsledok poskytla analýza uhlíkového NMR spektra zlúčeniny **4a**. Niektoré z uhlíkových signálov sú zdvojené. Najmarkantnejšie je to u signálov oboch methoxyskupín a uhlíku č. 4 oxazaborínového skeletu (**Obrázok 21**). Možné vysvetlenie spočíva v tom, že v dôsledku sterickej náročnosti molekuly, dané substituentom v polohe 2- dimethoxyfenylskupiny molekula oxazaborínu **4a** existuje ako zmes dvoch atropoizomérov. Pretože sa to týka predovšetkým uhlíkov 2,4-dimethoxyfenylskupiny, je možné usudzovať, že atropoizoméria je spôsobené brzdenou rotáciou okolo väzby C–N. K presnejšiemu popisu tohto javu bude nutné urobiť ďalší výskum, napr. röntgenovú difrakciu monokryštálu či NMR experimenty za rôznych teplôt.



Obrázok 21: Zdvojenie niektorých signálov v ^{13}C NMR spektre **4a** a ich možná interpretácia.

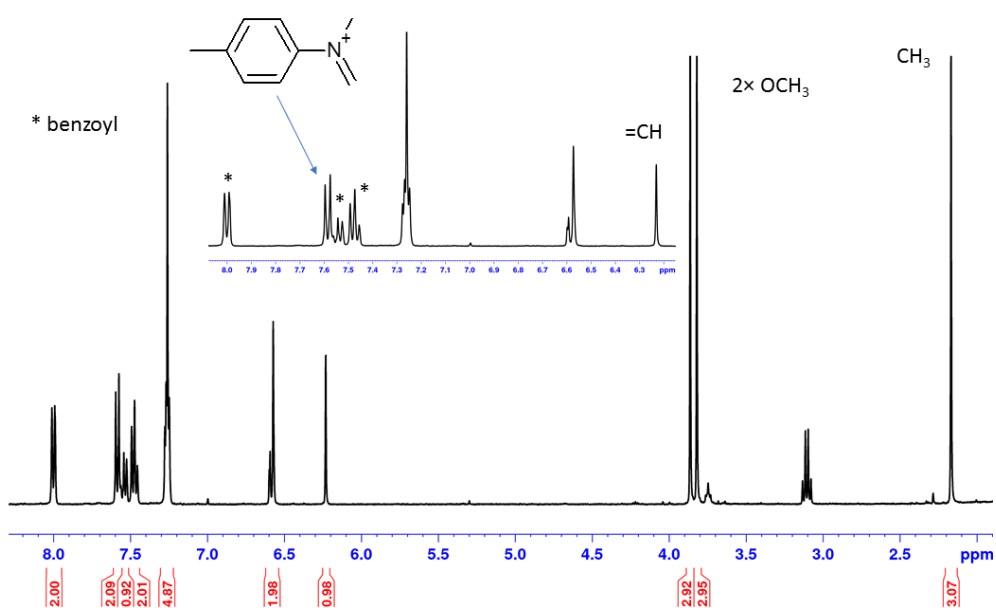
Protónové spektrum oxazaborínu **4b** s interpretáciou je na **Obrázku 22**.



Obrázok 22: 400 MHz ^1H NMR spektrum oxazaborínu **4b** v CDCl_3 s interpretáciou

Je zvláštne, že v uhlíkovom NMR spektre zlúčeniny **4b** nie je zdvojenie tak markantné ako u **4a**, u methoxyskupín nie je pozorovateľné vôbec a týka sa len napr. uhlíku C4 alebo niektorých uhlíkov 2,4-dimethoxyfenylskupiny.

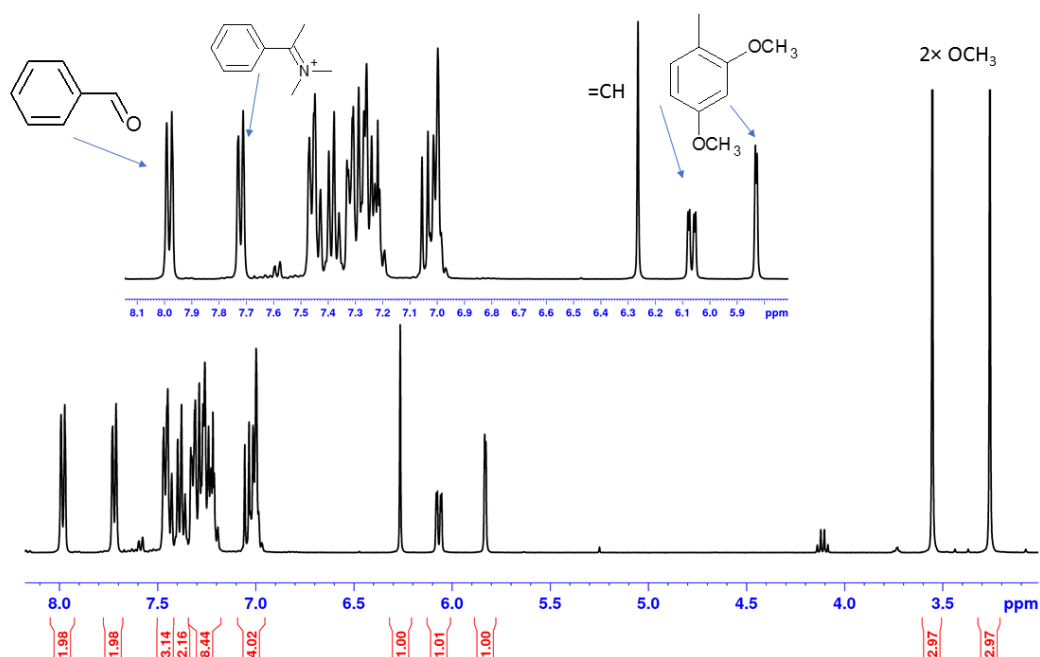
Protónové NMR spektrum tretieho BF_2 oxazaborínu **4c** aj s interpretáciou je na **Obrázku 23**.



Obrázok 23: 400 MHz ^1H NMR spektrum zlúčeniny **4c** v CDCl_3 s interpretáciou

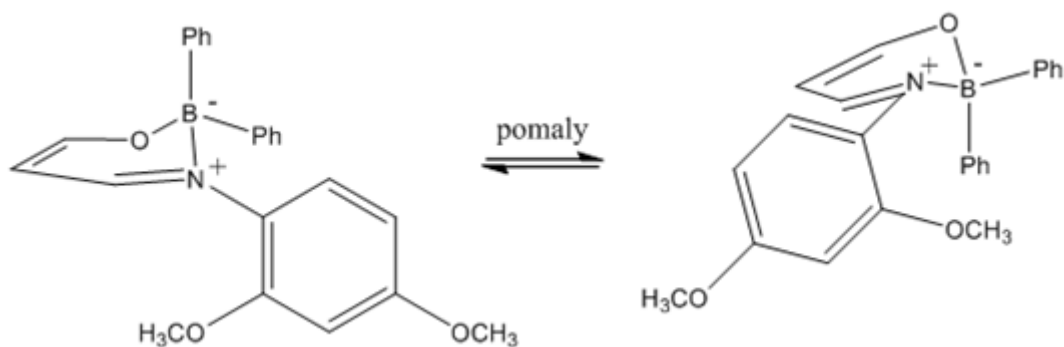
Uhlíkové spektrum **4c** vykazuje opäť zdvojenie niektorých signálov, najviac je to pozorovateľné na methoxyskupinách. Tentoraz sa to však neprejavuje na uhlíku C4 čo je možné vysvetliť tým, že v tomto prípade je brzdená rotácia okolo jednoduchej väzby medzi oboma benzénovými jadrami a nie okolo väzby N–C.

Pre ilustráciu je na **Obrázku 24** uvedené protónové NMR spektrum BPh₂ derivátu **5b**. Vzhľadom k prítomnosti piatich benzénových jadier je protónové spektrum celkom zložitité. Jasne identifikovateľné sú len elektronicky odľahlé skupiny 2,4-dimethoxyfenyl a benzoyl.



Obrázok 24: 400 MHz ¹H NMR spektrum oxazaborínu **5b** v CDCl₃ s interpretáciou

Počet signálov v uhlíkovom NMR spektre **5b** naznačuje neekvivalenciu oboch fenyľskupín na atóme bóru. To je možné vysvetliť tým, že oxazaborínový kruh zaujíma obáľkovú konformáciu. Táto skutočnosť bola zistená z rentgenoštruktúrnej analýzy oxazaborínov napr. v práci.^[43] Jedna z fenyľskupín je teda axiálna a druhá ekvatoriálna. Vzhľadom k sterickej náročnosti substituentov okolo OBN cyklu je konformačná premena jednej obáľky na druhú značne spomalená a NMR spektrometer tak vníma obe fenyľskupiny ako odlišné. Graficky je tento proces znázornený **Schérou 5**.



obe fenylskupiny neekvivalentné

Schéma 5: Vysvetlenie neekvivalencie fenylskupín v molekule **5b**

Ak porovnáme protónové a uhlíkové NMR spektrá enamínov a z nich vzniknutých oxazaborínov, je možné si povšimnúť niektorých významných zmien, ktoré sú uvedené v **Tabuľke 1**.

| Tabuľka 1: Porovnanie niektorých chemických posunov a ich zmeny pri tvorbe OBN chelátov | | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| Zlúčenina | δ_{H5}/ppm | $\Delta\delta_{H5}/\text{ppm}$ | $\delta_{C=O}/\text{ppm}$ | $\Delta\delta_{C=O}/\text{ppm}$ | $\delta_{C=N}/\text{ppm}$ | $\Delta\delta_{C=N}/\text{ppm}$ |
| 3a * | 5,84 | | 188,1 | | 163,6 | |
| 4a | 6,23 | +0,39 | 172,0 | -16,1 | 170,9 | +7,3 |
| 5a | 6,08 | +0,24 | 171,4 | -16,7 | 171,2 | +7,6 |
| 3b | 6,04 | | 189,3 | | 162,0 | |
| 4b | 6,36 | +0,32 | 172,4 | -16,9 | 171,8 | +9,8 |
| 5b | 6,27 | +0,23 | 173,4 | -15,9 | 170,8 | +8,8 |
| 3c | 5,92 | | 188,8 | | 162,5 | |
| 4c | 6,23 | +0,31 | 172,0 | -16,8 | 170,9 | +8,4 |

*Prevzaté z práce^[56]

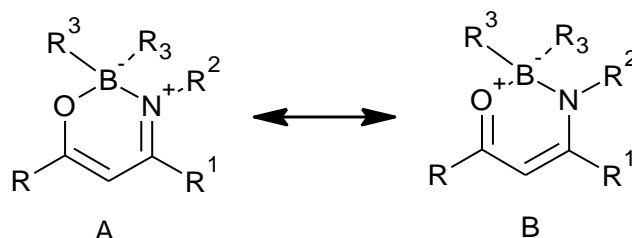
Analýzou zmien si môžeme povšimnúť nasledujúcich skutočností:

Pri vzniku oxazaborínu došlo k zvýšeniu chemického posunu protónu H5 o 0,31–0,39 ppm pre BF_2 cheláty a 0,23–0,24 ppm pre BPh_2 cheláty. To je možné vysvetliť vznikom kladného náboja na blízkom atóme dusíka.

Došlo k výraznému zníženiu (o 15,9–16,8 ppm) chemického posunu uhlíku C6 (pôvodne karbonylového). To je možno pripísať zmene rádu väzby pri prechode z C=O na C-O .

Došlo k výraznému navýšeniu (o 7,3–9,8 ppm) chemického posunu uhlíku C4 (pôvodne enamínového). To je možné vysvetliť jednak zvýšením rádu väzby z C–N na C=N a tvorbou kladného náboja na dusíku.

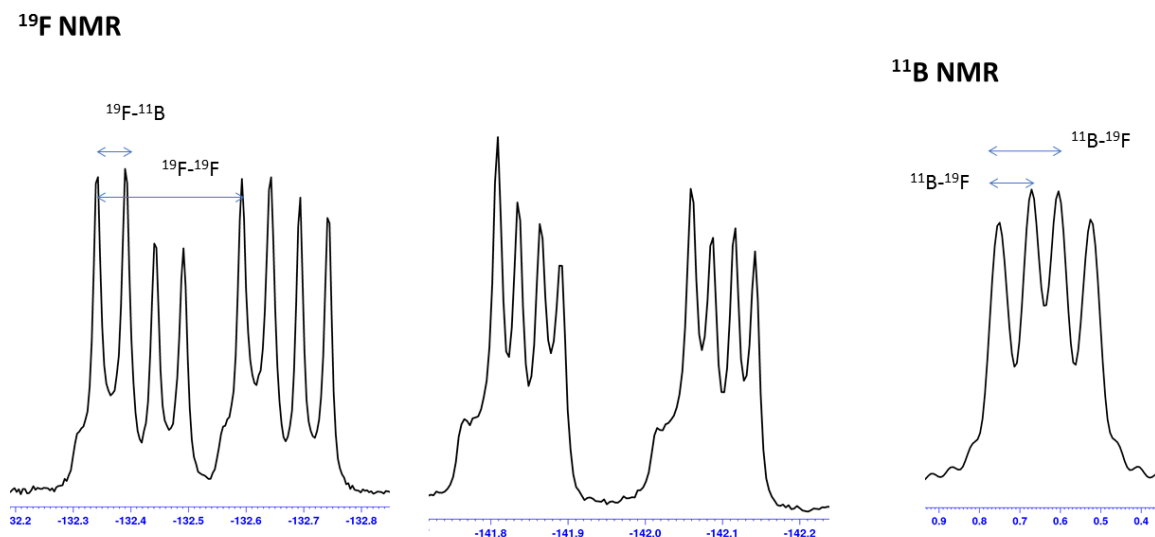
Oxazaborínový kruh môžeme popísať dvoma rezonančnými štruktúrami (**Rovnica 2**).



Rovnica 2: Rezonančné štruktúry oxazaborínového kruhu

Zo záverov urobených na základe **Tabuľky 1** je možné usúdiť, že významnejšia je štruktúra A.

Veľmi zaujímavé sú fluórové a bórové NMR spektrá pripravených oxazaborínov. Na **Obrázku 25** je ^{19}F NMR spektrum zlúčeniny **4a**.

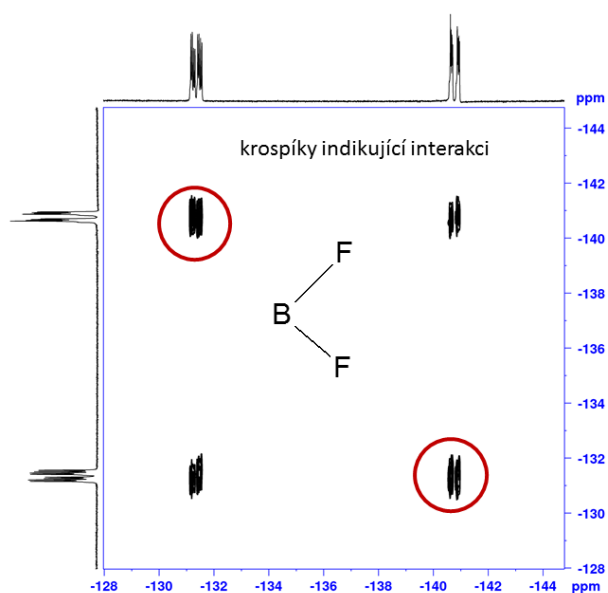


Obrázok 25: Detaily ^{19}F a ^{11}B NMR spektier zlúčeniny **4a** meraných v CDCl_3

Z **Obrázku 25** je zrejmé, že oba atómy fluóru sú neekvivalentné, lebo každý má svoj vlastný signál. Každý z fluórových signálov je štiepený susedným atómom bóru na štyri línie s interakčnou konštantou ^{19}F – ^{11}B . V dôsledku neekvivalencie fluórov sú jednotlivé

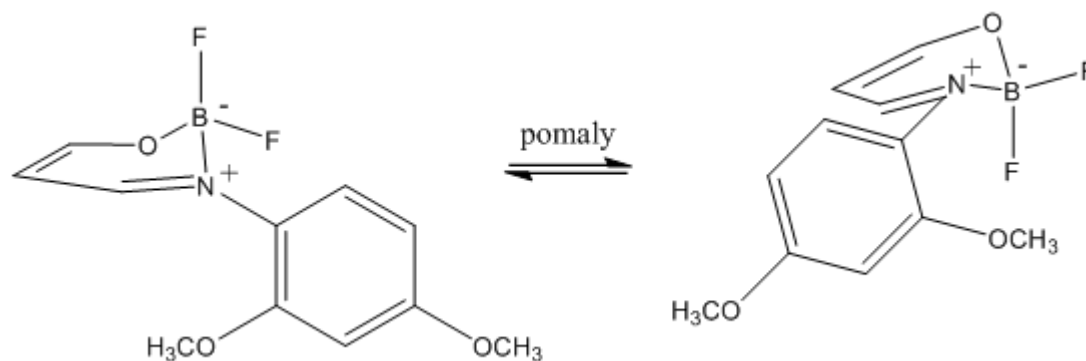
štvorice línií ďalej zdvojené pôsobením ^{19}F - ^{19}F interakcie. Signál bóru je štiepený oboma neekvivalentnými fluórmí, každým z nich na dve línie (signál na **Obrázku 25** vpravo).

Dôkaz, že sa naozaj jedná o neekvivalentné atómy fluóru viazané na rovnakom atóme bóru je daný hodnotami interakčných konštánt medzi jednotlivými jadrami (**Tabuľka 2**). Ďalší dôkaz bol podaný pomocou 2D NMR spektroskopie. Na **Obrázku 26** je výsledok ^{19}F - ^{19}F 2D COSY experimentu. Technika 2D COSY sa využíva pre mapovanie konektivity medzi jadrami v molekule prostredníctvom chemických väzieb. S jej pomocou je možné sledovať, ako sú jednotlivé jadrá v molekule spojené dohromady. Z výsledku získaného pre **4a** je zrejmé, že oba atómy fluóru spolu vzájomne interagujú prostredníctvom chemických väzieb (o tom svedčia krosníky, ktoré medzi nimi sú).



Obrázok 26: 376 MHz ^{19}F - ^{19}F COSY spektrum zlúčeniny **4a** merané v CDCl_3

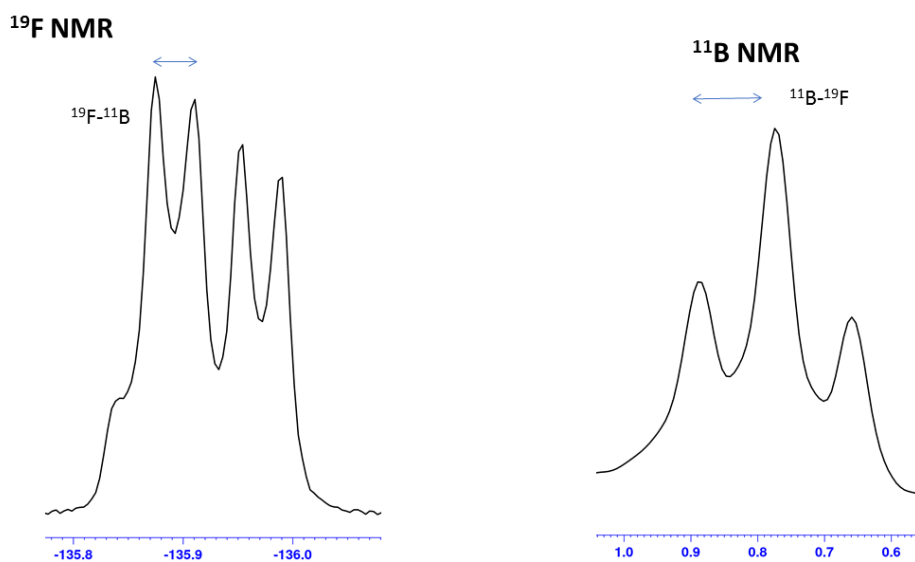
Vysvetlenie je obdobné ako v prípade neekvivalencie fenyľskupín v zlúčenine **5b**, vysvetlené v **Schéme 5**. Pre prípad BF_2 je **Schéma 5** modifikovaná na **Schému 6**.



oba atómy fluóru neekvivalentné

Schéma 6: Vysvetlenie neekvivalencie atómov fluóru v zlúčenine **4a**

Fluórové a bórové spektrum zlúčeniny **4b** je podobné ako **4a**. Iný obrázok však dostaneme, pokiaľ zmeriame ^{19}F a ^{11}B NMR u zlúčeniny **4c** (**Obrázok 27**). Z obrázku je zrejmé, že tentoraz sú oba atómy fluóru ekvivalentné a teda v spektre ^{19}F je len jeden signál, ktorý je štiepený na štyri línie v dôsledku spin-spinovej interakcie so susedným atómom bóru. Rovnako tak je signál bóru štiepený na triplet v dôsledku spin-spinovej interakcie s dvoma ekvivalentnými fluórmi.



Obrázok 27: Detail ^{19}F a ^{11}B NMR spektier zlúčeniny **4c**

Vysvetlení tohoto odlišného výsledku je podané v **Schéme 7**.

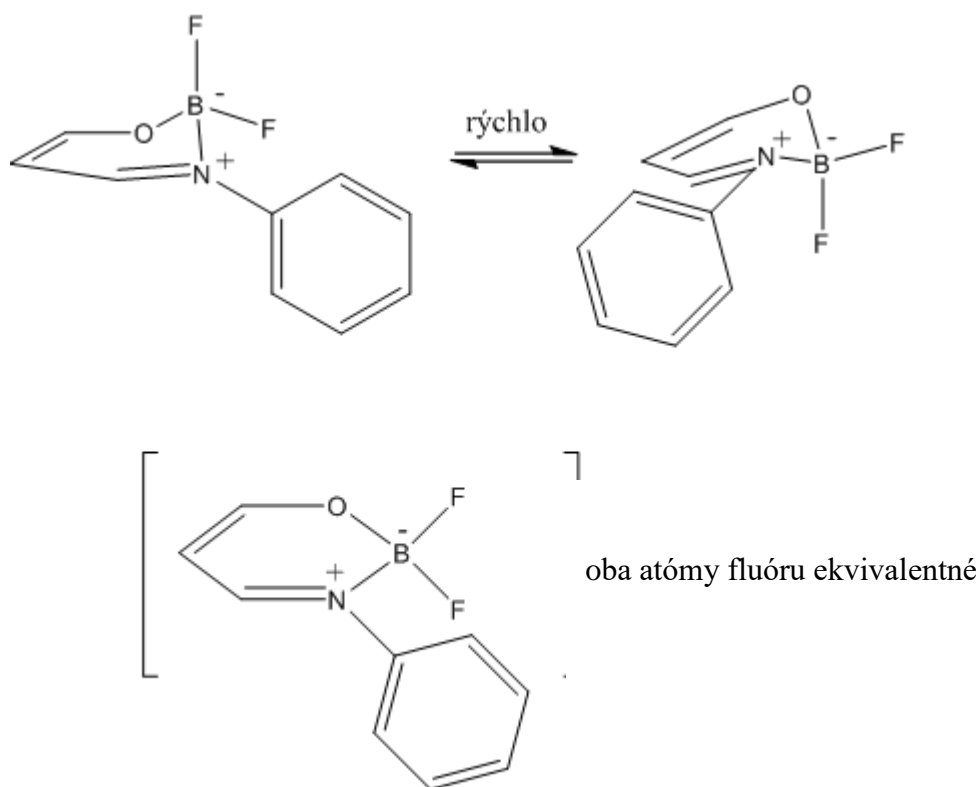
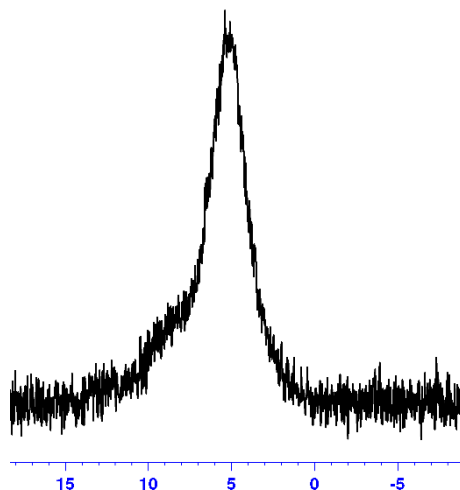


Schéma 7: Vysvetlenie vzhľadu ¹⁹F a ¹¹B NMR spektier zlúčeniny **4c**

Vzhľadom k tomu, že medzi oxazaborínom a stéricky náročnou 2,4-dimethoxyfenylo skupinou je podstatne menej stéricky náročná fenylo skupina, je vzájomná premena obáľkových konformácií podstatne rýchlejšia. NMR spektrometer túto premenu vníma ako rýchlu a obe konformácie zaznamená ako ich najsymetrickejšiu formu, ktorá je ich priemerom. Preto je v NMR spektre len jeden signál pre oba fluórové atómy.

Ak sa pozrieme na ¹¹B NMR spektrum BPh₂ derivátu **5a** (**Obrázok 28**) je viditeľný výrazný rozdiel oproti BF₂ analógom. Signál BPh₂ fragmentu v ¹¹B NMR spektre je silne rozšírený bez akéhokoľvek štiepenia. Tento rys je pre BPh₂ fragmenty typický, vid'. napr. prácu.^[43]



Obrázok 28: 128 MHz ^{11}B NMR spektrum zlúčeniny **5a** v CDCl_3

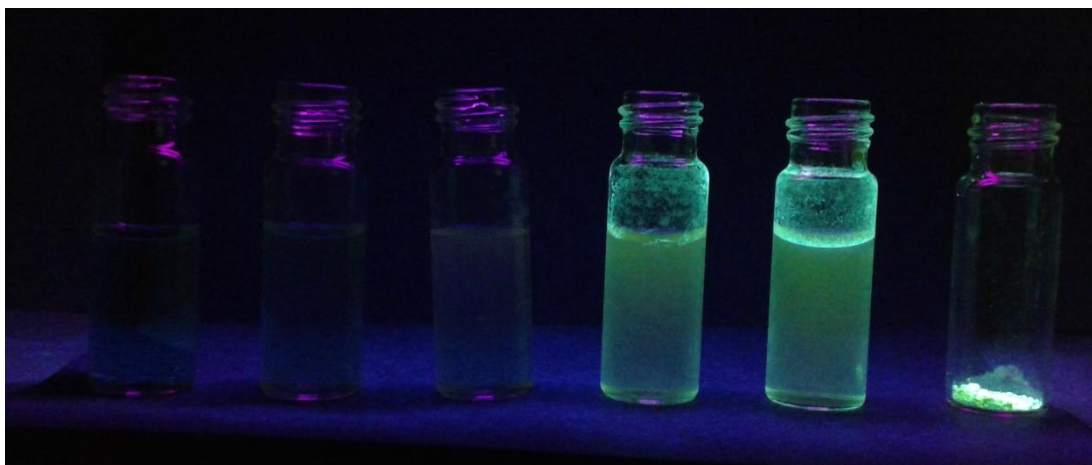
Na záver prezentácie a diskusie ^{19}F a ^{11}B NMR dát ešte zhrnutie jednotlivých parametrov v **Tabuľke 2**.

| Tabuľka 2: Súhrn bórových a fluórových NMR parametrov oxazaborínov 4 a 5 v CDCl_3 | | |
|---|---|---|
| Zlúčenina | ^{11}B NMR | ^{19}F NMR |
| 4a | 0,64 (dd, $^1\text{J}(^{11}\text{B}, ^{19}\text{F}) = 18,9; 10,4$ Hz) | -132,5 (m, $^2\text{J}(^{19}\text{F}, ^{19}\text{F}) = 94$ Hz; $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 18$ Hz); -142,0 (m, $^2\text{J}(^{19}\text{F}, ^{19}\text{F}) = 94,5$ Hz; $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 10$ Hz) |
| 4b | 0,94 (dd, $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 19,7$ Hz; 9,3 Hz) | -130,4 (dq, $^2\text{J}(^{19}\text{F}, ^{19}\text{F}) = 92$ Hz; $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 19,5$ Hz); -142,6 (dq, $^2\text{J}(^{19}\text{F}, ^{19}\text{F}) = 92,2$ Hz; $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 8,8$ Hz) |
| 4c | 0,77 (t, $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 14,7$ Hz) | -135,9 (m, $^1\text{J}(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B}) = 13,5$ Hz) |
| 5a | 5,40 (br s) | |
| 5b | 5,80 (br s) | |

Luminiscenčné vlastnosti pripravených oxazaborínov

Luminiscenčné vlastnosti oxazaborínu **4a** zhrňa **Obrázok 29**. Je z neho zrejmé, že **4a** nie je konvenčným luminoforom, pretože v zriedenom roztoku THF úplne nefluoreskuje. Postupným zvyšovaním obsahu vody sa však fluorescencia objavuje (od 95 % vody). Vysvetlenie spočíva v tom, že od určitej koncentrácie vody dochádza v roztoku k tvorbe agregátov. Zlúčenina **4a** je v agregovanej forme silne luminiscenčná. Tomuto javu sa hovorí AIE (Agregáciou Indukovaná Emisia) a patrí v súčasnosti medzi veľmi študované

javy kvôli rozsiahlym možnostiam využitia zlúčenín s týmito vlastnosťami (vid'. napr. literatúra^[8,7,48]). V agregovanej forme dochádza totiž k omedzeniu intramolekulového pohybu (tzv. RIM) a tým aj k potlačeniu nežiarivých strát energie získanej absorpciou fotónov.



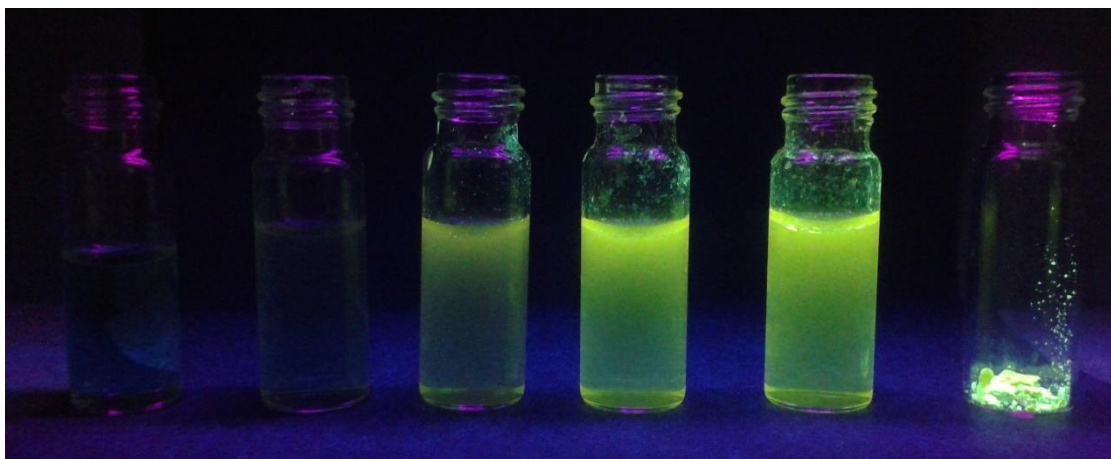
Obrázok 29: Demonstrácia fluorescenčných vlastností zlúčeniny **4a**.

10^{-4} M roztok **4a** v zmesi THF/voda, zľava rastúce objemové množstvo H_2O : 0 %, 70 %, 90 %, 95 %, 98 %.

Úplne vpravo zlúčenina v pevnej fáze.

Z **Obrázku 29** je rovnako zrejmé, že **4a** je intenzívnym luminoforom v pevnej fázi.

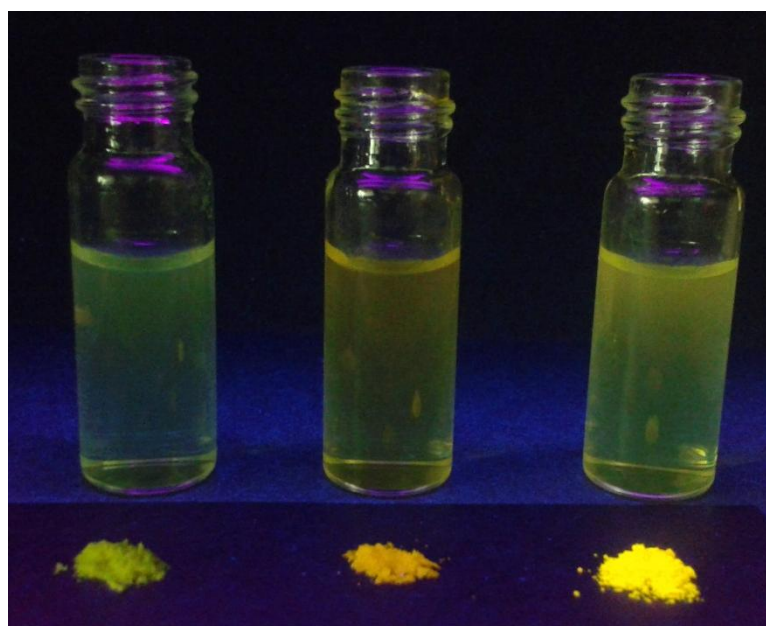
Podobné vlastnosti ako **4a** má aj **4c** (vid'. **Obrázok 30**). Oproti **4a** dochádza k zmene farby luminiscencie u agregátov, emitované žiarenie má dlhšie vlnové dĺžky, dochádza teda k bathochromnému posunu. To by sa dalo vysvetliť rozšírením konjugovaného systému vloženou fenyľskupinou.



Obrázok 30: Demonštrácia fluorescenčných vlastností zlúčeniny **4c**.

10^{-4} M roztok **4c** v zmesi THF/voda, zľava rastúce objemové množstvo H_2O : 0 %, 70 %, 90 %, 95 %, 98 %. Úplne vpravo zlúčenina v pevnej fáze.

Ostatné tri oxazaboríny (**4b**, **5a,b**) nevykazujú žiadny AIE efekt. S výnimkou zlúčeniny **4b** nie sú ani luminofory v pevnej fáze. To je ilustrované **Obrázkom 31**.



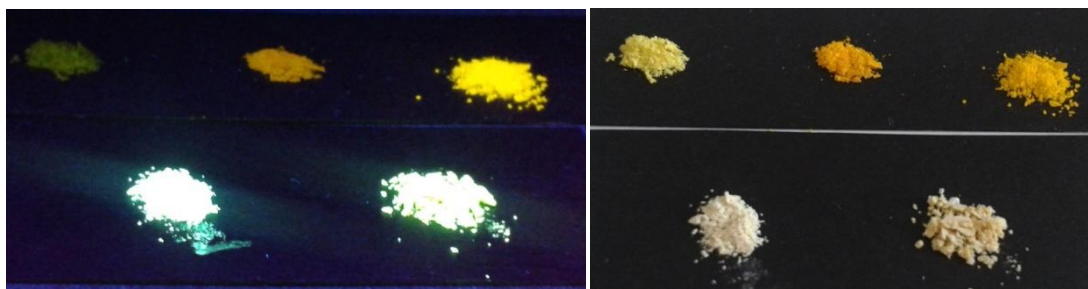
Obrázok 31: Fluorescenčné vlastnosti oxazaborínov.

Zľava **5a**, **5b**, **4b**.

Horná rada: 10^{-4} M roztok v zmesi THF/ H_2O (98 % vody).

Spodná rada: pevná fáza

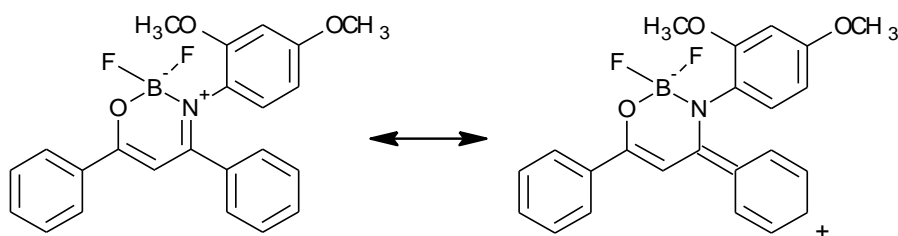
Na záver ešte spoločná fotografie všetkých pripravených oxazaborínov pod UV svetlom a na dennom svetle v pevnej fáze (**Obrázok 32**).



Obrázok 32: Pripravené oxazaboríny pod UV svetlom (vľavo) a na dennom svetle (vpravo).
Horná rada: **5a**, **5b**, **4b**. Spodná rada: **4a**, **4b**

Porovnaním vyššie uvedených obrázkov môžeme zhrnúť: oxazaboríny **4**, **5** nie sú konvenčnými luminoformi, v roztoku THF nefluoreskujú. V tuhej fáze fluoreskujú BF₂ deriváty **4**, z toho zlúčeniny **4a,c** výrazne. Zlúčeniny **4a,c** sú rovnako AIEgény.

Luminiscencia BF₂ derivátov v porovnaní s ich BPh₂ analógmi by sa možno dala vysvetliť elektrónakceptorným charakterom fluóru. Je tým zvýšený akceptorný charakter kladne nabitého dusíku, čím dochádza k prenosu náboja od donorných methoxyfenylskupín. Fenylyskupiny taký charakter nemajú. Zníženie luminiscencie zlúčeniny **4b** v porovnaní so **4a,c** by sa mohlo vysvetliť dodávaním elektrónov z fenylyskupiny ku kladne nabitému dusíku (viď. rezonančná štruktúra na **Obrázku 33** nižšie) čím by dochádzalo k zníženiu jeho akceptorného charakteru a tým aj prenosu náboja od substituentu na dusíku. Prečo zlúčeniny **5** a **4b** nevykazujú AIE nie je príliš jasné. Zmienené tvrdenia a nejasnosti je nutné podrobiť ďalšiemu skúmaniu a to ako experimentálnemu (design nových molekúl na základe zmienených hypotéz, charakterizácie nových zlúčenín, predovšetkým pomocou röntgenovej difrakcie, kvantitatívne vyhodnotenie luminiscencie) tak aj teoretickému (kvantovo chemické výpočty).



Obrázok 33: Rezonančný vplyv C4 fenylyskupiny na elektrónakceptórne vlastnosti dusíku oxazaborínu v molekule **4b**

UV-Vis spektrá enamínov a oxazaborínov

V **Tabuľke 3** sú zhrnuté základné UV-Vis charakteristiky pripravených zlúčenín.

| Zlúčenina | λ_{\max}/nm | ϵ_{\max} |
|-----------|----------------------------|-------------------|
| 3a | 354 | 13 500 |
| 3b | 389 | 12 000 |
| 3c | 368 | 25 000 |
| 4a | 347 | 23 000 |
| 4b | 342 | 20 000 |
| 4c | 345 | 23 000 |
| 5a | 376 | 11 000 |
| 5b | 399 | 12 000 |

Z **Tabuľky 3** je zrejmé, že všetky zlúčeniny sa vyznačujú relatívne veľkými hodnotami molárneho absorpčného koeficientu čo naznačuje, že se jedná o $\pi-\pi^*$ prechody. Tvorba BF_2 chelátu vo všetkých prípadoch znamenala hypsochromný posun vlnovej dĺžky absorpčného maxima. K tomu dochádzalo k nárastu hodnoty molárneho absorpčného koeficientu (s výnimkou zlúčeniny **4c**). Opačný trend, tj. bathochromný posun, znamená zavedenie fragmentu BPh_2 do molekuly enamínu. Tu prakticky nedochádzalo k zmene v hodnotách ϵ_{\max} .

Elektrochemické štúdie oxazaborínov **4a,c**

Obe látky s oxazaborínovým heterocyklom vykazujú podobné elektrochemické správanie. U látky **4a** bola pozorovaná jedna jedno-elektrónová reverzibilná redukcia s rozdielom potenciálov katodického a anodického píku 71 mV, u látky **4c** je tento rozdiel 74 mV. Čo sa týka oxidácie tak tu okrem prvej oxidácie sú aj ďalšie následné reakcie, pričom u prvej ireverzibilnej oxidácie sa vymieňajú dva elektróny, čo je možné usúdiť z porovnania limitných prúdov prvého oxidačného a redukčného procesu (u oxidácie je tento limitný prúd dvojnásobný než u redukcii). Druhý oxidačný proces vykazuje snámky spojenia dvoch procesov v jeden, čiže miesto dvoch píkav je pozorovaný jeden širší. U látky **4c** sú okrem prvej oxidácie vidieť aj ďalšie dva procesy.

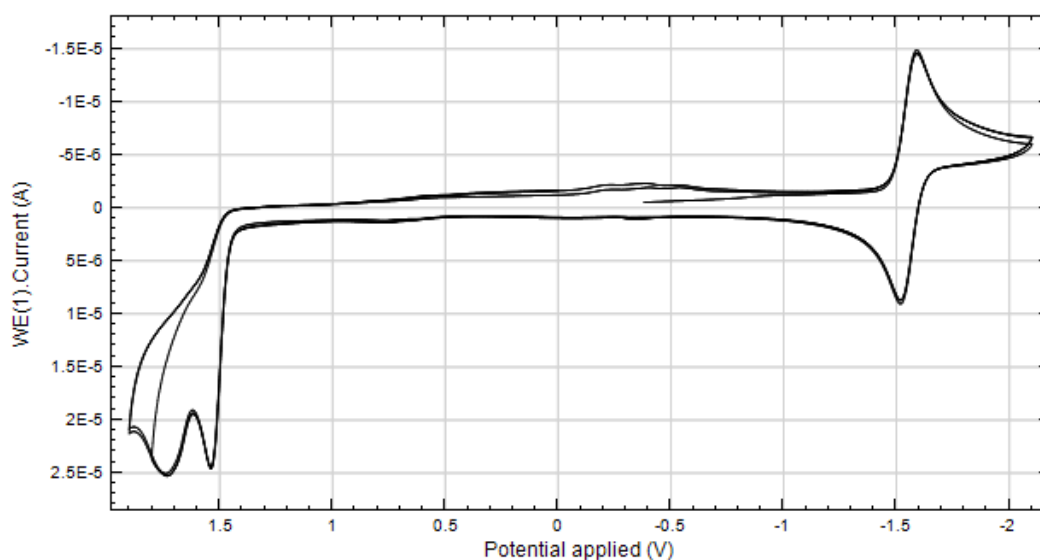
Obe študované látky sa líšia len o fenylovú skupinu vloženú medzi oxazaborínový skelet, ktorý predstavuje skôr elektrón-akceptórnu časť molekuly a dimethoxyfenylovú skupinu, ktorá

pôsobí ako elektrón-donorná, tak vloženie tejto fenylovej skupiny dôjde k zníženiu ovplyvnenia týchto dvoch častí, a teda prvá oxidácia aj redukcia prebieha ľahko, čomu odpovedá aj rozdiel v hodnotách ΔE . Tento trend je možné pozorovať, pokiaľ dochádza k rozšíreniu delokalizovaného systému.

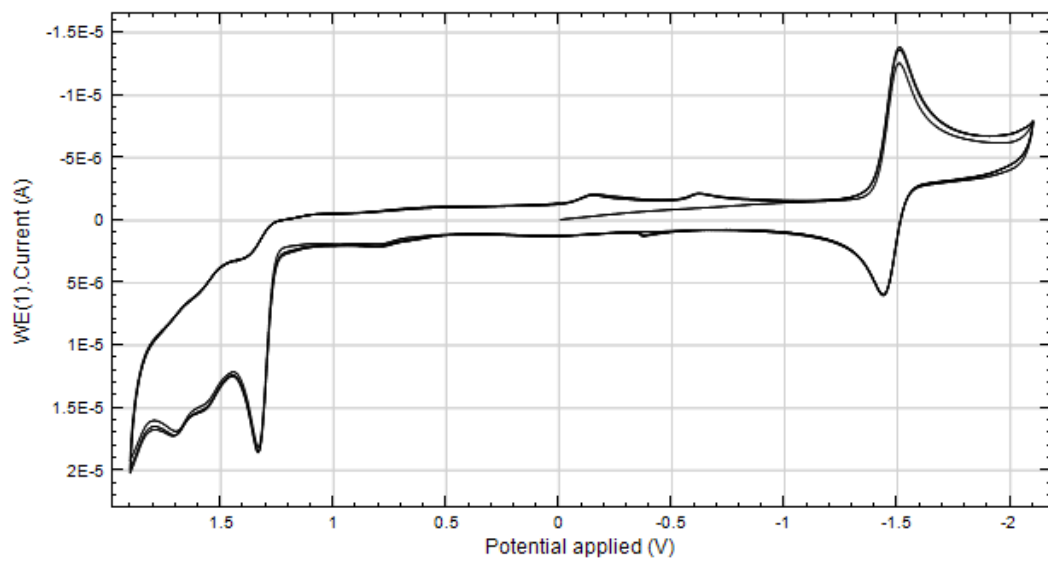
Volatogramy oboch zlúčenín sú na **Obrázkoch 34** a **35**.

Tabuľka 4: Hodnoty pólvalných potenciálov látok **4a,c**

| Vzorka | E1/2 (ox1) [V] | E1/2 (red1) [V] | ΔE (E1/2 (ox1)-E1/2 (red1)) [V] |
|-----------|----------------|-----------------|--|
| 4a | +1,55 | -1,56 | 3,11 |
| 4c | +1,35 | -1,48 | 2,83 |



Obrázok 34: cyklický voltamogram látky **4a**; koncentrácia $5 \cdot 10^{-4}$ M, rýchlosť skenu 100 mV/s, ďalšie podmienky vid'. experimentálna časť.



Obrázok 35: cyklický voltamogram látky **4c**; koncentrácia $5 \cdot 10^{-4}$ M, rýchlosť skenu 100 mV/s, ďalšie podmienky vid'. experimentálna časť.

Záver

V rámci tejto bakalárskej práce bolo pripravených päť nových oxazaborínov substituovaných na dusíku skupinou 2,4-dimethoxyfenyl resp. 2',4'-dimethoxybifenyl. Pripravené zlúčeniny boli dôkladne charakterizované pomocou multinukleárnej magnetickej rezonancie. Predbežné testy luminiscenčných vlastností preukázali, že fluorofóry sú len zlúčeniny **4** s BF₂ fragmentom. Deriváty **4a,c** vykazujú výraznú modro-bielu fluorescenciu v pevnej fáze, derivát **4b** fluoreskuje žltou s podstatne nižšou intenzitou. Zlúčeniny **4a,c** sú rovnako AIEgény. Najsľubnejšie deriváty **4a,c** boli rovnako podrobené elektrochemickej štúdií.

Získané výsledky predstavujú solídny základ pre ďalší výskum. Zlúčeniny **4a,c** sa ukázali sľubnými fluorofórmami. Ďalším cieľom by mala byť ich kvantitatívna luminiscenčná analýza a vysvetlenie pôvodu ich intenzívnej fluorescencie.

Literatúra

1. ZÝKA, J.: *Analytická příručka*. 4. upr. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, **1988**, 224–260.
2. GARAJ, J. a kol.: *Fyzikálne a fyzikálnochemické analytické metódy*. Bratislava, **1977**, 313–323.
3. ČŮTA, F., POPL, M. a kol.: *Instrumentální analýza*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, Bratislava: Alfa. **1986**, 136–153.
4. HOLZBECHER, Z., CHURÁČEK, J. a kol.: *Analytická chemie*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, Bratislava: Alfa. **1987**, 259–319.
5. BOOTH, G., ZOLLINGER, H., McLAREN, K., SHARPLES, W. G., WESTWELL, A.: Fluorescence and Phosphorescence v kniže: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (Elvers B., Ed.), sv. A11, VCH, Weinheim **1989**, 692–694.
6. ZHOU, L., XU, D., GAO, H., HAN, A., LIU, X. G., ZHANG, C., LI, Z., YANG, Y.: *Dyes Pigm* **2017**, 137, 200.
7. WANG, H., ZHAO, E., LAM, J. W. Y., TANG, B. Z.: *Materials Today* **2015**, 18 (7), 365.
8. MEI, J., HONG, Y., LAM, J. W. Y., QIN, A., TANG, Y., TANG, B. Z.: *Adv Mater* **2014**, 26, 5429.
9. HONG, Y.: *Methods Appl. Fluores.* **2016**, 4, 022003.
10. KOLEMEN, S., AKKAYA, E. U.: *Coord. Chem. Rev.* **2018**, 354, 121.
11. THOMAS, J. A.: *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 4494.

12. HUANG, L., DAI, L.: *J. Polym. Sci. A* **2017**, 55, 653.
13. LAVIS, L. D., RAINES, R. T.: *ACS Chem. Biol.* **2008**, 3 (3), 142.
14. MURPHY, Douglas B. *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*. Wiley, New York, **2001**. ISBN 0-471-25391-X.
15. Dostupné z :
https://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Stokes-Verschiebung_Cs.svg
Autor: Stokes-Verschiebung.svg: Cepheiden; derivative work: Vojtech Dostal
16. LICHTMAN, J. W., CONCHELLO, J.-A.: *Nature methods* **2005**, 2 (12), 910.
17. Dostupné z:
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/1c/FluorescenceFilters_2008-09-28.svg
Autor: derivative work: Henry Mühlpfordt; FluorescenceFilters.svg: Krzysztof Bachnicki
18. MASTERS, B. R. (2010). *The Development of Fluorescence Microscopy*. In eLS, (Ed.). doi:10.1002/9780470015902.a0022093.
19. BERTRAND, B., PASSADOR, K., GOZE, C., DENAT, F., BODIO, E., SALMAIN, M.: *Coord. Chem. Rev.* **2018**, 358, 108.
20. KLFOUT, H., STEWART, A., ELKHALIFA, M., HE, H. S.: *ACS Appl Mater Interfaces* **2017**, 9 (46), 39873.
21. KOWADA, T., MAEDA, H., KIKUCHI, K.: *Chem Soc Rev* **2015**, 44 (14), 4953-4972.
22. CHEN, P-Z., NIU, L-Y., CHEN, Y-Z., YANG, Q-Z.: *Coord. Chem. Rev.* **2017**, 350, 196.

23. FRATH, D., MASSUE, J., ULRICH, G., ZIESSEL R.: *Angew Chem Int Ed* **2014**, 53, 2290.
24. LI, H. J., FU, W-F., LI, L., GAN, X., MU, W-H., CHEN, W-Q., DUAN, X-M., SONG, H-B.: *Org. Lett* **2010**, 12, 2924.
25. MATSUMURA, T., KOYAMA, Y., UCHIDA, S., YONEKAWA, M., YUI, T., ISHITANI, O., TAKATA, T.: *Polym. J.* **2014**, 46 (9), 609.
26. BALLY, I., CIORNEY, E., VASILESCU, A., BALABAN, A. T.: *Tetrahedron* **1973**, 29, 3185.
27. VASILEV, L. S., BOGDANOV, B. S., SHASHKOVA, E. M., KHOA, N. K., CHERKASOVA, K. L., DOROKHOV, V. A.: *Russ Chem Bull* **1993**, 42 (7), 1266.
28. MACEDO, F. P., GWENGO, C., LINDEMAN, S. V., SMITH, M. D., GARDINIER, J. R.: *Eur. J. Inorg. Chem.* **2008**, 3200.
29. YOSHII, R., NAGAI, A., TANAKA, K., CHUJO, Y.: *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 4506.
30. YOSHII, R., NAGAI, A., TANAKA, K., CHUJO, Y.: *Macromol. Rapid Commun.* **2014**, 35, 1315.
31. JIANG, X., LIU, X., JIANG, Y., QUAN, Y., CHENG, Y., ZHU, C.: *Macromol. Chem. Phys.* **2014**, 215, 358.
32. DAI, C., YANG, D., FU, X., CHEN, Q., ZHU, C., CHENG, Y., WANG, L.: *Polym. Chem.* **2015**, 6, 5070.
33. ZYABREV, K., DEKHTYAR, M., VLASENKO, Y., CHERNEGA, A., SLOMINSKII, Y., TOLMACHEV, A.: *Dyes Pigm.* **2011**, 92, 749.
34. XIA, M., WU, B., XIANG, G.: *J. Fluorine Chem* **2008**, 129, 402.

35. ZHOU, Y., XIAO, Y., CHI, S., QIAN, X.: *Org. Lett.* **2008**, *10* (4), 633.
36. HACHIY, A S., INAGAKI, T., HASHIZUME, D., MAKI, S., NIWA, H., HIRANO, T.: *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1613.
37. KUBOTA, Y., OZAKI, Y., FUNABIKI, K., MATSUI, M.: *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 7058.
38. GRASER, M., KOPACKA, H., WURST, K., RUETZ, M., KREUTZ, C. R., MÜLLER, T., HIRTENLEHNER, C., MONKOWIUS, U., KNÖR, G., BILDSTEIN, B.: *Inorg. Chim. Acta* **2013**, *405*, 116.
39. FRATH, D., AZIZI, S., ULRICH, G., RETAILLEAU, P., ZIESSEL, R.: *Org. Lett.* **2011**, *13* (13), 3414.
40. DHANUNJAYARAO, K., MUKUNDAM, V., RAMESH, M., VENKATASUBBAIAH, K.: *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, 539.
41. WESELA-BAUMAN, G., URBAN, M., LILIŃSKI, S., SERWATOWSKI, J., WOŹNIAK, K.: *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 3268.
42. YANG, H., YE, K., SUN, J., GONG, P., LU, R.: *Asian J Org Chem* **2017**, *6*, 199.
43. DOUŠOVÁ, H., ŠIMŮNEK, P., ALMONASY, N., RŮŽIČKOVÁ Z.: *J. Organomet. Chem.* **2016**, *802*, 60.
44. ZAKRZEWSKA, A., KOLEHMAINEN, E., VALKONEN, A., HAAPANIEMI, E., RISSANEN, K., CHECIŃSKA, L., OŚMIALOVOWSKI, B.: *J. Phys. Chem. A* **2013**, *117*, 252.
45. ITOH, K., OKAZAKI, K., FUJIMOTO, M.: *Aust. J. Chem.* **2003**, *56*, 1209.
46. KUBOTA, Y., SAKUMA, Y., FUNABIKI, K., MATSUI, M.: *J Phys Chem A* **2014**, *118*, 8717.

47. TRETYAKOVA, G. O., BUKVETSKII, B. V., FEDORENKO, E. V., BELOLIPTSEV, A. Y., MIROCHNIK, A. G.: *Russ Chem Bull Int Ed* **2015**, *64*, 2312.
48. MEI, J., LEUNG, N. L. C., KWOK, R. T. K., LAM, J. W. Y., TANG, B. Z.: *Chem Rev* **2015**, *115*, 11718.
49. OŚMIALOWSKI, B., ZAKRZEWSKA, A., JEDRZEJEWSKA, B., GRABARZ, A., ZALEŚNY, R., BARTKOWIAK, W., KOLEHMAINEN, E.: *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 2072.
50. MARFIN, Y. S., SOLOMONOV, A. V., TIMIN, A. S., RUMYANTSEV, E. V.: *Curr. Medicinal Chem.* **2017**, *24*, 1.
51. WU, Y., LI Z., LIU, Q., WANG, X., YAN, H., GONG, S., LIU, Z., HE, W.: *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 5775.
52. ZHOU, Y., CHEN, Y.-Z., CAO, J.-H., YANG, Q.-Z., WU, L.-Z., TUNG, C.-H., WU, D.-Y.: *Dyes Pigm.* **2015**, *112*, 162.
53. TOLLE, N., DUNKEL, U., OEHNINGER, L., OTT, I., PREU, L., HAASE, T., BEHREND, S., JONES, P. G., TOTZKE, F., SCHÄCHTELE, Ch., KUBBUTAT, M. H. G., KUNICK, C.: *Synthesis* **2011**, *17*, 2848.
54. HIROSE, A., TANAKA, K., YOSHII, R., CHUJO, Y.: *Polymer Chem.* **2015**, *6*, 5590.
55. GALER, P., KOROŠEC, R. C., VIDMAR, M., ŠKET, B.: *J. Am. Chem Soc.* **2014**, *136* (20), 7383.
56. ŠIMŮNEK, P., PEŠKOVÁ, M., BERTOLASI, V., LYČKA, A., MACHÁČEK, V.: *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 5055.
57. LIU, C., SONG, X., NI, Q., QIU, J.: *Arkivoc* **2012**, (ix), 62.